

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»

На правах рукописи

БРЮХОВА Дарья Дмитриевна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ
РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 И
ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЭТОЙ ИНФЕКЦИИ**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Дубровина В.И.

Иркутск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТО- И ИММУНОГЕНЕЗЕ COVID-19.....	14
1.1 Механизмы формирования постинфекционного иммунитета против новой коронавирусной инфекции.....	14
1.2 Современное состояние вопроса о специфической профилактике COVID-19.....	27
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.1 Критерии отбора волонтеров для оценки популяционного иммунитета.....	34
2.1.1 <i>Оценка гуморального популяционного иммунитета</i>	34
2.1.2 <i>Оценка клеточного иммунитета</i>	36
2.2 Этическая экспертиза.....	39
2.3 Получение сыворотки крови	39
2.4 Определение иммуноглобулинов классов М, G к вирусу SARS-CoV-2.....	40
2.4.1 <i>Оценка показателей содержания специфических иммуноглобулинов классов М к вирусу SARS-CoV-2</i>	41
2.4.2 <i>Оценка показателей содержания специфических иммуноглобулинов классов G к вирусу SARS-CoV-2</i>	42
2.5 Иммунофенотипирование лимфоцитов на проточном цитофлуориметре.....	44
2.6 Оценка продукции биомаркерных цитокинов в сыворотке крови.....	47
2.7 Типирование генов гистосовместимости человека (HLA) II класса методом амплификации ДНК.....	48

2.7.1 Выделение ДНК.....	48
2.7.2 Типирование гена <i>DQA1</i> методом амплификации ДНК в режиме реального времени.....	49
2.7.3 Типирование гена <i>DQB1</i> методом амплификации ДНК в режиме реального времени.....	50
2.7.4 Типирование гена <i>DRB1</i> методом амплификации ДНК в режиме реального времени.....	51
2.8 Статистические методы.....	52
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	53
3.1 Динамика изменений популяционного иммунитета к вирусу SARS-COV-2 у жителей Иркутской области в условиях пандемии COVID-19.....	53
3.2 Оценка показателей специфического гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 у детей.....	63
3.3 Мониторинг уровня цитокинов у переболевших COVID-19 и вакцинированных волонтеров.....	70
3.4 Оценка клеточного звена иммунитета у переболевших COVID-19, контактных и вакцинированных против этой инфекции волонтеров.....	78
3.5 Взаимосвязь полиморфизма генов HLA-II и иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции волонтеров.....	101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
ВЫВОДЫ	116
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	118
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	125

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Новая коронавирусная инфекция COVID-19 с момента её обнаружения в ноябре 2019 г. в течение очень короткого промежутка времени вызвала чрезвычайную ситуацию эпидемиологического характера, имеющую международное значение: уже 11 марта 2020 г. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) объявила о начале пандемии [9]. Стремительному распространению COVID-19 способствовали воздушно-капельный путь передачи возбудителя от человека к человеку, длительный (до 14 дней) инкубационный период и комплекс социально-экономических факторов, например, высокая миграционная активность населения. Несмотря на то, что основные проявления COVID-19 в Российской Федерации (РФ) сопоставимы с таковыми в других странах, важно изучать региональные особенности этой инфекции. Выявление особенностей течения эпидемического процесса COVID-19 в Иркутской области позволит обоснованно и более эффективно проводить противоэпидемические и профилактические мероприятия, в частности специфическую профилактику. Один из основных факторов, влияющих на динамику заболеваемости новой коронавирусной инфекцией – коллективный иммунитет. Актуальным направлением исследований является оценка продолжительности и выраженности иммунологической перестройки в организме у переболевших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции.

Несмотря на интенсивные исследования пато- и иммуногенетических особенностей течения новой коронавирусной инфекции [48, 58], вопросы, касающиеся механизмов запуска каскада реакций в организме человека, приводящих к полиорганной дисфункции, недостаточно изучены. Немногочисленные исследования показали, что SARS-CoV-2 обладает способностью к «уклонению» от иммунной системы и препятствует своевременному запуску механизмов защиты [13]. В целом, иммунный ответ при

COVID-19 имеет преимущественно Th1-доминирующий характер. Адаптивный ответ обусловлен Т-хелперами, а элиминация вируса связана с активностью цитотоксических Т-клеток [149]. Гуморальный иммунный ответ, связанный с продукцией вируснейтрализующих антител, обеспечивает защиту от инфекции в дальнейшем [134, 189]. Установлена перекрестная реактивность сывороток крови лиц, перенесших COVID-19 и тяжелый острый респираторный синдром SARS [209]. Используемые вирусом SARS-CoV-2 механизмы эвазии, обуславливающие длительный инкубационный период при COVID-19, во многом аналогичны таковым у близкородственных коронавирусов SARS-CoV и MERS-CoV.

Известно, что COVID-19 обычно протекает на фоне выраженной лимфопении и с высокой продукцией провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1A и TNF- α), поэтому «цитокиновому шторму» отводится ведущая роль в развитии необратимых повреждений организма больного [28]. Кроме того, требует уточнения ряд вопросов, касающихся иммунологических особенностей течения заболевания, обусловленного SARS-CoV-2, которые связаны с поиском предикторов тяжести развития патологического процесса и/или критериев эффективности терапии [4, 187].

Циркулирующий вирус SARS-CoV-2 способен вызывать COVID-19 независимо от возраста, пола и расовой принадлежности. Вместе с тем возрастная восприимчивость демонстрирует некоторые особенности [122]. Так, наиболее часто тяжелое течение COVID-19 наблюдается у лиц пожилого возраста с наличием в анамнезе хронических заболеваний, таких как сахарный диабет, бронхиальная астма, хроническая сердечная недостаточность и др. [16].

Имеются сведения, что более высокая серопревалентность к SARS-CoV-2 у детей на 26 территориях России сопровождается достоверно более высокой устойчивостью к коронавирусу по сравнению с взрослыми волонтерами [23]. В структуре инфицированных SARS-CoV-2 во всём мире дети составляют до 10 %, а в РФ – 6-7 % [2, 93].

Известно, что гены HLA (human leucocyte antigens, лейкоцитарные антигены человека) играют главную роль в развитии адаптивного иммунного ответа на

возбудителей инфекционных заболеваний. Имеются сведения о взаимосвязи между наличием в гаплотипе европеоидов генов HLA-A1 и HLA-B8, а также HLA-DR3 и особенностями иммунного статуса, позволяющими более эффективно осуществлять противоинфекционную защиту, независимо от природы возбудителя. Исследование генетических маркеров может существенно повысить прогностическую ценность иммунологических исследований [8].

При оценке динамики иммунного ответа, сформированного против новой коронавирусной инфекции, большая часть усилий ученых была направлена на изучение роли антител, вырабатываемых после естественной инфекции или вакцинации, без учета оценки влияния клеточного иммунного ответа, который, как было показано, определяет течение инфекции SARS-CoV-2 [41, 100, 101]. Циркулирующие Т-клетки, специфичные к SARS-CoV-2, обнаруживали у выздоравливающих лиц с бессимптомной и легкой формой COVID-19, серонегативных по антителам, что позволяет предположить, что в отсутствие антител сильный и широко специфичный Т-клеточный ответ может быть достаточным для обеспечения иммунной защиты от SARS-CoV-2 [78, 190].

Таким образом, иммунологический мониторинг за переболевшими COVID-19 и лицами, вакцинированными против SARS-CoV-2, позволит определить наиболее удачные тактические решения в проведении профилактических мероприятий, оптимизировать выбор контингента риска и оценить фактические преимущества вакцинации. Формирование Т-клеточной иммунологической памяти после заражения и/или вакцинации и последующая реакция распознавания при повторной встрече с антигеном могут использоваться в разработке диагностической тест-системы для качественного определения Т-клеточного иммунного ответа [12]. Решение этих задач возможно путём создания научно-методической основы оценки эффективности специфической профилактики новой коронавирусной инфекции, уточнения иммунологических особенностей течения инфекционного и вакцинального процесса, получения новых сведений об особенностях ответной реакции иммунной системы вакцинированных и переболевших.

Цель исследования – установить патогенетические механизмы формирования постинфекционного и поствакцинального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 на основании оценки состояния клеточного, гуморального звеньев иммунитета и популяционного распределения HLA II для патогенетического обоснования дифференцированных подходов к диагностике.

Для реализации поставленной цели последовательно решались следующие **основные задачи**:

1. Выявить патофизиологические особенности динамики гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 (специфические иммуноглобулины классов M и G).

2. Изучить патофизиологические особенности клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 (биомаркерные цитокины клеток Th1- (IFN- γ , TNF- α) и Th2- типа (IL-10, IL-4)).

3. Установить закономерности изменений субпопуляционного состава клеток крови в зависимости от типа сформированного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 (постинфекционный, поствакцинальный, смешанный (переболевшие с последующей вакцинацией, вакцинированные с последующим заболеванием)).

4. Выявить взаимосвязи генетического полиморфизма генов главного комплекса гистосовместимости человека (HLA класса II) и установленными особенностями формирования напряженного иммунитета при COVID-19.

5. Определить наиболее значимые показатели гуморального, клеточного иммунного ответа и вклад генов HLA II к персонализированному подходу к вакцинации.

Научная новизна работы

Впервые на основе результатов оценки состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета, а также популяционного распределения HLA II предложен патогенетически обоснованный дифференцированный подход к изучению механизмов формирования постинфекционного и поствакцинального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2.

Впервые в рамках проекта по оценке популяционного иммунитета населения Российской Федерации к вирусу SARS-CoV-2 получены данные о том, что у 60 % однократно перенёсших COVID-19 доля серопозитивных в 1,6 раза ниже, чем у волонтеров со смешанным иммунным ответом (переболевшие COVID-19 и вакцинированные против этой инфекции). При этом, специфические антитела и уровень функциональной активности Т-лимфоцитов (HLA-DR) сохраняются в течение 9 и более месяцев.

Получены новые сведения о динамике выработки специфических IgG у вакцинированных волонтеров: поствакцинальный гуморальный иммунный ответ формируется у 70 % обследованных; состояние клеточного иммунитета соответствует уровню Т-клеточной активности при постинфекционном и смешанном иммунитете. Важно отметить, что у вакцинированных волонтеров содержание активированных форм Т-лимфоцитов (HLA-DR) начиная с третьего месяца после иммунизации статистически значимо снижается.

Приоритетными являются данные о том, что независимо от примененной вакцины, формирование поствакцинального клеточного иммунитета менее эффективно, чем постинфекционного. Тем не менее, вакцинация способствует формированию защитного иммунитета, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти и поддержания иммунологической эффективности при смешанном иммунитете (вакцинированные до или после заболевания COVID-19).

Впервые выявлены особенности взаимосвязи уровня серопозитивности с продукцией цитокинов IFN- γ , TNF- α (Th1) и IL-10, IL-4 (Th2) в клеточно-опосредованном иммунном ответе у переболевших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции.

Новыми являются данные о популяционном распределении и прогностическом значении генов HLA II класса у переболевших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции.

Предложены иммунологические критерии оценки фактической привитости населения, которые позволяют оценить эффективность профилактики для

персонифицированного подхода к вакцинации и прогнозирования рисков эпидемиологической ситуации по COVID-19.

Теоретическое и практическое значение работы

На основании проведенных исследований показана перспективность изучения механизмов, обеспечивающих противовирусный иммунитет при новой коронавирусной инфекции, которые расширяют знания об изменениях в субпопуляционном составе клеток крови после перенесенного заболевания COVID-19 или контакта. Полученные в ходе исследования данные важны для понимания долгосрочности влияния вируса SARS-CoV-2 и скорости восстановления гомеостаза организма. Результаты исследования расширяют представление о гетерогенности реакций иммунитета на вирус в зависимости от формы взаимодействия с ним (переболевшие и контактные, но не заболевшие), а также, в зависимости от наличия специфических антител, могут иметь практическое применение в медицине, поскольку комплексная интерпретация иммунограммы позволит определить необходимость ревакцинации. Эти данные дополняют теоретические знания и определяют направления изысканий в области изучения процессов формирования резистентности макроорганизма к возбудителю новой коронавирусной инфекции. Кроме того, могут быть использованы для совершенствования эпидемиологического надзора за COVID-19 с целью минимизации негативных последствий ее распространения и совершенствования подходов к формированию мер по профилактике инфекции.

Результаты исследований послужили основой для разработки базы данных «Показатели иммунологического мониторинга вакцинированных против SARS-CoV-2 и переболевших COVID-19 лиц, проживающих в Иркутской области» (Свидетельство № 2022621486 от 22.06.2022 г.). Внедрены в практику научных исследований методические рекомендации учрежденческого уровня «Оценка цитокинового статуса у лиц, вакцинированных против SARS-CoV-2 и перенесших COVID-19» (протокол ученого совета № 3 от 30.03.2023 г.) и «Оценка клеточного иммунитета у переболевших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции людей» (протокол ученого совета № 4 от 13.04.2023 г.).

Научные и практически значимые материалы исследований внедрены в практику научно-исследовательской работы ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора и ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также включены в лекционные курсы при подготовке кадров учреждений Роспотребнадзора и других ведомств по программам дополнительного профессионального образования при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Методология и методы исследования

В работе использованы частные и общенаучные методы исследования (иммунологический, молекулярно-генетический, иммуноцитометрический и статистические). Иммунологическим методом выявляли наличие специфических антител и цитокины (IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- α) в сыворотке крови. Иммуноцитометрическим методом проводили исследование субпопуляционного состава клеток крови и измеряли показатели клеточного иммунитета у вакцинированных против COVID-19 и переболевших этим инфекционным заболеванием волонтеров. С помощью молекулярно-генетического метода определяли гены HLA II класса. Все полученные данные статистически обрабатывали стандартными методами.

Положения, выносимые на защиту

1. После вакцинации/ревакцинации против новой коронавирусной инфекции развивается более слабый гуморальный иммунитет, в то время как функциональная активность Т-лимфоцитов (HLA-DR) сопоставима с активностью, выявленной у людей с постинфекционным и смешанным иммунитетом. Наиболее активным гуморальным иммунным ответом обладают вакцинированные добровольцы, которые в различные сроки после вакцинации перенесли COVID-19.

2. Установленные особенности цитокинового профиля как у реконвалесцентов, так и у лиц вакцинированных против новой коронавирусной

инфекции, заключающиеся в снижении IL-4 у перенёсших COVID-19 (геновариант «Omicron»), повышении IL-10 у переболевших в начале пандемии по сравнению с другими реконвалесцентами (геноварианты «Alpha», «Beta», «Delta») и выявленная обратная корреляционная зависимость между уровнями IL-4 и IFN- γ и сроками после перенесённого заболевания, а также снижение показателей IL-10 и TNF- α у вакцинированных волонтеров, свидетельствуют о дисрегуляции противовирусного ответа макроорганизма на антигены SARS-CoV-2.

3. Вакцинация против вируса SARS-CoV-2 способствует формированию защитного иммунного ответа, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти и поддержания иммунологической эффективности при смешанном иммунитете (у переболевших COVID-19 до или после вакцинации). Гуморальный иммунный ответ и уровень функциональной активности Т-лимфоцитов сохраняются в течение 9 месяцев и более при смешанном и постинфекционном иммунитете.

4. Предикторами активной стимуляции специфических антител (IgM и IgG) к S- и N-белкам коронавируса, а также сывороточного IL-10 у волонтеров являются аллели DQA1*05:01, DQA1*02:01 и DQA1*01:01, что свидетельствует о формировании адаптивного иммунного ответа.

Степень достоверности результатов и апробация работы

О достоверности результатов работы свидетельствует достаточный объем исследований с применением современных высокочувствительных методов с автоматизированной оценкой и учетом результатов, адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Материалы, изложенные в диссертации, обсуждены и представлены на:

- Международных научно-практических конференциях по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям «Пандемия COVID-19 и ее уроки в борьбе с инфекционными заболеваниями» (Санкт-Петербург, 2020-2023);
- Онлайн-конгрессе с международным участием (Москва, 2021);

- Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 2023);
- XV Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 2023); XIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии и гигиены» (Екатеринбург, 2021); XIV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии и гигиены» (Москва, 2022); XV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии и гигиены» (Нижний Новгород, 2023);
- Региональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Сибири и Дальнего Востока» (Иркутск, 2022); Региональной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора, медицинских научно-исследовательских и образовательных организаций Иркутской области «Диагностика, профилактика и эпидемиологический надзор за природно-очаговыми и другими инфекционными болезнями» (Иркутск, 2023);
- научных конференциях Иркутского противочумного института (2020-2024).

В основу диссертационной работы положены исследования, проведенные в рамках темы НИР 005-2-21 «Иммунологические, клиничко-лабораторные, молекулярно-генетические и эпидемиологические аспекты новой коронавирусной инфекции COVID-19 в Восточной Сибири» (2021-2023 гг.) ГР АААА-А21-1210111400034-2, отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021-2025 годы «Научное обеспечение

эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» и проекта Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по оценке популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у населения Российской Федерации (2020-2022 гг.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 23 научные работы, из которых 10 публикаций в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ, в том числе в отечественных и зарубежных рецензируемых журналах, индексируемых в базах Russian Science Citation Index, Web of Science и Scopus, одна коллективная монография «COVID-19: научно-практические аспекты борьбы с пандемией в Российской Федерации», база данных и две методические рекомендации.

Личный вклад соискателя

Автор непосредственно участвовал в проведении исследований по оценке популяционного иммунитета у населения Иркутской области в период пандемии COVID-19, обобщении и анализе полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от постановки задач, их экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения и 3 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования), заключения, выводов, списка сокращений и библиографического списка научной литературы. Работа изложена на 149 страницах машинописного текста, иллюстрирована 8 таблицами и 25 рисунками. Список литературных источников содержит 210 наименований, в том числе 180 – зарубежных.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТО- И ИММУНОГЕНЕЗЕ COVID-19

1.1 Механизмы формирования постинфекционного иммунитета против новой коронавирусной инфекции

SARS-CoV-2 принадлежит к семейству Coronaviridae, порядку Nidovirales, роду *Betacoronavirus* и подроду *Sarbecovirus*, является одноцепочечным РНК-вирусом с положительной РНК [87], содержащей геном из 29903 нуклеотидов и 29 белков [73]. Вирус имеет шесть основных открытых рамок считывания (ORF), а также несколько дополнительных [72]. ORF1a и ORF1b составляют две трети генома вируса и кодируют 16 неструктурных белков NSP, а остальные рамки – кодируют четыре структурных белка (S, E, M, N). Другие неосновные ORF приводят к образованию дополнительных белков [42] (Рисунок 1).

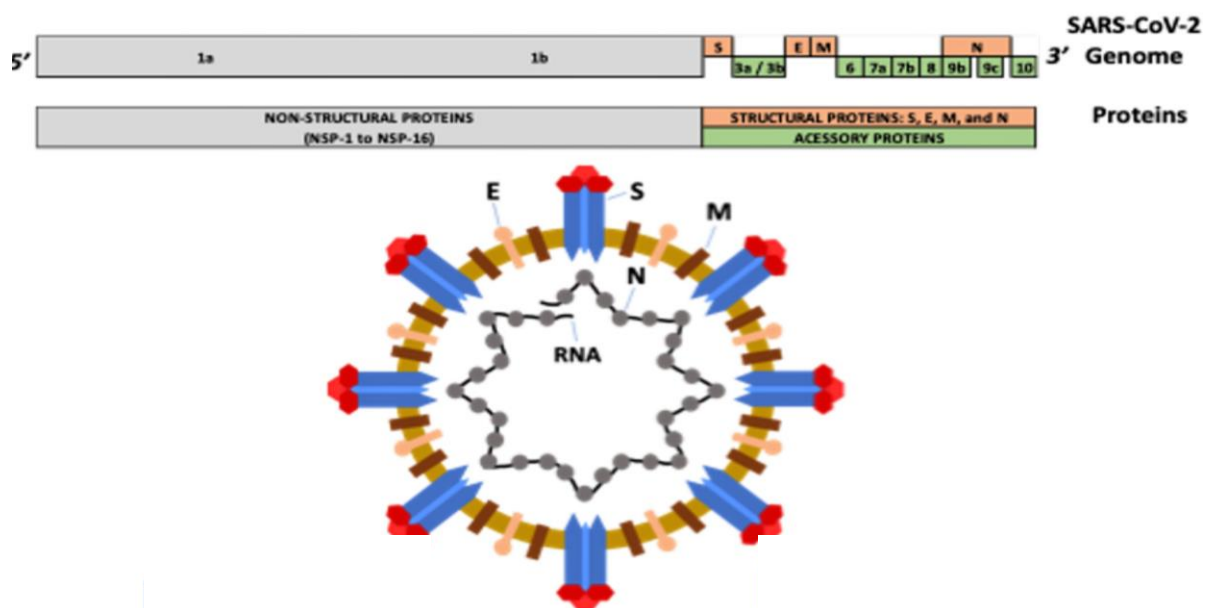


Рисунок 1 – Структура коронавируса SARS-CoV-2 [87]

Белки NSP включают в себя папаин- и 3С-подобные цистеиновые протеиназы, осуществляющие процессинг двух больших вирусных полипротеинов, РНК-зависимую РНК-полимеразу, РНК-хеликазу, ферменты, модифицирующие вирусный геном, ферменты, обладающие 3'-5'-экзорибонуклеазной и уридилат-специфичной эндонуклеазной активностью, а также важные эффекторные белки [19]. Вместе они образуют транскриптарный комплекс вирусной репликазы [135], который способствует репликации вируса на эндоплазматическом ретикулуме в клетке [21].

Белок мембраны М – трансмембранный гликопротеин, содержит 230 аминокислот (25-35 кДа). Он отвечает за придание формы вириону, связан со сборкой и морфологией вируса. Структура М-белка аналогична прокариотическому белку-переносчику глюкозы, что может указывать на роль этого белка в проникновении в клетку макроорганизма [178]. Белок оболочки Е состоит из 74-109 аминокислот (8,4-109 кДа). Он участвует в сборке, высвобождении вируса из инфицированных клеток и изменении активности ионных каналов, нарушая передачу сигналов в клетке [32].

Белок нуклеокапсида N (43-50 кДа) структурно состоит из сайта связывания РНК, домена димеризации (CTD) и фрагментов, богатых аргинином и серином. Этот белок инкапсулирует вирусную РНК и образует рибонуклеиновый белковый комплекс, играющий решающую роль в репликации вируса, процессах транскрипции и сборке генома [6]. N-белок фосфорилируется в нескольких специфических положениях, что может привести к изменению связывания с моноклональными антителами [51, 80, 111].

Гликопротеин S состоит из 1300 а.к. (180-200 кДа) и представляет собой гомотример, каждый мономер которого содержит две субъединицы – S1 и S2. S1 содержит N-концевой домен (NTD) и рецептор-связывающий домен (RBD), они распознают и связываются с рецептором ангиотензинпревращающего фермента-2 (ACE-2), необходимого для прикрепления вируса и проникновения в клетку хозяина [87]. Описаны две основные конформации RBD: в положении «стоя» и «лёжа», с высоким и низким сродством к ACE-2, соответственно. Большая часть

RBD во всем SARS-CoV-2 находится в лежачем состоянии [196]. S2 состоит из гибридного пептида FP, гептапептидных повторов HR1 и HR2, трансмембранного домена (TMD) и домена цитоплазмы. S-белок обеспечивает слияние мембран между вирусной оболочкой и клеткой-хозяином [6, 87].

Гемагглютининаястераза (HE) присутствует на поверхности вируса и связывается с гликопротеинами через сиаловую кислоту, тем самым способствуя проникновению в клетку макроорганизма [45].

SARS-CoV-2, как и многие РНК-вирусы, со временем претерпевает изменения, которые обычно незначительны и не влияют на его свойства [183]. Тем не менее, некоторые мутации могут изменить патогенный потенциал вируса, его контагиозность, способность обезвреживаться иммунной системой, восприимчивость к лекарствам и диагностическим методам. Были созданы классификации появившихся вариантов на основании их влияния на вышеперечисленные факторы. Таким образом, предложены 3 списка геновариантов коронавируса: вызывающие озабоченность (VOCs), представляющие интерес (VOIs) и варианты под наблюдением (VUM) [1].

К группе VOCs относят варианты, имеющие доказанную высокую контагиозность, способные существенно снизить эффективность нейтрализации антител, образовавшихся после предыдущего перенесенного COVID-19 или вакцинации, а также вызывающие тяжёлое течение заболевания и большую вероятность летального исхода. В эту группу входят варианты Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (B.1.1.248), Delta (B.1.617.2) и Omicron (B.1.1.529) [87]. Каждый из этих вариантов отличается от исходного Уханьского штамма специфичным набором мутаций. Alpha имеет 23 мутации в генах S, N и ORF-8 (D614G и N501Y, а также делеции DH69/DV70) [57, 73], что делает этот вариант на 61 % более опасным, чем предшествовавшие варианты [63]. Beta содержит три критические мутации в RBD белка S (K417N, E484K и N501Y), которые улучшают адаптацию вируса и повышают устойчивость к нейтрализующим антителам [46, 123]. Gamma был широко распространён в Бразилии и имел 3 основные мутации RBD как в Beta, а также дополнительные мутации в других

областях [50, 157]. Delta отличается присутствием мутаций L452R, T478K и E484Q в S RBD и P681R в сайте расщепления между S1 и S2, которые способствуют более быстрому связыванию с ACE-2 на клетках легких, повышают возможности иммунной эвазии и увеличивают вероятность повторного инфицирования [191]. Вариант Omicron имеет 30 мутаций в S-белке, что обуславливает его повышенную способность уклоняться от иммунного ответа и устойчивость к нейтрализующим антителам по сравнению с Delta. Если изначальный вирус SARS-CoV-2 имел R_0 (индекс репродукции) 2-5, у варианта Delta R_0 составляет примерно 7, то у варианта Omicron R_0 приближается к 10, что говорит о крайне высокой трансмиссивности вируса [164].

VOIs включают в себя варианты (линия C.37, Lambda) со специфическими генетическими маркерами, ассоциированными с изменениями в связывании с рецепторами, ослаблением нейтрализации антителами, увеличением трансмиссивности, снижением эффективности лечения с прогнозируемым нарастанием тяжести заболевания. В группу VUM входят варианты, имеющие мутации с потенциальным влиянием на скорость передачи вируса и эффективность лечения, но составляющие околонулевую долю в структуре циркулирующих геновариантов [1].

В конце 2020 г. начат молекулярно-генетический мониторинг структуры популяций SARS-CoV-2 в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах (СФО и ДФО). За 2021 г. секвенированы 2157 геномов вируса от пациентов с COVID-19. В начале исследования наблюдался дикий вариант коронавируса, Alpha был впервые идентифицирован в марте 2021 года, Beta – в редких образцах с марта по май. Delta, обнаруженный в конце апреля, к июню составил 90 % проб и полностью вытеснил остальные варианты (Рисунок 2). Генетическое разнообразие SARS-CoV-2 связано с резким ростом эффективного размера популяции вируса, который определялся количеством инфицированных.

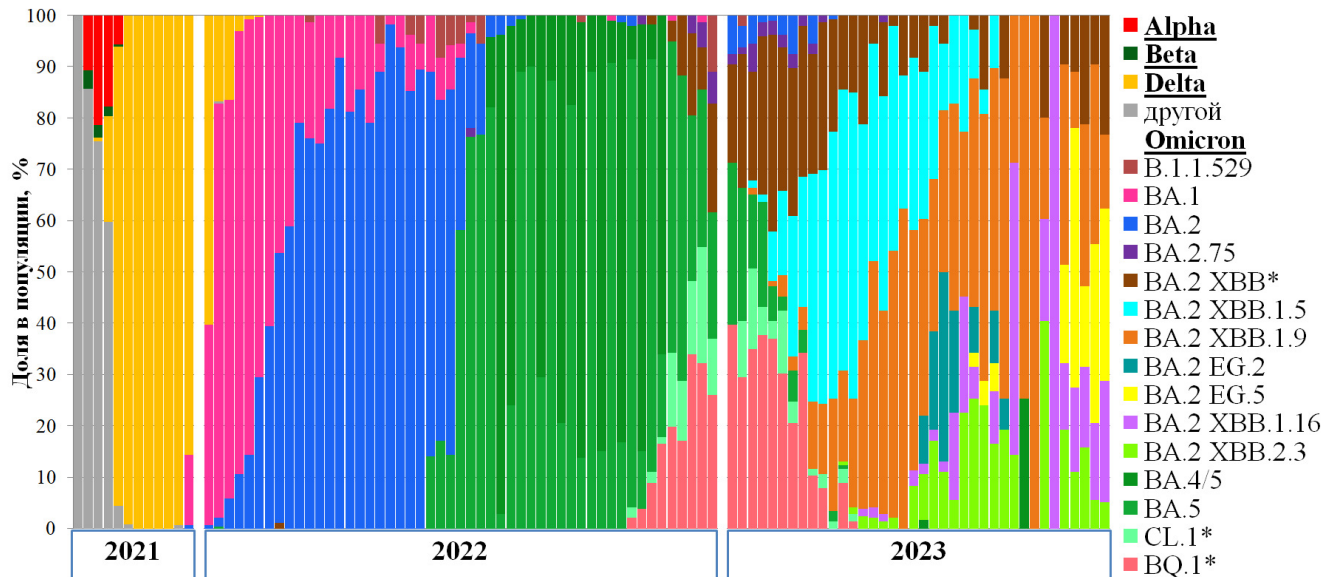


Рисунок 2 – Динамика идентифицированных геновариантов SARS-CoV-2 в субъектах СФО и ДФО за 2021-2023 гг.

Установлено, что первый пациент, инфицированный геновариантом Delta (нулевой пациент) в СФО, был обнаружен именно на территории Иркутской области. Появление геноварианта Delta спровоцировало экспоненциальный рост заболеваемости и увеличение показателя генетического разнообразия вируса ($N_e \times \tau$, где N_e – эффективный размер популяции, τ – время генерации). Выявлено, что для реализации эпидемического потенциала на анализируемых территориях варианту Delta потребовался приблизительно один месяц. Omicron был идентифицирован в конце декабря 2021 года, и с начала 2022 года его доля стремительно выросла до 81 % среди выявленных вариантов. К концу января сублиния BA.2 начала доминировать, достигнув 53 % к середине февраля. С июня 2022 года активно циркулировала сублиния BA.5. В начале 2023 года доминировали рекомбинантные варианты XBB, к октябрю 2023 года на наблюдаемых территориях фиксировались различные подварианты XBB и другие сублинии.

Вирус передается контактным (через слизистые оболочки глаз, носо- и ротоглотки) или воздушно-капельным путями [154]. Средний инкубационный период COVID-19 составляет примерно 5,1 дня, при этом у 97,5 % населения симптомы развиваются в течение 11,5 дней [114]. Общими симптомами,

связанными с инфекцией, являются сухой кашель, лихорадка, боль, слабость, стеснение в груди, потеря обоняния и вкуса, одышка [91, 182]. Люди с ослабленным иммунитетом и системными заболеваниями, такими как диабет, сердечно-сосудистые заболевания и гипертония, подвержены более высокому риску заражения COVID-19 [34, 65], как и пожилые [145]. При COVID-19 выявлена разница в уровне смертности между мужчинами и женщинами [176]. Возможная причина – ген, кодирующий ACE-2, расположен на X-хромосоме, а также определенные аллели, могут способствовать большей устойчивости к COVID-19 у женщин. Кроме того, эстроген и тестостерон играют различные роли в регуляции иммунитета, что также сказывается на уровне иммунной защиты и, в итоге, на тяжести заболевания [172].

В процессе дыхания вирус задерживается в дыхательных путях благодаря конвективным потокам воздуха на уровне 7–8-й генерации бронхов [4]. Дальнейший его путь к альвеолам осложняется действием ворсинчатого аппарата бронхов, который в нормальных условиях замедляет инородные частицы. Но и этот путь преодолевается в период воспалительного процесса, в развитии которого центральную роль играют рецепторы ACE-2. Они экспрессируются различными клетками организма, включая реснитчатый эпителий дыхательных путей, альвеолярные клетки 2 типа [206], эпителиальные клетки тонкого кишечника, слизистую оболочку полости рта, эндотелиальные клетки сосудов и гладкомышечные клетки артерий всех органов [84, 192]. Такое широкое распространение этих рецепторов является одной из ключевых причин полиорганной недостаточности, наблюдаемой в случае SARS-CoV-2 [201].

Во внедрении вируса в клетку ключевую роль играют трансмембранные сериновые протеазы TMPRSS-2 и TMPRSS-4 с трипсиноподобной эндопептидазной активностью, а также фуриноподобные ферменты и эндосомальные катепсины В и L [163]. Протеаза распознает на границе S1-S2 гликопротеида коронавируса фуриноподобный сайт расщепления, состоящий из трех молекул аргинина и одной аланина (RRAR), праймирует и активирует белок

S, разделяя его на две субъединицы. Субъединица S1 содержит домен связывания рецептора, а S2 участвует в образовании эндосомы [103, 171].

Созревание эндосомы в клетке зависит от активности фосфатидилинозитол-3-фосфат-5-киназы и двухпоровых ионных каналов (TPC2). Подавление их активности предотвращает эндоцитоз SARS-CoV-2 [143]. В лизосомах катепсины В и L, являясь цистеиновыми протеазами, способствуют расщеплению S-белка в S2'-сайте, таким образом обеспечивая слияние вирусной оболочки и лизосомальной мембраны, после чего вирусный нуклеокапсид высвобождается в цитозоль хозяина [88, 163, 202].

Любое нарушение в структуре S-белка может модулировать один или несколько этапов вирусной инвазии, и в итоге обеспечить вирусу некоторое селективное преимущество [85]. Специфические мутации могут изменить сродство S1 RBD к ACE-2, увеличивая связывание вируса с клетками-хозяевами; количество и экспозицию гликозилированных сайтов, облегчающих взаимодействие вируса и плазматической мембраны клетки-хозяина; соотношение конформаций S1 RBD «лёжа» и «стоя», влияющее на общее сродство вируса к ACE-2; сродство сайтов расщепления к протеазам, улучшающее процесс слияния мембран; узнавание нейтрализующих антител; уклонение от иммунитета [87].

Различные протеазы, присутствующие на поверхности клеток по всему организму, также способны расщеплять спайковый белок и облегчать проникновение вируса. Степень доступности этих протеаз определяет, каким образом вирус будет входить в клетку – через эндоцитоз или непосредственное слияние вирусной оболочки с мембраной клетки [144].

После внедрения вируса в клетку начинается процесс репликации: вирусная РНК транслируется в два больших полипротеина – pp1a и pp1ab, кодирующих неструктурные белки NSP, которые формируют репликационно-трансляционный комплекс. Он считывает с плюс-цепи РНК SARS-CoV-2 бессмысловые РНК в двухмембранных везикулах, реорганизованных из мембран эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и комплекса Гольджи и позволяющих маскировать область

вирусной репликации и транскрипции. Именно на данном этапе работает один из механизмов «уклонения» вируса от иммунитета клетки-хозяина. После синтеза вирусных белков N-белок комбинируется с вирусной РНК, образуя нуклеокапсид, и все компоненты объединяются в вирусную частицу. В процессе экзоцитоза вирион-содержащие везикулы высвобождают вирионы во внеклеточное пространство [116].

SARS-CoV-2, в отличие от других патогенных коронавирусов, вызывающих сезонные ОРВИ, изначально реплицируется в верхних дыхательных путях без выраженных симптомов с ограниченным иммунным ответом. Спустя несколько дней после латентного периода в клетках происходят изменения метаболизма, что нарушает их нормальное функционирование, возникает недостаток синтеза необходимых веществ для альвеол, и в результате клетки разрушаются и погибают [4]. Примерно у 80 % пациентов, перенесших COVID-19, заболевание протекало в легкой форме, которое в основном ограничивалось верхними и проводящими дыхательными путями, и проходило спонтанно в течение 6-10 дней [144]. Однако примерно у 20 % заболевших инфекция распространяется в нижележащие отделы дыхательных путей [90]. Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), проявляющийся затрудненным дыханием и низким уровнем кислорода в крови, приводит к дыхательной недостаточности, которая является причиной смерти в 70 % случаев летальных исходов COVID-19 [205].

Врожденный иммунный ответ является первой линией защиты организма от SARS-CoV-2: он препятствует проникновению вирусов в клетки и их размножению, а также распознает и уничтожает поражённые клетки, способствуя тем самым поддержанию приобретённого иммунитета. Инфицирование SARS-CoV-2 приводит к апоптической гибели клеток, экспрессирующих рецепторы ACE-2, что ведёт к высвобождению этими клетками молекул, ассоциированных с повреждением (DamP), таких как ПТФ, нуклеиновые кислоты и олигомеры ASC. DamP распознаются соседними эпителиальными клетками, альвеолярными макрофагами и эндотелиальными клетками, которые стимулируют секрецию различных провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL-6, IL-10, MIP1- α ,

MIP1-1 β , MCP-1). Высвобождение этих молекул привлекает моноциты, макрофаги и нейтрофилы в легкие, которые дополнительно секретируют провоспалительные цитокины (TNF α , IL-1 β , IFN- γ , IL-2, IL-7, IL-12, IL-18, IL-3, IL-6, CCL2, CXCL9, CXCL10 и др.) [28, 42, 43].

Привлечённые клетки врожденного иммунитета распознают молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами (PAMP) с помощью рецепторов распознавания паттернов (PRR), которые включают в себя толл-подобные рецепторы (TLR), NOD-подобный рецептор, RIG-1-подобный рецептор (RLR), лектин-подобные рецепторы С-типа (CLR) и рецепторы свободных молекул в цитоплазме, такие как cGAS, IFI16, STING, DAI и т. д. [71, 118]. PRR распознают вирусную нуклеиновую кислоту, собирают специфический сигнальный адаптерный белок, активируют IRF3, IRF7 и NF- κ B, и способствуют синтезу IFN I типа, таких как IFN- α и IFN- β , которые обеспечивают первую линию защиты, предотвращая распространение вирусной инфекции [125, 137]. TLR запускают продукцию воспалительных цитокинов с помощью MyD88 и TRIF: MyD88 активирует NF- κ B, MAPK и IRF, что приводит к транскрипции провоспалительных цитокинов, а TRIF способствует продукции интерферонов [128]. Е-белок SARS-CoV-2 активирует воспалительную реакцию через TLR2 [148]. TLR3 играет защитную роль при инфекции [116], а S-белок может связываться с TLR1, TLR4 и TLR6 [53]. Одноцепочечные РНК вируса детектируются молекулами RLR (MDA5, RIG-I и LGP2) [195]. Активированные MDA5 и RIG-I формируют сигналосому с MAVS, что ведет к активации IFN I и III [35]. Интерфероны опосредованно индуцируют экспрессию противовирусных генов, предотвращающих вирусную репликацию [130]. NLRP3 также участвует в ответе на инфекцию, вызывая выработку IL-1 β и IL-18, которые коррелируют с тяжестью заболевания [54].

В то время как нейтрофилы за счет стимуляции продукции IL-1 β , IL-6, TNF- α и активных форм кислорода привлекают в очаг воспаления моноциты [40, 173], натуральные киллеры лизируют клетки-мишени, инфицированные вирусами и другими внутриклеточными агентами. Доказано, что при гриппе наблюдается

инфильтрация респираторных тканей НК-клетками, которые рекрутируются в очаг воспаления преимущественно путем трансэндотелиальной миграции из циркулирующей крови [109, 184]. Известно, что противовирусным потенциалом также обладают эозинофилы, которые выполняют множество функций при воспалительном процессе [64, 97, 120, 151]. Ряд авторов указывает, что у пациентов с COVID-19 независимо от степени тяжести наблюдается эозинопения, задержка восстановления которой ассоциируется с повышением риска летального исхода [76, 119, 127]. Однако характер изменения эозинофилов имеет скорее прогностическое значение, чем указывает на реальное участие этих клеток в патологии COVID-19.

Приобретённый иммунный ответ к SARS-CoV-2 реализуется примерно через неделю после попадания вируса в организм, либо через вакцинацию. Клетки врожденного иммунитета распознают антиген, а антигенпрезентирующие клетки (АПК) процессируют его на своей поверхности, после чего антиген перемещается в лимфоузлы, где осуществляется активация и созревание В- и Т-клеток в эффекторные клетки.

