

СОХРАНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ К АНТИГЕНАМ SARS-CoV-2. ТРИ ГОДА НАБЛЮДЕНИЯ



З.Э. Афридонова¹, А.П. Топтыгина^{1,3}, Е.Л. Семикина^{2,4}

¹ ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

³ ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Пандемия COVID-19 завершилась, однако SARS-CoV-2 продолжает активно циркулировать и мутировать в человеческой популяции. В связи с этим важно понять насколько длительно будет сохраняться постинфекционный и поствакцинальный иммунитет и насколько эффективно уже сформированный иммунитет будет работать против новых мутантных штаммов SARS-CoV-2. Целью данной работы было исследовать гуморальный и клеточный иммунитет у группы переболевших COVID-19 в течение трех лет после первичного заболевания. В продольное исследование были включены 38 взрослых в возрасте 23–72 года, перенесших ПЦР-подтвержденный COVID-19 во второй половине 2020 г. в легкой или среднетяжелой форме. Каждые 6 мес. в течение 3 лет после заболевания эти люди проходили обследование на наличие гуморального и клеточного иммунитета к антигенам SARS-CoV-2. Параметры гуморального иммунитета определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия) для S-белка и «N-CoV-2-IgG PS» (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия) для N-белка, клеточный иммунитет оценивали по экспрессии молекулы CD107a на CD8^{high} лимфоцитах при распознавании S- или N-антигенов SARS-CoV-2. Показано, что динамика уровней антител к антигенам SARS-CoV-2 зависит от вида антигена (S- или N-белок), класса антител (IgG или IgA) и индивидуальной истории контактов человека с новыми штаммами SARS-CoV-2. Динамика процента цитотоксических CD8^{high}CD107a⁺ лимфоцитов умеренно положительно коррелирует с динамикой уровня соответствующих анти S- или N-антител. В то же время изменения уровней как гуморального, так и Т-клеточного ответа на антигены S- или N-белка SARS-CoV-2 слабо отрицательно коррелируют между собой. Обнаружена сильная положительная корреляция между изменениями уровней анти-S IgG-антител и avidности этих антител. Ускользание новых штаммов SARS-CoV-2 за счет частых мутаций от нейтрализации анти-S IgG приводит к индукции новых первичных иммунных ответов на S-антигены SARS-CoV-2 наравне с активацией уже существующих ответов, сформированных на предыдущие штаммы коронавируса. Исследование иммунных ответов на антигены SARS-CoV-2 позволяет не только прогнозировать сохранение высоких уровней анти-S-антител и Т-клеточных ответов на антигены SARS-CoV-2, но и дает бесценный материал для углубленного исследования процессов формирования и поддержания иммунологической памяти.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, антитела, клеточный иммунитет, иммунологическая память, прорывной иммунитет.

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.
Тел.: 8 916 389-66-04. Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Contacts:

Anna P. Toptygina
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 916 389-66-04. Fax: +7 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Для цитирования:

Афридонова З.Э., Топтыгина А.П., Семикина Е.Л. Сохранение иммунологической памяти к антигенам SARS-CoV-2. Три года наблюдения // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 1. С. 35–45.
doi: 10.15789/2220-7619-SIM-17596

Citation:

Afridonova Z.E., Toptygina A.P., Semikina E.L. Sustained immunological memory to SARS-CoV-2 antigens. Three years of observation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 1, pp. 35–45. doi: 10.15789/2220-7619-SIM-17596

© Афридонова З.Э., Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-SIM-17596>

SUSTAINED IMMUNOLOGICAL MEMORY TO SARS-CoV-2 ANTIGENS. THREE YEARS OF OBSERVATION

Afridonova Z.E.^a, Topotygina A.P.^{a,c}, Semikina E.L.^{b,d}

^a G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b National Medical Research Center of Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

^c Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^d I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. The COVID-19 pandemic has ended, but SARS-CoV-2 continues to actively circulate and mutate in the human population. In this regard, it is important to understand for how long post-infectious and post-vaccination immunity may last and how effectively established immunity could act against new mutant SARS-CoV-2 strains. The aim was to study humoral and cellular immunity in a group of COVID-19 convalescent subjects within 3 years after the primary infection. The longitudinal study included 38 adults aged 23–72 years with PCR-confirmed mild or moderate COVID-19 in the second half of 2020. Within three-year follow-up after the onset, the subjects were examined every 6 months for the level of humoral and cellular immunity against SARS-CoV-2 antigens. The parameters of humoral immunity were assessed by enzyme immunoassay using “SARS-CoV-2-IgG quantitative-ELISA-BEST” kits (Vector-Best JSC, Novosibirsk, Russian Federation) for S-protein and “N-CoV-2-IgG PS” (Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation) specific to the N-protein. Cellular anti-SARS-CoV-2 immunity was analyzed by evaluating surface CD107a expression on CD8^{high} lymphocytes stimulated with the SARS-CoV-2 S- or N-antigens. It was shown that the dynamics of antibody levels against SARS-CoV-2 antigens depends on antigen (S- or N-protein) type, antibody class (IgG or IgA) as well as individual contact history with new SARS-CoV-2 strains. The dynamics of cytotoxic CD8^{high}CD107a⁺ lymphocyte percentage is moderately positively correlated with that of the corresponding anti-S or N antibody levels. At the same time, change in the levels of both humoral and T-cell responses to SARS-CoV-2 S- or N-protein antigens are weakly negatively correlated with each other. A strong positive correlation was found between changes in the anti-S IgG antibody level and avidity. Avoiding the anti-S IgG neutralization due to frequent mutations of new SARS-CoV-2 strains leads to induced new primary immune responses against SARS-CoV-2 antigens along with the activation of existing responses formed to previous coronavirus strains. The study of immune responses against SARS-CoV-2 antigens allows to predict the persistence of high SARS-CoV-2 anti-S antibody and T-cell response levels.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, antibodies, cellular immunity, immunological memory, breakthrough immunity.

Введение

Пандемия COVID-19 с очевидностью доказала, что ни локдауны, ни тотальное ношение масок, и даже ни противовирусные препараты не способны искоренить циркуляцию SARS-CoV-2 и исключить заболеваемость новой коронавирусной инфекцией. Стало понятно, что основная надежда — на иммунитет, индивидуальный и популяционный как сумму индивидуальных. В связи с этим два важных вопроса необходимо разрешить, чтобы понять, насколько достижима эта надежда. Первое — насколько длительно будет сохраняться постинфекционный и поствакцинальный иммунитет, и второе — насколько эффективно уже сформированный иммунитет будет работать против новых штаммов SARS-CoV-2, вызывающих опасные (VOC).

