

SUZY HUIJGHEBAERT<sup>1</sup>, LEVI HOSTE<sup>2,3</sup>, GUIDO VANHAM<sup>4</sup>

## ОСНОВИ СОЛЬОВОЇ ФАРМАКОЛОГІЇ ДЛЯ ГІГІЄНИ ПОРОЖНИНИ НОСА АБО ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ПІД ЧАС COVID-19

<sup>1</sup>*Independent Research Support, La Hulpe, Belgium;*

<sup>2</sup>*Pediatric Pulmonology, Infectious Diseases and Immunology,  
Ghent University Hospital, Ghent, Belgium;*

<sup>3</sup>*Primary Immunodeficiency Research Lab, Center for Primary Immunodeficiency  
Ghent, Jeffrey Modell Diagnosis and Research Center, Ghent University Hospital,  
Ghent, Belgium;*

<sup>4</sup>*Department of Biomedical Sciences, Institute of Tropical Medicine and University  
of Antwerp, Antwerp, Belgium*

Використання «Atemwegpflege» (догляд за дихальними шляхами) або догляд за порожниною носа є традиційною німецькою практикою для зволоження дихальних шляхів і може бути досягнуто за допомогою назальних спреїв або інгаляцій розпиленого ізотонічного або гіпертонічного сольового розчину (Kochsalzlös) [1-8]. Цю практику просувають фахівці із захворювань легень, організацій охорони здоров'я та пацієнтських організацій під час COVID-19, відповідно до чого рекомендується використання розпилення/аерозолів з фізіологічним розчином, або заявляючи, що, хоча це може не змінити ризик зараження, але допомагає пом'якшити перші симптоми, або заявляючи про те, що він може ефективно «перешкоджати» вірусній інфекції (отже, зменшувати ризик зараження) (Einfaches Inhalieren kann Tröpfcheninfektion effektiv eindämmern) [2-6]. Нещодавно Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH) також сформулювала заходи з полоскання горла для стримування передачі SARS-CoV-2 у домашніх умовах, будинках для людей похилого віку та школах [9].

Невідомо, чи може інгаляція ізотонічного та гіпертонічного розчину допомогти

зменшити задишку. Респіраторні виділення, що виникають при COVID-19, можуть поводитися так само, як і при тяжкому бронхіті або бронхіоліті; кашель може бути сухим, але виділення можуть бути прозорими або слизово-гнійними, тому їх необхідно мобілізувати для видалення з дихальних шляхів. Згідно зі звітами АРВ (офіційної фармацевтичної організації Бельгії) та Sciensano [10-12], використання аерозолів активно не заохочувалося в Бельгії, оскільки вважається, що це створює більший ризик передачі вірусу. З іншого боку, Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) не схвалює використання аерозольних процедур загалом [13]. Цей ризик також був підвищений на певному етапі в Німеччині через побоювання, що такий метод призведе до утворення крапель біоаерозолу, які можуть сприяти поширенню вірусу. Проте цій концепції суперечило позиційне твердження німецьких пневмологів [14]. Нещодавне невелике дослідження у амбулаторних пацієнтів із COVID-19 без гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) передбачає суттєве усунення симптомів за допомогою гіпертонічного сольового розчину [15, 16].

Тому ми дослідили механізми, за допомогою яких сольовий спрей/зрошення або аерозоль можуть обмежувати інфекційність і розповсюдження SARS-CoV-2. Зокрема, ми обговорюємо дані літератури про вплив фізіологічного розчину на утворення біоаерозолей, слизу, альвеолярної вистилаючої рідини (ALF), мерехтіння війок і мукоциліарний кліренс (MCC), ангіотензинперетворюючий фермент 2 (ACE2), протеазу фуріну господаря, вірусний білок 3CLpro), а також утворення хлорноватистої кислоти (HOCl) та їх взаємодію з SARS-CoV-2. Оцінка не призначена для розгляду ролі фізіологічного розчину при важкому COVID-19 з гострим респіраторним дистрес-синдромом. Ми також коротко розглянули відповідні клінічні дані та сформулювали рекомендації на підтримку застосування ізотонічного або гіпертонічного сольового розчину як простого полоскання або аерозолу для раннього втручання при інфекціях верхніх дихальних шляхів та COVID-19.

### **Методи**

Було використано змішаний метод. Спочатку інформацію про епідеміологічні дані та методи лікування COVID-19 німецькою та голландською мовами шукали в локальному Інтернеті, а також на офіційних національних сайтах, які просувають шановні організації, пов'язані з охороною здоров'я. Оскільки цей аналіз виявив загальну рекомендацію щодо використання фізіологічного розчину при COVID-19 у Німеччині, у PubMed було проведено перший систематичний пошук за встановленими релевантними ключовими словами, пов'язаними з фізіологічним розчином. За цим був більш широкий пошук нових аспектів розвитку досліджень, в ході яких були запропоновані інші потенційні механізми дії фізіологічного розчину, що мають відношення до COVID-19. Публікації, присвячені хронічним респіраторним захворюванням, не вивчалися, за винятком випадків, коли вони мали відношення до відмінності ефектів з фармакодинамічної, патофізіологічної точки зору або безпеки. Так само пошук релевантних клінічних ефектів стосовно гігієни порожнини рота, носа та дихальних шляхів за допомогою фізіологічного розчину був

обмежений ключовими словами, пов'язаними з гострими інфекціями верхніх дихальних шляхів, з COVID-19 (SARS-CoV-2) або без нього. Шляхи, а також ключові слова та обмеження, що використовувались для обробки величезної кількості публікацій про фізіологічний розчин і NaCl у PubMed, див. у Дод. 1.

Примітка: у цій статті ізотонічний сольовий розчин відноситься до 0,9% NaCl (так званому фізіологічному розчину), тоді як гіпертонічний сольовий розчин відноситься до концентрацій 2% і вище (зазвичай 3-7% в експериментальних та клінічних дослідженнях та на ринку). Термін «аерозоль» відноситься до розпилення ізотонічного розчину з використанням аерозольного пристрою для інгаляції та зволоження з метою очищення дихальних шляхів та видалення мокротиння при вірусних респіраторних інфекціях. Ми використовуємо термін «біоаерозоль», маючи на увазі мікрокраплі, що спонтанно утворюються під час видиху, наприклад, під час розмови, співу та кашлю.

### **Отримані результати**

Ефекти ізотонічного та/або гіпертонічного сольового розчину узагальнені на рис. 1. Вони включають властивості змочування/желювання, вплив на мукоциліарний кліренс (MCC) і гідратацію, реплікацію вірусу SARS-CoV-2 і механізми, що лежать в його основі, а також вплив на формування хлорноватистої кислоти (HOCl).

### **Вплив зволоження на розповсюдження альвеолярної вистилаючої рідини (ALF) та утворення біоаерозолі**

Фізрозчин змінює фізико-хімічні властивості ALF, слизу та везикул / біоаерозолів, тим самим впливаючи на молекулярну поведінку іонних та неіонних поверхнево-активних речовин, білків і, зокрема, фосфоліпідів. У сукупності ці ефекти називаються «змочувальними властивостями» NaCl [17, 18], що лежать в основі 2 релевантних явищ: (1) кращого розповсюдження ALF та (2) супресії утворення біоаерозолі.

1) Поверхневий натяг є важливим фактором альвеолярного змочування, MCC та

явищ капілярності. Альвеолярні клітини виробляють сурфактант, який зменшує поверхневий натяг у дихальних шляхах, таким чином зменшуючи кількість енергії, необхідної для розширення легень. З патофізіологічної точки зору, роль легеневого сурфактанта у змочуванні, повторному розповсюдженні та стисканні ALF до наднизького поверхневого натягу є механізмом, який добре відомий для недоношених дітей. Такі немовлята можуть страждати від респіраторного дистрес-синдрому немовлят, що характеризується нестачею легеневого сурфактанта, який необхідний для зменшення сил поверхневого натягу і є критичним для нормальної інфляції легень [19, 20]. Було доведено, що ізотонічний фізіологічний аерозоль усуває цю проблему завдяки своїм зволожуючим властивостям і рятує життя за рахунок покращення податливості дихальних шляхів [19, 20]. Клітини епітелію альвеолярного типу II (AT2) сприяють біосинтезу сурфактанта легень. SARS-CoV-2 атакує клітини AT2, викликаючи дефектну функціональність цих клітин, що може спричинити виснаження легеневого сурфактанта, підвищити поверхневий натяг альвеол і, в решті решт, призвести до альвеолярного колапсу [21, 22]. Отже, зволожуючі властивості NaCl можуть сприяти зниженню поверхневого натягу, таким чином покращуючи податливість дихальних шляхів.

2) Вважається, що поверхнева рідина дихальних шляхів (ASL) або краплі слини, що несуть вірус, перетворюються на біоаерозоль, що заражає навколишнє середовище та сторонніх осіб, і, отже, деякі авторитети не рекомендували використовувати процедури аерозольовання [10-13]. Тим не менш, не слід плутати сольовий аерозоль з вірусними біоаерозолями, отриманими після збирання з клітинних культур, або з процедурами, що генерують біоаерозоль у лікарні (додаткову інформацію див. у Додатку 2): На сьогоднішній день незалежні огляди процедур генерування біоаерозолі не виявили підвищеного ризику передачі SARS-CoV-2 при розпилюванні аерозолі фізіологічного розчину. У дослідженнях, проведених Едвардсом [23-25] (табл. 1), ізотонічний сольовий аерозоль, що розпилювався протягом

6 хв, зменшував виділення видихуваних біоаерозолів з легень у середньому на 72% (тривалістю до 6 годин), ефект зберігається протягом 6 годин після розпилення 1,29% CaCl<sub>2</sub>, розведеного в 0,9% NaCl. Найбільший ефект був отриманий при застосуванні потужних біоаерозольних емітерів [23, 26]. Аерозольне введення фізіологічного розчину в дихальні шляхи особливо зменшувало видихання більш дрібних частинок, які не можуть відфільтрувати лицьові маски [23]. Вплив 6-хвилинного розпилення ізотонічного сольового розчину на біоаерозолі було додатково вивчено в моделі кашлю, при якій під потоками повітря виробляється біоаерозоль слизоподібної речовини. Сольовий розчин зменшував вміст дрібнодисперсного аерозолі міметика муцину, одночасно збільшуючи розмір крапель міметика слизу (усереднений за обсягом середній розмір – 320 нм) миттєво до 1 мкм, а потім до 65 мкм через 30 хв і 30 мкм через 60 хв [25]. Розпилення аерозолі при використанні моделі свинячого грипу призвело до інгібування передачі вірусу повітряно-краплинним шляхом [25]. Проте інше дослідження Simonds та співавторів з одночасним використанням неінвазивної вентиляції не дозволило зробити однозначних висновків [27]. У німецькому позиційному документі пневмологів з COVID-19 визнається актуальність цієї властивості ізотонічного розчину, що розпилюється, і робиться висновок: «Хоча небулайзери з насадками збільшують кількість аерозолі в кімнатному повітрі, вони не збільшують ризик зараження для медичного персоналу. Вдихання ізотонічного сольового розчину значно знижує виділення (біо)аерозолі з легень» [14].

Крім того, в табл. 1 представлено два дослідження, в яких оцінювався вплив промивання порожнини носа або полоскання горла фізіологічним розчином на титри вірусу в промивній рідині. Вони демонструють, що фізіологічний розчин може знижувати передачу вірусу за рахунок прямого ефекту полоскання горла або промивання носа фізіологічним розчином [28, 29]: дані підтверджують, що полоскання призводить до значного прямого видалення вірусу з поверхневої рідини.

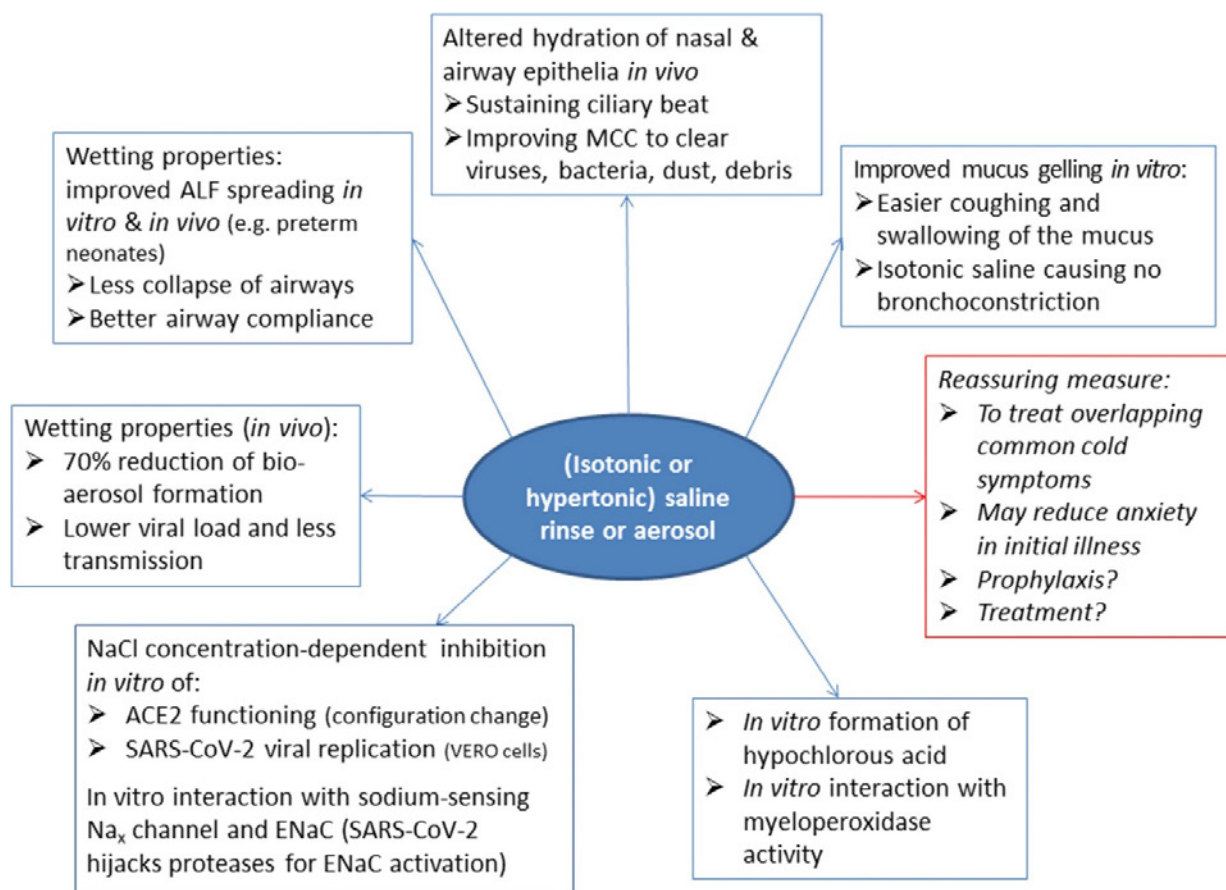


Рис. 1. Запропоновані механізми використання фізіологічного розчину, що стосуються гігієни порожнини носа або дихальних шляхів під час COVID-19. Біоаерозоль відноситься до мікрокрапель, що спонтанно утворюються під час видиху, наприклад, під час розмови, співу і кашлю; аерозоль відноситься до розпилення та вдихання фізіологічного розчину для вдихання в дихальні шляхи, тоді як полоскання фізіологічним розчином відноситься до назального спрею/перорального полоскання сольовим розчином. ALF – альвеолярна вистилаюча рідина; 0,9% NaCl (або 9 г/л); та гіпертонічний, різні концентрації вище 0,9% NaCl (2%-7%, часто 3%); ACE2 – ангіотензинперетворюючий фермент 2; MCC – мукоциліарний кліренс.