CD4+ Т-клетки активируются через взаимодействие с главным комплексом гистосовместимости (МНС) II класса, а CD8+ Т-клетки – через взаимодействие с МНС I класса, после чего взаимодействуют с CD4+ и превращаются либо в короткоживущие цитотоксические клетки, либо в долгоживущие клетки памяти [174]. CD8+ Т-клетки важны для прямой атаки и уничтожения инфицированных вирусом клеток, тогда как CD4+ имеют решающее значение для активации как клеточного, так и гуморального иммунного ответа. Они также ответственны за выработку цитокинов и привлечение иммунных клеток. Исследования показывают развитие цитотоксических популяций CD4+ и CD8+ Т-клеток в постинфекционный период, при этом усиливается ответ CD4+ [96, 161]. Обследование умерших от COVID-19 пациентов показало, что моноциты и Т-клетки привлекаются в легкие для борьбы с инфекцией, в то время как уровень периферических Т-клеток снижен [193]. Сопровождающая этот феномен лимфопения свидетельствует о тяжелом течении заболевания [81, 208]. При этом

наблюдается интенсивная пролиферация CD8+ Т-клеток, но происходит потеря остальных 80 % периферических Т-клеток [112]. Причиной этого может быть нарушенная пролиферация, апоптоз или экстравазация клеток в ткани [141]. Восстановление уровня лимфоцитов связано с выздоровлением, однако этот процесс может занять несколько недель [67].

Как отмечено рядом авторов, у пациентов с тяжелой формой COVID-19 наблюдается значительное повышение NLR более 17,75 у.е. [152, 207]. NLR ассоциирован с риском развития сердечно-сосудистых осложнений (стенокардия, инфаркт миокарда, острая сердечная недостаточность, инсульт, аритмия), вызываемых гиперсекрецией провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α). В связи с тем, что данные осложнения часто проявляются у пациентов с SARS, MERS и COVID-19 с соответствующим преморбидным фоном [126, 194, 203, 204], NLR рассматривают в качестве маркера неблагоприятного клинического исхода (предиктор смертности) и прогрессирования пневмонии [129, 194, 203, 204]. Показателем системного воспалительного ответа, который широко используется как маркер течения заболевания у пациентов с вирусной пневмонией, также является LMR. Изменения данного показателя не так однозначны, как NLR. В исследованиях отмечается как снижение [69], так и повышение LMR [194] у лиц с тяжелой формой COVID-19. Также, усиленная активация Т-клеток, сопровождающаяся увеличением экспрессии HLA-DR, была показана при остром COVID-19 [166, 170].

При бессимптомном COVID-19 наблюдается сильный вирус-специфичный Т-клеточный ответ с увеличением IFN- γ и IL-2, а также сбалансированной секрецией IL-10, IL-6, TNF- α , IL-1 β . В отличие от этого, у пациентов с манифестным течением болезни отмечается несбалансированное выделение провоспалительных цитокинов [77, 158]. Доказано, что SARS-CoV-2 уклоняется от врожденного иммунного ответа, подавляя выработку IFN- γ и его сигнальные пути [20], вызывая накопление воспалительных цитокинов, моноцитов и макрофагов наряду с ингибированием опосредованного Т-клетками иммунного ответа против вируса.

Т-клеточный ответ на структурные белки вируса активно исследуется [79, 162]. Изучаются клетки памяти, специфичные к SARS-CoV-2 [96, 99]. Предполагается, что срок иммунной защиты зависит от тяжести первоначальной инфекции [181].

В-клеточный иммунный ответ у пациентов с COVID-19 возникает после активации Т-хелперами наивных В-клеток в В-клеточных фолликулах периферической лимфатической ткани примерно через 1 неделю после появления симптомов [177]. Активированные В-клетки мигрируют в герминативные центры периферической лимфатической ткани, претерпевают дифференцировку и превращаются в эффекторные плазматические клетки, секретирующие антитела, и клетки памяти [167].

Гуморальный иммунитет к COVID-19 активно исследовался в момент пандемии, изучалась динамика после перенесенного заболевания и вакцинации. Было обнаружено, что антитела против SARS-CoV-2 продуцируются от 5 до 11 дней после заражения [42, 95]. Основные нейтрализующие антитела чаще всего направлены против RBD ввиду того, что блокирование его препятствует взаимодействию вирусного S-белка с рецептором ACE-2 [60]. Нейтрализующие вирус IgG и IgM циркулируют в сыворотке крови [89, 179], а IgA в слюне [94]. RBD-специфические моноклональные антитела обладают высокой нейтрализующей активностью, специфичны только к SARS-CoV-2 и не реагируют перекрестно с RBD SARS-CoV и MERS-CoV [98]. Выявлено, что специфичные IgG могут обеспечивать защиту от SARS-CoV-2 даже в отсутствие клеточного иммунного ответа [86, 131]. Также было обнаружено, что более высокие титры IgG коррелируют с более тяжелыми случаями заболевания COVID-19 [7, 15, 102, 195].

Исследования динамики секреции антител показало, что титры IgM и IgA начинают снижаться через 3-4 недели после появления симптомов, в то время как IgG продолжали вырабатываться [83] и обнаруживались минимум 5-6 месяцев после выздоровления [94, 185]. Первичное заражение SARS-CoV-2 может обеспечивать защиту от повторных инфекций [33, 39, 82], но с появлением

повторных случаев заражения вирусом обнаружено, что через некоторое время иммунитет против COVID-19 может ослабнуть [79]. В некоторых случаях достаточный гуморальный ответ не развивается [82, 185].

Возраст оказывает влияние на иммунитет: гипервоспалительный иммунный ответ является одной из причин более тяжелого течения COVID-19 и высокой смертности среди пожилых [49], с возрастом изменяется скорость пролиферации и дифференцировки иммунных клеток [139]. Обнаружено, что в отличие от пожилых, дети переносят заболевание в лёгкой форме, вплоть до бессимптомного течения [121]. Предполагается, что это может быть связано с тем, что у детей снижена экспрессия ACE-2 на клетках, а также снижены уровни провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6, и наблюдаются более высокие уровни иммуномодулирующих цитокинов, таких как IL-10 и IL-13 [42, 66].

Молекулы главного комплекса гистосовместимости человека (HLA) принимают участие во множестве иммунных реакций [31], обеспечивают презентацию внутриклеточных (I класс) и внеклеточных (II класс) антигенов [132]. Гены HLA характеризуются значительным полиморфизмом [52], обусловленным наличием аллелей с различной пептидсвязывающей способностью [36]. В связи с этим локусы HLA могут рассматриваться как маркеры, определяющие генетическую предрасположенность к инфекционным болезням, в том числе влияющие на течение и тяжесть заболевания [31].

Актуальность изучения полиморфизма генов HLA-II в ассоциации с иммунологическим мониторингом COVID-19 обусловлена быстрым изменением эпидемиологической ситуации в мире, высокой скоростью эволюции вируса SARS-CoV-2 и возникновением его новых сублиний [18]. Значимую роль в развитии тяжёлых форм COVID-19 играет нарушение регуляции иммунного ответа [15]. Установлена ассоциация генов HLA с восприимчивостью к вирусу SARS-CoV-2, а также тяжестью инфекции COVID-19 в разных популяциях [59, 113, 165, 180].

1.2 Современное состояние вопроса о специфической профилактике COVID-19

В период пандемии заболеваемость COVID-19 в РФ характеризовалась волнообразным течением, с нарастающей интенсивностью эпидемического процесса [17]. Всего в стране зарегистрировано 6-7 волн, наиболее выраженной стала пятая волна. Первый подтвержденный случай инфекции в Иркутске был зарегистрирован 27 марта 2020 года у женщины, вернувшейся из Объединённых Арабских Эмиратов. После закрытия границ 30.03.2020 г., основным источником распространения вируса до начала мая стали приезжающие из неблагополучных регионов центральной части РФ [3]. Пик первой волны COVID-19 пришелся на конец июня 2020 г. и длился 11 недель (июль-август). Подъем заболеваемости осенью 2020 г., связанный с началом учебного года и окончанием летних отпусков, продолжался 8 недель до ноября 2020 г. Третья волна COVID-19 возникла после длительных выходных в начале мая 2021 г., длительность также составила 8 недель, но пик пришёлся на июль. Четвертая волна характеризовалась осенне-зимним подъемом с пиковыми значениями к середине февраля 2022 г. Спустя 14 недель начался пятый подъем заболеваемости, который характеризовался резким нарастанием еженедельного количества заболевших, превышая показатели 2020-2021 гг. в 3-6 раз. Впервые в России в летний период 2022 г. во время циркуляции варианта SARS-CoV-2 Omicron, обладающего меньшей вирулентностью, был выявлен четко выраженный межэпидемический период и, как показали последующие наблюдения, такой же межэпидемический период наблюдали летом 2023 г. Это, наряду с более высокой интенсивностью эпидемий COVID-19 зимой, чем в другие сезоны, может свидетельствовать о формировании сезонности SARS-CoV-2 [11].

За период пандемии COVID-19 на территории 10 исследованных субъектов СФО и ДФО (республики Алтай, Бурятия, Тыва и Хакасия, Алтайский, Забайкальский и Красноярский края, Иркутская, Кемеровская и Томская области) зарегистрировано 2088479 случаев инфицирования новой коронавирусной

инфекцией (1240,2 0/000), что составляет 14,5 % от общей численности населения и 9,3 % от всех случаев заболеваний COVID-19 в России.

По тяжести течения инфекционного процесса преобладали легкая (49,2 %) и среднетяжелая (39,6 %) формы. Диагноз ОРВИ, бронхита, трахеита и др. установлен в 81,2 % случаев, внебольничная пневмония – 8,8 % (183179) и подозрение на COVID-19 – 6,2 %.

По гендерному признаку выявлено достоверное преобладание случаев COVID-19 среди лиц женского пола (59,6 %) [106, 145, 176]. В различных возрастных группах населения заболеваемость новой коронавирусной инфекцией существенно отличается. Взрослые (84,4 %) инфицировались вирусом SARS-CoV-2 в 5,4 раза чаще, чем дети. Наибольшее количество заболевших зарегистрировано среди людей в возрасте от 30 до 64 лет (53,5 %). Меньшая доля заболевших среди молодых людей 18-29 лет (14,3 %) обусловлена введением ограничительных мероприятий и переходом на онлайн-обучение в учебный период 2020-2021 гг. На долю детского населения приходится 15,8 % случаев, при этом наиболее интенсивно в эпидемический процесс вовлекались школьники 7-14 лет (45,7 %), и дети 1-6 лет (27,4 %). Основным фактором риска инфицирования вирусом SARS-CoV-2 служили близкие контакты в семейных очагах (49,6 %). Значительная доля приходится на неустановленные причины заражения (30,1 %), что косвенно может подтверждать заражение вирусом SARS-CoV-2 от бессимптомных носителей. Индекс очаговости в 307 очагах с групповыми заболеваниями в различных учреждениях составил 35,5. Необходимо отметить превалирование числа случаев инфицирования при близких контактах в семейных очагах в Иркутской области (92,4 %) и Республике Бурятия (77,3 %). Наибольшая доля неустановленных причин инфицирования выявлена в Кемеровской и Томской областях (86,7 и 67,7 % соответственно). Установлено, что среди заболевших COVID-19 по социальному статусу превалируют доли неработающего населения (31,4 %), пенсионеров (21,6 %) и рабочих (20,5 %).

Доминирующей формой проявления COVID-19 являлась ОРВИ, на долю которой пришлось 79,8 % заболевших (1457096 чел.), ВБП отмечались у 9,7 %

(146520 чел.). По клиническим проявлениям у 10,4 % заболевших установлена бессимптомная форма (188984 случая). На момент окончания режима пандемии с нарастающим итогом зарегистрировано 41302 случая летальных исходов от COVID-19, что составило 2,0 % от общего количества заболевших в этих субъектах и 10,4 % от общего количества умерших в РФ. Наибольшее число летальных исходов среди взрослого населения зафиксировано у лиц старше 65 лет (72,7 %). Доля лиц, умерших в трудоспособном возрасте, составляет 5,1 % в группе 30-49 лет и 0,4 % – 18-29 лет. Всего умерло 10 детей, по двое детей в возрасте до одного года и в 7-14 лет, один ребенок в группе 1-6 лет и пять детей в возрасте 15-17 лет. Наибольшие показатели смертности зарегистрированы в четырех субъектах: Республике Хакасия, Красноярском и Алтайском краях, Иркутской области [24].

Быстрое распространение вируса, заражение значительной доли трудоспособного населения и необходимость формирования коллективного иммунитета стали основными причинами, побудившими общество разработать вакцину против SARS-CoV-2. Создание вакцин произошло в рекордно короткие сроки благодаря передовым технологиям, международному сотрудничеству и плодотворному научному взаимодействию. Эффективность вакцин в отношении новых штаммов изучается, штаммовый состав вакцин обновляется по мере мутации гена коронавируса.

По состоянию на март 2023 года 183 вакцины находились на стадии клинических испытаний, а 199 вакцин – на стадии доклинических исследований [175]. Зарегистрированы 22 инактивированные, 2 живые аттенуированные, 25 векторных нереплицирующихся и 4 реплицирующихся, 59 рекомбинантных белковых, 17 ДНК и 43 РНК-вакцин, 7 VLP (Virus Like Particle), 2 VVr+APC (ViralVector replicating + Antigen Presenting Cell) и по 1 VVnr+APC (ViralVector non-replicating + Antigen Presenting Cell) и BacAg-SpV (Bacterial antigen-spore expression vector). По кратности введения преобладают вакцины, вводимые двукратно (55 %), а по способу – внутримышечно (82 %).

В векторных вакцинах против SARS-CoV-2 используется вирусный вектор, представляющий собой условно безопасный аденовирус, модифицированный для переноса генетического материала вируса-мишени, в данном случае S-белка вируса SARS-CoV-2 [5]. Такие вакцины демонстрируют общую эффективность от 80,2 %. Наивысшая эффективность наблюдается после однократной вакцинации, с показателями 96,7 % через 3 недели и 96,6 % через 4 недели после прививки по отношению к плацебо.

Вакцины на основе м-РНК продемонстрировали общую эффективность 94,6 %, но только после введения второго компонента, и эффективность этой вакцины оказалась хуже против варианта Beta – уровень нейтрализующих антител был в 6 раз ниже, чем у пациентов, переболевших исходным вирусом Wuhan-Hu-1 [147]. Вакцины на основе VLP показали более низкие результаты: 23,8 % после первой дозы и 78,7 % после второй.

Ожидается, что любая вакцина вызывает временные побочные эффекты, связанные с активацией иммунного ответа и травмой тканей в месте инъекции. Обнаружено, что вакцины на основе м-РНК вызывают более вероятные боль и отек в месте инъекции, лихорадку, головную боль, усталость, острые аллергические реакции и другие симптомы [38, 44]. Вакцины на основе аденовируса по сравнению с другими показали более высокую частоту диареи и артралгии [200], а также редкое развитие анафилаксии [108].

Дефекты свёртывания крови и тромбообразования были зарегистрированы как редкие события для некоторых вакцин, что привело к временной приостановке их использования во многих странах. Возможно развитие вакциноиндуцированной иммунной тромботической тромбоцитопении (ВИТТ), которое проявляется повышенным тромбообразованием в сосудах мозга, брюшной полости, конечностей и других. Это состояние характеризуется легким образованием синяков, кровотечениями, сильными головными болями, болью в животе, болезненностью и онемением в конечностях, особенно через 4-28 дней после иммунизации. Вероятность развития ВИТТ низка, но случаи её были задокументированы для вакцин мРНК BNT162b2 (Pfizer-BioNTech), мРНК-1273

(Moderna) и вакцин аденовирусного вектора ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca) и Ad26 [55]. Так, для вакцины, произведённой Oxford-AstraZeneca, была выявлена тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и тромбоз глубоких вен [188], а после введения Ad26.COVS.2 у нескольких человек возник тромбоз с синдромом тромбоцитопении, приводящий к тромбозу церебрального венозного синуса (CVST).

Введение вакцин с адъювантами играет ключевую роль в создании субъединичных вакцин VLP и некоторых инактивированных вакцин [55]. Адъюванты помогают формировать специфические иммунные ответы, в том числе повышают уровень специфических нейтрализующих антител. Для SARS-CoV, SARS-CoV-2 и MERS-CoV были разработаны многочисленные адъюванты, такие как соли алюминия, эмульсии и агонисты TLR. Наименьшие системные побочные эффекты по сравнению с другими имели вакцины с алюминиевыми адъювантами, демонстрируя лучшую переносимость.

Чтобы обеспечить надежную защиту от COVID-19, необходимо проводить ревакцинацию, поскольку вирус SARS-CoV-2 мутирует, образуются и распространяются его новые штаммы, что делает первоначально созданные вакцины менее эффективными в отношении новых вариантов вируса [10, 56], а уровень нейтрализующих антител к SARS-CoV-2 со временем уменьшается [117]. Исследования показывают, что наилучшей защитой от коронавируса обладают те, кто и перенес болезнь, и получил вакцину. Бустерные дозы эффективны для людей всех возрастных групп, но особенно важны для лиц, относящихся к группам риска, таким как пожилые люди, пациенты с хроническими заболеваниями и медицинские работники [198]. Ревакцинация способствует увеличению уровня антител к SARS-CoV-2 и усиливает Т-клеточный иммунитет, а с каждой последующей ревакцинацией улучшается функциональное качество антител [5, 10].

Гетерологичный прайм-буст представляет собой метод вакцинации, при котором используются разные типы вакцин, содержащие различные векторы или системы доставки, экспрессирующие аналогичные или частично совпадающие

антигены. В отличие от этого, как гомологичный бустер применяется та же вакцина, что и при первой иммунизации. Вакцины против SARS-CoV-2, созданные на различных платформах, имеют отличия в эффективности, длительности защиты и возможности появления побочных реакций. Чтобы усилить эффект вакцинации, разрабатываются различные схемы иммунизации с препаратами, которые отличаются составом и технологиями производства, что может активировать как гуморальные, так и клеточные механизмы защиты от вирусов. Гомологичные бустерные вакцины повышали титры нейтрализующих антител в диапазоне от 4 до 20 раз, а гетерологичные – от 6 до 73 раз [14]. Предполагается, что наиболее эффективной является комбинация векторных и мРНК вакцин: векторные вакцины активируют Т-клеточное, а мРНК – В-клеточное звенья иммунитета, делая иммунный ответ более эффективным [140].

Дети, по сравнению со взрослыми, переносят COVID-19 в легкой форме, но при наличии отягощающих факторов и фоновых состояний у них возможно развитие мультисистемного воспалительного синдрома. Нереплицирующийся вирусный вектор и инактивированные вакцины были разрешены ВОЗ для вакцинации детей старше 12 лет [29]. Однако, несмотря на высокую безопасность и иммуногенность вакцин, разрешенных ВОЗ для назначения детям [155], эта возрастная группа составляет небольшую долю от общего числа привитого населения, так как у здоровых детей риск тяжелого течения заболевания и смерти самый низкий. В настоящее время приоритетной задачей является вакцинация тех, кто подвергается наибольшему риску.

Массовая специфическая вакцинация населения РФ стартовала в начале 2021 г. В стране разработаны и используются 5 вакцин для проведения первичной вакцинации и 9 вакцин для ревакцинации: комбинированные векторные – «ГамКОВИДВак», «ГамКОВИДВак» (капли назальные), «ГамКОВИДВакМ», «ГамКОВИДВакЛио» и «Спутник Лайт»; химически синтезированные пептидные – «ЭпиВакКорона» и «АВРОРАКоВ»; инактивированная вакцина «КовиВак» и рекомбинантная – «Конвасэл». Для проведения первичной вакцинации рекомендованы: «ГамКОВИДВак», «Спутник Лайт», «ЭпиВакКорона» и

«АВРОРАКоВ», «КовиВак» и «Конвасэл». Две вакцины имеют возрастные ограничения – введение «ЭпиВакКорона» и «АВРОРАКоВ» не рекомендуется людям старше 60 лет. Введение назальной вакцины «ГамКОВИДВак» (капли назальные) допускается только при ревакцинации. По состоянию на сентябрь 2023 года в России хотя бы одним компонентом вакцины привито 60,8 % населения, законченную вакцинацию получило 54,5 % населения, всего введено 168 581 031 доз вакцин [30]. В десяти субъектах СФО и ДФО законченную вакцинацию получили 51,4 % людей от общей численности населения. 05 мая 2023 г. по рекомендации чрезвычайного экспертного совета Всемирной организации здравоохранения режим международной чрезвычайной ситуации снят. Тем не менее, выявление особенностей механизмов иммунного ответа макроорганизма на вакцину против новой коронавирусной инфекции может иметь важное значение для персонализации схем вакцинации, а также будет способствовать пониманию напряженности врожденного и адаптивного иммунитета и позволит патогенетически обосновать ассоциацию показателей иммунного статуса у переболевших COVID-19, вакцинированных/ревакцинированных с полиморфизмом генов HLA II класса.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Критерии отбора волонтеров

2.1.1 Оценка гуморального популяционного иммунитета

Работа проводилась в рамках проекта Роспотребнадзора по оценке популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у населения РФ с учётом протокола, рекомендованного ВОЗ. Исследования выполнены по единой методике, разработанной Роспотребнадзором при участии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург).

Отбор добровольцев для исследования проводили методом анкетирования и рандомизации путем случайной выборки. Критерием исключения была активная инфекция COVID-19 в момент анкетирования. Объем выборки определяли по формуле:

$$n = \frac{t^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

где:

n – объем выборки;

t – уровень точности (для 95 % ДИ $t = 1,96$);

p – оценочная распространенность изучаемого явления (в данном случае при 50 % = 0,5);

m – допустимая ошибка – 5 % [18].

Расчет объема возрастной группы: $n = 1,96^2 \times 0,5(1-0,5) / 0,05^2 = 384$ человека.

Всего в исследовании по оценке серопревалентности к SARS-CoV-2 принимали участие 2674 добровольца, распределенных на 7 возрастных групп (Таблица 1). В связи с возрастными особенностями созревания иммунной

системы, группа «дети до 18 лет» была разделена на 3 подгруппы: до 7 лет, от 7 до 14 лет и от 14 до 18 лет. По численности все возрастные группы волонтеров были сопоставимы и составили 373-390 человек. По гендерному признаку группа включала 796 мужчин и 1804 женщины. Соотношение мужчин и женщин – 30,6 %:69,4 % соответственно, т.е. участие женщин в исследовании было в 2,3 раза активнее.

Каждые 3 месяца развития эпидемии было организовано определение серопревалентности к SARS-CoV-2 у волонтеров из исследуемой группы: с 23.06.2020 по 19.07.2020 (1-й этап; 2674 чел.), с 16.09.2020 по 25.09.2020 (2-й этап; 1911 чел.), с 07.12.2020 по 18.12.2020 (3-й этап; 1943 чел.), с 08.03.2021 по 14.03.2021 (4-й этап; 1730 чел.), и заключительные этапы исследования – через полгода – с 30.08.2021 по 04.09.2021 г (5-й этап; 1734 чел.) и с 13.12.2021 по 16.12.2021 г. (6-й этап; 250 детей) (Таблица 1). Доля волонтеров, принявших участие во 2 этапе от общего числа участников, составила 71,5 %, в 3 этапе – 73,7 %, в 4 – 64,7 %, в 5 – 64,8 %, а в 6 этапе – 64,6 % от волонтеров детской группы первого этапа.

Таблица 1 – Распределение волонтеров по возрасту

Возрастная группа, лет		Число обследованных, человек					
		I	II	III	IV	V	VI
< 18		387	264	251	212	226	250
В том числе:	< 7	102	49	50	39	44	38
	7 - 14	191	124	118	104	112	129
	> 14-18	94	91	83	69	70	83
>18-30		385	202	212	182	183	-
>30-40		373	267	280	251	243	-
>40-50		374	303	321	286	266	-
>50-60		386	291	319	288	254	-
>60-70		390	355	338	305	303	-
> 70		379	229	222	206	197	-
Итого:		2674	1911	1943	1730	1734	250

По территориям в населенных пунктах с репрезентативной выборкой (30 и более участников) наибольшее число волонтеров пришлось на г. Иркутск (1429 человек), наименьшее – на Шелеховский район (30 человек) (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение волонтеров по территориям

Населенный пункт	Число обследованных, чел.					
	I	II	III	IV	V	VI
Ангарский район, г. Ангарск	357	223	234	219	208	34
Братский район, г. Братск	191	185	164	144	139	23*
Бодайбинский район	17*	3*	-	-	4*	-
Боханский район	93	79	68	60	52	-
г. Иркутск	1429	1009	1052	861	915	86
Иркутский район	64	31	26*	32	25*	1*
Саянский район, г. Саянск	77	45	43	66	75	14*
Тайшетский район, г. Тайшет	80	60	57	50	31	5*
Тулунский район	8*	2*	2*	2*	1*	2*
Усольский район, г. Усолье-Сибирское	133	128	132	128	125	8*
Усть-Илимский район	106	61	71	67	68	-
Усть-Кутский район	75	50	60	59	48	46
п. Усть-Ордынский	1*	-	-	-	-	-
Черемховский район	13*	5*	4*	12*	12*	-
Шелеховский район	30	30	30	30	31	31
Итого:	2674	1911	1943	1730	1734	250

Примечание: * – оценить достоверность доли серопозитивных среди лиц не представляется возможным, поскольку количество обследованных лиц в районе составило менее 30

2.1.2 Оценка клеточного иммунитета

Для исследования клеточного иммунитета, уровня цитокинов и профиля генов HLA II в работе были использованы образцы крови лиц из числа

сотрудников ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (г. Иркутск, Иркутская область, РФ), отобранные в разные сроки после заболевания и/или вакцинации. Критериями включения в исследование были возраст 18 лет и старше, готовность и возможность дать информированное согласие на участие в исследовании, критерии исключения – отсутствие желания участвовать в исследовании, наличие симптомов иных острых респираторных заболеваний. Исключались лица с хроническими заболеваниями различной этиологии. В исследовании приняли участие 279 волонтеров, которые были распределены на 7 групп (Таблица 3).

В группу 1 вошли волонтеры, с подтвержденным положительным ПЦР-тестом мазка из носоглотки, перенесшие COVID-19 однократно в легкой или среднетяжелой форме (период забора биоматериала с ноября 2020 г. по февраль 2022 г.). Дни после перенесенного заболевания у ПВ определялись на основе разницы между датой взятия крови и датой появления первых симптомов (ППС), характерных для COVID-19. В группу 2 вошли добровольцы, прошедшие полный курс вакцинации после перенесенного COVID-19 (Таблица 3), группу 3 волонтеры, однократно переболевшие COVID-19 после вакцинации, 4 – однократно вакцинированные, а в группу 5 – люди, ревакцинированные против новой коронавирусной инфекции. Период забора биоматериала у волонтеров групп 2-5 с января 2021 г. по июнь 2022 г.

33 человека были классифицированы как КВ (контактные волонтеры), которые имели в анамнезе близкий контакт с больным COVID-19 (проживали с больным COVID-19 совместно в рамках семейного очага), но не заболели после него, а также не были вакцинированы против SARS-CoV-2. Для добровольцев группы КВ днем отсчета контакта считался день подтверждения диагноза COVID-19 в ПЦР-тесте у заболевшего члена семьи, проживающего совместно (после подтверждения контакта – ППК).

Таблица 3 –Характеристика групп исследования

№	Вид иммунитета	Вакцинация	Ревакцинация	Обозначение группы	Количество добровольцев		
1	Постинфекционный (однократно переболевшие COVID-19)	–	–	ПВ	74		
					В том числе	1 мес ППС	32
						3 мес ППС	28
						6 мес ППС	18
						9 мес ППС	14
прочие	10						
2	Смешанный (однократно переболевшие COVID-19 до вакцинации)	+	–	Cov/ВЦ	39		
3	Смешанный (однократно переболевшие COVID-19 после вакцинации)	+	–	ВЦ/Cov	28		
4	Вакцинальный (не болевшие, привитые однократно)	+	–	ВЦ	27		
5	Вакцинальный (не болевшие ревакцинированные)	+	+	РВЦ	31		
6	–	–	–	ЗВ	47		
7	Контактные	–	–	КВ	33		
					В том числе	1 мес ППК	14
						3 мес ППК	16
6 мес ППК	14						

Примечание: ПВ – переболевшие волонтеры, Cov/ВЦ – волонтеры со смешанным иммунитетом, однократно переболевшие COVID-19 до вакцинации, ВЦ/Cov – волонтеры со смешанным иммунитетом, однократно переболевшие COVID-19 после вакцинации, ВЦ – вакцинированные волонтеры, РВЦ – ревакцинированные волонтеры, ЗВ – здоровые волонтеры, КВ – контактные волонтеры

В качестве контрольной группы были включены 47 добровольцев (здоровые волонтеры, ЗВ), здоровых на момент забора биологического материала, не контактировавших с больными COVID-19 и невакцинированных. Биологический материал от ЗВ был получен во время пандемии в период с ноября 2020 г. по март 2021 г.

Доля женщин (85 чел.) в исследовании составила 59 %, а мужчин – 41 % (59 чел.). По возрастному признаку волонтеры были представлены от 23 до 75 лет.

Наиболее частыми симптомами заболевания COVID-19 у ПВ были слабость, головная боль и боль в горле. У КВ и ЗВ на момент отбора крови отсутствовали какие-либо симптомы.

Забор образцов крови у добровольцев проводили после личного выздоровления (для ПВ) или выздоровления члена семьи (для КВ), которое подтверждалось двукратным отрицательным результатом респираторного мазка на вирус SARS-CoV-2 в тесте ПЦР. Образцы цельной крови забирали в 4 временных точках для ПВ (через 1 месяц ППС – 1-ый срок, 3 месяца ППС – 2-ой срок, 6 месяцев ППС – 3-ий срок и 9 месяцев ППС – 4-ый срок) и трех временных точках для КВ (через 1 месяц ППК – 1-ый срок, 3 месяца ППК – 2-ой срок, 6 месяцев ППК – 3-ий срок).

2.2 Этическая экспертиза

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все участники прошли предварительное анкетирование и подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании (приложение). Протоколы утверждены локальным этическим комитетом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (протокол № 3 от 01.06.2020, протокол № 7 от 15.11.2021 г. и протокол № 3 от 04.12.2024 г.). Юридические представители всех волонтеров ознакомились с целью и методикой исследования и подписали информированное согласие на участие в нём.

2.3 Забор и получение сыворотки крови

Взятие венозной крови осуществляли из локтевой вены в соответствии со стандартом ГОСТ Р 53079.4-2008 в три вакуумные пробирки (VacutestKima,

Италия) объемом 5 мл (с активатором свертывания и гелем) и 2 мл (с КЗ ЭДТА 3,6 мг) в определенном порядке: сначала в пробирку, предназначенную для получения сыворотки, а затем в пробирки с антикоагулянтом. При транспортировке и хранении образцы находились в контейнерах в вертикальном положении при температуре 18-23 °С.

Распаковку материала, доставленного в лабораторию, проводили в боксе биологической безопасности II класса. Контейнер, в котором доставляли пробы, обрабатывали 6 % раствором перекиси водорода с 0,5 % моющего средства. После распаковки материала, доставленного в лабораторию, выполняли оценку пригодности образцов крови для дальнейшего цитофлуориметрического исследования. Если пробирка холодная или горячая на ощупь, но кровь в ней не заморожена и не имеет явных признаков гемолиза, исследование образца допускается.

Непосредственно перед исследованием кровь тщательно перемешивали в течение нескольких минут для равномерного распределения форменных элементов в плазме. Для отделения сыворотки от клеточных элементов крови, взятой у пациента, вакуумную пробирку оставляли при комнатной температуре на 30 мин. Центрифугирование проводили не позднее 2 часов после взятия крови при 3000 об/мин в течение 10 мин. Использовали центрифугу с бакет-ротором. Полученную сыворотку переносили в промаркированные микроцентрифужные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл, плотно закрывали, замораживали, упаковывали и транспортировали в сумке-холодильнике. Пробы сывороток крови волонтеров хранили до исследования при температуре 4 °С.

2.4 Определение иммуноглобулинов классов M, G к вирусу SARS-CoV-2

Содержание антител к SARS-CoV-2 в пробах крови волонтеров определяли методом ИФА. Для качественного определения IgM использовали наборы

реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgM-Бест» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). IgG к белкам нуклеокапсида коронавируса выявляли с использованием наборов реагентов для качественного анализа сыворотки или плазмы крови человека производства ФБУН ГНЦ ПМиБ Роспотребнадзора (г. Оболенск) и «SARS-CoV-2-IgG-Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»), а также количественного определения антител к N-белку «N-CoV-2-IgG PS» (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург). С помощью набора реагентов для иммуноферментного выявления «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) качественно определяли наличие иммуноглобулинов класса G к S-белку коронавируса.

2.4.1 Оценка показателей содержания специфических иммуноглобулинов класса М к вирусу SARS-CoV-2

Определение специфических иммуноглобулинов класса М к вирусу SARS-CoV-2 проводили в соответствии с инструкцией к тест-системе «SARS-CoV-2-IgM-Бест» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Полученную сыворотку крови предварительно подготавливали для исследования – разводили в 10 раз с добавлением раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) в планшете для разведения. В лунки планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к IgM человека вносили по 90 мкл раствора для разведения сывороток (PPC) и 10 мкл исследуемых образцов, получая рабочее разведение 1:100, в две лунки – по 100 мкл K⁻ SARS-CoV-2-IgM и в одну лунку – 100 мкл K⁺ SARS-CoV-2-IgM. Стрипы помещали в термошейкер и инкубировали в течение 30 мин при температуре 37 °С с интенсивностью перемешивания 700 об/мин. По окончании инкубации проводили пятикратную промывку лунок планшета рабочим раствором для разведения и отмывки, затем вносили по 100 мкл конъюгата и инкубировали повторно в термошейкере. Затем после повторной промывки стрипов вносили по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (ТМБ) и

через 25 мин останавливали реакцию путем внесения во все лунки по 50 мкл стоп-реагента. Учёт оптической плотности при длине волны 450 нм осуществляли на автоматическом ридере StatFax 4200 («Awareness Technology Inc.», США).

По значениям средней оптической плотности ($ОП_{cp}$) в лунках с K^- рассчитывали критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) по формуле $ОП_{крит} = ОП_{cp}K^- + 0,2$. Для каждого исследуемого образца вычисляли значение коэффициента позитивности (КП) по формуле $КП = ОП_{обр} / ОП_{крит}$. Результаты считали положительными при превышении $КП \geq 1$.

Контроль качества реакции проводили в соответствии с инструкцией производителя, при несоблюдении условий тест проводился повторно.

2.4.2 Оценка показателей содержания специфических иммуноглобулинов класса G к вирусу SARS-CoV-2

Содержание специфических иммуноглобулинов класса G к S-белку и N-белку SARS-CoV-2 проводили с помощью «SARS-CoV-2-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) и «SARS-CoV-2-IgG-Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») соответственно. Выполнение анализа осуществлялось согласно инструкциям производителей и не отличалось от оценки показателей содержания специфических иммуноглобулинов класса M к вирусу SARS-CoV-2 с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2-IgM-Бест».

При использовании «ИФА антиSARS-CoV-2 IgG» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) для выявления IgG к N-белку коронавируса сыворотку разводили в диагностическом титре 1:200 и вносили в лунки планшета с сорбированным в нём рекомбинантным антигеном нуклеокапсида SARS-CoV-2 по 100 мкл. В три лунки стрипа вносили по 100 мкл K^- SARS-CoV-2-IgG и в одну лунку – 100 мкл K^+ SARS-CoV-2-IgG, помещали в термошейкер и инкубировали в течение 60 мин при температуре 37 °C и скорости вращения платформы 350 об/мин. После пятикратной промывки стрипов рабочим раствором для разведения и отмывки, в каждую лунку вносили по 100 мкл конъюгата anti-IgG и инкубировали в

термошейкере в течение 50 мин при температуре 37 °С и 350 об/мин. Затем после шестикратной промывки стрипов вносили по 100 мкл ТМБ и через 15 мин останавливали реакцию путем внесения во все лунки по 50 мкл стоп-реагента. Учёт оптической плотности при длине волны 450 нм осуществляли на автоматическом ридере StatFax 4200 («Awareness Technology Inc.», США).

Результаты учитывали качественным методом и считали положительными при превышении индекса позитивности (ИП) ≥ 1 , расчёт которого осуществлялся по формуле: $ИП = (ОП \text{ образца} / ОП \text{ критическое (cutoff)})$, где ОП образца – измеренная оптическая плотность, а ОП критическое (cutoff) рассчитывается в соответствии с инструкцией к тест-системе.

Дополнительно учитывали количественное содержание иммуноглобулинов класса G к N-белку SARS-CoV-2 с помощью «N-CoV-2-IgG PS» (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург). Для анализа использовали сыворотку крови обследуемых в разведении 1:20. В лунки планшета вносили по 100 мкл K^+ и 8 калибровочных проб: K_1 - K_7 и нулевую K_0 . В остальные лунки – по 80 мкл РИП с добавлением 20 мкл исследуемой разведенной сыворотки, получая рабочее разведение 1:100. Планшет помещали в термошейкер и инкубировали в течение 60 мин при температуре 37 °С, после чего трёхкратно промывали. Далее вносили по 100 мкл рабочего раствора конъюгата и повторно инкубировали и промывали. Для проведения ферментативной реакции добавляли по 100 мкл хромоген-субстратного раствора (ХСР) и инкубировали в темноте 10 мин, после чего останавливали реакцию с помощью 50 мкл стоп-реагента. Результаты учитывали при длине волны 450 нм на автоматическом ридере StatFax 4200 («Awareness Technology Inc.», США) с помощью построения калибровочного графика и считали положительными при превышении количественного содержания IgG ≥ 100 мкг/мл.

2.5 Иммунофенотипирование лимфоцитов на проточном цитофлуориметре

Иммунофенотипирование проводили по стандартной методике. 50 мкл образцов цельной периферической крови окрашивали моноклональными антителами. Для постановки реакции предварительно готовили коктейль моноклональных антител (МКАТ) в соответствии с инструкцией производителя. Образцы инкубировали при комнатной температуре в темноте в течение 15 мин, затем лизировали эритроциты с помощью BD FACS™ Lysing solution (Becton Dickinson, США) согласно инструкции. Анализ окрашенных образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto™ II в программе BD Diva 6.0. Работу прибора контролировали ежедневно с помощью калибровочных частиц BD Cytometer Setup and Tracking Beads (Becton Dickinson, США) в соответствии с инструкцией производителя. В каждой пробе анализировали 30000 CD45⁺-клеток.

Для оценки популяций лейкоцитов крови использовали следующие антитела (BDBiosciences, США) – anti-CD45 (AlexaFluor-700, Clone HI30), anti-CD193 (PerCP-Cy 5.5, Clone 5E8), anti-CD3 (Per-Cy7, Clone SK7), anti-CD16 (PE, Clone B73.1), anti-CD4 (PerCP, Clone SK3), anti-CD8 (APC-Cy7, Clone SK1), anti-CD45Ro (APC, Clone UCHL1), anti-CD45Ra (FITC, Clone L48), anti-CD19 (FITC, Clone 4G7), anti-CD5 (PE, Clone L17F12), anti-CD27 (APC, Clone L128), anti-IgD (PE-CF594, Clone IA6-2), anti-CD38 (PE-Cy5, Clone HIT2), anti-CD10 (APC-H7, Clone HI10a), anti-HLA-DR (PE, Clone L243), anti-HLA-DR (PerCP, Clone L243), anti-CD25 (Clone M-A251).

Для изучения состояния врожденного иммунитета оценивали относительное количество лимфоцитов ($SSC^{\text{low}}CD45^{\text{high}}$), моноцитов ($SSC^{\text{dim}}CD45^{\text{dim}}$), нейтрофилов ($SSC^{\text{high}}CD45^{\text{low}}CD193^{-}$) и эозинофилов ($SSC^{\text{high}}CD45^{\text{low}}CD193^{+}$), NK-клеток ($CD3^{-}CD16^{+}$). Функциональную активность NK-клеток оценивали по уровню экспрессии HLA-DR. Рассчитывали интегральные гематологические

индексы: NLR – индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам крови, NMR – индекс соотношения нейтрофилов к моноцитам крови, LER – индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов, LMR – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов, NER – индекс соотношения нейтрофилов к эозинофилам крови.

