

Иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 и его влияние на клеточный состав крови

В. В. Татарникова*, В. И. Дубровина, Н. О. Киселева, В. А. Вишняков, Д. Д. Брюхова, А. Б. Пятидесятникова, А. Н. Бондарюк, С. В. Балахонов

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, г. Иркутск

Резюме

Актуальность. COVID-19 на сегодняшний день по-прежнему остается проблемой здравоохранения. В большинстве исследований, направленных на изучение иммунитета при COVID-19, внимание обращено на гуморальный иммунитет и в незначительной степени – на клеточный. Практически нет работ, посвященных динамике изменения клеточного состава крови при формировании иммунитета, индуцированного вирусом SARS-CoV-2. **Цель.** Изучение динамики изменений клеточного состава крови в зависимости от типа сформированного иммунитета на вирус SARS-CoV-2 (естественный, гибридный, прорывной, поствакцинальный). **Материалы и методы.** В исследовании приняло участие 130 волонтеров. Проведено иммунофенотипирование лейкоцитов периферической крови с использованием проточной цитометрии. В сыворотке с помощью ИФА оценивали наличие специфических антител IgG к N-белку SARS-CoV-2, общего IgA и цитокинов (IL-4, IL-10, IFN-γ, TNF-α). **Результаты и обсуждение.** Статистически значимое увеличение BL клеток зарегистрировано у волонтеров с гибридным иммунитетом через 1 месяц (14,0% (12,3–16,4%)) после вакцинации по сравнению со здоровыми волонтерами (9,1% (6,4–10,2%), $p = 0,0007$) и людьми, перенесшими первичную инфекцию COVID-19 (10,2% (8,3–12,1%), $p = 0,0134$). У добровольцев с естественным и гибридным иммунитетом, а также у ревакцинированных людей отмечено повышение содержания В1-клеток (CD3-CD19+CD5+CD27-) на протяжении 3–9 месяцев наблюдения. Показано, что повышение В-лимфоцитов с «переключенным» классом синтезируемых антител выявлено у волонтеров с прорывным иммунитетом. У всех участников исследования на протяжении 6–9 месяцев наблюдения регистрировался повышенный уровень Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR. У волонтеров, обладающих прорывным иммунитетом, отмечалось значительное увеличение индекса позитивности при оценке наличия специфических антител класса IgG к N-белку коронавируса по сравнению с волонтерами с естественным и гибридным иммунитетом. **Выводы.** Вакцинация способствует формированию защитного иммунитета против COVID-19, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти при прорывном иммунитете и поддержания иммунологической эффективности при гибридном иммунитете. Полученные результаты помогают оценить напряженность врожденного и адаптивного иммунитета при COVID-19, а также восполнить пробелы в понимании иммунопатогенеза при этой инфекции. **Ключевые слова:** COVID-19, вакцинация, иммунитет, проточная цитометрия, клетки крови. **Конфликт интересов** не заявлен.

Для цитирования: Татарникова В. В., Дубровина В. И., Киселева Н. О. и др. Иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 и его влияние на клеточный состав крови. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024;23(2):50-60. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-2-50-60>

Effect of Immunity to SARS-CoV-2 Virus on Blood Cellular Composition

VV Tatarnikova**, VI Dubrovina, NO Kiseleva, VA Vishnyakov, DD Bryukhova, AB Pyatidesyatnikova, AN Bondaryuk, SV Balakhonov
Federal Government Health Institution Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, Russia, Irkutsk

Abstract

Relevance. The new coronavirus infection (COVID-19) is still a public health problem and a threat to socio-economic well-being. Most studies have focused predominantly on humoral immunity, and there are no data on the cellular composition of blood in dynamics. **Aim.** To study the dynamics of changes in blood cellular composition depending on the type of immunity formed (natural, hybrid, breakthrough, postvaccinal) to SARS-CoV-2 virus. **Materials and Methods.** A total of 130 volunteers participated in the study. Immunophenotyping of peripheral blood leukocytes using flow cytometry was performed. The presence of specific IgG antibodies to N-protein SARS-CoV-2, total IgA and cytokines (IL-4, IL-10, IFN-γ, TNF-α) was assessed in serum by ELISA. **Results and Discussion.** A statistically significant increase in BL was recorded in volunteers with hybrid immunity 1 month (14,0%

* Для переписки: Татарникова Валентина Владимировна, к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78. +7 (950) 111-92-53, факс: +7 (3952) 22-01-40, vvoitkova@mail.ru. ©Татарникова В. В. и др.

** For correspondence: Tatarnikova Valentina V., Cand. Sci. (Biol.), senior researcher laboratory of pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, 78, Trilissera, Irkutsk, 664047, Russia. +7 (950) 111-92-53, fax: +7 (3952) 22-01-40, vvoitkova@mail.ru. ©Tatarnikova VV, et al.

(12,3–16,4%) after vaccination compared to healthy volunteers (9,1% (6,4–10,2%), $p = 0,0007$) and people with primary COVID-19 infection (10,2% (8,3–12,1%), $p = 0,0134$). In volunteers with natural and hybrid immunity, as well as in revaccinated people, an increase in B1-cells (CD3-CD19+CD5+CD27-) was observed during 3–9 months of observation. It is shown that the increase of B-lymphocytes with «switched» class of synthesized antibodies was detected in people with breakthrough immunity. Increased levels of T-lymphocytes expressing HLA-DR were recorded in all individuals during 6–9 months of follow-up. Volunteers with breakthrough immunity showed a significant increase in the positivity index when assessing the presence of specific IgG class antibodies to the coronavirus N-protein compared with volunteers with natural and hybrid immunity. **Conclusions.** Vaccination promotes protective immunity sufficient for timely activation of memory T- and B-cells in breakthrough immunity and maintenance of immunologic efficacy in hybrid immunity against COVID-19. The results help to assess the strain of innate and adaptive immunity in novel coronavirus infection and to fill gaps in the understanding of immunopathogenesis in COVID-19.

Keywords: COVID-19, vaccination, immunity, flow cytometry, blood cells

No conflict of interest to declare.

For citation: Tatarnikova VV, Dubrovina VI, Kiseleva NO et al. Natural, hybrid and breakthrough immunity to SARS-CoV-2. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(2):50-60 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-2-50-60>

Введение

COVID-19 на сегодняшний день по-прежнему остается проблемой здравоохранения с потенциальной угрозой социально-экономическому благополучию. Начало пандемии характеризовалось инфицированием восприимчивых людей, но в настоящее время появление новых генетических линий вируса SARS-CoV-2 и введение обязательной вакцинации повлияло на изменение эпидемиологической ситуации. В ходе распространения вируса SARS-CoV-2 сформировались понятия «прорывной» (регистрация случаев COVID-19 у ранее вакцинированных людей) и «гибридный» (вакцинация после перенесенного заболевания) иммунитет, что говорит о вариантах иммунной защиты.

Отечественными и зарубежными исследователями продемонстрировано, что вакцинация усиливает иммунитет, приобретенный после перенесенного заболевания у взрослых людей [1–4]. Изучению прорывного иммунитета посвящено мало работ, однако в них также показано усиление иммунного ответа [5,6]. При этом необходимо отметить, что исследования направлены преимущественно на изучение гуморального иммунитета, а данные о клеточном составе крови в динамике и вовсе отсутствуют.

Ввиду того, что иммунная система организма представляет собой сложный механизм, продолжительность изменений и характер иммунных реакций может существенно отличаться при формировании различных форм иммунитета против COVID-19.

Наше исследование важно для понимания комплексного влияния вируса SARS-CoV-2 и вакцинации против COVID-19 на организм человека, а также особенностей формирования иммунного ответа в динамике.

Цель исследования – проанализировать динамику изменения клеточного состава крови в зависимости от типа сформированного иммунитета на вирус SARS-CoV-2 (естественный, гибридный, прорывной, поствакцинальный).

