

ДОБРЫНИНА МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ФОРМИРОВАНИЕ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДИСФУНКЦИЙ У
ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ПОДХОДЫ К ИХ КОРРЕКЦИИ**

3.2.7. Иммунология
3.1.18. Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Екатеринбург – 2025

Работа выполнена в лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук и на кафедре терапии ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический научный центр имени А.И. Бурназяна».

Научные консультанты:

Доктор биологических наук

Сарапульцев

Алексей Петрович

Рябова

Лиана Валентиновна

Доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Свитич

Оксана Анатольевна

Доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики научно-исследовательского центра ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Калинина

Наталья Михайловна

Доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Попов

Артем Анатольевич

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва)

Защита состоится «___» _____ 2025 года в ____ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01 на базе ИИФ УрО РАН (620078, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106)

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН по адресу: 620078, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской/Академическая, 22/20 и на сайте ИИФ УрО РАН (<http://iir.uran.ru>), с авторефератом – там же и на сайте ВАК РФ (<http://vak2.ed.gov.ru>).

Автореферат разослан «___» _____ 2025 года

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.063.01,
кандидат биологических наук

Ю.А. Журавлёва

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Актуальность исследования обусловлена продолжающимся ростом числа заболеваний, вызванных вирусом SARS-CoV-2, скоростью распространения и наличием тяжелых форм заболевания, вплоть до развития летальных исходов. Именно это заставляет различные страны, в том числе и Россию, экстренно разрабатывать новые противовирусные методы лечения и профилактики (*Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27.04.2021 № 404н. Москва, 2021*). За последние два года сформировалась значительная группа пациентов, перенесших острую форму заболевания, вызванного SARS-CoV-2, состоящих на диспансерном учете после заболевания и имеющих полиорганные нарушения со стороны различных органов и систем организма (*Методическое пособие по проведению профилактического медицинского осмотра и диспансеризации, Москва, 2021г*). В настоящее время многие авторы определяют такое состояние как постковидный синдром (*Канорский С.Г., 2021; Pierce J.D et al, 2022*). Оценка взаимосвязи клинических проявлений с измененным иммунным статусом у пациентов с постковидным синдромом необходима для понимания особенностей протекания данного синдрома у обследуемой категории больных, что, в конечном итоге, опосредует возникновение как более тяжелых форм протекания сочетанной патологии, так и более длительного реабилитационного периода. Механизмы формирования такого состояния остаются практически не исследованными. Нет методов объективной оценки данного синдрома и патогенетически обоснованных подходов к их коррекции. В основе таких нарушений, как предполагается, находится повреждение вирусом SARS-CoV-2 клеток иммунной системы и формирование продолжительных нарушений их функций. Не исключено и обострение на фоне иммунодисфункции хронических заболеваний, напрямую связанных с последствиями воздействия вируса SARS-CoV-2 на другие ткани и органы организма человека. Однако воздействие вируса на иммунную систему постковидных пациентов остается наиболее важным.

Исследования *in silico* являются актуальными, имеют фундаментально-прикладную направленность, высокий уровень значимости, соответствуют мировому уровню исследований в данной области и характеризуются высокой степенью научной новизны в связи с тем, что позволяют создать принципиально новую системную мультитаргетную модель развития коронавирусной инфекции, моделирующую взаимодействие CD46 и релевантных белков-мишеней SARS-CoV-2 в виде искусственной нейронной сети полносвязной архитектуры. Таким образом, результаты исследования доказывают высокую научную новизну,

фундаментальную и прикладную значимость исследования, поскольку будет построена новая модель развития коронавирусной инфекции.

Предполагаемый научный подход с привлечением самых современных методов исследования иммунного статуса у переболевших COVID-19 для создания персонифицированной терапевтической помощи является новым и инновационным. Создание такого подхода требует более детальной расшифровки иммунопатогенеза как самого «постковидного синдрома», так и оценки влияния иммунокорректоров на клеточную и гуморальную составляющую иммунной системы иммунокомпроментированных людей. Особенно это важно для лиц с сохранившимися нарушениями в иммунной системе после перенесенного острого COVID-19.

В Российской Федерации ежемесячно становятся на диспансерный учет новые пациенты с постковидными нарушениями, и в ближайшие годы такие пациенты могут стать очень большой проблемой для здравоохранения России в целом (*Методическое пособие по проведению профилактического медицинского осмотра и диспансеризации, Москва, 2021г*). В настоящее время разрабатываются подходы к терапии такого состояния, но пока нет точных данных об эффективности терапевтических мероприятий у пациентов с постковидным синдромом. Именно формирование новых патогенетических подходов к терапии постковидных пациентов с нарушением в иммунной системе и определяет актуальность данного исследования.

Решение поставленных задач имеет не только важное фундаментальное значение, но и практический выход для разработки методических подходов к персонифицированной иммунотерапии.

Цель исследования: исследование иммунопатогенеза формирования постковидного синдрома для создания методов диагностики и коррекции постковидных пациентов в соответствии с выявленными ключевыми молекулярными и клеточными механизмами иммунной дисфункции.

Задачи исследования:

1. Проанализировать клинические проявления постковидного синдрома у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию.
2. Оценить наличие взаимодействия панлейкоцитарного рецептора CD46 с различными белковыми структурами вируса SARS-CoV-2 методами биоинформатики.
3. Выявить основные фенотипы, характеризующие действие ключевых механизмов формирования иммунной дисфункции у постковидных пациентов.

4. Выявить взаимосвязь между тяжестью течения новой коронавирусной инфекции в остром периоде и формированием иммунных нарушений у пациентов со сформировавшимся постковидным синдромом.

5. Разработать новую концепцию иммунопатогенеза у постковидных пациентов в соответствии с выявленными нарушениями компартментов иммунной системы.

6. Разработать принципы новой персонифицированной иммунокоррекции у постковидных пациентов в соответствии с новой концепцией иммунопатогенеза.

Научная новизна работы. Впервые:

- охарактеризовано формирование полиорганной патологии у постковидных пациентов с преимущественным поражением иммунной, сердечно-сосудистой, эндокринной и нервной систем, желудочно-кишечного тракта, тяжесть проявлений которой напрямую связана с тяжестью течения острого COVID-19, а также формированием инфекционного, аутоиммунного и аллергического синдромов вне зависимости от наличия или отсутствия в остром периоде COVID-19 поражения легких по типу "матового стекла" по данным компьютерной томографии;

- проведен анализ роли мембранного кофакторного белка CD46 (панлейкоцитарный рецептор к комплементу на всех лейкоцитах человека) в патогенезе COVID-19 и развитии постковидного синдрома;

- выявлены иммунофенотипы, характеризующие действие ключевых механизмов формирования иммунной дисфункции у постковидных пациентов;

- определена взаимосвязь клинических проявлений при постковидном синдроме с основными фенотипами нарушений иммунной системы;

- на основе выявленных нарушений компартментов иммунной системы, разработана новая концепция формирования механизмов иммунопатогенеза постковидного синдрома;

- на основе новой концепции иммунопатогенеза разработаны основные принципы персонифицированной иммунокоррекции у лиц с постковидным синдромом;

- дана оценка клинической и лабораторной эффективности иммунотерапии у лиц с постковидным синдромом иммунодисфункции.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Впервые охарактеризовано формирование полиорганной патологии у постковидных пациентов.

Разработана новая концепция иммунопатогенеза постковидных нарушений иммунной системы: у постковидных пациентов формируются, помимо полиорганной патологии, нарушения иммунной системы (выявлено 4 основных фенотипа нарушений врожденного и приобретенного иммунитета), связанные с

тяжестью течения коронавирусной инфекции в остром периоде болезни, что обуславливает формирование новых подходов к иммунокоррекции этих больных.

Дана оценка эффективности проведенной иммунокорригирующей терапии.

Разработаны рекомендации по лечению иммунодисфункций у постковидных пациентов.

Научные положения, выносимые на защиту:

1. Постковидный синдром проявляется развитием полиорганной патологии с преимущественным поражением иммунной, сердечно-сосудистой, эндокринной и нервной систем, желудочно-кишечного тракта и характеризуется развитием инфекционного, аутоиммунного и аллергического синдромов, а выраженность его клинических проявлений зависит от степени поражения легких по типу "матового стекла" по данным компьютерной томографии в остром периоде заболевания новой коронавирусной инфекцией.

2. Белки вируса SARS-CoV-2 могут взаимодействовать с CD46 панлейкоцитарным рецептором лейкоцитов.

3. У части постковидных пациентов через 6-12 месяцев после перенесенного острого заболевания развиваются 4 основных фенотипа нарушения факторов иммунной системы, как врожденных (снижение экспрессии CD46 на Т-лимфоцитах с формированием дисфункции нейтрофилов, снижение NK-клеток), так и приобретенных (нарушение уровня Т-цитотоксических клеток и В-лимфоцитов).

4. Применение синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ стимулирует фагоцитарные реакции нейтрофилов и активирует Т-лимфоциты.

5. Применение глюкозаминилмурамилдипептида восстанавливает активность нейтрофилов и В-клеточное звено иммунной системы.

6. Новая концепция иммунопатогенеза постковидных нарушений иммунной системы у постковидных пациентов заключается в том, что белки вируса SARS-CoV-2 (NP>MP>SP>EP) взаимодействуют с рецептором CD46, что приводит как к длительно сохраняющейся в постковидном периоде активации системы комплемента вне зависимости от тяжести течения острого заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, так и к нарушению экспрессии CD46 на различных субпопуляциях лимфоцитов в постковидном периоде у пациентов, имевших поражение легких по типу "матового стекла" по данным КТ в остром периоде COVID-19, что приводит к формированию нарушений иммунной системы (выявлено 4 основных фенотипа нарушений врожденного и приобретенного иммунитета, не пересекающихся между собой). Все эти нарушения, вызванные взаимодействием белков вируса SARS-CoV-2 с рецептором CD46 проявляются также клинически в виде полиорганной патологии, тяжесть проявления которой напрямую связана с нарушением экспрессии CD46 на лимфоцитах, что

обуславливает формирование новых подходов к иммунокоррекции этих больных.

Методология и методы исследований. Методологической основой диссертации стали принципы научного анализа биологических систем (комплексность, структурность, системность, объективность, достоверность) с применением современных клинических, модельных, иммунологических, микробиологических и статистических методов, адекватных характеру решаемых задач. Работа выполнена в рамках государственного задания «Иммунофизиологические и патофизиологические механизмы регуляции и коррекции функций организма», номер 122020900136-4, и государственного задания «Исследование новых серотонинергических механизмов клеточного стресса при воспалении и функциональных расстройствах различного генеза» номер № FENU-2023-0014 (2023014ГЗ), поддержана грантом РФФИ и NSFC, 20-515-55003 Китай. Исследования выполнялись согласно Хельсинской Декларации ВМА (2000 г.) и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999 г.).

Согласно поставленным цели и задачам было проанализировано клиническое состояние постковидных пациентов, проведены иммунологические, биоинформационные, вирусологические, бактериологические исследования на разных этапах работы, а также проведена иммунокоррекция у части пациентов и статистическая обработка результатов исследований.

Степень достоверности, апробация результатов. Достоверность полученных результатов исследования определена использованием широкого спектра современных лабораторных методов исследования, достаточным объемом фактического материала, его корректной статистической обработкой, а также подтверждена проверкой достоверности первичной документации экспертами Института иммунологии и физиологии УрО РАН (*акт проверки от 20.06.2024г.*)

Основные материалы диссертационной работы представлены и обсуждены на конференциях различного уровня: 15, 16, 17, 18, 19 Всероссийская конференция с международным участием «Иммунологические чтения в г. Челябинске»; Международная школа с элементами школы для молодых ученых «Проточная цитометрия в клинической лабораторной диагностике» (г. Челябинск, 2020-2024 гг.); 3 и 4 Балтийский симпозиум по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине (Калининград, 2021, 2024 гг.); 12, 13, 14 Всероссийская школа-конференция по клинической иммунологии (Пушкинские горы, Псковская область, с 2022 по 2024 гг.); «Врач-Пациент-Общество: иммунология и генетика» (Екатеринбург, 2022-2024 гг.); III Поволжская научно-практическая школа по аллергологии, клинической иммунологии и инфектологии (г. Самара, 2022г.); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием

«Актуальные вопросы педиатрии» (г. Рязань, 2022 г.); Дни науки в Челябинской области (г. Челябинск, 2022 г.); Дни науки в Челябинской области «Научный суверенитет – вектор развития региона»; Круглый стол «Иммунологические исследования в ЮУГМУ» (2023 г.); Международная научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов «Ильинские чтения, 2023» (Москва); «Персистенция и симбиоз микроорганизмов»: X Российская научная конференция с международным участием, посвященная 300-летию Российской академии наук, 10-летию науки и технологий (г. Оренбург, 2023 г.); XIII Межведомственная научно-практическая конференция «Инфекционные болезни: Актуальные проблемы, лечение и профилактика» (Москва, 2023 г.); 9-я и 10-я научно-практические школы-конференции «Аллергология, клиническая иммунология и инфектология для практикующих врачей» (г. Сочи, 2023-2024 гг.).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования: формирование основной идеи, формулировка рабочей гипотезы, разработка дизайна исследования, анализ современной зарубежной и отечественной литературы по исследуемой проблеме постковидного синдрома, сбор первичных данных, проведение всех экспериментальных методов исследования, их статистическая обработка, интерпретация полученных результатов, аналитическая проработка, написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов исследований в научных статьях и докладах на конференциях, подготовка публикаций по теме выполненной работы. Формирование основной идеи, цели и задач, планирование научной работы, определение методологии и общей концепции диссертации выполнялись совместно с научными консультантами, д.б.н. Сарапульцевым А.П. и д.м.н., доцентом Рябовой Л.В. Автором лично проведены все эксперименты; часть опытов выполнена совместно с сотрудниками лаборатории иммунопатофизиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН (в.н.с., д.м.н., профессор, ЗДН РФ Зурочка А.В., д.м.н. Зурочка В.А. и др.); часть опытов выполнена совместно с д.м.н., профессором Гриценко В.А., сотрудником Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН; исследования противовирусной активности синтетического пептида активного центра GM-CSF были проведены совместно с сотрудниками лаборатории вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, в том числе, с д.б.н. Зарубаевым В.С. Биоинформационные исследования выполнены в лаборатории информационных технологий в фармакологии и компьютерного моделирования лекарств Научного центра инновационных лекарственных средств

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России под руководством д.б.н., проф. Васильева П.М.; по вопросам ведения пациентов с постковидным синдромом и вопросам терапии проводились консультации с Праскурничим Е.А., д.м.н., профессором, заведующим кафедрой терапии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический научный центр им. А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации.