Уровень вируснейтрализующих антител наилучшим образом коррелирует с защищенностью от COVID-19 [12]. Первоначально было показано, что антительный ответ на инфекцию SARS-CoV-2 быстро нарастал, а через 1–2 месяца также быстро снижался [27]. Дальнейшие наблюдения продемонстрировали, что уровень антител хоть и снижался в несколько раз, но со-

хранялся на детектируемом уровне до года [3, 31] и более [4, 6]. Более высокие уровни IgG-антител к SARS-CoV-2 были связаны с более старшим возрастом, мужским полом и тяжелым течением заболевания [13]. Известно, что Т-зависимый путь формирования антител включает 2 независимых варианта: экстрафолликулярный (ЕF) путь после короткого контакта с Т-фолликулярным хелпером протекает в В-зоне вне зародышевых центров и фолликулярный путь в зародышевых центрах (GC). Формируемые в результате плазматические клетки и их антитела принципиально различаются. При EF пути развития формируются короткоживущие плазмциты, синтезирующие неперестроенные, с малым количеством мутаций, низкоаффинные антитела преимущественно IgM, IgA и IgG3 [32]. Показано, что при тяжелом течении COVID-19 именно EF клетки весьма активно синтезируют антитела, тогда как при легком и среднетяжелом течении преимущество имеют GC клетки [33]. Быстрая наработка EF короткоживущих плазмобластов сопровождается быстрым нарастанием концентрации низкоаффинных IgM, IgA, IgG3 и достаточно быстрым спадом, тогда как формирование GC плазмобластов характеризует-

ся высоким аффинитетом, преимущественно IgG1-субклассом антител и завершается образованием пула долгоживущих плазмочитов [10, 17]. При этом уровень В-клеток памяти продолжает нарастать и созревать даже после элиминации вируса из организма [20]. Помимо вируснейтрализующих антител, которые считаются основным механизмом иммунной защиты [21], в процессе иммунного ответа формируются не нейтрализующие вирус антитела, примером которых являются антитела против нуклеокапсидного N-белка SARS-CoV-2. Для этих антител типично более быстрое нарастание и также более быстрое снижение концентрации, чем для анти-S-антител [15]. Все еще неясна роль таких не нейтрализующих вирус антител в защите от инфицирования SARS-CoV-2.

В начале пандемии постинфекционный и поствакцинальный иммунитет эффективно сдерживал повторные заболевания COVID-19, однако с появлением штамма омикрон стало понятно, что этот и последующие VOC способны прорвать сформированный ранее иммунитет [7]. Характерно, что в этом случае заболевание протекает в легкой или бессимптомной форме. Это может быть объяснено как перекрестными эффектами антител, так и Т-клеточным иммунным ответом, который менее зависим от мутаций вируса [9]. Несмотря на обширные исследования иммунитета к SARS-CoV-2, все еще недостаточно знаний о продолжительности и эффективности такой иммунной защиты.

Целью данной работы было исследовать гуморальный и клеточный иммунитет у группы переболевших COVID-19 в течение трех лет после первичного заболевания.

Материалы и методы

В продольное исследование были включены 38 взрослых в возрасте 23–72 года, перенесших ПЦР-подтвержденный COVID-19 во второй половине 2020 г. в легкой или среднетяжелой форме. Каждые 6 мес. в течение 3 лет после заболевания эти люди проходили обследование на наличие гуморального и клеточного иммунитета к антигенам SARS-CoV-2. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (протокол № 58), обследованные подписывали информированное согласие. Кровь для исследования отбирали в вакуумные пробирки с гепарином или с активатором свертывания.

Для определения гуморального иммунитета сыворотку крови получали центрифугированием, разливали в пробирки Эппендорф и хранили при -70°C . Анти-S IgG-антитела определяли с помощью наборов «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО Вектор-

Бест, Новосибирск, РФ), а анти-N IgG на наборе «N-CoV-2-IgG PS» (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, РФ) [2]. Субклассы IgG-антител к антигенам вируса SARS-CoV-2 исследовали с помощью ранее разработанной нами модификации ИФА-метода [5]. Кратко: мы использовали 96-луночные панели с сорбированным полноразмерным S-антигеном вируса SARS-CoV-2 от коммерческого набора «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО Вектор-Бест, Новосибирск, РФ) или с N-белком вируса SARS-CoV-2 от коммерческого набора «N-CoV-2-IgG PS» (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, РФ) Вместо анти-IgG конъюгатов, входящих в тест-системы, использовали меченные пероксидазой анти-IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 моноклональные антитела (Полигност, Россия) в концентрации 1 мкг/мл. Все остальные этапы определения антител проводили согласно инструкции к наборам. Аналогично для определения IgA-антител вместо конъюгата из тест-системы использовали меченые пероксидазой анти-IgA антитела (Полигност, Россия) в концентрации 1 мкг/мл. Для определения авидности использовали вышеуказанные наборы для определения IgG в модификации [4]. Сыворотку каждого испытуемого вносили в лунки двух соседних стрипов, после инкубации и отмывки в лунки первого стрипа вносили по 200 мкл физиологического раствора, в лунки второго стрипа — по 200 мкл денатурирующего раствора мочевины, инкубировали 10 мин при комнатной температуре и отмывали 3 раза. Далее выполняли все процедуры по протоколу к набору «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ».

Выделенные на градиенте плотности ($\rho = 1,077$; ООО «ПанЭко», РФ) мононуклеары в среде RPMI-1640 с добавлением 2мМ L-глутамина, гентамицина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «ПанЭко», РФ) вносили в количестве $2,5 \times 10^5$ в лунки 96-луночной стерильной панели, добавляли раствор моненсина в конечной концентрации 10 мкМ и моноклональные антитела к антигену CD107a-PE-Cy5 в конечном разведении 1:100 (контрольная проба), конечный объем в лунке составил 200 мкл. Для стимуляции мононуклеаров S- и N-антигенами SARS-CoV-2 использовали лунки панелей от наборов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО Вектор-Бест, Новосибирск РФ) и «N-CoV-2-IgG PS» (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, РФ) в которых на дно лунок сорбирован S- или N-белок вируса SARS-CoV-2, соответственно. Перед началом эксперимента используемые стрипы были простерилизованы с помощью ультрафиолетового облучения 30 мин. Опытные и контрольные пробы инкубировали при 37°C во влажной атмосфере и 5%

CO₂ 20 ч, переносили в пробирки для цитофлуориметрии, отмывали CellWash (300g 5 мин), окрашивали антителами к антигену CD8-FITC 20 мин в темноте при 4°C и отмывали при тех же условиях. Иммунофенотипирование проводили на проточном цитометре BD FACS CantoII (Vecton Dickinson, США). В лимфоидном гейте выделяли гейт лимфоцитов высоко экспрессирующих антиген CD8 (CD8^{high}) и подсчитывали процент клеток CD8^{high}CD107a⁺, представляющих собой цитотоксические Т-лимфоциты, распознавшие S- или N-антиген SARS-CoV-2 и ответивших на это распознавание цитотоксической атакой. Границей спонтанной экспрессии молекулы CD107a на CD8^{high} лимфоцитах считали уровень 1% [5].