Материалы и методы

В исследовании приняло участие 130 волонтеров, переболевших COVID-19 и/или вакцинированных против коронавирусной инфекции, которые были распределены на 5 групп (табл. 1). В группу 1 вошли однократно переболевшие COVID-19 ($n = 74$), период забора биоматериала с ноября 2020 г. по февраль 2022 г.). В группу 2 ($n = 39$) вошли однократно переболевшие COVID-19, и в последующем прошедшие полный курс вакцинации инактивированной цельновиральной вакциной «КовиВак» (8,20%), двухвекторной вакциной «Спутник V» (14,36%) или «Спутник Лайт» (17,44%), в группу 3 ($n = 28$) – прошедшие полный курс вакцинации «Спутник V» (21, 75%) или пептидной вакциной «ЭпиВакКорона» (7,25%), и в последующем однократно переболевшие COVID-19, в группу 4 ($n = 27$) – прошедшие полный курс вакцинации «Спутник V» (12,45%) или пептидной вакциной «ЭпиВакКорона» (15,55%), в группу 5 – ($n = 31$) люди, ревакцинированные «Спутник Лайт» (16,52%), «Спутник V» (10,32%) или «КовиВак» (5,16%). Забор биоматериала у волонтеров групп 2–5 проходил с января 2021 г. по ноябрь 2022 г.

В это исследование в качестве контрольной группы также были включены 47 волонтеров (группа 6, 3В), здоровых на момент забора биологического материала, не контактировавших с больными COVID-19, ранее не болевших COVID-19, а также не вакцинированных. Биологический материал от 3В получен во время пандемии с ноября 2020 г. по март 2021 г.

Критерии исключения из исследования – наличие симптомов острых респираторных инфекций и хронических заболеваний различной этиологии в стадии обострения. В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено локальным этическим комитетом института (протокол № 3 от 01.06.2020, протокол № 7 от 15.11.2021 г.). Каждый участник предоставил письменное согласие на участие в исследовании.

Таблица 1. Характеристика групп исследования
Table 1. Characteristics of the study groups

№ группы group no.	Тип иммунитета Types of immunity	Наличие COVID-19 в анамнезе Presence of COVID-19 in the history	Вакцинация Vaccination	Ревакцинация Revaccination	Обозначение группы Group labeling	Количество добровольцев Number of volunteers
1	Естественный Natural	Однократно переболевшие COVID-19 COVID-19 single-infected individuals	–	–	Cov	74
2	Гибридный Hybrid	Однократно переболевшие COVID-19 до вакцинации One-time COVID-19 survivors prior to vaccination	+	–	Cov/ВЦ Cov/VC	39
3	Прорывной Breakthrough	Однократно переболевшие COVID-19 после вакцинации One-time COVID-19 survivors after vaccination	+	–	ВЦ/Cov VC/Cov	28
4	Вакцинальный Vaccine	Не болевшие Un Sick	+	–	ВЦ VC	27
5	Вакцинальный Vaccine	Не болевшие Un Sick	+	+	РВЦ RVC	31
6	–	–	–	–	ЗВ HV	47

Примечание: «+» – наличие вакцинации/ревакцинации; «–» – вакцинация/ревакцинация не проводилась.
 Note: «+» – presence of vaccination/revaccination; «–» – no vaccination/revaccination.

Скрининг волонтеров и забор образцов крови проводился на базе ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Диагноз «COVID-19» устанавливался на основании характерных клинических проявлений и лабораторного подтверждения: положительного результата ПЦР-анализа объединенного респираторного мазка из ротоглотки и носоглотки (АмплиСенс® COVID-19-FL, регистрационный номер РЗН 2021/14026). Взятие крови проводили 4 раза (через 1, 3, 6 и 9 месяцев) натощак из локтевой вены в соответствии со стандартом ГОСТ Р 53079.4-2008. Срок после перенесенного заболевания/вакцинации/ревакцинации определялся на основе разницы между датой взятия крови и датой появления первых симптомов, характерных для COVID-19 (группа 1 и 3), датой последней вакцинации (группа 2 и 4) и ревакцинации (группа 5). У здоровых доноров биологический материал получали однократно.

Фенотип клеток крови (антикоагулянт ЭДТА) определяли с помощью проточной цитометрии по стандартной методике в четырех панелях с использованием моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов (Becton Dickinson, США): CD45, CD193, CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD45Ro, CD45Ra, CD19, CD5, CD27, IgD, CD38, CD10, HLA-DR, CD69, CD25. Анализ окрашенных образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto™ II (Becton Dickinson, США)

в программе BD Diva версии 6.0. В каждой пробе анализировалось 30 000 событий CD45⁺-клеток, которые выделяли на графике SSC/CD45. Для изучения состояния врожденного и адаптивного иммунитета оценивали 44 популяции лейкоцитов крови. Рассчитывали интегральные гематологические индексы: NLR – индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам, NMR – индекс соотношения нейтрофилов к моноцитам, LER – индекс соотношения лимфоцитов к эозинофилам, LMR – индекс соотношения лимфоцитов к моноцитам, NER – индекс соотношения нейтрофилов к эозинофилам, а также иммуnoreгуляторный индекс (ИПИ) по соотношению хелперных (CD3⁺CD4⁺CD8[–], Th) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4[–]CD8⁺, Tc) – Th:Tc (y.e.), индекс соотношения Т- (CD3⁺, TL) и В-лимфоцитов (CD3[–]CD19⁺, BL) – TL:BL (y.e.) и соотношение CD45Ra⁺:CD45Ro⁺ (y.e.) для общей популяции TL, Th и Tc-клеток.

В сыворотке крови, полученной по стандартной методике (кровь с активатором свертывания и гелем отстаивали при комнатной температуре не менее 30 мин и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин), определяли цитокины (IL-4, IL-10, IFN-γ, TNF-α), общий IgA и специфические антитела к SARS-CoV-2 методом ИФА. Для определения цитокинов и общего IgA использовали коммерческие тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (р.п. Кольцово, Новосибирская область), для качественной оценки наличия специфических антител

к SARS-CoV-2 – набор реагентов для анализа сыворотки или плазмы крови человека на наличие специфических иммуноглобулинов класса G к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 производства ФБУН ГНЦПМиБ Роспотребнадзора (г. Оболensk) согласно инструкциям производителей.

Описательные статистические данные представлены в виде медианы (Me) и межквартильных диапазонов в виде 25 и 75 перцентилей (IQR). Сравнительный анализ групп проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Статистический анализ был выполнен с помощью программного обеспечения STATISTICA. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми. Отличие показателей (CD19⁺IgD⁺CD27⁺-, CD19⁺IgD⁺CD27⁺-, CD19⁺IgD⁺CD27⁻-, CD19⁺IgD⁺CD27⁻ и CD3⁺CD16⁺HLA-DR⁺-клетки) исследуемых групп от референсных значений определялось методом бутстрепа (1000 реплик) в программе R; p-value рассчитывалось как отношение количества средних значений, не превышающих верхнюю границу референса, к общему числу реплик бутстрепа.

Результаты

Изменений относительного содержания основных популяций лейкоцитов (лимфоциты, моноциты, нейтрофилы) и значений интегральных гематологических индексов (NLR, LER, LMR, NER) у волонтеров групп 2–5 не выявлено. Снижение индекса NMR отмечено только в группе 3 (ВЦ/Сов) через 1 месяц после начала заболевания (7,4% (7,2–8,6%), $p = 0,0307$) по сравнению с 3В (8,6% (7,6–10,2%)). У волонтеров, перенесших первичную инфекцию COVID-19 (естественный иммунитет, группа 1), нами выявлено перераспределение клеток крови, отвечающих за развитие врожденного иммунитета: увеличение содержания лимфоцитов и моноцитов при снижении нейтрофилов, и индекса NMR. Подробная оценка динамики, иммунного профиля у лиц с естественным иммунитетом (Сов) описана в статье Tatarnikova VV с соавт. [7].