Таблиця 1

Вплив розпилення сольового розчину, промивання та зволоження сольовим розчином на утворення біоаерозолі

Повідомлення/дослідження	Метод	Результати та механізм (що пропонується)
<i>Розпилення (аерозоль) у людини</i>		
Сольовий розчин (0,9%) [23, 26]	Оцінка часточок біоаерозолі після використання сольового розчину або сурфактанту	- Кількість частинок біоаерозолі зменшувалась на 72% після використання небулізаторів з фізіологічним розчином, особливо «високопродуктивним», в порівнянні з сурфактантом - Середній розмір крапель, що містять поверхнево-активну речовину, був меншим, ніж при застосуванні сольового розчину - Ефект триває до 6 годин
CaCl <sub>2</sub> (1,29%), розведений у сольовому розчині (0,9%) [24]	Оцінка часточок біоаерозолі після використання сольового розчину або сурфактанту	- Кількість частинок біоаерозолі зменшувалась, як і при розпиленні сольового розчину - Ефект триває більш ніж 6 годин

Повідомлення/дослідження	Метод	Результати та механізм (що пропонується)
CaCl <sub>2</sub> (1,29%-12,9%), розведений у сольовому розчині (0,9%) [25]	Відкрите дослідження у волонтерів та на моделі грипу свиней	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Швидка продукція (протягом 15 хв.) меншої кількості і менших частинок біоаерозолі, довгострокова дія (принаймні до 6 годин)</li> <li>- Супресія була найбільш вираженою (99%) у тих, хто видихає велику кількість частинок</li> <li>- Аерозольне введення цих солей у дихальні шляхи зменшує кількість дрібних частинок, що видихаються, які маски для обличчя не можуть фільтрувати</li> <li>- В моделі на грипі у свиней це повністю блокувало повітряно-крапельний шлях передачі захворювання</li> <li>- CaCl<sub>2</sub> посилює ефекти сольового розчину; найнижча концентрація CaCl<sub>2</sub> вже була ефективною. Ефект є іоно-залежним (не спостерігається при додаванні MgCl<sub>2</sub>)</li> </ul>
Сольовий розчин (0,9%) [27]	Застосування небулізаторів при різних процедурах, при яких генерується аерозоль	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Продукція аерозолі/крапель малого та середнього розміру не підвищує кількість крапель великого розміру</li> <li>- Можлива системна помилка: не було досліджено, які частинки надходять від пацієнта чи розпилювача, і чи можна віруси ізолювати від аерозолі</li> </ul>
<i>Ефекти промивання у людини</i> Назальний лаваж сольовим розчином (0,9%) [28]	Концентрація вірусу після одноразового назального лаважу у інфікованих добровольців	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Більш низькі титри вірусу після назального лаважу сольовим розчином при риновірусних інфекціях; після одноразового промивання титри повернулися до вихідних значень тільки через 5 днів</li> <li>- Гіпертонічний сольовий розчин зменшував передачу вірусу в домашніх умовах на 35% (p=0,006) в порівнянні з контролем</li> <li>- Більш ніж 30% осіб зменшили розповсюдження вірусу на <math>\geq 0,5 \log_{10}</math> на добу</li> </ul>
Зрошення сольовим розчином та полоскання (3%) [29]	Відкрите контрольоване дослідження у пацієнтів із застудою (коронавіруси, окрім SARS-COV-2)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Гіпертонічний сольовий розчин зменшував передачу вірусу в домашніх умовах на 35% (p=0,006) в порівнянні з контролем</li> <li>- Більш ніж 30% осіб зменшили розповсюдження вірусу на <math>\geq 0,5 \log_{10}</math> на добу</li> </ul>
<i>Механістичні (фізико-хімічні) ефекти та дослідження in vitro</i> Сольовий біоаерозоль (0,9%) + муцин [30]	Дослідження механізму / біофізична характеристика в присутності муцинів (підтверджено дослідженнями на телятах)	Екранування заряду муцину або муциноподібних макромолекул, які потім піддаються гелеутворенню, стабілізуючи поверхню розподілу ALF/повітря та зменшуючи її руйнування, що призводить до зменшення схильності ALF до розпаду на дуже маленькі краплі. Доданий до наноемульсії NaCl змушує дрібніші міцелярні краплі «агрегувати», змушуючи розподіл крапель за розмірами переміститися в ширший діапазон розмірів (що призводить до більш швидкого осадження), тоді як поверхнево-активна речовина, навпаки, розбиває краплі на більш дрібні.
Краплі сольового розчину (емульсія) [31]	Дослідження механізму взаємодії крапель NaCl ± ПАР	

Повідомлення/дослідження	Метод	Результати та механізм (що пропонується)
Краплі фосфоліпиду в сольовому розчині [32]	Механістичне дослідження дії NaCl на фосфоліпідні везикули та бішари	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\text{Na}^+</math> і <math>\text{Cl}^-</math> зв'язуються з ліпідною головкою та викликають сильне гідрофобне відштовхування ліпідного хвоста</li> <li>- Це призводить до посилення гідрофобного відштовхування ліпідів і таким чином змушує ліпиди міцно прикріплюватися до поверхні субстрату</li> <li>- Для утворення везикул у сольових розчинах потрібна набагато більша зовнішня енергія, ніж у чистій воді.</li> </ul>
Аерозоль хлориду натрію [35]	Дослідження механізму дії (біо)аерозолу NaCl та кукурудзяної олії при фільтрації матеріалами лицьових масок (FFP1, N95, P100 та респіратори-напівмаски з еластомеру)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Біоаерозоль NaCl (навіть якщо він складається з дрібніших крапель) менше проникає в матеріал лицьової маски і, отже, краще відфільтровується порівняно з біоаерозолем кукурудзяної олії</li> <li>- Було показано, що аерозоль з більшими маслянистими краплями проникає глибше в матеріал маски</li> <li>Таким чином, іонна природа аерозолу NaCl призводить до кращого уловлювання біоаерозолу матеріалом маски</li> </ul>
Сольовий розчин $\pm$ біоаерозоль сурфактанту ( $\pm$ частки вірусу грипу) [38]	Дослідження механізмів у випарених краплях	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Солоність впливає на структуру вірусних частинок, тоді як процеси на межі розподілу повітря-рідина викликають інактивацію вірусу в краплях, що також залежить від складу крапель і відносної вологості</li> <li>- Біоаерозолі оболонкових вірусів не будуть піддаватися швидкій регідратації при попаданні в майже насичений розчин в дихальних шляхах, оскільки розташування сурфактанту в краплях перешкоджатиме реабсорбції води.</li> </ul>
Сольовий розчин $\pm$ біоаерозоль сурфактанту ( $\pm$ частки вірусу грипу) [39]	Дослідження розпаду вірусу в краплях, що випаровуються при різній відносній вологості та концентрації фізіологічного розчину та білка	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Життєздатність залежить від відносної вологості (вище за відносної вологості &lt;50% та при 100%)</li> <li>- Життєздатність знижується в сольових розчинах, ступінь залежить від концентрації солі та присутності білка</li> </ul>

ALF – альвеолярна вистилаюча рідина, RH – відносна вологість, ПАР – поверхнево-активна речовина

З механістичної точки зору передбачається, що ізотонічний розчин змінює гелеутворюючі властивості муцину і поверхневий натяг рідкої плівки на епітелії дихальних шляхів, що призводить до меншого утворення крапель/фосфоліпідних везикул і, таким чином, до меншого виділення біоае-

розолей, що видихаються [14, 30]. Тоді як краплі слизу легко регідратуються після випаровування, їх властивості змінюються при додаванні NaCl [30]. Слиз перетворюється на гель з меншою кількістю та більш желатинованими частинками, що призводить до значно меншого утворення крапель

при розпиленні [30]. Цей ефект є унікальним для фізіологічного розчину і також спостерігається в присутності інших іонів, які мають більш обмежений вплив на зменшення вмісту аерозолів. Ефект також зберігався у присутності поверхнево-активних речовин та полісахаридів (декстранів), хоча останні речовини дещо збільшували кількість частинок: крім того, було виявлено, що визначальним фактором було не поверхневий натяг, а електропровідність та в'язкість [30]. Було показано, що в технології моно-, бі- або багат шарових везикул фізіологічний розчин пригнічує утворення везикул, викликає агрегацію везикул і призводить до більш швидкого відкладення везикул на поверхневих субстратах: іонна природа полегшує її захоплення шаром основи, тоді як, навпаки, краплі важче відокремлюються від поверхні основи, що інтегрує сіль [31, 32]. Таким чином, сольовий розчин призводить до набагато меншої кількості біоаерозолу, в той час як краплі, що залишилися, можуть в середньому мати більший розмір, як показав Едвардс [23-25]: це опосередковано вплине на осадження двома способами: 1) більш швидке осадження крапель після кашлю поблизу розподільника (через більшу силу тяжіння та інерцію більших крапель) [33]; (2) більш швидке відкладення крапель, що випадково вдихаються, в порожнині носа і верхніх дихальних шляхах, бо вони занадто великі, щоб проникнути в бронхіоли і легені [34]. Таким чином, утворення біоаерозолу для перенесення повітря буде утруднено, як це було показано Едвардсом в дослідженні з сольовим аерозолем в моделі грипу свиней [25].

Більш того, не тільки розмір крапель, а й посилені іонна природа біоаерозолу, викликана змочуванням NaCl, може призвести до більш легкого вловлювання/кращої фільтрації фільтруючим матеріалом. Було показано, що дрібнодисперсний біоаерозоль NaCl проникає на меншу глибину матеріалу лицьової маски (FFP1 і N95) порівняно з біоаерозолем кукурудзяної олії [35]. Критерії стандарту CE для професійних лицьових масок вимагають пропускну спроможності фільтра, що базується на випробуваннях з аерозолем простого парафіну: оскільки поверхнево-активні речовини сильно зміню-

ють властивості парафінового аерозолу [36], це може не повністю оцінити поведінку вірусонавантажених біоаерозолей, що складаються з оболонкових вірусних або поверхнево-активних (фосфоліпідних) везикул. Той факт, що ефекти змащення NaCl, які впливають на поведінку біоаерозолей, зберігаються в присутності поверхнево-активної речовини [30], може, таким чином, мати відношення до фільтрації біоаерозолей, що містять віруси. Нещодавно були розроблені покриті сіллю маски для швидшого знищення крапель коронавірусу при попаданні на матеріал маски [37].

Нарешті, сольовий розчин призводить і до швидкого осадження крапель при випаровуванні в навколишньому повітрі (що відбувається вже при відносній вологості 90-95%): втрата води викликає фазовий розподіл, підвищену солоність та зниження рН у краплях/частинках, а також реорганізацію фосфоліпідів на зовнішній поверхні повітряно-крапельної поверхні [38, 39]. Виявлено, що гідрофобна природа отриманого фосфоліпідного покриття погіршує регідратацію частинок, навантажених вірусом [38]. Було показано, що концентрація солі негативно впливає на виживання вірусу грипу в біоаерозолі [39], у той час як підвищена гідрофобність частинок швидше призводить до меншого осадження в дихальних шляхах відповідно до аерозольної технології [34].

### *Роль фізіологічного розчину в МСС*

МСС є основним первинним вродженим захисним механізмом порожнини носа, дихальних шляхів та легень, постійно очищаючи їх від пилу, інфекційних та інших частинок за допомогою рухів війок. Використовуючи різні методи, було показано, що ізотонічний розчин (у вигляді аерозолу або полоскання) позитивно впливає на частоту биття війок, усуває цілюстаз і стимулює МСС як у фізіологічних умовах, так і в умовах пошкодження [40-44]. Фактори, що відіграють роль, включають осмолярність сольового розчину, гідратацію ALF та склад муцинів.

1) *Осмолярність сольового розчину.* Чиста вода сильно ушкоджує нормальні клітини назального епітелію людини, тоді як ізотонічний розчин (на відміну від гіпо-



та гіпертонічного) не впливає на їхню морфологію [45, 46]. Було показано, що гіпертонічний розчин зменшує рух війок назального епітелію людини [43, 47], у той час як інші автори повідомляють про швидке МСС у здорових суб'єктів після одноразового промивання носа або в дихальних шляхах через 30 хв., але не через 4 години після вдихання (що приписується виснаженню муцину дихальних шляхів) [44-50]. Гіпертонічний сольовий розчин індукує осмотичний тиск, але також було виявлено, що він зменшує різницю потенціалів у назальному епітелії – швидкий, оборотний та дозозалежний ефект, що вказує на прямий вплив NaCl на транспорт іонів через епітелій дихальних шляхів людини (а не тільки пов'язаний із одночасною зміною осмолярності) [51]. Також було виявлено, що гіпертонічний розчин впливає на проникність назального епітелію [52, 53]. Його використання може бути пов'язано з появою печії/подразнення у порожнині носа [54], у той час як гіпо- та гіпертонічні сольові аерозолі можуть викликати бронхоконстрикцію або кашель, що спостерігається у пацієнтів з астмою або хронічною обструктивною хворобою легень середнього та тяжкого ступеня [55-58].