Результаты исследований подвергали статистической обработке. Нормальность распределения исследуемых параметров проверяли методом Колмогорова–Смирнова. Количество IgG-антител выражали в ВАУ/мл. Уровень антител представлен в виде медианы (1–3 квартиль); Ме (LQ–HQ). Различия между группами оценивали методом Манна–Уитни. Для параметров процентного уровня субклассов IgG, авидности и клеточного иммунитета была подтверждена гипотеза о нормальности распределения. Уровень IgA представлен в коэффициентах позитивности (КП) как отношение

к отрицательному контролю. Результаты представлены в виде средней арифметической и ее ошибки (M±SE). Корреляции оценивали методом Пирсона. Различия при p < 0,05 считали значимыми.

Результаты

Динамика уровней анти-S и анти-N IgG-антител в сыворотке крови обследованных реконвалесцентов представлена на рис. 1. Из рисунка видно, что концентрация анти-S IgG в интервале 6–12 мес. после заболевания держалась на стабильном уровне 700–800 ВАУ/мл, тогда как концентрация анти-N IgG за этот период снизилась с 945 (376–2525) до 273 (171–687) ВАУ/мл. Через 1,5 года после первичного заболевания, зимой и в начале весны 2022 г. обследованные перенесли повторное заболевание, вызванное штаммом омикрон, что привело к значимому (p < 0,05) повышению уровня анти-S IgG до 1524 (725–2213) ВАУ/мл, а анти-N IgG до 1492 (575–3117) ВАУ/мл. Через полгода после этого концентрация анти-N IgG снизилась до 296 (182–538) ВАУ/мл и сохранялась на сроке до трех лет после первичного заболевания около 200 ВАУ/мл. На тех же сроках уровень анти-S IgG продолжал плавно нарастать до 2069 (751–3719) ВАУ/мл в 3 года после первичного заболе-

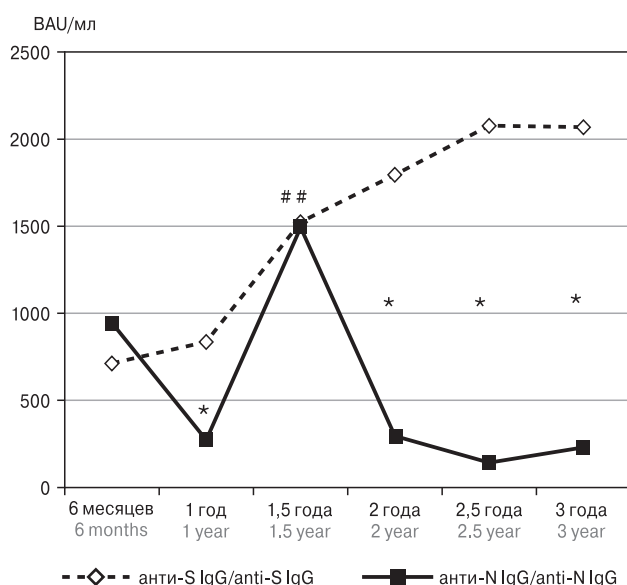


Рисунок 1. Изменение уровней IgG-антител в зависимости от времени после заболевания COVID-19

Figure 1. Temporal post-COVID-19 change in IgG antibody levels

Примечание. *p < 0,05 между уровнем анти-S и анти-N IgG; #p < 0,05 для анти-S и анти-N IgG по сравнению с уровнем на сроке 1 год.

Note. *p < 0.05 between anti-S and anti-N IgG levels; #p < 0.05 for anti-S and anti-N IgG vs 1-year follow-up levels.

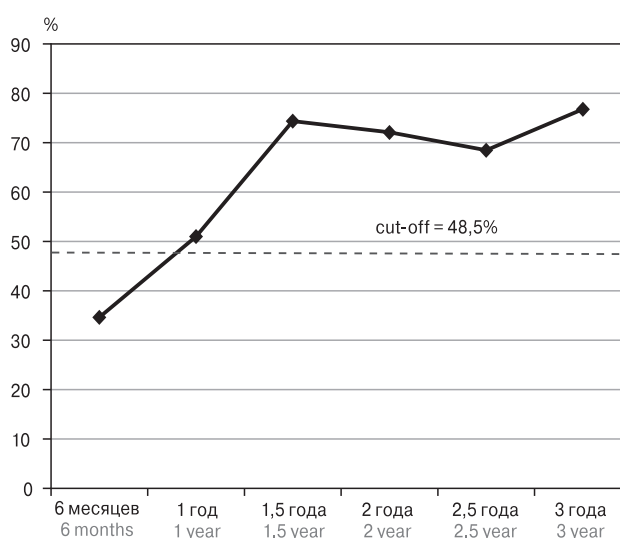


Рисунок 2. Изменение во времени авидности антител к S-белку SARS-CoV-2 в сыворотке крови переболевших COVID-19

Figure 2. Temporal serum change in SARS-CoV-2 S protein-specific antibody avidity of COVID-19 convalescent patients

Примечание. Пунктирной линией обозначен уровень cut-off для разделения высоко и низко авидных антител. Note. The dotted line indicates the cut-off level to distinguish between high and low avidity antibodies.

вания. Различия в уровнях анти-N и анти-S IgG на сроках 2 и более года были значимыми ($p < 0,05$). Выявлена умеренная отрицательная корреляция динамики уровней анти-S и анти-N IgG-антител ($r = -0,37$).

Изменение avidности анти-S IgG-антител с течением времени представлено на рис. 2. Через 6 мес. после первичного заболевания avidность антител все еще была низкой: $34,65 \pm 2,11\%$. В предыдущих исследованиях мы рассчитали cut-off между низко- и высокоavidными антителами, который оказался равным $48,5\%$. К году avidность достигла $51,02 \pm 3,61\%$, что следует расценить как высокоavidные антитела. После повторного заболевания штаммом омикрон в 1,5 года avidность достигла уровня $74,5 \pm 3,08\%$ и сохранялась на этом уровне последующие 1,5 года наблюдения. Обнаружена сильная положительная корреляция между динамикой уровней анти-S IgG-антител и avidности этих антител ($r = 0,89$).