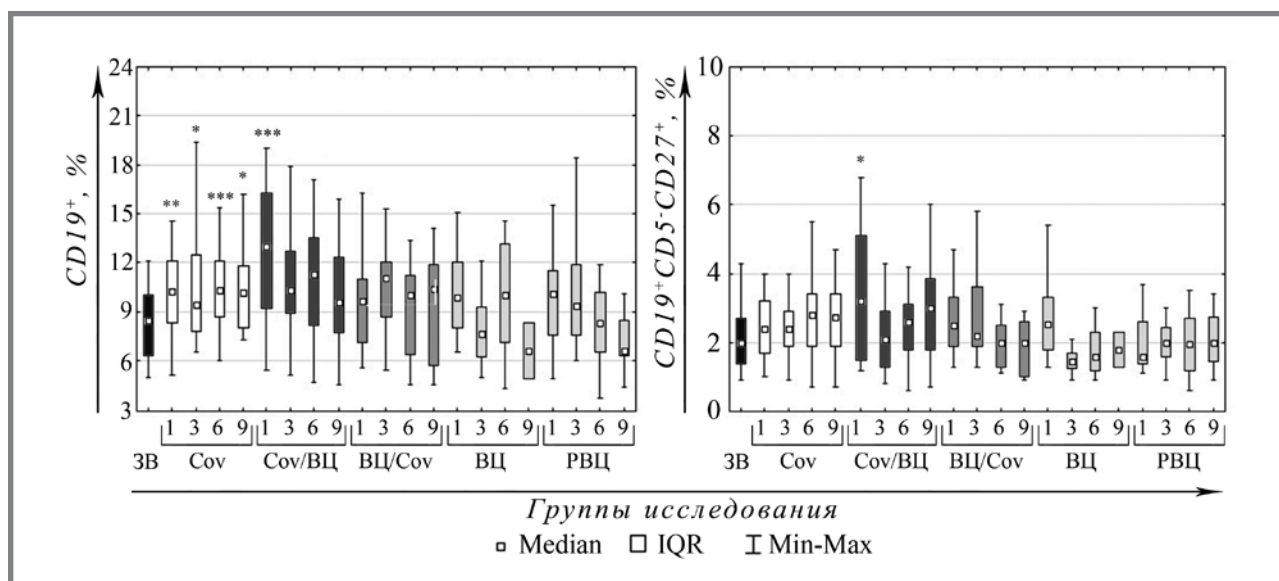
При анализе количества Т-лимфоцитов изменения регистрировались только у Сов: увеличение Th при снижении Tc, что приводило к повышению индекса ИРИ [7]. Статистически значимых различий относительно этих показателей, а также TL, DN и NK-клеток между 2–6 группами не зарегистрировано. При оценке динамики уровня наивных Т-клеток и Т-лимфоцитов памяти изменения были выявлены в отношении CD3⁺-CD8⁺-CD45Ro⁺-CD45Ra⁺-клеток у волонтеров с гибридным иммунитетом (Сов/ВЦ) в первые сроки наблюдения (через 1 и 3 месяца: 4,6% (3,3–7,5%) и 5,3% (4,9–7,4%) соответственно) по сравнению с 3В (7,8% (5,4–10,4%), $p < 0,05$). У людей из группы ВЦ/Сов регистрировалось увеличение CD3⁺-CD4⁺-CD45Ro⁺-CD45Ra⁺-клеток через 1 (16,2% (13,7–19,3%) $p = 0,0364$) и 3 месяца (18,7% (13,0–21,8%), $p = 0,0058$) в сравнении с группой 6 (11,1% (6,1–16,8%)), что сказывалось на соотношении

CD3⁺-CD4⁺-CD45Ra⁺:CD45Ro⁺ (3-й месяц наблюдения – 1,06% (0,64–1,45%), $p = 0,0089$; группа 6 – 0,61% (0,27–0,98%)). Аналогичное снижение CD45Ro⁺ Tc (5,6% (4,3–7,4%), $p < 0,01$) и повышение Th, экспрессирующих CD45Ra⁺, также было установлено у лиц с Сов [7] на 1-й месяц наблюдения (14,3% (11,2–21,2%), $p = 0,0415$). Изменений соотношения CD45Ra⁺:CD45Ro⁺ Т-лимфоцитов и их субпопуляций у добровольцев групп 2–5 не было выявлено, в то время как у группы 1 зарегистрировано увеличение соотношения CD3⁺ CD45Ra⁺:CD45Ro⁺.

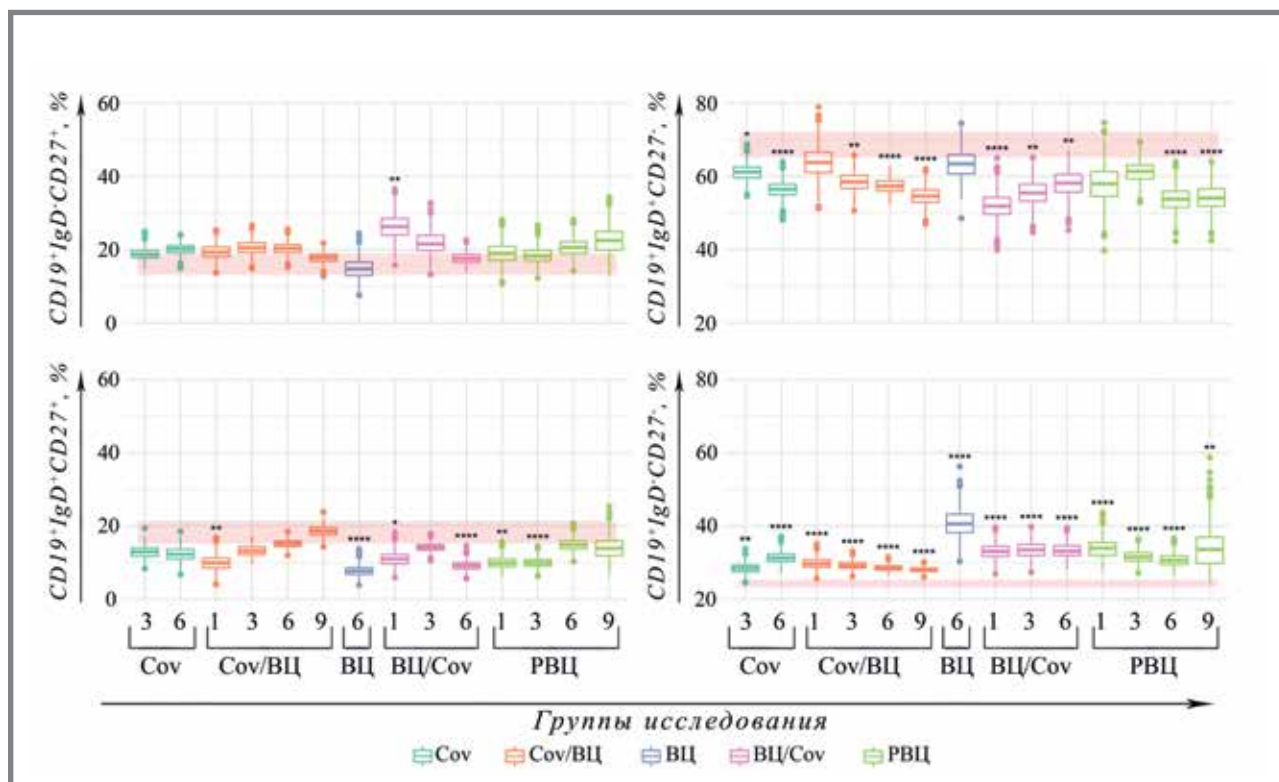
Установлено снижение NK-клеток, экспрессирующих альфа-цепь CD8 (CD3⁺CD8⁺), на 3 и 6 месяцев соответственно у лиц с ВЦ (2,9% (1,9–4,3%) и (2,1% (1,6–3,8%)), у лиц с Сов/ВЦ (2,6% (1,9–4,5%) и 2,8% (1,9–4,6%)) и с ВЦ/Сов (2,7% (2,2–3,5%) и 1,6% (1,3–2,7%)) по сравнению со здоровыми волонтерами (4,0% (2,5–5,4%), $p < 0,05$). У людей с естественным иммунитетом подобных изменений не регистрировалось.

Статистически значимое увеличение BL (рис. 1) зарегистрировано у волонтеров группы Сов/ВЦ через 1 месяц (14,0% (12,3–16,4%)) по сравнению с 3В (9,1% (6,4–10,2%)), $p = 0,0007$) и у перенесших первичную инфекцию COVID-19 (10,2% (8,3–12,1%)), $p = 0,0134$) [7]. Несмотря на то, что этот показатель находился в пределах референсных значений (5–18%), тем не менее, данное изменение сказывалось на снижении показателя TL:BL в группе Сов/ВЦ (5,2% (3,8–6,6%), $p = 0,0026$) по сравнению с 3В (8,0% (6,5–11,0%)). У добровольцев группы 2 также отмечено повышение содержания В1-клеток (CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺) на протяжении 6 месяцев наблюдения: через месяц – 1,9% (1,1–2,6%), $p = 0,0083$; через три месяца – 1,4% (0,7–2,6%), $p = 0,0258$; через шесть месяцев – 1,8% (0,8–2,4%), $p = 0,0009$ по сравнению с 3В (0,9% (0,5–1,5%)). Аналогичное изменение зарегистрировано и у ревакцинированных добровольцев (группа 5) на протяжении 3 месяцев наблюдения (месяц – 1,6% (1,5–2,9%), $p = 0,0016$; три месяца – 1,6% (0,9–3,1%), $p = 0,0016$). У лиц из группы 1 повышенное содержание BL (в среднем в 1,2 раза по сравнению со здоровыми волонтерами) и снижение индекса TL:BL наблюдалось на протяжении всего периода наблюдения, а повышение В1-клеток регистрировалось на 6-й и 9-й месяц наблюдения [7]. Стоит обратить внимание, что содержание В1-клеток (0,5–2,1%) находилось в пределах референсных значений. Изменений содержания В2-клеток не обнаружено. Также не зарегистрировано каких-либо различий в содержании BL, экспрессирующих CD38 и CD69.