Публикации: По теме диссертации опубликовано 25 печатных работ, в том числе: 22 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ по специальностям 3.2.7 Иммунология и 3.1.18 Внутренние болезни и/или индексируемых в Международных базах данных Scopus, WoS, RSCI, 1 монография.

Внедрение результатов исследований в практику:

Результаты исследования внедрены в практику работы лаборатории иммунологии воспаления и лаборатории иммунопатофизиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии ФГБУН Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, ООО «Академический инновационный научный центр», ФБУН Федеральный НИИ вирусных инфекций «Виром» Роспотребнадзора, ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, а также в клиническую и научную практику ООО «ДокторЛаб».

Объем и структура диссертационного исследования. Диссертация изложена на 190 страницах машинописного текста и состоит из Введения, глав «Обзор литературы» и «Материалы и методы», 3 глав собственных исследований, Заключение, Выводов, Практических рекомендаций, Списка литературы, включающего 206 источников, из них 168 иностранных и 38 отечественных. Работа иллюстрирована 7 рисунками и 34 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований

Предмет исследования. Клинические проявления заболевания и состояние иммунной системы у постковидных пациентов, эффективность иммунотерапии.

Объекты исследования

1. Пациенты, перенесшие COVID-19 (n=131).
2. Анамнестические и демографические данные.

3. Данные клинического обследования (КТ, анализ крови, мочи, биохимические методы, уточняющие диагноз).

4. Клетки иммунной системы (Т, В, NK, TNK, T-reg, T_s, T_h, и их активационные рецепторы, нейтрофилы периферической крови), общие и специфические к COVID-19 иммуноглобулины А, М, G.

Методы исследования:

Клинические методы исследований

1. Выявление лиц с постковидным синдромом после осмотра врачами терапевтом, аллергологом-иммунологом, пульмонологом, ЛОР-врачом.

2. Анализ амбулаторных карт пациентов с постковидным синдромом.

3. Заполнение карты иммунологического обследования.

4. Сбор анамнестических данных, физикальный осмотр, перкуссия, пальпация, аускультация пациентов с целью постановки диагноза.

Все исследования были одобрены Независимым локальным этическим комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница №1» г. Челябинска (протокол №8 от 11.04.2022), на базе которой проводились данные исследования.

Биоинформационные методы исследования. *Оценка взаимодействия CD46 с белками вируса SARS-CoV-2*

В проведенном исследовании в качестве материалов выступали данные о первичных аминокислотных последовательностях CD46 человека и EP-MP-NP-SP SARS-CoV-2, а также экспериментальные 3D-модели этих пяти белков.

Расчеты выполняли с использованием суперкомпьютерной техники общей производительностью ~44 Tflops.

В качестве основного штамма SARS-CoV-2 рассмотрен дикий уханьский штамм M908947 (Wuhan-Hu-1) (Wu F. et al. 2020). Он является в некотором смысле «стандартом», и на его основе создано большинство применяемых в настоящее время вакцин (Garcia-Beltran W.F., et al. 2021). Геном SARS-CoV-2 кодирует 31 белок (Giri R., et al. 2021), которые можно объединить в следующие три группы:

1. Structural proteins: envelope EP, membrane MP, nucleocapsid NP, spike SP; располагаются преимущественно на внешней поверхности SARS-CoV-2 и определяют форму вируса.

2. Non-structural proteins: NsP1, NsP2, NsP3, NsP4, NsP5, NsP6, NsP7, NsP8, NsP9, NsP10, NsP11, NsP12, NsP13, NsP14, NsP15, NsP16; выполняют разнообразные функции после проникновения вируса в клетку человека; функции некоторых из этих белков точно не установлены.

3. Белки, кодируемые открытыми рамками считывания: ORF1a, ORF1b, ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9b, ORF10, ORF14; выполняют

разнообразные функции также после проникновения вируса в клетку человека; функции некоторых из этих белков точно не определены.

Считается, что на этапе проникновения вируса в клетку человека с ее рецепторами взаимодействует преимущественно белок SP, а взаимодействие с ними белков EP-MP-NP ограничено из-за связанных с S-белком стерических препятствий (*Hatmal M.M., et al 2020*). Однако в случае проникновения SARS-CoV-2 в клетку человека путем неспецифического слияния все структурные белки вируса могут встраиваться в цитоплазматическую мембрану зараженной клетки и, вероятно, способны выполнять функцию рецепторов или корецепторов. Поэтому в настоящем исследовании в качестве белков SARS-CoV-2, наиболее вероятно обеспечивающих взаимодействие с белком CD46 человека, были выбраны именно структурные белки EP-MP-NP-SP.

Белок CD46 человека за счет альтернативного сплайсинга образует 16 различных изоформ. Для целей настоящего исследования была выбрана наиболее часто встречающаяся изоформа 1, так называемая каноническая изоформа А.

Лабораторные методы исследований

Вирусологические методы исследования. Оценка прямой антивирусной (вирулицидной) активности заявляемого средства.

Вирулицидное действие синтетического пептида ZP2 в отношении бактериофагов (ДНК-вирус) при тестировании на культуре *P. aeruginosa* (штамм №60).

Синтез пептида ZP2 проводился твердофазным способом на синтезаторе «AppliedBiosystems 430A» по методу *in situ* с использованием N α -Boc-защищенных производных аминокислот. Для блокирования боковых цепей трифункциональных аминокислотных остатков использованы защитные группы бензильного и уретанового типов. Присоединение аминокислотных остатков проводили методом 1-гидроксibenзотриазоловых эфиров, используя 5-кратные избытки реагентов. По завершении сборки полипептидной цепи пептидилполимер обрабатывали жидким фтористым водородом по Sn1/Sn2 механизмам в присутствии скавенджеров. Продукт высаживали диэтиловым эфиром и очищали методом препаративной обращенно-фазовой хроматографии до гомогенного состояния. Конечный продукт охарактеризован данными аминокислотного и масс-спектрального анализов и аналитической ОФ ВЭЖХ. Аминокислотный состав полученного соединения и его молекулярный вес соответствовали теоретическим расчетам, чистота, по данным аналитической ОФ ВЭЖХ, была не менее 98%.

Оценка прямой антивирусной (вирулицидной) активности заявляемого средства осуществлялась следующим образом.

Анализировали влияние синтетического пептида ZP2 на бактериофаги (вирусы бактерий). Бактериофаги относятся, как правило, к ДНК-вирусам и, размножаясь в бактериях (вирулентные бактериофаги), могут вызывать их гибель (*Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. М., 2017. 54 с.*). В качестве объектов-мишеней для бактериофагов использовали бактерии вида *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) – клинические штаммы №№ 55 и 60. В экспериментах использовали бактериофаги, входящие в состав коммерческого препарата «Пиобактериофаг поливалентный очищенный» (НПО «Микроген» МЗ РФ). Оптимальную концентрацию фагов для каждого штамма предварительно подбирали опытным путем (титрование препарата) таким образом, чтобы на чашке Петри на сплошном газоне культуры бактерий *P. aeruginosa* бактериофаги образовывали 10-50 бляшкообразующих единиц (БОЕ) – пятен лизиса, где отсутствует рост бактерий.

Исследование вирулицидного действия синтетического пептида ZP2 проводилось следующим образом:

1 этап (подготовительный) – готовили разведение препарата бактериофага физиологическим раствором NaCl в 100 раз; готовили раствор пептида ZP2 на физиологическом растворе NaCl в концентрации 10 мкг/мл; готовили взвесь суточной агаровой культуры бактерий *P. aeruginosa* (штаммы №№ 55 и 60) на физиологическом растворе NaCl в концентрации $1,5 \cdot 10^8$ бактерий/мл (по стандарту мутности МакФарланда); готовили чашки Петри с 1,5% мясопептонным агаром (МПА) – выливали на дно чашки 5 мл расплавленного МПА, равномерно распределяли его по поверхности, остужали и подсушивали; готовили 0,7% МПА – расплавляли его в водяной бане и остужали до температуры 42-44°C;

2 этап (основной) – в пробирки вносили по 0,2 мл приготовленной взвеси бактериофага, туда добавляли по 0,2 мл приготовленного раствора пептида ZP2, то есть его действующая концентрация составляла 5 мкг/мл (в контроле – добавляли 0,2 мл физиологического раствора NaCl), инкубировали 10 мин при комнатной температуре (22-24°C); в опытные и контрольные пробирки добавляли по 0,2 мл приготовленной взвеси бактерий *P. aeruginosa* (штаммы №№ 55 и 60), инкубировали 10 мин при комнатной температуре (22-24°C); в опытные и контрольные пробирки добавляли по 4 мл остывшего 0,7% МПА, содержимое пробирок интенсивно перемешивали и выливали на дно чашки Петри с заранее приготовленной агаровой подложкой из 1,5% МПА, давали агару затвердеть, переворачивали чашки Петри вверх дном и инкубировали в течение 24 часов в термостате при температуре 37°C; опыты проводили в 5 повторах с каждым исследуемым штаммом бактерий *P. aeruginosa*;

3 этап (учет результатов) – производили подсчет бляшкообразующих единиц (БОЕ) на контрольных и опытных чашках и высчитывали концентрацию бактериофагов, которые находились в растворе и вызывали лизис бактерий *P. aeruginosa* (штаммы №№ 55 и 60), по формуле: Концентрация бактериофагов в 1 мл = количество БОЕ на чашке * 5 (поскольку в реакционную смесь добавлялось 0,2 мл взвеси бактериофагов).

Бактериологические методы исследования. В работе были использованы музейные штаммы *E. coli* (ATCC 25922) и *P. aeruginosa* ATCC 27853, а также 104 клинических изолята энтеробактерий, включая *E. coli* (n = 22) и *K. pneumoniae* (n = 82), и 98 клинических изолятов неферментирующих грамотрицательных бактерий, в том числе *P. aeruginosa* (n = 43) и *A. baumannii* (n = 55), выделенных от больных с различной гинекологической и хирургической патологией. Выделение и видовую идентификацию бактерий проводили общепринятыми методами с использованием официальных биохимических наборов компании Erba Lachema s.r.o. (ЕС, Чехия) и на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomerieux, Франция) (*Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact. Методические рекомендации. М., 2008.*). Бактерицидное действие синтетического пептида ZP2 (СП ZP2) в отношении исследуемых штаммов бактерий осуществляли по методике Бухарина О.В. и соавт. (1996) в следующем порядке: на изотоническом растворе NaCl готовили взвеси суточных агаровых культур бактерий (5×10^8 КОЕ/мл); по 25 мкл взвесей инокулировали в ячейки пластикового 96-луночного стерильного планшета; в опыте – к взвесям добавляли по 25 мкл раствора СП ZP2 на дистиллированной воде (концентрация 20 мкг/мл; т.е. его конечная/действующая концентрация составляла 10 мкг/мл), в контроле – вместо раствора СП ZP2 вносили 25 мкл дистиллированной воды; смеси выдерживали в течение 20 мин при 37 °С, а затем во все ячейки добавляли 200 мкл мясопептонного бульона; планшета помещалась на 4 часа в термостат при 37 °С, после чего с помощью фотометра Multiscan Ascent (Thermo Electron, Финляндия) на длине волны $\lambda = 492$ нм замерялась оптическая плотность (OD) бактериальных культур в ячейках.

Каждый вариант опыта и контроля делался в трех повторностях с вычислением средних значений OD. Для оценки действия СП ZP2 на исследуемые бактерии высчитывали Индекс бактерицидной активности (ИБА, %) по формуле: $\text{ИБА} = (\text{OD}_k - \text{OD}_o) / \text{OD}_k \times 100\%$, где OD_k и OD_o – оптические плотности контрольной и опытной культур, соответственно. Чувствительными считались штаммы при ИБА > 10%. Если оптическая плотность опытной культуры превышала оптическую плотность контрольной культуры ($\text{OD}_o > \text{OD}_k$), то

рассчитывался Индекс стимуляции (ИС, %) по формуле: $ИС = ODo/ODк \times 100\%$, где $ODк$ и ODo – оптические плотности контрольной и опытной культур, соответственно. Стимулирующий эффект СП ZP2 регистрировали при $ИС > 10\%$. Если значения ИБА и ИС не превышали 10%, то штаммы бактерий относили к группе устойчивых культур, но индифферентно реагирующих на пептид ZP2.

Иммунологические методы исследования. Общий анализ крови (25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный и качественный состав ростков кроветворения проведен стандартизованным методом на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция).

Методом проточной цитометрии на приборе Navius (BectonCoulter США по стандартизированной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета (Хайдуков С.В. и соавт. 2014; Зурочка А.В. и соавт. 2018) оценивали следующие маркеры лимфоцитов: $CD45^+$ (панлейкоцитарный маркер для гейтирования лимфоцитов), $CD45^+CD3^+$ (Т-лимфоциты), $CD45^+CD3^+CD4^+$ (хелперы индукторы), $CD45^+CD3^+CD8^+$ (цитотоксические Т-лимфоциты), $CD45^+CD3^+CD16^+CD56^+$ (ТНК-клетки) $CD45^+CD3^-CD16^+CD56^+$ (натуральные киллеры), $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+$ (В-лимфоциты), $CD45^+CD3^+CD4^+CD25^+CD127^-$ (Т-регуляторные клетки/супрессоры), $CD45^+CD3^+CD4^+CD25^+$ (активированные хелперы, ранняя активация лимфоцитов), $CD45^+CD3^+HLA-DR$ (активированные Т-лимфоциты – поздняя активация лимфоцитов) В-клетки памяти $CD3^-CD19^+CD27^+$, при помощи моноклональных антител «BeckmanCulter», «Biolegend» (США).