Состояние адаптивного иммунитета оценивали по содержанию Т-лимфоцитов (CD3⁺, TL) и В-лимфоцитов (CD3⁻CD19⁺, BL), а также их субпопуляций. Среди В-лимфоцитов выделяли В1-клетки (CD19⁺CD5⁺CD27⁻, B1), В2-клетки (CD19⁺CD5⁻CD27⁻, B2) и В-клетки памяти (CD19⁺CD5⁻CD27⁺, Bm), Т-лимфоцитов – Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻, Th), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD4⁻CD8⁺, Tc), дабл-позитивные Т-лимфоциты (CD3⁺CD4⁺CD8⁺, DP), дабл-негативные Т-лимфоциты (CD3⁺CD4⁻CD8⁻, DN). Для идентификации наивных и активированных Т-клеток использовали маркеры CD45Ra и CD45Ro, а для оценки функционального состояния Т-клеток использовали HLA-DR и CD25. Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) по формуле CD3⁺CD4⁺: CD3⁺CD8⁺ (у.е.), индекс соотношения Т- и В-лимфоцитов (TL/BL) – CD3⁺ : CD3⁻CD19⁺ (у.е.) и соотношение CD45Ra⁺ : CD45Ro⁺ (у.е.) для общей популяции Т-лимфоцитов, Th- и Tc-клеток. Стратегии гейтирования прилагаются к каждому этапу исследования (Рисунок 3).

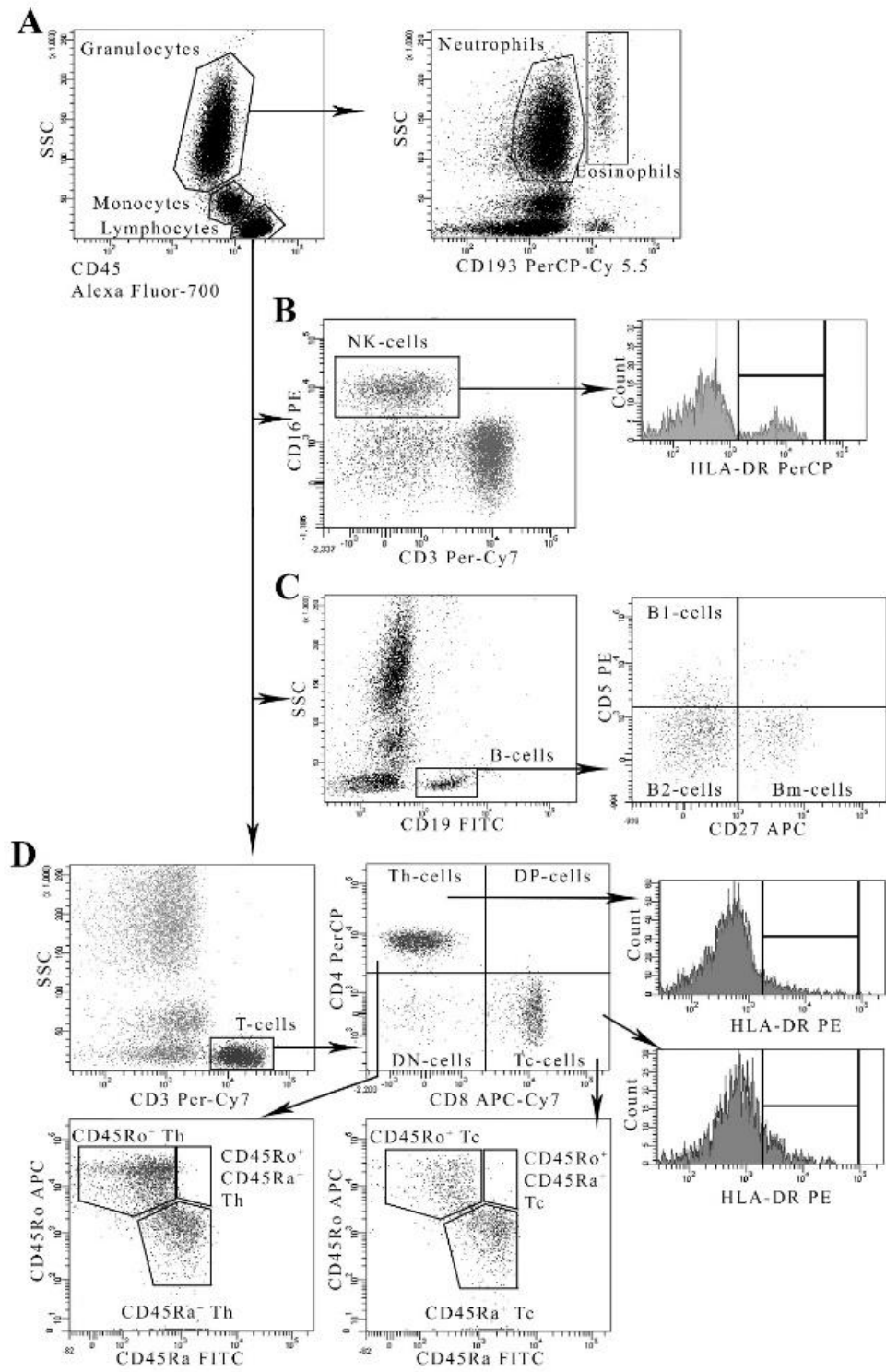


Рисунок 3 – Стратегия гейтирования циркулирующих клеток крови

2.6 Оценка продукции биомаркерных цитокинов в сыворотке крови

Концентрации молекул цитокинов IL-10, IL-4, IFN γ и TNF α определяли методом количественного ИФА с использованием тест-систем «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ», «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» в сыворотке крови (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Во все лунки планшета вносили по 100 мкл раствора для разведения образца (РРО), к ним добавляли по 100 мкл калибровочных образцов и К⁻, а также исследуемый материал (сыворотку крови). Инкубировали планшеты в течение 120 минут при встряхивании 700 об/мин при температуре 37 °С для тест-систем «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» и 18-25 °С для «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ». Далее промывали 5 раз с помощью ФСБ-Т, по окончании промывки во все лунки вносили по 100 мкл конъюгата №1 (биотинилированные поликлональные антитела к требуемому цитокину), повторно инкубировали 60 мин. После очередной промывки добавляли по 100 мкл конъюгата № 2 (стрептавидин-пероксидазу хрена) и инкубировали 30 мин при тех же условиях. Далее промывали и добавляли 100 мкл раствора ТМБ, выдерживали в темноте 25 мин, после чего вносили по 100 мкл стоп-реагента. Учет результатов с помощью калибровочного графика производили на автоматическом ридере StatFax 4200 («Awareness Technology Inc.», США) при длине волны 450 нм.

Оценку иммунологической эффективности вакцинации осуществляли с помощью расчета индекса соотношения (ИС) продуктов Th-1 (IFN- γ или TNF- α), к цитокинам Th-2 (IL-4) по формуле:

$$ИС = \frac{\text{концентрация IFN}\gamma \text{ или TNF}\alpha}{\text{концентрация IL-4}} (\text{y.e.}).$$

2.7 Типирование генов гистосовместимости человека (HLA) II класса методом амплификации ДНК

2.7.1 Выделение ДНК

Для выделения ДНК использовали сертифицированный комплект реагентов «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Для исследования использовали цельную периферическую кровь человека (антикоагулянт – ЭДТА). В соответствии с количеством анализируемых проб и одного контрольного образца «К–» готовили смесь лизирующего раствора с сорбентом. В пластиковые пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с защелкой вносили по 170 мкл полученной смеси, добавляли 100 мкл исследуемой периферической крови, перемешанной переворачиванием пробирки. В промаркированную «К–» пробирку вносили 100 мкл стерильного физиологического раствора. Закрывали крышки пробирок, встряхивали на мульти-вортексе BioSan V-32 (Латвия) в течение 3-5 сек. Затем их центрифугировали на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) при 16 тыс. об/мин в течение 1 мин и удаляли надосадочную жидкость. К осадку добавили 400 мкл промывочного раствора № 1, встряхивали, центрифугировали и удаляли вновь получившуюся надосадочную жидкость. Далее добавляли 200 мкл промывочного раствора № 2 и повторяли действия, после чего вносили в каждую пробирку 200 мкл промывочного раствора № 3, встряхивали, центрифугировали и полностью убирали надосадочную жидкость. Далее получившийся осадок высушивали при 50 °С в течение 5 мин в пробирках с открытыми крышками. По истечению времени в пробирки вносили по 300 мкл элюирующего раствора, встряхивали и термостатировали при 50 °С в течение 5 мин. После этого пробирки центрифугировали, а надосадочную жидкость, содержащую

выделенную ДНК, отбирали в новые пробирки и использовали для проведения ПЦР-амплификации.

2.7.2 Типирование гена DQA1 методом амплификации ДНК в режиме реального времени

Для определения аллелей гена *HLA-DQA1* использовали сертифицированный комплект реагентов «Комплект реагентов для типирования гена DQA1» (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Для каждого анализируемого образца, отрицательного контрольного образца («К–»), положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и положительного контрольного образца «К+ DQ HEX» маркировали по 4 пробирки для амплификации объёмом 0,2 мл. Предварительно подготовленные встряхиванием и центрифугированием смеси для амплификации вносили по 20 мкл в соответствующие пробирки. ПЦР-буфер и полимеразу ТехноТaq МАХ также подготавливали к анализу, готовили их смесь в отдельной пробирке по инструкции в соответствии с количеством анализируемых проб. Пробирку встряхивали и центрифугировали как описано выше и полученный раствор добавляли в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл. Затем в каждую пробирку вносили по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла, закрывали крышки пробирок для предотвращения контаминации. Затем вносили по 5,0 мкл образцов выделенной ДНК, отрицательного контрольного образца, положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX» в соответствующие пробирки. Центрифугировали пробирки на мульти-вортексе в течение 1-3 сек.

Детекцию проводили методом ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени с помощью амплификатора DTrime (ДНК-технология, Россия). Учёт и интерпретацию результатов реакции проводили автоматически с помощью программного обеспечения RealTime_PCR.

2.7.3 Типирование гена DQB1 методом амплификации ДНК в режиме реального времени

Для определения аллелей гена *HLA-DQB1* использовали сертифицированный комплект реагентов «Комплект реагентов для типирования гена DQB1» (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Для каждого анализируемого образца, отрицательного контрольного образца («К-»), положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и положительного контрольного образца «К+ DQ HEX» маркировали по 6 пробирок для амплификации объёмом 0,2 мл. Пробирки со смесями для амплификации встряхивали на мульти-вортексе BioSan V-32 (Латвия) в течение 3-5 сек, центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) и вносили в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (соответственно маркировке в пробирку 1 вносили смесь DQB1-1, в пробирку 2 – смесь DQB1-2 и т.д.).

Встряхивали пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq МАХ в течение 3-5 сек и центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге. В отдельной пробирке готовили смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ из расчета $10 \times (N + 1)$ мкл ПЦР-буфера и $0,5 \times (N + 1)$ мкл полимеразы ТехноТaq МАХ, где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-», «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX». Пробирку встряхивали и центрифугировали, как описано выше, и добавляли в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл. Затем в каждую пробирку вносили по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закрывали крышки пробирок.

Затем вносили по 5,0 мкл образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки, а в пробирки, промаркированные «К-», – по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. В пробирки, маркированные «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX», добавляли по 5,0 мкл положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX»

соответственно. Центрифугировали пробирки на мульти-вортексе в течение 1-3 сек. Установили все пробирки в блок амплификатора детектирующего.

Детекцию проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью амплификатора DTprime (ДНК-технология, Россия). Учёт и интерпретацию результатов реакции проводили автоматически с помощью программного обеспечения RealTime_PCR.

2.7.4 Типирование гена DRB1 методом амплификации ДНК в режиме реального времени

Для определения аллелей гена *HLA-DRB1* использовали сертифицированный комплект реагентов «Комплект реагентов для типирования гена DRB1» (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкцией для применения.

Перед проведением анализа маркировали по 2 стрипа (А и Б) со смесями для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца («К-»), положительного контрольного образца («К+»). Раствор Таq-полимеразы подготавливали встряхиванием и центрифугированием на микроцентрифуге/вортексе. В каждую пробирку стрипов А и Б добавляли по 10 мкл подготовленной Таq-полимеразы, не повредив парафин, затем в каждую пробирку вносили по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закрывали крышки пробирок для предотвращения контаминации.

Далее вносили по 5,0 мкл образцов выделенной ДНК в соответствующие пробирки, а в пробирки, промаркированные «К-», – по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. В пробирки, маркированные «К+», добавляли по 5,0 мкл положительного контрольного образца. Детекцию проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью амплификатора DTprime (ДНК-технология, Россия). Учёт и интерпретацию результатов реакции проводили автоматически с помощью программного обеспечения RealTime_PCR.

2.8 Статистические методы

Статистическую обработку выполняли с использованием методов вариационной статистики с помощью статистического пакета Excel, программного продукта «WinPeri» (версия 11.65) и «STATISTICA 12». Для решения проблемы множественных сравнений статистическую обработку данных осуществляли с использованием критерия ANOVA. Связь между уровнями заболеваемости и серопревалентности рассчитывали по методу Пирсона. При анализе данных использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Крускала-Уолиса для независимых выборок, если сравниваемые выборки не соответствовали условиям нормальности распределения, оценку которой проводили с помощью W-критерия Шапиро-Уилка, а также использовали корреляционный анализ Спирмена (r_s). Данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха – Me (Q25 %–Q75 %), Mean – среднее значение и SD – стандартное квадратичное отклонение. Во всех случаях использовали поправку Бонферрони на множественные сравнения. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Отличие показателей контрольной группы от референсных значений определяли методом бутстрепа (1000 реплик) в программе R; p-value рассчитывали как отношение количества средних значений, не превышающих верхнюю границу референса, к общему числу реплик бутстрепа.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Динамика изменений популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у жителей Иркутской области в условиях пандемии COVID-19

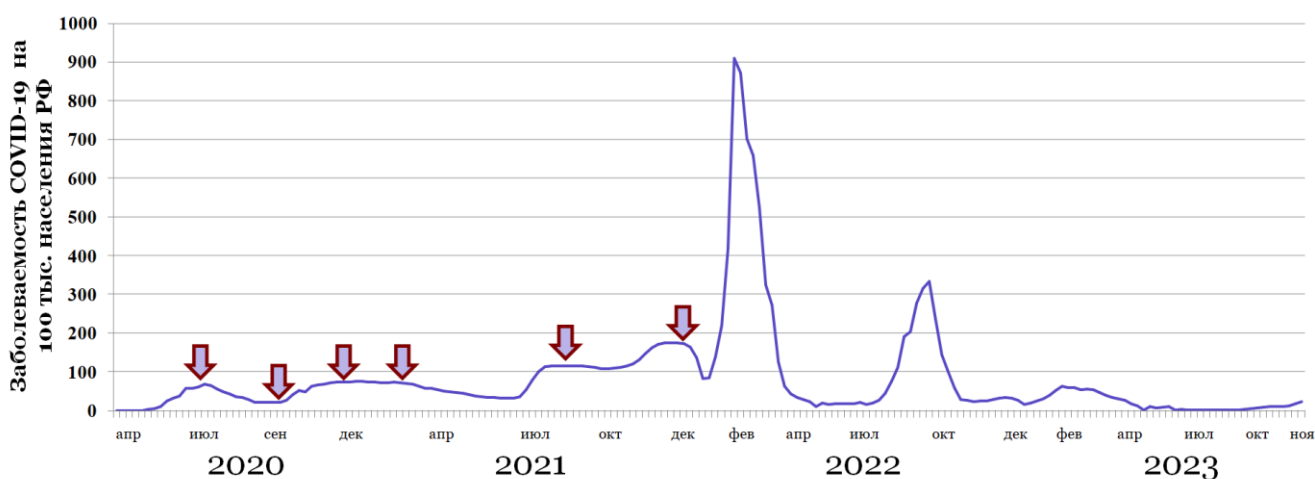
Эпидемиологическая ситуация по новой коронавирусной инфекции в Иркутской области характеризовалась волнообразной динамикой заболеваемости. С 27.04.2020 г. наблюдался рост заболеваемости в среднем по $66,5 \pm 20,1$ новых случаев в день, пик пришёлся на 27-ю календарную неделю (29.06.2020–05.07.2020), когда было зарегистрировано 1657 случаев. Период взятия проб венозной крови для определения в сыворотке циркулирующих специфических антител (АТ) к SARS-CoV-2 проводили в этот первый пик заболеваемости в области.

Затем, с 06 июля по 13 сентября 2020 г., количество заболевших постепенно снижалось и достигло минимума – 504 случая за неделю. С началом незначительного роста числа случаев с 38 календарной недели (14.09–20.09.2020 г.) проводили 2 этап исследования, показатель заболеваемости был минимальный (22,0 ‰). С конца сентября 2020 г. заболеваемость росла экспоненциально, увеличиваясь в 2–3 раза и достигнув 69,1 случаев на 100 тыс. населения в ноябре.

Период с 16.11.2020 г. по 14.02.2021 г. характеризовался интенсивным осенне-зимним распространением COVID-19, достигнув максимальных значений заболеваемости 72,1–76,4 ‰. На 50 к.н. (07.12–13.12.2020 г.) при стабилизации заболеваемости на максимально высоком уровне проводили 3 этап исследований. С 12-го месяца развития эпидемии (с 15.02.2021 г. по 20.06.2021 г.) наметилась тенденция к снижению заболеваемости с еженедельным темпом от -1,1 % до -3,6 % до минимального уровня заболеваемости 33,0 ‰ (790 случаев за неделю).

Стартовала массовая вакцинация населения, и именно в этот период проводили 4 этап исследований.

5 этап исследований был проведён во время третьей волны новой коронавирусной инфекции в РФ, которая характеризовалась продолжительным подъемом заболеваемости с пиком во второй декаде августа (показатель заболеваемости 116,6 ‰) и незначительным снижением в сентябре-октябре, когда сохранялось плато высокой заболеваемости. Очередной прирост количества инфицированных произошёл в осенне-зимнюю четвертую волну. Спустя 14 недель начался пятый подъем заболеваемости, который характеризовался резким нарастанием еженедельного количества заболевших, превышая показатели 2020-2021 гг. 3-6 раз (Рисунок 4).



Примечание: Стрелками отмечены этапы исследований серопревалентности к SARS-CoV-2 среди населения Иркутской области.

Рисунок 4 – Заболеваемость инфекцией COVID-19 в Иркутской области в 2020-2023 гг.

В течение развития эпидемического процесса новой коронавирусной инфекции доля переболевших с установленным диагнозом COVID-19 на 1-м этапе исследования составила 1,8 % (49 чел.), на 2-м – 2,3 % (43 чел.), на 3-м – 14,9 % (291 чел.), на 4-м – 5,3 % (91 чел.), на 5-м – 10,5 % (136 чел.). Среди них на долю внебольничной пневмонии приходилось соответственно 24,5 % (12 чел.), 25,2 % (11 чел.), 27,2 % (79 чел.), 20,9 % (19 чел.) и 18,2 % (26 чел.). Неизбежно

возникает вопрос о возможном влиянии роста числа зараженных на уровень серопревалентности населения Иркутской области. В связи с этим, одним из важных этапов является мониторинг популяционного иммунитета.

Исследования показали, что коллективный иммунитет населения Иркутской области характеризовался тенденцией к росту (Таблица 4). На первом этапе исследований (июль 2020 г.) серопревалентность среди жителей Иркутской области в целом составила $5,8 \pm 0,45$ % (154/2674 чел.), на 2-м – $12,1 \pm 0,7$ % (231/1911 чел.), на 3-м – $25,9 \pm 1,0$ % (504/1943 чел.), на 4-м – $46,2 \pm 1,0$ % (799/1730 чел.), на 5-м – $77,2 \pm 1,1$ % (1339/1734 чел.) и на 6 этапе среди детей – $98,4 \pm 0,8$ % (246/250 чел.), и не имела гендерных различий в течение всего исследования.

Таблица 4 – Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 в обследованных возрастных группах населения Иркутской области

Возрастная группа, лет	Серопревалентность, % (M±m)					
	I	II	III	IV	V	VI
< 18	8,0±1,4	20,1±2,5*	18,7±2,5*	33,5±3,2*	62,4±3,2*	98,4±0,8
>18-30	6,8±1,3	15,8±2,6	24,1±2,9	42,3±3,7	63,9±3,5*	-
>30-40	4,0±1,0	8,6±1,7*	24,3±2,6	42,2±3,1	62,5±3,1*	-
>40-50	4,3±1,1	11,9±1,8	27,4±2,5	49,0±3,0	69,9±2,8*	-
>50-60	4,4±1,0	11,1±1,8	28,2±2,5	50,7±2,9	73,6±2,8	-
>60-70	3,6±0,9*	9,6±1,5	31,4±2,5*	53,8±2,9*	46,9±2,4*	-
> 70	9,2±1,5*	9,2±1,9	24,3±2,9	46,1±3,5	80,2±2,8	-
Итого:	5,8±0,4	12,1±0,7	25,9±1,0	46,2±1,2	77,2±1,1	98,4±0,8

Примечание: * – достоверные различия по сравнению со средним значением по всей когорте волонтеров ($p < 0,05$).

Показатели серопревалентности среди волонтеров первого этапа оказались существенно ниже, чем в ряде других территорий РФ [24, 25, 27]. По возрастным группам показатель варьировал в пределах от $3,6 \pm 1,25$ % (лица в возрасте от 60 до 70 лет) до $9,2 \pm 3,5$ % (от 70 и более лет). Наибольшая доля серопозитивных волонтеров наблюдалась в группах до 18 лет ($20,1 \pm 2,5$ %) во 2-м этапе, от 60 до 70 лет в 3-м ($31,4 \pm 2,5$ %) и 4-м ($53,8 \pm 2,9$ %) этапах, и от 70 лет и старше – в 5 этапе ($80,2 \pm 2,8$). Отмечено, что серопревалентность в детской группе была достоверно

наименьшей на 2-5 этапах исследования, поэтому на 6 этапе было решено обследовать только данную возрастную группу.

По муниципальным образованиям Иркутской области (Таблица 5) серопревалентность на 1 этапе находилась в диапазоне от $1,1 \pm 1,1$ % (Боханский р-н) до $12,5 \pm 4,1$ % (Иркутский р-н). Низкий уровень серопозитивности был установлен также в Усть-Илимском ($2,8 \pm 1,6$ %), высокий – в Шелеховском ($10,0 \pm 5,5$ %) и Усольском районах ($9,0 \pm 2,5$ %). Во время проведения 2 этапа выявлено, что серопревалентность находилась в диапазоне от $4,9 \pm 1,5$ % (г. Ангарск) до $19,4 \pm 7,1$ % (Иркутский район).

Таблица 5 – Уровень серопревалентности среди жителей разных муниципальных образований Иркутской области

Населенный пункт	Серопревалентность, % (M±m)				
	I	II	III	IV	V
Ангарский район, г. Ангарск	$7,3 \pm 1,4$	$4,9 \pm 1,5$	$29,9 \pm 3,0$	$43,8 \pm 3,4$	$74,0 \pm 3,0$
Братский район, г. Братск	$4,2 \pm 1,5$	$8,6 \pm 2,1$	$28,7 \pm 3,5$	$43,8 \pm 4,1$	$67,6 \pm 4,0$
Бодайбинский район	$70,6 \pm 11,0$	-	-	-	$50,0 \pm 21,7^*$
Боханский район	$1,1 \pm 1,1$	$13,9 \pm 3,9$	$19,1 \pm 4,8$	$50,0 \pm 6,5$	$67,3 \pm 6,5$
г. Иркутск	$4,8 \pm 0,6$	$14,6 \pm 1,1$	$25,2 \pm 1,3$	$44,8 \pm 1,7$	$76,0 \pm 1,5$
Иркутский район	$12,5 \pm 4,1$	$19,4 \pm 7,1$	$26,9 \pm 8,7^*$	$46,9 \pm 8,8$	$72,0 \pm 9,0$
Саянский район, г. Саянск	$6,5 \pm 2,8$	$6,7 \pm 3,7$	$20,9 \pm 6,2$	$59,1 \pm 6,1$	100
Тайшетский район, г. Тайшет	$3,8 \pm 2,1$	$13,3 \pm 4,4$	$22,8 \pm 5,6$	$66,0 \pm 6,7$	100
Усольский район, г. Усолье-Сибирское	$9,0 \pm 2,5$	$10,9 \pm 2,8$	$25,0 \pm 3,8$	$35,2 \pm 4,2$	$72,8 \pm 4,0$
Усть-Илимский район	$2,8 \pm 1,6$	$9,8 \pm 3,8$	$18,3 \pm 4,6$	$59,7 \pm 6,0$	$94,1 \pm 2,9$
Усть-Кутский район	$5,3 \pm 2,6$	$14,0 \pm 4,9$	$38,3 \pm 6,3$	$49,2 \pm 6,5$	$89,6 \pm 4,4$
Черемховский район	$7,7 \pm 7,4^*$	-	-	$50,0 \pm 4,4^*$	$75,0 \pm 12,5^*$
Шелеховский район	$10,0 \pm 5,5$	$6,7 \pm 4,6$	$36,7 \pm 8,8$	$56,7 \pm 9,0$	$80,7 \pm 7,1$

Примечание: * – оценить достоверность доли серопозитивных среди лиц не представляется возможным, поскольку количество обследованных лиц в районе составило менее 30

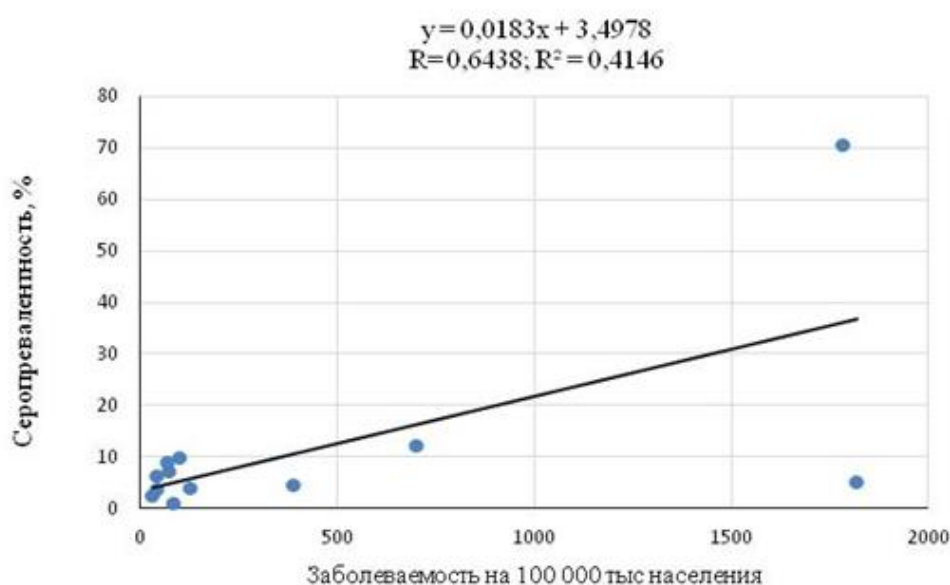
Низкий уровень серопозитивности был установлен также в г. Саянск ($6,7 \pm 3,7$ %), Шелеховском районе ($6,7 \pm 4,6$ %), а наиболее высокий – в Усть-Кутском ($14,0 \pm 4,9$ %) и Боханском районах ($13,9 \pm 3,9$ %). На 3-м этапе исследования серопревалентность находилась в диапазоне от $18,3 \pm 4,6$ %

(Усть-Илимский р-н) до $38,3 \pm 6,3$ % (Усть-Кутский р-н). Высокий уровень регистрировался в Усольском ($25,0 \pm 3,8$ %), Братском ($28,7 \pm 3,5$ %), Ангарском ($29,9 \pm 3,0$ %) районах и Иркутске ($25,2 \pm 1,3$ %). Наиболее высокий уровень серопревалентности на 4-м этапе исследования наблюдался в Тайшетском ($66,0 \pm 6,7$ %), Усть-Илимском ($59,7 \pm 6,0$ %), Саянском ($59,1 \pm 6,1$ %), Шелеховском ($56,7 \pm 9,0$ %), Боханском ($50,0 \pm 6,5$ %) и Усть-Кутском ($49,2 \pm 6,5$ %) муниципальных районах Иркутской области. На 5 этапе исследования в Саянском и Тайшетском районах (100 %) обнаружен максимальный рост серопозитивности, также высокая доля сероположительных по IgG была обнаружена в Усть-Илимском ($94,1 \pm 2,9$ %), Усть-Кутском ($89,6 \pm 4,4$ %) и Шелеховском ($80,7 \pm 7,1$ %) районах. Оценить достоверность статистических данных в 4 населенных пунктах (г. Бодайбо, г. Тулун, г. Черемхово, п. Усть-Ордынский) можно лишь ориентировочно, поскольку количество обследованных лиц менее 30 человек.

Таким образом, результаты оценки популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у населения Иркутской области свидетельствуют о том, что в течение 3-6 мес. развития эпидемии на фоне первоначального подъема и последующего снижения заболеваемости COVID-19 сформировался невысокий уровень серопревалентности (1-й этап – $5,8 \pm 0,45$ %, 2-й этап – $12,1 \pm 0,7$ %). Через 9 мес. распространения COVID-19, а именно в период повторного роста заболеваемости и стабилизации её на максимальном уровне, серопревалентность достигла $25,9 \pm 1,0$ % (3-й этап), что в 4,5 раза больше по сравнению с 1-м этапом исследования. Спустя 12 мес., когда наметилась тенденция к снижению заболеваемости с еженедельным темпом от $-1,1$ % до $-3,6$ % и началом периода массовой вакцинации, серопревалентность достигла $46,2 \pm 1,2$ % (4-й этап), а во время очередного подъема заболеваемости через 18 мес. от начала эпидемии – $77,2 \pm 1,1$ %, что свидетельствует о нарастающем уровне серопревалентности в динамике развития эпидемического процесса COVID-19.

Для проверки связи между заболеваемостью и серопревалентностью во время первой волны коронавирусной инфекции в Иркутской области был проведен корреляционный анализ между уровнем заболеваемости в ряде

муниципальных образований Иркутской области и показателем серопревалентности (Рисунок 5). Анализ данных подтвердил наличие корреляционной связи между сравниваемыми показателями с коэффициентом корреляции, равным 0,655. При сравнении с пороговым значением получены данные, свидетельствующие о линейной связи, достоверной при $p < 0,05$. Полученная зависимость описывается уравнением линейной регрессии: $y = 0,0183x + 3,4978$ (Рисунок 5).



Примечание: коэффициент корреляции (r_c) равен 0,644. Пороговый коэффициент корреляции r_{st} при $k = n - 2$ и $p < 0,05$, составляет 0,602. $r_c > r_{st}$. Установлена прямая корреляционная связь между сравниваемыми показателями, описываемая уравнением линейной регрессии: $y = 0,0183x + 3,4978$.

Рисунок 5 – Корреляционная зависимость между уровнем заболеваемости и серопревалентностью

На 2-м этапе между величиной заболеваемости населения и серопревалентностью наблюдалась прямая корреляционная связь средней степени силы ($r_c = 0,61$; $p < 0,05$), на 3-м этапе корреляция отсутствовала ($r_c = 0,29$; $p > 0,05$), а на 4-м этапе наблюдалась отрицательная слабая корреляционная связь ($r_c = -0,19$; $p > 0,05$), что может быть связано с началом периода массовой вакцинации населения от вируса SARS-CoV-2.

Наличие IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 свидетельствует, что человек переболел манифестной (клинически выраженной) формой коронавирусной инфекции разной степени интенсивности или перенес инфекцию в инapparантной (бессимптомной) форме. Группы реконвалесцентов после COVID-19 составили 49, 43, 291, 340 и 483 человек на всех этапах соответственно. После перенесённого COVID-19 антитела вырабатываются в $56,5 \pm 7,7$ % случаев на 1-м этапе, в $46,5 \pm 7,6$ % – на 2-м, в $59,8 \pm 3,7$ % случаев – на 3-м, в $64,8 \pm 5,0$ % случаев – на 4-м и в $95,1 \pm 5,0$ % случаев на 5 этапе. Количество серонегативных волонтеров с диагнозом COVID-19 (сроки наблюдения до 2,5 месяцев) – $32,9 \pm 2,7$ %, а после 3,5-4,5 месяцев – $4,2 \pm 1,1$ %. Специфические IgM вырабатывались в 95,1 % случаев после перенесенного заболевания, а после вакцинации/ревакцинации – 70,1 %. Показано, что у перенёсших COVID-19 добровольцев IgG к S-белку SARS-CoV-2 вырабатывались статистически значимо в 1,4 раза быстрее, чем к N-белку.

В период эпидемической вспышки человек может иметь множество контактов с патогенным вирусом. К ним относятся, в частности, контакт с вирусоносителем, у которого возбудитель уже начал реплицироваться, но манифестация еще не началась, и контакт с больным COVID-19 – ситуация, с которой особенно часто встречаются медицинские работники. Эпидемиологическую опасность представляют лица с abortивным или бессимптомными формами течения заболевания и реконвалесценты COVID-19, при этом даже негативный результат определения РНК вируса методом ПЦР еще не говорит о полном отсутствии вируса и безопасности реконвалесцента для окружающих [186]. Считается, что вирус у реконвалесцентов может выделяться в течение продолжительного времени, заражая окружающих. При этом такое заражение совсем не обязательно должно закончиться появлением клинической симптоматики. До 90 % инфицированных могут переносить заболевание в бессимптомной форме, причем часть из них способна выделять вирус в окружающую среду, даже не догадываясь об этом [142].

Бессимптомное течение является характерным признаком COVID-19 и, как считается, может служить важным фактором передачи вируса [47]. В этом смысле определение доли бессимптомных форм среди населения представляет существенное значение в плане распространения инфекции в непораженной популяции [197, 199] и может в значительной мере скорректировать спектр и направление противоэпидемических мероприятий. Для расчета доли бессимптомных форм среди серопозитивных волонтеров вычисляли долю лиц, у которых отсутствует хотя бы один признак: диагноз COVID-19, либо положительный результат ПЦР, либо признаки ОРЗ. Доля бессимптомных форм среди серопозитивных жителей Иркутской области составила $82,2 \pm 3,2$ % ($p < 0,05$) на 1-м этапе, $86,1 \pm 2,3$ % – на 2-м, $39,9 \pm 3,5$ % – на 3-м и $59,7 \pm 1,7$ % – на 4-м этапе, что свидетельствует об эпидемиологической значимости данной категории источников инфекции и объясняет высокий процент невыявленных контактов в эпидемических очагах [22]. Имеется мнение, что увеличение удельного веса серопозитивных без диагноза COVID-19 на первых этапах исследования могло иметь неспецифическое происхождение, обусловленное вероятной перекрестной реактивностью антител к RBD, нуклеокапсиду, мембране или оболочке других сезонных коронавирусов человека [79, 138]. При этом уровень серопревалентности среди лиц, возможно перенёсших бессимптомное течение заболевания, статистически значимо выше и выявлен спустя 3 мес. развития эпидемии среди пенсионеров ($6,3 \pm 1,1$ %; $t = 2,1$; $p \leq 0,5$), через 6 мес. – среди учащихся ($20,2 \pm 2,5$ %; $t = 3,4$; $p \leq 0,5$) и медицинских работников ($21,1 \pm 1,7$; $t = 2,4$; $p \leq 0,5$), через 12 мес. (3 этап исследований) – среди работников образования ($26,4 \pm 4,6$; $t = 2,1$; $p \leq 0,5$), на 4-м этапе – среди работников транспорта, торговли и сферы услуг ($33,5 \pm 3,0$ %; $t = 2,1$; $p \leq 0,5$).

Что касается лиц с подтвержденным диагнозом COVID-19, то наличие антител к вирусу SARS-CoV-2 на 1 ($1,0 \pm 0,2$ %) и 2 ($2,1 \pm 0,4$ %) этапах исследований достоверно ниже по сравнению с долей серопозитивных лиц, перенесших бессимптомную форму течения заболевания ($p \geq 0,05$). В период интенсивного распространения коронавирусной инфекции (3 этап исследования)

частота обнаружения IgG антител увеличилась до $14,7 \pm 0,9$ % ($p \leq 0,05$), но различия в уровнях серопозитивности обнаружены только среди медицинских работников ($21,1 \pm 1,7$; $t = 2,4$, $p \leq 0,5$). В период активной вакцинации населения данный показатель составил $18,9 \pm 1,0$ %.

Во время 1-го этапа исследования, среди лиц, имевших бытовой и/или производственный контакт с переболевшим COVID-19, серопревалентность составила $14,7 \pm 2,1$ % а при отсутствии контактов – в 3,1 раза меньше ($4,7 \pm 0,4$ %), $p < 0,05$. Показано, что при наличии контактов с больными COVID-19 риск инфицирования возрастает в 3,1 раза (1 этап) и 1,6 раза (2 этап).

У волонтеров с диагнозом COVID-19 в ранние сроки наблюдения (до 5-го дня) IgG к SARS-CoV-2 не обнаруживали. На 5-10 день с момента подтверждения диагноза специфические IgG к нуклеокапсиду выявляли в диагностических титрах (1:400 и выше), при этом ИП варьировал от 1,0 до 2,5 у.е. С 15 до 25 суток ИП был в диапазоне от 1,1 до 4,9 у.е. В более поздние сроки наблюдения – 30-145 сутки (от 2 до 4,5 месяца) специфические IgG к SARS-CoV-2 по-прежнему обнаруживали, при этом их уровень оставался в пределах 1,1-4,6 у.е. Максимальный уровень IgG был отмечен на 16–25-е сутки от даты установления диагноза (ИП 2,7-4,9). Исследование серопозитивности через 9 мес. от начала эпидемии выявило, что в период роста заболеваемости осенью 2020 г. индекс позитивности варьировал от 2 до 2,5 у.е., а при стабилизации заболеваемости на максимально высоком уровне – от 1 до 2,5 у.е.

Необходимо отметить, что доля серонегативных волонтеров с диагнозом COVID-19 через 2,5 месяца после выздоровления составила 38,4 % , а после 3,5-4,5 месяцев – 4,2 %. В зависимости от исходного статуса (наличие антител или их отсутствие), уровень IgG к SARS-CoV-2 среди 91 серопозитивного волонтера из первого этапа исследования популяционного иммунитета на территории Иркутской области IgG по-прежнему выявляли лишь у 36 человек на 2-м этапе, а у 55 (60,4 %) – ниже диагностических титров или не определялись. При этом 10,4 % (167) серонегативных волонтеров первого этапа стали серопозитивными во втором этапе.

При дальнейшем изучении динамики антителообразования выявлено, что на 3 этапе из 91 серопозитивного волонтера 1-го этапа исследований антитела по-прежнему выявляли только у 25 человек. Статус сероположительных волонтеров по Иркутской области (сероположительные на 1 этапе остались сероположительными на 3 этапе) сохранен в 27,5 % случаев. Отсутствие антител у исходно сероположительных волонтеров 1-го этапа установлено на 3-м этапе в 70,3 % случаях (64 человека). Доля вновь выявленных сероположительных волонтеров (сероотрицательные на 1-м и 2-м этапах стали серопозитивными на 3-м этапе) составила 81,9 % (413 человек).

После третьего этапа исследования стартовала массовая вакцинация населения Иркутской области. Количество вакцинированных и ревакцинированных волонтеров после проведения четвертого этапа исследований составило 489 человек (29,9 % от общего числа участников).

3.2 Оценка показателей специфического гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 у детей

Природа иммунного ответа на SARS-CoV-2 у детей с различными клиническими проявлениями от бессимптомных до мультисистемного воспалительного синдрома (MIS-C) по сравнению с более распространенными респираторными проявлениями COVID-19 у взрослых неясна. Более легкие симптомы заболевания среди детей являются причиной низкой обращаемости пациентов в медицинские учреждения, что, в свою очередь, может привести к снижению выявленных случаев SARS-CoV-2 у детей и подростков. Кроме того, эта возрастная группа с наличием легких симптомов или с бессимптомным течением может способствовать распространению COVID-19 в популяции. Изучение реакции вирусспецифических антител к SARS-CoV-2 у детей и подростков важно, как для разработки, адаптации и улучшения мер контроля заболеваемости COVID-19, так и для решения вопроса о специфической профилактике детского населения.

Проведены исследования по изучению динамики серопревалентности специфических антител к SARS-CoV-2 у детей Иркутской области в период пандемии новой коронавирусной инфекции.

В исследовании приняли участие всего 384 случайно подобранных добровольцев, которые прошли предварительное анкетирование. В каждом этапе участвовали одни и те же волонтеры. Критериями исключения при проведении иммунологического обследования являлись: отказ ответственного представителя пациента от исследования, признаки острой респираторной инфекции с повышением температуры в момент обследования, наличие острых или обострения хронических заболеваний за 2 недели до обследования, отсутствие требуемой подготовки к исследованию.