Увеличение доли BL (рис. 1) у волонтеров группы 2 через месяц наблюдения, по-видимому, связано с увеличением содержания В-клеток памяти (CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺) в 2 раза (4,0% (3,2–5,3%), $p = 0,0104$) по сравнению со здоровыми волонтерами (2,0% (1,4–2,7%)). Стоит обратить внимание,

Рисунок 1. Динамика содержания В-лимфоцитов и В-клеток памяти**Figure 1. Dynamics of B-lymphocyte and memory B-cell percentage**

Примечание: Median (IQR); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению со здоровыми волонтерами. Черный бокс – здоровые волонтеры (3В); белые боксы – волонтеры с естественным иммунитетом (Cov); темно-серые боксы – волонтеры с гибридным иммунитетом (Cov/ВЦ); средне-серые боксы – волонтеры с прорывным иммунитетом (ВЦ/Cov); светло-серые боксы – волонтеры с вакцинальным иммунитетом (ВЦ, РВЦ); цифрами указаны сроки наблюдения, соответствующие 1, 3, 6 и 9 месяцу наблюдения.
 Note: Median (IQR); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ compared to healthy volunteers. Black box – healthy volunteers (HV); white boxes – volunteers with natural immunity (Cov); dark gray boxes – volunteers with hybrid immunity (Cov/VC); medium gray boxes – volunteers with breakthrough immunity (VC/Cov); light gray boxes – volunteers with vaccine immunity (VC, RVC); numbers indicate observation periods corresponding to 1, 3, 6, and 9 months of follow-up.

Рисунок 2. Сравнение массива средних значений, полученных методом бутстрепа (1000 реплик), для CD19+IgD+CD27+, CD19+IgD-CD27+, CD19+IgD-CD27-, CD19+IgD+CD27- В-клеток в исследуемых группах с референсными значениями [8] (красная область)**Figure 2. Comparison of bootstrap array of mean values (1000 replicates) for CD19+IgD+CD27+, CD19+IgD-CD27+, CD19+IgD-CD27-, CD19+IgD+CD27- B-cells in the studied groups with reference values [8] (red area)**

Примечание: Median (IQR); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.
 Note: Median (IQR); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

что содержание В-лимфоцитов памяти (1,8–6,8%) находилось в пределах референсных значений. Однако каких-либо изменений в распределении В-клеток памяти на основании экспрессии IgD и CD27 у этой группы людей не выявлено. Ввиду того, что в нашем исследовании по группе 6 отсутствовали данные о В-клетках, экспрессирующих IgD и CD27, мы использовали референсные значения, представленные в статье Morbach H. с соавт. [8]: CD19⁺IgD⁺CD27⁺ (В-клетки памяти «непереключенным» классом синтезируемых антител) – 15,2% (13,4–21,4%), CD19⁺IgD⁺CD27⁺ (В-клетки с переключенной памятью синтеза антител) – 13,2% (9,2 – 18,9%), CD19⁺IgD⁺CD27⁺ (дабл-негативные В-клетки) – 3,3% (2,1–5,3%), CD19⁺IgD⁺CD27⁺ (наивные В-клетки) – 65,1% (58,0–72,1%). Для выявления статистически значимых различий применяли метод бутстрепа (1000 реплик), в исследование включали группы с достаточным количеством данных ($n > 10$). Показано, что во всех исследуемых группах отмечено снижение количества наивных В-клеток по сравнению с референсными значениями, в то время как регистрировалось увеличение дабл-негативных В-лимфоцитов (рис. 2). Также зафиксировано сниженное содержание CD19⁺IgD⁺CD27⁺-клеток преимущественно в течение 3 месяцев после перенесенного заболевания или вакцинации. В случае В-лимфоцитов с переключенной памятью синтеза антител выявлено повышение их процентного содержания у людей с прорывным иммунитетом через месяц после перенесенной коронавирусной инфекции (рис. 2). Обращает на себя внимание, что в группе ВЦ через 1 и 3 месяца после вакцинации количество CD19⁺IgD⁺CD27⁺-клеток статистически значимо выше: в 3,0 раза, чем у лиц с Cov ($p < 0,01$), с Cov/ВЦ – 2,5 раза ($p < 0,001$), с ВЦ/Cov – 2,1 раза ($p < 0,05$).

При анализе функциональной активности клеток выявлено, что у лиц с гибридным, прорывным и вакцинальным иммунитетом на протяжении 9 месяцев наблюдения регистрировался повышенный уровень Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR, а у лиц с естественным иммунитетом – в течение 6 месяцев (табл. 2). В случае CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов у лиц с ВЦ отмечено сниженное количество этих клеток с 3 по 9 месяц наблюдения, в то время как у лиц с Cov/ВЦ и ВЦ/Cov экспрессия CD25⁺ Т-лимфоцитами была увеличена через месяц наблюдения в среднем в 1,5 раза по сравнению с ЗВ (табл. 2). Различий в содержании активированных Т-лимфоцитов между изучаемыми группами 1–5 не выявлено. Интересен факт, что при сопоставлении полученных в ходе исследования данных о содержании активированных Т-лимфоцитов (HLA-DR⁺ и CD25⁺) с референсными (1,3 – 10% и 3,5–12,5% соответственно) у ЗВ изучаемые показатели находились в указанных референсных пределах, чего не скажешь об активированных NK-клетках. Анализ функциональной активности NK-клеток (CD3⁺CD16⁺HLA-DR⁺) показал,

что во время пандемии у людей контрольной группы содержание этих клеток было выше в среднем в 6 раз ($p = 0,0000$) по сравнению с референсными значениями (0–2,6%). У людей, однократно переболевших COVID-19 (Cov), значительное увеличение этих клеток регистрировалось через месяц наблюдения, к 3 месяцу содержание натуральных киллеров, экспрессирующих HLA-DR, значительно снижалось. Примечательно, что через полтора года после начала пандемии у волонтеров 2–5 групп содержание NK-клеток, экспрессирующих HLA-DR, возвращалось к уровню референсных значений независимо от перенесенной болезни или вакцинации. В то же время, при формировании вакцинального иммунитета (ВЦ) отмечалась значительная активация NK-клеток по сравнению с Cov/ВЦ и ВЦ/Cov ($p < 0,01$) – в среднем в 2,6 раза (табл. 2).

Показано, что у волонтеров 1–5 групп на протяжении всего срока наблюдения обнаруживались специфические антитела класса IgG к N-белку коронавируса, что подтверждается значениями индекса позитивности (ИП) > 1 и статистической достоверностью полученных данных по сравнению с группой здоровых людей ($p < 0,001$). Тем не менее, у волонтеров, обладающих прорывным иммунитетом (ВЦ/Cov), отмечалось значительное увеличение данного показателя (рис. 3) по сравнению с волонтерами, переболевшими COVID-19 (Cov), и людьми, имеющими гибридный иммунитет (Cov/ВЦ). В случае волонтеров, вошедших в группы ВЦ и РВЦ, на 1-й срок наблюдения (1 месяц) регистрировались низкие значения ИП по сравнению с группой Cov.