2) *Гідратація ALF*. МСС вимагає координації між перичиліарною рідиною поблизу поверхні клітини і покривним шаром слизу, що транспортується [59, 60]. Отже, ці шари повинні бути відповідним чином гідратовані в легенях та дихальних шляхах, дозволяючи війкам правильно битися, переміщати слиз і транспортувати захоплені патогени та частинки. Назальний та респіраторний муцин утворюють шар гелю, який є резервуаром рідини для перичиліарного шару [61]. Висота шару ALF або ASL і гідратація перичиліарного шару рідини залежать від протилежних механізмів транспорту води: секреторного транспорту хлориду (Cl<sup>-</sup>) назовні через апікальні хлоридні канали (опосередкованого CFTR і CACC) та рух води всередину після активного транспорту (ре)поглинання Na<sup>+</sup> через апікальні ENaC. Ці дії, що транспортують іони, здійснюються спільно з базолатеральною Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, розташованою в війчастих клітинах [62-64]. Хоча задіяно ще кілька процесів

перенесення іонів, Na<sup>+</sup> та Cl<sup>-</sup> є основними рушійними силами руху рідини. У той час як рідкий перичиліарний шар зазвичай містить NaCl в кількості менше 50 мМ (<0,29%), верхній шар ASL буде містити концентрації цих іонів вище 100 мМ: цей градієнт забезпечує ефективний і стійкий трансепітеліальний транспорт іонів і води, а також ефективно биття війок [64]. Таким чином, фізіологічний розчин сприяє гідратації слизової оболонки порожнини носа та дихальних шляхів, а також регулює висоту ALF.

3) *Властивості слизу*. Властивості муцинів також впливають на МСС. Здоровий слиз – це гель з низькою в'язкістю і еластичністю, що легко транспортується дією війок [61]. Навпаки, патологічний слиз, наприклад, що утворюється при хронічних захворюваннях легень або ARDS, має більш високу в'язкість та еластичність: він не так легко виводиться із дихальних шляхів. Порушення кліренсу слизу викликає кашель, обструкцію дихальних шляхів та задишку [61]. Зокрема, у літніх пацієнтів дуже часто спостерігається застій густого зневодненого слизу в носових порожнинах і носоглотці, що призводить до постназального затікання, кашлю та відчуття комка в горлі [65]. Зниження МСС може призвести до стійкого накопичення слизу, що створює середовище для росту мікробних патогенів у дихальній системі та сприяє розвитку вторинних інфекцій та запалень [66]. Сольовий розчин врівноважується в слизу, що призводить до кількох дій NaCl на слиз: краща дифузія патогенів у муцин [67]; посилення захоплення гелеподібним слизом (гелеутворення спостерігається при 100 мМ (0,6%) NaCl [30, 68]); зниження адгезії муцинів до епітелію (спостерігається при 0,9% NaCl) [69]; підвищена транспортабельність війок і кліренс (вже спостерігається починаючи з 0,5% (90 мМ) фізіологічного розчину) [61, 70]; і, таким чином, легше відхаркування та проковтування муцинів, краще позбавлення від кашлю та полегшення (хронічного) кашлю [69, 71]. Оскільки сольовий аерозоль допомагає розріджувати муцин у глибших шарах дихальних шляхів, також легше виводяться пов'язані з муцином патогени, що беруть участь у вторинних легневих інфекціях



[66]. У той час як більшість цих ефектів досягається при ізотонічних або нижчих концентраціях NaCl, сильно зневоднене мокротиння та ASL, наприклад, що виникають при муковісцидозі та хронічних бронхолегеневих захворюваннях, вимагають більш високих (гіпертонічних) концентрацій фізіологічного розчину для врівноваження мокротиння шляхом подачі додаткової води в ASL [71-73].

Таким чином, фізіологічний розчин за допомогою різних механізмів сприяє оптимізації МСС та захисту дихальних шляхів від інфекцій. Це було добре продемонстровано на війчастому епітелії дихальних шляхів свиней: виділення вірусу грипу А в війчастому епітелії було приблизно в два-три рази вище через 24-48 годин після зараження у випадку циліостазу порівняно з нормальною активністю війок, у той час як сольовий розчин (до 2%) призводив до повного відновлення циліарної активності та усунення циліостазу, перешкоджаючи тим самим вірусній інфекції [42]; однак при концентрації NaCl, що перевищує 2%, швидкість відновлення знижувалася зі збільшенням концентрації фізіологічного розчину до 11% гіпертонусу NaCl [42]. Це ще раз наголошує на регулюючій ролі концентрації солі.

Слід зазначити, що на МСС можуть впливати додаткові чинники. Додавання до сольових аерозолів бронходилататорів, таких як сальбутамол або тербуталін, може поліпшити назальний МСС [74, 75]. Навпаки, багато консервантів, наповнювачів, антимікробних агентів, лідокаїн/анестетики, опіоїди та муколітики, такі як ацетилцистеїн, погіршують МСС [74, 76].

Крім того, на активність війок і МСС впливають температура тіла та навколишнього середовища, рН та вологість [62, 77]. Ці фактори також модулюють сухість слизової оболонки ротової порожнини.

#### ***Роль сольового розчину в гідратації слизової оболонки***

Порожнина носа зволожується в міру того, як конденсат теплого повітря, що виходить з легень, переміщується більш прохолодною поверхнею назального епітелію під час видиху. Висихання респіраторного

слизу та надмірна сухість у порожнині носа є поширеними проблемами, пов'язаними зі зниженням циліарної функції та погіршенням МСС [41, 77]. Наприклад, проходження потоку сухого холодного повітря або охолодження знижує температуру слизової оболонки та пригнічує рух війок, що більшою мірою проявляється в носовій частині глотки, ніж у постназальних просторах [77]. Швидкість зігрівання повітря, що вдихається, залежить від частоти дихання та об'єму вдихуваного повітря, але гіпервентиляція призводить до більш швидкого висихання слизової оболонки та зменшення кліренсу з легень [41]. Літні люди можуть частіше страждати на зневоднення слизової оболонки, при цьому у них також виявляються змінені війки, більш повільне биття війок, змінені властивості слизу і більш повільний МСС [65, 78]. На сухість у порожнині носа впливає температура тіла, причому температура порожнини носа коливається безпосередньо в залежності від внутрішньої температури тіла [77]. Отже, при високій температурі може відбуватися швидше висихання слизової оболонки дихальних шляхів, що робить літніх пацієнтів із лихоманкою ще більш сприйнятливими до вірусної агресії. Крім того, тривале використання лицьових масок пов'язане із зневодненням слизової оболонки ороназальної порожнини [79]. Це не дивно, так як різко знижується механізм кондиціонування, що полягає в охолодженні слизової оболонки при вдиху і конденсації насиченого теплого повітря, що видихається [77, 80].

Як наслідок, зволоження сольовим аерозолем може бути корисним. Невідомо, чи відбувається гідратація фізіологічним розчином за рахунок стимуляції або відновлення функції війок та/або інших факторів. Було показано, що «циліарна активність зберігається» доти, доки є достатнє зволоження [77]. Однак, якщо *in vitro* сухість носового епітелію зберігалася більше 15-18 хв, зволоження повітря або промивання епітелію водою вже не могли відновити рух війок, на відміну від ізотонічного сольового розчину або розчину Рінгера [77]. Відповідно до цих спостережень за рухом війок було виявлено, що процес гідратації слизової оболонки поверхневого епітелію дихальних

шляхів залежить не від самих війок, а, в першу чергу, – від присутності розчинних медіаторів в ASL [81]. Зволожуючий ефект сольового розчину (0,9-7,0%) добре задокументований при хронічних респіраторних захворюваннях, пов'язаних зі зневодненням муцинів та зниженням ASL у дихальних шляхах та/або легенях [72, 73, 82]. Тим не менш, при сухості порожнини носа або гортані ізотонічний розчин є переважною концентрацією для зволоження сухої слизової оболонки порожнини носа [83, 84]. Медичні працівники, які мають добре підігнані маски для обличчя, повідомляють про меншу сухість у порожнині носа та в роті при використанні ізотонічного сольового розчину для полоскання/спрей для носа двічі на добу (вранці/ввечері) [85]. Зволоження слизової оболонки сольовим розчином також може відігравати роль при сухому кашлі: було виявлено, що назальний ізотонічний розчин зменшує сухий кашель, пов'язаний з гострими респіраторними захворюваннями, такими як грип або застуда [86].

#### **Взаємодія сольового розчину з SARS-CoV 2**

NaCl може безпосередньо впливати на інфекційність вірусу SARS-CoV-2, коли вступає у взаємодію з його іонними чи електростатичними зарядами. NaCl зазначений як антимікробний засіб проти коронавірусів MHV-2, MHV-N (віруси мишачого гепатиту) та CCV (коронавірус собак), оскільки ці віруси втрачають інфекційність після дії NaCl 0,23% [87]. Machado та співавтори показали, що реплікація SARS-CoV-2 дозозалежно інгібується сольовим розчином (0,8-1,7% NaCl) у клітинах Vero CL-81 [88]. Інгібування реплікації вірусу починалося з 0,6% і далі, збільшуючись до 50% інгібування при 0,9% (ізотонічному) сольовому розчині, та досягаючи 100% при 1,5% (злегка гіпертонічному) сольовому розчині. Однак сольовий розчин прямо не впливав на сам SARS-CoV-2: попередня обробка вірусу сольовим розчином не могла інгібувати подальшу реплікацію вірусу в клітинах-господарях. Автори запропонували декілька різних основних механізми: (1) індукований NaCl гіперосмотичний стрес, що призводить до інгібування SARS-CoV-2 (хоча це ма-

лоймовірно, оскільки не було показано прямого впливу на вірус), (2) зниження експресії сигнального шляху фосфокінази C (проте для придушення цього знадобиться час), та (3) деполіаризація клітин-господарів через ENaC та його натрієвий сенсор, канал Na<sub>x</sub>, тим самим надмірно стимулюючи ENaC та призводячи до рухів електролітів, що навантажують мітохондрії (малоймовірно, оскільки швидше відбувається дисрегуляція ENaC – див. нижче).

Ми визначили п'ять взаємодій фізіологічного розчину, що стосуються вірусного тропізму, які були задокументовані і, отже, досяжні вже при концентраціях з ізотонічним сольовим розчином:

(1) *Чутлива до хлориду та рН конформация ACE2*. ACE2 є вхідним рецептором SARS-CoV-2 і присутній у порожнині носа, ротоглотці та дихальних шляхах (особливо у війчастих клітинах) [89-91]: було показано, що підвищення концентрації сольового розчину викликає дозозалежну негайну стеричну зміну конфігурації рецептора ACE-2 для зв'язування ангіотензину (Ang) II: інгібування починається при 100 мМ (0,58%) NaCl, що близько до мінімальної ефективної інгібуючої концентрації сольового розчину щодо реплікації SARS-CoV-2 (0,8% NaCl) [88, 92, 93]. Також повідомлялося про релевантні рН-опосередковані ефекти зв'язування ендосомального рецептора ACE2 для першого вірусу SARS-CoV: ці ефекти проявлялися б за допомогою взаємодії в сайті термінального глікозилування, викликаючи тим самим менше зв'язування вірусу з рецептором [94].

(2) *Інгібування вірусної протеази 3CLpro*. Коронавіруси людини, такі як SARS-CoV та SARS-CoV-2, зазвичай містять і використовують 3CLpro, хімотрипсиноподібну цистеїнову протеазу, яка регулює механізм реплікації вірусу. Немає значного блокуючого ефекту до 50 мМ NaCl на 3CLpro. Однак більш високі концентрації (100 мМ (~0,6%)) NaCl демонструють майже повну блокаду 3CLpro, тоді як активність ферменту також сильно залежить від рН (цілком блокується при рН<6,0) [95-99]. Значне інгібування та порушення димеризації ферменту відбувається при зміні концентрації NaCl до значень >100 мМ [96, 100, 101].

(3) *Інгібування фурину протеази господаря.* TMPRSS2 та фурін беруть участь у протеолітичній активації (приміюванні) спайкового білка SARS-CoV-2 [102-104]. Раніше було виявлено, що протеолітична активність фурину інгібується NaCl, починаючи з 75 мМ (~ 0,4%) і досягаючи > 90% інгібування при 100 мМ (0,6%) і повного інгібування при 200 мМ (~ 1,2%). При застосуванні розчинів KCl або CaCl<sub>2</sub>, які швидше стимулювали фурін, не спостерігалось інгібуючого ефекту [105]. Інгібування узгоджується з виявленням місця введення фурину Анандом та співавторами, яке, здається, є унікальним чином придбаним SARS-CoV-2 [112].

(4) *pH-зсуви в порожнині носа та дихальних шляхах.* pH інкубаційного середовища безпосередньо впливає на розгортання шипів SARS-CoV-2, яке утруднене при pH 4,5 [106]. На роль помірного закислення у перешкоджанні реплікації SARS-CoV-2 також вказують результати досліджень *in vitro* на клітинах Vero: повне інгібування реплікації вірусу спостерігалось при використанні чистого (незабуференого) сольового розчину (pH 5,5) та NH<sub>4</sub>Cl (діапазон pH 4,6-6,0), але не фосфатно-сольового буфера (PBS, pH 7,4) [88, 107]. Як pH, так і концентрація Na можуть стосуватися реплікації вірусу, аналогічно тому, як припускають об'ємні ефекти додавання незабуференого фізіологічного розчину, різних буферів, що містять натрій, і різних рівнів pH, в якості транспортного середовища, що спостерігалось за допомогою зовнішньої полімерази на рівнях виявлення RT-PCR SARS-CoV-2 без екстракції зразків слини [108]. pH рідини на поверхні порожнини носа або дихальних шляхів може бути пов'язаний із зараженням вірусом, тим більше, що здорова порожнина носа та дихальні шляхи, а також мокрота мають злегка кислий pH (pH 5,5-6,5): цей pH змінюється на більш лужний pH (pH 7,2-8,3) під час застуди і хронічних респіраторних захворювань [109]. Механізми, за допомогою яких сольовий розчин *in vivo* змінює pH на кислий, складні і включають різні канали в респіраторному епітелії [109, 110].

(5) *Взаємодія з ENaC.* Як вже обговорювалося, ENaC є основним механізмом

підтримки висоти шару ASL та регуляції ALF шляхом стимуляції поглинання натрію, а також запобігання зануренню та іммобілізації в'їчастого епітелію [62-64, 111]. На основі секвенування білків, Anand et al. [112] визначили сайт розщеплення S1/S2 SARS-CoV-2, який може імітувати протеолітичну активацію ENaC людини: вірус може захоплювати кілька протеаз, які беруть участь в активації та регуляції ENaC (TMPRSS2, фурін, простагландин та матриптаза [113-115]), фуріна, зокрема з огляду на унікальне місце вставки фурину в його S-білку [112]. Отже, це може призвести до порушення регуляції ENaC та балансу рідини у легенях [116]. Тим не менш, гомеостаз рідини також регулюється взаємодією між ENaC та натрій-чутливим каналом Na<sub>v</sub>, що безпосередньо активує ENaC [117, 118]. Ця мобілізація та активація ENaC через чутливий до Na<sub>v</sub> канал, що активує ENaC, ймовірно, відбувається з фізіологічним розчином, оскільки поріг активації Na<sub>v</sub> *in vitro* становить 150 мМ (0,88%) позаклітинного Na<sup>+</sup> [117] і, таким чином, досягається за допомогою ізотонічного сольового розчину. Відповідно до цього механізму було показано, що ізо- та гіпертонічний розчин, що вводиться щурам *in vivo*, здатний долати фармакологічну блокаду легень ENaC, що призводить до реабсорбції секрету легень [119].