Динамика уровня анти-S IgA-антител в зависимости от времени после заболевания, представленная на рис. 3, скорее напоминала кривую динамики анти-N IgG. В начале наблюдения отмечался высокий уровень анти-S IgA: $13,79 \pm 2,34$ КП. К году наблюдения уровень значимо ($p < 0,05$) снизился до $2,18 \pm 0,59$, затем после перенесенного повторного заболевания штаммом омикрон вновь значимо ($p < 0,05$) поднялся до $8,3 \pm 1,72$ с последующим снижением до $3,72 \pm 0,63$ на сроке 2 года и плавным подъемом до $6,1 \pm 0,55$ через 3 года наблюдения. Выявлена умеренная положительная корреляция между изменением уровней анти-S IgA-антител и анти-N IgG ($r = 0,67$).

Известно, что короткоживущие плазматические синтезируют преимущественно IgG3-субкласс, тогда как долгоживущие — преимущественно IgG1-субкласс. Изменения с течением времени спектра субклассов анти-S и анти-N IgG-антител представлены на рис. 4 и в табл. Интересно, что IgG-антитела к антигенам N-белка SARS-CoV-2 были представлены всеми четырьмя субклассами, при этом IgG2 и IgG4 были минорными, а на антигены S-белка SARS-CoV-2 сформировались только антитела субклассов IgG1 и IgG3 с подавляющим преимуществом IgG1. Важно, что после повторного заболевания штаммом омикрон, через 1,5 года после первичного COVID-19 в анти-N ответе стали преобладать IgG1-антитела. Это характерно для вторичного типа иммунного ответа. При этом на более поздних сроках вновь появились и даже преобладали ($55,23 \pm 2,84\%$ на сроке 2,5 года) IgG3-антитела. IgG2- и IgG4-антитела в ответе на N-белок вновь определялись как минорные, менее 3%. Напротив, анти-S-антитела уже на сроке 1 год полностью были представле-

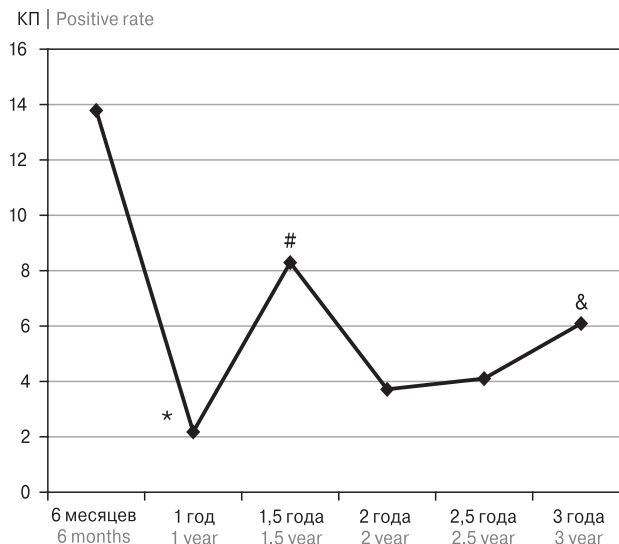


Рисунок 3. Изменение уровня анти-S IgA-антител в зависимости от времени после заболевания COVID-19

Figure 3. Temporal change in post-COVID-19 anti-S IgA antibody levels

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с уровнем на сроке 6 мес.; # $p < 0,05$ по сравнению с уровнем на сроке 1 год; & $p < 0,05$ по сравнению с уровнем на сроке 2 года.

Note. * $p < 0.05$ compared to 6 month-level; # $p < 0.05$ compared to 1-year level; & $p < 0.05$ compared to 2-years level.

ны IgG1-субклассом, что типично для профиля синтеза антител долгоживущими плазматическими. Однако после повторного заболевания штаммом омикрон вновь появились IgG3-антитела ($9,36 \pm 1,26\%$) и при последующих бустерах VOC их уровень вырос до $22,73 \pm 1,87\%$ на сроке через 3 года, что типично для новых первичных ответов на контакт с новыми штаммами. Интересно, что после прорывных инфекций среди анти-S IgG появились также антитела IgG2- и IgG4-субклассов. При этом IgG2-антитела составляли 3–5% от анти-S IgG, тогда как IgG4 после прорывного заболевания, вызванного штаммом омикрон, поднялись до $10,68 \pm 0,93\%$ от анти-S IgG, что составляло $142,61$ ($68,73–338,4$) BAU/мл. У 50% обследованных людей уровень анти-S IgG4 превышал 100 BAU/мл, медиана по этой подгруппе составила $285,7$ ($126,8–615,4$) BAU/мл или $15 \pm 1,57\%$ от анти-S IgG. При дальнейшем бустировании новыми VOC доля IgG2- и IgG4-субклассов в анти-S IgG постепенно снижалась до $0,65 \pm 0,11$ и $2,92 \pm 0,27\%$ соответственно, через 3 года после первичного заболевания. Доля IgG1-субкласса на временном отрезке 1,5–3 года после заболевания сохранялась на уровне 70–75%.

Клеточный иммунный ответ на антигены S- и N-белка SARS-CoV-2 представлен на рис. 5. Через 6 мес. после первичного заболевания был выявлен высокий уровень Т-клеточного ответа на антигены N-белка SARS-CoV-2, со-

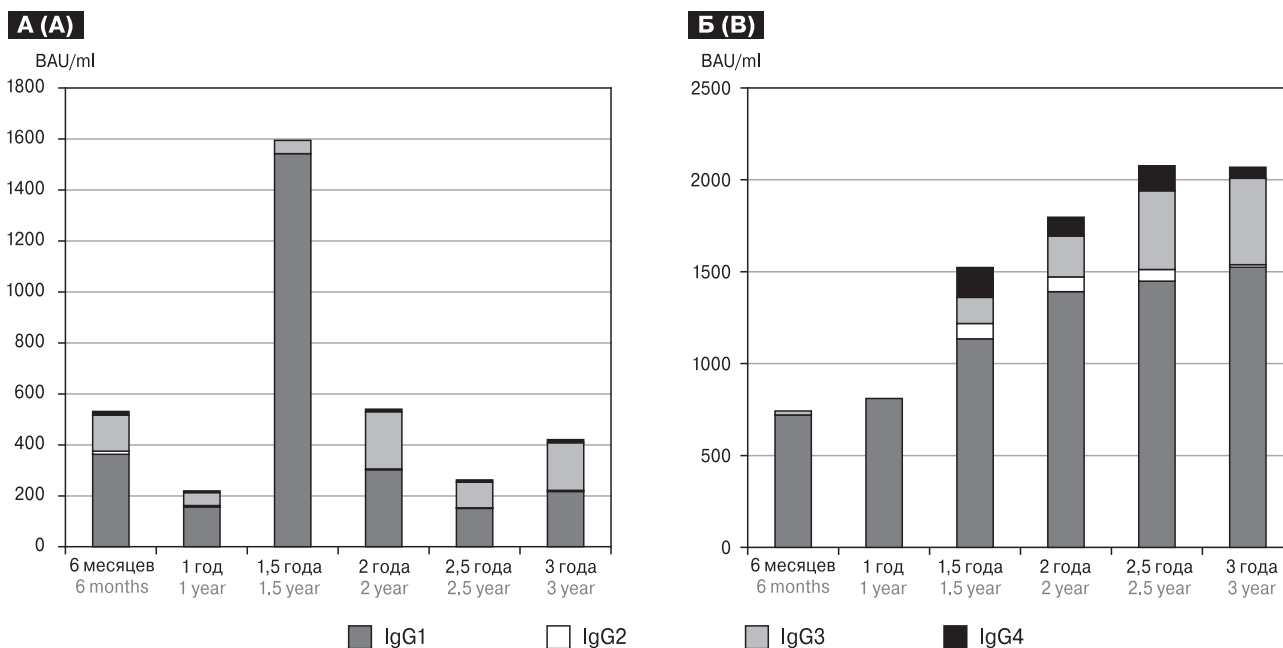


Рисунок 4. Изменение спектра субклассов IgG-антител к антигенам SARS-CoV-2 в зависимости от времени после заболевания COVID-19