Исследование гуморального иммунитета у детей было проведено в 15 административных территориях Иркутской области с 23.06.2020 г. по 19.07.2020 г. (1-й этап; 384 чел.), с 16.09.2020 г. по 25.09.2020 г. (2-й этап; 264 чел.), с 07.12.2020 г. по 18.12.2020 г. (3-й этап; 249 чел.), с 08.03.2021 г. по 14.03.2021 г. (4-й этап; 212 чел.), с 30.08.2021 г. по 04.09.2021 г. (5-й этап, 224 чел.) и с 13.12.2021 г. по 16.12.2021 г. (6-й этап, 250 чел.).

По гендерному признаку, количество мальчиков и девочек, принявших участие в исследовании, было одинаковым. Все волонтеры были распределены на 3 возрастные группы: до 7 лет, 7-13 лет и от 14 до 18 лет.

Количество серопозитивных волонтеров составило 30 чел. из 384 обследованных на 1 этапе, на 2-м этапе – 53 из 264 чел., на 3-м этапе – 47 из 249 чел., на 4-м этапе – 71 из 212 чел., на 5-м этапе – 139 из 224 чел., и на 6-м этапе – 246 из 250 чел. (Рисунок 6). Сравнительный анализ с использованием χ^2 показал статистически значимые различия результатов на разных этапах исследования ($\chi^2 = 76,5$, $df=5$, $p < 0,05$).

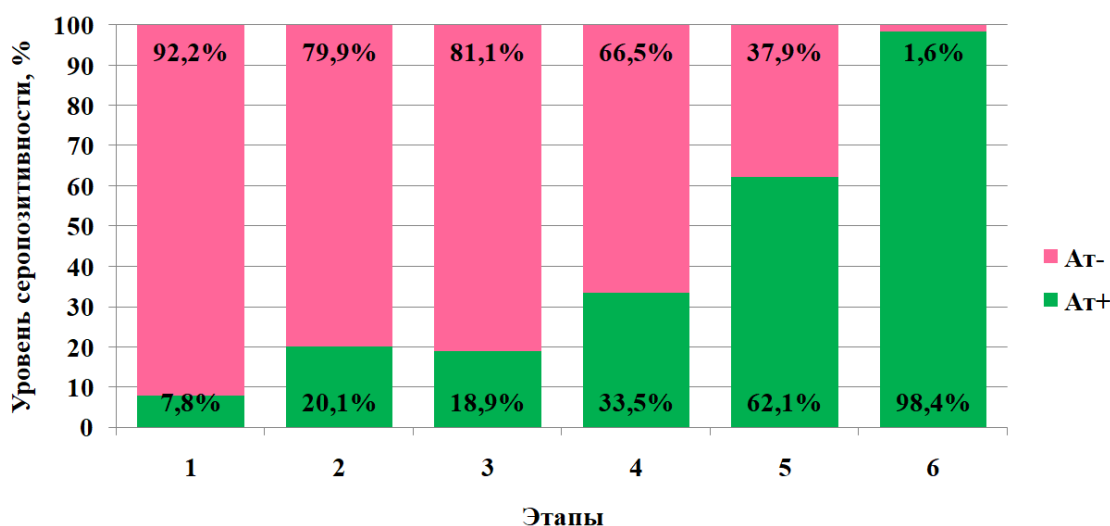
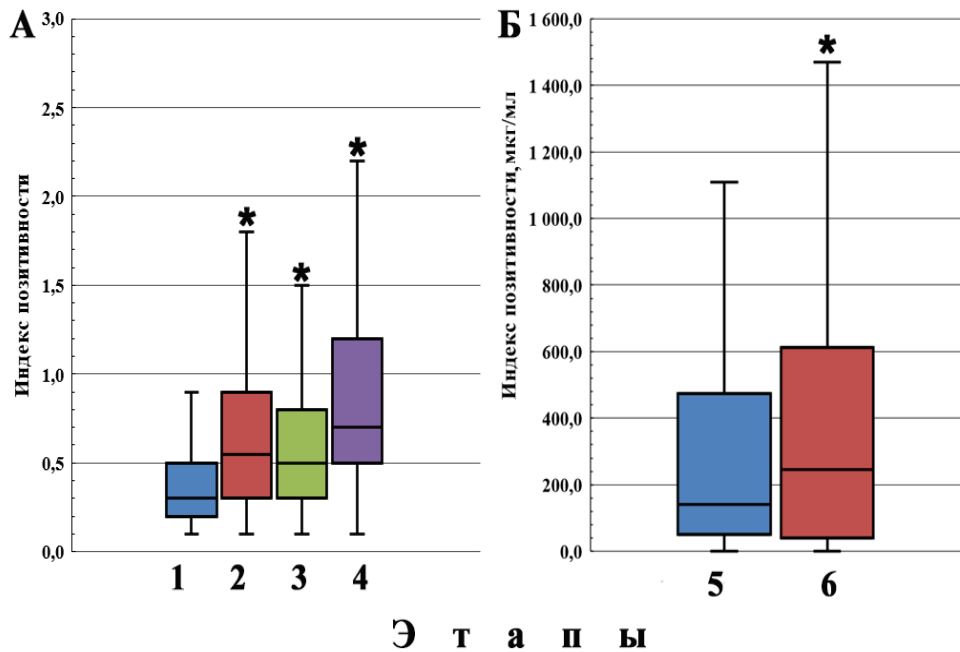


Рисунок 6 – Уровень серопозитивных волонтеров среди детей на разных этапах исследования популяционного иммунитета

При сравнении зависимых выборок 1-4 этапа – Me составила от 0,3 (0,2 – 0,5) на 1 этапе, 0,55 (0,3 – 0,9) на 2 этапе, 0,5 (0,3 – 0,8) на 3 этапе и до 0,7 (0,5 – 1,2) на 4 этапе исследования (Рисунок 7А). На 5 и 6 этапе использовалась

количественная тест-система «N-CoV-2-IgG PS», поэтому их сравнение проводилось отдельно: Ме составила 140 (50 – 470) и 245 (40 – 610) соответственно (Рисунок 7Б).



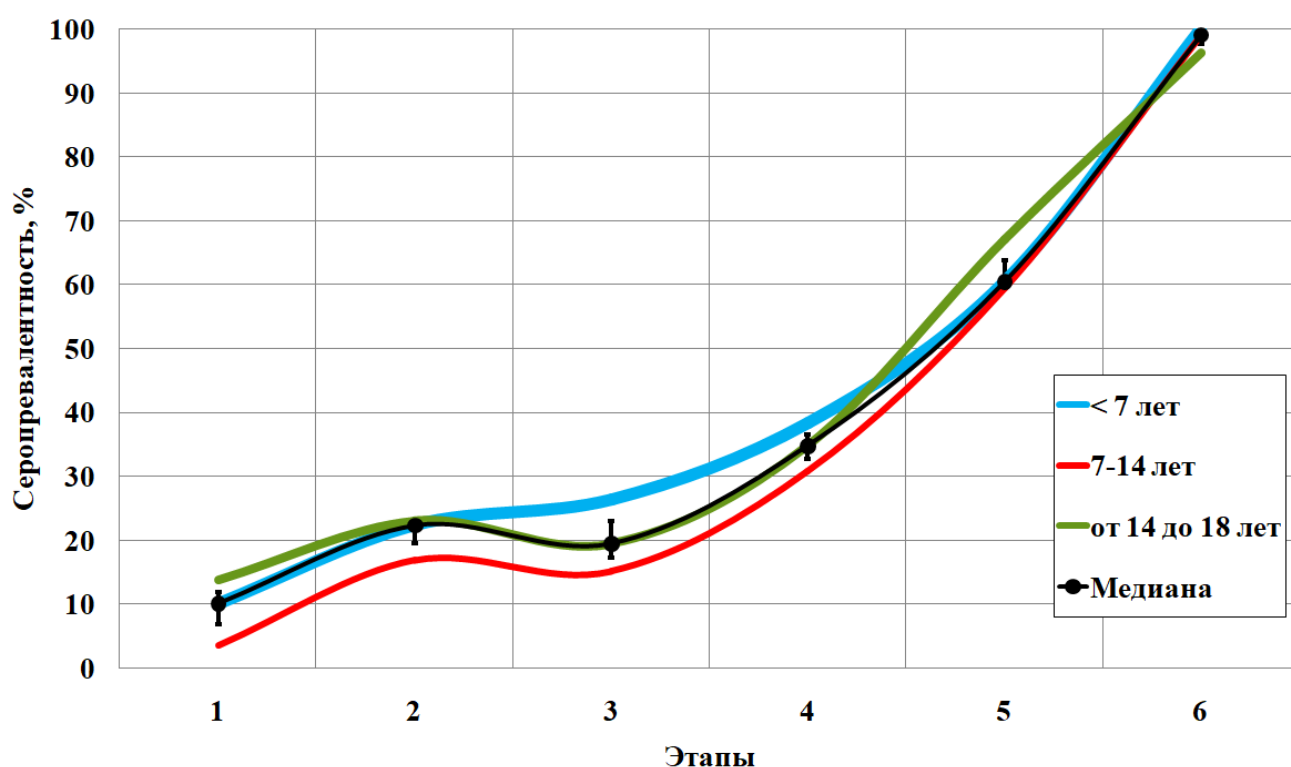
Примечание: А – 1-4 этапы, $p < 0,05$ в сравнении с 1 этапом, Б – 5 и 6 этапы, $p < 0,05$ в сравнении с 5 этапом

Рисунок 7 – Индекс позитивности на каждом этапе, Ме (Q25% – Q75%).

Установлен высокий уровень серопревалентности, имевший тенденцию к росту, в городах Ангарск, Иркутск, Усолье-Сибирское и Братск на всех этапах исследования. В декабре 2021 г. в отдельных муниципальных образованиях Иркутской области (г. Ангарск, г. Тайшет, г. Усолье-Сибирское) этот показатель достиг 100%. Оценить достоверность статистических данных в четырех населенных пунктах (г. Бодайбо, г. Черемхово, п. Бохан, п. Усть-Ордынский) можно лишь ориентировочно, поскольку количество обследованных лиц на этих территориях составило менее 20 человек.

Особенностью детской группы была заметная неоднородность показателя серопозитивности. Максимальный уровень коллективного иммунитета у детей на 1 – 2 этапах исследований отмечен в группе от 14 до 18 лет (17 и 21 чел. соответственно), на 3 и 4 этапах – среди детей дошкольного возраста (13 и 15 чел.

соответственно), на 5 – в группе от 14 до 18 лет (47 чел.), а на 6 – среди дошкольников (38 чел.) (Рисунок 8). Подобное увеличение серопозитивности среди детей различных возрастных групп отмечено и в других регионах, в частности в Ленинградской области [25]. За период исследования общий показатель серопревалентности у детей вырос в 12,6 раз (от 7,8 до 98,4 %). Количество волонтёров, ставших сероположительными при первично отрицательном результате, составило 222 человека (52,9 %). Важно отметить, что через 4-6 месяцев после выявления антител к SARS-CoV-2 57 серопозитивных (14,6 %) волонтёров стали серонегативными.



Примечание: Цветные линии – процесс изменения серопревалентности детей соответствующих возрастов в процессе наблюдения. Черная полужирная линия – медиана; чёрные вертикальные линии – верхний и нижний квартили (Q25 % – Q75 %).

Рисунок 8 – Динамика нарастания серопревалентности к SARS-CoV-2 у детей от 1-го к 6-му этапам

Доля переболевших детей с установленным диагнозом COVID-19 на 1 этапе исследования составила 0,52 % (2 чел.), на 2 – 1,5 % (4 чел.), на 3 – 7,6 % (19 чел.), на 4 – 7,1 % (15 чел.), на 5 – 12,1 %; (27 чел.) и на 6 – 15,2 % (38 чел.). При этом IgG к SARS-CoV-2 были выявлены у 50,0 % волонтеров на 1 этапе исследования, на 2 – 25 %, 3 – 42,1 %, 4 – 46,7 %, 5 – 81,5 % и 6 – 100 %.

При анализе серопозитивности к SARS-CoV-2 на 6 этапе исследований выявлено статистически значимое преобладание доли лиц, содержащих в крови АТ к S-белку (92,8 %) над содержанием АТ к нуклеокапсиду коронавируса (70,4 %). При этом уровень АТ к исследованным антигенам не зависит от возраста ($p > 0,05$). Установлено, что АТ к Nc были выявлены на 14 сутки от начала заболевания с максимальным ростом ИП к 185 дню и сохранялись до 432 суток. Антитела к S-белку SARS-CoV-2 выявлялись с 7 суток от постановки диагноза и достигали пика к 61 суткам, с последующим снижением до 555 суток.

Установлено, что среди общей когорты обследованных волонтеров в возрасте 1-17 лет количество детей без подтвержденного диагноза COVID-19, но имеющих АТ к вирусу SARS-CoV-2, составило 7,8 % на 1 этапе (29 человек), 20,1 % на 2 (52), 18,9 % на 3 (39), 33,5 % на 4 (64), 62,1 % на 5 (117) и 98,4 % на 6 этапе (208). При оценке взаимосвязи между наличием АТ у волонтеров с подтверждённым диагнозом COVID-19 и перенесших эту инфекцию бессимптомно достоверно значимых различий не выявлено. Высокая доля серопозитивных детей на 6 этапе, не имевших проявлений манифестной инфекции (83,2 %) может указывать на бессимптомно перенесенную форму COVID-19 и формирование полноценного постинфекционного иммунитета [146].

На основании результатов исследования были выявлены три возможные вида серопозитивности среди детей: дважды позитивные (Nc+RBD), монопозитивные (Nc+ или RBD+) и негативные (Nc- RBD-). Доля серонегативных составила 1,6 %, общая доля RBD+составила 92,8 % и была статистически значимо выше ($p < 0,01$) доли Nc+ – 70,4 %.

Результаты обследования лиц, имевших в анамнезе COVID-19 (2020 – 2021 гг.), свидетельствуют о продолжительном сохранении гуморального иммунного

ответа у переболевших. Высокая серопревалентность лиц с бессимптомной формой инфекции свидетельствует о значительной распространенности не диагностированных случаев COVID-19 среди детей. С учетом доли случаев бессимптомного течения COVID-19, подтвержденного результатами тестирования серопревалентности антител к Nc, реальные цифры заболеваемости детей занижены. Кроме того, у детей реже встречается тяжелая хроническая патология, и они чаще всего заражаются от членов семьи, а не наоборот, что может указывать на снижение вирулентности возбудителя.

Одним из наиболее заметных проявлений резистентности детей к SARS-CoV-2 является повышенная серопревалентность АТ к патогенным коронавирусам. Дополнительным защитным фактором может быть повышенный уровень серопревалентности АТ к SARS-CoV-2, формирующийся в ответ на бессимптомную форму течения коронавирусной инфекции.

В рамках впервые проведенных мониторинговых исследований среди детей подтвержден факт широко распространенной бессимптомной формы COVID-19, что не исключает формирования гуморального иммунного ответа [26, 146]. Доля серопозитивных к RBD и Nc составила соответственно 92,8 и 70,4 %.

Важно отметить, что при комплексном изучении коллективного иммунитета населения РФ (выборка численностью 3667 человек), при расчете серопозитивности к обоим антигенам суммарный уровень серопревалентности составил 82,3 % [146]. В Иркутской области после перенесённой инфекции COVID-19 с подтвержденным ПЦР диагнозом у детей, АТ выявлялись в 66,1 % случаев и сохранялись до 10-15 месяцев к Nc и до 15-18 месяцев к RBD SARS-CoV-2. Доля бессимптомных форм инфекции среди серопозитивных волонтеров составила 69,5 %, а по РФ – 76,9 %, что может свидетельствовать о высокой интенсивности скрыто протекающего эпидемического процесса. Установлено, что основной вклад в популяционный иммунитет населения вносят дети [146].

Исследования показали, что рост уровня АТ к RBD и Nc сопровождается снижением доли серопревалентности к антигенам SARS-CoV-2 и нивелирует межвозрастные отличия [26].

Таким образом, по результатам исследования показан вклад бессимптомных серопревалентных лиц в уровень гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 и постепенное снижение интенсивности эпидемии новой коронавирусной инфекции. Активное формирование популяционного иммунитета в сочетании с вакцинацией может послужить главным фактором прекращения пандемии COVID-19.

Данные результаты серологического мониторинга могут послужить научной основой для корректировки перечня и объемов противоэпидемических мероприятий, принятия управленческих решений по организации профилактических мероприятий, включая вакцинацию и прогнозирование развития эпидемиологической ситуации.

3.3 Мониторинг уровня цитокинов у переболевших COVID-19 и вакцинированных волонтеров

COVID-19 сопровождается высокой продукцией цитокинов – иммунных молекул, дисбаланс регуляции которых приводит к нарушению иммунного ответа. В связи с этим, исследование цитокинового статуса может способствовать пониманию функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, соотношения процессов активации Th1 и Th2 типа иммунного ответа, тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и прогнозе заболевания.

С мая 2020 по август 2022 гг. исследованы образцы сывороток крови 144 сотрудников медицинского учреждения. Среди них 92 сотрудника – реконвалесценты после перенесенного COVID-19 в форме острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ), а также 125 – вакцинированные и ревакцинированные против SARS-CoV-2 («ГамКовидВак» и «Спутник Лайт»). При этом 73 человека отнесены в обе группы, так как они за время исследования переболели COVID-19 до или после вакцинации. Все участники исследования были распределены на 3 группы: 1 – реконвалесценты COVID-19 (19), 2 – вакцинированные здоровые (52), 3 – вакцинированные и перенесшие COVID-19 (73) (Рисунок 9А).

Во всех случаях диагноз COVID-19 был подтвержден положительным результатом лабораторного исследования на наличие РНК вируса SARS-CoV-2 методом ПЦР. Все волонтеры на момент исследования имели отрицательный результат на наличие РНК вируса SARS-CoV-2, симптомы COVID-19 отсутствовали. По возрасту волонтеры были распределены на группы: группа 20-39 лет – 35,4 %, 40-59 лет – 38,9 %, 60 лет и старше – 25,7 % (Рисунок 9Б). Соотношение мужчин и женщин составило 1 : 2,9 соответственно (Рисунок 9В).

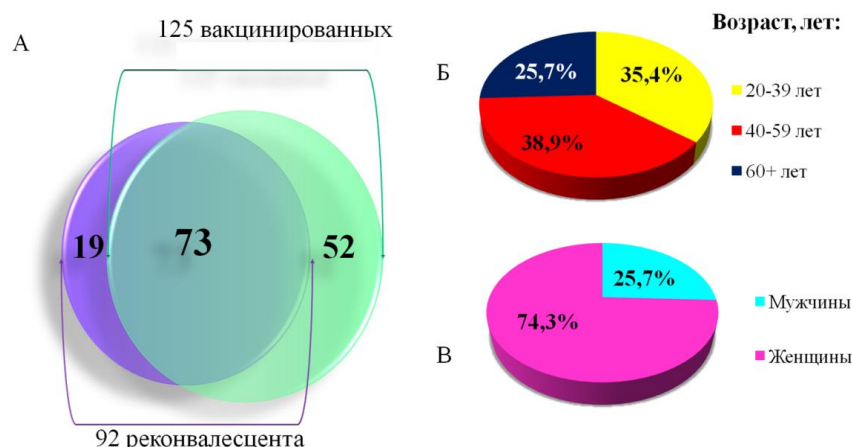


Рисунок 9 – Характеристика исследуемой группы: А – по типу иммунизации, Б – по возрасту, В – по полу

Результаты определения концентрации цитокинов представлены в таблице 6. Все цитокины были проанализированы по отношению к диапазону уровней соответствующих биомолекул в крови здоровых доноров, представленному в инструкции к тест-системе. Установлено, что уровень противовоспалительного ИЛ-10 не выходил за пределы нормы во всех исследуемых группах, в отличие от провоспалительных цитокинов, которые превышали предельно допустимые значения в 2,7 % (IFN- γ) в группе 3, а также в 2,7 % (TNF- α) и 8,1 % (ИЛ-4) случаев в группе 2.

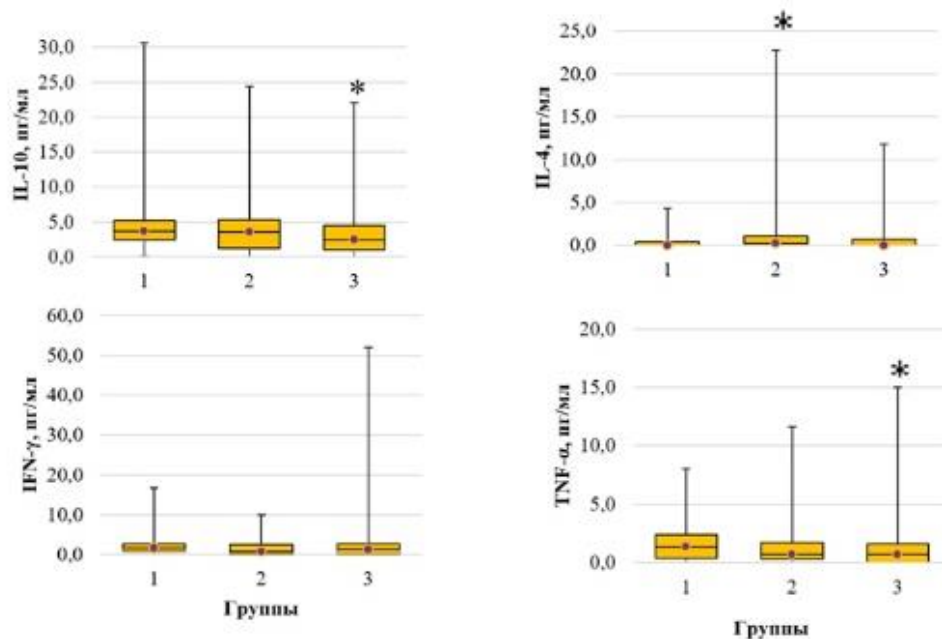
Таблица 6 – Уровни цитокинов в сыворотке крови волонтеров, Ме (Q25 % – Q75 %)

Группы	Цитокины, пг/мл			
	ИЛ-10	ИЛ-4	IFN- γ	TNF- α
1	3,6 (2,4-5,2)	0,0 (0,0-0,4)	1,5 (0,7-2,6)	1,3 (0,4-2,3)
2	3,5 (1,2-5,3)	0,2 (0,0-1,0)*	0,7 (0,0-2,4)	0,7 (0,3-1,7)
3	2,4 (1,0-4,5)*	0,0 (0,0-0,7)	1,3 (0,0-2,6)	0,6 (0,0-1,6)*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с первой группой

У реконвалесцентов, по сравнению с группой 3, выявлено достоверное превышение уровней ИЛ-10 и TNF- α в 1,5 и 2,0 раза соответственно ($p < 0,05$) и

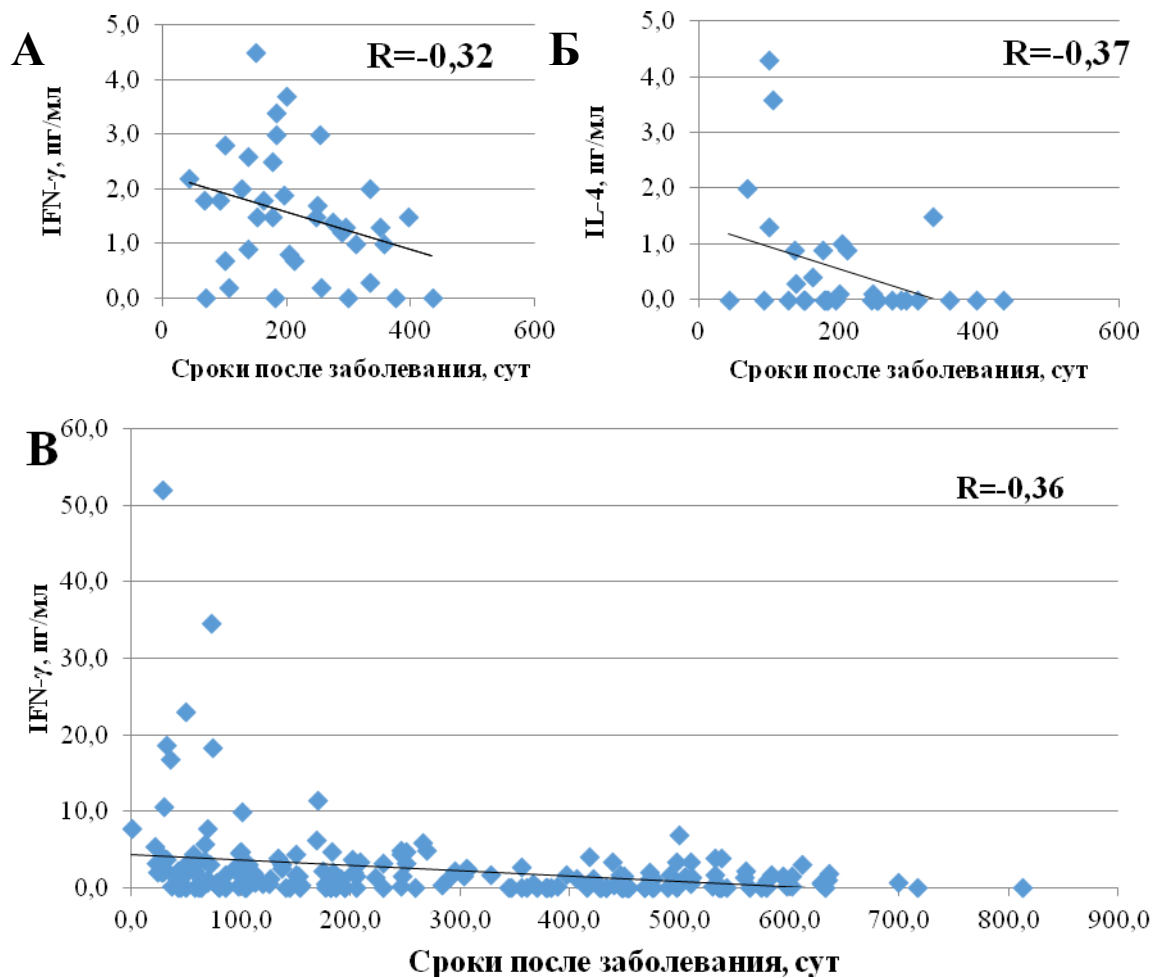
снижение IL-4 по сравнению с вакцинированными (ранее не перенесшими COVID-19) волонтерами в 2,0 раза (Рисунок 10).



Примечание: Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха, минимального и максимального значения, * – $p < 0,05$ по сравнению с первой группой

Рисунок 10 – Межгрупповые различия уровней цитокинов в сыворотке крови

Изучение динамики выработки цитокинов после перенесенного заболевания выявило обратную корреляционную зависимость уровней IL-4 и IFN-γ у волонтеров 1 группы (Рисунок 11). В группе 3 установлена статистически значимая зависимость концентрации IFN-γ от сроков после перенесенного заболевания. При этом у волонтеров-реконвалесцентов обеих групп различий по уровню цитокинов при повторном заболевании COVID-19 не установлено.



Примечание: показаны графики со статистическими значениями коэффициентов корреляции r_c ($p < 0,05$).

Рисунок 11 – Диаграммы рассеяния ранговой корреляции уровней цитокинов у реконвалесцентов COVID-19: А – IFN- γ и сутки после COVID-19 в группе 1; Б – IL-4 и сутки после COVID-19 в группе 1; В – IFN- γ и сутки после COVID-19 в группе 3

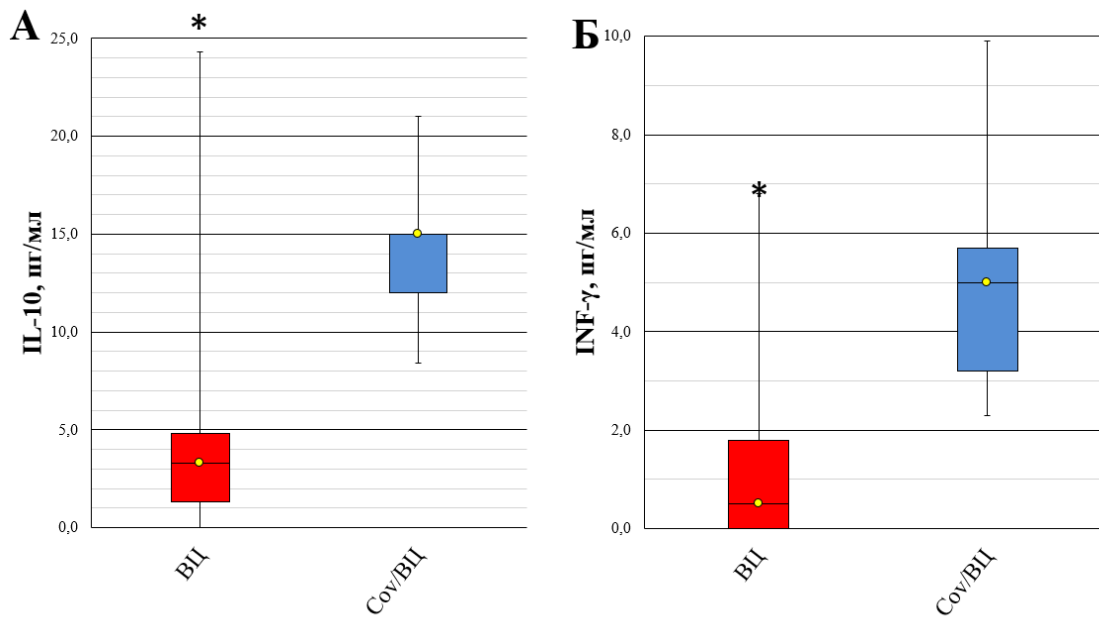
Установлено достоверное снижение IL-4 у перенесших заболевание, вызванное вариантом «Omicron», и повышение IL-10 у переболевших инфекцией, обусловленной вирусом SARS-CoV-2 более ранних генетических линий (до 01.01.2021 г.), по сравнению с другими реконвалесцентами.

У всех участников исследования ранее были выявлены специфические IgM и IgG к белкам (S и N) вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови методом ИФА с использованием отечественных тест-систем производства АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. У 18,5 % волонтеров, перенесших COVID-19 на момент проведения исследований цитокинового профиля, обнаружены специфические IgM к SARS-CoV-2. Среди них выявлено статистически значимое повышение уровня продукции IL-10 в 1,5 раза по сравнению с серонегативными (IgM⁻) сотрудниками ($p = 0,02$), что свидетельствует о перенесенном заболевании и активной экспрессии цитокина, способствующего усилению гуморального ответа.

Также у волонтеров группы 3 была обнаружена корреляционная связь между IFN- γ и уровнем IgG к N-белку SARS-CoV-2 ($\tau = 0,14$; $p = 0,004$).

Сравнительный анализ показателей цитокинового уровня в группе 2 по кратности вакцинации волонтеров показал статистически значимое снижение уровней IL-10 и TNF- α после ревакцинации: как первой, так и повторной. Кроме того, у волонтеров данной группы установлены различия по уровням продукции IL-10 и IFN- γ , которые связаны с кратностью вводимой вакцины и наличием в анамнезе перенесенного COVID-19. Так, у волонтеров со смешанным иммунитетом и последующей вакцинацией «Спутник Лайт» были получены статистически значимо высокие показатели, чем у волонтеров, вакцинированных двухкомпонентной вакциной «ГамКовидВак» в 3,7 и 4,2 раза соответственно (Рисунок 12). Между IgG к N-, S-белкам SARS-CoV-2, IgM и уровнем цитокинов у вакцинированных волонтеров корреляционной связи не выявлено.

Развивающиеся у вакцинированных против SARS-CoV-2 волонтеров реакции иммунной системы, направленные преимущественно по доминирующему Th1-пути, ассоциируются с Th1-ответом цитокинов (IFN- γ и TNF- α) и подтверждают положения о клеточно-опосредованном иммунном ответе.



Примечание: ВЦ – вакцинированные «ГамКовидВак»; Cov/ВЦ – вакцинированные «Спутник Лайт» после перенесенного COVID-19; А – IL-10, Б – IFN-γ *– $p < 0,05$ по сравнению с результатами у волонтеров со смешанным иммунитетом.

Рисунок 12 – Различия в уровне цитокинов среди волонтеров с различным типом иммунного ответа

Установлено преобладание продукции IFN-γ и TNF-α у волонтеров всех трех групп над IL-4, что свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета (Рисунок 13). Вместе с тем, у 23,5 % вакцинированных волонтеров (группа 2) в отличие от участников обследования, перенесших COVID-19, выявлено преобладание IL-4, который инициирует дифференциацию Th0 в Th2, усиливает пролиферацию В-клеток и их дифференциацию в плазматические клетки. Данные обстоятельства указывают на то, что у волонтеров этой группы преобладает гуморальный иммунный ответ (ИС < 1). Среди невакцинированных реконвалесцентов (группа 1) выявлена наибольшая доля (27,8 %) волонтеров с ИС от 1 до 2 у.е., который может свидетельствовать о формировании смешанного варианта иммунного ответа. В этом случае отмечается положительная динамика активации показателей клеточного звена иммунитета, сопровождающаяся

повышением уровня специфических антител к вирусу SARS-CoV-2, и в то же время, у вакцинированных волонтеров такие значения ИС могут свидетельствовать об иммунологической эффективности вакцинации (фактической привитости).

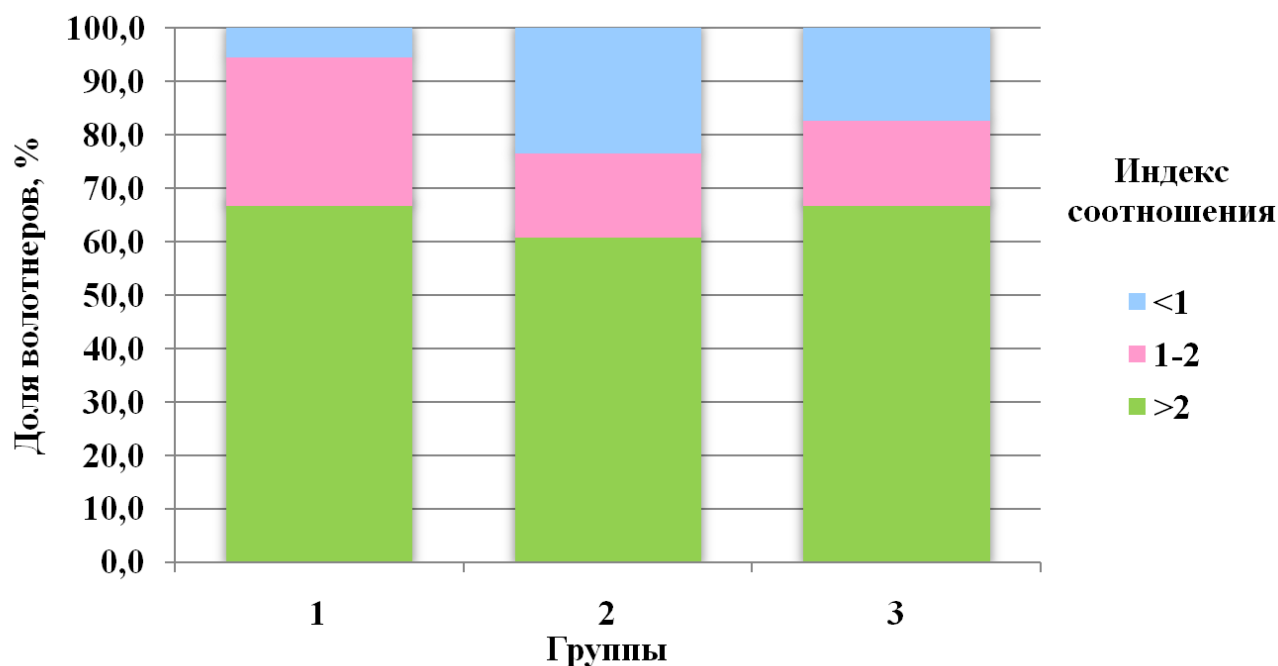


Рисунок 13 – Результат ИС волонтеров в разных группах

Статистически значимых различий между показателями сывороточных цитокинов у перенесших заболевание как до вакцинации, так и после нее, не выявлено.

Таким образом, сравнительный анализ полученных данных выявил достоверное превышение показателей IL-10 и TNF- α у реконвалесцентов по сравнению с группой 3, а также снижение IL-4 по сравнению с вакцинированными, ранее не перенесшими COVID-19.

Результаты многочисленных исследований цитокинового статуса показывают, что SARS-CoV-2 вызывает иммунологические реакции, вовлекающие различные цитокины и хемокины, преимущественно провоспалительного характера. В то же время, данные об уровне цитокинов в крови, выздоровевших от COVID-19 и вакцинированных от этой инфекции

людей, представлены в незначительном объеме. В исследовании показана сравнительная динамика уровней продукции цитокинов у реконвалесцентов и вакцинированных против SARS-CoV-2 волонтеров. В результате комплексного иммунологического мониторинга установлено преобладание клеточного звена иммунитета во всех исследуемых группах, при этом наибольшая доля лиц с развитием иммунного ответа по гуморальному типу выявлена среди вакцинированных волонтеров, а у переболевших невакцинированных установлена наибольшая доля лиц с развитием смешанного иммунного ответа. Полученные результаты дополняют имеющиеся данные о COVID-19 и указывают на необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

3.4 Оценка клеточного звена иммунитета у переболевших COVID-19, контактных и вакцинированных против этой инфекции волонтеров

Проведена оценка состояния врожденного иммунитета у переболевших COVID-19, контактных и здоровых волонтеров по относительному количеству циркулирующих клеток (лимфоциты, моноциты, нейтрофилы и эозинофилы, NK-клетки) методом проточной цитометрии (Рисунок 15 А, Б) в четырех временных точках. Адаптивные иммунные реакции охарактеризованы по маркерам CD4, CD8, CD45Ro, CD45Ra на CD3⁺ Т-клетках и CD5, CD27 на CD19⁺-клетках с помощью проточной цитометрии. Функциональную активность NK-клеток оценивали по уровню экспрессии HLA-DR и Т-лимфоцитов – HLA-DR и CD25. Фенотипирование проводили согласно стратегии гейтирования, представленной на рисунке 3.

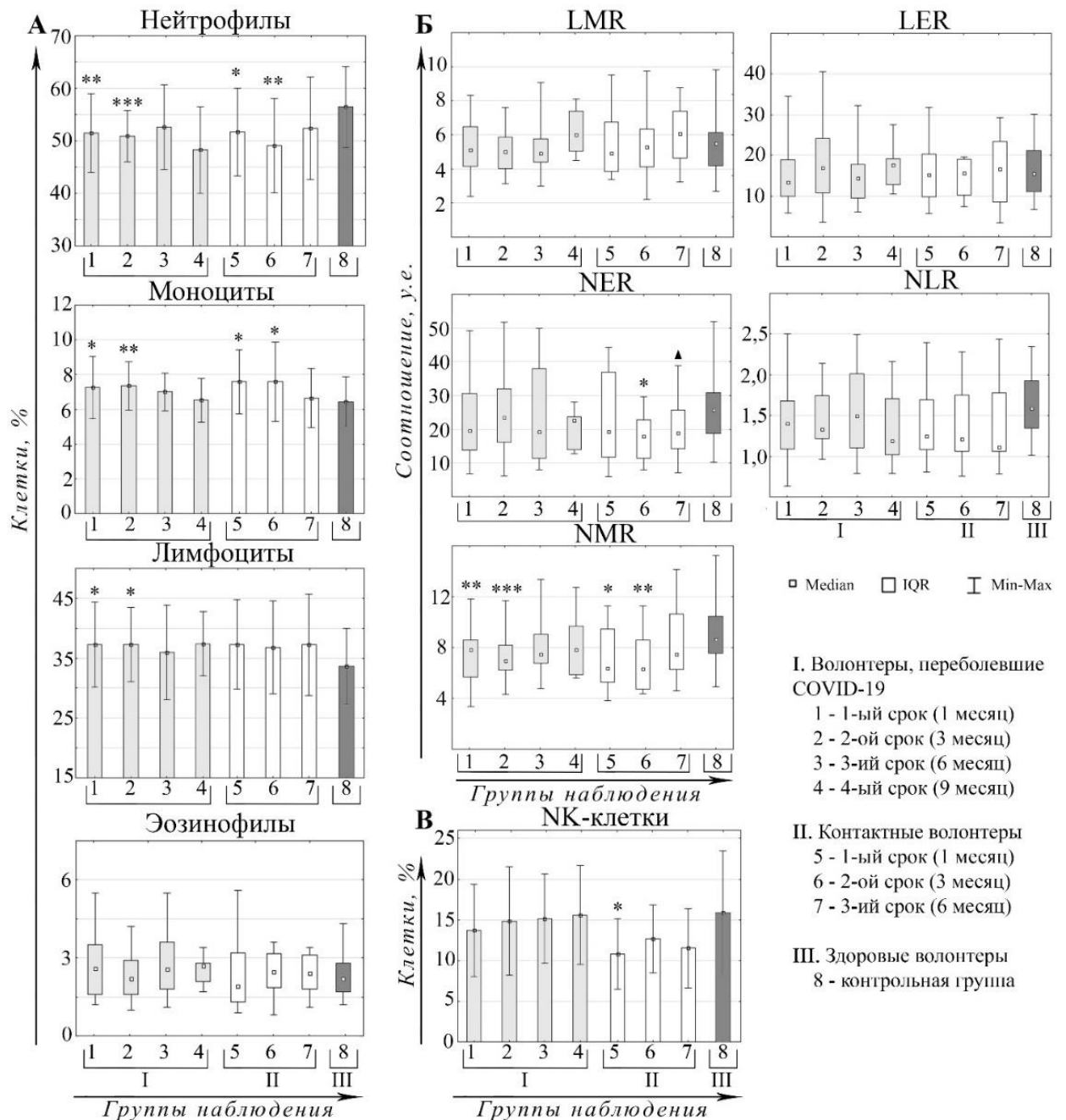
При анализе иммунограмм добровольцев установлено, что у большинства обследованных людей относительное содержание популяций лейкоцитов находилось в пределах референсных значений (нейтрофилы – 47-72 %, лимфоциты – 19-37 %, моноциты – 3-12 %, эозинофилы – 1-5 %). Тем не менее, у 5 ПВ через 1 месяц ППС отмечено увеличение лимфоцитов на 15 % от верхней границы референсных значений и более (5/32, 15,6 %), через 3 месяца ППС – у 6 человек (6/28, 21,4 %), 6 месяцев ППС – у 4 (4/18, 22,2 %), 9 месяцев ППС – у 2 (2/14, 14,3 %). Среди КВ увеличение лимфоцитов наблюдалось у 21,2 % волонтеров (8 чел.), в то время как в группе контроля данный показатель составил 8,5 % (n = 4/47). Повышенное содержание лимфоцитов у незначительной части здоровых людей может быть объяснено физиологическими особенностями организма человека.