#### **Активність міслопероксидази (МПО)**

Взаємодії між NaCl та МПО дуже складні, у той час як взаємодії між SARS-CoV-2 та МПО досі не з'ясовані. Основні дії сольового розчину на МПО обговорюються у Додатку 3. По суті, додавання NaCl до клітин, які продукують H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, *in vitro* змінює активність МПО з перекисного окислення (з утворенням H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) у бік хлорування (з утворенням HOCl). Таким чином, NaCl призводить до утворення HOCl з підвищеною віруліцидною активністю (хлорне вапно): такий вплив на МПО спостерігається вже при 10 мМ NaCl (0,058%), а віруліцидна дія HOCl спостерігається при 0,09-1,7% NaCl [120, 121]. Більш того, у той час як активність МПО людини в нейтрофілах активна при 25-140 мМ NaCl (0,14-0,82%) [122], фагоцитоз патогенів вимагає постій-

ного надходження хлориду (Cl<sup>-</sup>) для підтримки утворення НОСІ у фагосомах [123]. В якості альтернативи, оскільки Cl також конкурує з тіоціанатом як природний субстрат за активність МПО, фізіологічний розчин може змінювати тіоціанат субстрату в бік антиоксидантних шляхів, в той час як його супутня присутність з тіоціанатом збільшує вихід утворення віруліцидного гіпотіоціаніту [124]. Було також показано, що NaCl взаємодіє з продукцією активних форм кисню, а також із утворенням позаклітинних пасток нейтрофілів [125]. Ці складні взаємодії виходять за рамки даного огляду, але їм приділялася значна увага в контексті важкого COVID-19 [див. Додаток 3]. Вплив NaCl на МПО може бути клінічно значущим і при менш тяжких проявах, оскільки експериментальне дослідження з використанням аерозолів електролізованого сольового розчину (що містить таким чином НОСІ) показало високу ефективність у лікуванні та елімінації вірусу SARS-CoV-2 в амбулаторних умовах у пацієнтів з COVID-19 [126].

#### ***Переведення механізмів у клінічні переваги***

У Додатку 4 розглядаються найважливіші джерела, що підтримують використання аерозолів ізотонічного та гіпертонічного сольового розчину при ОРДС та бронхіолітах (не пов'язаних з COVID-19), а також мізерні дані, які були досі отримані у пацієнтів з позитивним результатом на COVID-19. Було показано, що при ГРДС або бронхіоліті, викликаному іншими респіраторними агентами, такими як синцитіальна респіраторна вірусна інфекція, аерозолі як ізотонічного, так і гіпертонічного сольового розчину чинять сприятливий вплив, на показники клінічної тяжкості та поліпшення дихання, у той час як частота та/або тривалість госпіталізацій скорочувались, особливо у дітей

(таблиця 2А, додаток 4). Тим не менш, в цілому, кращі результати спостерігалися при використанні сольового ізотонічного розчину в порівнянні з гіпертонічним, частково тому, що останній був пов'язаний з посиленням кашлю у немовлят. Для лікування та профілактики застуди та/або грипу дослідження підтримують як невідкладне, так і профілактичне використання промивання сольовим розчином (таблиця 2В, додаток 4). Користь зрошення сольовим розчином для прискорення одужання від застуди визнана ВООЗ [127, 128]. Щодо лікування пацієнтів з COVID-19, на даний момент доступна обмежена кількість пілотних досліджень. Два дослідження (одне з інфекції верхніх дихальних шляхів, викликані сезонними коронавірусами або вірусом застуди [29], одне за симптоматичним COVID-19 [15]) використовують контрольну групу та підтримують раннє використання полоскань порожнини носа та порожнини рота гіпертонічним розчином, розпочатих протягом 48 год після появи симптомів [15, 29]. З погляду безпеки важливими є два обсерваційні дослідження. В опитуванні пацієнтів з COVID-19 з аносмією згадано використання фізіологічного розчину у 57% пацієнтів: аносмія вирішилася з часом, але одужання не задокументовано при початковому лікуванні; слід зазначити, що жоден з них не був госпіталізований і в нього не розвинувся ГРДС [129]. У німецькому дослідженні у пацієнтів з тяжким перебігом захворювання 60 пацієнтів з ОРДС та COVID-19 щодня використовували ізотонічний сольовий аерозоль. Введення було розпочато до процедур неінвазивної вентиляції (з утворенням біоаерозолі): тільки 3 випадки погіршилися і була потрібна інтубація (всі з тяжкою супутньою патологією, з яких один помер); медпрацівники не заразилися [130]. Більш докладні відомості див. у Додатку 4.

Таблиця 2

(А) Фармакологічні ефекти сольового розчину при COVID-19 та ефективні концентрації  
 (В) Референтні значення  $\text{Na}^+$  та  $\text{Cl}^-$  в рідині порожнини носа, дихальних шляхів та легень

Показник	Фізіологія/патофізіологія, пов'язана із застудою/респіраторною інфекцією	Патофізіологія стосовно SARS-CoV-2	Фармакологічні ефекти сольового розчину або еталонних концентрацій
<i>(А) Фармакологічні ефекти сольового розчину</i>			
Зволоження – вплив на ALF			
Генерація біоаерозолей / везикул та розповсюдження ALF	Передача COVID-19 повітряно-краплинним шляхом, наприклад, під час розмови Випадки надпоширення в закритих та непродітованих приміщеннях [10-13, 130-132]	SARS-CoV-2 атакує сурфактант, що продукується альвеолярними епітеліальними клітинами типу II (AT2), підвищує альвеолярний поверхневий натяг і, таким чином, призводить до альвеолярного колапсу [21, 22] Інфікування нижніх дихальних шляхів та легень, як вважають, відбувається внаслідок мікроаспірації ультрадрібних крапель [144]	NaCl (0,9%) призводить до: Зволоження та агрегації рідини, що призводить до: - пригнічення утворення аерозолів/везикул: [зменшення утворення біоаерозолей на 72% після 6-хвилинного впливу, що триває до 6 годин] - Легша фільтрація більш важких/великих крапель, що ускладнює їх потрапляння у глибші відділи дихальних шляхів та легень - Зменшення виділення вірусу (показано для інших вірусів) - Поліпшення поширення ALF та розтяжності дихальних шляхів (застосовується у недоношених новонароджених) [17-35]
Виділення вірусу риновірусу/коронавірусу	Передача вірусів застуди та COVID-19 відбувається шляхом апікального виділення вірусних частинок та/або екзосом (виділення вірусомісних везикул) [134-136]	Виділення вірусу SARS-CoV-2 може відбуватися під час інфекції [134-136]	NaCl (0,9-3%) забезпечує (показано для вірусів, відмінних від SARS-CoV-2): - Ефект полоскання <i>in vivo</i> , що викликає нижчі титри вірусу (5 діб до повернення до вихідних значень) - <i>In vivo</i> знижує виділення вірусу, як це було продемонстровано для інших вірусів (рино та інших коронавірусів) [28-29]
<i>Мукоциліарний кліренс (МСС)</i>			
МСС (мерехтіння війок)	Первинний захисний механізм для видалення патогенів, вірусних частинок та залишків	SARS-CoV-2 переважно націлений на війчасті клітини в порожнині носа, носовій частині глотки, дихальних шляхах, нюхових цибулинах та знижує МСС [134-136]	NaCl (0,9%) сприяє мерехтінню війок і МСС <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i> Залежить від осмоляльності/іонної сили - знижується гіпотонічним розчином - варіабельні ефекти гіпертонічного розчину <i>in vitro</i> : ефекти, що спостерігаються на мембрані епітеліальних клітин (змінена електропровідність, проникність, деформація клітин) [40-58]

Показник	Фізіологія/патофізіологія, пов'язана із застудою/ респіраторною інфекцією	Патофізіологія стосовно SARS-CoV-2	Фармакологічні ефекти сольового розчину або еталонних концентрацій
Муцини, що містять сіалові кислоти	Захоплює хвороботворні мікроорганізми, вірусні частинки та сміття, щоб видалити їх за допомогою МСС або кашлю	Спайковий білок SARS-CoV-2 зв'язує сіалову кислоту (якщо не забуферен при pH>7) та виявляється у мокротинні [137, 145]	NaCl перетворює слиз на гель <i>in vitro</i> [показано при $\geq 90$ мМ – 0,6%], таким чином відбувається зміна МСС та очищення за допомогою кашлю [ $\geq 0,9\%$ ] [30, 67, 68]
Очищення за допомогою кашлю	Асоційований з МСС Застій густого зневодненого слизу в носових порожнинах і носоглотці призводить до постназального затікання та кашлю	SARS-CoV-2 часто викликає кашель, хоча і присутній у мокроті [137]	NaCl (0,6 %) перетворює мокротиння на гель і (0,9 %) зменшує його адгезію, тим самим сприяючи позбавленню від кашлю [69-71]
<i>Зволоження слизової оболонки</i>			
(де)гідратація слизової оболонки	Перициліарна рідина зазвичай містить $\leq 50$ мМ NaCl (0,29%), тоді як вищі концентрації ( $\geq 100$ мМ – 137 мМ) необхідні для підтримки градієнта поглинання та руху в'юк. Рухливість в'юк та МСС гальмуються сухістю слизової оболонки	SARS-CoV-2 може призвести до порушення регуляції $\text{Na}^+$ -гомеостазу у дихальних шляхах /легенях [116]. Більш важкий SARS-CoV-2 часто пов'язаний зі станом сухості слизової оболонки, наприклад, у людей похилого віку або при носінні лицьових масок, лихоманці та інфекції [65, 78, 79, 153]	<i>In vitro</i> та <i>in vivo</i> - Ізотонічний (0,9% NaCl): зволожуючий ефект, паралельний функціонуванню в'юк - Гіпертонічний (зазвичай 3% NaCl): зволожує і має сильний ефект ополіскування (осмос); [59-65, 77, 79-84]
<i>Реплікація вірусу</i>			
Реплікація вірусу	Реплікація вірусу SARS-CoV-2 призводить до повторення симптомів застуди	<i>In vitro</i> реплікація вірусу інгібується чистим сольовим розчином [88] pH- та Na-залежний ефект [106-108]	NaCl інгібує реплікацію SARS-CoV-2 <i>in vitro</i> в клітинах Vero: чистий сольовий розчин • MIC: 0.6% • IC <sub>50</sub> : 0.9% – IC <sub>100</sub> : 1,5% [88]
Концентрація (Na)Cl у клітинах, що експресують ACE2	Сильна Cl-залежність рецептора ACE2-: починаючи з певної концентрації NaCl індукує стеричні складнощі рецептора ACE2 для його субстратів [92]	ACE2 є вхідним рецептором для SARS-COV-2 [89-91]	NaCl вызиває стерические затруднення рецептора ACE2 <i>in vitro</i> : в HEPES • MIC: 0,5% • IC <sub>50</sub> : 1,4% [92-94]
Протеаза SARS-CoV-2 3CLpro	3CLpro є протеазою, загальною для коронавірусів: її використання при протеолітичному процесингу поліпротеїну реплікази призводить до продукції інфекційного вірусу [95, 96]	SARS-COV-2 використовує для реплікації власну протеазу 3CLpro [95, 96]	NaCl пригнічує протеазу SARS-CoV-2 3CLpro (виведено з графіка): • MIC <sub>30</sub> : ~0.9% (150 мМ) • IC <sub>90</sub> : ~1.8% (300 мМ) [95-101]



Показник	Фізіологія/патофізіологія, пов'язана із застудою/ респіраторною інфекцією	Патофізіологія стосовно SARS-CoV-2	Фармакологічні ефекти сольового розчину або еталонних концентрацій
Фуринова протеаза господаря	Фурін містить сенсор натрію і за певної концентрації інгібується NaCl, але не хлоридом кальцію або калію [105]	SARS-COV-2 потребує TMPRSS2 і має фурін-зв'язуючий домен, щоб ініціювати спайк для входу ACE2 [102-104]	NaCl інгібує фурін (виведено з графіка): • MIC: ~0,45% (75 mM) • IC~90%: ~0,9% (150 mM) • IC <sub>100</sub> : ~1,2% (200 mM) [105]
ENaC	ENaC визначає гідратацію та якість ALF та MCC, а також стимулює реабсорбцію гіперсекреції ALF; Активність ENaC регулюється різними протеазами та натрієвим сенсором Na <sub>x</sub> [62-64, 111, 117, 118]	SARS-CoV-2 має унікальний сайт вбудовування фурину, тому розділяє кілька протеаз, які інгібують/регулюють ENaC, що призводить до меншої доступності ENaC і, отже, до меншого поглинання рідини у легенях [112-116]	Na <sub>x</sub> сприймає NaCl в 0,9% NaCl, стимулює ENaC і, отже, (ре)абсорбцію натрію, сприяючи регулюванню об'єму та Na <sup>+</sup> -гомеостазу, контролюючи кількість ALF, а також MCC [поріг Na <sub>x</sub> : ~150 mM] [117] NaCl (0,9-1,5%) дозволяє подолати секрецію у легенях після фармакологічно індукованої блокади ENaC [119]
<i>Утворення мієлопероксидази (МПО)</i>			
Хлорноватиста кислота (НОСІ), мієлопероксидаза (МПО)	– Противірусна дія NaCl пов'язана з утворенням НОСІ з іонів Cl <sup>-</sup> – НОСІ в основному виробляється МПО: утворення НОСІ у фагосомах потребує постійного надходження хлориду [120-123]	SARS-CoV-2 чутливий <i>in vitro</i> до НОСІ [120, 121]	NaCl 15-300 mM (від 0,09 до 1,7%) призводить до утворення НОСІ [120, 121] Активність МПО у фагосомах нейтрофілів збільшується зі збільшенням концентрації NaCl від 25 mM (0,14%) NaCl та вище [112]
<i>Не знайдено релевантності у зв'язку з SARS-CoV-2</i>			
CFTR	Апікальна секреція Cl <sup>-</sup> опосередкована головним чином CFTR, що відноситься до дегідратованої ALF (як при муковісцидозі)	Не розглянуто – Досі не відомо жодних специфічних взаємодій, пов'язаних із вірусною інфекцією	(?) Обгрунтування залишається незрозумілим, крім відомого ефекту гіпертонічного розчину створення осмосу [досі не встановлено, чи це стосується SARS-CoV-2; або станів, що характеризуються дегідратацією ALF, густим слизом і порушенням MCC]
<i>(В) Референтні значення в рідинах організму</i>			
Рідини організму			Еталонна концентрація Na <sup>+</sup> та Cl <sup>-</sup>
Слина			Варіабельна від низької до високої: 3-125 mM, в середньому 5,6 mM [143]
Порожнина носа			
Назальна рідина			Середні значення: Na <sup>+</sup> : 128-150 mM; Cl <sup>-</sup> : > 139 mM [139-141] Висока варіабельність -> діапазон: 85-225 mM Na <sup>+</sup> [139]