Figure 4. Time-dependent change in SARS-CoV-2 antigen-specific IgG subclass spectrum

Примечание. А. N-белок вируса SARS-CoV-2; Б. S-белок вируса SARS-CoV-2.

Note. A. SARS-CoV-2 N-protein; B. SARS-CoV-2 S-protein.

ставивший $15,49 \pm 1,42\%$, который плавно снижался с течением времени до $6,7 \pm 1,15\%$ на сроке 2,5 года и значимо ($p < 0,05$) возрос до $9,15 \pm 1,2\%$ через 3 года от начала заболевания. Выявлена умеренная положительная корреляция между изменением уровней анти-N IgG и динамикой уровней ответов $CD8^+$ лимфоцитов на антигены N-белка SARS-CoV-2 ($r = 0,49$). Клеточный ответ на антигены S-белка SARS-CoV-2 менялся во времени иначе. Через 6 мес. после первичного заболевания он составлял $6,49 \pm 0,88\%$, а после повторного заболевания штаммом омикрон

возрос почти вдвое до $12,25 \pm 1,43\%$, в последующий год он плавно снижался до $7,73 \pm 1,32\%$ и значимо ($p < 0,05$) возрос до $9,79 \pm 0,56\%$ на сроке 3 года от первичного заболевания. Выявлена умеренная положительная корреляция между динамикой изменения уровней анти-S IgG и динамикой уровней ответов $CD8^+$ лимфоцитов на антигены S-белка SARS-CoV-2 ($r = 0,41$). Интересно, что корреляция между динамикой T-клеточных ответов на антигены S- и N-белка SARS-CoV-2 была слабой отрицательной ($r = -0,27$).

Таблица. Динамика спектра субклассов IgG к S- и N-белку SARS-CoV-2 во времени после заболевания (% от общего уровня IgG к этим белкам)

Table. Temporal post-infection pattern of IgG subclass spectrum against SARS-CoV-2 S- and N-proteins (% of IgG total level to these proteins)

	N-белок/N-protein				S-белок/S-protein			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
6 месяцев 6 months	68,35±3,45	2,3±0,14	26,65±1,37	2,7±0,15	97,4±1,1	0	2,6±0,73	0
1 год 1 year	71,38±3,68	2,4±0,13	23,62±1,34	2,6±0,13	100	0	0	0
1,5 года 1.5 years	83,37±3,94	0,6±0,02	14,03±1,15	2±0,18	74,44±2,78	5,52±0,87	9,36±1,26	10,68±0,93
2 года 2 years	55,35±2,73	0,58±0,10	42,43±1,17	1,64±0,12	77,54±2,15	4,42±0,68	12,36±1,47	5,68±0,65
2,5 года 2.5 years	41,61±2,12	0,61±0,11	55,23±2,84	2,55±0,25	69,76±2,07	3,04±0,35	20,61±1,88	6,59±0,84
3 года 3 years	48,42±2,29	0,85±0,23	48,03±2,26	2,7±0,23	73,7±2,95	0,65±0,11	22,73±1,87	2,92±0,27

Обсуждение

За период наблюдения за когортой реконвалесцентов после COVID-19 в России отмечено 8 волн подъема заболеваемости этой инфекцией, вызванных сначала исходным уханьским штаммом, затем альфа, бета, дельта и многими вариантами штамма омикрон. Обследованные нами люди находились внутри пандемии, контактировали последовательно с различными штаммами SARS-CoV-2, иногда с наличием клинических проявлений и ПЦР-подтвержденных повторных заболеваний, а в других случаях бессимптомно, так что на данный момент трудно определить количество таких бустеров. Вопрос о продолжительности сохранения гуморального и клеточного иммунитета волновал исследователей с момента возникновения пандемии, но поскольку это был новый вирус, прямого ответа на него не было. Наблюдения за адаптивным иммунитетом к другим ранее известным коронавирусам показали, что при легкой инфекции, вызванной простудными коронавирусами, антительный ответ исчезал через год после заболевания, а у лиц, перенесших SARS-CoV-1 и MERS инфекции антитела постепенно снижались и не определялись через 4 года после заболевания, тогда как Т-клеточный иммунитет определялся даже спустя 11 лет [28]. Однако эти наблюдения проходили в условиях элиминации вирусов SARS-CoV-1 и MERS. В предыдущих исследованиях на основании моделирования изменения уровней анти-S и анти-N IgG с течением времени на этапе до появления штамма омикрон нами было рассчитано, что через 2 года после заболевания уровень анти-S-антител должен был бы упасть чуть ниже 300 ВАУ/мл, через 3 года составил бы около 40 ВАУ/мл, а через 4 года опустился бы ниже 10 ВАУ/мл, что считается cut-off между отрицательным и положительным уровнем этих антител [1]. Иными словами расчетная динамика изменения уровня анти-S IgG к SARS-CoV-2 при условии элиминации вируса напоминала бы таковую, выявленную для SARS-CoV-1 и MERS. Однако SARS-CoV-2 продолжает циркулировать и активно мутировать в человеческой популяции. В настоящих исследованиях удалось показать, что уровни анти-S и анти-N IgG-антител по-разному изменялись в течение трехлетнего наблюдения. Сформировавшиеся после первичного заболевания COVID-19 анти-S IgG держались на одном уровне в течение года, а после перенесенного повторного заболевания, вызванного штаммом омикрон и последующих бустеров в результате контактов с циркулировавшими в 2022–2023 гг. новыми VOC, прогрессивно нарастали. Очевидно, повторные контакты с новыми штаммами SARS-CoV-2