При этом у 12,5 % лиц (n = 4/32), переболевших COVID-19, на 1-й срок также отмечалось снижение нейтрофилов в среднем на 19,1 % от нижней границы

референсных значений, у КВ снижение этих клеток отмечено у 4 человек (4/14, 28,6 %) – в среднем на 16,6 % от референсных значений, среди ЗД статистически значимого снижения частоты этих клеток не выявлено.

У КВ и ПВ в первые три месяца выявлено достоверное изменение содержания фагоцитарных клеток (Рисунок 14А). Увеличение содержания лимфоцитов и моноцитов при снижении нейтрофилов отмечено только у переболевших добровольцев, что характерно для вирусных инфекций, в частности для гриппа [109, 150], и свидетельствует о развитии противовирусного иммунного ответа при первичной встрече с патогеном и формировании гуморального иммунитета. Статистически значимых различий процентного содержания эозинофилов между ПВ, КВ и ЗВ не обнаружено.

Для всестороннего анализа полученных данных рассчитывали интегральные гематологические индексы (LMR, LER, NMR, NER, NLR), так как они рассматриваются как более стабильные и информативные показатели при оценке иммунограммы, отражают воспалительные реакции, а также могут являться потенциальными предикторами неблагоприятного прогноза и выступать в качестве кандидатов-маркеров для оценки неспецифической иммунологической реактивности [70, 194, 293]. Анализ соотношений популяций лейкоцитов крови показал, что у волонтеров обследуемых групп наблюдалось снижение NMR через 1 и 3 месяца ППС/ППК в среднем в 1,3 раза по сравнению с ЗВ. Кроме того, у КВ снижалось соотношение нейтрофилов к эозинофилам (NER) на 2-й срок наблюдения в среднем в 1,4 раза по сравнению с остальными неконтактными ($p = 0,018$), тенденция к понижению ($p = 0,062$) данного показателя отмечена и на 3-й срок наблюдения (Рисунок 14Б). Вышеописанные изменения носят временный характер и сохраняются в течение трех месяцев ППС/ППК.



Примечания: А – кинетика основных популяций лейкоцитов; Б – интегральные гематологические индексы; В – кинетика НК-клеток; тёмно-серые боксы – здоровые волонтеры; светло-серые боксы – волонтеры, переболевшие COVID-19; белые боксы – контактные волонтеры; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; ▲ – $0,1 > p > 0,05$ по сравнению с ЗВ.

Рисунок 14 – Характеристика показателей неспецифической резистентности в течение 9 месяцев после ППС/ППК, Mean±SD и Me (IQR)

Статистически значимых изменений LMR, LER, и NLR выявлено не было. У волонтеров групп 2-5 ввиду отсутствия изменений интегральных

гематологических индексов не выявлено серьезных нарушений внутренней среды организма. Снижение индекса NMR отмечено только в группе 3 (ВЦ/Сov) через 1 месяц после начала заболевания (7,4 (7,2-8,6) %, $p = 0,0307$) по сравнению с ЗВ (8,6 (7,6-10,2) %). Достоверное изменение содержания циркулирующих НК-клеток, которые также участвуют в неспецифической резистентности, выявлено у людей, имевших в анамнезе контакт с больными COVID-19 ($10,8 \pm 4,3$ %, $p = 0,0252$) через 1 месяц ППК (Рисунок 15 В) по сравнению с ЗВ ($15,9 \pm 5,6$ %). Стоит отметить, что процентное содержание CD3⁺CD16⁺-клеток находилось в пределах референсных значений (6-26 %).

При анализе содержания ТL между обследованными группами ПВ, КВ и ЗВ изменений не выявлено (Таблица 7).

Таблица 7 – Количественная оценка циркулирующих популяций Т- и В-лимфоцитов, Mean \pm SDиMe (Q25% – Q75%)

Показатель	ПВ				КВ			ЗВ	Референсные значения
	ППС, месяц				ППК, месяц				
	1	3	6	9	1	3	6		
TL, %	70,0 \pm 7,1	70,3 \pm 7,4	68,7 \pm 6,7	70,1 \pm 5,6	74,2 \pm 7,4	72,1 \pm 4,0	73,5 \pm 5,8	70,1 \pm 10,3	61 - 85
Th, %	42,7 \pm 7,7*	43,1 \pm 6,5**	40,7 \pm 9,3	41,4 \pm 5,1	40,8 \pm 5,8	39,0 \pm 5,2	39,8 \pm 5,4	38,1 \pm 8,2	35-55
Tc, %	21,5 \pm 5,6*	22,5 \pm 4,0 [▲]	20,8 \pm 6,5*	21,7 \pm 4,8	24,9 \pm 7,3	26,2 \pm 6,1	24,3 \pm 7,3	25,2 \pm 7,9	19-35
DP, %	0,71 (0,53-1,05)**	0,60 (0,48-0,93)	0,51 (0,44-1,01)	0,43 (0,41-0,92)	0,65 (0,50-1,20)**	0,40 (0,32-0,68)	0,65 (0,40-0,71)	0,50 (0,30-0,65)	0-2
DN, %	3,5 (2,7-5,7)	4,2 (3,1-5,3)	2,9 (2,3-6,6)	4,3 (3,1-5,9)	3,0 (2,3-6,3)	5,4 (2,6-7,1)	3,9 (2,6-5,1)	3,3 (2,6-4,7)	<7
BL, %	10,5 \pm 1,8**	10,5 \pm 2,5*	11,0 \pm 1,1***	10,7 \pm 1,4*	9,7 \pm 1,4	9,9 \pm 2,7	9,4 \pm 1,4	8,7 \pm 1,4	5-18
B1, %	12,0 \pm 5,5	10,2 \pm 6,0	13,4 \pm 4,9**	16,1 \pm 4,5***	12,0 \pm 7,9	15,2 \pm 7,9**	12,9 \pm 4,5*	9,8 \pm 4,1	4,1-17,5
B2, %	56,8 \pm 9,3	59,9 \pm 8,6	53,9 \pm 8,8	57,6 \pm 9,3	52,7 \pm 13,6	58,9 \pm 7,9	55,7 \pm 6,5	57,8 \pm 9,8	–
Bm, %	24,7 \pm 8,8	26,3 \pm 8,6	26,0 \pm 9,1	25,2 \pm 11,8	30,9 \pm 13,7	21,7 \pm 6,2	27,2 \pm 7,8	25,9 \pm 10,1	22,8-39,7
ИРИ, у.е.	1,9 (1,5-2,6)*	2,0 (1,6-2,2)*	1,8 (1,5-2,5) [▲]	1,9 (1,5-2,6) [▲]	1,8 (1,5-2,1)	1,5 (1,2-1,8)	1,6 (1,1-2,5)	1,6 (1,2-2,1)	1,5-2,5
TL/BL, у.е.	7,1 (5,7-8,3)*	7,4 (5,1-9,7) [▲]	6,6 (5,6-7,3)**	6,7 (5,5-8,4)*	8,1 (6,2-9,8)	7,3 (6,1-10,7)	7,2 (6,3-8,5)	7,9 (6,5-11,1)	–

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; [▲] – $0,1 > p > 0,05$ по сравнению с ЗВ

Перераспределение содержания Тс и Тh внутри компартмента Т-клеток было зафиксировано только у переболевших добровольцев: в 1 и 3 мес. ППС отмечалось увеличение Тh по сравнению с ЗВ, а снижение процентного содержания Тс-клеток наблюдалось на протяжении 9 месяцев исследования. Тем

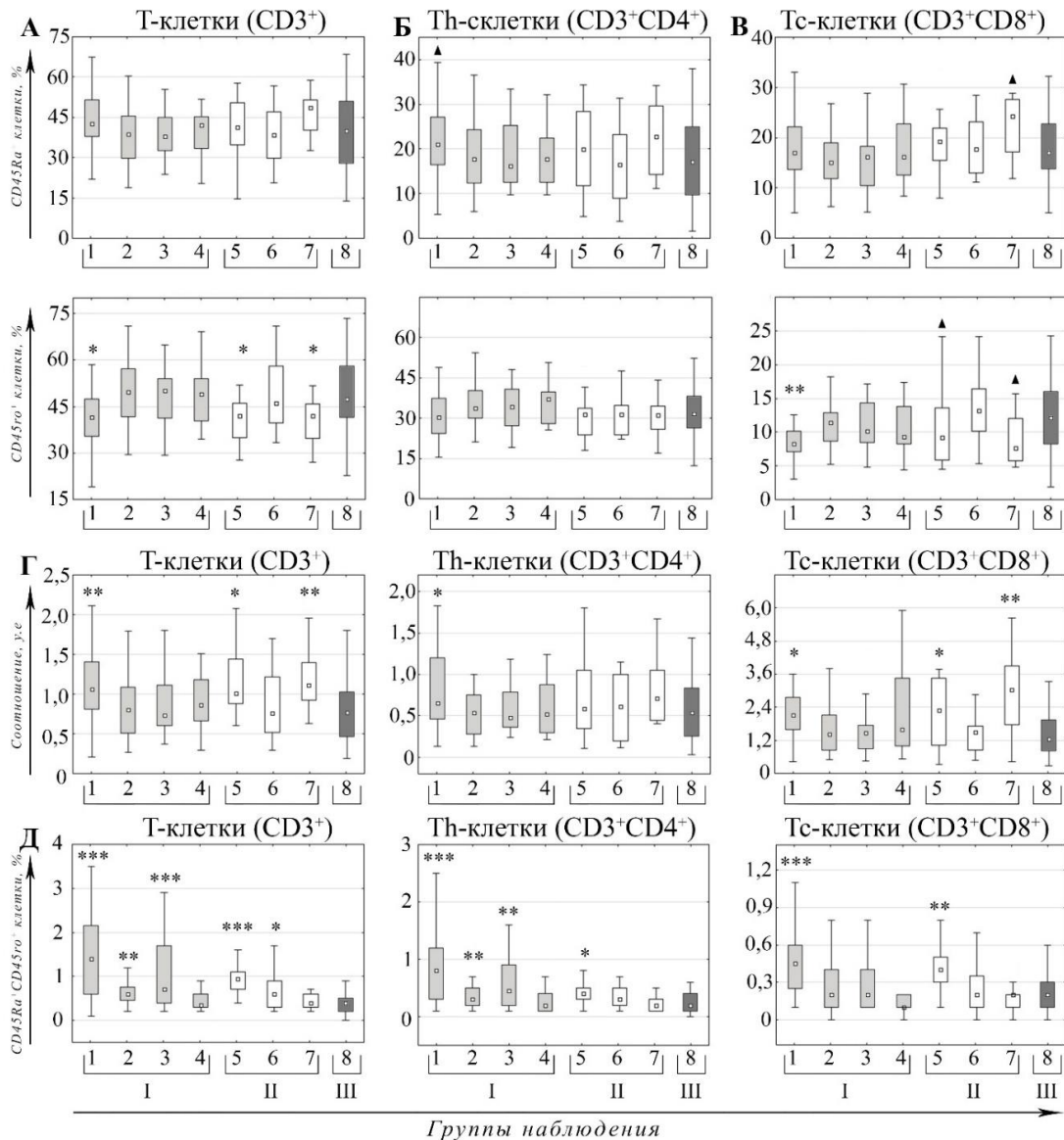
не менее, статистически значимое изменение данного показателя зарегистрировано только через 1 и 6 мес. ППС. Сопоставление изучаемых показателей с референсными значениями показало, что, несмотря на повышение циркулирующих Th, данный показатель не превышал верхней границы референсных значений ни у одного из волонтеров. Снижение циркулирующих Tc на 15 % и более от нижней границы референсных значений через 1 месяц ППС отмечалось у 9 добровольцев (28 %, 9/32), через 3 месяца ППС – у 3 человек (10,7 %, 3/28), 6 месяцев ППС – 6 (33 %, 6/18), в то время как у ЗВ – 6 (13 %, 6/47). Характер перераспределения Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов сказывался на повышении ИРИ на протяжении всего срока наблюдения. Если в первые сроки наблюдения отмечалось изменение ИРИ за счет Tc и Th, то в поздние сроки (6 и 9 месяцев ППС) – за счет снижения доли Tc-клеток (Таблица 7). У КВ изменений вышеописанных субпопуляций Т-лимфоцитов не отмечено. Для волонтеров обеих групп (ПВ, КВ) характерно увеличение DR-клеток на 1-й срок в среднем в 1,4 раза по сравнению с ЗВ. Статистически значимых различий содержания ИРИ, а также TL, DN и NK-клеток между 2-5 группами не зарегистрировано.

Анализ динамики циркулирующих наивных/покоящихся Т-лимфоцитов ($CD3^+CD45Ra^+$) не выявил достоверных различий между ЗВ и КВ, в то же время отмечено статистически значимое снижение $CD3^+CD45Ro^+$ -клеток в 1,2 раза через 1 месяц ППС/ППК ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми волонтерами (Рисунок 15А), что способствовало увеличению соотношения $CD3^+CD45Ra^+:CD45Ro^+$ (Рисунок 15Г) у ПВ через 1 месяц ППС (1,06 у.е., $p = 0,0026$) и у КВ через 1 (1,01 у.е., $p = 0,0172$) и 6 (1,11 у.е., $p = 0,0068$) месяцев ППК по сравнению с ЗВ (0,77). Наблюдаемое перераспределение $CD45Ra^+$ и $CD45Ro^+$ клеток среди TL происходило преимущественно за счет Tc-клеток у КВ, а у ПВ за счет Th и Tc (Рисунок 15Б, В, Г). Повышенные значения $CD8^+CD45Ra^+:CD45Ro^+$ отмечались у обеих групп через 1 месяц ППС/ППК в среднем в 1,8 раз по сравнению с ЗВ (1,25 %). В отношении доли циркулирующих $CD8^+CD45Ra^+$ (24,2 %, $p = 0,0587$) и $CD8^+CD45Ro^+$ (7,6 %, $p = 0,0626$) клеток у КВ через 6 месяцев ППК можно

говорить о тенденции изменения их процентного содержания (ЗВ – 16,9 и 12,1 % соответственно), что отражалось на значениях CD8⁺CD45Ra:CD45Ro (Рисунок 16 В, Г). Увеличение соотношения наивных клеток к клеткам памяти, экспрессирующих CD4 (Рисунок 15Г), зарегистрировано только у волонтеров группы 1 (ПВ – 0,65 %), по сравнению с ЗВ (0,53 %, $p = 0,036$), несмотря на отсутствие достоверных изменений содержания CD4⁺CD45Ra⁺ и CD4⁺CD45Ro⁺ Т-лимфоцитов (Рисунок 15Б). Однако, в случае наивных хелперных Т-лимфоцитов (Рисунок 15Б) можно говорить о тенденции к повышению через 1 месяц ППС (21,0 %, $p = 0,0633$) по сравнению с ЗВ (17,1 %).

В ходе исследования также продемонстрировано увеличение CD45Ra⁺CD45Ro⁺ среди общей популяции Т-клеток (Рисунок 15Д) у обследованных групп. Тем не менее, у волонтеров первой группы обнаружено фазное изменение данного показателя с пиком через 1 (1,40 %, $p < 0,0001$) и 6 (0,71 %, $p < 0,0001$) месяцев ППС (ЗВ – 0,40 %), происходящее за счет Th, в то время как у КВ наблюдалось постепенное снижение (1 месяц ППК – 0,95 %, 3 месяца – 0,60 %, $p < 0,05$) этих клеток в циркуляции (CD3⁺, Th, Tc). У людей обеих групп зафиксировано повышение доли CD3⁺CD8⁺CD45Ra⁺CD45Ro⁺ клеток через 1 месяц ППС/ППК в 2,3 и 2 раза соответственно ($p < 0,01$), которая к 3 месяцу была сопоставима со значениями у ЗВ (Рисунок 15Д).

У волонтеров со смешанным иммунитетом (Cov/ВЦ) в первые сроки наблюдения были выявлены изменения в отношении CD3⁺CD8⁺CD45Ro⁺CD45Ra⁻ клеток (через 1 и 3 месяца: 4,6 % и 5,3 % соответственно) по сравнению с ЗВ (7,8 %, $p < 0,05$). В группе ВЦ/Cov регистрировалось увеличение CD3⁺CD4⁺CD45Ro⁻CD45Ra⁺-клеток через 1 (16,2 % $p = 0,0364$) и 3 месяца (18,7 %, $p = 0,0058$) в сравнении с группой 6 (11,1 %), что сказывалось на соотношении CD3⁺CD4⁺CD45Ra⁺:CD45Ro⁺ (3-ий месяц наблюдения – 1,06 %, $p = 0,0089$; группа 6 – 0,61 %). Изменений соотношения CD45Ra⁺:CD45Ro⁺ Т-лимфоцитов и их субпопуляций у добровольцев групп 2-5 не было выявлено.



Примечание: А – кинетика экспрессии CD45Ra⁺ и CD45Ro⁺ на общей популяции Т-лимфоцитов; Б – кинетика экспрессии CD45Ra⁺ и CD45Ro⁺ на Th; В – кинетика экспрессии CD45Ra⁺ и CD45Ro⁺ на Тс; Г – соотношение CD45Ra⁺:CD45Ro⁺ на Т-лимфоцитах; Д – кинетика коэкспрессии CD45Ra⁺CD45Ro⁺ на общей популяции Т-лимфоцитов, Тс и Th; светло-серые боксы (I) – волонтеры, переболевшие COVID-19; белые боксы (II) – контактные волонтеры; тёмно-серые боксы (III) – здоровые волонтеры; 1 и 5 – 1-ый срок обследования (1 месяц ППС/ППК); 2 и 6 – 2-ой срок обследования (3 месяц ППС/ППК); 3 и 7 – 3-ий срок обследования (6 месяц ППС/ППК); 4 – 4-ый срок обследования (9 месяц ППС); 8 – ЗВ обследованы однократно; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,0001$; ▲ – $0,1 > p > 0,05$ по сравнению с ЗВ

Рисунок 15 – Характеристика популяций, циркулирующих Т-лимфоцитов в течение 9 месяцев после ППС/ППК, Me (Q25 % – Q75 %)

Продемонстрировано участие $CD45Ro^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов и $CD45Ra^+$ Т-хелперов в развитии иммунного ответа у волонтеров, что согласуется с данными исследований [110, 151]. Данное 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 [61]. Кроме того, описанное изменение может объяснить высокий гуморальный ответ у людей с постинфекционным и смешанным иммунитетом. Участие $CD8^+CD45Ro^+$ Т-клеток памяти свидетельствует о развитии полноценного иммунного ответа, потому что недостаточность этих клеток приводит к задержке клиренса вируса, тяжести течения вирусных заболеваний и повышению риска смертности [162].

Анализ кинетики ВL, обеспечивающих гуморальный иммунитет, выявил статистически значимое их увеличение у волонтеров, перенесших COVID-19 в легкой и среднетяжелой формах, на протяжении всего срока наблюдения в среднем в 1,2 раза по сравнению с ЗВ (Таблица 7), а также у волонтеров группы Cov/ВЦ через 1 месяц (14,0 %) как по сравнению с ЗВ (9,1 %, $p = 0,0007$), так и по сравнению людьми, перенесшими первичную инфекцию COVID-19 (10,2 %, $p = 0,0134$) (Рисунок 16). Тем не менее, у всех обследованных добровольцев данный показатель находился в пределах референсных значений (5-18 %). Повышение процентного содержания $CD3^+CD19^+$ -клеток сказывалось на снижении индекса TL:BL (Таблица 7) у группы Cov/ВЦ (5,2 %, $p = 0,0026$) по сравнению с ЗВ (8,0 %). Среди компартмента В-лимфоцитов зафиксировано увеличение популяции, экспрессирующей CD5. Повышенное содержание В1 клеток ($CD19^+CD5^+CD27^-$) и снижение индекса TL:BL у ПВ наблюдали на протяжении всего периода исследования в среднем в 1,2 раза по сравнению со здоровыми, причем через 9 месяцев доля В1 циркулирующих клеток была выше по сравнению с долей этих клеток через 1 месяц ППС ($p = 0,0334$) и 3 месяца ППС ($p = 0,0064$). У добровольцев группы 2 также отметили повышение содержания В1-клеток ($CD3^+CD19^+CD5^+CD27^-$) на протяжении 6 месяцев наблюдения: 1 месяц – 1,9 %, $p =$

0,0083; 3 месяц – 1,4 %, $p = 0,0258$; 6 месяц – 1,8 %, $p = 0,0009$ по сравнению с ЗВ (0,9 %). Аналогичное изменение зарегистрировали и у ревакцинированных добровольцев (группа 5) на протяжении 3 месяцев наблюдения (1 месяц – 1,6 %, $p = 0,0016$; 3 месяц – 1,6 %, $p = 0,0016$). Повышение данного показателя у КВ зарегистрировано через 3 и 6 месяцев ППК. Изменений содержания В2 и Вм клеток не выявлено.

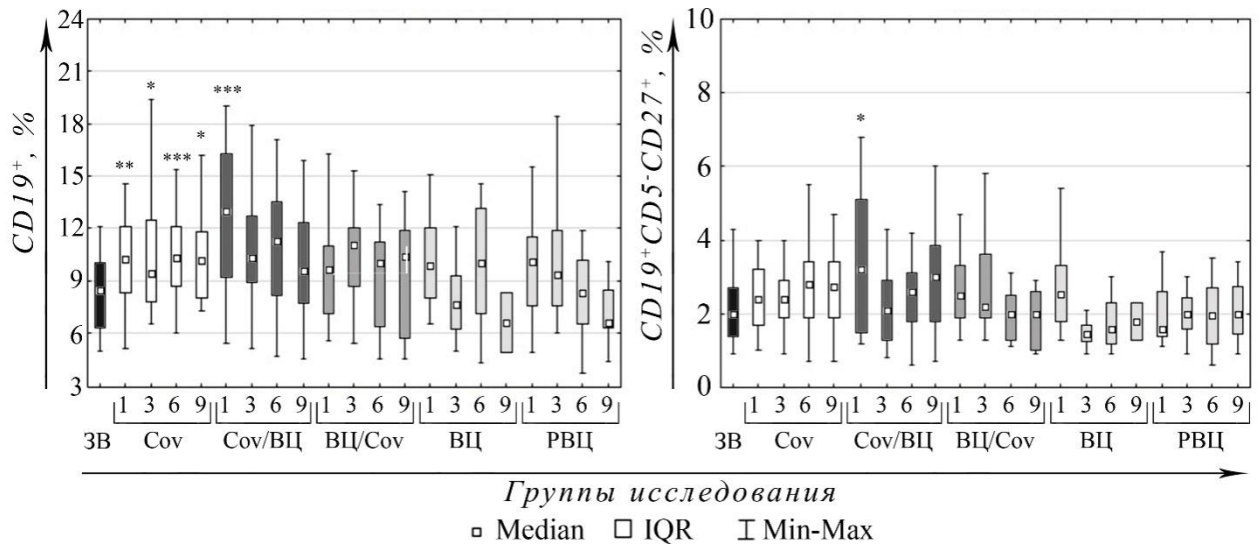


Рисунок 16 – Динамика содержания В-лимфоцитов и В-клеток памяти, Median (IQR); * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ по сравнению со здоровыми волонтерами.

Примечание: черный бокс – здоровые волонтеры (ЗВ); белые боксы – волонтеры с постинфекционным иммунитетом (Cov); темно-серые боксы – волонтеры со смешанным (Cov/ВЦ) иммунитетом; средне-серые боксы – волонтеры со смешанным (ВЦ/Cov) иммунитетом; светло-серые боксы – волонтеры с вакцинальным иммунитетом (ВЦ, РВЦ); цифрами указаны сроки наблюдения, соответствующие 1, 3, 6 и 9 месяцу наблюдения.

Стоит обратить внимание, что содержание В1-клеток (0,5-2,1 %) находилось в пределах референсных значений. Не зарегистрировано каких-либо различий в содержании ВL, экспрессирующих CD38 и CD69. Увеличение доли ВL (Рисунок 16) у волонтеров группы 2 через 1 месяц наблюдения, по-видимому, связано с

увеличением содержания В-клеток памяти ($CD3^+CD19^+CD5^+CD27^+$) в 2 раза (4,0 %, $p = 0,0104$) по сравнению со здоровыми волонтерами (2,0 %). Содержание В-лимфоцитов памяти (1,8-6,8 %) находилось в пределах референсных значений. Изменений в распределении В-клеток памяти на основании экспрессии IgD и CD27 в данной группе не выявили.

Для статистического сравнения В-клеток памяти с «непереключенным» ($CD19^+IgD^+CD27^+$), и «переключенным» классом синтезируемых антител ($CD19^+IgD^-CD27^+$), дабл-негативных В-клеток ($CD19^+IgD^-CD27^-$), а также В-наивных ($CD19^+IgD^+CD27^-$) использовали данные референсных значений [133] и метод бутстрепа. У групп 1-5 отмечено снижение количества наивных В-клеток по сравнению с референсными значениями. Регистрировали увеличение содержания дабл-негативных В-лимфоцитов (Рисунок 17), сниженное содержание $CD19^+IgD^+CD27^+$ -клеток преимущественно в течение 3 месяцев после перенесенного заболевания или вакцинации. В случае В-лимфоцитов с «переключенным» классом синтезируемых антител, выявлено повышение их процентного содержания у переболевших COVID-19 после вакцинации через 1 месяц после перенесенной коронавирусной инфекции. В группе ВЦ через 1 и 3 месяца после вакцинации показатель количества $CD19^+IgD^-CD27^-$ клеток статистически значимо выше в 3,0 раза чем у людей COV ($p < 0,01$), Cov/ВЦ – в 2,5 раза ($p < 0,001$), ВЦ/Cov – в 2,1 раза ($p < 0,05$).

Оценка функциональной активности клеток имеет важное значение, так как позволяет судить о напряженности иммунитета. Избыточная активация клеточного звена может являться определяющим фактором в патогенезе болезни и постковидном синдроме. Для оценки функционального состояния циркулирующих в крови Т-лимфоцитов и НК-клеток оценивали экспрессию HLA-DR.

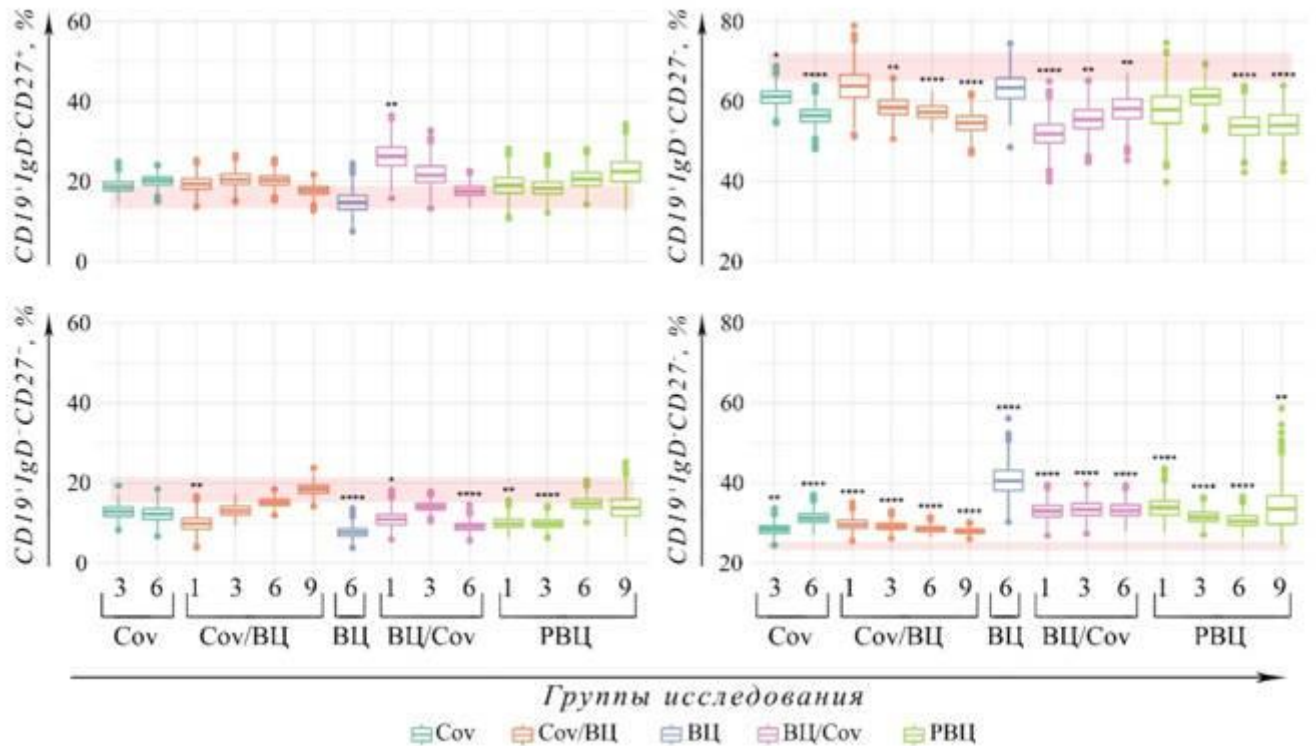
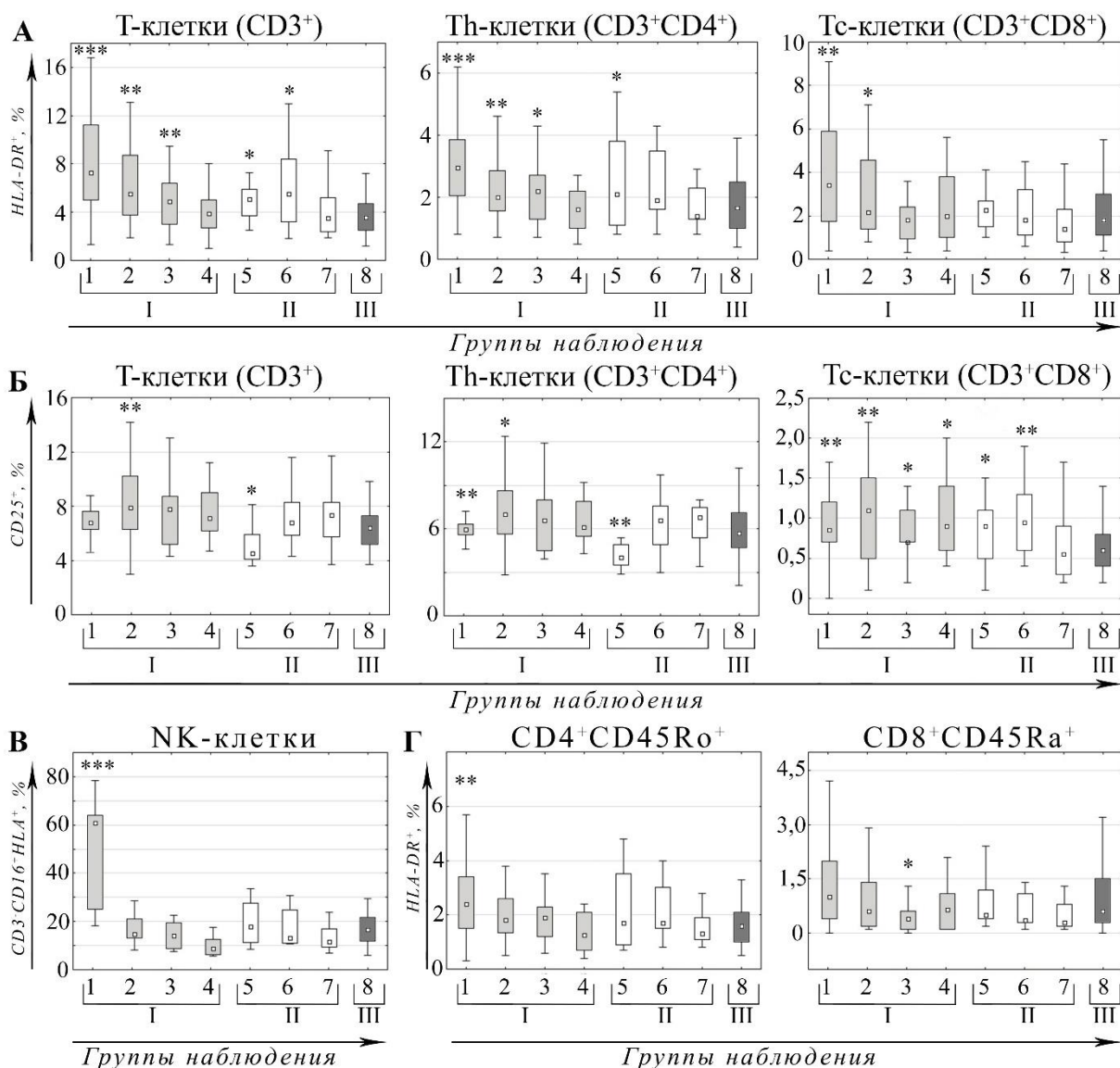


Рисунок 17 – Сравнение массива средних значений, полученных методом бутстрепа (1000 реплик), для $CD19^+IgD^+CD27^+$, $CD19^+IgD^-CD27^+$, $CD19^+IgD^-CD27^-$, $CD19^+IgD^+CD27^-$ В-клеток в исследуемых группах с референсными значениями (красная область), Median (IQR); * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, **** – $p < 0,0001$.

Зарегистрировано повышенное содержание циркулирующих $CD3^+HLA-DR^+$ Т-клеток у ПВ до 6 месяца ППС с постепенным снижением к данному сроку (1 месяц ППС – 7,3 %, 3 месяц – 5,6 %, 6 месяц – 4,9 %) и полным восстановлением значений до уровня здоровых волонтеров (3,5 %) через 9 месяцев ППС. У КВ отмечали повышение содержания этих клеток в циркуляции в течение 3 месяцев наблюдения (1 месяц ППК – 5,1 %, 3 месяц – 5,5 %) за счет Th (Рисунок 18А).

Повышенный уровень ($p < 0,05$) экспрессии $CD25^+$ (Рисунок 18Б) выявлен у ПВ на цитотоксических Т-лимфоцитах на протяжении всего периода наблюдения в среднем 1,5 раза и на Th через 3 месяца ППС в 1,2 раза по сравнению с ЗВ (0,60 % и 5,7 % соответственно). У КВ отмечено аналогичное изменение Тс-клеток, экспрессирующих $CD25$, и снижение $CD25^+Th$ через 1 месяц ППК на 1,4 раза по сравнению с ЗВ.



Примечание: А – экспрессия маркера активации HLA-DR на Т-лимфоцитах; Б – экспрессия маркера активации CD25 на Т-лимфоцитах; В – экспрессия маркера активации HLA-DR на NK-клетках; Г – экспрессия маркера активации HLA-DR на наивных Тс клетках (CD3⁺CD8⁺CD45Ra⁺HLA-DR⁺) и Th клетках памяти (CD3⁺CD4⁺CD45Ro⁺HLA-DR⁺); светло-серые боксы – волонтеры, переболевшие COVID-19 (I); белые боксы – контактные волонтеры (II); темно-серые боксы – здоровые волонтеры (III); 1 и 5 – 1-ый срок обследования (1 месяц ППС/ППК); 2 и 6 – 2-ой срок обследования (3 месяц ППС/ППК); 3 и 7 – 3-ий срок обследования (6 месяц ППС/ППК); 4 – 4-ый срок обследования (9 месяц ППС); 8 – 3В обследованы однократно; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,0001$ по сравнению с 3В

Рисунок 18 – Функциональное состояние Т-лимфоцитов и NK-клеток, циркулирующих в крови, Me (Q25 % – Q75 %)

При анализе экспрессии HLA-DR на наивных Т-клетках и Т-клетках памяти обнаружено незначительное количество этих клеток в циркуляции. Изменение их кинетики выявлено только у ПВ. Так, для данной группы людей установлено увеличение CD4⁺CD45Ro⁺-клеток, экспрессирующих HLA-DR (2,4 %, $p = 0,006$), по сравнению с контрольной группой (1,6 %) (Рисунок 18Г). В случае HLA-DR⁺ наивных Тс у ПВ отмечено снижение доли этих клеток в циркуляции через 6 месяцев ППС. Изменений содержания CD4⁺CD45Ra⁺HLA-DR⁺ и CD8⁺CD45Ro⁺HLA-DR⁺-клеток не выявлено ни у переболевших, ни у контактных волонтеров. Несмотря на минорное количество (менее 1 %) CD45Ra⁺CD45Ro⁺HLA-DR⁺-клеток в циркуляции, через 1 месяц ППС выявлено повышение их содержания как среди Th, так и Тс в 2 раза по сравнению с контролем ($p < 0,001$).

У волонтеров со смешанным и поствакцинальным иммунитетом на протяжении 9 месяцев наблюдения регистрировался повышенный уровень Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR. В случае CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов у ВЦ отмечено сниженное количество этих клеток с 3 по 9 месяц наблюдения, в то время как у Cov/ВЦ и ВЦ/Cov экспрессия CD25⁺ Т-лимфоцитами была увеличена на 1 месяц наблюдения в среднем в 1,5 раза по сравнению с ЗВ (Таблица 8). Различий содержания, активированных Т-лимфоцитов между изучаемыми группами 1-5 не выявлено. При сопоставлении полученных результатов содержания, активированных Т-лимфоцитов (HLA-DR⁺ и CD25⁺) с референсными значениями (1,3-10 % и 3,5-12,5 % соответственно) у ЗВ изучаемые показатели находились в указанных пределах.

Анализа функциональной активности NK-клеток показал, что во время пандемии у ЗВ содержание CD3⁺CD16⁺HLA-DR⁺ клеток было выше в среднем в 6 раз (16,6 %, $p < 0,0001$) по сравнению с референсными значениями (0-2,6 %). У ПВ не было установлено изменений доли циркулирующих натуральных киллеров, тем не менее через 1 месяц ППС обнаружена значительная функциональная активация NK-клеток (61,0 %, $p = 0,0093$), которая сопровождалась экспрессией HLA-DR (Рисунок 18В), к 3 месяцу содержание этих клеток значительно

снижалось. Через полтора года после начала пандемии у волонтеров 2-5 групп содержание НК-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 НК-клеток по сравнению с Cov/ВЦ и ВЦ/Cov ($p < 0,01$) в среднем в 2,6 раза (Таблица 8).

Таблица 8. Результаты анализа функциональной активности клеток в динамике, Ме (IQR).