Показник	Фізіологія/патофізіологія, пов'язана із застудою/ респіраторною інфекцією	Патофізіологія стосовно SARS-CoV-2	Фармакологічні ефекти сольового розчину або еталонних концентрацій
Інспірація через порожнину рота або носа			Na <sup>+</sup> : 120 mM (рот), 189 mM (ніс) Cl <sup>-</sup> : 134 mM (рот), 205 mM (ніс) [139]
Носовий слиз			Na <sup>+</sup> : 139-150 mM Cl <sup>-</sup> : 139 mM [139]
Застуда			Na <sup>+</sup> : в середньому 135 mM проти - 185 mM (при спонтанному здоровому диханню) - 128 mM (при чханні) [139]
<i>Дихальні шляхи</i>			
ASL			≥ 50 mM Na <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup>
Перициліарна рідина			≤ 50 mM NaCl [142]
Зовнішній ASL			≥ 100; у середньому 137 mM NaCl [142] + NaCl 0,9%: ALF залишається ізотонічною протягом оцінюваних 5 годин; тільки гіпотонічні розчини не підтримують [142]
Рідина дистальних відділів дихальних шляхів			122±2 mM Na <sup>+</sup> , 123±4 mM Cl <sup>-</sup> [144]
<i>Легені</i>			
ALF			82-91 mM для Na <sup>+</sup> та 82-108 mM для Cl <sup>-</sup> [141]
Мокротиння (суміш слини та слизу, що виділяється при інфекції/хворобі)			1,74 % (123 mM) NaCl [140]

ALF – альвеолярна вистилаюча рідина, CFTR – регулятор трансмембранної провідності при муковісцидозі, Cl<sup>-</sup> – хлорид, HOC1 – хлорноватиста кислота, IC<sub>50</sub> – інгібуюча концентрація для інгібування 50%, IC<sub>100</sub> – інгібуюча концентрація для інгібування 100%, MCC – мукоциліарний кліренс, MIC – мінімальна інгібуюча концентрація, MPO – мієлопероксидаза, Na<sub>x</sub> – натрієвий канал x, Na<sup>+</sup> – натрій.

### Обговорення

У більшості осіб з позитивним результатом q-ПЦР інфекція SARS-CoV-2 має безсимптомний перебіг або має легкий перебіг; проте у меншості, переважно літніх людей чи пацієнтів із супутніми захворюваннями чи імунодефіцитом, розвинеться важкий ГРДС. Оскільки ГРДС при COVID-19 є серйозним ускладненням, він потребує раннього виявлення та комплексного ліку-

вання. Будь-яке профілактичне або невідкладне лікування застуди, що збігається з COVID-19, має гарантувати достатню безпеку, якщо воно застосовується на ранній стадії. Оскільки передача може відбуватися через біоаерозоль в період до появи серйозних симптомів, ефективні гігієнічні заходи, такі як полоскання горла або промивання носа, повинні бути ініційовані якомога раніше, як це пропонується DGKH. Лікування

в ідеалі також має бути простим, безпечним та недорогим. Цей аналіз демонструє, що полоскання сольовим розчином та застосування аерозолу є безпечним та ефективним підходом до лікування та профілактики інфекцій верхніх дихальних шляхів та застуди, у той час як докази, представлені в цьому рукописі, також надають раціональні аргументи на користь їх раннього застосування, протягом 48 годин після появи симптомів, для стримування та полегшення легкого перебігу COVID-19. Хоча офіційні дослідження підтримуються для визначення оптимальної концентрації (концентрації) розчину розчину та частоти застосування, дані підтверджують використання як ізотонічного, так і гіпертонічного розчину розчину, хоча застосування ізотонічних розчинів в порожнині носа та/або легень якості підтримуючої терапії може бути пов'язано з меншою кількістю побічних ефектів. Наші рекомендації, що ґрунтуються на цьому аналізі, узагальнено в таблиці 3. Вони відповідають онлайн-рекомендаціям для німецьких споживачів [1-7] та забезпечують сильну підтримку рекомендацій DGKH щодо полоскання горла/промивання порожнини носа для використання в домашніх умовах, будинках для людей похилого віку та школах [9]. Таким чином, наш аналіз підтверджує кілька механізмів, що стосуються інфекції SARS-CoV-2.

З одного боку, сольовий розчин дає переваги для профілактичного використання як назальний спрей або ополіскувач для порожнини носа і порожнини рота, оскільки слина бере участь у передачі інфекції, а унікальні фізико-хімічні властивості сольового розчину призводять до зменшення утворення крапель [23-26]. При введенні у вигляді 0,9% сольового аерозолу протягом 6 хв ефект останнього є найвищим серед суперрозповсюджувачів і призводить до утворення більших крапель, які легше фільтруються масками для обличчя [23, 26]. Було також показано, що цей механізм дії сольового розчину працює в експерименті на моделі свиней, запобігаючи передачі вірусу грипу повітряно-краплинним шляхом [25]. Його аерозольне застосування на додаток до суворих гігієнічних заходів у лікарні при неінвазивній вентиляції у пацієнтів з COVID-

19-ГРДС не було пов'язане з посиленням передачі інфекції [130]. Отримані дані обнадіюють і спонукають дотримуватися нещодавньої рекомендації DGKH використовувати полоскання горла та промивання порожнини носа сольовим розчином у ряді профілактичних ситуацій, наприклад, в закладах по догляду за особами похилого віку перед їжею або заходах за участю літніх людей або осіб, які проходять повторну атестацію, сімейних або професійних зустрічах або на релігійних зборах (навіть якщо вони вакциновані від COVID) або для дітей у школах [9]. Вважається, що інфіковані біоаерозолі утворюються при кашлі, а також під час розмови або співу, коли бронхіальний секрет рухається по голосових зв'язках [131, 132], при цьому біоаерозолі недостатньо блокуються бавовняними та медичними масками (навіть хірургічними або N93, які добре підібрані) [133]. Унікальні змочувальні властивості NaCl, виявлені в цьому дослідженні, виправдовують застосування заходів гігієни ороназальної порожнини у поєднанні із застосуванням масок для обличчя та заходами дистанціювання. Зокрема, підтримання ороназальної гігієни за допомогою сольового розчину (у вигляді аерозолу, спрею або полоскання) може призвести до меншого проникнення біоаерозолу через маску [35]. Висновок про те, що при випаровуванні підвищена солоність може деформувати містять краплі [38], заслуговує подальшого вивчення, щоб дізнатися більше про розпад SARS-CoV-2 в NaCl/вірус-навантажених біоаерозолях. З іншого боку, було ідентифіковано безліч механізмів сольових розчинів, які посилюють вроджені первинні механізми захисту, такі як стимулювання MCC та взаємодія з МПО. Вони доповнюються різними механізмами інгібування реплікації SARS-CoV-2 – всі вони виявляються при концентраціях сольового розчину, які використовуються в даний час (таблиця 2). Множинні механізми дії виправдовують раннє застосування при появі перших симптомів COVID-19. По-перше, ці механізми NaCl можуть запобігти масовій реплікації вірусу і руйнування війок у ротовій та носовій порожнинах, можливо, шляхом інгібування протеазної активності фурину та 3CLpro: SARS-CoV-2 впливає на

війчасті клітини в порожнині носа та дихальних шляхах, вивільняючи вірус, чи рясні секреторні везикули, і навіть порушення MCC [134-136]. Спайковий білок SARS-COV-2 також містить глікозиди, які ефективно пов'язують сіалові кислоти (основні компоненти слизу) [137]: таким чином, індуковане сіллю гелеутворення слизу слабким кислим сольовим розчином покращує елімінацію вірусу. Як видно з таблиці 2, більшість фармакологічних/фармакодинамічних ефектів сольового розчину *in vitro* були досягнуті при концентраціях ізотонічного розчину. Це обнадіює з патофізіологічної точки зору, оскільки SARS-COV-2 в основному ініціює інфекцію в порожнині носа та засіює шляхом мікроаспірації нижні дихальні шляхи, після чого вірус, що продукується в трахеї, далі проникає шляхом аспірації глибоко у легені [136, 138]. Більш того, референтні значення  $\text{Na}^+$  та  $\text{Cl}^-$  у відповідних рідинах (слині, носовому слизу та рідині (при застуді), перичиліарній рідині, ASL, ASL та мокротинні [139-144]) виявилися в цілому нижчими, ніж концентрація у мМ NaCl, що забезпечується ізотонічним сольовим розчином (див. Таблицю 2B). Оскільки можна безпечно повторно використовувати великі обсяги фізіологічного розчину, це дозволяє досягати відповідних концентрацій протягом доби, щоб досягти описаних ефектів. Також добре задокументовано безпечно довгострокове використання при хронічних захворюваннях легень. Крім того, аналіз показує, що через свою ізотонічну природу фізіологічний розчин може також сприяти усуненню бронхоконстрикції у разі гіперсекретованої, а отже, потенційно гіпотонічної ALF, а також прискорити позбавлення від кашлю [17-20, 23, 30]. Однак, враховуючи велику літературу про сольовий розчин, обмеження цього аналізу полягає в тому, що не всі ефекти сольового розчину або механізми, що стосуються SARS-CoV-2, могли бути враховані.

Слід зазначити, що рН порожнини носа та дихальних шляхів може мати важливе значення при інфікуванні COVID-19, враховуючи вплив рН на протеазу та інгібування реплікації вірусу (результати, частина 3). Крім того, рН впливає на зв'язування муцину SARS-CoV-2, чого, як було виявлено, не

відбувається, якщо муцини були забуферені при рН 7,0 [145]. Тому ми рекомендуємо використовувати чистий сольовий розчин (рН 5,5) для респіраторної гігієни, а не спреї з буферним розчином (морська вода), хоча вони також можуть спрацювати завдяки ефекту простого полоскання [86, 146]. Хоча часто для полоскань або інгаляцій рекомендуються теплі або підігріті сольові розчини, немає жодних доказів того, що це призводить до кращої дії, ніж використання сольового розчину кімнатної температури [147]. Інші склади назального спрею – з великою кількістю або буферними іонами, поверхнево-активними речовинами, емульгаторами, ексципієнтами, консервантами та/або активними речовинами – можуть не обов'язково призводити до тих же ефектів, які були виявлені в цьому аналізі для чистого фізіологічного розчину, або можуть інгібувати биття війок [74-76]. Додавання деяких поверхнево-активних речовин до рідин може посилювати утворення біоаерозолів [23, 30, 31] або бути циліотоксичними (наприклад, полівідон-йод [148]), тоді як інші (наприклад, ефірні олії з віруліцидною дією) можуть порушувати природний мікробіом. Також DGKH рекомендує застосовувати сольові препарати без добавок, таких як консерванти або протинабрякові засоби [9]. Так само слід уникати застосування спреїв, що містять трипсин, які начебто захищають від COVID-19 на основі простого перетравлення трипсину [149], оскільки було показано, що протеаза трипсин швидше посилює вірусну інвазію та утворення синцитіїв у правильно спроектованих хост-моделях [107, 150]; такі спреї, які продаються без рецепта як медичні пристрої в Європейському союзі, заборонені до продажу в Німеччині через відсутність доказів ефективності.

Ми пропонуємо ізотонічний, а не гіпертонічний сольовий розчин, за винятком випадків полоскання горла, де рекомендується гіпертонічний 2% NaCl (також рекомендований DGKH). Ізотонічний розчин позбавлений побічних ефектів, які ми виявили в ході цього аналізу, таких як зміни морфології клітин та підвищена проникність назального епітелію, печіння / подразнення в порожнині носа та індукція бронхоконстрикції або кашлю.

Рецепт сольового розчину, який можна приготувати в домашніх умовах (приготовлений із простої кухонної солі) часто пропонується в Інтернеті (DGKH: чайна ложка, наповнена кухонною сіллю (=2 г/100 мл, що відповідає 1 столовій ложці (20 г) на літр води). Відповідно до рекомендацій DGKH, звичайні аплікації для догляду за дихальними шляхами повинні виконуватися 2-3 рази на добу, тоді як клінічні випробування, що продовжуються, у пацієнтів з симптомами COVID-19 пропонують ороназальне зрошення до 12 разів на добу. Стерильні спреї та разові дози можуть бути безпечнішими і якості аерозолі, що розпилюється. Питання про те, чи потрібне при інфекції COVID-19 тільки ороназальне промивання або інгаляції із- або гіпертонічного аерозольного розчину, або він може бути доданий до інших стратегій лікування для обмеження передачі або пошкодження легень SARS-CoV-2, заслуговує на подальше вивчення.

Нарешті можна розвінчати деякі міфи. (1) Введення фізіологічного розчину у вигляді полоскань або аерозолів не слід плутати з процедурами розпилення, які можуть призвести до передачі інфекції – поширена помилка в галузі респіраторної допомоги. Використання потоку кисню або інвазивних процедур викликає утворення вірусонавантажених біоаерозолів за рахунок подачі повітря на інфіковану поверхню дихальних шляхів, що містить сурфактант. Сольовий аерозоль, навпаки, призводить до пригнічення і зменшення продукції біоаерозолі, що видихається, як зазначено в розділі «Результати» (пункт 1). Очевидно, аерозоль з фізіологічним розчином і зрошення слід

поєднувати з основними заходами гігієни при COVID-19 (див. Табл. 3), з використанням одноразових або вологих серветок для збору надлишків рідини для полоскання і слизу, з миттям рук і адекватною вентиляцією приміщення. 2) Також немає доказів того, що полоскання порожнини носа може призвести до погіршення нюху. Промивання порожнини носа сольовим розчином не впливає на нормальний нюх [151], а його використання при захворюваннях носа не призводить до несприятливих результатів [152]. Його зволожуючий ефект може допомогти запобігти та подолати сухість порожнини носа під час COVID-19 [153].