Оценка фагоцитарной активности частиц латекса диаметром 1,7 мкм нейтрофилами (активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число); спонтанная и индуцированная НСТ-активность нейтрофилов морфологическим методом (световая микроскопия с использованием микроскопов Olimpus (Япония) (Маянский А.Н. и соавт. 1993; Вискман, М. Е. и соавт. 1979.). Исследование проводилось общепринятыми методами оценки функциональной активности фагоцитов.

Уровни общих IgA, G, M, специфических IgM, G к коронавирусу COVID-19, С1-ингибитора, С3а и С5а компонентов комплемента методом иммуноферментного и иммунофлюоресцентного анализа на иммуноферментном анализаторе Multiscan FC Thermoscientific (Китай). Исследование проводилось общепринятыми стандартизованными методами иммуноферментного анализа (тест-системы компаний ВекторБест, Россия; ООО «Цитокин», Россия).

Статистические методы исследования. По результатам исследования сформирована база данных в Excel (MS Office 2007). Обработка данных осуществлялась с помощью методов параметрической и непараметрической

статистики с использованием программы Statistica v. 8.0 for Windows и IBM SPSS Statistics 19. Цифровые данные проверены на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова в программе Statistica 8.0. Сравнение данных, подчиняющихся нормальному распределению, осуществлено с помощью параметрического t-критерия Стьюдента, для множественных сравнений использован многофакторный анализ ANOVA; при ненормальном распределении использовались непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни для парных сравнений, метод Конновера. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Оборудование. Цитофлюориметр «Navios» (BeckmanCoulter, США), линейка микроскопов Olimpus (Япония), мультиплексный анализатор для геномного и протеомного анализа биомаркеров Magpix100 (Luminex, США), иммуноферментный анализатор Multiscan FC Thermoscientific (Китай), иммунохемилюминометр Mindray SL-1200 A (Китай), гематологический анализатор Medonic M20 (Швеция), сопутствующее оборудование (центрифуги, шейкеры, термостаты и т.д.), компьютеры с пакетами прикладных программ, необходимых для математического и статистического анализа полученных результатов.

Лабораторные клинические исследования произведены на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург) и Государственного научного центра Российской Федерации – Федерального медицинского биофизического научного центра имени А.И. Бурназяна (г. Москва).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования последних лет значительно улучшили наше понимание SARS-CoV-2-инфекции, очертив глубокие и характерные для заболевания изменения в компартментах врожденного и адаптивного иммунитета. Лимфопения и измененная функция лимфоцитов у больных COVID-19 коррелируют с тяжестью заболевания, что указывает на ключевую роль Т- и В-клеток в патологии.

Клинические исследования

Согласно полученным данным, достоверные различия получены между группами КТ0 и КТ1-2, а также КТ0 и КТ3-4: частота обострений ревматоидного артрита в постковидном периоде достоверно выше в группе с поражением легких менее 50% в острый период COVID-19 по сравнению с группой пациентов без поражения легких, тогда как частота обострений аутоиммунного тиреоидита достоверно выше у пациентов без поражения легких в остром периоде COVID-19 в сравнении с остальными группами. Таким образом, выраженность аутоиммунных нарушений в постковидном периоде напрямую не связана с тяжестью течения заболевания, а в большей степени связана с базисной терапией

глюкокортикостероидами (ГКС) как для лечения аутоиммунных процессов, так и для лечения COVID-19. Если при аутоиммунном тиреоидите ГКС не применяются, то применение их в острый период инфекции снизило в последующем количество рецидивов. Тогда как при ревматоидном артрите ситуация обратная: применение ГКС в острый период инфекции у пациентов, уже находящихся на базисной кортикостероидной терапии, привело в последующем к увеличению числа рецидивов у постковидных пациентов. Возможно, дополнительная терапия кортикостероидами таких пациентов была недостаточно обоснована.

При оценке влияния степени поражения легких в острый период инфекции COVID-19 на учащение обострений аллергических заболеваний в постковидном периоде зависимости выявлено не было. Однако у постковидных пациентов выявлено учащение наиболее клинически тяжелой алергопатологии - в среднем, во всех группах у 52% в постковидный период участились обострения таких патологий как отек Квинке, крапивница, анафилаксия, васкулиты, альвеолиты, бронхиолиты. Всё это свидетельствует о том, что на ухудшение состояния данных пациентов в постковидном периоде повлияла перенесенная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2. На втором месте по частоте обострений находились аллергические поражения кожи - около 28%.

Частота обострений пролиферативных заболеваний не показала достоверных различий между группами пациентов в зависимости от степени поражения легких в острый период инфекции, но имела тенденция к увеличению частоты обострений у пациентов с более тяжелыми формами острой инфекции COVID-19. Хотелось бы также отметить, что процент таких пациентов достаточно высок - от 31,6% до 48%. Эти данные дополнительно свидетельствуют о том, что у постковидных пациентов развивается полиорганная патология.

Частота обострений заболеваний сердечно-сосудистой системы в постковидном периоде достоверно выше в группах с поражением легких в острый период COVID-19 по сравнению с группой пациентов без поражения легких. Эти данные свидетельствуют о том, что поражения сердечно-сосудистой системы напрямую связаны с тяжестью течения COVID-19 и выявлялись наиболее часто (68%) у постковидных пациентов, перенесших тяжелую коронавирусную инфекцию.

Частота нарушений обмена глюкозы, в том числе и впервые выявленных, достоверно возрастала в постковидный период у пациентов с поражением легких в острый период инфекции, тогда как по заболеваниям щитовидной железы, за исключением АИТ, достоверных различий не выявлено. Возможно, эти нарушения также связаны, с одной стороны, с применением кортикостероидной терапии в острый период коронавирусной инфекции, а с другой стороны, с нарушением

регуляторных механизмов эндокринной и иммунной систем под воздействием вируса SARS-CoV-2.

Частота обострений заболеваний печени и желчевыводящих путей значительно выросла у постковидных пациентов с поражением легких в сравнении с пациентами без поражения легких, что, вероятно, связано как с воздействием коронавируса, так и с более интенсивной химиотерапией в острый период коронавирусной инфекции. Также наблюдалась тенденция к учащению обострений хронических заболеваний ЖКТ у пациентов с наиболее тяжелой формой заболевания COVID-19 в остром периоде.

Опрос пациентов показал, что усталость при физической нагрузке, повышенная утомляемость и снижение работоспособности возросли у постковидных пациентов с поражением легких по сравнению с КТ0, но в то же время отметим, что и ряд других показателей имел тенденцию к увеличению у пациентов с поражением легких более 50% (снижение концентрации внимания, замедленность речи, движения, заметные окружающим). Также опрос пациентов показал, что у пациентов с поражением легких достоверно учащались боли в груди и одышка в сравнении с пациентами без поражения легких, что, скорее всего, в большей степени связано с поражением не столько нервной системы, сколько с поражением сердечно-сосудистой системы и легких.

Таким образом, клиническая картина постковидного синдрома характеризуется выраженным разнообразием формирования полиорганной соматической патологии, как впервые выявленной, так и проявляющейся в учащении обострений хронических заболеваний.

Кроме соматической патологии у постковидных пациентов выявлялся и инфекционный синдром иммунопатологии.

В ходе исследования при делении выборки по степени поражения легких в зависимости от клинических проявлений инфекционно-воспалительных заболеваний с участвующими случаями рецидивов либо впервые выявленных после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 достоверных различий получено не было, за исключением воспалительных заболеваний почек между группами с поражением легких менее 50 % и без него по данным КТ.

При этом следует отметить, что процент выявления ряда проявлений инфекционного синдрома иммунопатологии (длительный субфебрилитет, рецидивирующий герпес, хронические инфекции ЛОР-органов, высокая частота ОРВИ, гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожно-жировой клетчатки, часто повторяющиеся и хронические бронхиты и/или пневмонии, ХОБЛ, частые

гнойные конъюнктивиты) имел тенденцию к повышению у пациентов с более тяжелой перенесенной формой острой коронавирусной инфекции (таблица 1).

Таблица 1 - Выраженность клинических проявлений инфекционного симптомокомплекса у постковидных пациентов в зависимости от степени поражения легких в острый период COVID-19

Заболевания с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленные после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19/ степень поражения легких по данным КТ	Общее число обследованных пациентов (n=131)		Группа 1 КТ0 (n=38)		Группа 2 КТ1-2 (n=68)		Группа 3 КТ3-4 (n=25)	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Длительный субфебрилитет	63	48,1	13	34,2	36	52,9	14	56,0
Рецидивирующий герпес	85	64,9	21	55,3	46	67,7	18	72,0
ВПЧ	36	27,5	7	18,4	22	32,4	7	28,0
Высокая частота ОРВИ	42	32,1	12	31,6	19	27,9	11	44,0
Гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожно-жировой клетчатки	42	32,1	11	29,0	20	29,4	11	44,0
Хронические инфекции ЛОР-органов	79	60,3	22	57,9	40	58,8	17	68,0
Часто повторяющиеся/ хронические бронхиты и/или пневмонии, ХОБЛ	43	32,8	10	26,3	21	30,9	12	48,0
Лихорадка неуточненного генеза	30	22,9	5	13,2	19	27,9	6	24,0
Воспалительные заболевания почек (хронический пиелонефрит)	26	19,9	4	10,5	17	25,0 Р1-2 <0,0 5	5	20,0
Заболевания зубов и десен	48	36,6	16	42,1	24	35,3	8	32,0
Частые гнойные конъюнктивиты	14	10,7	4	10,5	4	5,9	6	24,0

Примечание: различия считались достоверно значимыми при $p < 0,05$.

По данным МКБ-10 и МКБ-11, все вышеперечисленные соматические и инфекционные заболевания имеют, в том числе, патогенетически значимые механизмы нарушений иммунной системы, как и COVID-19, в основе тяжелых форм которого также лежит повреждение иммунной системы. В связи с этим была произведена оценка иммунного статуса пациентов, вошедших в это клиническое исследование.

Биоинформационный анализ взаимодействия белков вируса SARS-CoV-2 с CD46

Прежде чем приступить к оценке иммунного статуса постковидных пациентов, мы провели биоинформационное исследование одного из новых предполагаемых механизмов взаимодействия вируса SARS-CoV-2 с

панлейкоцитарным рецептором клеток иммунной системы CD46, актуальность исследования которого описана выше. Мембранный ко-факторный белок CD46 через стимуляцию Т-лимфоцитов вызывает подавление иммунного ответа, продуцируя интерлейкин 10. CD46 является рецептором для ряда известных патогенов (*Liszewski M.K., et al. 2021*). Связываясь с CD46, эти патогены индуцируют выработку цитотоксических Т-клеток.

Таким образом, одним из весьма вероятных возможных путей развития осложнений SARS-CoV-2 в форме цитокинового шторма является взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с мембранным кофакторным белком CD46 человека, что открывает новое направление поиска средств лечения тяжелых форм SARS-CoV-2 инфекции.

Результаты биоинформационного исследования выявили взаимодействие антигенов вируса SARS-CoV-2 с панлейкоцитарным рецептором CD46 (рисунки 1-4).

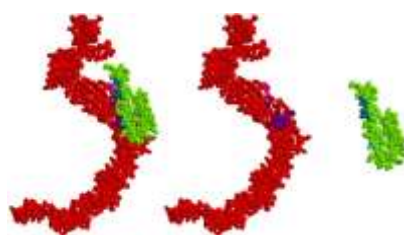


Рисунок 1 - Валидная 3D-модель белок-белкового комплекса CD46 человека и EPSARS-CoV-2

Слева направо: белок-белковый комплекс CD46–EP; отдельно CD46; отдельно EP

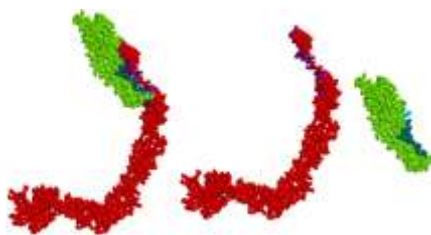


Рисунок 2 - Валидная 3D-модель белок-белкового комплекса CD46 человека и MPSARS-CoV-2

Слева направо: белок-белковый комплекс CD46–EP; отдельно CD46; отдельно EP



Рисунок 3 - Валидная 3D-модель белок-белкового комплекса CD46 человека и NP SARS-CoV-2

Слева направо: белок-белковый комплекс CD46–EP; отдельно CD46; отдельно EP

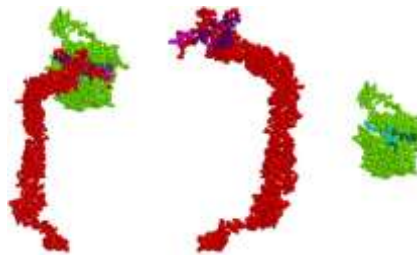


Рисунок 4 - Валидная 3D-модель белок-белкового комплекса CD46 человека и SP SARS-CoV-2

Слева направо: белок-белковый комплекс CD46–EP; отдельно CD46; отдельно EP

Таким образом, вирус SARS-CoV-2 может проникать в клетки с помощью S1 вирусного шипового (S) белка не только через связывание с ACE2, но и через другие рецепторы клеток. Как мы показали, к таким кандидатным рецепторам относится CD46, который также, как и CD45, относится к панлейкоцитарным рецепторам и экспрессируется на всех видах лейкоцитов. В свою очередь, SARS-CoV-2-инфекция сопровождается повреждением практически всех компартментов иммунной системы и, в первую очередь, Т-лимфоцитов (*Li M., et al., 2020; Mitsuyama Y., et al, 2021*). Известно, что при дефиците CD46 или его лиганда (C3/C3b) отмечается нарушение Th1-ответа и увеличивается риск рецидивирующих инфекций (*Le Friec G., et al., 2012*), в то время как нарушения со стороны Т-клеточного ответа отмечаются как в ходе самого заболевания (*Li M., et al 2020*), так и спустя длительные промежутки времени после клинического выздоровления (*Mitsuyama Y., et al, 2021*).