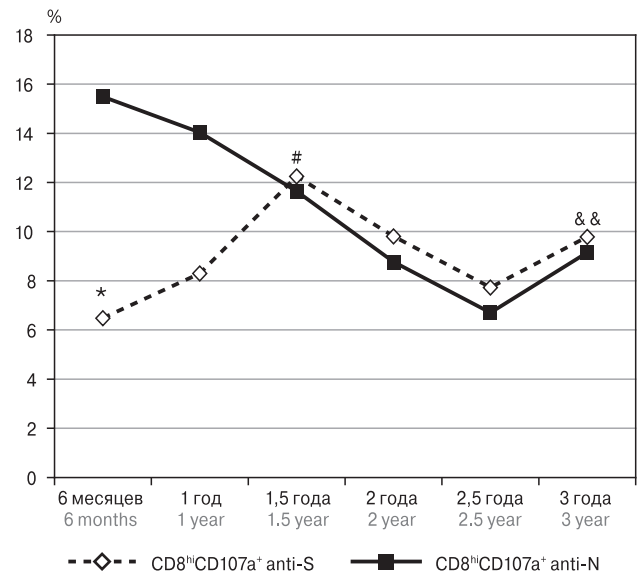


Рисунок 5. Изменение уровней клеточного иммунного ответа на N- и S-белок SARS-CoV-2 в зависимости от времени после заболевания COVID-19

Figure 5. Time-dependent change in levels of cellular SARS-CoV-2 N- and S-protein-specific immune response

Примечание. * $p < 0,05$ между уровнем клеточного ответа на S- и N-белок SARS-CoV-2; # $p < 0,05$ для уровня клеточного ответа на S-белок SARS-CoV-2 по сравнению с уровнем на сроке 1 год; & $p < 0,05$ по сравнению с уровнем на сроке 2,5 года.

Note. * $p < 0.05$ between cellular response levels against SARS-CoV-2 S- and N-protein; # $p < 0.05$ for SARS-CoV-2 S-protein cellular response compared to 1-year level; & $p < 0.05$ compared to 2.5-year level.

стимулируют активность долгоживущих плазматических, сформированных в GC. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями, наиболее эффективными в тестах вируснейтрализации были сыворотки от людей с прорывным иммунитетом, перенесших 2 или более заболеваний COVID-19 [24]. Это заключение подтверждает подавляющее количество антител IgG1-субкласса в составе анти-S IgG, которые синтезируют преимущественно клетки памяти. Однако мы предполагали, что повторные бустеры новыми VOC будут сопровождаться исключительно зрелым IgG1-ответом, а на деле оказалось, что при бустерах VOC снова появился IgG3-ответ. Мы считаем, что это след от новых первичных ответов на мутантные участки S-белка. Кроме того, после прорывных инфекций в составе анти-S IgG-антител появились IgG2- и IgG4-субклассы. Иными словами, при ответе иммунной системы на новые VOC параллельно наблюдалось два явления: вторичный тип иммунного ответа на ранее существовавшие эпитопы (долгоживущие плазматические, антитела IgG1-субкласса) и формиро-

вание первичного иммунного ответа на новые мутантные эпитопы (антитела IgG3-субкласса). Косвенно это подтверждает авидность анти-S IgG-антител, которая после перенесенного повторного заболевания штаммом омикрон держалась на уровне около 75%. При наблюдении за отдельными людьми из обследованной группы можно было видеть, что после очередного контакта с VOC индивидуальная авидность анти-S IgG-антител несколько снижалась, а спустя время снова возрастала. Такие колебания в авидности антител мы рассматриваем как отражение процессов суммации высокой авидности антител от вторичного иммунного ответа на «старые» эпитопы и низкой авидности антител первичного иммунного ответа на «новые» мутантные эпитопы. Отдельно следует обсудить появление антител субкласса IgG4. В ряде работ в начале пандемии было показано, что анти-S IgG преимущественно состояли из IgG1- и IgG3-антител [10, 19], но после прорывных инфекций штаммом омикрон стали появляться также и IgG4 анти-S-антитела. Формирование антител значимого уровня IgG4-субкласса наблюдали при повторных вакцинациях мРНК-вакцинами [11]. Оказалось, что синтез значимого уровня IgG4 анти-S-антител тесно коррелирует с уровнем IL-6, тяжестью течения и летальными исходами при COVID-19, а соотношение $IgG4/IgG1 > 0,05$ было предложено как предиктор летального исхода при COVID-19 [8]. В наше исследование были включены люди, перенесшие COVID-19 только в легкой или среднетяжелой форме и после первичного заболевания IgG4 анти-S-антител не было выявлено ни у одного из наблюдаемых. Появление IgG4 анти-S-антител было обнаружено после прорывной инфекции штаммом омикрон и далее после повторных прорывных инфекций новыми VOC. Важно, что после прорывного заболевания штаммом омикрон у 67% обследованных людей соотношение $IgG4/IgG1$ превышало 0,05 и в среднем составило $0,183 \pm 0,022$, тем не менее, эти люди были живы и переносили прорывные инфекции новыми VOC легче, чем первичное заболевание. Еще через год соотношение $IgG4/IgG1$ превышало 0,05 у 33% из обследованной когорты и составило $0,155 \pm 0,016$, а через 3 года после первичного заболевания только у 5 человек соотношение $IgG4/IgG1$ превышало 0,05 и было $0,12 \pm 0,02$. Никто из наблюдаемой когорты за это время не умер, хотя имели неоднократные повторные встречи с SARS-CoV-2, как с проявлением симптомов, так и без них. Известно, что переключение на IgG4 происходит в конце инфекционного процесса, когда патоген элиминирован и требуется завершение иммунного ответа. Это переключение индуцирует повышенный уровень IL-10, продуцируе-

мого индуцированными регуляторными клетками (iTreg), которые и завершают иммунный ответ и индуцируют регенерацию тканей [29]. Это естественный процесс, следовательно, появление IgG4 анти-S-антител, особенно после повторного прорывного заболевания, не является патологией. Тем не менее, была высказана гипотеза, что SARS-CoV-2 при тяжелом течении заболевания может индуцировать преждевременное переключение на синтез IgG4-антител, что приводит к торможению иммунного ответа, хотя вирус все еще не элиминирован из организма, и формируется своеобразная толерантность к SARS-CoV-2, приводящая к летальному исходу [26]. В рамках этой гипотезы, наши 5 обследуемых с все еще высоким уровнем IgG4 анти-S-антител могут быть подвержены более тяжелому течению следующих прорывных вариантов COVID-19 из-за возможного формирования толерантности к SARS-CoV-2, что требует настороженности и более внимательного наблюдения за этими людьми.