В підсумку можна сказати, що, незважаючи на те, що формальні ефекти фізіологічного розчину повинні бути вивчені в майбутньому з використанням рандомізованих контрольованих досліджень, цей огляд дає достатньо аргументів на користь успішного застосування та клінічної значущості застосування фізіологічного розчину в контексті легкої та ранньої стадії COVID-19. Були виявлені численні ефекти NaCl, що призводять до зменшення утворення біоаерозолів, що стосуються первинних захисних механізмів, таких як мукоциліарний кліренс та продукція HOCl, а також стримування поширення інфекції SARS-CoV-2. Ці механізми важливі, оскільки вони досяжні при ізотонічних (або нижчих) та гіпертонічних концентраціях фізіологічного розчину, що використовуються для промивання порожнини носа, респіраторної гігієни (аерозоль) та полоскання ротової порожнини. Вони можуть бути основою традиційного використання фізіологічного розчину при застуді.

## References

- HNO-Ärzte im Netz (2020) Herausgegeben vom Deutschen Berufsverband der Hals-Nasen-Ohrenärzte e.V.) Tipps zur richtigen Nasenpflege [Tips for adequate nasal care]. <https://www.hno-aerzte-im-netz.de/unsere-sinne/hno-hygiene/tipps-zur-richtigen-nasenpflege.html>. Accessed 19 June 2020
- Lungenärzte im Netz (Lung doctors in the Net) (2020) Einfaches Inhalieren kann Tröpfcheninfektion effektiv eindämmern. [Simple inhalation can limit efficiently droplet infection] <https://www.lungenaerzte-im-netz.de/news-archiv/meldung/article/einfaches-inhalieren-kann-troepfcheninfektion-effektiv-eindaemern/>. Accessed 19 June 2020
- Praxisvita (das Portal für Gesundheit & Medizin) (2020) Inhalieren bei Corona: Wie wirksam ist das Hausmittel? [Inhalation during Corona; How effective is this home remedy?] <https://www.praxisvita.de/coronavirus-dieses-hausmittel-hilft-bei-leichten-symptomen-18411.html>. Accessed 19 June 2020
- Leichter Atmen bei Lungen- und bronchialerkrankungen (2020) Corona: Pflege der Atemwege vermindert Infektionsrisiko [Corona: Care of the airways reduces the risk of infection]. [24.03.2020] <https://www.leichter-atmen.de/copd-news/atemwegspflege>. Accessed 19 June 2020
- PARI-Blog (2020) Treatment and nebuliser therapy for COVID- 19 in hospital. Interview with the Prof. Dr Kamin, Medical Director of the Hamm Lutheran Hospital. <https://www.pari.com/int/blog/treatment-and-nebuliser-therapy-for-covid-19-in-hospital-interview-with-the-prof-dr-kamin-medical-director-of-the-hamm-lutheran-hospital/>. Accessed in English 27 July 2020. - Firstly accessed in German: Accessed 19 June 2020
- Betreut.de (2020) Coronavirus: Was Senioren & ihre Betreuer wissen müssen. [Coronavirus: What seniors and care givers need to know] [www.betreut.de](http://www.betreut.de). Accessed 14 July 2020
- ETH Zurich (2020) Mit Atemwegspflege das Infektionsrisiko senken. [With airway care decrease the risk of infection.] <https://ethz.ch/de/news-und-veranstaltungen/eth-news/news/2020/03/zukunftsblog-viola-vogel-mit-atemwegspflege-das-infektionsrisiko-senken.html>. Accessed 14 July 2020
- Bronchiectasis Toolbox (2020) Hydration and humidification. <https://bronchiectasis.com.au/physiotherapy/principles-of-airway-clearance/hydration-and-humidification>. Accessed 13 July 2020
- Kramer A, Eggers M, Hübner N-O et al (2020) Empfehlung der DGKH. Viruzides Gurgeln und viruzider Nasenspray [Virucidal gargling and virucidal Nose sprays]. Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene e.V., 01.12.2020. Accessed 9 January 2021. [https://www.krankenhaushygiene.de/pdfdata/2020\\_12\\_02\\_Empfehlung-viruzides-gurgeln-nasenspray.pdf](https://www.krankenhaushygiene.de/pdfdata/2020_12_02_Empfehlung-viruzides-gurgeln-nasenspray.pdf)
- Sciensano (2020) Consensus over het rationeel en correct gebruik van mondmaskers tijdens de COVID-19-pandemie [Consensus on the rational and correct use of mouth masks during the COVID-19 pandemic]. [https://covid-19.sciensano.be/sites/default/files/Covid19/consensus%20on%20the%20use%20of%20masks\\_RM\\_G\\_NL.pdf](https://covid-19.sciensano.be/sites/default/files/Covid19/consensus%20on%20the%20use%20of%20masks_RM_G_NL.pdf). Accessed 13 July 2020
- Sciensano (2020) Procedure voor huisartsen in geval van een mogelijk geval van COVID-19. Versie 08 juli 2020. [Procedure for doctors in the event of a possible case of COVID-19]. [https://covid-19.sciensano.be/sites/default/files/Covid19/COVID-19\\_procedure\\_GP\\_NL.pdf](https://covid-19.sciensano.be/sites/default/files/Covid19/COVID-19_procedure_GP_NL.pdf). Accessed 13 July 2020
- APB (2020) Aerosoltoestellen [Aerosol devices]. Information Up date 20 March 2020. [https://www.apb.be/APB%20Documents/NL/All%20partners/CORONAVIRUS\\_AEROSOL\\_VERHUUR\\_20\\_03\\_20.pdf](https://www.apb.be/APB%20Documents/NL/All%20partners/CORONAVIRUS_AEROSOL_VERHUUR_20_03_20.pdf). Accessed 19 June 2020
- World Health Organization (2020) Modes of transmission of virus causing COVID-19: implications for IPC precaution recommendations. Scientific Brief, 29 March 2020. <https://www.who.int/publications-detail/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>. Accessed June 19, 2020.
- Pfeifer M, Ewig S, Voshaar T et al (2020) Position paper for the state-of-the-art application of respiratory support in patients with COVID-19. *Respiration* 99:521–541. <https://doi.org/10.1159/000509104>
- Kimura KS, Freeman MH, Wessinger BC et al (2020) Interim analysis of an open-label randomized controlled trial evaluating nasal irrigations in non-hospitalized patients with COVID-19. *Int Forum Allergy Rhinol* Sep 11 [Epub ahead of print]. <https://doi.org/10.1002/alr.22703>
- ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04347538. Impact of nasal sa- line irrigations on viral load in patients with COVID-19. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT04347538?term=saline&cond=covid-19&draw=2&rank=1>
- Santos FKG, Barros Neto EL, Moura TMCPA et al (2009) Molecular behavior of ionic and nonionic surfactants in saline medium. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 333:156–162. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.09.040>
- Staszak K, Wieczorek MK (2015) Effect of sodium chloride on the surface and wetting properties of aqueous solutions of cocamidopropyl betaine. *J Surfact Deterg* 18:321–328. <https://doi.org/10.1007/s11743-014-1644-8>
- Avery ME, Mead J (1959) Surface properties in relation to atelec- tasis and hyaline membrane disease. *AMA J Di Child* 97(5\_Part\_I):517-5523. <https://doi.org/10.1001/archpedi.1959.02070010519001>
- Ghadiali SN, Gaver DP (2008) Biomechanics of liquid-epithelium interactions in pulmonary airways. *Respir Physiol Neurobiol* 163(1-3):232-243. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.04.008>
- Huang J, Hume AJ, Abo KM et al (2020) SARS-CoV-2 infection of pluripotent stem cell-derived human lung alveolar type 2 cells elicits a rapid epithelial-intrinsic inflammatory response. *bioRxiv* [Preprint]: 175695. <https://doi.org/10.1101/2020.06.30.175695>
- Takano H (2020) Pulmonary surfactant itself must be a strong defender against SARS-CoV-2. *Medical Hypotheses* 144: 110020. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110020>
- Edwards DA, Man JC, Brand P et al (2004) Inhaling

- to mitigate exhaled bioaerosols. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(50):17383-17388. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408159101>
24. Edwards DA, Fiegel J, DeHaan W et al (2006) Novel inhalants for control and protection against airborne infections. *Resp Drug Delivery* 1:41-48
  25. Edwards D, Hickey A, Batycky R et al (2020) A new natural defense against airborne pathogens. *QRB Discovery* 1:e5. <https://doi.org/10.1017/qrd.2020.9>
  26. Fiegel J, Clarke R, Edwards DA (2006) Airborne infectious disease and the suppression of pulmonary bioaerosols. *Drug Discov Today* 11(1-2):51-57. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03687-1](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03687-1)
  27. Simonds A, Hanak A, Chatwin M et al (2010) Evaluation of droplet dispersion during non-invasive ventilation, oxygen therapy, nebuliser treatment and chest physiotherapy in clinical practice: implications for management of pandemic influenza and other airborne infections. *Health Technol Assess* 14:131-172. <https://doi.org/10.3310/hta14460-02>
  28. Hendley JO, Gwaltney JM (2004) Viral titers in nasal lining fluid compared to viral titers in nasal washes during experimental rhinovirus infection. *J Clin Virol* 30(4):326-328. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.02.011>
  29. Ramalingam S, Graham C, Dove J et al (2019) A pilot, open labelled randomised controlled trial of hypertonic saline nasal irrigation and gargling for the common cold. *Sci Rep* 9:1015. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37703>
  30. Watanabe W, Thomas M, Clarke R et al (2007) Why inhaling salt water changes what we exhale. *J Colloid Interface Sci* 307:71-78. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.11.017>
  31. Patel A, Longmore N, Mohanan A, Ghosh S (2019) Salt and pH- induced attractive interactions on the rheology of food protein- stabilized nanoemulsions. *CS Omega* 4(7):11791-11800. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03360>
  32. Wang Q, Li W, Hu N et al (2017) Ion concentration effect (Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>) on lipid vesicle formation. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 155:287-293. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.04.030> <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776517302163>
  33. Liu S, Novoselac A (2014) Transport of airborne particles from an unobstructed cough jet. *Aerosol Sci Technol* 48(11):1183-1194. <https://doi.org/10.1080/02786826.2014.968655>
  34. Heyder J (2004) Deposition of inhaled particles in the human respiratory tract and consequences for regional targeting in respiratory drug delivery. *Proc Am Thorac Soc* 1:315-320. <https://doi.org/10.1513/pats.200409-046TA>
  35. Rengasamy S, Zhuang Z, Niezgodka G et al (2018) A comparison of total inward leakage measured using sodium chloride (NaCl) and corn oil aerosol methods for air-purifying respirators. *J Occup Environ Hyg* 15(8):616-627. <https://doi.org/10.1080/15459624.2018.1479064>
  36. Negm N (2008) Solubilization characteristics of paraffin oil in different types of surfactants. *Egyptian J Chem* 51(1):21-29 [https://www.researchgate.net/publication/280015681\\_Solubilization\\_characteristics\\_of\\_paraffin\\_oil\\_in\\_different\\_types\\_of\\_surfactants](https://www.researchgate.net/publication/280015681_Solubilization_characteristics_of_paraffin_oil_in_different_types_of_surfactants)
  37. Baines C (2020) Alberta researcher wins award for salt-coated mask innovation. The Canadian Press, CBC. <https://www.cbc.ca/news/canada/edmonton/alberta-researcher-award-salt-masks-covid-1.5813921>. Accessed 10 January 2021
  38. Vejerano EP, Marr LC (2018) Physicochemical characteristics of evaporating respiratory fluid droplets. *J R Soc Interface* 15: 20170939. <https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0939>
  39. Yang W, Elankumaran S, Marr LC (2012) Relationship between humidity and Influenza A viability in droplets and implications for influenza's seasonality. *PLoS ONE* 7(10):e46789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046789>
  40. Wolf G, Koidl B, Pelzmann B (1991) [Zur Regeneration des Zilienschlages humaner Flimmerzellen] Regeneration of the ciliary beat of human ciliated cells. *Laryngorhinootologie* 70(10): 552-555. <https://doi.org/10.1055/s-2007-998095>
  41. Daviskas E, Anderson SD, Gonda I et al (1996) Inhalation of hypertonic saline aerosol enhances mucociliary clearance in asthmatic and healthy subjects. *Eur Respir J* 9(4):725-732. <https://doi.org/10.1183/09031936.96.09040725>
  42. Fu Y, Tong J, Meng F et al (2018) Ciliostasis of airway epithelial cells facilitates Influenza A virus infection. *Vet Res* 49(1):65. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0568-0>
  43. Keojampa BK, Nguyen MH, Ryan MW (2004) Effects of buffered saline solution on nasal mucociliary clearance and nasal airway patency. *Otolaryngol Head Neck Surg* 131(5):679-682. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2004.05.026>
  44. Sood N, Bennett WD, Zeman K et al (2003) Increasing concentration of inhaled saline with or without amiloride: effect on mucociliary clearance in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 167(2):158-163. <https://doi.org/10.1164/rccm.200204-293OC>
  45. Kim C-H, Song MH, Ahn YE et al (2005) Effect of hypo-, iso- and hypertonic saline irrigation on secretory mucins and morphology of cultured human nasal epithelial cells. *Acta Oto-Laryngologica* 125:1296-1300. <https://doi.org/10.1080/00016480510012381>
  46. Sumaily I, Alarifi I, Alsuwaidan R et al (2020) Impact of nasal irrigation with iodized table salt solution on mucociliary clearance: proof-of-concept randomized control trial. *Am J Rhinol Allergy* 34(2):276-279. <https://doi.org/10.1177/1945892419892172>
  47. Min YG, Lee KS, Yun JB et al (2001) Hypertonic saline decreases ciliary movement in human nasal epithelium in vitro. *Otolaryngol Head Neck Surg* 124(3):313-316. <https://doi.org/10.1067/mhn.2001.113145>
  48. Bencova A, Vidan J, Rozborilova E, Kocan I (2012) The impact of hypertonic saline inhalation on mucociliary clearance and nasal nitric oxide. *J Physiol Pharmacol* 63(3):309-313 [http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/06\\_12/pdf/309\\_06\\_12\\_article.pdf](http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/06_12/pdf/309_06_12_article.pdf)
  49. Talbot AR, Herr TM, Parsons DS (1997) Mucociliary clearance and buffered hypertonic saline solution. *Laryngoscope* 107(4): 500-503. <https://doi.org/10.1097/00005537-199704000-00013>
  50. Bennett WD, Wu J, Fuller F et al (2015) Duration of action of hypertonic saline on mucociliary clearance in the normal lung. *J Appl Physiol* 118(12):1483-1490.