Иммунологические исследования

Нарушение экспрессии CD46 на Т-лимфоцитах.

Работ, определявших экспрессию CD46⁺ на лимфоцитах у пациентов с постковидным синдромом, в доступной литературе обнаружено не было.

Задачей данной части исследований явилось определение уровней экспрессии CD45 и CD46 на различных субпопуляциях лимфоцитов у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию.

На первом этапе исследования было выявлено, что при гейтировании лимфоцитов по CD45 по сравнению с CD46 у части пациентов процент Т-лимфоцитов, несущих рецептор CD45, был достоверно выше, чем при гейтировании по CD46, из 72 пациентов таких было 52 человека (72,2%), у остальных 20 человек процент Т-лимфоцитов несущих рецептор CD45 был равен или несколько ниже, чем при гейтировании по CD46.

Сравнение показателей субпопуляций лимфоцитов постковидных пациентов при гейтировании панлейкоцитарными маркерами CD45 и CD46 выявило закономерности, продемонстрированные на *рисунке 5*.

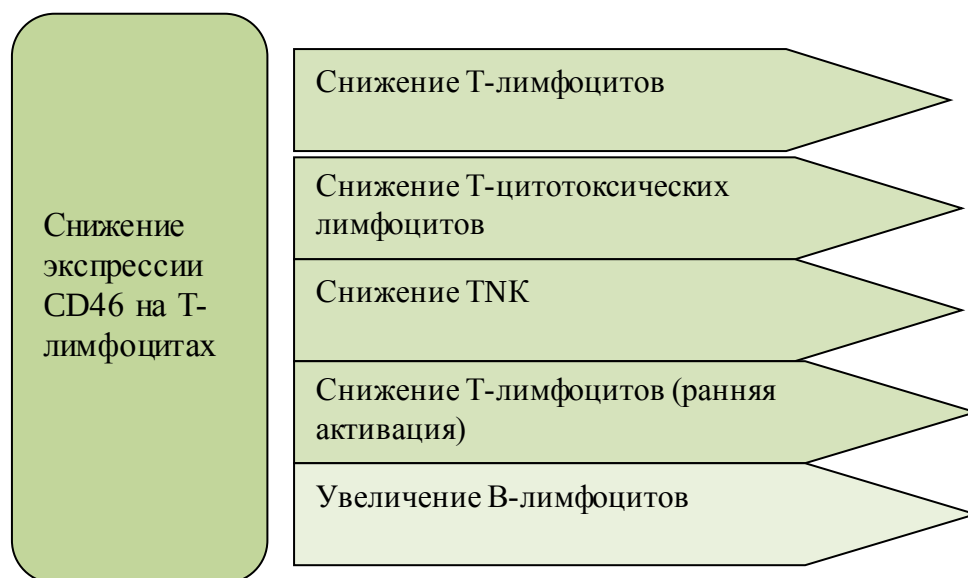


Рисунок 5 - Изменение показателей субпопуляций лимфоцитов постковидных пациентов со сниженным уровнем экспрессии CD46 на Т-лимфоцитах относительно пациентов с нормальным уровнем экспрессии CD46 ($p < 0,05$)

Как показали наши исследования, снижение экспрессии CD46 на Т-лимфоцитах ($CD3^+$) сопровождалось таким же уменьшением его экспрессии на цитотоксических Т-лимфоцитах ($CD3^+$, $CD8^+$), TNK ($CD3^+$, $CD56^+$), а также Т-хелперах, несущих маркеры ранней активации ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD25^+$). При этом наиболее выраженное снижение отмечалось как среди общих Т-лимфоцитов, так и цитотоксических. У этих больных несколько повышался уровень экспрессии CD46 на В-лимфоцитах. Последние данные говорят об отсутствии вовлечения в нарушение экспрессии рецептора CD46 на В-лимфоцитах. Более того, наблюдаемые изменения вполне могут быть вызваны взаимодействием вируса и CD46. Так, согласно литературным данным, CD46 вовлечен в контроль по меньшей мере трех ключевых метаболических событий: обработанный γ -секретазой внутриклеточный домен CYT-1 CD46 перемещается в ядро, где он индуцирует экспрессию белков-переносчиков (GLUT1, LAT1 и CAT1) и сборку mTORC1. Активация CD46 индуцирует повышенную экспрессию метаболических ферментов, включая синтазы жирных кислот, GAPD; также CD46 увеличивает активацию внутриклеточных пулов C5 с внутриклеточно генерируемым C5a, стимулирующим митохондриальный C5aR1, который управляет продукцией ROS и активацией NLRP3 инфламмасом в $CD4^+$ Т-клетках. Все это лежит в основе повышения гликолиза и увеличения продукции OXPHOS и ROS, необходимых для индукции продукции IFN- γ и экспрессии гранзима В, и, как следствие, реализации защитных эффекторных ответов Th1 Т-киллеров (Kunz N., et al 2021).

Особо стоит отметить, что выявленный комплекс изменений сохранялся у значительного числа переболевших пациентов на протяжении длительного

времени, что подчеркивается нарушениями экспрессии этого маркера на различных субпопуляциях Т-лимфоцитов. В целом же, полученные данные подтверждают гипотезу участия рецептора CD46 в патогенезе COVID-19. Более того, такое воздействие приводит к усилению симптомов постковидного синдрома у данных пациентов и требует формирования новых подходов к коррекции этих нарушений.

Нарушения экспрессии CD46 на NK-клетках

Натуральные киллеры (NK-клетки) играют определяющую роль в формировании выраженности ответа врождённого иммунитета у пациентов с COVID-19 (*Agergaard J., et al, 2022*), способствуя сбалансированности прямого ответа на вирус – путем устранения инфицированных клеток (дендритных клеток, моноцитов и Т-клеток). Нарушение этого баланса оказывается критичным в случае SARS-CoV-2, поскольку сверхактивный цитокиновый ответ, типичный для тяжелых случаев заболевания, приводит к развитию системных осложнений, полиорганной недостаточности и, в конечном итоге, к смерти (*Masselli E. et al, 2020*).

Таким образом, учитывая роль натуральных киллеров и активации системы комплемента при COVID-19, регуляторные свойства CD46 и полученные нами данные о его потенциальной вовлеченности в процессы проникновения вируса в клетку, мы сочли необходимым оценить изменение показателей натуральных киллеров (которые уменьшались у постковидных пациентов со снижением CD46), и связанных с их нарушением других различных субпопуляций лейкоцитов у пациентов с постковидом.

Было обследовано 96 пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию. Критерием включения в группы исследований были: подтвержденный диагноз SARS-CoV-2 инфекции методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), наличие IgA, M, G к вирусу SARS-CoV-2 инфекции, данные компьютерной томографии о перенесенной пневмонии (варианты: поражение легких от 25% до 75%).

Пациенты, участвующие в исследовании, были разделены по количеству NK-клеток. В качестве референсных интервалов и пороговых значений NK-клеток были приняты данные, представленные в монографии *Зурочка А.В. и соавт. (2018)*. Таким образом, нами было выделено 2 группы сравнения:

Группа 1 – постковидные пациенты с уровнем NK-клеток ниже нормы, n=46

Группа 2 – постковидные пациенты с нормальным уровнем NK-клеток, n=50

Гейтирование лимфоцитов панлейкоцитарными маркерами CD45⁺ и CD46⁺ показало, что у пациентов *группы 1* отмечено снижение NK-клеток более чем в 2 раза по сравнению с пациентами, относящимися к группе 2. При этом снижение натуральных киллеров сопровождалось повышением в 1,2 раза абсолютного и относительного числа общих Т-лимфоцитов, которое, по-видимому, происходило

за счет компенсаторного увеличения субпопуляций Т-хелперов и ТНК-лимфоцитов, а также ростом общего числа В-клеток памяти. Установлено, что увеличение общего числа В-лимфоцитов сопровождалось полуторакратным снижением уровня общего IgM.

Анализ показателей тромбоцитарного ростка кроветворения у пациентов со сниженным уровнем NK-клеток показал повышение в 1,3 раза количества тромбоцитов, в 1,1 раза тромбоцитокрита на фоне снижения среднего объема тромбоцитов.

Постковидные пациенты со сниженным уровнем NK-клеток также характеризовались значительным снижением показателя гематокрита, концентрации гемоглобина в эритроцитах, среднего корпускулярного объема гемоглобина, средней концентрации корпускулярного гемоглобина.

Таким образом, при пересчете по разным исходным точкам иммунной системы (формирование групп по снижению/норме NK-клеток и панлейкоцитарному маркеру CD46) состав групп может различаться и иметь как общие признаки, так и существенные различия. Все это свидетельствует о том, что при анализе полученных результатов нужно проводить более глубокие исследования популяционного состава лейкоцитов с учетом разных точек повреждения системы иммунитета.

Полученные в данной части исследований результаты свидетельствуют о том, что у части пациентов, ранее перенесших SARS-CoV-2 инфекцию и страдающих постковидным синдромом, четко прослеживается фенотип, связанный с нарушением систем врожденного иммунитета, включающего в себя снижение NK-клеток и панлейкоцитарного рецептора CD46.

Ранее другими авторами тоже было показано, что в течение первых 3 месяцев после выздоровления у пациентов с лёгкой и средней тяжестью течения острого COVID-19 наблюдалось значительное снижение общего количества NK-клеток (*Ruenjaiman V et al, 2022*). Эти данные согласуются с результатами наших исследований и свидетельствуют о том, что COVID-19 может влиять на количество и функции клеток врожденной иммунной системы (в том числе натуральных киллеров), приводя к развитию постострых последствий заболевания. В силу этого, эпигенетическая память иммунных клеток врожденного иммунитета и их предшественников может играть роль в развитии постковидных нарушений (*Cheong J.-G., et al, 2022*).

Отмеченные нарушения факторов врожденного иммунитета сопровождались изменениями в эритроцитарном и тромбоцитарном ростках кроветворения.

Изменения показателей иммунной системы, эритроидного, тромбоцитарного роста кроветворения у постковидных пациентов нарушением экспрессии CD46 на NK-клетках показаны на *рисунке 6*.

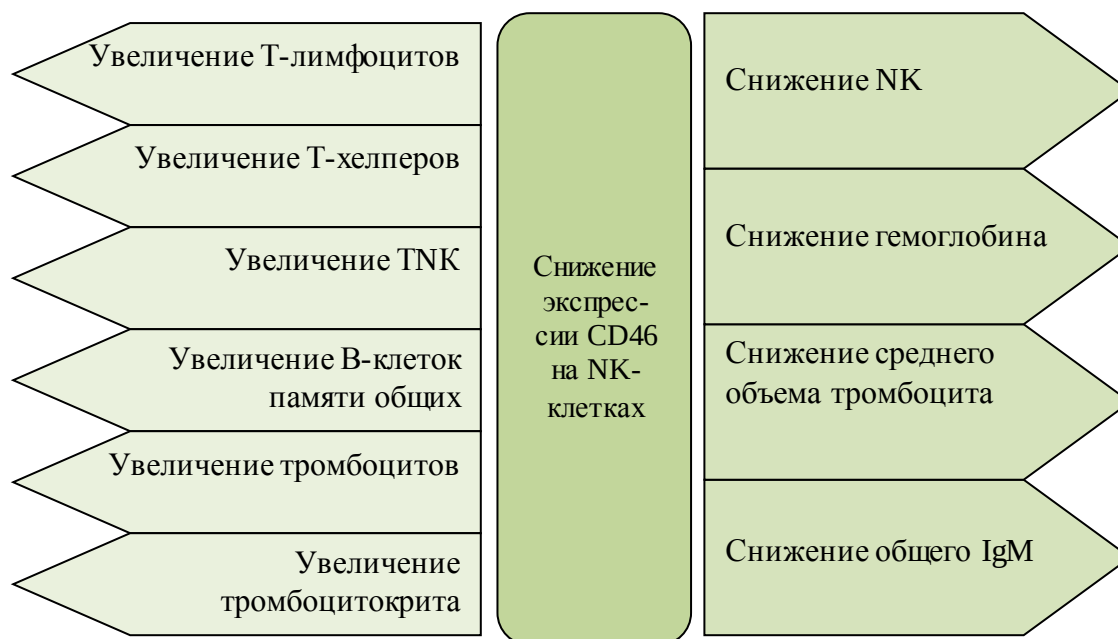


Рисунок 6 - Изменения показателей иммунной системы, эритроидного, тромбоцитарного роста кроветворения у постковидных пациентов с нарушением экспрессии CD46 на NK-клетках ($p < 0,05$)

Снижение эритроцитарных индексов может свидетельствовать о нарушении оксигенации организма. Было высказано предположение об ингибировании метаболизма гема путем связывания вирусного белка ORF8 с порфирином (*Liu W. et al, 2022*). Гемоглобин крови является наиболее простым для измерения гемопротеином, однако в метаболизме клеток принимает участие большое количество других важных белков, представляющих собой гемопротеины (миоглобин, каталаза, циклооксигеназа, пероксидаза, цитохром р450 и синтаза оксида азота, митохондриальные белки), которые, по-видимому, также могут снижаться при COVID-19. Подобные события приводят к белковой дисфункции, повреждению клеток, потере энергии митохондриями и утечке железа с последующим повышением уровня ферритина в сыворотке, а также к усталости и объективной мышечной слабости, о которых сообщают пациенты (*Pasini E., et al, 2021*).