При оценке уровня общего IgA существенных различий между группами не обнаружено. Однако отмечено, что у лиц с Cov регистрировалось постепенное увеличение общего IgA к 6 месяцу наблюдения (1-й месяц – на 0,8% (0,6–1,1%); 3-й месяц – на 0,3% (0–2,6%); 6-й месяц – на 4,2% (2,8–5,1%)), а у волонтеров с ВЦ/Cov – снижение (1-й месяц – на 4,1% (2,7–5,1%); 3-й месяц – на 2,9% (2,1–3,7%); 6-й месяц – на 1,8% (0,2–2,9%)). Оценка содержания цитокинов показала увеличенное содержание количества IL-10 у лиц с ВЦ на 6-й месяц (5,8% (4,3–14,1%)) наблюдения по сравнению с лицами с Cov (3,4% (2,6–4,8%), $p = 0,0356$), ВЦ/Cov (2,4% (2,0–3,5%), $p = 0,0088$) и Cov/ВЦ (3,7% (0,9–4,5%), $p = 0,0048$). У волонтеров, вошедших в группу РВЦ (0,4% (0,2–0,7%)) и ВЦ/Cov (0,4% (0–0,6%)), в 1-й месяц наблюдения отмечалось снижение в 1,5 раза уровня TNF- α по сравнению с ВЦ (3,1% (2,1–3,4%); $p = 0,0142$ и $p = 0,0098$ соответственно) и Cov (1,1–1,7%); $p = 0,0107$ и $p = 0,0064$ соответственно). Различий в содержании IL-4 и IFN- γ не обнаружено.

Обсуждение

В нашем исследовании общее состояние организма волонтеров из наблюдаемых групп наглядно представлено характером изменений интегральных

Таблица 2. Результаты анализа функциональной активности клеток в динамике, Me (IQR)
Table 2. Results of the analysis of functional activity of cells in dynamics, Me (IQR) ПЕРЕВОД

Группа Group	Срок наблюдения, мес. Follow-up period, months.	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	CD3 ⁺ CD25 ⁺ , %	CD3 ⁺ CD16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %
Cov (1)	1	7,3 (5,0–11,2)**	6,7 (5,9–7,6)	61,0 (25,1–64,9)**
	3	5,6 (3,7–8,7)*	7,9 (6,1–9,5)*	9,9 (5,8–15,1)*
	6	4,9 (3,0–6,4)*	6,0 (4,3–8,7)	6,9 (3,4–12,8)**
	9	4,8 (3,3–7,6)	6,2 (4,3–8,0)	6,0 (4,1–10,7)**
Cov/ВЦ (2) Cov/VC	1	7,8 (4,2–8,5)*	10,0 (8,7–12,5)*	2,8 (1,9–6,1)** ^Δ
	3	5,0 (4,1–11,8)*	7,0 (4,9–8,7)	2,3 (1,4–4,4)*** ^Δ
	6	5,5 (4,1–7,5)**	6,7 (4,5–8,5)	2,1 (1,2–3,0)*** ^Δ
	9	5,4 (4,0–8,9)*	3,8 (2,9–11,5)	2,0 (1,1–3,2)***
ВЦ/Cov (3) VC/Cov	1	6,0 (4,8–7,6)**	9,3 (4,4–16,4)**	2,8 (2,0–4,9)*** ^Δ
	3	4,2 (3,7–5,5)*	5,7 (2,6–7,1)	2,1 (1,9–3,1)*** ^Δ
	6	5,9 (3,8–14,7)*	5,8 (4,2–9,1)	2,7 (2,0–3,9)*** ^Δ
	9	13,2 (9,4–18,2)***	8,4 (6,5–15,3)	2,6 (2,4–4,1)***
ВЦ (4) VC	1	5,2 (3,2–6,4)	6,1 (5,6–6,4)	9,0 (6,4–13,6)*
	3	6,3 (3,4–8,7)*	3,6 (1,7–4,0)*	5,3 (3,0–7,2)*
	6	5,6 (2,8–10,2)*	3,3 (2,5–3,8)*	5,4 (2,5–8,6)***
	9	7,7 (6,2–9,3)*	2,3 (1,8–2,8)*	1,3 (1,1–1,5)**
РВЦ (5) RVC	1	5,3 (3,6–9,1)*	6,4 (5,8–9,1)	2,6 (2,0–5,5)*** ^Δ
	3	5,6 (3,5–8,3)**	5,8 (3,9–7,7)	2,4 (1,6–4,4)***
	6	8,1 (5,5–10,6)***	6,4 (4,0–9,3)	3,0 (2,1–4,8)***
	9	7,4 (5,8–11,4)**	4,6 (3,6–5,9)	4,2 (2,2–5,5)***
Контроль (6) Control	–	3,5 (2,5–4,7)	6,4 (5,2–7,3)	16,6 (12,0–21,8)

Примечание: * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$ по сравнению с группой 6, ^Δ $p < 0,01$ по сравнению с группой 4 (ВЦ).
 Note: * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$ compared with group 6, ^Δ $p < 0,01$ compared with group 4 (VC).

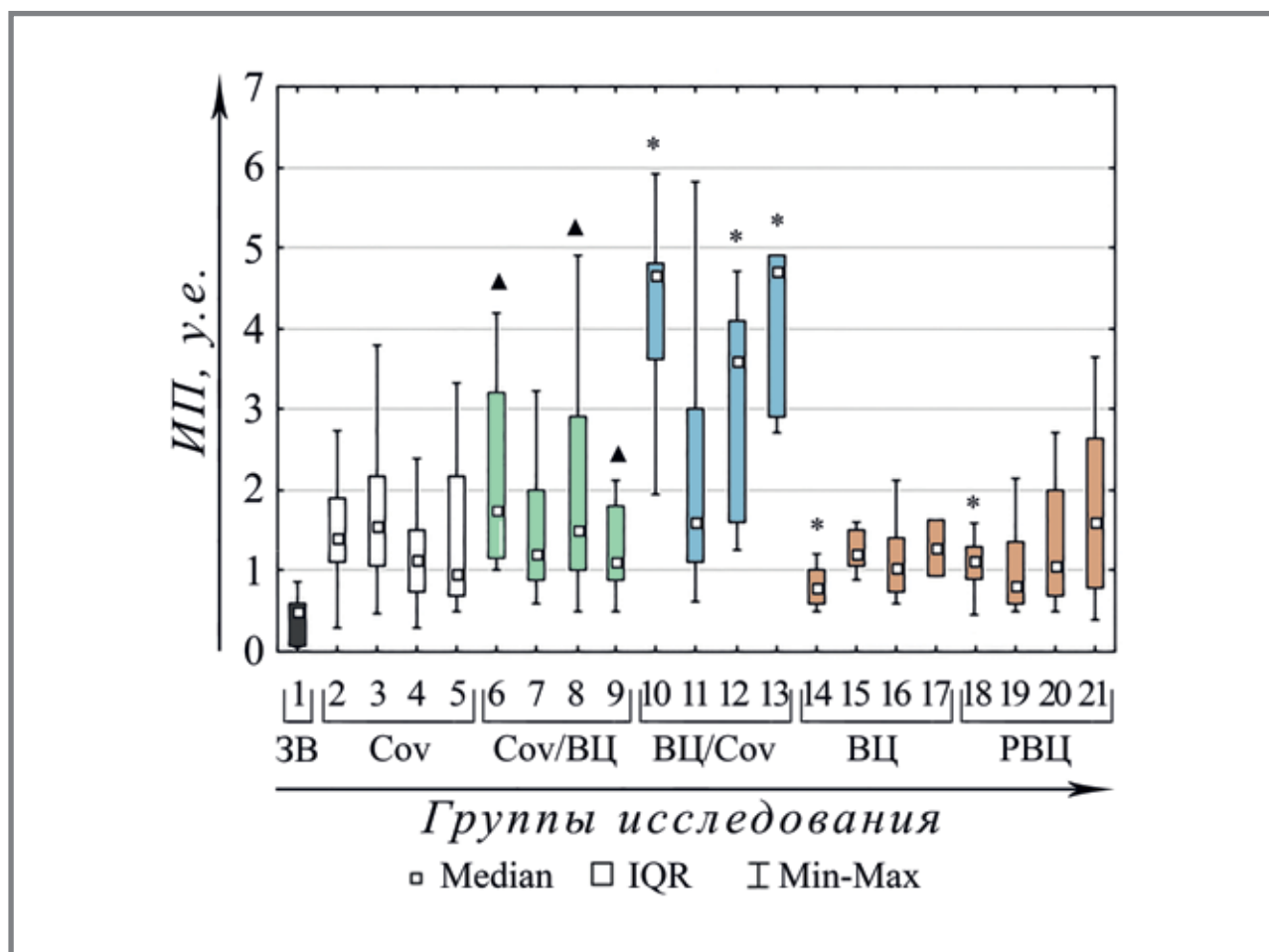
гематологических индексов (NMR, NLR, LMR, LER, NER), которые являются показателями системного воспалительного ответа [9–11]. В целом в группах не выявлялись изменения этих показателей, что свидетельствует об отсутствии серьезных нарушений внутренней среды организма. При этом наиболее существенные и продолжительные изменения установлены среди лиц с естественным иммунитетом, у которых наблюдалось изменение баланса как основных клеточных популяций лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, а также увеличение функциональной активности NK и лейкоцитов [7]. Изменения, зарегистрированные у этой группы волонтеров, характерны для вирусных инфекций [12] и свидетельствуют о развитии противовирусного иммунного ответа при первичной встрече с патогеном и формировании гуморального иммунитета.