- <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00404.2014>
51. Middleton PG, Pollard KA, Wheatley JR (2001) Hypertonic saline alters ion transport across the human airway epithelium. *Eur Resp J* 17:195–199 <https://erj.ersjournals.com/content/17/2/195>
  52. Jiao J, Yang J, Li J et al (2020) Hypertonic saline and seawater solutions damage sinonasal epithelial cell air-liquid interface cultures. *Int Forum Allergy Rhinol* 10(1):59–68. <https://doi.org/10.1002/alr.22459>
  53. Miwa M, Matsunaga M, Nakajima N et al (2007) Hypertonic saline alters electrical barrier of the airway epithelium. *Otolaryngol Head Neck Surg* 136(1):62–66. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2006.08.013>
  54. Hauptman G, Ryan MW (2007) The effect of saline solutions on nasal patency and mucociliary clearance in rhinosinusitis patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 137(5):815–821. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2007.07.034>
  55. Balmes JR, Fine JM, Christian D et al (1988) Acidity potentiates bronchoconstriction induced by hyposmolar aerosols. *Am Rev Respir Dis* 138(1):35–39. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/138.1.35>
  56. Makker HK, Holgate ST (1993) The contribution of neurogenic reflexes to hypertonic saline-induced bronchoconstriction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 92:82–88. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(93\)90041-d](https://doi.org/10.1016/0091-6749(93)90041-d)
  57. Taube C, Holz O, Mücke M et al (2001) Airway response to inhaled hypertonic saline in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 164:1810–1815. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.10.2104024>
  58. Lowry RH, Wood AM, Higenbottam TW (1988) Effects of pH and osmolarity on aerosol-induced cough in normal volunteers. *Clin Sci (Lond)* 74(4):373–376. <https://doi.org/10.1042/cs0740373>
  59. Mandelberg A, Amirav I (2010) Hypertonic saline or high volume normal saline for viral bronchiolitis: mechanisms and rationale. *Paed Pulmonol* 45:36–40. <https://doi.org/10.1002/ppul.21185>
  60. Bartoszewski R, Matalon S, Collawn JF (2017) Ion channels of the lung and their role in disease pathogenesis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 313(5):L859–L872. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00285.2017>
  61. Fahy JV, Dickey BF (2010) Airway mucus function and dysfunction. *N Engl J Med* 263(23):2233–2247. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0910061>
  62. Bustamante-Marin XM, Ostrowski LE (2017) Cilia and mucociliary clearance. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9(4):a028241. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>
  63. Hollenhorst MI, Richter K, Fronius M (2011) Ion transport by pulmonary epithelia. *J Biomed Biotechnol Article ID* 174306, 16pages. <https://doi.org/10.1155/2011/174306>
  64. Iwan IH, Dziembowska I, Słonina DA (2019) Airways surface liquid and ion Transport - The mechanism maintained patency. *Biom J Scie Techn Res* 14(3):1-7. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2019.14.002543> <https://biomedres.us/fulltexts/BJSTR.MS.ID.002543.php>
  65. Pinto JM, Jeswani S (2010) Rhinitis in the geriatric population. *Allergy Asthma Clin Immunol* 6(1):10. <https://doi.org/10.1186/1710-1492-6-10>
  66. Lillehoj EP, Kato K, Lu W, Kim KC (2013) Cellular and molecular biology of airway mucins. *Int Rev Cell Mol Biol* 303:139–202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407697-6.00004-0>
  67. Lieleg O, Vladescu I, Ribbeck K (2010) Characterization of particle translocation through mucin hydrogels. *Biophys J* 98:1782–1789. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.01.012>
  68. McCullagh CM, Jamieson AM, Blackwell J, Gupta R (1995) Viscoelastic properties of human tracheobronchial mucin in aqueous solution. *Biopolymers* 35(2):149–159. <https://doi.org/10.1002/bip.360350203>
  69. Button B, Goodell HP, Atieh E et al (2018) Roles of mucus adhesion and cohesion in cough clearance. *PNAS* 115(49):12501–12506. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811787115>
  70. Wills PJ, Hall RL, Wm C, Cole PJ (1997) Sodium chloride increases the ciliary transportability of cystic fibrosis and bronchiectasis sputum on the mucus-depleted bovine trachea. *J Clin Invest* 99(1):9–13 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC507760/pdf/990009.pdf>
  71. Lin L, Chen Z, Cao Y, Sun G (2017) Normal saline solution nasal-pharyngeal irrigation improves chronic cough associated with allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy* 31(2):96–104. <https://doi.org/10.2500/ajra.2017.31.4418>
  72. Elkins MR, Bye PT (2011) Mechanisms and applications of hypertonic saline. *J R Soc Med* 104(Suppl 1):S2–S5. <https://doi.org/10.1258/jrsm.2011.s11101>
  73. Goralski JL, Wu D, Thelin WR et al (2018) The in vitro effect of nebulised hypertonic saline on human bronchial epithelium. *Eur Respir J* 51(5):1702652. <https://doi.org/10.1183/13993003.02652-2017>
  74. Boon M, Jorissen M, Jaspers M et al (2016) The influence of nebulized drugs on nasal ciliary activity. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 29(4):378–385. <https://doi.org/10.1089/jamp.2015.1229>
  75. Rusznak C, Devalia JL, Lozewicz S, Davies RJ (1994) The assessment of nasal mucociliary clearance and the effect of drugs. *Respir Med* 88(2):89–101. [https://doi.org/10.1016/0954-6111\(94\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0954-6111(94)90020-5)
  76. Workman AD, Cohen NA (2014) The effect of drugs and other compounds on the ciliary beat frequency of human respiratory epithelium. *Am J Rhinol Allergy* 28(6):454–464. <https://doi.org/10.2500/ajra.2014.28.4092>
  77. Rivera JA (1962) Cilia, ciliated epithelium, and ciliary activity. *International Series of Monographs and Applied Biology*. 1st edn. Pergamon Press Ltd, Oxford-London-New York-Paris pp.50–58. ISBN 978008009623
  78. Paul P, Johnson P, Ramaswamy P et al (2013) The effect of ageing on nasal mucociliary clearance in women: a pilot study. *Pulmonol Article ID* 598589:5 pages. <https://doi.org/10.1155/2013/598589>
  79. Purushothaman PK, Priyanga E, Vaidhyswaran R (2020) Effects of prolonged use of facemask on healthcare workers in tertiary care hospital during COVID-19 pandemic. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*:1–7. <https://doi.org/10.1007/s12070-020-02124-0>
  80. White DE, Bartley J, Nates RJ (2015) Model demonstrates functional purpose of the nasal cycle. *BioMed Eng OnLine* 14:38. <https://doi.org/10.1186/s12938-015-0034-4>



81. Tarran R, Trout L, Donaldson SH, Boucher RC (2006) Soluble mediators, not cilia, determine airway surface liquid volume in normal and cystic fibrosis superficial airway epithelia. *J Gen Physiol* 127(5):591–604. <https://doi.org/10.1085/jgp.200509468>
82. Hildenbrand T, Weber RK, Brehmer D (2011) Rhinitis sicca, dry nose and atrophic rhinitis: a review of the literature. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 268(1):17–26. <https://doi.org/10.1007/s00405-010-1391-z>
83. Harvey PR, Tarran R, Garoff S, Myerburg MM (2011) Measurement of the airway surface liquid volume with simple light refraction microscopy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 45(3): 592–599. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2010-0484OC>
84. Tanner K, Roy N, Merrill RM et al (2010) Nebulized isotonic saline versus water following a laryngeal desiccation challenge in classically trained sopranos. *J Speech Language Hearing Res* 53(6):1555–1566. [https://doi.org/10.1044/1092-4388\(2010\)09-0249](https://doi.org/10.1044/1092-4388(2010)09-0249)
85. Personal communications by pneumologists, dentists and paediatricians wearing daily well-fitting professional masks, July- October 2020
86. Slapak I, Skoupa J, Strnad P, Hornik P (2008) Efficacy of isotonic nasal wash (seawater) in the treatment and prevention of rhinitis in children. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 134:67–74. <https://doi.org/10.1001/archoto.2007.19>
87. Newster (2020) Eco-sustainable technology for the processing of healthcare waste (HCW), on-site or in centralized treatment centers. Coronaviruses: SARS, MERS and Covid19. 28/02/2020 [http://www.newstergroup.com/news/coronavirusessars\\_mers\\_and\\_covid19](http://www.newstergroup.com/news/coronavirusessars_mers_and_covid19)
88. Machado RRG, Glaser T, Araujo DB et al (2020) Hypertonic saline solution inhibits SARS-CoV-2 in vitro assay. *bioRxiv* 2020.08.04:235549. <https://doi.org/10.1101/2020.08.04.235549>
89. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al (2020) SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 181(2): 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
90. Hou Y, Zhao J, Martin W et al (2020) New insights into genetic susceptibility of COVID-19: an ACE2 and TMPRSS2 polymorphism analysis. *BMC Med* 18:art.No.216. <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01673-z>
91. Sungnak W, Huang N, Bécavin C et al (2020) SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 26:681–687. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0868-6>
92. Rushworth CA, Guy JL, Turner AJ (2008) Residues affecting the chloride regulation and substrate selectivity of the angiotensin-converting enzymes (ACE and ACE2) identified by site-directed mutagenesis. *FEBS J* 275(23):6033–6042. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06733>
93. Guy JL, Jackson RM, Acharya KR et al (2003) Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2): comparative modeling of the active site, specificity requirements, and chloride dependence. *Biochemistry* 42(45):13185–13192. <https://doi.org/10.1021/bi035268s>
94. Vincent MJ, Bergeron E, Benjannet S et al (2005) Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology* 342:69–73. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.07.020>
95. Chitranshi N, Gupta VK, Rajput R et al (2020) Evolving geographic diversity in SARS-CoV2 and in silico analysis of replicating enzyme 3CLpro targeting repurposed drug candidates. *J Transl Med* 18(1):278. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02448-z>
96. Graziano V, McGrath WJ, DeGruccio AM et al (2006) Enzymatic activity of the SARS coronavirus main protease dimer. *FEBS letters* 580(11):2577–2583. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.04.004>
97. Ferreira JC, Rabeh WM (2020) Biochemical and Biophysical characterization of the main protease, 3-chymotrypsin-like protease (3CLpro), from the novel coronavirus disease 19(COVID-19). *Research Square*. New York University Abu Dhabi, pp 1-17. <https://assets.researchsquare.com/files/rs-40945/v1/e41c3648-96c7-4953-bb2b-a5c5d1a19e7f.pdf>
98. Chang HP, Chou CY, Chang GG (2007) Reversible unfolding of the severe acute respiratory syndrome coronavirus main protease in guanidinium chloride. *Biophys J* 92(4):1374–1383. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.091736>
99. Abian O, Ortega-Alarcon D, Jimenez-Alesanco A et al (2020) Structural stability of SARS-CoV-2 3CLpro and identification of quercetin as an inhibitor by experimental screening. *Int J Biol Macromol* 164:1693–1703. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.235>
100. Grum-Tokars V, Ratia K, Begaye A et al (2008) Evaluating the 3C-like protease activity of SARS-Coronavirus: recommendations for standardized assays for drug discovery. *Virus Res* 133(1):63-73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.02.015>
101. Shi J, Song J (2006) The catalysis of the SARS 3C-like protease is under extensive regulation by its extra domain. *The FEBS Journal* 273(5):1035–1045. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05130.x>
102. Bestle D, Heindl MR, Limburg H et al (2020) TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells. *Life Sci Alliance* 3(9):e202000786. <https://doi.org/10.26508/lsa.202000786>
103. Shang J, Wan Y, Luo C et al (2020) Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *PNAS* 117(21):11727–11734. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>
104. Hasan A, Paray BA, Hussain A et al (2020) A review on the cleavage priming of the spike protein on coronavirus by angiotensin-converting enzyme-2 and furin. *J Biomol Struct Dyn*:1-9. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1754293>  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7189411/>
105. Izidoro MA, Gouvea IE, Santos JA et al (2009) Lindberg I, Juliano L (2009) A study of human furin specificity using synthetic peptides derived from natural substrates, and effects of potassium ions. *Arch Biochem Biophys* 487(2):105–114. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.05.013>
106. Zhou T, Tsybovsky Y, Olia AS et al (2020) A pH-dependent switch mediates conformational masking of SARS-CoV-2 spike. *bioRxiv* [Preprint] 2020.07.04.187989 <https://doi.org/10.1101/2020.07.04.187989>
107. Ou X, Liu Y, Lei X et al (2020) Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun* 11(1):1620. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15562-9>