Кроме того, для постковидных пациентов с нарушенным иммунным статусом характерны тромботические осложнения (*Wang C. et al, 2022*). Установлено повышение общего количества тромбоцитарных пластинок при одновременном снижении их среднего объема. Согласно литературным данным, нарушение регуляции врожденной и адаптивной иммунных систем является одним из критических факторов, вызывающих тромбоз при COVID-19 (*Sumbalova Z. et al, 2022*): у пациентов после COVID-19 снижены функция дыхательной цепи

митохондрий тромбоцитов, окислительное фосфорилирование и уровень эндогенного CoQ10, что приводит к нарушению их функциональной активности (Sumbalova Z., et al, 2022).

Результаты нашего исследования показали значительное снижение у постковидных пациентов как общего количества Т-лимфоцитов, так и NK-клеток, несущих на своей поверхности рецептор CD46. По-видимому, именно лигирование CD46 вирусом индуцирует его подавление (Ni Choileain S., et al 2012). Известно, что в супернатантах CD46-активированных Т-клеток выделение CD46 приводит к образованию растворимого CD46 (sCD46), способного связывать лиганды. В свою очередь, активированные Т-клетки секретируют C3b, который связывается с выделенным sCD46 и приводит к ингибированию Т-клеток в петле отрицательной обратной связи (Ni Choileain S., et al, 2012). Вероятно, именно эти механизмы иммунопатогенеза определяют дисфункцию Т-клеточного звена и, как следствие, развитие постострых симптомов COVID-19. Таким образом, можно сделать предварительные выводы по полученным результатам исследования:

- У части постковидных пациентов через 6 месяцев и более сохранялось повреждение врожденных факторов иммунной системы, а именно, снижение уровня NK-клеток (48 %) и клеток, имеющих панлейкоцитарный маркер CD46 (64,5%).

- Снижение натуральных киллеров сопровождалось повышением уровня общих Т-лимфоцитов, преимущественно за счет Т-хелперов и ТНК-лимфоцитов, и ростом общих В-клеток памяти, которое сочеталось со снижением уровня общего IgM.

- Снижение уровня NK-клеток сопровождалось нарушением тромбоцитарного (повышением уровня тромбоцитов, тромбоцитокрита на фоне снижения среднего объема тромбоцитов) и эритроидного (снижением гемоглобина, гематокрита, среднего корпускулярного объема гемоглобина, средней концентрации корпускулярного гемоглобина) ростков кроветворения.

- У пациентов со сниженной экспрессией CD46 на Т-лимфоцитах значительно снижено как общее количество этих клеток, так и NK-клеток. Полученные нами данные указывают на участие CD46 и NK-клеток в развитии не только инфекции SARS-CoV-2, но и постковидного состояния.

Все это, а также выявленные нами нарушения факторов приобретенного иммунитета, связанные также с повреждением CD46 рецепторов лейкоцитов обосновывает важность оценки главных противовирусных параметров приобретенной системы иммунной защиты, а именно цитотоксических Т-лимфоцитов и В-клеток.

Нарушения со стороны Т-цитотоксических клеток

Развитие SARS-CoV-2 инфекции характеризуется повреждением различных звеньев иммунной системы, которые вовлекаются в процесс противодействия вирусу, и эти повреждения могут оставаться достаточно длительное время. Выявлено, что у пациентов с COVID-19 определяются различные нарушения со стороны Т-клеток (Jouan Y., 2020).

У больных COVID-19 отмечается уменьшение количества $CD3^+CD4^+$ Т-лимфоцитов, $CD3^+CD8^+$ Т-лимфоцитов, $CD19^+$ В-лимфоцитов и $CD16^+CD56^+$ NK-клеток в периферической крови (Wu Y., et al, 2020)

Стоит отметить и роль регуляторных Т-reg при SARS-CoV-2-инфекции. Было показано, что $FoxP3^+CD25^+CD4^+$ Т-reg накапливаются в лимфатических узлах средостения при вирусной пневмонии и ограничивают функцию эффекторных Т-клеток $CD8^+$. Таким образом, Тreg могут играть достаточно важную роль в замедлении клиренса вируса, что приводит к быстрому прогрессированию заболевания и поражению центральной нервной системы (Girija A., 2020)

Как правило, все эти исследования проводились у пациентов в острую фазу развития SARS-CoV-2 инфекции. Исследование клеток иммунной системы, в том числе и цитотоксических Т-лимфоцитов, у постковидных пациентов практически не проводилось. Малочисленные фундаментальные исследования состояния иммунной системы у постковидных пациентов, и, в частности, цитотоксических Т-лимфоцитов, отсутствие подходов к терапии нарушений иммунных механизмов у таких больных может серьезно осложнить сроки реабилитации постковидных пациентов и ухудшить прогноз их дальнейшей выживаемости при последующих вирусных (в том числе и сезонных) заболеваниях.

Учитывая, что Т-цитотоксические клетки (T_c , $CD3^+CD8^+$) являются одними из ключевых клеток иммунной системы, участвующих в противовирусной защите (Зурочка А.В. и соавт., 2018), мы сочли необходимым оценить параметры иммунной системы, связанные с нарушением цитотоксических Т-клеток у постковидных пациентов.

Было обследовано 78 пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию.

Пациенты были разделены на 2 группы:

1. Пациенты с уровнем цитотоксических Т-клеток ниже нормы.
2. Пациенты с нормальным уровнем цитотоксических Т-клеток. За норму цитотоксических Т-клеток были приняты данные, представленные в монографии Зурочка А.В. и соавт. (2018).

При анализе полученных результатов выявлено, что у 44,8% обследованных лиц в 1,7 раза снижено количество цитотоксических Т-клеток. Это явление сопровождалось снижением уровня Т-лимфоцитов в целом, ТНК-лимфоцитов,

некоторым ростом Т-хелперов, увеличением соотношения CD4/CD8 клеток, уровней В-лимфоцитов, за счет В-общих и В-лимфоцитов CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁻, В-лимфоцитов CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁻CD27⁻ не клеток памяти, относящихся к плазмцитам (или, иначе, наиболее активно продуцирующим иммуноглобулины В-клеткам).

Изменения показателей иммунной системы у постковидных пациентов с нарушением уровня цитотоксических Т-клеток представлены на *рисунке 7*.

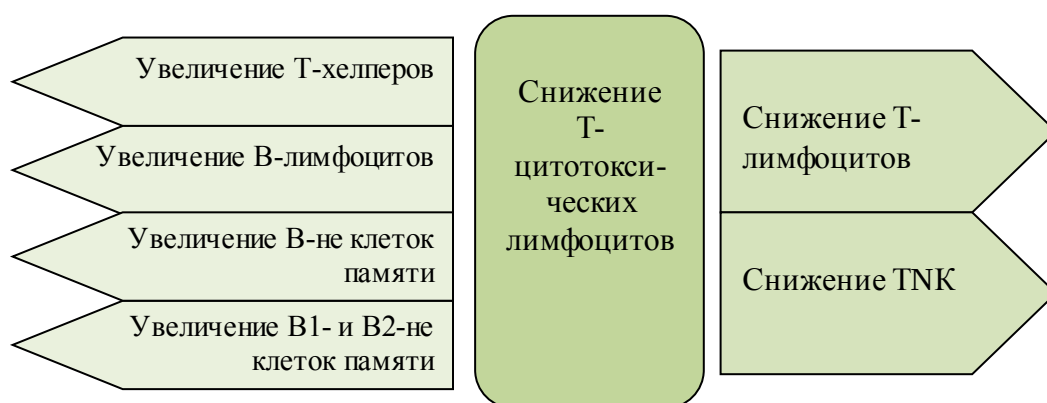


Рисунок 7 - Изменения показателей иммунной системы у постковидных пациентов с нарушением уровня цитотоксических Т-клеток ($p < 0,05$)

Все эти данные свидетельствуют о том, что у постковидных пациентов в большей степени формируется иммунный ответ по TH2-типу (усиление продукции антител), а не по TH1-типу (формирование клеточных иммунных реакций) (Зурочка А.В. и соавт., 2018). Кроме того, у таких больных наблюдается нарушение TH1 ответа и увеличивается вероятность развития патологических процессов, связанных с неадекватным ответом на вирусные антигены (включая повторные заражения вирусом SARS-CoV-2, обострения хронических инфекций). Выявленное нами снижение Тс-клеток и нарушение регуляции TH1/TH2 ответов также может способствовать и обострению заболеваний, вызванных персистирующими вирусами (например, герпетическими). Возможно, выявленные нами нарушения у таких пациентов могут способствовать возникновению или обострению аллергических и аутоиммунных процессов при нарушении функционирования (гиперактивации) В-клеточного звена иммунной системы. Очень важным также является и выявленное почти двукратное снижение ТНК-лимфоцитов. Многие авторы относят подобные нарушения этих клеток к снижению противовирусной активности иммунной системы, что может способствовать как некачественному ответу на новые вирусные антигены, так и активации хронических вирусных инфекций (Зурочка А.В. и соавт., 2018). Все это требует более детального исследования как с точки зрения дальнейших клинических наблюдений за этими пациентами, так и с точки зрения разработки методов коррекции выявленных нарушений иммунной системы.

Полученные нами данные о компенсаторном изменении субпопуляций В-лимфоцитов, в том числе и у пациентов с нарушением экспрессии CD46 рецепторов, поставили перед нами вопрос о роли В-лимфоцитов у постковидных пациентов.

Нарушения со стороны В-клеток

В то время как большинство исследований, посвященных иммунным нарушениям у лиц с постострыми последствиями COVID-19, направлено на анализ клеток врожденного иммунитета и популяций Т-лимфоцитов (*Turner J.S., et al, 2021*), повреждению В-клеточного звена иммунной системы, который определяет продолжительность и широту защитного иммунитета, уделено недостаточно внимания. SARS-CoV-2 вызывает стойкий ответ В-клеток (*Laidlaw B.J., et al, 2022*), но уровни антител со временем снижаются, что повышает риск ослабления иммунитета, поскольку титр нейтрализующих антител снижается ниже порогового значения, необходимого для защиты от повторного заражения (*Dan J.M., et al, 2021*).

В тех работах, которые были посвящены долгосрочным В-клеточным ответам (*Files J.K. et al, 2021*), также было показано усиление активации В-клеток, определяемое повышением частоты маркеров CD95⁺, CD69⁺ и PD1⁺, которое с течением времени возвращается к нормальным значениям. Однако устойчивое присутствие В-клеток FCRL4⁺ и PD1⁺ у таких пациентов предполагает сохранение их дисрегуляции (*Files J.K. et al, 2021*). Крайне важно, что содержание антигенспецифичных В-клеток памяти к SARS-CoV-2 обычно пропорционально тяжести COVID-19, и в группе с тяжелым течением заболевания, как правило, наблюдается более высокое содержание всех В-клеток памяти IgM⁺, IgA⁺ и IgG⁺ по сравнению с другими группами (*Kang C.K., et al, 2022*), что придает их анализу особую значимость.

В наших исследованиях было показано, что у пациентов, перенесших острый COVID-19, отмечается три вида нарушений иммунной системы, выделенных нами в отдельные фенотипы (поражение NK-клеток, цитотоксических клеток и клеток, несущих рецептор CD46). В то же время, исследование В-клеток отдельно не проводилось, что и сформировало дальнейшую задачу, которая заключалась в оценке В-клеточного ростка иммунной системы у постковидных пациентов и особенностей нарушений иммунной системы у таких больных.

Было обследовано 98 пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию.

Формирование групп проводилось по уровню В-клеток памяти с фенотипом CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺. Выбор данной популяции для сравнения был обусловлен тем, что при предварительном индивидуальном анализе был выявлен ряд пациентов с очень высоким уровнем этих клеток. В качестве референсных

интервалов и пороговых значений субпопуляций В-клеток и В-клеток памяти были приняты данные, представленные в монографии *Зурочка А.В. и соавт. (2018)*. Таким образом, нами было выделено 2 группы:

Группа 1 – постковидные пациенты с повышенным уровнем В-клеток памяти $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$ (n=15);

Группа 2 – постковидные пациенты с нормальным уровнем В-клеток памяти $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$ (n=83).

При делении общей выборки исследованных постковидных пациентов по уровню В-клеток памяти $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$ было выявлено, что у 15,3% наблюдался повышенный абсолютный и относительный уровень В-клеток памяти $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$ по сравнению с группой с нормальным их содержанием. Это повышение сопровождалось трехкратным увеличением количества общих В-клеток памяти и четырехкратным повышением В-общих лимфоцитов $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+$ (преимущественно за счет В-клеток памяти $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$).

Содержание субпопуляций В-лимфоцитов у постковидных пациентов с нарушением уровня В1-клеток памяти представлено на *рисунке 8*.