Продemonстрировано участие CD45RO⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов и CD45RA⁺ Т-хелперов в развитии иммунного ответа у волонтеров с Cov,

ВЦ/Cov и Cov/ВЦ, что согласуется с данными других исследований [13,14]. Это обстоятельство косвенно может указывать на формирование и поддержание В-клеток памяти, поскольку известно, что хелперные Т-клетки принимают непосредственное участие в процессах активации ранее образованных В-клеток памяти при повторном заражении или вакцинации, а также в поддержании их разнообразия [15]. Кроме того, описанное изменение может объяснить высокий гуморальный ответ у людей с естественным, прорывным и гибридным иммунитетом. Участие CD8⁺ CD45RO⁺ Т-клеток памяти свидетельствует о развитии полноценного иммунного ответа, потому что недостаточность этих клеток приводит к задержке клиренса вируса, увеличению тяжести течения вирусных заболеваний и повышению риска летального исхода [16,17].

Продолжительные изменения субпопуляционного состава клеток крови зарегистрированы в отношении функциональной активности клеток.

Рисунок 3. Наличие специфических антител IgG к N-белку вируса SARS-CoV-2
Figure 3. Presence of specific IgG antibodies to the N-protein of SARS-CoV-2 virus



Примечание: Median (IQR); * $p < 0,01$ по сравнению с Cov, ▲ $p < 0,01$ по сравнению с ВЦ/Cov; черный бокс – здоровые волонтеры (3В); белые боксы – волонтеры с естественным иммунитетом (Cov); зеленые боксы – волонтеры с гибридным иммунитетом (Cov/ВЦ); синие боксы – волонтеры с прорывным иммунитетом (ВЦ/Cov); оранжевые боксы – волонтеры с вакцинальным иммунитетом (ВЦ, РВЦ); цифрами указаны сроки наблюдения, соответствующие 1, 3, 6 и 9 месяцу наблюдения.

Note: Median (IQR); * $p < 0,01$ compared to Cov, ▲ $p < 0,01$ compared to VC/Cov
 Black box – healthy volunteers (HV); white boxes – volunteers with natural immunity (Cov); green boxes – volunteers with hybrid immunity (Cov/VC); blue boxes – volunteers with breakthrough immunity (VC/Cov); orange boxes – volunteers with vaccine immunity (VC, RVC); numbers indicate follow-up periods corresponding to 1, 3, 6 and 9 months of follow-up.

Так, в нашем исследовании показана важная роль NK-клеток в предотвращении инфекции во время пандемии, что характеризовалось повышенным уровнем функциональной активности этих клеток ($CD3CD16^+HLA-DR^+$) у волонтеров контрольной группы. В связи с тем, что биологический материал у них забирался во время пандемии (с ноября 2020 г. по март 2021 г.), возможно, это может указывать на некоторую активацию этих клеток у 3В и их важную роль в предупреждении манифестной инфекции. Примерно через год после начала пандемии у волонтеров 2–5 групп содержание NK-клеток, экспрессирующих HLA-DR, возвращалось к уровню референсных значений независимо от перенесенной болезни или вакцинации. Также нами обнаружена длительная циркуляция в крови Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR (в течение 9 месяцев), у волонтеров всех исследуемых групп, которое происходило независимо от вида иммунитета. Усиленная активация Т-клеток, сопровождающаяся увеличением

экспрессии HLA-DR, была показана при тяжелом течении COVID-19 [18,19].

В отношении NK-клеток, экспрессирующих альфа-цепь CD8 ($CD3CD8^+$), нами показано снижение их содержания у людей с гибридным и прорывным иммунитетом, что может косвенно указывать на элиминацию вируса из организма. Известно, что эти клетки обладают повышенной цитотоксичностью за счет того, что молекула CD8 способствует выживанию NK-клеток после лизиса клеток-мишеней. В то же время в ряде исследований продемонстрирована способность NK-клеток генерировать антиген-специфическую память [20], что также может быть причиной наблюдаемых изменений.

Сопоставление результатов естественного иммунитета с иммунитетом гибридным и прорывным показало, что значительное повышение содержания BL у волонтеров с гибридным иммунитетом в первый месяц наблюдения может свидетельствовать в пользу активации сформированных при первичной инфекции В-клеток памяти ($CD27^+$)

и в целом указывать на поддержание гуморального иммунитета. Увеличение содержания В1-клеток через 6–9 месяцев наблюдения у лиц с естественным иммунитетом в сочетании с повышением уровня сывороточного IgA к этому же сроку может говорить о формировании долгоживущих клеток памяти, которое происходит в течение 3–5 месяцев после заболевания [21]. Как известно, IgA играет важную роль в иммунитете слизистых оболочек и обеспечивает тем самым первую линию защиты при вирусных инфекциях, поэтому поддержание его уровня является особенно актуальным во время пандемии. Известно, что дефицит анти-SARS-CoV-2 IgA и секреторного IgA может усугубить течение инфекции или привести к задержке клиренса вируса. С другой стороны, есть данные, что среди пула CD5⁺ В-лимфоцитов существуют регуляторные В-лимфоциты [22,23], которые специализируются на подавлении иммунного ответа, в том числе и при вирусных инфекциях [24], что может объяснить увеличение этих клеток на поздних сроках исследования. Возможно, эти клетки способствуют супрессии иммунного ответа у переболевших первичной инфекцией COVID-19, помогают избежать дальнейшего повреждения и восстановить гомеостаз организма, особенно при воспалении, опосредованном Т-клетками. В то же время высокие значения сывороточного IgA у лиц с прорывным иммунитетом может свидетельствовать об активации В-клеток памяти, сформированных после вакцинации, и секреции специфичных антител к вирусу SARS-CoV-2 при инфекционном процессе [25], что имеет важное значение для ранней защиты от вирусных инфекций.

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить особенности динамики содержания циркулирующих иммунокомпетентных клеток в течение 9 месяцев в зависимости от вида сформированного иммунитета, а также оценить напряженность врожденного и адаптивного иммунитета. В нашем исследовании наряду с другими наблюдениями [5,26] продемонстрировано, что у лиц с гибридным и прорывным иммунитетом формируется более устойчивый гуморальный

иммунный ответ по сравнению с однократно переболевшими новой коронавирусной инфекцией или вакцинированными [27–29]. Характер изменений изучаемых показателей у лиц с гибридным иммунитетом (содержание В-лимфоцитов и В1-клеток, концентрация IgA) свидетельствует о формировании Т- и В-клеток иммунной памяти. Стоит отметить, что степень защиты после вакцинации со временем снижается и может приводить к прорывным инфекциям. Однако вакцинация, предшествующая прорывной инфекции, усиливает гуморальный иммунный ответ.

Наши данные подчеркивают важность иммунологического анамнеза для понимания иммунного ответа на вакцину и могут иметь важное значение для персонализации схем вакцинации, используемых для предотвращения COVID-19, а также при оценке эффективности вакцинации и понимания ее вклада в формирование стойкого иммунитета. Полученные результаты помогают оценить напряженность врожденного и адаптивного иммунитета при новой коронавирусной инфекции, а также восполнить пробелы в понимании иммуннопатогенеза при COVID-19.

Выводы

Вакцинация способствует формированию защитного иммунитета, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти при прорывном иммунитете и поддержания иммунологической эффективности при гибридном иммунитете против COVID-19.

Гуморальный иммунитет и уровень функциональной активности Т-лимфоцитов сохраняются в течение 9 месяцев у лиц с естественным, гибридным и прорывным иммунитетом.

После вакцинации/ревакцинации развивается более слабый гуморальный иммунитет, в то время как функциональная активность Т-лимфоцитов (HLA-DR) сопоставима с активностью, выявленной у людей с естественным, гибридным и прорывным иммунитетом.