Уровень анти-N IgG менялся с течением времени иначе. Следует подчеркнуть, что эти антитела не являются вируснейтрализующими и не препятствуют повторному инфицированию. Отмечался более высокий уровень анти-N IgG после первичного заболевания COVID-19, чем у анти-S IgG, и более быстрое снижение уровня анти-N IgG. Повторный острый пик нарастания концентрации анти-N IgG и такое же быстрое снижение наблюдалось в ответ на повторное заболевание штаммом омикрон. Похожие данные были получены другими независимыми группами исследователей, анти-N IgG демонстрировали быстрое нарастание и снижение концентрации в крови после инфекции или вакцинации [15, 18, 25]. По-видимому, анти-N IgG-антитела синтезируются преимущественно короткоживущими плазмочитами, формирующимися по EF пути. В пользу такого заключения свидетельствует высокий процент IgG3 в составе анти-N IgG. Превалирование субкласса IgG3 в анти-N иммунном ответе отмечали также и другие исследователи [14]. При повторных иммунных ответах на сроке 2–3 года при низком уровне анти-N IgG-ответа вновь наблюдается повышение процента IgG3 в общем анти-N ответе, что говорит о новых первичных ответах на N-белок. Возможно, выявленные различия в профилях субклассов IgG связаны с разной ролью анти-N- и анти-S-антител в защите от повторного заражения SARS-CoV-2.

Сходную динамику с анти-N IgG показали анти-S IgA-антитела, которые также, видимо, синтезируются преимущественно короткоживущими плазмочитами. Быстрые подъемы и спады концентрации анти-S IgA отмечались и другими исследователями [24].

Т-клеточный ответ на антигены S- и N-белка SARS-CoV-2 различались во времени. Так после первичного заболевания COVID-19 отмечался высокий ответ цитотоксических CD8⁺ лимфоцитов на антигены N-белка SARS-CoV-2, который постепенно снижался с течением времени, что хорошо коррелирует с результатами, полученными в независимых исследованиях [23]. При повторном заболевании штаммом омикрон Т-клеточный ответ на антигены S-белка значительно нарастал, а на антигены N-белка SARS-CoV-2 продолжал снижаться. И только через 3 года после первичного заболевания отмечен прирост Т-клеточных ответов как на антигены S-, так и N-белка SARS-CoV-2, что, по-видимому, связано с бустером новым, сильно отличающимся от первого, штаммом SARS-CoV-2. Ранее было показано, что Т-клеточный иммунный ответ в меньшей степени страдает из-за мутаций вируса за счет перекрестной реактивности Т-клеток памяти [16]. Однако при повторных заболеваниях на фоне активного мутационного процесса SARS-CoV-2, позволяющего вирусу обойти вируснейтрализующую активность антител, роль Т-клеточного иммунитета в защите организма от новых VOC возрастает [22].

Таким образом, в результате трехлетнего наблюдения за когортой реконвалесцентов после первичного заболеваний COVID-19, вызванного уханьским штаммом SARS-CoV-2, в условиях продолжающейся циркуляции вируса и формирования новых VOC, провоцирующих новые эпизоды заболевания или бессимптомного

бустера, удалось показать, что адаптивный иммунитет на антигены S- и N-белка SARS-CoV-2 активно формируется и никуда не исчезает. Динамика уровней антител к антигенам SARS-CoV-2 зависит от вида антигена (S- или N-белок), класса антител (IgG или IgA) и индивидуальной истории контактов человека с новыми VOC. Динамика Т-клеточного иммунного ответа на антигены S- и N-белка SARS-CoV-2 умеренно положительно коррелирует с динамикой уровня соответствующих анти-S- или N-антител. В то же время изменения уровней, как гуморального, так и Т-клеточного ответа на антигены S- или N-белка SARS-CoV-2 слабо отрицательно коррелируют между собой. Ускользание новых VOC за счет частых мутаций от нейтрализации анти-S IgG приводит к индукции новых первичных иммунных ответов на S-антигены SARS-CoV-2 наравне с активацией уже существующих ответов, сформированных на предыдущие штаммы коронавируса. Исследование иммунных ответов на антигены SARS-CoV-2 позволяет не только прогнозировать сохранение высоких уровней анти-S-антител и Т-клеточных ответов на антигены SARS-CoV-2, но и дает бесценный материал для углубленного исследования процессов формирования и поддержания иммунологической памяти. Недостаточные знания в этой области препятствуют быстрой разработке эффективных вакцин, способных формировать долговременную иммунологическую память, как показали исследования адаптивного иммунитета после использования вакцин на основе мРНК [11, 30].

Список литературы/References

1. Афридонова З.Э., Топтыгина А.П., Михайлов И.С. Особенности гуморального и клеточного иммунного ответа на S- и N-белки вируса SARS-CoV-2 // Биохимия. 2024. Т. 89, № 5 (в печати). [Afridonova Z.E., Toptygina A.P., Mikhaylov I.S. Humoral and cellular immune response to SARS-CoV-2 S and N proteins. *Biokhimiya = Biochemistry (Moscow)*, 2024, vol. 89, no. 5 (in print). (In Russ.)]
2. Зуева Е.В., Беляев Н.Н., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Бачинин И.А., Хамитова И.В., Коробова З.Р., Арсентьева Н.А., Тотолян А.А. Характеристика набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения IgG человека к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 771–778. [Zueva E.V., Belyaev N.N., Verbov V.N., Likhachev I.V., Bachinin I.A., Khamitova I.V., Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Totolian A.A. Characterizing a “N-CoV-2-IgG PS” diagnostic kit to quantify SARS-CoV-2 nucleocapsid protein-specific human IgG antibodies. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 771–778. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1904
3. Иванова И.А., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Омельченко Н.Д., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Березняк Е.А., Соколова Е.П., Носков А.К., Тотолян А.А. Оценка формирования и напряженности адаптивного иммунитета у переболевших COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 319–328. [Ivanova I.A., Filippenko A.V., Trufanova A.A., Omelchenko N.D., Chemisova O.S., Vodopyanov A.S., Bereznyak E.A., Sokolova E.P., Noskov A.K., Totolian A.A. Assessment of formation and durability of adaptive immunity in COVID-19 convalescents. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 319–328. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AOF-2107
4. Топтыгина А.П., Афридонова З.Э., Закиров Р.Ш., Семикина Е.Л. Поддержание иммунологической памяти к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 1. С. 55–66. [Toptygina A.P., Afridonova Z.E., Zakirov R.Sh., Semikina E.L., Maintaining immunological memory to the SARS-CoV-2 virus during a pandemic. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 55–66. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MIM-2009
5. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Закиров Р.Ш., Афридонова З.Э. Сопоставление гуморального и клеточного иммунитета у переболевших COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 495–504. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Zakirov R.Sh., Afridonova Z.E. Comparison of the humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescents. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 495–504. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COT-1809