Группа	Срок наблюдения, мес.	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)	1	7,8 (4,2-8,5)*	10,0 (8,7-12,5)*	2,8 (1,9-6,1)** ▲
	3	5,0 (4,1-11,8)*	7,0 (4,9-8,7)	2,3 (1,4-4,4)*** ▲
	6	5,5 (4,1-7,5)**	6,7 (4,5-8,5)	2,1 (1,2-3,0)*** ▲
	9	5,4 (4,0-8,9)*	3,8 (2,9-11,5)	2,0 (1,1-3,2)***
ВЦ/Cov (3)	1	6,0 (4,8-7,6)**	9,3 (4,4-16,4)**	2,8 (2,0-4,9)*** ▲
	3	4,2 (3,7-5,5)*	5,7 (2,6-7,1)	2,1 (1,9-3,1)*** ▲
	6	5,9 (3,8-14,7)*	5,8 (4,2-9,1)	2,7 (2,0-3,9)*** ▲
	9	13,2 (9,4-18,2)***	8,4 (6,5-15,3)	2,6 (2,4-4,1)***
ВЦ (4)	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)	1	5,3 (3,6-9,1)*	6,4 (5,8-9,1)	2,6 (2,0-5,5)*** ▲
	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)	–	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, ▲ – $p < 0,01$ по сравнению с группой 4 (ВЦ)

Установлено снижение NK-клеток, экспрессирующих альфа цепь CD8 (CD3⁻CD8⁺), на 3 и 6 месяц у ВЦ (2,9 % и 2,1 % соответственно), Cov/ВЦ (2,6 % и 2,8 %) и ВЦ/Cov (2,7 % и 1,6 %) по сравнению со здоровыми волонтерами (4,0 %, $p < 0,05$), в то время как у людей с постинфекционным иммунитетом подобных изменений не регистрировали. Это может косвенно указывать на элиминацию вируса из организма. Известно, что NK-клетки обладают повышенной цитотоксичностью за счет того, что молекула CD8 способствует их выживанию после лизиса клеток-мишеней. Также причиной наблюдаемых изменений может быть их способность генерировать антиген-специфическую память [168].

Наличие вирусспецифических IgG к нуклеокапсиду вируса во всех образцах полученных сывороток оценивали качественным методом с помощью ИФА. На примере людей с наличием SARS-CoV инфекции в анамнезе была продемонстрирована длительная (через 17 лет) циркуляция N-специфических T-клеток [115], что указывает на существенную роль нуклеокапсида в формировании долговременной памяти. Для оценки иммунного профиля в зависимости от наличия специфических анти-N антител класса G к вирусу SARS-CoV-2 волонтеры групп ПВ и KB были разделены на подгруппы (Рисунок 19).

Отрицательный результат на наличие антител класса G к N белку вируса SARS-CoV-2 у здоровых волонтеров можно рассматривать как подтверждение отсутствия в анамнезе COVID-19, так и перенесенного ранее заболевания SARS-CoV инфекции, поскольку экспериментально доказано наличие перекрестно-реактивных клеток между этими вирусами [79, 115, 159]. Данный аспект указывает на корректность подобранных добровольцев в группу контроля, что нивелирует влияние близкородственной инфекции SARS-CoV на изучаемые показатели иммунной системы.

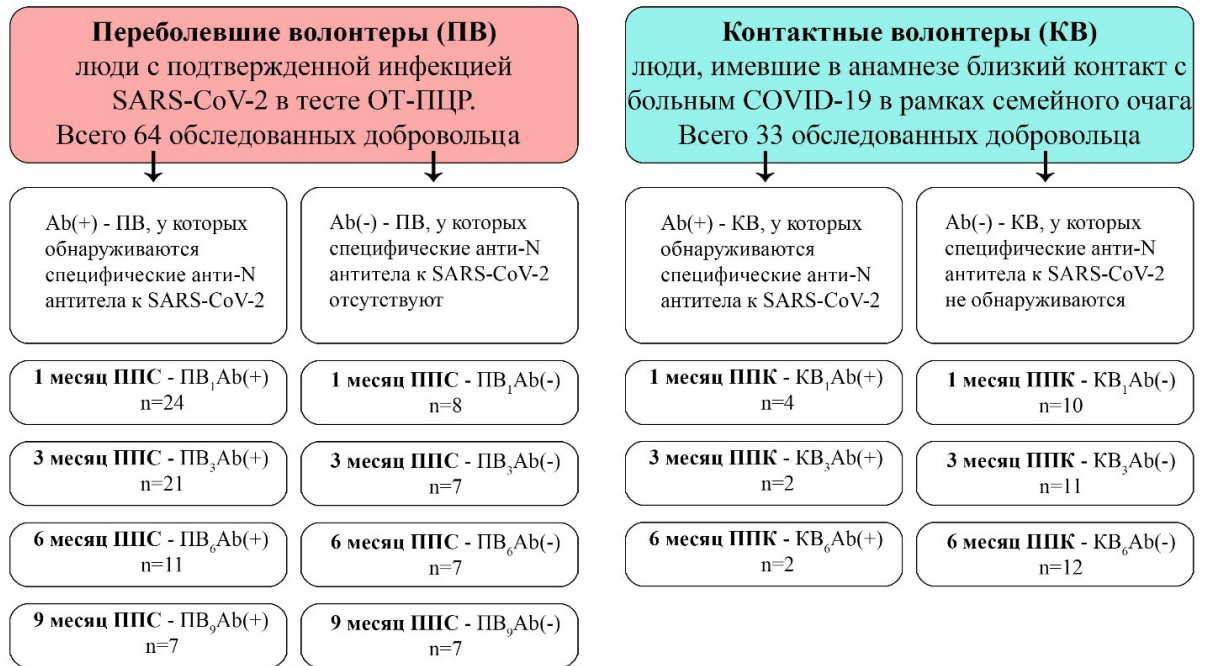
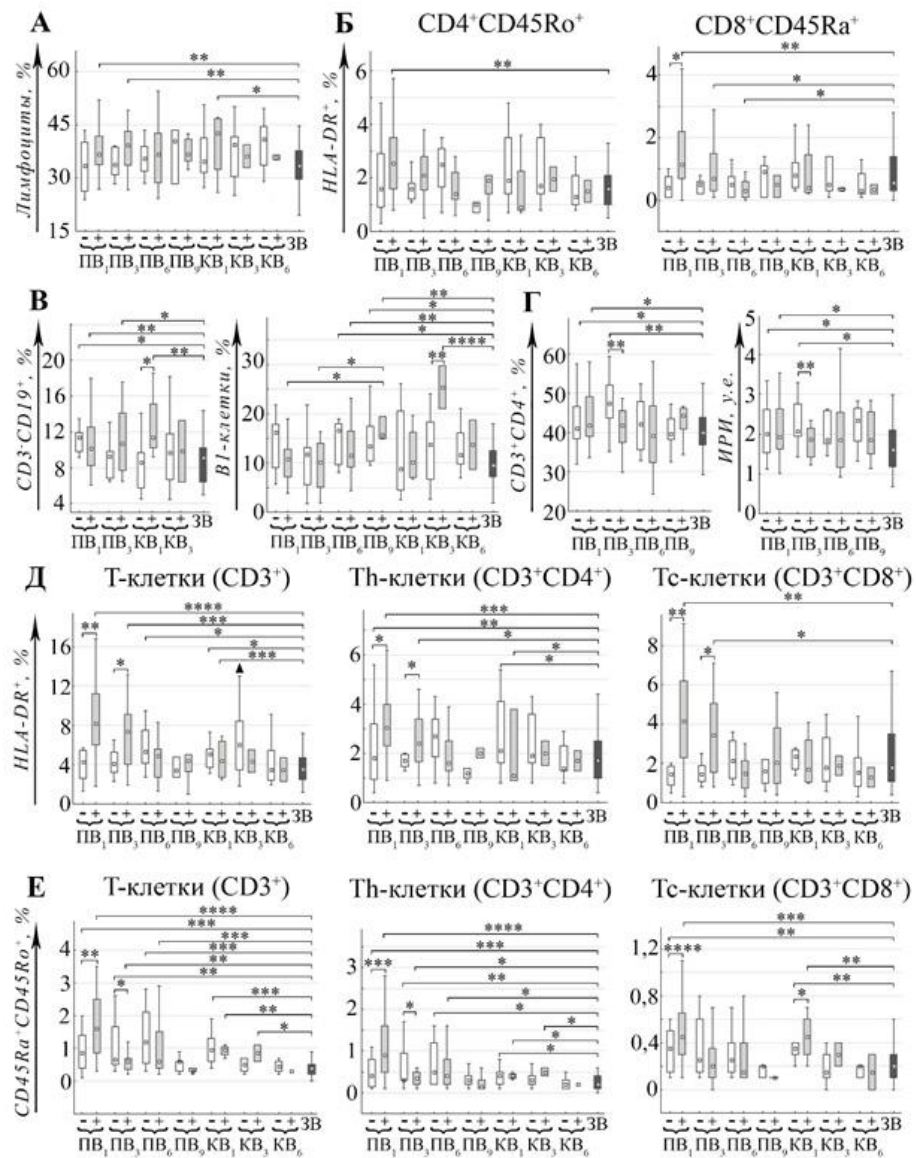


Рисунок 19 – Дизайн исследования для оценки характера изменений иммунологических показателей периферической крови в зависимости от наличия специфических антител к N белку SARS-CoV-2.

Анализ полученных данных не выявил различий по содержанию моноцитов, эозинофилов, а также гематологических индексов (LMR, LER, NMR, NER, NLR) между людьми, у которых обнаруживали специфические антитела к N-белку SARS-CoV-2, и людьми Ab(-) среди переболевших и контактных волонтеров. Однако, отмеченное повышенное содержание в крови лимфоцитов, продемонстрированное у ПВ (1 месяц ППС – 36,7 % и 3 месяц ППС – 38,7 %), наблюдали именно у людей с антителами к вирусу SARS-CoV-2 (Рисунок 20А): Ab(+) – 36,7 % и 39,2 %; Ab(-) – 33,4 % и 33,8 % соответственно по сравнению с ЗВ (33,4 %).

В случае нейтрофилов отмечена особенность: несмотря на отсутствие различий содержания этих клеток у КВ и ПВ через 1 месяц ППС/ППК в зависимости от наличия антител, через 3 месяца ППС/ППК достоверное снижение циркулирующих нейтрофилов (45,4 %, $p = 0,0079$) происходило у КВ Ab(-) по сравнению с ЗВ (52,2 %).



Примечание: А – кинетика общей популяции лимфоцитов; Б – экспрессия маркера активации HLA-DR на наивных Тс клетках ($CD3^+CD8^+CD45Ra^+HLA-DR^+$) и Th клетках памяти ($CD3^+CD4^+CD45Ro^+HLA-DR^+$); В – процентное содержание В-лимфоцитов и В1 клеток; Г – изменение доли хелперных Т-лимфоцитов и ИРИ у переболевших волонтеров; Д – кинетика экспрессии HLA-DR на компартментах Т-лимфоцитов; Е – кинетика процентного содержания $CD45Ra^+CD45Ro^+$ Т-лимфоцитов; тёмно-серые боксы – здоровые волонтеры (ЗВ); светло-серые боксы – волонтеры, переболевшие COVID-19 (ПВ); белые боксы – контактные волонтеры (КВ); «+» – люди с наличием специфических антител, «-» – люди, у которых специфические антитела отсутствуют; цифры в нижнем апострофе – срок исследования, месяцы; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$; ▲ – $0,1 > p > 0,05$ по сравнению с ЗВ

Рисунок 20 – Характеристика иммунного профиля у ПВ и КВ в зависимости от наличия специфических антител к N-белку SARS-CoV-2, Me (IQR)

Отмечена важная роль NK-клеток у контактных волонтеров, снижение которых происходило именно у людей без специфических антител $KB_1Ab(-)$ (8,6 %) как по сравнению с $KB_1Ab(+)$ (13,6 %, $p = 0,0377$), так и с группой контроля (14,0 %, $p = 0,0149$), различий между $KB_1Ab(+)$ и ЗВ не обнаружено. Примечательно, что несмотря на нормальное содержание этих клеток у ПВ в периферической крови, тем не менее, через 1 месяц ППС зарегистрирована значительная активация NK-клеток, экспрессирующих HLA-DR, которая была в большей степени выражена у добровольцев без циркулирующих антител IgG к N белку SARS-CoV-2 (выше в среднем в 4,5 раза по сравнению с ЗВ (16,6 %, $p < 0,01$)).

У $KB Ab(+)$ обнаружено статистически значимое (11,4 %, $p < 0,05$) увеличение $CD3^+CD19^+$ по сравнению с ЗВ (9,1 %) и $KB_1Ab(-)$ (8,6 %) через 1 и 3 месяца ППС/ППК (Рисунок 20В). У ПВ увеличение уровня VL не зависело от наличия специфических антител и находилось на уровне значений, выявленных у добровольцев через 1 месяц ППС (10,2-11,8 %). Различий содержания циркулирующих VL на поздних сроках исследования (6 и/или 9 месяцев ППС/ППК) между людьми со специфическими антителами и без них не выявлено.

В группе KB увеличение V1 клеток регистрировали через 3 и 6 месяцев ППК, а у ПВ – через 6 и 9 месяцев ППС. (Таблица 7). $CD19^+CD5^+CD27^-$ клетки выявляли через 3 месяца ППК у KB со специфическими антителами к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 в 1,8 раза чаще по сравнению с $Ab(-)$ людьми ($p < 0,01$), а у ПВ увеличение циркулирующих V1 клеток происходило независимо от анти-N IgG (Рисунок 20В). Ввиду незначительного количества добровольцев с $Ab(+)$ среди KB на 3 и 6 месяцев PCO ($n = 2$) результаты следует интерпретировать с осторожностью, поскольку данное обстоятельство из-за значительной неоднородности группы (большой IQR) увеличивает риск ложноотрицательного или ложноположительного результата. Различий процентного содержания V2 и Vm между $Ab(+)$ и $Ab(-)$ людьми не было выявлено.

При анализе компарментов TL (Рисунок 20Г), зарегистрировано повышенное количество Th у волонтеров $Ab(-)$ группы 1 через 3 месяца ППС по

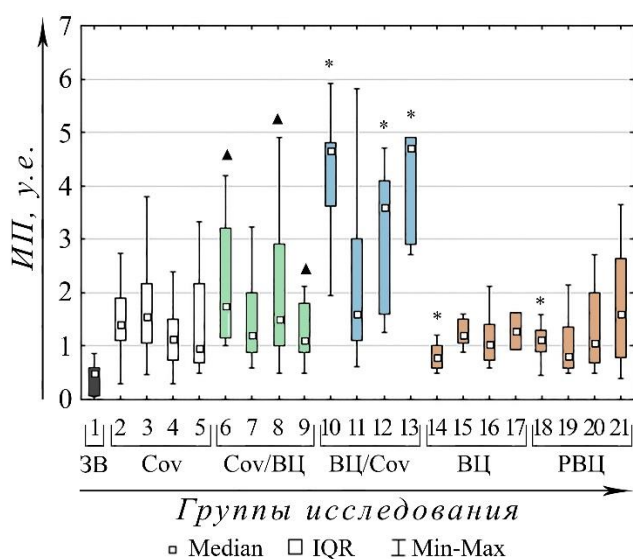
сравнению с Ab(+) и ЗВ, что также сказывалось на повышении ИРИ у данной группы людей по сравнению с ЗВ. Важно отметить, что у переболевших волонтеров через 1 месяц ППС доля содержания Th и показатель ИРИ между подгруппами Ab(+) и Ab(-) волонтеров не имели статистически значимых различий, эти показатели были сопоставимы со значениями, наблюдаемыми у Ab(+) ПВ через 3 месяца ППС. Сниженное содержание Tc клеток у волонтеров группы 1 во все сроки наблюдения (Таблица 7) не зависело от наличия специфических антител к N-белку SARS-CoV-2. Повышение доли DP T-клеток, отмеченное у ПВ через 1 месяц ППС, происходило у людей с наличием специфических антител к N белку коронавируса (0,72 %) как по сравнению с ПВ₁Ab(-) (0,65 %, $p = 0,0382$), так и ЗВ (0,5 %, $p = 0,004$), хотя между KV₁Ab(+) и KV₁Ab(-) различий не выявлено (данные не показаны). Разницы в доле циркулирующих DN клеток и соотношения CD3⁺: CD3⁻CD19⁺ между подгруппами людей Ab(+) и Ab(-) не зарегистрировано.

Установлено изменение содержания TL с коэкспрессией CD45Ra и CD45Ro, которое характеризовалось разной кинетикой у исследуемых групп людей в зависимости от наличия антител (Рисунок 20E). Так у ПВ доля CD45Ra⁺CD45Ro⁺хелперных T-лимфоцитов изменялась с течением времени: через 1 месяц ППС уровень этих клеток был выше у людей Ab(+) в 2,2 раза, через 3 месяца – больше у людей с Ab(-) в 1,2 раза, через 6 месяцев – различия между Ab(+) и Ab(-) отсутствовали, а у KV через 1 месяц ППК различий в доле этих клеток между людьми Ab(+) и Ab(-) не выявили, через 3 месяца ППК – увеличение доли CD4⁺CD45Ra⁺CD45Ro⁺ клеток отмечено именно у Ab(+) людей. Процентное содержание киллерных T-лимфоцитов с коэкспрессией CD45Ra и CD45Ro (Рисунок 20E) у обеих групп людей через 1 месяц ППС/ППК было статистически значимо больше у людей Ab(+) в среднем в 1,3 раза ($p < 0,01$).

Анализ уровня функциональной активности ТL и их субпопуляций по экспрессии HLA-DR у группы 1 выявил большую долю активированных лимфоцитов ($p < 0,01$) именно у Ab(+) людей в среднем в 2 раза (Рисунок 20Д). Обращает на себя внимание отсутствие активированных Тс клеток у ПВ без антител к N-белку SARS-CoV-2, а также у KB. Экспрессия HLA-DR на Th клетках наблюдалась через 1 месяц ППК у KB независимо от антител к N-белку SARS-CoV-2, а у ПВ через 1 и 3 месяца ППС маркер активации HLA-DR экспрессировался преимущественно у людей с Ab(+). Изменение экспрессии HLA-DR на CD8⁺CD45Ra⁺ (1 месяц – в 2,9 раза выше, 3 месяц – в 1,4 раза) и CD4⁺CD45Ro⁺ (1 месяц – в 1,6 раз выше) клетках также было выявлено у людей подгруппы Ab(+) среди ПВ (Рисунок 20Б).

При анализе экспрессии CD25 на ТL показано снижение содержания CD3⁺CD4⁺CD25⁺-клеток у KB и их повышение независимо от наличия антител. В тоже время увеличение Тс, экспрессирующих CD25, у KB ($p < 0,05$) отмечали через 1 (1,1 (0,5-1,3) %) и 3 месяца (1,0 (0,8-1,3) %) ППК у людей Ab(-) в 1,3 и 1,8 раза соответственно по сравнению с Ab(+) людьми (1 месяц – 0,7 (0,5-0,9) %, 3 месяца – (0,6 (0,4-0,7) %) и ЗВ (0,6 (0,4-0,8) %).

У волонтеров, обладающих смешанным иммунитетом (ВЦ/Сov), отмечали значительное увеличение значения индекса позитивности (ИП) >1 (Рисунок 21) по сравнению с людьми с постинфекционным (Сov) и смешанным (Сov/ВЦ) иммунитетами. В случае волонтеров, вошедших в группы ВЦ и РВЦ, в 1-ый срок наблюдения (1 месяц) регистрировались низкие значения ИП по сравнению с группой Сov.



Примечание: черный бокс – здоровые волонтеры (3В); белые боксы – волонтеры с постинфекционным иммунитетом (Cov); зеленые боксы – волонтеры со смешанным (Cov/ВЦ) иммунитетом; синие боксы – волонтеры со смешанным (ВЦ/Cov) иммунитетом; оранжевые боксы – волонтеры с вакцинальным иммунитетом (ВЦ, РВЦ); цифрами указаны сроки наблюдения, соответствующие 1, 3, 6 и 9 месяцу наблюдения.

Рисунок 21 – Наличие специфических антител IgG к N-белку вируса SARS-CoV-2, Median (IQR); * – $p < 0,01$ по сравнению с Cov, ▲ – $p < 0,01$ по сравнению с ВЦ/Cov

Статистический анализ уровня цитокинов выявил увеличенное содержание IL-10 у ВЦ на 6 месяц (5,8 %) наблюдения по сравнению с Cov (3,4 %; $p = 0,0356$), ВЦ/Cov (2,4 %; $p = 0,0088$) и Cov/ВЦ (3,7 %; $p = 0,0048$). У людей, вошедших в группу РВЦ (0,4 %) и ВЦ/Cov (0,4 %), на 1 месяц наблюдения отмечалось низкое значение TNF- α по сравнению с ВЦ (3,1 %; $p = 0,0142$ и $p = 0,0098$ соответственно) и Cov (1,5 %; $p = 0,0107$ и $p = 0,0064$ соответственно). Различий в содержании IL-4 и IFN- γ не обнаружено.

Сопоставление результатов постинфекционного иммунитета со смешанным показало, что значительное повышение содержания VL у волонтеров Cov/ВЦ 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.

Таким образом, продемонстрирована роль клеток, участвующих в развитии неспецифической резистентности (моноциты, нейтрофилы), изменение содержания которых наблюдалось в течение 3 месяцев после перенесённого заболевания или контакта с заболевшим COVID-19. У КВ отмечена важная роль НК-клеток в предотвращении манифестной инфекции.

Зарегистрированы продолжительные изменения субпопуляционного состава клеток крови в отношении функциональной активности независимо от вида иммунитета. Установлено повышенное содержания HLA-DR⁺ киллерных и хелперных Т-лимфоцитов, а также HLA-DR⁺ НК-клеток и CD4⁺CD45Ro⁺HLA-DR⁺ в циркуляции у ПВ, в то время как у КВ зарегистрировано увеличение экспрессии HLA-DR только на Th клетках. Показана важная роль НК-клеток в предотвращении инфекции во время пандемии, что характеризовалось повышенным уровнем функциональной активности этих клеток (CD3⁺CD16⁺HLA-DR⁺) у людей контрольной группы. В связи с тем, что биологический материал от волонтеров контрольной группы забирали во время пандемии с ноября 2020 г. по март 2021 г., это возможно указывает на некоторую активацию данных клеток у ЗВ, что демонстрирует их важную роль в предупреждении манифестной инфекции. Примерно через год после начала пандемии у волонтеров 2-5 групп содержание НК-клеток, экспрессирующих HLA-DR, возвращалось к уровню референсных значений независимо от перенесенной болезни или вакцинации. Усиленная активация Т-клеток, сопровождающаяся увеличением экспрессии HLA-DR, была показана при остром COVID-19 [166, 170].

Детальный анализ кинетики иммунологических показателей крови у ПВ и КВ в зависимости от наличия специфических антител к коронавирусу показал, что наиболее существенные изменения изучаемых показателей выявляли в отношении субпопуляций Т-лимфоцитов, а именно содержания CD3⁺CD45Ra⁺CD45Ro⁺ клеток и экспрессии HLA-DR на различных

компартаментах CD3⁺ клеток, которые в большей степени выражены у ПВ со специфическими антителами.

У людей со смешанным иммунитетом формируется более стойкий и устойчивый гуморальный иммунный ответ по сравнению с теми, кто один раз переболел COVID-19 или вакцинированными, что подтверждается данными литературы [37, 156]. Характер изменений изучаемых показателей у людей, переболевших COVID-19 до вакцинации (содержание В-лимфоцитов и В1-клеток), 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. Тем не менее, предшествующая инфицированию вакцинация усиливает гуморальный иммунный ответ.

Гуморальный иммунитет и уровень функциональной активности Т-лимфоцитов сохраняются в течение 9 месяцев у людей с постинфекционным и смешанным 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 постинфекционным и смешанным иммунитетом. Наиболее активным гуморальным звеном иммунитета обладают вакцинированные добровольцы, которые в различные сроки после вакцинации перенесли COVID-19. Вакцинация способствует формированию защитного иммунитета, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти и поддержания иммунологической эффективности при смешанном иммунитете.

Полученные 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. Обнаруженные результаты помогают оценить напряженность врожденного и адаптивного иммунитета к SARS-CoV-2, восполнить пробелы в понимании иммунопатогенеза COVID-19, и вклада вакцинации в формирование стойкого иммунитета.

3.5 Взаимосвязь полиморфизма генов HLA-II и иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции волонтеров

Выявление генетических вариаций HLA-II, ассоциированных с нарушениями иммунного ответа на фоне вирусной инфекции, может прояснить особенности патогенетических механизмов взаимодействия SARS-CoV-2 с клетками макроорганизма.

На данном этапе исследований проведена оценка взаимосвязи полиморфизма генов HLA-II и показателей гуморального и клеточного звена иммунитета у перенёсших COVID-19 и вакцинированных против этой инфекции людей.

В исследовании приняли участие волонтеры (144 человека), жители г. Иркутска. Участники были распределены на три группы: 1-я–реконвалесценты после перенесённого COVID-19 в форме ОРВИ (20 человек), 2-я–вакцинированные против COVID-19 (51 человек), 3-я – переболевшие COVID-19 до или после вакцинации (73 человека). Исследование одобрено локальным этическим комитетом института (Протокол № 7 от 15.11.2021 г.). В ходе исследований выявлено 6 различных аллелей генов *DQA1*, 10 аллелей *DQB1* и 11 – *DRB1*. В локусе *DQA1* чаще всего определялся аллель *05:01 (93 %), в локусе *DQB1*–*06:02-8 (58,1 %) и *05:01 (44,2 %), в локусе *DRB1*–*01 (38,1 %) и *15 (42,9 %). Наиболее редкими являлись *DQA1**06:01, *DQB1**04:01/*04:02 и *DRB1**12. Группы аллелей *DQA1**03:01, *04:01; *DQB1**03:04, *05:03; *DRB1**08, *14 не выявлены.

Анализ внутригруппового распределения аллелей показал, что у всех вакцинированных волонтеров по сравнению с невакцинированными

реконвалесцентами статистически значимо преобладал аллель *DQA1*05:01*: 2-я группа – 47,1 % ($p < 0,05$), 3-я группа – 53,4 % ($p < 0,05$). Кроме того, в этих группах выявлены аллели *DQB1*02*, **03:01*, **03:03* и *DRB1*03*, **11*, что может быть связано с охватом вакцинацией 60,1 % населения Иркутской области [30]. Установлено наличие аллеля **06:02-8* в локусе *DQB1* и **02:01*, **01:03* в локусе *DQA1* у всех реконвалесцентов COVID-19.

Анализ серопревалентности во всех группах показал, что доля серопозитивных (IgG⁺) волонтеров составила 80-100 % (Рисунок 22).

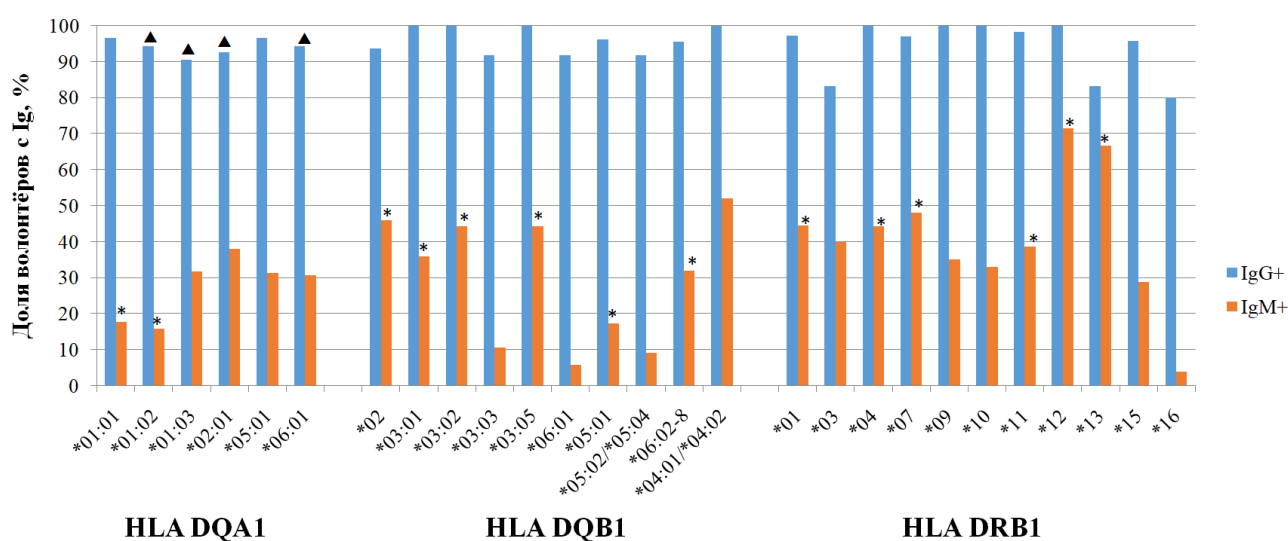


Рисунок 22 – Серопревалентность в группах, сформированных различными вариантами гена HLA-II – DQA1, DQB1 и DRB1. Для IgG: ▲ – $p < 0,05$ в сравнении с **01:01* и **05:01* (HLA DQA1); для IgM * – $p < 0,05$ в сравнении с **02:01* (HLA DQA1), с **06:01* (HLA DQB1), с **16* (HLA DRB1).

Волонтеры с наличием аллелей *DQA1*01:01* и *DQA1*05:01* имели значимо большую серопревалентность к S-белку коронавируса ($96,6 \pm 0,6$ %, $p < 0,05$). В группах аллелей *DQA1*02:01* и *DQA1*05:01* доля IgM⁺-волонтеров (38 и 31,4 % соответственно, $p < 0,05$) была выше, чем в группах аллелей *DQA1*01:01* и *DQA1*01:02*. Статистически значимых различий у IgG⁺-волонтеров в группах аллелей генов *DQB1* и *DRB1* не выявлено. В группах аллелей *DQB1*03:03*, **06:01*, **05:02/*05:04* и *DRB1*16* доли IgM⁺-волонтеров значимо снижались. Отмечено,

что количественное содержание IgG к N-белку SARS-CoV-2 у волонтеров с аллелем *DQA1*01:02* было статистически значимо ниже, в среднем в 2,2 раза, чем у волонтеров с аллелями *DQA1*01:01*, **01:03*, **05:01* ($p < 0,05$) (Рисунок 23А). У волонтеров с аллелем *DQB1*03:03* выявленное содержание IgG к N-белку в среднем было в 4,6 раза ниже, чем у остальных волонтеров ($p < 0,05$) (Рисунок 23Б).

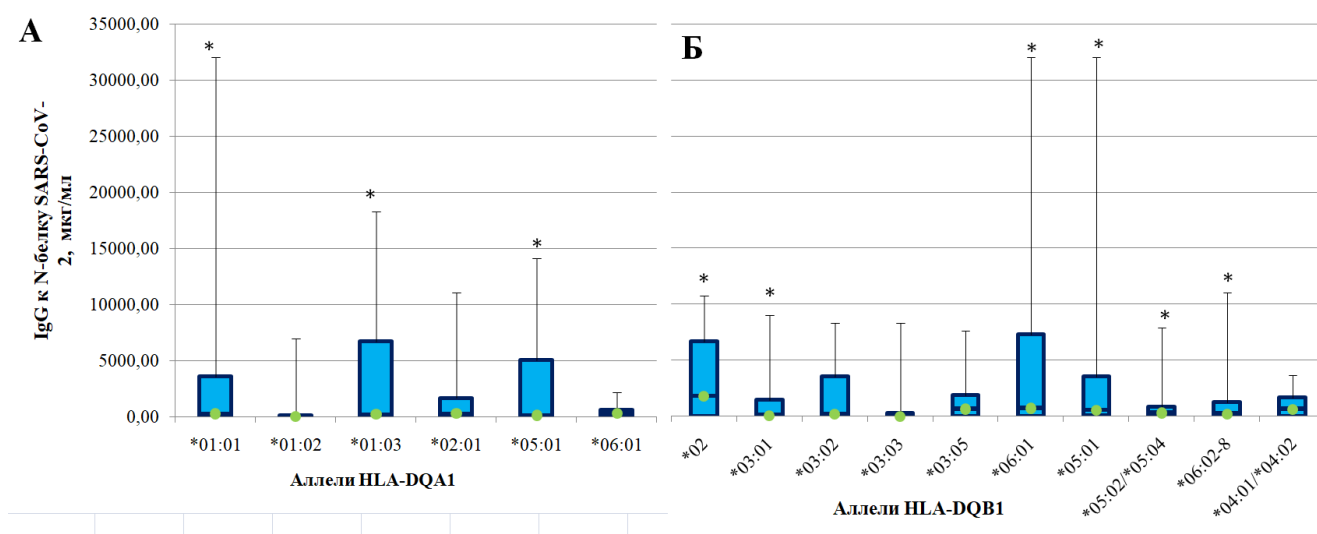


Рисунок 23 – Количественное содержание IgG к N-белку SARS-CoV-2 у волонтеров в соответствии с аллельным полиморфизмом генов DQA1 (а) и DQB1 (б). * $p < 0,05$ по сравнению с **01:02*, + $p < 0,05$ по сравнению с **03:03*

Результаты исследования указывают на различия сероконверсии в группах, сформированных вариантами генов HLA-II: волонтеры с аллелями *DQA1*01:02* в среднем в 2 раза быстрее достигали пика синтеза IgG к N-белку (79-й день), и АТ сохранялись до 300 дней, что в 1,5 раза меньше, чем у участников исследования с другими вариантами генов HLA; у волонтеров с *DQB1*03:03* максимальный уровень IgG⁺ выявлен на 230-й день с момента установления диагноза COVID-19 (в среднем в 1,2 раза позже, чем у других), но при этом количественные показатели IgG снижались в 1,2 раза быстрее.

Уровень IL-10 у лиц с *DQA1*01:01* был значимо ниже в среднем в 1,5-1,7 раза, чем у остальных добровольцев (Рисунок 24); уровень IL-4 у носителей

аллеля *DQA1*01:03* был значимо ниже в 3,1-3,8 раза, чем у волонтеров с аллелями *DQA1*01:01*, **01:02* и **05:01*; а уровень IL-6 у участников исследования с аллелем *DQA1*06:01* – в среднем в 12,4 раза ($p < 0,05$). В группе аллеля *DQB1*03:02* уровень IL-18 был в среднем в 3,1 раза ниже, чем в других группах ($p < 0,05$).

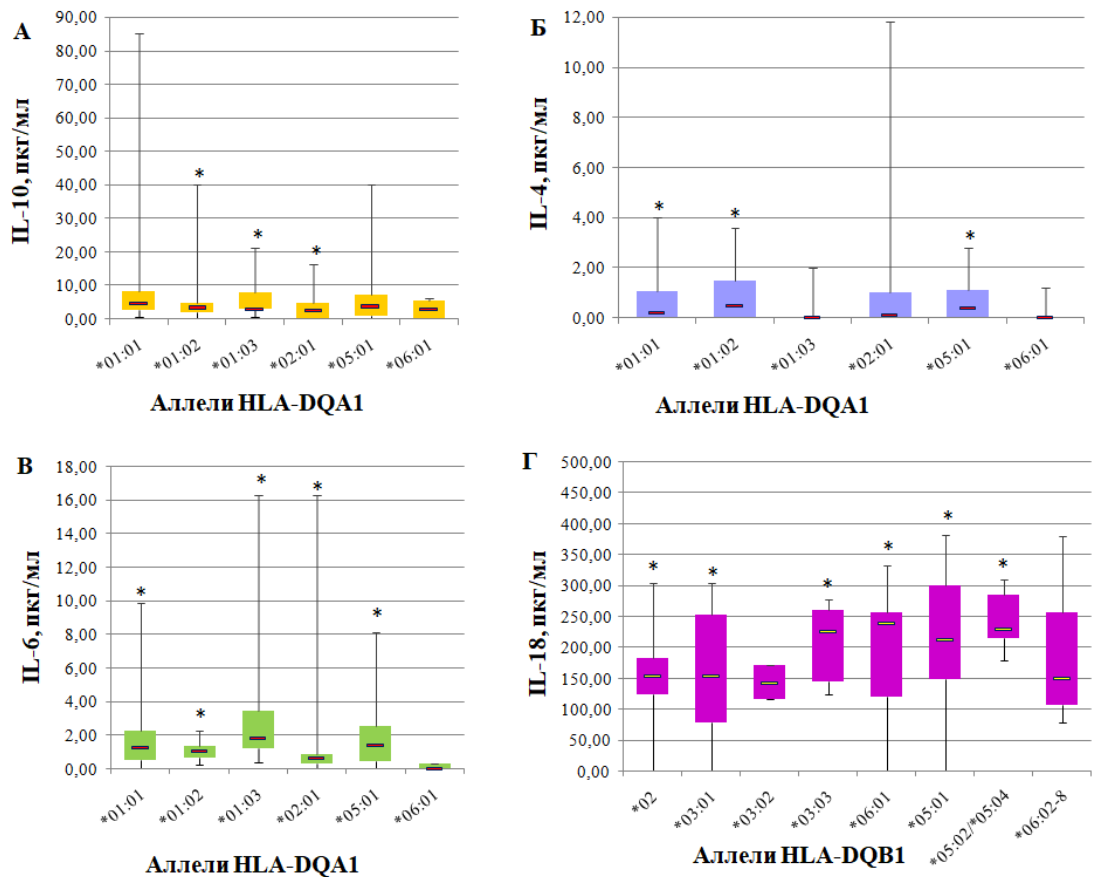


Рисунок 24 – Межгрупповые различия уровней цитокинов в сыворотке крови волонтеров. * $p < 0,05$ по сравнению с *01:01 (а), с *01:03 (б), с *06:01 (в), с *03:02 (г)

Таким образом, у вакцинированных волонтеров преобладал аллель *DQA1*05:01*, у реконвалесцентов – аллели *DQA1*02:01*, **01:03*, *DQB1*06:02-8*. Анализ ассоциации генов HLA-II с уровнем IgG к S-белку SARS-CoV-2 выявил высокую долю серопозитивных волонтеров с аллелями *DQA1*01:01* и **05:01*. У 40 % волонтеров с аллелем *DQA1*02:01* выявлены IgM и статистически значимо низкие показатели количественного содержания IgG к N-белку коронавируса.

Установлено статистически значимое повышение продукции IL-10 у волонтеров с аллелем *DQA1*01:01*, что может свидетельствовать о влиянии данного аллеля на продукцию цитокина.

Выявленные особенности содержания специфических IgM, IgG к S- и N-белкам, а также сывороточного IL-10 у волонтеров с аллелями *DQA1*05:01*, *DQA1*02:01* и *DQA1*01:01*, возможно, являются ключевыми факторами при формировании адаптивного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2. Тем не менее, представленная в исследовании выборка недостаточно репрезентативна для выявления аллелей, определяющих эффективность вакцинации против COVID-19. Увеличение выборки и дальнейшее исследование показателей иммунного ответа и их ассоциации с полиморфизмом генов HLA-II позволит лучше понять механизмы иммуногенеза этого заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках комплексного иммунологического мониторинга проведена оценка популяционного иммунитета к новой коронавирусной инфекции COVID-19 населения Иркутской области (2020-2021 гг.), а также на примере добровольцев из числа сотрудников института (2020-2024 гг.). Показано, что у перенёсших COVID-19 волонтеров IgG к S-белку SARS-CoV-2 вырабатывались статистически значимо в 1,4 раза быстрее, чем к N-белку. Коллективный иммунитет среди сотрудников института на момент проведения исследования (15.06.2023 г.) составил 98,7 %, что указывает на рост серопревалентности в 1,2 раза по сравнению с июнем 2021 г. за счет увеличения числа вакцинированных/ревакцинированных против COVID-19. После перенесенного заболевания специфические IgG вырабатывались в 89,9 % случаев, а после вакцинации/ревакцинации – 98,7 %. По результатам исследования показан вклад бессимптомных серопревалентных лиц в уровень гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 и постепенное снижение интенсивности эпидемии новой коронавирусной инфекции. Активное формирование популяционного иммунитета в сочетании с вакцинацией является одним из главных факторов прекращения пандемии COVID-19.

Результаты многочисленных исследований цитокинового статуса показывают, что SARS-CoV-2 вызывает иммунологические реакции, вовлекающие различные цитокины и хемокины, преимущественно провоспалительного характера. В то же время, данные об уровне цитокинов в крови, выздоровевших от COVID-19 и вакцинированных от этой инфекции людей представлены в незначительном объеме. Показана сравнительная динамика уровней продукции цитокинов у реконвалесцентов и вакцинированных против COVID-19 волонтеров, которая свидетельствует о статистически значимом превышении показателей IL-10 и TNF- α у реконвалесцентов по сравнению с

группой 3, а также снижение IL-4 по сравнению с вакцинированными, ранее не перенесшими COVID-19.