Наибольшей гуморальной иммуногенностью обладает прорывной иммунитет.

Литература

1. Epsi N.J., Richard S.A., Lindholm D.A., et al. Understanding "Hybrid Immunity": Comparison and Predictors of Humoral Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection (SARS-CoV-2) and Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccines. / *Clinical Infectious Diseases*. 2023 Vol. 76, N3. P. e439–e449. doi:10.1093/cid/ciac392
2. Bobrovitz N., Ware H., Ma X., et al. Protective effectiveness of previous SARS-CoV-2 infection and hybrid immunity against the omicron variant and severe disease: a systematic review and meta-regression. / *Lancet Infectious Diseases*. 2023 Vol. 23, N5. P. 556–567. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00801-5
3. Сизякина Л.П., Андреева И.И., Харитонова М.В. и др. Механизмы формирования гибридного иммунитета у лиц, переболевших COVID-19 и вакцинированных пептидными антигенами SARS-CoV-2. Медицинская иммунология. 2022 Т. 24, №3. С. 629–640. doi: 10.15789/1563-0625-MOF-2490
4. Stamataios L., Czartoski J., Wan Y.-H., et al. mRNA vaccination boosts cross-variant neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. / *Science*. 2021 Vol. 372. P. 1413–1418. doi: 10.1126/science.abg9175
5. Топтыгина А.П., Абридонова З.Э., Закиров Р.Ш. и др. Поддержание иммунологической памяти к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии. Инфекция и иммунитет. 2023 Т. 13, №1. С. 55–66. doi: 10.15789/2220-7619-MIM-2009
6. Pérez-Alós L., Hansen C.B., Almagro Armenteros J.J., et al. Previous immunity shapes immune responses to SARS-CoV-2 booster vaccination and Omicron breakthrough infection risk. / *Nature Communications*. 2023 Vol. 14. P. 5624. doi: 10.1038/s41467-023-41342-2
7. Tatarnikova V.V., Kiseleva N.O., Dubrovina V.I., et al. Immune Profile of COVID-19 Survivors and Contacts During 9 Months: A Cohort Study. / *Infectious Diseases & Immunity*. 2023 Vol. 3, N4. P. 163–175. doi: 10.1097/ID9.0000000000000100
8. Morbach H., Eichhorn E.M., Liese J.G., et al. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. / *Clinical & Experimental Immunology*. 2010 Vol. 162, N 2. P. 271–279. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04206.x

9. Yang A.P., Liu J.P., Tao W.Q., et al. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. / *International Immunopharmacology*. 2020 Vol. 84. P. 106504. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106504
10. Erdogan A., Can F.E., Gönüllü H. Evaluation of the prognostic role of NLR, LMR, PLR, and LCR ratio in COVID-19 patients. / *Journal of Medical Virology*. 2021 Vol. 93, N9. P. 5555–5559. doi: 10.1002/jmv.27097
11. Zhan L., Liu Y., Cheng Y., et al. Predictive Value of Neutrophil/Lymphocyte Ratio (NLR) on Cardiovascular Events in Patients with COVID-19. / *International Journal of General Medicine*. 2021 Vol. 14. P. 3899–3907. doi: 10.2147/IJGM.S317380
12. Pulendran B., Maddur M.S. Innate Immune Sensing and Response to Influenza. / *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2015 Vol. 386. P. 23–71. doi: 10.1007/82_2014_405
13. Qin C., Zhou L., Hu Z., et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. / *Clinical Infectious Diseases*. 2020 V.71, N15. P. 762–768. doi: 10.1093/cid/ciaa248
14. Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., et al. Heterogenous CD8+ T Cell Maturation and 'Polarization' in Acute and Convalescent COVID-19 Patients. / *Viruses*. 2022 Vol. 14, N9. P. 1906. doi: 10.3390/v14091906
15. Crotty S. Hybrid immunity. COVID-19 vaccine responses provide insights into how the immune system perceives threats. / *Science*. 2021 Vol. 372, N6549. P. 1392–1393. doi: 10.1126/science.abj2258
16. Bender B.S., Croghan T., Zhang L. et al. Transgenic mice lacking class I major histocompatibility complex-restricted T cells have delayed viral clearance and increased mortality after influenza virus challenge. / *The Journal of experimental medicine*. 1992 Vol. 175, N4. P. 1143–1145. doi: 10.1084/jem.175.4.1143
17. Mackenzie C.D., Taylor P.M., Askonas B.A. Rapid recovery of lung histology correlates with clearance of influenza virus by specific CD8+ cytotoxic T cells. / *Immunology*. 1989 Vol. 67, N3. P. 375–381.
18. Song J-W, Zhang C., Fan X., et al. Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19. / *Nature Communications*. 2020 Vol. 11, N1. P. 3410. doi: 10.1038/s41467-020-17240-2
19. Taeschler P., Adamo S., Deng Y., et al. T-cell recovery and evidence of persistent immune activation 12 months after severe COVID-19. / *Allergy*. 2022 Vol. 77, N8. P. 2468–2481. doi: 10.1111/all.15372
20. Sun J.C., Beilke J.N., Lanier L.L. Adaptive Immune Features of Natural Killer. / *Cells Nature*. 2009 Vol. 457, N7229. P. 557–561. doi: 10.1038/nature07665
21. Dan J.M., Mateus J., Kato Y., et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. / *Science*. 2021 Vol. 371, N 6529. P. eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063
22. Klinker M.W., Lundy S.K. Multiple Mechanisms of Immune Suppression by B Lymphocytes. / *Molecular Medicine*. 2012 Vol. 18, N1. P. 123–137. doi: 10.2119/molmed.2011.00333
23. Eiza N., Toubi E., Vadasz Z. Increased T and B Regulatory Cell Function Contributes to the Persistence of HCV and Other Viral Infections. / *Israel Medical Association Journal*. 2016 Vol. 18, N3–4. P. 159–61.
24. Lundy S.K. Killer B lymphocytes: the evidence and the potential. / *Inflammation Research*. 2009 Vol. 58. P. 345–357. doi: 10.1007/s00011-009-0014-x
25. Sheikh-Mohamed S., Chao G.Y.C., Isho B. et al. Systemic and mucosal IgA responses are variably induced in response to SARS-CoV-2 mRNA vaccination and are associated with protection against subsequent infection. / *Mucosal Immunology*. 2022 Vol. 15, N5. P. 799–808. doi: 10.1038/s41385-022-00511-0
26. Ali H., Alahmad B., Al-Shammari A.A., et al. Previous COVID-19 Infection and Antibody Levels After Vaccination. / *Front Public Health*. 2021 Vol. 9. P. 778243. doi: 10.3389/fpubh.2021.778243
27. Anichini G., Terrosi C., Gandolfo C., et al. SARS-CoV-2 antibody response in persons with past natural infection. / *New England of Journal Medicine*. 2021 Vol. 385. P. 90–92. doi: 10.1056/NEJMc2103825
28. Saadat S., Rikhtegaran T.Z., Logue J., et al. Binding and neutralization antibody titers after a single vaccine dose in health care workers previously infected with SARS-CoV-2. / *Journal of the American Medical Association*. 2021 Vol. 325, N14. P. 1467–1469. doi: 10.1001/jama.2021.3341.
29. Krammer F., Srivastava K., Alshammari H., et al. Antibody responses in seropositive persons after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. / *New England of Journal Medicine*. 2021 Vol. 384, N14. P. 1372–1374. doi: 10.1056/NEJMc2101667.