108. Smyrlaki I, Ekman M, Lentini A et al (2020) Massive and rapid COVID-19 testing is feasible by extraction-free SARS-CoV-2 RT-PCR. *Nat Commun* 11:4812. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18611-5>.
109. Fischer H, Widdicombe JH (2006) Mechanisms of acid and base secretion by the airway epithelium. *J Membr Biol* 211(3):139-150. <https://doi.org/10.1007/s00232-006-0861-0>
110. Reddi BA (2013) Why is saline so acidic (and does it really matter?). *Int J Med Sci* 10(6):747-750. <https://doi.org/10.7150/ijms.5868>
111. Enuka Y, Hanukoglu I, Edelheit O et al (2012) Epithelial sodium channels (ENaC) are uniformly distributed on motile cilia in the oviduct and the respiratory airways. *Histochem Cell Biol* 137(3): 339-353. <https://doi.org/10.1007/s00418-011-0904-1>
112. Anand P, Puranik A, Aravamudan M et al (2020) SARS-CoV-2 strategically mimics proteolytic activation of human ENaC. *eLife* 9:e58603. <https://doi.org/10.7554/eLife.58603>
113. Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR (2020) Proteolytic cleavage of the SARS-CoV-2 spike protein and the role of the novel S1/S2 site. *iScience* 23:101212. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101212>
114. Ji HL, Zhao R, Matalon S, Matthay MA (2020) Elevated plasma (angiotensinogen) as a common risk factor for COVID-19 susceptibility. *Physiol Rev* 100(3):1065-1075. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2020>
115. Kleyman TR, Carattino MD, Hughey RP (2009) ENaC at the cutting edge: regulation of epithelial sodium channels by proteases. *J Biol Chem* 284(31):20447-20451. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800083200>
116. Szabó GT, Kiss A, Csanádi Z, Czuriga D (2020) Hypothetical dysfunction of the epithelial sodium channel may justify neurohumoral blockade in coronavirus disease 2019. *ESC Heart Fail* 17. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13078>
117. Noda M, Hiyama TY (2015) The Nax Channel: What it is and what it does. *The Neuroscientist* 21(4):399-412. <https://doi.org/10.1177/1073858414541009>
118. Marunaka Y, Marunaka R, Sun H et al (2016) Na<sup>+</sup> homeostasis by epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) and Nax channel (Nax): cooperation of ENaC and Nax. *ATM* 4(Suppl 1):S11. <https://doi.org/10.21037/atm.2016.10.42>
119. Blé FX, Cannet C, Collingwood S et al (2010) ENaC-mediated effects assessed by MRI in a rat model of hypertonic saline-induced lung hydration. *Br J Pharmacol* 160(4):1008-1015. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00747.x>
120. Ramalingam S, Cai B, Wong J et al (2018) Antiviral innate immune response in non-myeloid cells is augmented by chloride ions via an increase in intracellular hypochlorous acid levels. *Sci Rep* 8: 13630. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31936-y>
121. Zhang N, Francis KP, Prakash A, Ansaldi D (2013) Enhanced detection of myeloperoxidase activity in deep tissues through luminescent excitation of near-infrared nanoparticles. *Nat Med* 19(4):500-505. <https://doi.org/10.1038/nm.3110>
122. Suzuki K, Yamada M, Akashi K, Fujikura T (1986) Similarity of kinetics of three types of myeloperoxidase from human leukocytes and four types from HL-60. *Arch Biochem Biophys* 245(1): 167-173. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(86\)90201-8](https://doi.org/10.1016/0003-9861(86)90201-8)
123. Wang G, Nauseef WM (2015) Salt, chloride, bleach, and innate host defense. *J Leukocyte Biol* 98(2):163-172. <https://doi.org/10.1189/jlb.4RU0315-109R>
124. Chandler JD, Day BJ (2012) Thiocyanate: a potentially useful therapeutic agent with host defense and antioxidant properties. *Biochem Pharmacol* 84(11):1381-1387. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.029>
125. Nadesalingam A, Chen JHK, Farahvash A, Khan MA (2018) Hypertonic saline suppresses NADPH oxidase-dependent neutrophil extracellular trap formation and promotes apoptosis. *Front Immunol* 9:359. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00359>.
126. Delgado-Enciso I, Paz-Garcia J, Barajas-Saucedo CE, Mokay-Ramírez KA, Meza-Robles C, Lopez-Flores R (2020) Patient-reported health outcomes after treatment of COVID-19 with nebulized and/or intravenous neutral electrolyzed saline combined with usual medical care versus usual medical care alone: a randomized, open-label, controlled trial. *Res Sq [Preprint]* 10.rs.3.rs-68403. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-68403/v1>
127. WHO (2020) Saline. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/myth-busters#saline>
128. WHO (2020) Can rinsing your nose regularly with saline solution prevent Covid-19? <https://www.who.int/docs/default-source/searo/thailand/12myths-final099bfbf976c54d5fa3407a65b6d9fa9d.pdf>
129. Salmon Ceron D, Bartier S, Hautefort C et al (2020) AHPH COVID-19 research collaboration. Self-reported loss of smell without nasal obstruction to identify COVID-19. The multicenter Coronosmia cohort study. *J Infect* 81(4):614-620. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.07.005>
130. Voshaar T. COVID-19 Therapie aus Sicht eines Aerosol-Experten. *PARI.de - Artzeportal* 28 Juli 2020. <https://www.pari.com/de/aerzteportal/news/covid-19-therapie-aus-sicht-eines-aerosol-experten> Accessed 10 January 2021
131. Jayaweera M, Perera H, Gunawardana B, Manatunge J (2020) Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy. *Environ Res* 188: 109819. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109819>
132. WHO (2020) Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions> Accessed 10 January 2021
133. Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K et al (2020) Effectiveness of face masks in preventing airborne transmission of SARS-CoV-2. *mSphere* 5(5):e00637-e00620. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00637-20>
134. Ehre C (2020) SARS-CoV-2 infection of airway cells. *N Engl J Med* 383:969. <https://doi.org/10.1056/NEJMicm2023328>
135. Zhu N, Wang W, Liu Z et al (2020) Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells. *Nat Commun* 11:3910. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17796-z>
136. Robinot R, Hubert M, Dias de Mehlo G et al (2020) SARS-CoV-2 infection damages airway motile cilia and impairs mucociliary clearance. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.10.06.328369>
137. Baker AN, Richards SJ, Guy CS et al (2020) The

- SARS-COV-2 spike protein binds sialic acids and enables rapid detection in a lateral flow point of care diagnostic device. *ACS Cent Sci* 6(11): 2046–2052. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00855>
138. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE et al (2020) SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell* 182(2):429–46.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.042>
  139. Burke W (2014) The ionic composition of nasal fluid and its function. *Health* 06(08):720–728. <https://doi.org/10.4236/health.2014.68093> [https://www.scirp.org/pdf/Health\\_2014032610554655.pdf](https://www.scirp.org/pdf/Health_2014032610554655.pdf)
  140. Grandjean Lapiere S, Phelippeau M, Hakimi C et al (2017) Cystic fibrosis respiratory tract salt concentration: an exploratory cohort study. *Medicine* 96(47):e8423. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008423>
  141. Kozlova I, Vanthanouvong V, Johannesson M, Roomans GM (2006) Composition of airway surface liquid determined by X-ray microanalysis. *Ups J Med Sci* 111(1):137–153. <https://doi.org/10.3109/2000-1967-016> <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/2000-1967-016>
  142. Matsui H, Grubb BR, Tarran R et al (1998) Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 95(7): 1005–1015. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81724-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81724-9)
  143. Wheatley CM, Cassuto NA, Foxx-Lupo WT et al (2010) Variability in measures of exhaled breath Na<sup>+</sup>, influence of pulmonary blood flow and salivary Na<sup>+</sup>. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med* 4:25–34. <https://doi.org/10.4137/ccrpm.s4718>
  144. Song Y, Thiagarajah J, Verkman AS (2003) Sodium and chloride concentrations, pH, and depth of airway surface liquid in distal airways. *J Gen Physiol* 122(5):511–519. <https://doi.org/10.1085/jgp.200308866>
  145. Hao W, Ma B, Li Z et al (2020) Binding of the SARS-CoV-2 spike protein to glycans. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.17.100537>
  146. Bastier PL, Lechot A, Bordenave L et al (2015) Nasal irrigation: from empiricism to evidence-based medicine. A review. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 132(5):281–285. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2015.08.001>
  147. Nimsakul S, Ruxrungham S, Chusakul S et al (2018) Does heating up saline for nasal irrigation improve mucociliary function in chronic rhinosinusitis? *Am J Rhinol Allergy* 32(2):106–111. <https://doi.org/10.1177/1945892418762872>
  148. Niedner R (1997) Cytotoxicity and sensitization of povidone-iodine and other frequently used anti-infective agents. *Dermatology* 195(Suppl2):89–92. <https://doi.org/10.1159/000246038>
  149. Gudmundsdottir Á, Scheving R, Lindberg F, Stefansson B (2020) Inactivation of SARS-CoV-2 and HCoV-229E in vitro by ColdZyme® a medical device mouth spray against the common cold. *J Med Virol*. <https://doi.org/10.1002/jmv.26554> <https://doi.org/10.1002/jmv.26554>
  150. Kido H (2015) Influenza virus pathogenicity regulated by host cellular proteases, cytokines and metabolites, and its therapeutic options. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 91(8):351–368. <https://doi.org/10.2183/pjab.91.351>
  151. Liu JJ, Chan GC, Hecht AS et al (2014) Nasal saline irrigation has no effect on normal olfaction: a prospective randomized trial. *Int Forum Allergy Rhinol* 4(1):39–42. <https://doi.org/10.1002/alr.21235>
  152. Piromchai P, Puvatanond C, Kirtsreesakul V et al (2019) Effectiveness of nasal irrigation devices: a Thai multicentre survey. *PeerJ* 27(7):e7000. <https://doi.org/10.7717/peerj.7000>
  153. Navarra J, Ruiz-Ceamanos A, Moreno JJ et al (2020) Acute nasal dryness in COVID-19. *medRxiv* 2020.11.18.20233874 [Preprint]. <https://doi.org/10.1101/2020.11.18.20233874>

SUZY HUIJGHEBAERT<sup>1</sup>, LEVI HOSTE<sup>2,3</sup>, GUIDO VANHAM<sup>4</sup>

**ОСНОВИ СОЛЬОВОЇ ФАРМАКОЛОГІЇ  
ДЛЯ ГІГІЄНИ ПОРОЖНИНИ НОСА АБО ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ  
ПІД ЧАС COVID-19**

<sup>1</sup>*Independent Research Support, La Hulpe, Belgium;*

<sup>2</sup>*Pediatric Pulmonology, Infectious Diseases and Immunology, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium;*

<sup>3</sup>*Primary Immunodeficiency Research Lab, Center for Primary Immunodeficiency Ghent, Jeffrey Modell  
Diagnosis and Research Center, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium;*

<sup>4</sup>*Department of Biomedical Sciences, Institute of Tropical Medicine and University  
of Antwerp, Antwerp, Belgium*

*Email: s.huijghebaert@scarlet.be; s.huijghebaert@gmail.com; OralMedDevs@gmail.com*

*А н о т а ц і я*

**Призначення:** Промивання порожнини носа або розпилення аерозолу ізотонічного чи гіпертонічного сольового розчину є традиційним методом догляду за дихальними шляхами або порожниною носа. Нещодавнє невелике дослідження, проведене у амбулаторних пацієнтів із COVID-19 без гострого респіраторного дистрес-синдрому показало суттєве зникнення симптомів. Тому ми проаналізували фармакологічні/фармакодинамічні ефекти ізотонічного або гіпертонічного сольового розчину по відношенню до інфекції SARS-CoV-2 та респіраторної допомоги.

**Методи:** Змішаний метод пошуку.

**Отримані результати:** Завдяки своїм зволожуючим властивостям фізіологічний розчин сприяє кращому розподілу рідини, що вистилає альвеоли, і, як було показано, знижує біоаерозольне та вірусне навантаження. Сольовий розчин зволожує респіраторний епітелій і перетворює слиз у гель, сприяє биттю війок і покращує мукоциліарний кліренс. Коронавіруси та SARS-CoV-2 пошкоджують війчастий епітелій у порожнині носа та дихальних шляхах. Сольовий розчин пригнічує реплікацію SARS-CoV-2 у клітинах Vero; можливі взаємодії включають вірусний механізм проникнення ACE2 (залежна хлорид конфігурація ACE2), фурин і 3CLpro (інгібування NaCl) і натрієвий канал ENaC. Сольовий розчин змінює активність мієлопероксидази в епітеліальних або фагоцитарних клітинах з утворенням хлорноватистої кислоти. Клінічно обробка порожнини носа чи дихальних шляхів фізіологічним розчином зменшує симптоми сезонних коронавірусів та інших вірусів застуди. Його використання у вигляді аерозолу знижує частоту госпіталізацій з приводу бронхіоліту у дітей. Попередні дані свідчать про зменшення симптомів у пацієнтів із симптоматикою COVID-19, якщо введення фізіологічного розчину починається протягом 48 годин після появи перших симптомів.

**Висновки:** Сольовий розчин взаємодіє на різних рівнях, пов'язаних з гігієною порожнини носа або дихальних шляхів (промивання носа, полоскання горла або аерозоль). Якщо його використовувати з моменту появи симптомів застуди, він може бути корисним доповненням до втручань першої лінії при COVID-19. Бажано провести формальну оцінку при легкому ступені COVID-19, щоб встановити ефективність та оптимальні схеми лікування.

**Ключові слова:** Сольовий розчин, Хлорид натрію, SARS-CoV-2, COVID-19. Мукоциліарний кліренс, Гострий респіраторний дистрес-синдром.

**ESSENTIALS IN SALINE PHARMACOLOGY  
FOR NASAL OR RESPIRATORY HYGIENE IN TIMES OF COVID-19**

*Huijghebaert Suzy<sup>1</sup>, Hoste Levi<sup>2,3</sup>, Vanham Guido<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>*Independent Research Support, La Hulpe, Belgium;*

<sup>2</sup>*Pediatric Pulmonology, Infectious Diseases and Immunology, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium;*

<sup>3</sup>*Primary Immunodeficiency Research Lab, Center for Primary Immunodeficiency Ghent,  
Jeffrey Modell Diagnosis and Research Center, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium;*

<sup>4</sup>*Department of Biomedical Sciences, Institute of Tropical Medicine and University of Antwerp, Antwerp, Belgium  
Email: s.huijghebaert@scarlet.be; s.huijghebaert@gmail.com; OralMedDevs@gmail.com*

*Abstract*

**Purpose:** Nasal irrigation or nebulizing aerosol of isotonic or hypertonic saline is a traditional method for respiratory or nasal care. A recent small study in outpatients with COVID-19 without acute respiratory distress syndrome suggests substantial symptom resolution. We therefore analyzed pharmacological/pharmacodynamic effects of isotonic or hypertonic saline, relevant to SARS-CoV-2 infection and respiratory care.

**Methods:** Mixed search method.

**Results:** Due to its wetting properties, saline achieves an improved spreading of alveolar lining fluid and has been shown to reduce bio-aerosols and viral load. Saline provides moisture to respiratory epithelia and gels mucus, promotes ciliary beating, and improves mucociliary clearance. Coronaviruses and SARS-CoV-2 damage ciliated epithelium in the nose and airways. Saline inhibits SARS-CoV-2 replication in Vero cells; possible interactions involve the viral ACE2-entry mechanism (chloride-dependent ACE2 configuration), furin and 3CLpro (inhibition by NaCl), and the sodium channel ENaC. Saline shifts myeloperoxidase activity in epithelial or phagocytic cells to produce hypochlorous acid. Clinically, nasal or respiratory airway care with saline reduces symptoms of seasonal coronaviruses and other common cold viruses. Its use as aerosol reduces hospitalization rates for bronchiolitis in children. Preliminary data suggest symptom reduction in symptomatic COVID-19 patients if saline is initiated within 48 h of symptom onset.

**Conclusions:** Saline interacts at various levels relevant to nasal or respiratory hygiene (nasal irrigation, gargling or aerosol). If used from the onset of common cold symptoms, it may represent a useful add-on to first-line interventions for COVID-19. Formal evaluation in mild COVID-19 is desirable as to establish efficacy and optimal treatment regimens.

**Keywords:** Saline, Sodium chloride, SARS-CoV-2, COVID-19, Mucociliary clearance, Acute respiratory distress syndrome.

*Оригінальний огляд опубліковано: European Journal of Clinical Pharmacology (2021) 77:1275-1293. <https://doi.org/10.1007/s00228-021-03102-3>.*

*Переклад Т.Ю. Холоденко*