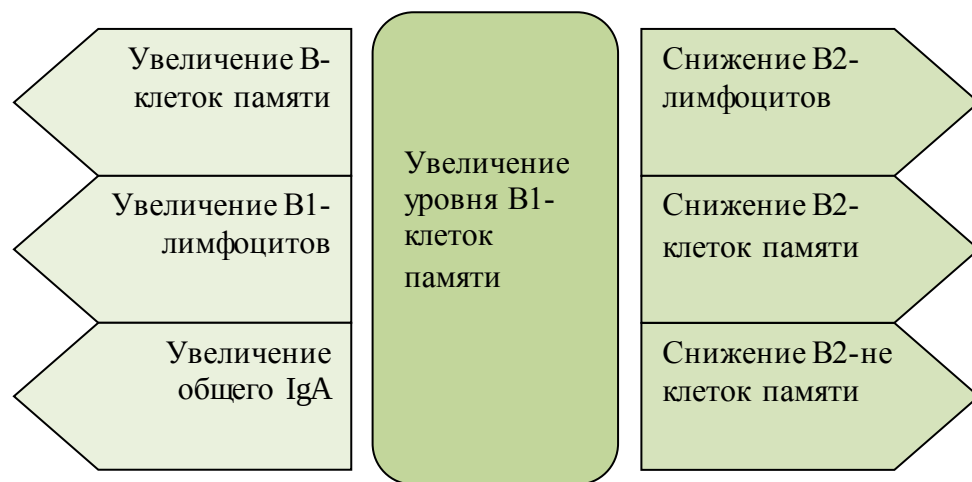


Рисунок 8 - Содержание субпопуляций В-лимфоцитов у постковидных пациентов с нарушением уровня В1-клеток памяти ($p < 0,05$)

В тоже время у этих пациентов обнаружено снижение более чем в 4 раза субпопуляции общих В-лимфоцитов с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^-$, которое происходило как за счет снижения В-лимфоцитов клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^-CD27^+$, так и В-лимфоцитов не клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^-CD27^-$. Кроме того, у пациентов с повышенным уровнем В-клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$ отмечено усиление продукции IgA.

Анализ полученных показателей выявил нарушение врожденных факторов иммунной системы. Так, у пациентов, перенёсших COVID-19, с повышенным уровнем В-клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3-CD19^+CD5^+CD27^+$ отмечено значимое абсолютное и относительное снижение уровня натуральных киллеров $CD45^+CD3-CD16^+56^+$ (NK-киллеры, абс, 10^6 кл/л – группа 1: $208,8 \pm 20,7$; группа 2: $269,4 \pm 20,3$; NK-киллеры, отн, % – группа 1: $9,2 \pm 1,2$; группа 2: $12,3 \pm 0,7$). Вместе с тем, у этих пациентов обнаружено снижение на 13% C3a-фрагмента комплемента относительно группы постковидных пациентов с нормальным уровнем В-клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3-CD19^+CD5^+CD27^+$ (группа 1: $100,3 \pm 4,3$; группа 2: $114,8 \pm 2,9$).

Исследование популяции Т-лимфоцитов у постковидных пациентов группы 1 выявило повышение ее уровня по сравнению с группой 2, а также изменения в субпопуляционном составе. Так, у пациентов с повышенным содержанием В-клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3-CD19^+CD5^+CD27^+$ отмечено снижение в 1,3 раза Т-регуляторных клеток и в 1,6 раз Т-клеток ранней активации лимфоцитов ($CD25^+$).

В целом, исследование подтверждает литературные данные о наличии устойчивого изменения лимфоцитов после перенесенного COVID-19 (*Shuwa H.A. et al, 2021; Laidlaw B.J., et al, 2022*). Более того, нами были выделены дистинктные фенотипы по ответу иммунной системы у постковидных больных. В этом ключе интересно сопоставить наши результаты с работой H.S.Shuwa (2021), в которой также было выделено 3 подгруппы выздоравливающих пациентов на основе различных фенотипов лимфоцитов, при этом выявление одной из них четко ассоциировалось с худшим клиническим исходом (*Shuwa H.A. et al, 2021*). В данной работе группа 1 характеризовалась высокой экспрессией транспортирующих молекул и увеличенной долей наивных В- и Т-клеток; группа 2 - высокой долей IgA^+ и IgG^+ , В-клеток и В-клеток памяти (как переключаемых, так и неперключаемых), а группа 3 показала повышенное содержание цитотоксических Т-клеток, $CD8^+$ TEMRA и цитокинов типа 1 как $CD8^+$, так и $CD4^+$ Т-клеток и характеризовалась худшей клинической картиной (*Shuwa H.A. et al, 2021*).

Интересно, что пациенты группы 2 (наиболее близкой к выявленной нами), по анамнестическим и демографическим характеристикам не отличались от группы 3, но имели существенно более благоприятную (по данным рентгенографии) клиническую картину. В силу этого, можно говорить, что именно особенности иммунного ответа являлись фактором, определяющим процесс выздоровления.

По-видимому, у пациентов с повышенным уровнем В-клеток памяти $CD45^+CD3-CD19^+CD5^+CD27^+$ сформировался особый тип нарушения иммунной

системы, заключающийся в дезорганизации переключения В-лимфоцитов с синтеза IgM на IgG и IgA, что привело к резкому снижению В-субпопуляций лимфоцитов CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁻. Возможно, такое нарушение связано с резким снижением Т-регуляторных лимфоцитов и Т-лимфоцитов, отвечающих за регуляцию дифференцировки В-лимфоцитов с клеток, несущих IgM рецепторы, на клетки, синтезирующие IgG и IgA (Т-лимфоцитов ранней активации, несущих маркер к IL-2). Необходимо отметить, что представленность изотипов Ig среди популяции В-клеток памяти, специфичных для SARS-CoV-2, меняется со временем (*Dan J.M., et al, 2021*), что является как ограничением данного исследования, так и причиной возможных расхождений с другими авторами, которые исследовали больных в другие временные периоды.

В целом, настоящее исследование подтверждает данные о наличии фенотипических и функциональных изменений в В- и Т-клетках по всей траектории иммунного ответа и выявляет комплекс изменений лимфоцитов у выздоравливающих пациентов с COVID-19 (*Shuwa H.A. et al, 2021*), который может быть ассоциирован с развитием долгосрочных осложнений в виде антипатогенных или аутовоспалительных реакций и требует адресной иммунокоррекции.

Таким образом, наиболее выраженные клинико-иммунологические проявления постковидного синдрома выявляются при анализе заболеваний инфекционно-воспалительной природы с фенотипами нарушений иммунной системы.

Всё это свидетельствует о том, что обследование постковидных пациентов следует проводить, не только оценивая их клинические характеристики, но и анализируя их иммунный статус.

При сопоставлении фенотипов нарушений иммунной системы у постковидных пациентов в зависимости от степени поражения легких в остром периоде коронавирусной инфекции получены достоверные различия между группой 1 (КТ 0) по сравнению с другими группами. При этом в группе 1 не было найдено ни одного фенотипа нарушений в отличие от второй и третьей групп (КТ1-2 и КТ3-4, соответственно) и эти показатели были достоверно лучше, чем в группах с поражением легких. Это свидетельствует о том, что формирование фенотипов иммунной патологии характерно только для пациентов с поражением легких вне зависимости от степени поражения легких, а состояние иммунной системы таких пациентов необходимо оценивать для постановки правильного диагноза и назначения этиологической и патогенетической терапии, в том числе и иммунной терапии.

Однако, как показали предыдущие наши исследования, клинические проявления постковидного синдрома, хоть и в меньшей степени, но характерны

также для лиц, перенесших COVID-19 без поражения легких, поэтому следующим этапом исследования было сравнение уровня показателей системы комплемента у постковидных пациентов в зависимости от степени тяжести течения острой коронавирусной инфекции как одной из ключевых составляющей иммунной системы. Анализ данных показал, что у всех пациентов, перенесших COVID-19, увеличена активность C5a фрагмента комплемента, что свидетельствует о длительной (не менее полугода) стимуляции классического пути активации комплемента. Также обращает на себя внимание стойкое снижение активности C1q, отвечающего за нормализацию активированного комплемента, у наиболее клинически тяжелых пациентов. Эти данные свидетельствуют о том, что вирус SARS-CoV-2 может взаимодействовать с рецептором CD46 и активировать комплемент, а также объясняют наличие клинических проявлений постковидного синдрома у лиц, перенесших острый COVID-19 в легкой форме без поражения легких по данным компьютерной томографии и не имеющих выявленных нами ранее фенотипов повреждения иммунной системы.

Таким образом, все полученные нами данные приводят нас к новой концепции патогенеза постковидного синдрома: предполагаемое взаимодействие белков SARS-CoV-2 (NP>MP>SP>EP) с рецептором CD46, во-первых, вызывает длительно сохраняющуюся активацию системы комплемента у всех пациентов с постковидным синдромом, наиболее выраженную у лиц, перенесших тяжелую форму острой коронавирусной инфекции с поражением легких по типу "матового стекла" более 50% по данным компьютерной томографии, а, во-вторых, к нарушению экспрессии рецептора CD46 на клетках иммунной системы у лиц, перенесших COVID-19 с поражением легких по типу "матового стекла" по данным компьютерной томографии, что сопровождается рядом нарушений в формировании этих клеток и формирует, в свою очередь, не пересекающиеся между собой фенотипы иммунных нарушений у пациентов с постковидным синдромом (*рисунок 9*).

Эти данные приводят нас к необходимости проведения иммунокоррекции данных пациентов.

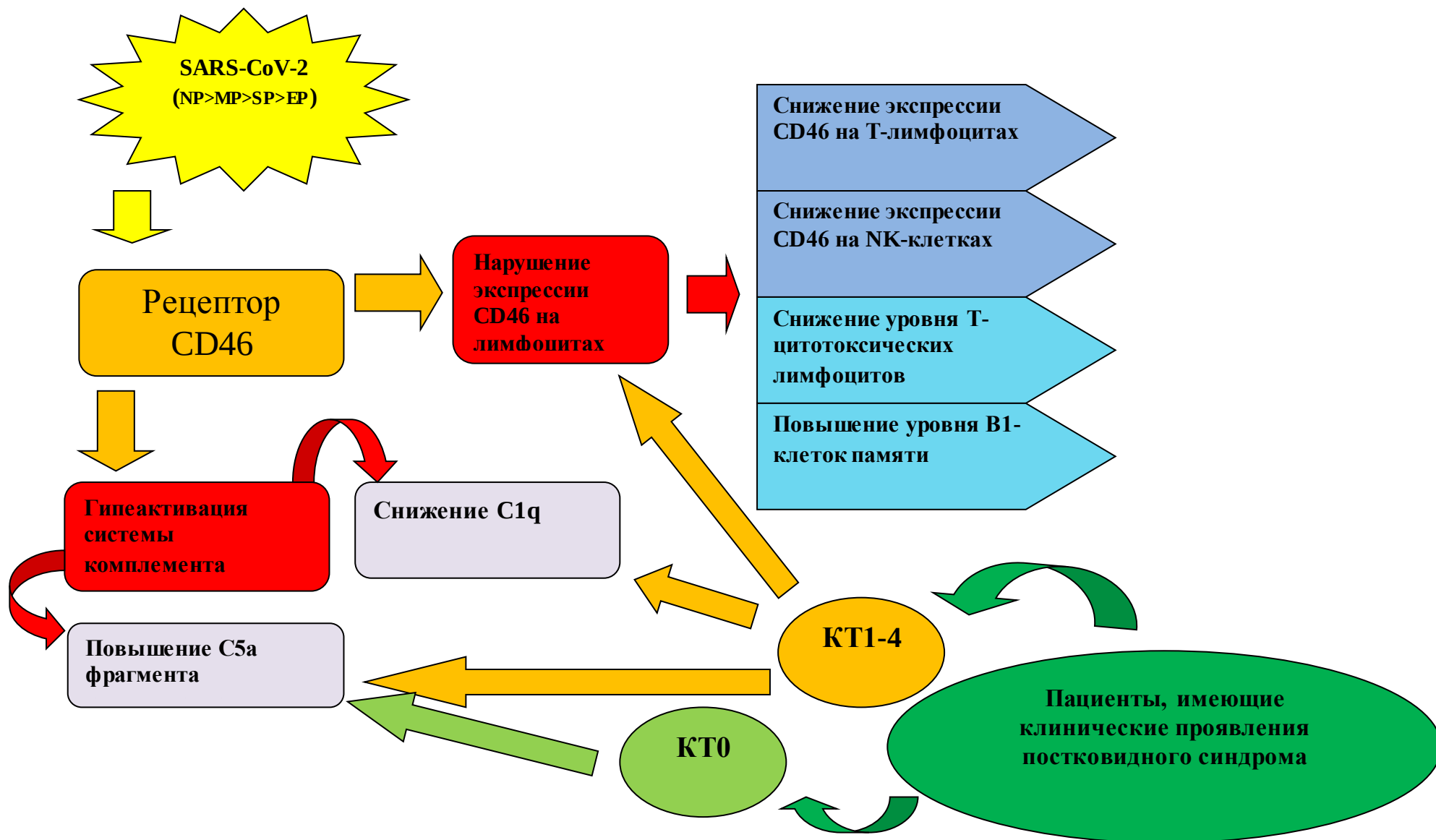


Рисунок 9 - Схема патогенеза постковидного синдрома

Применение синтетического пептида активного центра GM-CSF для коррекции выявленных нарушений

Выявленные нарушения иммунной системы, отмечающиеся у постковидных пациентов, требуют разработки подходов к их иммунокоррекции. Одним из таких подходов является применение синтетического пептида активного центра GM-CSF, успешно применявшегося при различных патологических состояниях, в том числе при патологиях, связанных с нарушениями в иммунной системе человека, в том числе, и при вирусных инфекциях.

Работ, посвященных иммунокоррекции нарушений иммунной системы у постковидных пациентов, в доступной литературе обнаружено не было. Однако получение фундаментальных знаний об иммунокоррекции у постковидных пациентов является крайне востребованным, так как они могут позволить разработать новые подходы к лечению и реабилитации больных, в том числе и при иных вирусных (в том числе и сезонных) заболеваниях.

Таким образом, учитывая роль иммунной системы в формировании нарушений у постковидных пациентов, мы проанализировали возможность применения у таких больных синтетического пептида активного центра GM-CSF.

Результаты исследований показали, что местное применение на слизистых синтетического пептида активного центра GM-CSF (Ацеграм-спрей) достоверно влияет преимущественно на функциональную бактерицидную активность нейтрофилов, увеличивает процент Т-хелперов и С3а фрагмент комплемента.

Изменение показателей иммунной системы после применения синтетического пептида активного центра GM-CSF у постковидных пациентов показано на *рисунке 10*.