References

1. Epsi NJ, Richard SA, Lindholm DA, et al. Understanding "Hybrid Immunity": Comparison and Predictors of Humoral Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection (SARS-CoV-2) and Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccines. *Clinical Infectious Diseases*. 2023;76(3):e439–e449. doi: 10.1093/cid/ciac392
2. Bobrovitz N, Ware H, Ma X, et al. Protective effectiveness of previous SARS-CoV-2 infection and hybrid immunity against the omicron variant and severe disease: a systematic review and meta-regression. *Lancet Infectious Diseases*. 2023;23(5):556–567. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00801-5
3. Szyrakina LP, Andreeva II, Kharitonova MV, et al. Mechanisms of formation of hybrid immunity in people who recovered from COVID-19 and were vaccinated with SARS-CoV-2 peptide antigens. *Medical Immunology*. 2022;24(3):629–640. (In Russ). doi: 10.15789/1563-0625-PVI-2457
4. Stamatatos L, Czartoski J, Wan Y-H, et al. mRNA vaccination boosts cross-variant neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Science*. 2021;372:1413–1418. doi: 10.1126/science.abg9175
5. Toptygina AP, Afridonova ZE, Zakirov RS, et al. Maintaining immunological memory to the SARS-CoV-2 virus during COVID-19 pandemic. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2023;13(1):55–66. doi: 10.15789/2220-7619-MIM-2009
6. Pérez-Alós L., Hansen C.B., Almagro Armenteros J.J., et al. Previous immunity shapes immune responses to SARS-CoV-2 booster vaccination and Omicron breakthrough infection risk. *Nature Communications*. 2023;14:5624. doi: 10.1038/s41467-023-41342-2
7. Tatarnikova VV, Kiseleva NO, Dubrovina VI, et al. Immune Profile of COVID-19 Survivors and Contacts During 9 Months: A Cohort Study. *Infectious Diseases & Immunology*. 2023;3(4):163–175. doi: 10.1097/ID9.000000000000100
8. Morbach H, Eichhorn E.M., Liese JG, et al. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. *Clinical & Experimental Immunology*. 2010;162(2):271–279. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04206.x
9. Yang AP, Liu JP, Tao WQ, et al. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. *International Immunopharmacology*. 2020;84:106504 doi: 10.1016/j.intimp.2020.106504
10. Erdogan A, Can FE, Gönüllü H. Evaluation of the prognostic role of NLR, LMR, PLR, and LCR ratio in COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(9):5555–5559 doi:https://doi.org/10.1002/jmv.27097
11. Zhan L, Liu Y, Cheng Y, et al. Predictive Value of Neutrophil/Lymphocyte Ratio (NLR) on Cardiovascular Events in Patients with COVID-19. *International Journal of General Medicine*. 2021;14:3899–3907. doi:https://doi.org/10.2147/IJGM.S317380
12. Pulendran B, Maddur MS. Innate Immune Sensing and Response to Influenza. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2015;386:23–71. doi: 10.1007/82_2014_405
13. Qin C., Zhou L., Hu Z., et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(15):762–768. doi: 10.1093/cid/ciaa248
14. Kudryavtsev IV, Arsentieva NA, Korobova ZR, et al. Heterogenous CD8+ T Cell Maturation and 'Polarization' in Acute and Convalescent COVID-19 Patients. *Viruses*. 2022;14(9):1906. doi: 10.3390/v14091906
15. Crotty S. Hybrid immunity. COVID-19 vaccine responses provide insights into how the immune system perceives threats. *Science*. 2021;372:1392–1393. doi: 10.1126/science.abj2258
16. Bender BS, Croghan T, Zhang L, et al. Transgenic mice lacking class I major histocompatibility complex-restricted T cells have delayed viral clearance and increased mortality after influenza virus challenge. *The Journal of experimental medicine*. 1992;175(4):1143–1145. doi:10.1084/jem.175.4.1143
17. Mackenzie CD, Taylor PM, Askonas BA. Rapid recovery of lung histology correlates with clearance of influenza virus by specific CD8+ cytotoxic T cells. *Immunology*. 1989;67(3):375–381
18. Song J-W, Zhang C, Fan X, Meng F-P, Xu Z, Xia P, Cao W-J, Yang T, Dai X-P, Wang S-Y et al. 2020. Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19. *Nature Communications*. 2020;11(1): 3410. doi: 10.1038/s41467-020-17240-2.
19. Taeschler P, Adamo S, Deng Y, et al. T-cell recovery and evidence of persistent immune activation 12 months after severe COVID-19. *Allergy*. 2022;77(8):2468–2481. doi: 10.1111/all.15372
20. Sun J.C., Beilke J.N., Lanier L.L. Adaptive Immune Features of Natural Killer. *Cells Nature*. 2009;457(7229):557–561. doi: 10.1038/nature07665
21. Dan J.M., Mateus J, Kato Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021;371(6529):eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063
22. Klinker MW, Lundy SK. Multiple Mechanisms of Immune Suppression by B Lymphocytes. *Molecular Medicine*. 2012;18(1):123–137. doi: 10.2119/molmed.2011.00333
23. Eiza N, Toubi E, Vadasz Z. Increased T and B Regulatory Cell Function Contributes to the Persistence of HCV and Other Viral Infections. *Israel Medical Association Journal*. 2016;18(3–4):159–61.
24. Lundy SK. Killer B lymphocytes: the evidence and the potential. *Inflammation Research*. 2009;58:345–357. doi: 10.1007/s00011-009-0014-x
25. Sheikh-Mohamed S, Chao GYC, Isho B, et al. Systemic and mucosal IgA responses are variably induced in response to SARS-CoV-2 mRNA vaccination and are associated with protection against subsequent infection. *Mucosal Immunology*. 2022;15(5):799–808. doi: 10.1038/s41385-022-00511-0
26. Ali H, Alahmad B, Al-Shammari AA, et al. Previous COVID-19 Infection and Antibody Levels After Vaccination. *Front Public Health*. 2021;9: 778243. doi: 10.3389/fpubh.2021.778243

Original Articles

27. Anichini G, Terrosi C, Gandolfo C, et al. SARS-CoV-2 antibody response in persons with past natural infection. *New England of Journal Medicine*. 2021;385:90–2. doi: 10.1056/NEJMc2103825
28. Saadat S, Rikhtegaran TZ, Logue J, et al. Binding and neutralization antibody titers after a single vaccine dose in health care workers previously infected with SARS-CoV-2. *Journal of the American Medical Association*. 2021;325 (14):1467–9. doi: 10.1001/jama.2021.3341.
29. Krammer F, Srivastava K, Alshammay H, et al. Antibody responses in seropositive persons after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *New England of Journal Medicine*. 2021;384(14):1372–1374. doi: 10.1056/NEJMc2101667.

Об авторах

- **Валентина Владимировна Татарникова** – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. vvoitkova@mail.ru. ORCID 0000-0002-0685-7625.
- **Валентина Ивановна Дубровина** – д. б. н., заведующая лабораторией патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. dubrovina-valya@mail.ru. ORCID 0000-0001-8561-6207.
- **Наталья Олеговна Киселева** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. vesteros1153@gmail.com. ORCID 0000-0001-6678-2998.
- **Владимир Александрович Вишняков** – к. м. н., заведующий изолятором, врач-инфекционист ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. vladimir.vishnyakov.85@mail.ru.
- **Дарья Дмитриевна Брюхова** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. darabrukhov@mail.ru. ORCID 0000-0002-5589-9522.
- **Анна Борисовна Пятидесятникова** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. adm@chumin.irkutsk.ru. ORCID 0000-0002-6381-4517.
- **Артем Николаевич Бондарюк** – младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых вирусных инфекций ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. ORCID 0000-0003-4422-0497.
- **Сергей Владимирович Балахонов** – д. м. н., профессор, директор ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. balakhonov.irk@mail.ru. ORCID 0000-0003-4201-5828.

Поступила: 05.12.2023. Принята к печати: 27.02.2023.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Valentina V. Tatarnikova** – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher laboratory of pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Rosпотребnador. vvoitkova@mail.ru. ORCID 0000-0002-0685-7625.
- **Valentina I. Dubrovina** – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. dubrovina-valya@mail.ru. ORCID 0000-0001-8561-6207.
- **Natalya O. Kiseleva** – junior researcher laboratory of pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. vesteros1153@gmail.com. ORCID 0000-0001-6678-2998.
- **Vladimir A. Vishnyakov** – Cand. Sci. (Med.), Head of the probational ward, Infectious Disease Physician, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. vladimir.vishnyakov.85@mail.ru.
- **Darya D. Bryukhova** – junior researcher laboratory of pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. darabrukhov@mail.ru. ORCID 0000-0002-5589-9522.
- **Anna B. Pyatidesyatnikova** – Junior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. adm@chumin.irkutsk.ru. ORCID 0000-0002-6381-4517.
- **Artem N. Bondaryuk** – junior researcher laboratory of natural focal viral infections, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. ORCID 0000-0003-4422-0497.
- **Sergey V. Balakhonov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of the FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute. balakhonov.irk@mail.ru. ORCID 0000-0003-4201-5828.

Received: 05.12.2023. Accepted: 27.02.2023.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.