При исследовании иммунорегуляторных цитокинов выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнями IL-4 и IFN- γ и сроками после перенесённого заболевания. Установлено достоверное снижение IL-4 у перенёсших заболевание (геновариант Omicron) и повышение IL-10 у переболевших в начале пандемии по сравнению с другими реконвалесцентами. В группе вакцинированных IL-10 и TNF- α статистически значимо снижались после ревакцинации. У перенёсших заболевание до вакцинации и после неё (смешанный иммунный ответ) между показателями цитокинов статистически значимых различий не выявлено.

Впервые проведено когортное исследование, в рамках которого изучалась длительность восстановления баланса циркулирующих иммунокомпетентных клеток в течение 9 месяцев в зависимости от типа взаимодействия с вирусом SARS-CoV-2. В рамках исследования проведено наблюдение за людьми, перенесшими COVID-19, и людьми, имевших в анамнезе близкий контакт с больным COVID-19 в рамках семейного очага, но не заболевших после него. Проведенное исследование позволило оценить последствия перенесенного заболевания или контакта с больным COVID-19 для организма волонтеров, а также напряженность врожденного и адаптивного иммунитета. Кроме того, установлены особенности кинетики изучаемых показателей в зависимости от наличия специфических антител к N-белку SARS-CoV-2.

В ходе исследования выявлено перераспределение популяций лейкоцитов (увеличение процентного содержания лимфоцитов и моноцитов при снижении нейтрофилов) у переболевших COVID-19 волонтеров, что характерно для вирусных инфекций, в частности для гриппа [150]. Среди волонтеров, контактировавших с больными COVID-19 в рамках семейного очага, но не заболевших COVID-19, подтверждена важная роль фагоцитирующих клеток (нейтрофилы и моноциты) и NK киллеров, снижение которых отмечено именно у людей без наличия специфических антител к нуклеокапсиду коронавируса.

Данное наблюдение может свидетельствовать об их миграции в очаг внедрения SARS-CoV-2 для ограничения репликации вируса и поддержания резистентности к нему в условиях пандемии, поскольку эти клетки считаются одними из наиболее важных в защите от вирусных инфекций. Несмотря на отсутствие изменений содержания циркулирующих натуральных киллеров в группе Ab(-) переболевших COVID-19 волонтеров, тем не менее, у них наблюдали значительную активацию этих клеток, проявляющуюся экспрессией HLA-DR.

Выявленное повышенное содержание моноцитов после выздоровления и контакта возможно указывает на протекающий репаративный процесс в организме обследованных волонтеров, поскольку эти клетки играют решающее значение не только при фагоцитозе инфицированных вирусом клеток, представлении вирусных антигенов Т-клеткам и развитии адаптивного иммунного ответа, но и восстановлении поврежденных.

Общее состояние иммунной системы организма у ПВ и КВ наглядно продемонстрировано по характеру изменений интегральных гематологических индексов NMR, NLR и LMR. Значения NLR в исследовании не превышало 2,5 у.е., в то время как при тяжелой форме COVID-19 он повышается более 9 у.е., что ассоциируется с усилением воспалительной реакции и снижением клеточного иммунитета [69, 151, 160, 169]. Опираясь на полученные данные, можно заключить об отсутствии гиперактивации иммунной системы у исследованных добровольцев, которая способна приводить к сильному повреждению тканей организма и формированию серьезных осложнений. Существенных изменений NMR, NLR и LMR возможно не было отмечено также в связи с участием волонтеров, перенесших COVID-19 в легкой и среднетяжелой формах. Тем не менее, восстановление баланса циркулирующих популяций лейкоцитов как у ПВ, так и у КВ происходило от 3 до 6 месяцев. Изменений процентного содержания эозинофилов и LER, который отражает взаимодействие процессов гиперчувствительности немедленного и замедленного типов, не было зарегистрировано, что может свидетельствовать об отсутствии аллергического компонента в развитии иммунных реакций.

Активное участие клеток адаптивной иммунной системы ($CD4^+$ -и $CD8^+$ -клетки, В-лимфоциты) установлено именно у людей, переболевших COVID-19, что объясняется развитием мощного противовирусного иммунного ответа и формированием гуморального иммунитета у данной группы волонтеров. Установлено не только перераспределение процентного содержания циркулирующих Th и Tc клеток и увеличение их функциональной активности, но и перераспределение наивных Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти. Субпопуляции Т-лимфоцитов по-разному участвуют в иммунном ответе на вирусную инфекцию: $CD8^+$ -клетки непосредственно уничтожают пораженные вирусом клетки, в то время как субпопуляции $CD4^+$ Т-клеток продуцируют сигнальные молекулы, поддерживающие ответ Tc и формирование их долговременной иммунологической памяти, а также участвуют в отборе и созревании антиген-специфических В-клеток. В активации и привлечении $CD8^+$ -клеток в очаг воспаления важную роль играют нейтрофилы, в частности во время гриппа, что подчеркивает зависимость адаптивных иммунных реакций от клеток врожденной иммунной защиты [92, 110]. По-видимому, это может служить объяснением снижения содержания цитотоксических Т-лимфоцитов в циркулирующей крови у переболевших волонтеров, которое наблюдается в течение 9 месяцев после заболевания. Кроме того, подтверждением этому можно рассматривать тот факт, что выявлено большее снижение содержания нейтрофилов именно у людей Ab(+) среди ПВ. В тоже время аналогичное наблюдение в отношении KB отмечалось среди Ab(-) людей, что свидетельствует о выполнении разной роли нейтрофилов у изучаемых групп людей.

При анализе кинетики $CD45RO^+$ и $CD45RA^+$ Т-клеток наиболее информативным показателем по сравнению с процентным содержанием этих клеток оказалось соотношение $CD45RA : CD45RO$. Показано, что у переболевших людей отмечено участие в развитии иммунного ответа Tc $CD45RO^+$ и Th $CD45RA^+$ клеток, что согласуется с данными других исследований [151], в то время как у KB установлено участие цитотоксические Т-лимфоциты $CD45RO^+$ и $CD45RA^+$. Повышение соотношения $CD8^+CD45Ra:CD45Ro$ у KB как через 1, так и

6 месяцев после контакта может указывать на очередную встречу с вирусом SARS-CoV-2 через полгода и включением защитных механизмов, сформированных при первой встрече с возбудителем. Впервые показана роль в иммунном ответе Т-клеток с коэкспрессией CD45RO⁺CD45RA⁺, динамика которых соответствовала вышеописанным наблюдениям характерным для Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD45RO⁺ или CD45RA⁺. Стоит отметить, что повышение содержания CD45RO⁺CD45RA⁺ Т-клеток зависило от наличия специфических антител к N белку SARS-CoV-2 и было в большей степени выражено у Ab(+) добровольцев.

Обнаружено повышенное содержание HLA-DR⁺ Т-клеток (Th и Tc) после выздоровления и контакта, причем у переболевших добровольцев циркуляция в крови этих клеток была более длительной и снижалась постепенно вплоть до 6 месяца наблюдения. Также продемонстрировано значительное увеличение CD3⁺CD4⁺CD45Ro⁺ и CD45Ra⁺CD45Ro⁺ Т-клеток, экспрессирующих HLA-DR⁺, у ПВ. В целом показано, что у переболевших волонтеров отмечается более высокая доля активированных Т-лимфоцитов по сравнению с КВ, степень активации которых также зависила от наличия специфических антител.

В ходе исследования выявлена роль Т-лимфоцитов DP, которые могут проявлять значительную противовирусную активность и при воздействии вирусных антигенов способны дифференцироваться в эффекторные клетки, продуцирующие IFN- γ и TNF- α , и способствовать элиминации вируса [74, 105, 136], так как их противовирусные свойства в разы превосходит активность Tc и Th.

Содержание циркулирующих В-клеток у людей, переболевших COVID-19, соответствовало постинфекционному процессу: увеличение данной популяции клеток характерно для периода реконвалесценции острых вирусных инфекций. Изменение доли CD3⁺CD19⁺-клеток происходило в большей степени у ПВ со специфическими антителами к нуклеокапсиду SARS-CoV-2, а среди контактных волонтеров только у людей Ab(+). Как показано в ряде работ, выработка антител к вирусу SARS-CoV-2 является гетерогенным процессом [62, 106, 124], что также

продемонстрировано в исследовании. Антитела к N белку SARS-CoV-2 обнаруживались у 75 % волонтеров, переболевших COVID-19. Продемонстрированное постепенное исчезновение антител предполагает сложную взаимосвязь между гуморальным и клеточным ответом в патогенезе COVID-19 и может быть связано, во-первых, с тем, что IgG имеют ограниченное время жизни, период их полураспада составляет примерно 21 день. Во-вторых, время циркулирующих антител может отражать активность короткоживущих и долгоживущих плазматических клеток. Известно, что формирование В-клеток памяти, специфичных для SARS-CoV-2, происходит в течение первых 3-5 месяцев после заболевания [153, 210]. Исчезновение антител у части пациентов ставит под сомнение формирование долгоживущих плазматических клеток, секретирующих антитела [153], а также указывает на компенсаторные механизмы, поскольку вирусспецифический Т-клеточный ответ может развиваться без сероконверсии [75].

В компартменте В-лимфоцитов выявлено увеличение доли В1 клеток у ПВ в поздние сроки исследования (через 6 и 9 месяцев ППС) независимо от наличия специфических антител и у КВ с антителами к нуклеокапсиду вируса SARS-CoV-2 Ab(+) через 3 месяца ППК. Однако ввиду незначительного количества добровольцев с Ab(+) среди людей CVs результаты следует интерпретировать с осторожностью. Известно, что эти клетки секретируют «естественные» IgM и IgA, которые играют важное значение для ранней защиты от бактериальных и вирусных инфекций и вырабатываются в отсутствие специфической иммунизации. Кроме того, есть данные, что среди пула CD5⁺ В-лимфоцитов существуют регуляторные В-лимфоциты [68, 107], которые специализируются на подавлении иммунного ответа, в том числе и при вирусных инфекциях, что может объяснить увеличение этих клеток на поздних сроках исследования. Возможно, эти клетки способствуют супрессии иммунного ответа, помогают избежать дальнейшего повреждения и восстановить гомеостаз организма особенно при воспалении, опосредованном Т-клетками. Также, В1 участвуют в патогенезе

аутоиммунных и злокачественных заболеваний. Поэтому роль В1 клеток в постинфекционном иммунитете при COVID-19 еще предстоит выяснить.

Таким образом, проведено когортное исследование иммунного профиля волонтеров, переболевших COVID-19, и контактных доноров, в котором одинаковое внимание уделяется врожденному и адаптивному иммунитету. Продемонстрированы вариации иммунных реакций, наблюдаемых у ПВ и КВ после контакта с вирусом SARS-CoV-2, которые также зависели от наличия специфических антител к вирусу SARS-CoV-2. Несмотря на то, что КВ не заболели COVID-19 после тесного контакта с больным, тем не менее, у этих людей также наблюдались изменения изучаемых иммунологических показателей аналогичные для ПВ.

В целом, у данных групп людей отсутствовали серьезные нарушения внутренней среды организма, что особенно видно по гематологическим индексам NLR, LMR и NMR. Показано, что восстановление клеточного баланса у обеих групп людей происходит в течение трех месяцев после заражения COVID-19 или контакта. Значительным отличием переболевших добровольцев от КВ является то, что у данной группы людей наблюдалась значительная активация циркулирующих Т-клеток, которая сохранялась вплоть до 6 месяца исследования. При этом наибольшая активация клеток отмечалась у лиц с наличием специфических антител, что свидетельствует о формировании и поддержании гуморального иммунитета.

Показана значительная роль НК-клеток и нейтрофилов, а также цитотоксических Т-лимфоцитов в предотвращении манифестной инфекции у лиц, имевших в анамнезе контакт с больными COVID-19, но не заболевших после него. Данные изменения, по-видимому, указывают на состоятельность факторов неспецифической защиты организма у волонтеров данной группы. В тоже время у ПВ без антител наиболее важную роль играют Т-хелперы и НК клетки.

Анализ особенностей распределения специфичностей генов HLA II класса (DRB1, DQA1 и DQB1) и их гаплотипических сочетаний на молекулярно-генетическом уровне среди населения, вакцинированного против COVID-19,

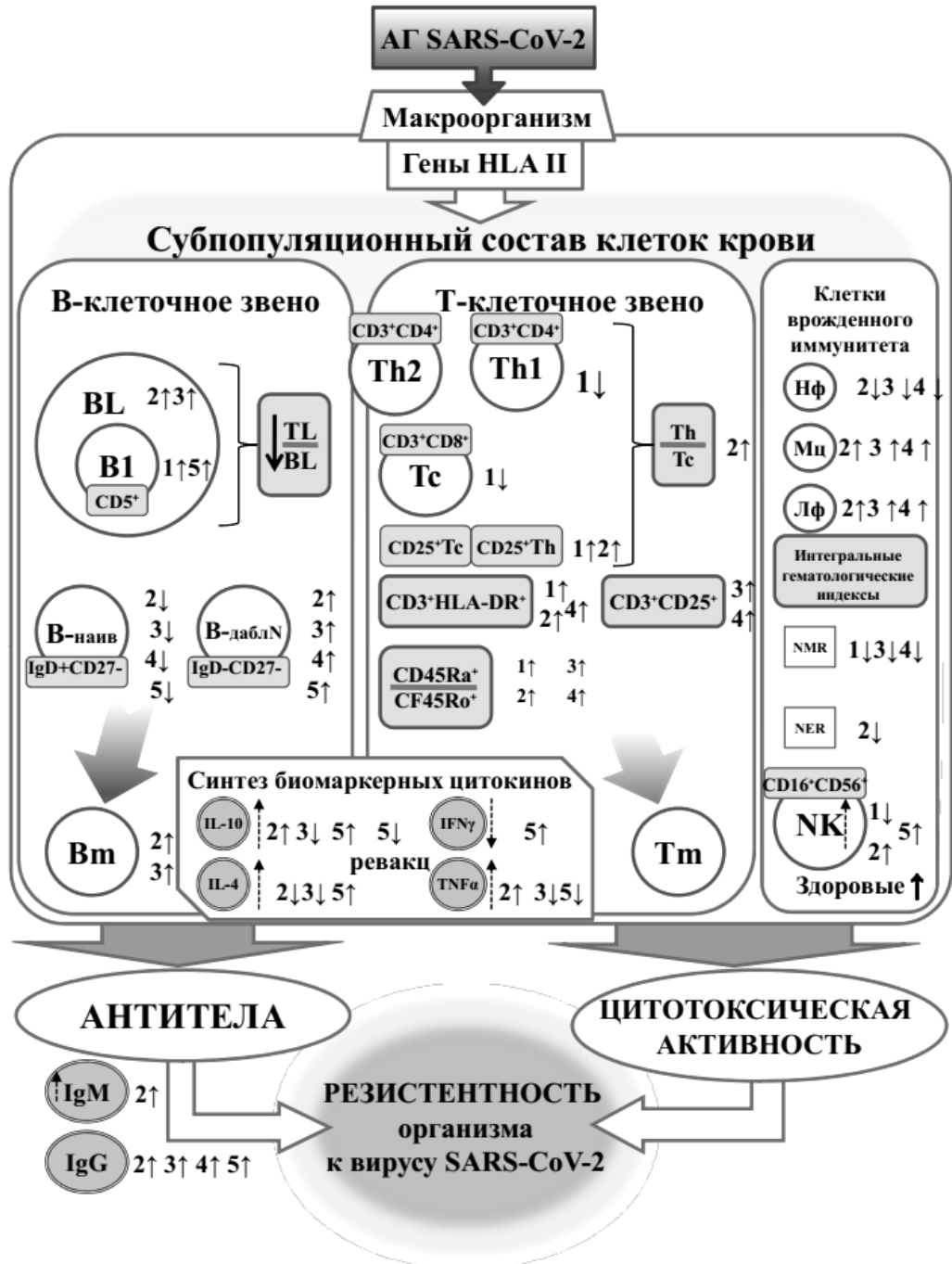
показал важную роль ассоциации DR – антигенов HLA в процессах формирования иммунологической перестройки при вакцинации. Установлено, что у вакцинированных волонтеров преобладал аллель *DQA1*05:01*, у реконвалесцентов – аллели *DQA1*02:01*, **01:03*, *DQB1*06:02-8*. Анализ ассоциации генов HLA-II с уровнем IgG к S-белку SARS-CoV-2 выявил высокую долю серопозитивных волонтеров с аллелями *DQA1*01:01* и **05:01*. У 40 % волонтеров с аллелем *DQA1*02:01* выявлены IgM и статистически значимо низкие показатели количественного содержания IgG к N-белку коронавируса. Установлено статистически значимое повышение продукции IL-10 у волонтеров с аллелем *DQA1*01:01*, что может свидетельствовать о влиянии данного аллеля на продукцию цитокина. Выявленные особенности содержания специфических IgM, IgG к S- и N-белкам, а также сывороточного IL-10 у волонтеров с аллелями *DQA1*05:01*, *DQA1*02:01* и *DQA1*01:01*, возможно, являются ключевыми факторами при формировании адаптивного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2.

Полученные 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.

Опираясь на данные литературы и материалы собственного исследования, предложена концептуальная схема ассоциации показателей иммунного статуса у переболевших и вакцинированных/ревакцинированных против COVID-19 с полиморфизмом генов HLA II класса (Рисунок 25), суть которой заключается в следующем: интенсивность специфической клеточной реактивности организма (маркеры активации лимфоцитов и цитокиновый профиль) характеризует функциональное состояние иммунокомпетентных клеток макроорганизма и напряженность как поствакцинального, так и постинфекционного иммунитета. Показано, что повышение продукции биомаркерных цитокинов и увеличение показателя соотношения концентраций IFN- γ (TNF- α) к IL-4 (ИС > 1) свидетельствуют об иммунологической эффективности вакцинации. Согласно

предложенной схеме, COVID-19 характеризуется более сложными и длительными иммунными перестройками, чем при заболевании другими ОРВИ, поскольку новая коронавирусная инфекция меняет соотношение биоактивных молекул в организме. Нарушение интерферогенеза и каскадная гиперпродукция других цитокинов ведут к дисрегуляции противовирусного ответа макроорганизма на фоне деструкции собственных тканей. Благодаря этому, при SARS-CoV-2 наблюдается генерализованный инфекционный процесс с доказанным нарушением иммунного регулирования, независимо от степени тяжести заболевания и его фазы.

Таким образом, патогенетически обоснована оценка иммунологической эффективности вакцинации против новой коронавирусной инфекции населения не только по наличию специфических антител, но и клеточного звена иммунитета. Результаты выполненного диссертационного исследования позволяют охарактеризовать взаимосвязь ассоциации показателей иммунного статуса у переболевших COVID-19, вакцинированных/ревакцинированных против новой коронавирусной инфекции людей с полиморфизмом генов HLA II класса. Выявленные закономерности способствуют пониманию напряженности врожденного и адаптивного иммунитета при новой коронавирусной инфекции и открывают новые перспективы для патогенетически обоснованной иммунопрофилактики COVID-19.



Примечание: Пунктирные стрелки – данные литературы, 1 – контактные волонтеры, 2 – волонтеры с постинфекционным иммунитетом, 3 – волонтеры, переболевшие после вакцинации от COVID-19, 4 – волонтеры, вакцинированные после COVID-19, 5 – волонтеры с вакцинальным иммунитетом.

Рисунок 25 – Концептуальная схема ассоциации показателей иммунного статуса у переболевших и вакцинированных/ревакцинированных против COVID-19 с полиморфизмом генов HLA II класса

ВЫВОДЫ

1. Результаты оценки популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 населения Иркутской области свидетельствуют о нарастающем уровне серопревалентности, который в динамике составил от 5,8 % (с июня 2020 г.) до 98,6 % (декабрь 2021 г.), что указывает на рост серопревалентности в 65,7 раз за счет увеличения числа вакцинированных/ревакцинированных против COVID-19 и перенесших заболевание. После перенесенного заболевания специфические IgM вырабатывались в 95,1 % случаев, а после вакцинации/ревакцинации – 70,1 %. Показано, что у перенёсших COVID-19 добровольцев IgG к S-белку SARS-CoV-2 вырабатывались статистически значимо в 1,4 раза быстрее, чем к N-белку.

2. После вакцинации/ревакцинации против новой коронавирусной инфекции развивается более слабый гуморальный иммунитет, но достаточный для формирования защитного иммунитета и усиления функциональной активности Т-лимфоцитов (HLA-DR) до 9 мес., сопоставимой с активностью, выявленной у людей с постинфекционным и смешанным иммунитетом. Вакцинация до/после заболевания способствует своевременной активации Т- и В-клеток памяти и поддержания иммунологической эффективности при смешанном иммунитете.

3. Выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнями IL-4 и IFN- γ и сроками после перенесённого заболевания. Установлено достоверное снижение IL-4 у перенёсших заболевание (геновариант «Omicron») и статистически значимое повышение уровней IL-10 и TNF- α в 1,5 и 2,0 раза ($p < 0,05$) соответственно у переболевших в начале пандемии по сравнению с другими реконвалесцентами. Обнаружено статистически значимое снижение показателей IL-10 и TNF- α после ревакцинации в 3,4 и 3,1 раза ($p < 0,05$) соответственно.

4. Статистически значимое увеличение ВL клеток зарегистрировано у волонтеров со смешанным иммунитетом (вакцинированные после перенесенного

COVID-19) 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 постинфекционным и смешанным иммунитетом (переболевшие до вакцинации), а также у ревакцинированных людей отмечено повышение содержания В1-клеток ($CD3^+CD19^+CD5^+CD27^-$) на протяжении 3–9 месяцев наблюдения.

5. Повышение В-лимфоцитов с «переключенным» классом синтезируемых антител выявлено у волонтеров со смешанным иммунитетом (переболевшие COVID-19 после вакцинации). У всех участников исследования на протяжении 69 месяцев наблюдения регистрировался повышенный уровень Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR. У волонтеров, обладающих смешанным иммунитетом (вакцинированные до заболевания COVID-19), отмечалось значительное увеличение индекса позитивности при оценке наличия специфических антител класса IgG к N-белку коронавируса по сравнению с волонтерами с постинфекционным и смешанным иммунитетом (вакцинированные после перенесённого COVID-19).

6. Анализ ассоциации генов HLA-II с уровнем IgG к S-белку SARS-CoV-2 выявил высокую долю серопозитивных волонтеров с аллелями *DQA1*01:01* и **05:01*. У 40 % волонтеров с аллелем *DQA1*02:01* выявлены IgM и статистически значимо низкие показатели количественного содержания IgG к N-белку коронавируса ($p < 0,05$). Анализ групп, сформированных различными вариантами гена *DQA1*, показал, что волонтеры с наличием аллелей **0101*, **0501* или **0601* имели достоверно большую серопревалентность к S-белку коронавируса по сравнению с волонтерами с другими аллелями гена *DQA1*, а также статистически значимое повышение уровня IL-10, что может указывать на способствование этого цитокина усиливать гуморальный ответ во время перенесенного заболевания.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АПК	–	антиген-представляющая клетка
ВБП	–	внебольничная пневмония
ВОЗ	–	Всемирная Организация Здравоохранения
ДИ	–	доверительный интервал
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДФО	–	Дальневосточный федеральный округ
ЗВ	–	здоровые волонтеры
ИП	–	индекс позитивности
ИРИ	–	иммунорегуляторный индекс
ИФА	–	иммуноферментный анализ
КВ	–	контактные волонтеры
КВЭ	–	клещевой вирусный энцефалит
кДа	–	килодальтон
КП	–	коэффициент позитивности
мг	–	миллиграмм
МЕ	–	международная единица
мин	–	минута
МКАТ	–	моноклональный антитела
мкл	–	микролитр
мл	–	миллилитр
нм	–	нанометры
об/мин	–	обороты в минуту
ОП	–	оптическая плотность
ОРВИ	–	острая респираторно-вирусная инфекция
ОРДС	–	острый респираторный дистресс-синдром
ОРЗ	–	острое респираторное заболевание

ПВ	–	переболевшие волонтеры
пг	–	пикограмм
ППК	–	после последнего контакта
ППС	–	появление первичных симптомов
ПТФ	–	аденозинтрифосфат
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
РИП	–	раствор для разведения исследуемых проб
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
РПРС	–	раствор для предварительного разведения сывороток
РРО	–	раствор для разведения образцов
РРС	–	раствор для разведения сывороток
сек	–	секунда
СФО	–	Сибирский Федеральный Округ
ТМБ	–	раствор тетраметилбензидина
у.е.	–	условная единица
ФСБ-Т	–	фосфатно-солевой буферный раствор с твином
ХСР	–	хромоген-субстратный раствор
ЭДТА	–	этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭПР	–	эндоплазматический ретикулум
ACE-2	–	angiotensin-converting enzyme-2 ангиотензинпревращающий фермент-2
ANOVA	–	analysis of variance дисперсионный анализ
ASC	–	apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain апоптоз-ассоциированный белок, содержащий домен рекрутирования каспазы
B1	–	B1-лимфоциты (CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁻)
B2	–	B2-лимфоциты (CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁻)

BL	–	В-лимфоциты (CD3 ⁻ CD19 ⁺)
Bm	–	В-клетки памяти (CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁺)
CCL2	–	chemokine (C-C motif) ligand 2 фактор хемотаксиса моноцитов
CD	–	кластер дифференциации
cGAS	–	cyclic GMP-AMP synthase циклическая GMP-AMP-синтаза
CLR	–	C-type lectin receptor рецептор лектина С-типа
COVID-19		коронавирусная болезнь 2019
CTD	–	C-terminal domain С-концевой домен
CXCL	–	chemokine (C-X-C motif) ligand С-Х-С-хемокин
DAI	–	DNA-dependent activator of interferon-regulatory factors ДНК-зависимый активатор факторов регуляции интерферона
DamP	–	damage-associated molecular pattern молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждениями
DN	–	дабл-негативные Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻)
DP	–	дабл-позитивные Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺)
FP	–	fusion peptide слитый пептид
G-CSF	–	granulocyte-macrophage colony stimulating factor 2 гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
HE	–	гемагглютинин-эстераза
HLA	–	human leucocyte antigens,

		лейкоцитарные антигены человека
HR	–	heptad repeat семиричный повтор
IFI	–	gamma-interferon-inducible protein белок, индуцируемый гамма-интерфероном
IFN- γ	–	интерферон- γ
Ig	–	иммуноглобулин
IL	–	интерлейкин
IP-10	–	interferon-gamma inducible protein ИФН γ -индуцируемый белок 10
IQR	–	межквартильный диапазон
IRF	–	interferon regulatory factor интерферон-регулируемый фактор
LER	–	индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов
LGP2	–	probable ATP-dependent RNA helicase DHX58 RIG-I-подобный рецептор 3
LMR	–	индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов
MAPK	–	mitogen-activated protein kinase митоген-активируемая протеинкиназа
MAVS	–	mitochondrial antiviral-signaling protein митохондриальный противовирусный сигнальный белок
MCP-1	–	monocyte chemotactic protein 1 моноцитарный хемоаттрактантный белок-1
MDA5	–	melanoma differentiation-associated protein 5 белок, ассоциированный с дифференцировкой меланомы (рецептор)
Me	–	медиана
Mean	–	среднее арифметическое
MERS-CoV	–	Middle East respiratory syndrome

		ближневосточный респираторный синдром
MIP	–	macrophage inflammatory protein макрофагальный воспалительный белок
MHC	–	major histocompatibility complex, главный комплекс гистосовместимости
MyD88	–	myeloid differentiation primary response gene (88) цитозольный адаптерный белок, участвующий в передаче сигнала от толл-подобных рецепторов
n	–	количество волонтеров
NER	–	индекс соотношения нейтрофилов к эозинофилам крови
NF- κ B	–	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated b cells ядерный фактор «каппа-би»
NK	–	натуральные киллерные клетки
NLR	–	индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам крови
NLRP	–	nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat and pyrin domain containing нуклеотид-связывающий домен олигомеризации, богатый лейцином повтор, содержащий домен пирина
NMR	–	индекс соотношения нейтрофилов к моноцитам крови
NOD	–	nucleotide-binding oligomerization domain нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации
NSP	–	non-structural protein неструктурный белок
NTD	–	N-terminal domain N-концевой домен
N-белок	–	нуклеокапсид
ORF	–	open reading frame открытая рамка считывания

PAMP	–	pathogen-associated molecular pattern патоген-ассоциированный молекулярный фрагмент
pp1a	–	полипротеин 1a
pp1ab	–	полипротеин 1ab
PRR	–	pattern-recognition receptors рецепторы распознавания паттернов
$Q_{25} \% - Q_{75} \%$	–	интерквартильный размах
R_0	–	индекс репродукции
RBD	–	receptor-binding domain рецептор-связывающий домен
r_c	–	коэффициент корреляции
RIG	–	retinoic acid-inducible gene ген, индуцируемый ретиноевой кислотой
RLR	–	RIG-like receptor RIG- подобный рецептор
RRAR	–	фуриноподобный сайт расщепления
rs	–	коэффициент корреляции
SARS-CoV	–	severe acute respiratory syndrome-related coronavirus тяжелый острый респираторный синдром, связанный с коронавирусом
SARS-CoV-2	–	severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 тяжелый острый респираторный синдром, связанный с коронавирусом 2
SD	–	standard deviation стандартное отклонение
STING	–	Stimulator of interferon genes стимулятор генов интерферона
S-белок	–	гликопротеин
T_c	–	цитотоксические Т-лимфоциты ($CD3^+CD8^+CD4^-$)

Th	–	хелперные Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻)
TL	–	Т-лимфоциты (CD3 ⁺)
TLR	–	Toll-like receptor Толл-подобный рецептор
TMD	–	transmembrane domain трансмембранный домен
TMPRSS	–	transmembrane protease, serine 2 мембрано-связанная сериновая протеаза
TNF- α	–	фактор некроза опухоли α
TPC2	–	two pore segment channel 2 двупоровый ионный канал 2
TRIF	–	TIR domain-containing adaptor molecule TIR домен-содержащий белок
VOCs	–	variants of concern варианты, вызывающие беспокойство
VOIs	–	variants of interest варианты, вызывающие интерес
VUM	–	variant under monitoring варианты, находящиеся под наблюдением

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Акимкин, В.Г. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2 / В.Г. Акимкин, А.Ю. Попова, К.Ф. Хафизов и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022; 99 (4): 381–396. DOI: 10.36233/0372-9311-295.
2. Александрович, Ю.С. Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), у детей. Версия 2 / Ю.С. Александрович, Е.И. Алексеева, М.Д. Бакрадзе и др. // Педиатрическая фармакология. 2020; 17(3): 187-212. DOI: 10.15690/pf.v17i3.2123
3. Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по COVID-19 в Иркутской области и прогноз её распространения / С.В. Балахонов, М.В. Чеснокова, А.Н. Пережогин и др. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020; (4): 34-40. doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-34-40.
4. Беляков, Н.А. Коронавирусная инфекция COVID-19. Природа вируса, патогенез, клинические проявления. Сообщение 1 / Н.А. Беляков, В.В. Рассохин, Е.Б. Ястребова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2020; 12 (1): 7–21. DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-7-21.
5. Бернс, С.А. Бустерная вакцинация против вируса SARS-CoV-2: механизмы и эффективность / С.А. Бернс, А.В. Веремеев, А.А. Савичева и др. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023; 22(12): 3820. DOI: 10.15829/1728-8800-2023-3820.
6. Бруякин, С.Д. Структурные белки коронавируса SARS-CoV-2: роль, иммуногенность, суперантигенные свойства и возможности использования для терапевтических целей / С.Д. Бруякин, Д.А. Макаревич // Вестник ВолгГМУ. 2021; 2 (78): 18-27. DOI: 10.19163/1994-9480-2021-2(78)-18-27.
7. Бугоркова, С.А. Некоторые аспекты формирования иммунного ответа у пациентов с COVID-19. COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. DOI: 10.21055/preprints-3111717.

8. Вакцины и вакцинация: национальное руководство / Под ред. В.В. Зверева, Б.Ф. Семенова, Р.М. Хаитова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 880 с. - ISBN 978-5-9704-2052-2.

9. Вступительное слово Генерального директора на пресс брифинге по COVID-19 11 марта 2020 г. [электронный ресурс] // Всемирная Организация Здравоохранения. URL: <https://www.who.int/ru/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (дата обращения 17.04.2024).

10. Драпкина, О.М. Бустерная вакцинация против вируса SARS-CoV-2: основные проблемы и пути их решения / О.М. Драпкина, С.А. Бернс, А.Ю. Горшков и др. // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2022; 11(2): 196-203. DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-2-196-203.

11. Карпова, Л.С. Коронавирусная инфекция, вызванная вариантом «омикрон» и его дочерними геновариантами в России (в 2022–2023 гг.) / Л.С. Карпова, М.Ю. Пелих, Н.М. Поповцева и др. // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024; 23 (2): 36-49. DOI:10.31631/2073-3046-2024-23-2-36-49.

12. Копать, В.В. Разработка технологии очистки, биохимическая и иммунологическая характеристика рекомбинантного химерного антигена для оценки Т-клеточного иммунитета против коронавирусной инфекции» / В.В. Копать, А.А. Рябченкова, Е.Л. Чирак и др. // Медицинская иммунология. 2024; 26 (3): 591-606. DOI: 10.15789/1563-0625-PTD-2942.

13. Костинов, М.П. Иммунные механизмы SARS-CoV-2 и потенциальные препараты для профилактики и лечения COVID-19 / М.П. Костинов, Е.В. Маркелова, О.А. Свитич, В.Б. Полищук // Пульмонология. 2020; 30(5): 700-708. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-700-708.

14. Костинов, М.П., Андреева, Н.П. Ревакцинация против новой коронавирусной инфекции: современное состояние проблемы (материал для подготовки лекции) / М.П. Костинов, Н.П. Андреева, С.Р. Раичич, А.М.

Костинова // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2023; 12 (3): 131-136. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-3-131-136.

15. Кречетова, Л.В. Состояние иммунной системы у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 / Л.В. Кречетова, Е.В. Инвиева, В.Ф. Садыков и др. // Акушерство и гинекология 2021; 8: 75-85. DOI: 10.18565/aig.2021.8.75-85.

16. Кузник, Б.И. Особенности патогенеза и течения COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста / Б.И. Кузник, В. Х. Хавинсон, В. С. Смирнов // Успехи Геронтологии. 2020; 33 (6): 1032-1042. DOI: 10.34922/AE.2020.33.6.003.

17. Кутырев, В.В. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий / В.В. Кутырев, А.Ю. Попова, И.Ю. Смоленский и др. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 1: 6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.

18. Миронова, Л.В. Популяционная геномика SARS-CoV-2 в субъектах Сибирского и Дальневосточного федеральных округов / Л.В. Миронова, А.Н. Бондарюк, Е.А. Сидорова и др. // Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1: 111-119. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-111-119.

19. Мищенко, Е.Л. Репликационно-транскрипционный комплекс коронавирусов: функции индивидуальных вирусных неструктурных субъединиц, свойства и архитектура их комплексов / Е.Л. Мищенко, В.А. Иванисенко // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022; 26 (2): 121-127. DOI: 10.18699/VJGB-22-15.

20. Наровлянский, А.Н. Система интерферона при COVID-19 / А.Н. Наровлянский, Ф.И. Ершов, А.В. Санин, А.В. Пронин // Иммунология. 2022; 43 (3): 245–254. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-3-245-254.

21. Новиков, Ф.Н. Молекулярные основы патогенеза КОВИД-19 / Ф.Н. Новиков, В.С. Стройлов, И.В. Свитанько и др. // Успехи химии. 2020; 89 (8): 858-878. DOI: 10.1070/RCR4961&locatt=label:RUSSIAN.

22. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б, Мельникова А.А. Опыт исследования серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 населения Иркутской области в период вспышки COVID-19 / А.Ю.Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова, С.В. Балахонов, и др. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020; (3): 106–113. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-106-113.

23. Попова, А.Ю. Андреева, Е.Е. Особенности серопревалентности к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 у детей в период эпидемии COVID-19 2020 года / А.Ю. Попова, Е.Е. Андреева, Е.А. Бабура и др. // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2021; 100 (3): 97–106. DOI: 10.24110/0031-403X-2021-100-3-97-106.

24. Попова, А.Ю. Характеристика популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у жителей Саратова и Саратовской области в период эпидемии COVID-19 / А.Ю.Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова и др. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 4: 106–116. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-106-116.

25. Попова, А.Ю., Ежлова, Е.Б. Популяционный иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в активную фазу эпидемии COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова. 2020. COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. DOI: 10.21055/preprints-3111752.

26. Попова, А.Ю., Смирнов, В.С. Серопревалентность антител к SARS-CoV-2 у детей на фоне эпидемии COVID-19 в Российской Федерации / А.Ю. Попова, В.С. Смирнов, Е.Е. Андреева, и др. // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2022; 101 (3): 85-97. DOI: 10.24110/0031-403X-2022-101-3-85-97.

27. Попова, А.Ю., Смирнов, В.С., Ежлова, Е.Б. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 населения Новосибирской области на фоне пандемии COVID-19 / А.Ю. Попова, В.С. Смирнов, Е.Б. Ежлова, и др. // Вопросы вирусологии. 2021; 66(4): 299-309. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-54>.

28. Потапнев, М.П. Цитокиновый шторм: причины и последствия / М.П. Потапнев // Иммунология. 2021; 42 (2): 175-188. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-175-188>.

29. Разъяснения по поводу вакцин и вакцинации против COVID-19: [Электронный ресурс] // World Health Organization. URL: <https://cdn.prod.website->

files.com/619616ca24c2b23d62d214fe/653a540cf0af99ac541f04fe_2023-10-21-covid19-qa-release-RU.pdf. (Дата обращения: декабрь 2024).

30. Статистика вакцинации от коронавируса [электронный ресурс] // GOGOV. URL: <https://gogov.ru/articles/covid-v-stats> (дата обращения 17.04.2024).

31. Трошина, Е.А. Роль генов системы HLA: от аутоиммунных заболеваний до COVID-19 / Е.А. Трошина, М.Ю. Юкина, Н.Ф. Нуралиева и др. // Проблемы эндокринологии. 2020; 66 (4): 9-15. DOI: 10.14341/probl12470.

32. Abdel-Moneim, A.S. Insights into SARS-CoV-2 evolution, potential antivirals, and vaccines / A.S. Abdel-Moneim, E.M. Abdelwhab and Z.A. Memish // Virology. 2021; 558: 1-12. DOI: 10.1016/j.virol.2021.02.007.

33. Addetia, A. Neutralizing antibodies correlate with protection from SARS-CoV-2 in humans during a fishery vessel outbreak with high attack rate / A. Addetia, K.H. Crawford, A. Dingens et al. // Journal of Clinical Microbiology. 2020; 58 (11): e02107-20. DOI: 10.1128/JCM.02107-20.

34. Adhikari, S. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review / S. Adhikari, S. Meng, Y. Wu et al. // Infectious Diseases of Poverty. 2020; 9:29. DOI: 10.1186/s40249-020-00646-x.

35. Al Hamrashdi, M. Regulation of IRF3 activation in human antiviral signaling pathways / M. Al Hamrashdi, G. Brady // Biochem Pharmacol. 2022; 200: 115026. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115026.

36. Al Naqbi, H. Major histocompatibility complex (MHC) associations with diseases in ethnic groups of the Arabian Peninsula / H. Al Naqbi, A. Mawart, J. Ashamsi et al. // Immunogenetics. 2021; 73 (2): 131-152. DOI: 10.1007/s00251-021-01204-x.

37. Anichini, G. SARS-CoV-2 antibody response in persons with past natural infection / G. Anichini, C. Terrosi, C. Gandolfo et al. // New England of Journal Medicine. 2021; 385: 90–92. DOI: 10.1056/NEJMc2103825.