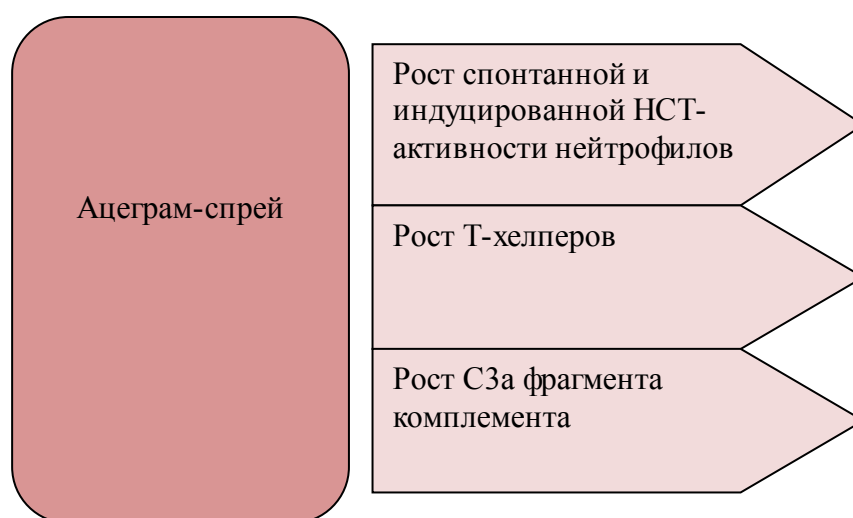


Рисунок 10 - Изменение показателей иммунной системы после применения синтетического пептида активного центра GM-CSF у постковидных пациентов (p<0,05)

По остальным показателям иммунной системы достоверных отличий выявлено не было.

Как показали наши исследования, синтетический пептид активного центра GM-CSF влияет преимущественно на активность бактерицидной системы нейтрофилов (уровни спонтанной и индуцированной НСТ). При этом также увеличивается число Т-хелперов и активность классического пути активации комплемента (С3а). Все это свидетельствует о том, что пептид, в основном, действует на врожденные факторы иммунной системы, в то же время, скорее всего, через их активацию влияет и на Т-клеточное звено иммунной системы у постковидных пациентов. Отсутствие влияния на другие компартменты иммунной системы говорит о том, что формирование подходов к терапии постковидных пациентов с нарушением иммунной системы требует поиска дополнительных иммуномодуляторов, влияющих, в том числе, и на Т-, В- и NK-клетки. Все это, конечно же, требует дополнительных исследований в данном направлении.

Применение глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) для коррекции выявленных нарушений

Еще одним из таких подходов является применение ГМДП, успешно применявшегося при различных патологических состояниях, в том числе при патологиях, связанных с нарушениями в иммунной системе человека при вирусных инфекциях (*Лусс Л.В. и соавт., 2019; Половинкина В.С. и соавт., 2012; Хочанский А. Н. и соавт., 2014*).

Работ, посвященных иммунокоррекции нарушений иммунной системы у постковидных пациентов глюкозаминилмурамилдипептидом, в доступной литературе обнаружено не было.

Поэтому следующей задачей исследования была оценка влияния глюкозаминилмурамилдипептида на состояние иммунной системы пациентов с постковидным синдромом иммунопатологии.

Было обследовано 24 пациента, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию.

Пациенты были разделены на 2 группы по гейтированию панлейкоцитарными маркерами:

1. Пациенты с постковидным синдромом нарушений иммунной системы до применения ГМДП (n=24).
2. Пациенты с постковидным синдромом нарушений иммунной системы после применения ГМДП (n=24).

Схема лечения применялась ранее у больных с герпетическими инфекциями. Повторное исследование иммунной системы проводили через месяц после применения ГМДП.

Результаты исследований показали, что применение глюкозаминилмурамилдипептида достоверно влияло на функциональную бактерицидную активность нейтрофилов, снижая их спонтанную НСТ-активность, увеличивало процент В-плазматических клеток, преимущественно за счет В-лимфоцитов не клеток памяти фракции $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^-CD27^-$, при этом отмечался рост специфических IgG к вирусу SARS-CoV-2, снижалась активность C5a фрагмента комплемента. При этом нормализовались и показатели эритроидного и тромбоцитарного ростков кроветворения. Остальные показатели иммунной системы не имели достоверных отличий.

Изменения показателей иммунной системы, параметров тромбоцитов и эритроцитов до и после применения глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) у постковидных пациентов представлены на *рисунке 10*.

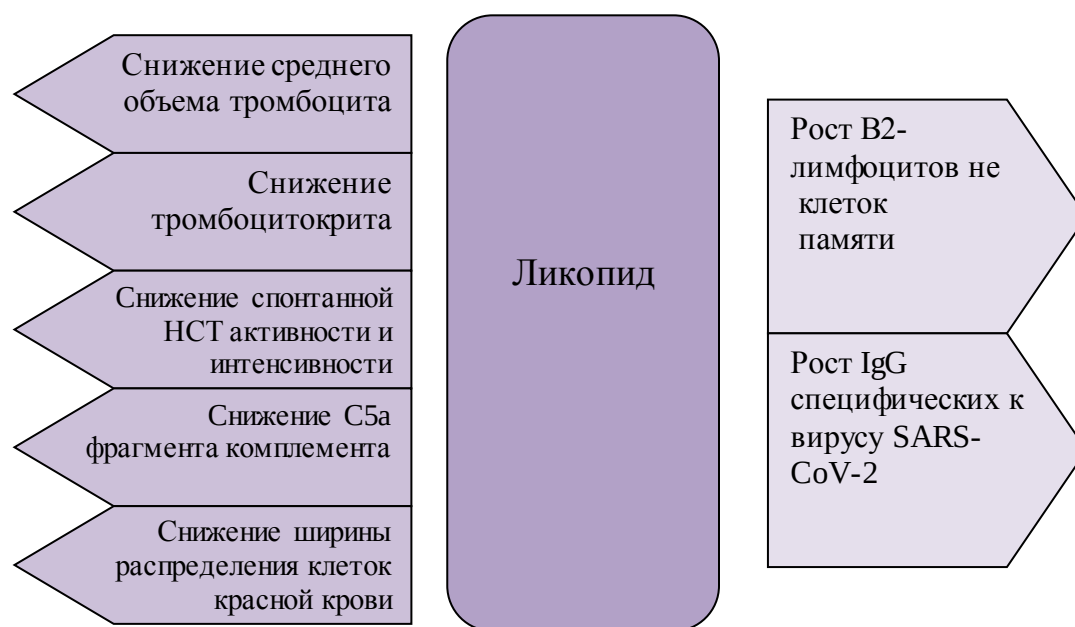


Рисунок 10 - Изменения показателей иммунной системы, параметров тромбоцитов и эритроцитов после применения глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) у постковидных пациентов ($p < 0,05$)

Как показали наши исследования, глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) повлиял на активность бактерицидной системы нейтрофилов (снижая уровни спонтанной НСТ-реакции). При этом увеличивался процент В-плазматических клеток, преимущественно за счет В-лимфоцитов не клеток памяти с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^-CD27^-$, сопровождающийся ростом специфических IgG к вирусу SARS-CoV-2, снижалась активность C5a фрагмента комплемента. Все это свидетельствует о том, что ГМДП нормализует не только факторы врожденного иммунитета (фагоцитов и комплемента), но и стимулирует гуморальный иммунный ответ, в том числе и специфический. Последний факт, возможно, связан с тем, что ГМДП в данной ситуации может уменьшать запрограммированную гибель

активированных В-лимфоцитов, тем самым усиливая (сохраняя) их ответ на иммунную систему, измененную под действием вируса SARS-CoV-2, но данный вопрос требует более тщательного исследования. Что очень важно, ГМДП нормализует показатели именно плазматических клеток вторичного иммунного ответа, а значит, влияет позитивно на их дифференцировку с IgM на IgG ответ (такой фенотип нарушения был нами описан в предыдущих разделах). Очень важным является и факт его влияния на эритроидный и тромбоцитарный ростки кроветворения, так как это способствует улучшению оксигенации органов и тканей и снижает риск развития тромбоцитарных осложнений. Отсутствие влияния на Т- и NK- звенья иммунной системы свидетельствует о сложных механизмах регуляции иммунной системы у постковидных пациентов и важности поисков новых подходов к коррекции этих нарушений. Все это требует поиска дополнительных иммуномодуляторов, влияющих в том числе и на Т- и NK-клетки. Поиск таких препаратов является одной из ключевых проблем для данного вида патологии.

Таким образом, помимо клинической и лабораторной характеристики вариантов нарушений иммунной системы постковидных пациентов, нами разработан подход к коррекции этих нарушений, позволяющий восстанавливать функции фагоцитов, Т- и В-лимфоцитов. Также, в зависимости от выбора препарата, восстанавливаются нарушенные функции других компартментов системы крови (тромбоцитарный и эритроцитарный ростки кроветворения).

Подводя итоги проделанной диссертационной работы, можно говорить о том, что новая концепция патогенеза постковидных нарушений иммунной системы позволяет найти новые подходы к иммунокоррекции постковидных пациентов, в том числе исходя из анамнеза острого заболевания новой коронавирусной инфекцией: постковидные пациенты с клиническими проявлениями постковидного синдрома и SARS-CoV-2-ассоциированной вирусной пневмонией в анамнезе нуждаются не только в полноценном клиническом обследовании, но и, в первую очередь, в проведении расширенного спектра иммунодиагностики и, при необходимости, персонифицированного подхода к иммунокоррекции, тогда как как пациенты, перенесшие COVID-19 без поражения легких, имеют нарушения активации системы комплемента крови и требуют тщательного клинического обследования, так как подобные изменения в системе врожденного иммунитета также могут повлечь за собой тяжелые последствия для различных систем органов.

Диспансерное наблюдение данной группы пациентов продолжается. После применения этих двух препаратов у пациентов с постковидным синдромом, согласно проведенному анкетированию и сбору анамнеза, снизились симптомы астенизации, уменьшилась выраженность болевого синдрома при неврологической симптоматике, снизилась частота обострений хронических инфекционных

заболеваний, а также частота обострений хронических заболеваний эндокринной системы, а по данным лабораторной диагностики нормализовались показатели тромбоцитарного и эритроцитарного ростков кроветворения.

ВЫВОДЫ

1. У большинства пациентов при развитии постковидного синдрома иммунопатологии формируются нарушения нервной, эндокринной, иммунной систем и обострение хронических инфекционных процессов, свидетельствующие о проявлении полиорганной патологии.

2. У пациентов с постковидным синдромом от тяжести течения COVID-19 в остром периоде зависит учащение обострений таких клинических синдромов как пролиферативный, аллергический, в меньшей степени, и поражения сердечно-сосудистой, эндокринной, гепатобилиарной и нервной систем, достоверно в большей степени, тогда как от тяжести течения COVID-19 в остром периоде не зависит развитие клинических проявлений аутоиммунного и инфекционного синдромов, а зависит от наличия перенесенной коронавирусной инфекции.

3. Биоинформационный анализ показал, что белки вируса SARS-CoV-2 могут взаимодействовать с CD46 рецептором лейкоцитов человека, наиболее интенсивно с CD46 человека взаимодействует белок NP, за ним по интенсивности взаимодействия следует белок MP, белок SP находится на третьем месте, а наименее интенсивно с CD46 взаимодействует белок оболочки EP.

4. Существует 4 новых, не известных ранее фенотипа повреждения врожденной (снижение экспрессии рецептора CD46 на Т-лимфоцитах, снижение уровня NK-клеток) и приобретенной (нарушение В-клеточного звена лимфоцитов, снижение уровня Т-цитотоксических клеток) иммунной системы у постковидных пациентов.

5. Применение местно на слизистые оболочки (ротоглотка) человека синтетического пептида активного центра GM-CSF стимулирует спонтанную и индуцированную НСТ-активность нейтрофилов, C3a- фрагмента комплемента, активирует Т-хелперы.

6. Применение глюкозаминилмурамилдипептида снижает спонтанную НСТ-активность нейтрофилов, C5a- фрагмента комплемента, увеличивает процент В плазматических клеток, преимущественно за счет В2-лимфоцитов, при этом отмечается рост специфических IgG к вирусу SARS-CoV-2, а также нормализует показатели эритроидного и тромбоцитарного ростков кроветворения.

7. Сформулирована новая концепция иммунопатогенеза постковидных нарушений иммунной системы: белки вируса SARS-CoV-2 (NP>MP>SP>EP) взаимодействуют с рецептором CD46, что приводит как к длительно сохраняющейся в постковидном периоде активации системы комплемента вне

зависимости от тяжести течения острого заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, так и к нарушению экспрессии CD46 на различных субпопуляциях лимфоцитов в постковидном периоде у пациентов, имевших поражение легких по типу "матового стекла" по данным КТ в остром периоде COVID-19, что приводит к формированию четырех фенотипов нарушений иммунной системы. Все эти нарушения, вызванные взаимодействием белков вируса SARS-CoV-2 с рецептором CD46, проявляются также клинически в виде полиорганной патологии, тяжесть которой напрямую связана с нарушением экспрессии CD46 на лимфоцитах, что обуславливает формирование новых подходов к иммунокоррекции этих больных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Помимо клинической и лабораторной характеристики вариантов нарушений иммунной системы постковидных пациентов в ходе диссертационного исследования был разработан подход к коррекции этих нарушений, позволяющий восстанавливать функции клеток иммунной системы. От иммунного статуса пациента от выбора препарата зависит выбор препарата для иммунокоррекции:

1. Рекомендовано применение препарата синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (Ацеграм-спрей) в дозировке 20мкг/мл по 5 мл 3 раза в день в течение 5 дней местно на слизистые оболочки (ротоглотка) человека, стимулирующее спонтанную и индуцированную НСТ-активность нейтрофилов, C3a- фрагмента комплемента, активирующее Т-хелперы.

2. Рекомендовано применение глюкозаминилмурамилдипептида (препарат Ликопид) в дозировке 10мг 2 раза в день в течение 10 дней, перорально снижающее спонтанную НСТ-активность нейтрофилов, C5a фрагмента комплемента, увеличивающее процент В-плазматических клеток, преимущественно за счет В2-лимфоцитов. способствующее росту специфических IgG к вирусу SARS-CoV-2, а также нормализующее показатели эритроидного и тромбоцитарного ростков кроветворения.

3. При диспансеризации пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию с поражением легких более 50 %, рекомендуется дополнительно обследовать сердечно-сосудистую, эндокринную, гепатобилиарную, нервную и иммунную системы.

4. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в работе научно-исследовательских лабораторий, изучающих действие стрессоров и механизмы развития постстрессорных состояний.

5. Разработанный в ходе работы патогенетический подход к иммунокоррекции может быть включен в клинические рекомендации для практикующих врачей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и/или индексируемых в международных базах данных WoS, Scopus, RSCI:

1. Динамическая оценка Т-лимфоцитов и гуморального иммунитета у пациентов с острым коронарным синдромом, болевших и не болевших COVID-19, в зависимости от содержания CD3⁺CD8⁺Т-лимфоцитов / Э.А. Сафронова, Л.В. Рябова, А.В. Зурочка, **М.А. Добрынина**, Е.В. Задорина // Медицинский вестник Юга России. 2024. № 15 (1). С. 148-158. doi: 10.21886/2219-8075-2024-15-1-148-158 (ИФ РИНЦ – 0.705, ВАК, К2).
2. **Добрынина, М.А.** Клинико-иммунологическая характеристика постковидных пациентов с инфекционным синдромом иммунопатологии / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, В.А. Зурочка // Российский иммунологический журнал. 2024. Т. 27, № 3. С. 689-698. doi: 10.46235/1028-7221-16845-CAI (IF Scopus – 0.16, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ – 0.629; ВАК, К2)
3. Нарушения Т-клеточного звена иммунитета через 6-12 месяцев после острой фазы коронавирусной инфекции: скрининговое исследование / А.В. Зурочка, **М.А. Добрынина**, Э.А. Сафронова, В.А. Зурочка, А.А. Зуйкова, Г.П. Сарапульцев, О.И. Забков, А.А. Мосунов, М.Д. Верховская, В.В. Дукардт, Л.О. Фомина, Е.Г. Костоломова, Ю.В. Останкова, И.В. Кудрявцев, А.А. Тотолян // Инфекция и иммунитет. 2024, Т. 14, № 4. С. 756–768. doi:10.15789/2220-7619-AIT-17646 (IF Scopus – 0.17, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ – 1,048; ВАК, К1)
4. Особенности Т-клеточного и гуморального иммунитета пациентов с острым коронарным синдромом, болевших и не болевших COVID-19, в зависимости от содержания В-лимфоцитов с фенотипом CD3–CD19+CD5+ в периферической крови / Э.А. Сафронова, Л.В. Рябова, А.В. Зурочка, **М.А. Добрынина** // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 2. С. 277-288. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-16599 (IF Scopus – 0.17, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ – 1.048; ВАК, К1)
5. Савчук, К.С. Исследование качества жизни пациентов с сахарным диабетом 2 типа в зависимости от наличия постковидного синдрома / К.С. Савчук, Л.В. Рябова, **М.А. Добрынина** // Современные проблемы науки и образования. 2024. № 2. 33. Режим доступа: <https://science-education.ru/article/view?id=33377> (ИФ РИНЦ – 0.532; ВАК, К2).
6. Динамика серораспространенности SARS-COV-2 и положительных ПЦР-тестов на COVID-19 у жителей города Челябинска в период пандемии / И.С. Крицкий, А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, **М.А. Добрынина**, А.П. Сарапульцев // Вестник уральской медицинской академической науки. 2023. Т. 20, № 4. С. 152–161. doi: 10.22138/2500-0918-2023-20-4-152-161 (ИФ РИНЦ – 0.482; ВАК, К2)
7. Изменения врожденных факторов иммунной системы по данным изучения иммунной системы периферической крови у постковидных пациентов / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова, В.А. Зурочка, Е.А. Праскуриничий, Л.В. Рябова, А.П. Сарапульцев // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 864–872. doi: 10.15789/2220-7619-AIT-9641 (IF Scopus – 0.195, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ – 1.312; ВАК, К1)
8. Нарушение В-клеточного звена иммунной системы и связанных с ним нарушений иммунитета у постковидных пациентов / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова, В.А. Зурочка, А.П. Сарапульцев // Российский иммунологический журнал. 2023. Т. 26, № 3. С. 241-250. doi: 10.46235/1028-7221-9636-DIT (IF Scopus – N/A, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ - 0.353; ВАК, К2).
9. Формирование новых подходов к иммунокоррекции выявленных нарушений иммунной системы у постковидных пациентов / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка,

В.А. Зурочка, Л.В. Рябова, А.П. Сарапульцев, Е.А. Праскурничий // Вестник уральской медицинской академической науки. 2023. Т. 20, № 4. С. 122–130. doi: 10.22138/2500-0918-2023-20-4-122-130 (*ИФ РИНЦ* – 0.482; *ВАК*, *K2*)

10. Формирование подходов к иммунокоррекции нарушений иммунной системы у постковидных пациентов / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, Л.В. Рябова, А.П. Сарапульцев // Российский иммунологический журнал. 2023. Т. 26, № 4. С. 641–646. doi: 10.46235/1028-7221-13492-ATC (*IF Scopus* – *N/A*, *Q4*; *RSCI*; *ИФ РИНЦ* – 0.353; *ВАК*, *K2*).

11. Computational Analysis of CD46 Protein Interaction with SARS-CoV-2 Structural Proteins: Elucidating a Putative Viral Entry Mechanism into Human Cells / P. Vassiliev, E. Gusev, M. Komelkova, A. Kochetkov, **M. Dobrynina**, A. Sarapultsev // Viruses. 2023. V. 15 (12). 2297. doi:10.3390/v15122297. (*IF WoS* – 3.8; *IF Scopus* – 7.3, *Q1*).

12. Post-COVID immunopatology syndrome: characteristics of phenotypical changes in the immune system in post-COVID patients / **М.А. Добрынина**, R.V. Ibragimov, I.S. Kritsky, M.D. Verkhovskaya, A.A. Mosunov, G.P. Sarapultsev, A.V. Zurochka, V.A. Zurochka, A.P. Sarapultsev, M.V. Komelkova, L.V. Ryabova, E.A. Praskurnichiy // Medical Immunology (Russia). 2023. Vol. 25, № 4. P. 791–796. doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2707 (*IF Scopus* – 0.129, *Q4*; *ИФ РИНЦ* – 0.751; *ВАК*, *K1*).

13. Исследование нарушения натуральных киллеров у пациентов, перенесших Covid-19 / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова, Ш. Ло // Российский иммунологический журнал. 2022. Т. 25, № 2. С. 161–166. doi: 10.46235/1028-7221-1132-ION (*IF Scopus* – *N/A*, *Q4*; *RSCI*; *ИФ РИНЦ* – 0.353).

14. Исследование экспрессии CD45⁺ и CD46⁺ на субпопуляциях лимфоцитов периферической крови постковидных пациентов / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова, Ш. Ло, В.А. Зурочка, Д. Ху, Л.В. Рябова, А.П. Сарапульцев // Российский иммунологический журнал. 2022. Т. 25, № 4. С. 431–436. doi: 10.46235/1028-7221-1160-SOC (*IF Scopus* – *N/A*; *RSCI*; *ИФ РИНЦ* – 0.353).

15. Оценка взаимосвязи нарушения цитотоксических Т-лимфоцитов с другими компартментами иммунной системы у постковидных пациентов / **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова, С. Лю, Д.А. Семенова // Вестник уральской медицинской академической науки. 2022. Т. 19, № 3. С. 294–303. doi: 10.22138/2500-0918-2022-19-3-294-303 (*ИФ РИНЦ* – 0.227; *ВАК*)

16. Urinalysis, but Not Blood Biochemistry, Detects the Early Renal Impairment in Patients with COVID-19 / H. Zhou, Z. Zhang, **M. Dobrynina**, Y. Dong, Z. Kang, V. Chereshevnev, D. Hu, Z. Zhang, J. Zhang, A. Sarapultsev // Diagnostics. 2022. V. 12. 602. doi: 10.3390/diagnostics12030602 (*IF WoS* – 3.0; *IF Scopus* – 4.7, *Q2*).

17. Иммунобиологические свойства гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и синтетических пептидов его активного центра / А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, **М.А. Добрынина**, В.А. Гриценко // Медицинская иммунология. 2021. Т. 23, № 5. С. 1031–1054. doi: 10.15789/1563-0625-IPO-2216 (*IF Scopus* – 0.13, *Q4*; *ИФ РИНЦ* – 0.722).

18. Сравнительный анализ бактерицидных свойств синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении грамотрицательных бактерий разной таксономической принадлежности / В.А. Гриценко, Я.В. Тяпаева, **М.А. Добрынина**, А.В. Зурочка // Российский иммунологический журнал. 2021. Т. 24, № 2. С. 221–228. doi: 10.46235/1028-7221-1016-CAO (*IF Scopus* – *N/A*; *ИФ РИНЦ* – 0.143).

19. Seroprevalence of SARS-CoV-2 Antibodies in Symptomatic Individuals Is Higher than in Persons Who Are at Increased Risk Exposure: The Results of the Single-Center, Prospective, Cross-Sectional Study / A. Zurochka, **M. Dobrinina**, V. Zurochka, D. Hu, A. Solovyev, L. Ryabova, I. Kritsky, R. Ibragimov, A. Sarapultsev // *Vaccines*. 2021. V. 9 (6). 627. doi: 10.3390/vaccines9060627. (IF WoS – 5.2, Q1; IF Scopus – 1.004, Q1).

20. Иммунологические критерии эффективности комплексной этиопатогенетической терапии у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр / В.А. Зурочка, О.И. Забков, **М.А. Добрынина**, В.А. Гриценко, Е.В. Давыдова, А.В. Чукичев, Н.А. Забокрицкий, А.П. Сарапульцев, А.В. Зурочка // *Инфекция и иммунитет*. 2020. Т.10, № 2. С.338-346. doi: 10.15789/2220-7619-CDC-1141 (IF Scopus – 0.137, Q4; ВАР, ИФ РИНЦ - 0.706).

21. Иммунобиологические свойства синтетических аналогов гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) / А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, **М.А. Добрынина**, Л.О. Фомина, О.И. Забков, В.А. Гриценко // *Российский иммунологический журнал*. 2019. Т. 13, № 2-2 (22). С. 778-780. doi: 10.31857/S102872210006701-6 (Scopus – N/A; ИФ РИНЦ - 0.269).

22. Спектр иммунобиологической активности и потенциал практического применения синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) / А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, **М.А. Добрынина**, В.В. Дукардт, О.И. Забков, Е.Б. Зуева, Л.О. Фомина, А.И. Файзуллина, В.А. Гриценко // *Российский иммунологический журнал*. 2019. Т. 12, № 4. С. 665-669 (Scopus – N/A; ИФ РИНЦ - 0.269).

Монография:

23. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и его синтетические аналоги: Иммунологические эффекты и клиническое применение: монография / А.В. Зурочка, В.А. Гриценко, В.А. Зурочка, **М.А. Добрынина**, В.А. Черешнев. Екатеринбург: УрО РАН, 2021. 288 с. ISBN 978-5-7691-2549-2.

Публикации в других изданиях:

24. Савчук, К.С. Клинико-иммунологические особенности течения постковидного синдром у больных с сахарным диабетом 2 типа / К.С. Савчук, Л.В. Рябова, **М.А. Добрынина** // От клинических рекомендаций к реальной практике: междисциплинарный сборник научно-практических работ. Челябинск, 2023. С. 108-110.

25. Савчук, К.С. Клинические проявления постковидного синдрома у больных с сахарным диабетом 2 типа города Челябинска / К.С. Савчук, Л.В. Рябова, **М.А. Добрынина** // Популяционные, клинические и профилактические аспекты полипатий: мультидисциплинарный подход: материалы XII Межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 100-летию ЗДН РФ, профессора Д.А. Глубокова (г. Челябинск, 14.12.2023). Челябинск, 2023. С. 124-125.

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АД	артериальное давление
БОЕ	бляшкообразующие единицы
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГКС	глюкокортикостероиды
ГМДП	глюкозаминилмурамилдипептид

ГМ-КСФ	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ГЭБ	гематоэнцефалический барьер
ДВС-синдром	синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИЛ/IL 1-n	интерлейкины 1-n
КТ	компьютерная томография
МКБ-10, МКБ-11	международная классификация болезней
НСТ-тест	реакция восстановления нитросинего тетразолия в диформозан
ОДН	острая дыхательная недостаточность
ОРВИ	острая респираторная вирусная инфекция
ОРДС	острый респираторный дистресс синдром
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СД	сахарный диабет
СРБ	С-реактивный белок
ССС	сердечно-сосудистая система
ЧДД	частота дыхательных движений
C1qC3bC4b, C55	фрагменты комплемента
COVID-19	инфекция, вызванная коронавирусом
GM-CSF	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
IFN γ	интерферон γ
NK	натуральные киллеры
SARS-CoV-2	коронавирус
T, B, NK, TNK, T-reg, Tc, Th	субпопуляции лимфоцитов
TNF- α	фактор некроза опухоли α

ДОБРЫНИНА МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ФОРМИРОВАНИЕ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДИСФУНКЦИЙ У
ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИХ
КОРРЕКЦИИ**

3.2.7. Иммунология

3.1.18. Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Подписано в печать ...

Формат 60 × 84 ¹/₁₆. Усл. печ. л. 1,0.

Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman сур.

Печать лазерная. Тираж ... экз. Заказ ...

Отпечатано в ...