38. Baden, L.R. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine / L.R. Baden; H.M. ElSahly, B. Essink et al. // *The New England Journal of Medicine*. 2021; 384: 403–416. DOI: 10.1056/NEJMoa2035389.
39. Bao, L. Lack of reinfection in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2 / L. Bao, W. Deng, H. Gao et al. // *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.03.13.990226.
40. Barlow, J. How pristine are tropical forests? An ecological perspective on the pre-Columbian human footprint in Amazonia and implications for contemporary conservation / J. Barlow, T. A. Gardner, A.C. Lees et al. // *Biological Conservation*. 2012; 151 (1): 45–49. DOI: 10.1016/j.biocon.2011.10.013.
41. Bertoletti, A. SARS-CoV-2-specific T cells in infection and vaccination / A. Bertoletti, N. le Bert, M. Qui et al. // *Cellular & Molecular Immunology*. 2021; 18 (10): 2307-2312. DOI: 10.1038/s41423-021-00743-3.
42. Bhardwaj, A. COVID-19: Immunology, immunopathogenesis and potential therapies / A. Bhardwaj, L. Sapra, C. Saini et al. // *International Reviews of Immunology*. 2021; 41 (2): 171-206. DOI: 10.1080/08830185.2021.1883600.
43. Blanco-Melo, D. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19 / D. Blanco-Melo, B.E. Nilsson-Payant, W.C. Liu et al. // *Cell*. 2020; 181 (5): 1036–1045.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026.
44. Blumenthal, K.G. Acute allergic reactions to mRNA COVID-19 vaccines / K.G. Blumenthal, L.B. Robinson, C.A. Camargo et al. // *JAMA*. 2021; 325: 1562–1565. DOI: 10.1001/jama.2021.3976.
45. Boopathi, S. Novel 2019 Coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment / S. Boopathi, A.B. Poma, P. Kolandaivel // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2020; 38: 1-10. DOI: 10.1080/07391102.2020.1758788.
46. Callaway, E. Novavax offers first evidence that COVID vaccines protect people against variants / E. Callaway, and S. Mallapaty // *Nature*. 2021; 590 (7844): 17. DOI: 10.1038/d41586-021-00268-9.
47. Chang D. Time kinetics of viral clearance and resolution of symptoms in novel Coronavirus infection / D. Chang, G. Mo, X. Yuan et al. // *American Journal of*

Respiratory and Critical Care Medicine. 2020; 201 (9): 1150–1152. DOI: 10.1164/rccm.202003-0524LE.

48. Chau, V.Q. The imperfect cytokine storm: severe COVID-19 with ARDS in a patient on durable LVAD support / V.Q. Chau, E. Oliveros, K. Mahmood et al. // JACC Case Rep. 2020; 2(9): 1315-1320. DOI: 10.1016/j.jaccas.2020.04.001.

49. Chen, J. Role of aging and the immune response to respiratory viral infections: potential implications for COVID-19 / J. Chen, W.J. Kelley, D.R. Goldstein. // Journal of Immunology. 2020; 205 (2): 313–320. DOI: 10.4049/jimmunol.2000380.

50. Chen, J., Lu, H. New challenges to fighting COVID-19: virus variants, potential vaccines, and development of antivirals / J. Chen, H. Lu, // BioScience Trends. 2021; 15 (2), 126-128. DOI: 10.5582/bst.2021.01092.

51. Chen, Y. The phosphorylation of the N protein could affect PRRSV virulence in vivo / Y. Chen, Z. Yu, H. Yi, et al. // Veterinary Microbiology. 2019; 231: 226-231. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.03.018

52. Choo, S.Y. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications / S.Y. Choo // Yonsei Medical Journal 2007; 48 (1): 11-23. DOI: 10.3349/ymj.2007.48.1.11.

53. Choudhury, A. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs / A. Choudhury, S. Mukherjee // Journal of Medical Virology. 2020; 92 (10): 2105-2113. DOI: 10.1002/jmv.25987.

54. Christgen, S. Toward targeting inflammasomes: insights into their regulation and activation / S. Christgen, D.E. Place, T.D. Kanneganti // Cell Res. 2020; 30(4): 315-327. DOI: 10.1038/s41422-020-0295-8.

55. Cines, D.B., Bussel, J.B. SARS-CoV-2 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia / D.B. Cines, J.B. Bussel // N. Engl. J. Med. 2021; 384(23): 2254-2256. DOI: 10.1056/NEJMe2106315.

56. Collie, S. Effectiveness of BNT162b2 vaccine against Omicron variant in South Africa / S. Collie, J. Champion, H. Moultrie et al. // N Engl J Med. 2022; 386(5): 494-496. DOI:10.1056/NEJMc2119270.

57. Conti, P. The British variant of the new Coronavirus-19 (SARS-CoV-2) should not create a vaccine problem / P. Conti, A. Caraffa, C.E. Gallenga et al. // *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 2021; 35 (1): 1-4. DOI: 10.23812/21-3-E.
58. Coperchini, F. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system / F. Coperchini, L. Chiovato, L. Croce et al. // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020; 53: 25-32. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.003.
59. Correale, P. HLA-B*44 and C*01 prevalence correlates with COVID-19 spreading across Italy / P. Correale, L. Mutti F. Pentimalli et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21 (15): ID 5205. DOI: 10.3390/ijms21155205
60. Corti, D. Tackling COVID-19 with neutralizing monoclonal antibodies / D. Corti, L.A. Purcell, G. Snell et al. // *Cell*. 2021; 184 (12): 3086-3108. DOI: 10.1016/j.cell.2021.05.005.
61. Crotty, S. Hybrid immunity. COVID-19 vaccine responses provide insights into how the immune system perceives threats / S. Crotty // *Science*. 2021; 372 (6549): 1392–1393. DOI:10.1126/science.abj2258.
62. Dan, J.M. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection / J.M. Dan, J. Mateus, Y. Kato et al. // *Science*. 2021; 371: eabf4063. DOI:10.1126/science.abf4063.
63. Davies, N.G. Increased mortality in community tested cases of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 / N.G. Davies, C.I. Jarvis, CMMID COVID-19 Working Group et al. // *Nature*. 2021; 593 (7858): 2707-274. DOI: 10.1038/s41586-021-03426-1.
64. Davoine, C. Functional metabolomics as a tool to analyze Mediator function and structure in plants / C. Davoine, I.N. Abreu, K. Khajeh et al. // *PLoS One*. 2017; 12: e0179640. DOI: 10.1371/journal.pone.0179640.
65. De Almeida-Pititto, B. Brazilian diabetes society study G. Severity and mortality of COVID-19 in patients with diabetes, hyper tension and cardiovascular disease: a meta-analysis / B. De Almeida-Pititto, P.M. Dualib, L. Zajdenverg et al. //

Diabetology & Metabolic Syndrome. 2020; 12 (1): 75. DOI: 10.1186/s13098-020-00586-4.

66. Devulapalli, C.S. COVID-19 is milder in children possibly due to cross-immunity / C.S. Devulapalli // *Acta Paediatrica*. 2020; 09(11): 2422. DOI: 10.1111/apa.15407.

67. Diao, B. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with Coronavirus disease 2019 (COVID-19) / B. Diao, C. Wang, Y. Tan et al. // *Frontiers in Immunology*. 2020; 11: 827. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00827.

68. Eiza, N. Increased killer B cells in chronic HCV infection may lead to autoimmunity and increased viral load / N. Eiza, E. Zuckerman, M. Carlebach et al. // *Clinical and Experimental Immunology*. 2018 Aug; 193 (2): 183–193. DOI: 10.1111/cei.13139.

69. Erdogan A. The value of inflammatory prognostic index in older patients with hormone receptor positive metastatic breast cancer / A. Erdogan, F. Ekinici, A. Ozveren et al. // *EJMI*. 2021; 5 (4): 515–520. DOI: 10.14744/ejmi.2021.09037.

70. Erdogan, A., Can, F.E. Evaluation of the prognostic role of NLR, LMR, PLR, and LCR ratio in COVID-19 patients / A. Erdogan, F.E. Can, H. Gönüllü // *Journal of Medical Virology*. 2021; 93 (9): 5555–5559. DOI: 10.1002/jmv.27097

71. Felsenstein, S. COVID-19: immunology and treatment options / S. Felsenstein, J.A. Herbert, P.S. McNamara et al. // *Clinical Immunology*. 2020; 215: 108448. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108448.

72. Finkel, Y. SARS-CoV-2 uses a multipronged strategy to impede host protein synthesis / Y. Finkel, A. Gluck, A. Nachshon et al. // *Nature*. 2021; 594 (7862): 240-245. DOI: 10.1038/s41586-021-03610-3.

73. Focosi, D. Neutralising antibody escape of SARS-CoV-2 spike protein: Risk assessment for antibody-based COVID-19 therapeutics and vaccines / D. Focosi, F. Maggi // *Reviews in Medical Virology*. 2021; 31 (6): e2231. DOI: 10.1002/rmv.2231.

74. Frahm, N. Human adenovirus-specific T cells modulate HIV-specific T cell responses to an Ad5-vectored HIV-1 vaccine / N. Frahm, A.C. DeCamp, D.P. Friedrich

et al. // *The Journal of Clinical Investigation*. 2012; 122: 359–367. DOI: 10.1172/JCI60202.

75. Gallais, F. Intrafamilial exposure to SARS-CoV-2 associated with cellular immune response without seroconversion / F. Gallais, A. Velay, C. Nazon et al. // *Emerging Infectious Diseases*. 2021; 27(1): 113–121. DOI: 10.3201/eid2701.203611.

76. Gan, J. Leucocyte subsets effectively predict the clinical outcome of patients with COVID-19 pneumonia: a retrospective case-control study / J. Gan, J. Li, S. Li et al. // *Frontiers in Public Health*. 2020; 18(8): 299. DOI: 10.3389/fpubh.2020.00299.

77. García, LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19 / LF. García // *Frontiers in Immunology*. 2020; (11): 1441–1466. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01441.

78. Geurts van Kessel, C.H. Divergent SARSCoV-2 Omicron-reactive T and B cell responses in COVID-19 vaccine recipients / C.H. GeurtsvanKessel, D. Geers, K.S. Schmitz et al. // *Science Immunology*. 2022; 7 (69): eabo2202. DOI: 10.1126/sciimmunol.abo2202.

79. Grifoni, A. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals / A. Grifoni, D. Weiskopf, S.I. Ramirez et al. // *Cell*. 2020; 181 (7): 1489–1501. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.015.

80. Grunewald, M.E. The coronavirus nucleocapsid protein is ADP-ribosylated / M.E. Grunewald, A.R. Fehr, J. Athmer // *Virology*. 2018; 517: 62-68. DOI: 10.1016/j.virol.2017.11.020.

81. Guan, W.J. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China / W.J Guan, Z. Ni, Y. Hu et al. // *The New England Journal of Medicine*. 2020; 18 (328): 1708-1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.

82. Gudbjartsson, D.F. Humoral immune response to SARS-CoV-2 in Iceland / D.F. Gudbjartsson, G.L. Norddahl, P. Melsted et al. // *The New England Journal of Medicine*. 2020; 383 (18): 1724–1734. DOI: 101056/NEJMoa2026116.

83. Gupta, S.L. Neutralizing antibody: a savior in the COVID-19 disease *Molecular Biology Reports* / S.L. Gupta, R.K. Jaiswal // *Molecular Biology Reports*. 2022; 49: 2465–2474, DOI: 10.1007/s11033-021-07020-6.

84. Hamming, I. Tissue distribution of ACE-2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis / I. Hamming, W. Timens, M.L. Bulthuis et al. // *The Journal of Pathology*. 2004; 203 (2): 631-637. DOI: 10.1002/path1570 2004.
85. Harvey, W.T. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape / W.T. Harvey, A.M. Carabelli, B. Jackson et al. // *Nature Reviews Microbiology*. 2021; 19 (7): 409-424. DOI: 10.1038/s41579-021-00573-0.
86. Hasenkrug, K.J. recovery from Acute SARS-CoV-2 Infection and Development of Anamnestic Immune Responses in T Cell-Depleted Rhesus Macaques / K.J. Hasenkrug, F. Feldmann, L. Myers et al. // *mBio*. 2021; 12 (4): e0150321. DOI: 10.1128/mbio.01503-21.
87. Hirabara, S.M. SARS-COV-2 variants: differences and potential of immune evasion / S.M. Hirabara, T.D.A. Serdan, R. Gorjao et al. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022; 11: 781429. DOI:10.3389/fcimb.2021.781429
88. Hoffmann, M. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE-2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor / M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Schroeder et al. // *Cell*. 2020; 181: 271-280.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052
89. Hou, H. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with Coronavirus disease 2019 / H. Hou, T. Wang, B. Zhang et al. // *Clinical & Translational Immunology*. 2020; 9 (5): e01136. DOI: 10.1002/cti2.1136.
90. Hou, Y.J. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract / Y.J. Hou, K. Okuda, C.E. Edwards et al. // *Cell*. 2020; 182: 429-446.e14. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.042
91. Huang, C. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li et al. // *Lancet*. 2020; 395 (10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
92. Hufford M.M. Influenza-infected neutrophils within the infected lungs act as antigen presenting cells for anti-viral CD8(+) T cells / M.M. Hufford, G. Richardson, H. Zhou et al. // *PLoS One*. 2012; 7 (10): e46581. DOI: 10.1371/journal.pone.0046581.

93. Iannarella, R. Coronavirus infections in children: from SARS and MERS to COVID-19, a narrative review of epidemiological and clinical features / R. Iannarella, C. Lattanzi, G. Cannata et al. // *Acta Biomed.* 2020; 91(3): e2020032. DOI: 10.23750/abm.v91i3.10294.
94. Isho, B. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients / B. Isho, K.T. Abe, M. Zuo et al. // *Science Immunology.* 2020; 5 (52): eabe5511. DOI: 10.1126/sciimmunol.abe5511.
95. Iyer, A.S. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients / A.S. Iyer, F.K. Jones, A. Nodoushani et al. // *Science Immunology.* 2020; 5 (52): eabe0367. DOI: 10.1126/sciimmunol.abe0367.
96. Jarjour, N.N. T cell memory: understanding COVID-19 / N.N. Jarjour, D. Masopust, S.C. Jameson // *Immunity.* 2021; 54 (1): 14-18. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.12.009.
97. Jiang, T. Extrusion bioprinting of soft materials: An emerging technique for biological model fabrication / T. Jiang, J.G. Munguia-Lopez, S. Flores-Torres et al. // *Applied Physics Reviews.* 2019; 6 (1): 011310. DOI: 10.1063/1.5059393.
98. Ju, B. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection / B. Ju, Q. Zhang, X. Ge et al. // *Nature.* 2020; 584 (7819): 115–119. DOI: 10.1038/s41586-020-2380-z.
99. Jung, J.H. SARS-CoV-2-specific T cell memory is sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells / J.H. Jung, M.S. Rha, M. Sa et al. // *Nature Communications.* 2021; 12: 4043. DOI: 10.1038/s41467-021-24377-1.
100. Kalimuddin, S. Early T cell and binding antibody responses are associated with COVID-19 RNA vaccine efficacy onset / S. Kalimuddin, C.Y.L. Tham, M. Qui et al. // *Med.* 2021; 2 (6): 682-688. DOI: 10.1016/j.medj.2021.04.003.
101. Kamal, H. Long-term study of hepatitis Delta virus infection at secondary care centers: the impact of viremia on liver-related outcomes / H. Kamal, G. Westman, K. Falconer et al. // *Hepatology.* 2020; 72(4): 1177-1190. DOI: 10.1002/hep.31214.

102. Khoury, D.S. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection / D.S. Khoury, D. Cromer, A. Reynaldi et al. // *Nature Medicine*. 2021; 27 (7): 1205-1211. DOI: 10.1038/s41591-021-01377-8.
103. Kielian, M. Enhancing host cell infection by SARS-CoV-2 / M. Kielian // *Science*. 2020; 370 (6518): 765-766. DOI: 10.1126/science.abf0732.
104. Kim, D. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome / D. Kim, J.Y. Lee, J.S. Yang et al. // *Cell*. 2020; 181 (4): 914-921.e10. DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
105. Kitchen, S.G. The CD4 molecule on CD8+ T lymphocytes directly enhances the immune response to viral and cellular antigens / S.G. Kitchen, J.K. Whitmire, N.R. Jones et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102: 3794–3799. DOI: 10.1073/pnas.0406603102.
106. Klein, S.L. Sex, age, and hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population / S.L. Klein, A. Pekosz, H. Park et al. // *The Journal of Clinical Investigation*. 2020; 130 (11): 6141–6150. DOI: 10.1172/JCI1420040.
107. Klinker, M.W., Lundy, S.K. Multiple mechanisms of immune suppression by b lymphocytes / M.W. Klinker, S.K. Lundy // *Molecular Medicine*. 2012; 18(1): 123–137. DOI: 10.2119/molmed.2011.00333.
108. Kounis, N.G. allergic reactions to current available COVID-19 vaccinations: pathophysiology, causality, and therapeutic considerations / N.G. Kounis, I. Koniari, C. de Gregorio et al. // *Vaccines (Basel)*. 2021; 9(3): 221. DOI: 10.3390/vaccines9030221.
109. Kreijtz, J.H. Immune responses to influenza virus infection / J.H. Kreijtz, R.A. Fouchier, G.F. Rimmelzwaan // *Virus Research*. 2011; 162 (1-2): 19–30. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.09.022.
110. Kudryavtsev, I.V. Heterogenous CD8+ T cell maturation and ‘polarization’ in acute and convalescent COVID-19 patients / I.V. Kudryavtsev, N.A.

Arsentieva, Z.R. Korobova et al. // *Viruses*. 2022; 14 (9): 1906. DOI: 10.3390/v14091906.

111. Kuo, L. A key role for the carboxy-terminal tail of the murine coronavirus nucleocapsid protein in coordination of genome packaging / L. Kuo, C.A. Koetzner, P.S. Masters // *Virology*. 2016; 494: 100-107. DOI: 10.1016/j.virol.2016.04.009.

112. Kuri-Cervantes, L. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19 / L. Kuri-Cervantes, M.B. Pampena, W. Meng et al. // *Science Immunology*. 2020; 5 (49): eabd7114. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd7114.

113. Langton, D.J. The influence of HLA genotype on the severity of COVID-19 infection / D.J. Langton, S.C. Bourke, B.A. Lie et al. // *HLA*. 2021; 98 (1): 14-22. DOI: 10.1111/tan.14284.

114. Lauer, S.A. The incubation period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From publicly reported confirmed cases: estimation and application / S.A. Lauer, K.H. Grantz, Q. Bi, et al. // *Annals of Internal Medicine*. 2020; 172 (9): 577–582. DOI: 10.7326/M20-0504.

115. Le Bert, N. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls / N. Le Bert, A.T. Tan, K. Kunasegaran et al. // *Nature*. 2020; 584 (7821): 457–462. DOI: 10.1038/s41586-020-2550-z.

116. Lee, S. Coronaviruses: innate immunity, inflammasome activation, inflammatory cell death, and cytokines / S. Lee, R. Channappanavar, T.D. Kanneganti // *Trends in Immunology*. 2020; 41 (12): 1083-1099. DOI: 10.1016/j.it.2020.10.005.

117. Leung, N.H.L., Immunogenicity of a third dose of BNT162b2 to ancestral severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and the Omicron variant in adults who received 2 doses of inactivated vaccine / N.H.L. Leung, S.M.S. Cheng, M. Martín-Sánchez et al. // *Clinical Infectious Diseases*. 2023; 76(3): e299–e307. DOI: 10.1093/cid/ciac458.

118. Li, G. Coronavirus infections and immune responses / G. Li, Y. Fan, Y. Lai et al. // *Journal of Medical Virology*. 2020; 92 (4): 424–432. DOI: 10.1002/jmv.25685.

119. Liao, D. Haematological characteristics and risk factors in the classification and prognosis evaluation of COVID-19: a retrospective cohort study / D. Liao, F. Zhou,

L. Luo et al. // *The Lancet Haematology*. 2020; 7(9): e671-e678. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30217-9.

120. Lindsley, A.W. Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination / A.W. Lindsley, J.T. Schwartz, M.E. Rothenberg // *Journal of allergy and Clinical Immunology*. 2020; 146(1): 1–7. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.04.021.

121. Lingappan, K. Understanding the age divide in COVID-19: why are children overwhelmingly spared? / K. Lingappan, H. Karmouty-Quintana, J. Davies et al. // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2020; 319 (1): L39–L44. DOI: 10.1152/ajplung.00183.2020.

122. Liu, J. Detection of IgG antibody during the follow-up in patients with COVID-19 infection / J. Liu, J. Guo, Q. Xu et al. // *Critical Care*. 2020; 24: 448–452. DOI: 10.1186/s13054-020-03138-4.

123. Liu, Z. Identification of SARS-CoV-2 Spike Mutations That Attenuate Monoclonal and Serum Antibody Neutralization / Z. Liu, L.A. VanBlargan, L.M. Bloyet et al. // *Cell Host & Microbe*. 2021; 29 (3): 477–488.e4. DOI: 10.1016/j.chom.2021.01.014.

124. Long, Q.X. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections / Q.X. Long, X.J. Tang, Q.L. Shi et al. // *Nature Medicine*. 2020; 26(8): 1200–1204. DOI: 10.1038/s41591-020-0965-6.

125. Ma, D.Y. Mechanisms of innate immune evasion in re-emerging RNA viruses / D.Y. Ma, M.S. Suthar // *Current opinion in virology*. 2015; 12: 26-37. DOI: 10.1016/j.coviro.2015.02.005.

126. Madjid, M. Potential effects of coronaviruses on the cardiovascular system: a review / M. Madjid, P. Safavi-Naeini, S.D. Solomon et al. // *JAMA Cardiol*. 2020; 5(7): 831–840. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1286.

127. Man, M.A. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelets-to-lymphocyte ratio, and eosinophils correlation with high-resolution computer tomography severity score in COVID-19 patients / M.A. Man, R.M. Rajnoveanu, N.S. Motoc et al. // *PLOS ONE* 2021; 16(6): e0252599. DOI: 10.1371/journal.pone.0252599.

128. Manik, M. Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19 / M. Manik, R.K. Singh. // *Journal of Medical Virology*. 2022; 94 (3): 869-877. DOI: 10.1002/jmv.27405.
129. Mann, E.R. Longitudinal immune profiling reveals key myeloid signatures associated with COVID-19 / E.R. Mann, M. Menon, S.B. Knight et al. // *Science Immunology*. 2020; 5 (51): eabd6197. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd6197.
130. Martin-Sancho, L. Functional landscape of SARS-CoV-2 cellular restriction / L. Martin-Sancho, M.K. Lewinski, L. Pache et al. // *Mol Cell*. 2021; 81(12): 2656-2668.e8. DOI: 10.1016/j.molcel.2021.04.008.
131. McMahan, C.S. COVID-19 wastewater epidemiology: a model to estimate infected populations / C.S. McMahan, S. Self, L. Rennert et al. // *Lancet Planet Health*. 2021; 5 (12): e874-e881. DOI: 10.1016/S2542-5196(21)00230-8.
132. Medhasi, S. Human leukocyte antigen (HLA) system: genetics and association with bacterial and viral infections / S. Medhasi, N. Chantratita // *Journal of Immunology Research*. 2022: 9710376. DOI: 10.1155/2022/9710376.
133. Morbach, H. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood / H. Morbach, E.M. Eichhorn, J.G. Liese et al. // *Clinical & Experimental Immunology*. 2010; 162 (2): 271–279. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04206.x
134. Müller, MA. Presence of Middle East respiratory syndrome coronavirus antibodies in Saudi Arabia: a nationwide, cross-sectional, serological study / M.A. Müller, B. Meyer, V.M. Corman et al. // *Lancet Infect Dis*. 2015; 15(5): 559-64. DOI: 10.1016/S1473-3099(15)70090-3.
135. Murugan, C. COVID-19: A review of newly formed viral clades, pathophysiology, therapeutic strategies and current vaccination tasks / C. Murugan, S. Ramamoorthy, G. Kuppaswamy et al. // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021; 193 (PtB): 1165-1200. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.10.144.
136. Nascimbeni, M. Peripheral CD4(+)CD8(+) T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions / M. Nascimbeni, E.C. Shin, L. Chiriboga et al. // *Blood*. 2004; 104: 478–486. DOI: 10.1182/blood-2003-12-4395.

137. Nelemans, T. Viral innate immune evasion and the pathogenesis of emerging RNA virus infections / T. Nelemans, M. Kikkert // *Viruses*. 2019; 11 (10): 961. DOI: 10.3390/v11100961.

138. Ng, K. Pre-existing and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans / K. Ng, N. Faulkner, G. Cornish et al. // *BioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.05.14.095414.

139. Nikolich-Zugich, J. SARS-CoV-2 and COVID-19 in older adults: what we may expect regarding pathogenesis, immune responses, and outcomes / J. Nikolich-Zugich, K.S. Knox, C.T. Rios et al. // *Geroscience*. 2020; 42 (2): 505–514. DOI: 10.1007/s11357-020-00186-0.

140. Nordström, P. Effectiveness of heterologous ChAdOx1 nCoV-19 and mRNA prime-boost vaccination against symptomatic COVID-19 infection in Sweden: A nationwide cohort study / P. Nordström, M. Ballin, A. Nordström // *The Lancet Regional Health – Europe*. 2021; 11: 100249. DOI: 10.1016/j.lanepe.2021.100249.

141. Notarbartolo, S. Integrated longitudinal immunophenotypic, transcriptional and repertoire analyses delineate immune responses in COVID-19 patients / S. Notarbartolo, V. Ranzani, A. Bandera et al. // *Science Immunology*. 2021; 6 (62): eabg5021. DOI: 10.1126/sciimmunol.abg5021.

142. Okba N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease patients / N. Okba, M.A. Müller, W. Li et al. // *Emerging Infectious Diseases*. 2020; 26 (7): 1478–1488. DOI: 10.3201/eid2607.200841.

143. Ou, X. Characterization of spike glycoprotein of sars-cov-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV / X. Ou, Y. Liu, X. Lei et al. // *Nature Communications*. 2020; 11: 1620. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9.

144. Perico, L. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19 / L. Perico, A. Benigni, F. Casiraghi et al. // *Nature Reviews Nephrology*. 2021; 17: 46–64. DOI: 10.1038/s41581-020-00357-4.

145. Poletti, P. Age-specific SARS-CoV-2 infection fatality ratio and associated risk factors, Italy, February to April 2020 / P. Poletti, M. Tirani, D. Cereda, et al. //

Eurosurveillance. 2020; 25 (31): 2001383. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.31.2001383.

146. Popova, A.Y. SARS-CoV-2 seroprevalence structure of the russian population during the COVID-19 pandemic / A.Y. Popova, E.B. Ezhlova, A.A. Melnikova et al. // *Viruses*. 2021; 13 (8): 1648. DOI: 10.3390/v13081648.

147. Pormohammad, A. Efficacy and safety of COVID-19 vaccines: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials / A. Pormohammad, M. Zarei; S. Ghorbani et al. // *Vaccines*. 2021; 9: 467. DOI: 10.3390/vaccines9050467.

148. Potapov, I. Fostering experimental and computational synergy to modulate hyperinflammation / I. Potapov, T.D. Kanneganti, A. Del Sol // *Trends in Immunology*. 2022; 43 (1): 4-7. DOI: 10.1016/j.it.2021.11.004.

149. Prompetchara, E. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic / E. Prompetchara, C. Ketloy, T. Palaga // *Asian Pac J allergy Immunol*. 2020; 38(1): 1-9. DOI: 10.12932/AP-200220-0772.

150. Pulendran, B., Maddur, M.S. Innate immune sensing and response to influenza / B. Pulendran, M.S. Maddur // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2015; 386: 23–71. DOI: https://doi.org/10.1007/82_2014_405.

151. Qin, C. 2020. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China / C. Qin, L. Zhou, Z. Hu et al. // *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 71 (15): 762-768. DOI: 10.1093/cid/ciaa248.

152. Rizo-Téllez, S.A. The neutrophil-to-monocyte ratio and lymphocyte-to-neutrophil ratio at admission predict in-hospital mortality in mexican patients with severe SARS-CoV-2 infection (COVID-19) / S.A. Rizo-Téllez, L.A. Méndez-García, C. Flores-Rebollo et al. // *Microorganisms*. 2020; 8 (10): 1560. DOI: 10.3390/microorganisms8101560.

153. Rodda, L.B. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19 / L.B. Rodda, J. Netland, L. Shehata et al. // *Cell*. 2021; 184(1): 169–183.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2020.11.029.

154. Rothan, H.A. The epidemiology and pathogenesis of Coronavirus Disease (COVID-19) outbreak / H.A. Rothan, S.N. Byrareddy // *Journal of Autoimmunity*. 2020; 109: 102433. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
155. Rudan, I. The COVID-19 pandemic in children and young people during 2020-2021: A complex discussion on vaccination / I. Rudan, D. Adeloye, V. Katikireddi et al. // *J Glob Health*. 2021; 11: 01011. DOI: 10.7189/jogh.11.01011
156. Saadat, S. Binding and neutralization antibody titers after a single vaccine dose in health care workers previously infected with SARS CoV-2./ S. Saadat, T.Z. Rikhtegaran, J. Logue et al. // *Journal of the American Medical Association*. 2021; 325 (14): 1467–1469. DOI: 10.1001/jama.2021.3341.
157. Sabino, E.C. Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, Despite High Seroprevalence / E.C. Sabino, L.F. Buss, M.P.S. Carvalho et al. // *Lancet*. 2021; 397: 452–455. DOI: 10.1016/S0140-6736(21) 00183-5.
158. Sánchez-Díez, S. Biomarker Profiles Associated with COVID-19 Severity and Mortality / S. Sánchez-Díez, C. Gómez-Ollés, M.-J. Cruz et al. // *Current Issues in Molecular Biology*. 2023; 45: 1998–2012. DOI: 10.3390/cimb45030128.
159. Sekine, T. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19 / T. Sekine, A. Perez-Potti, O. Rivera-Ballesteros et al. // *Cell*. 2020; 183 (1): 158–168. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.017.
160. Selanno, Y. Analysis of neutrophil lymphocyte ratio and absolute lymphocyte count as predictors of severity of COVID-19 patients / Y. Selanno, Y. Widaningsih, T. Esa, M. Arif // *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory (IJCPML)*. 2021; 27(2):184–189. DOI: 10.24293/ijcpml.v27i2.1738.
161. Sette, A. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19 / A. Sette, S. Crotty // *Cell*. 2021; 184 (4): 861-880. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.007.
162. Sette, A., Sidney, J. T cell responses to SARS-CoV-2 / A. Sette, J. Sidney, S. Crotty // *Annual Review of Immunology*. 2023; 41: 343-373. DOI: 10.1146/annurev-immunol-101721-061120

163. Shang, J. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2 / J. Shang, Y. Wan, C. Luo et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020; 117 (21): 11727–11734. DOI: 10.1073/pnas.2003138117
164. Shiehzadegan, S. Analysis of the Delta variant B.1.617.2 COVID-19 / S. Shiehzadegan, N. Alaghemand, M. Fox et al. // *Clinics and Practice*. 2021; 11 (4): 778-784. DOI: 10.3390/clinpract11040093.
165. Shkurnikov, M. Association of HLA class I genotypes with severity of Coronavirus disease-19 / M. Shkurnikov, S. Nersisyan, T. Jankevic et al. // *Frontiers in Immunology*. 2021; 12: ID 641900. DOI: 10.3389/fimmu.2021.641900.
166. Song, J-W. Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19/ J-W. Song, C. Zhang, X. Fan et al. // *Nature Communications*. 2020; 11 (1): 1-10. DOI: 10.1038/s41467-020-17240-2.
167. Sun, D-W. The underlying changes and predicting role of peripheral blood inflammatory cells in severe COVID-19 patients: A sentinel? / D-W. Sun, D. Zhang, R-H. Tian et al. // *Clinica Chimica Acta*. 2020; 508: 122–129. DOI: 10.1016/j.cca.2020.05.027.
168. Sun, J.C. Adaptive Immune Features of Natural Killer / J.C. Sun, J.N. Beilke, L.L. Lanier // *Cells Nature*. 2009; 457(7229): 557–561. DOI: 10.1038/nature07665.
169. Sun, S. Abnormalities of peripheral blood system in patients with COVID-19 in Wenzhou / S. Sun, X. Cai, H. Wang et al. // *Clinica Chimica Acta*. 2020; 507: 174–180. DOI: 10.1016/j.cca.2020.04.024.
170. Taeschler, P. T-cell recovery and evidence of persistent immune activation 12 months after severe COVID-19 / P. Taeschler, S. Adamo, Y. Deng et al. // *Allergy*. 2022; 77 (8): 2468-2481. DOI: 10.1111/all.15372.
171. Takeda, M. Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein / M. Takeda // *Microbiology and Immunology*. 2022; 66 (1): 15-23. DOI: 10.1111/1348-0421.12945.
172. Taneja, V. Sex hormones determine immune response / V. Taneja // *Frontiers in Immunology*. 2018; 9: 1931. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01931.

173. Tate M.D. The role of neutrophils during midland severe influenza virus infections of mice /M.D. Tate, L.J. Ioannidis, B. Croker et al. // PLoS One. 2011; 6 (3): e17618. DOI: 10.1371/journal.pone.0017618.

174. Tay, M.Z. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention / M.Z. Tay, C.M. Poh, L. Rénia et al. // Nature Reviews Immunology. 2020; 20: 363-374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8.

175. The COVID-19 candidate vaccine landscape: [Электронный ресурс] // World Health Organization. UPL: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>. (Дата обращения: декабрь 2024).

176. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China / Epidemiology Working Group for NCIP Epidemic Response // Chinese Journal of Epidemiology. 2020; 41: 145-151. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.003.

177. Thevarajan, I. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19 / I. Thevarajan, T.H. Nguyen, M. Koutsakos et al. // Nature Medicine. 2020; 26 (4): 453-455. DOI: 10.1038/s41591-020-0819-2.

178. Thomas, S. The structure of the membrane protein of SARS-CoV-2 resembles the sugar transporter Semi SWEET / S. Thomas // Pathogens and Immunity. 2020; 5 (1): 342–363. DOI: 10.20411/pai.v5i1.377.

179. To, K.K-W. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study / K.K.-W. To, O.T.-Y. Tsang, W.-S. Leung et al. // The Lancet Infectious Diseases. 2020; 20 (5): 565–574. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.

180. Tomita, Y. Association between HLA gene polymorphisms and mortality of COVID-19: An *in silico* analysis / Y. Tomita, T. Ikeda, R. Sato et al. // Immunity, Inflammation and Disease. 2020; 8 (4): 684-694. DOI: 10.1002/iid3.358.

181. Tong, Z.W.M. The role of T-cell immunity in COVID-19 severity amongst people living with type II diabetes / Z.W.M. Tong, E. Grant, S. Gras et al. // *The FEBS Journal*. 2021; 288 (17): 5042-5054. DOI: 10.1111/febs.16105.
182. Vaira, L.A. Anosmia and ageusia: common findings in COVID-19 patients / L.A. Vaira, G. Salzano, G. Deiana et al. // *Laryngoscope*. 2020; 130 (7): 1787. DOI: 10.1002/lary28692.
183. van Dorp, L. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2 / L. van Dorp, M. Acman, D. Richard et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. 2020; 83: 104351. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104351.
184. van Helden, M.J. CCR2 defines a distinct population of NK cells and mediates their migration during influenza virus infection in mice / M.J. van Helden, D.M. Zaiss, A.J. Sijts // *PLoS One*. 2012; 7 (12): e52027. DOI: 10.1371/journal.pone.0052027.
185. Wajnberg, A. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months / A. Wajnberg, F. Amanat, A. Firpo et al. // *Science*. 2020; 370 (6521): 1227–1230. DOI: 10.1126/science.abd7728.
186. Walsh K.A. SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection / K.A. Walsh, K. Jordan, B. Clyne et al. // *Journal of Infection*. 2020; 81 (3): 357-371. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.06.067.
187. Wan, Y. Receptor recognition by the novel coronavirus from wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus / Y. Wan, J. Shang, R. Graham et al. // *J Virol*. 2020; 94(7): e00127-20. DOI: 10.1128/JVI.00127-20.
188. Wise, J. COVID-19: European countries suspend use of Oxford-AstraZeneca vaccine after reports of blood clots / J. Wise // *BMJ*. 2021; 372: n699. DOI: 10.1136/bmj.n699.
189. Wu, F. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China / F. Wu, S. Zhao, B. Yu et al. // *Nature*. 2020; 579(7798): 265-269. DOI: 10.1038/s41586-020-2008-3.

190. Xu, B. Suppressed T cell-mediated immunity in patients with COVID-19: a clinical retrospective study in Wuhan / B. Xu, C.Y. Fan, A.I. Wang et al. // *Chinese Journal of Infection*. 2020; 81, e51–e60. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.04.012.
191. Xu, C. Conformational dynamics of SARS-CoV-2 trimeric spike glycoprotein in complex with receptor ACE-2 revealed by cryo-EM / C. Xu, Y. Wang, C. Liu et al. // *Science Advances*. 2021; 7 (1): eabe5575. DOI: 10.1126/sciadv.abe5575.
192. Xu, H. High expression of ACE-2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa / H. Xu, L. Zhong, J. Deng et al. // *International Journal of Oral Science*. 2020; 12 (1): 8. DOI: 101038/s41368-020-0074-x.
193. Xu, Z. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome / Z. Xu, L. Shi, Y. Wang et al. // *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020; 8 (4): 420-422. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
194. Yang, A.P. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients / A.P. Yang, J.P. Liu, W.Q. Tao et al. // *International Immunopharmacology*. 2020; 84: 106504. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106504.
195. Yang, L. IgG antibody titers against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein correlate with the severity of COVID-19 patients / L. Yang, Q. Xu, B. Yang et al. // *BMC Microbiology*. 2021; 21: 351. DOI: 10.1186/s12866-021-02401-0.
196. Yao, H. Molecular architecture of the SARS-CoV-2 virus / H. Yao, Y. Song, Y. Chen et al. // *Cell*. 2020; 183 (3): 730–738.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2020.09.018.
197. Yaqinuddin, A. Cross-immunity between respiratory coronaviruses may limit COVID-19 fatalities / A. Yaqinuddin // *Medical Hypotheses*. 2020; 144: 110049. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110049.
198. Yorsaeng, R. Immunogenicity of a third dose viral-vectored COVID-19 vaccine after receiving two-dose inactivated vaccines in healthy adults. / R. Yorsaeng, N. Suntronwong, H. Phowatthanasathian et al. // *Vaccine*. 2021; 40 (2022): 524–530. DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.11.083.

199. Yu, X., Yang R. COVID-19 Transmission through asymptomatic carriers is a challenge to containment / X. Yu, R. Yang // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2020; 14 (4): 474–475. DOI: 10.1111/irv.12743.
200. Yuan, P. Safety, tolerability, and immunogenicity of COVID-19 vaccines: a systematic review and meta-analysis / Yuan, P.; Ai, P.; Liu, Y. et al. // *medRxiv [Preprint]*. 2020 Nov 4:2020.11.03.20224998. doi: 10.1101/2020.11.03.20224998.
201. Zaim, S. COVID-19 and multiorgan response / S. Zaim, J.H. Chong, V. Sankaranarayanan et al. // *Current Problems in Cardiology*. 2020; 45 (8): 100618. DOI: 10.1016/j.jpcardiol.2020.10.0618.
202. Zang, R. TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes / R. Zang, M.F. Gomez Castro, McCune et al. // *Science Immunology*. 2020; 5: eabc3582. DOI: 10.1126/sciimmunol.abc3582.
203. Zhan, L. Predictive value of neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) on cardiovascular events in patients with COVID-19 / L. Zhan, Y. Liu, Y. Cheng et al. // *International Journal of General Medicine*. 2021; 14: 3899–3907. DOI: 10.2147/IJGM.S317380.
204. Zhang H., Cao, X. Clinical and hematological characteristics of 88 patients with COVID-19 / H. Zhang, X. Cao, M. Kong et al. // *International Journal of Laboratory Hematology*. 2020; 42 (6): 780–787. DOI: 10.1111/ijlh.13291.
205. Zhang, B. Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19 / B. Zhang, X. Zhou, Y. Qiu et al. // *PLoS One*. 2020; 15 (7): e0235458. DOI: 10.1371/journal.pone.0235458.
206. Zhang, H. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target / H. Zhang, J.M. Penninger, Y. Li et al. // *Intensive Care Medicine*. 2020; 46 (4): 586–590. DOI: 10.1007/s00134-020-05985-9.
207. Zhang, J. Endothelial dysfunction contributes to COVID-19-associated vascular inflammation and coagulopathy / J. Zhang, M. Kristen, A. Peter McCullough // *reviews in cardiovascular medicine*. 2020; 21(3): 315–319. DOI: 10.31083/j.rcm.2020.03.126.

208. Zheng, H.-Y. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients / H.-Y. Zheng, M. Zhang, C.-X. Yang et al. // *Cellular & Molecular Immunology*. 2020; 17: 541-543. DOI: 10.1038/s41423-020-0401-3.

209. Zhou, P. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin / P. Zhou, X.L. Yang, X.G. Wang et al. // *Nature*. 2020; 579: 270–273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.

210. Zuo, J. Robust SARS-CoV-2-specific T cell immunity is maintained at 6 months following primary infection / J. Zuo, A.C. Dowell, H. Pearce et al. // *Nature Immunology*. 2021; 22:620–626. DOI: 10.1038/s41590-021-00902-8.