6. Alejo J.L., Mitchell J., Chang A., Chiang T.P.Y., Massie A.B., Segev D.L., Makary M.A. Prevalence and durability of SARS-CoV-2 antibodies among unvaccinated US adults by history of COVID-19. *JAMA*, 2022, vol. 327, no. 11, pp. 1085–1087. doi: 10.1001/jama.2022.1393
7. Bergwerk M., Gonen T., Lustig Y., Amit S., Lipsitch M., Cohen C., Mandelboim M., Levin E.G., Rubin C., Indenbaum V., Tal I., Zavitan M., Zuckerman N., Bar-Chaim A., Kreiss Y., Regev-Yochay G. Covid-19 breakthrough infections in vaccinated health care workers. *N. Engl. J. Med.*, 2021, vol. 385, no. 16, pp. 1474–1484. doi: 10.1056/NEJMoa2109072
8. Della-Torre E., Lanzillotta M., Strollo M., Ramirez G.A., Dagna L., Tresoldi M. Serum IgG4 level predicts COVID-19 related mortality. *Eur. J. Intern. Med.*, 2021, vol. 93, pp. 107–109. doi: 10.1016/j.ejim.2021.09.012
9. Geers D., Shamier M.C., Bogers S., den Hartog G., Gommers L., Nieuwkoop N.N., Schmitz K.S., Rijsbergen L.C., van Osch J.A.T., Dijkhuizen E., Smits G., Comvalius A., van Mourik D., Caniels T.G., van Gils M.J., Sanders R.W., Oude Munnink B.B., Molenkamp R., de Jager H.J., Haagmans B.L., de Swart R.L., Koopmans M.P.G., van Binnendijk R.S., de Vries R.D., GeurtsvanKessel C.H. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci. Immunol.*, 2021, vol. 6, no. 59: eabj1750. doi: 10.1126/sciimmunol.abj1750
10. Hoehn K.B., Ramanathan P., Unterman A., Sumida T.S., Asashima H., Hafler D.A., Kaminski N., Dela Cruz C.S., Sealfon S.C., Bukreyev A., Kleinstein S.H. Cutting edge: distinct B cell repertoires characterize patients with mild and severe COVID-19. *J. Immunol.*, 2021, vol. 206, no. 12, pp. 2785–2790. doi: 10.4049/jimmunol.2100135
11. Irrgang P., Gerling J., Kocher K., Lapuente D., Steininger P., Habenicht K., Wytopil M., Beileke S., Schafer S., Zhong J., Ssebyatika G., Krey T., Falcone V., Schülein C., Peter A.S., Nganou-Makamdop K., Hengel H., Held J., Bogdan C., Überla K., Schober K., Winkler T.H., Tenbusch M. Class switch toward noninflammatory, spike-specific IgG4 antibodies after repeated SARS-CoV-2 mRNA vaccination. *Sci. Immunol.*, 2023, vol. 8: eade2798. doi: 10.1126/sciimmunol.ade2798
12. Houry D.S., Cromer D., Reynaldi A., Schlub T.E., Wheatley A.K., Juno J.A., Subbarao K., Kent S.J., Triccas J.A., Davenport M.P. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat. Med.*, 2021, vol. 27, pp. 1205–1211. doi: 10.1038/s41591-021-01377-8
13. Klein S.L., Pekosz A., Park H.S., Ursin R.L., Shapiro J.R., Benner S.E., Littlefield K., Kumar S., Naik H.M., Betenbaugh M.J., Shrestha R., Wu A.A., Hughes R.M., Burgess I., Caturegli P., Laeyendecker O., Quinn T.C., Sullivan D., Shoham S., Redd A.D., Bloch E.M., Casadevall A., Tobian A.A. Sex, age, and hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population. *J. Clin. Invest.*, 2020, vol. 130, no. 11, pp. 6141–6150. doi: 10.1172/JCI142004
14. Korobova Z.R., Zueva E.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Liubimova N.E., Khamitova I.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Savin T.V., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Changes in anti-SARS-CoV-2 IgG subclasses over time and in association with disease severity. *Viruses*, 2022, vol. 14: 941. doi: 10.3390/v14050941
15. Krutikov M., Palmer T., Tut G., Fuller C., Azmi B., Giddings R., Shrotri M., Kaur N., Sylla P., Lancaster T., Irwin-Singer A., Hayward A., Moss P., Copas A., Shallcross L. Prevalence and duration of detectable SARS-CoV-2 nucleocapsid antibodies in staff and residents of long-term care facilities over the first year of the pandemic (VIVALDI study): prospective cohort study in England. *Lancet Healthy Longev.*, 2022, vol. 3, no. 1, pp. e13–e21. doi: 10.1016/S2666-7568(21)00282-8
16. Kundu R. Narean J.S., Wang L., Fenn J., Pillay T., Fernandez N.D., Conibear E., Koycheva A., Davies M., Tolosa-Wright M., Hakki S., Varro R., McDermott E., Hammett S., Cutajar J., Thwaites R.S., Parker E., Rosadas C., McClure M., Tedder R., Taylor G.P., Dunning J., Lalvani A. Cross-reactive memory T cells associate with protection against SARS-CoV-2 infection in COVID-19 contacts. *Nat. Commun.*, 2022, vol. 13: 80. doi: 10.1038/s41467-021-27674-x
17. Kuri-Cervantes L., Pampena M.B., Meng W., Rosenfeld A.M., Ittner C.A.G., Weisman A.R., Agyekum R.S., Mathew D., Baxter A.E., Vella L.A., Kuthuru O., Apostolidis S.A., Bershaw L., Dougherty J., Greenplate A.R., Pattekar A., Kim J., Han N., Gouma S., Weirick M.E., Arevalo C.P., Bolton M.J., Goodwin E.C., Anderson E.M., Hensley S.E., Jones T.K., Mangalmurti N.S., Luning Prak E.T., Wherry E.J., Meyer N.J., Betts M.R. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci. Immunol.*, 2020, vol. 5, no. 49: eabd7114. doi: 10.1126/sciimmunol.abd7114
18. Lee N., Jeong S., Lee S.K., Cho E.-J., Hyun J., Park M.-J., Song W., Kim H.S. Quantitative analysis of anti-N and anti-S antibody titers of SARS-CoV-2 infection after the third dose of COVID-19 vaccination. *Vaccines*, 2022, vol. 10: 1143. doi: 10.3390/vaccines10071143
19. Moura A.D., da Costa H.H.M., Correa V.A., de Lima A.K., Lindoso J.A.L., De Gaspari E., Hong M.A., Cunha-Junior J.P., Prudencio C.R. Assessment of avidity related to IgG subclasses in SARS-CoV-2 Brazilian infected patients. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11: 17642. doi: 10.1038/s41598-021-95045-z
20. Nielsen S.C.A., Yang F., Jackson K.J.L., Hoh R.A., Röltgen K., Jean G.H., Stevens B.A., Lee J.Y., Rustagi A., Rogers A.J., Powell A.E., Hunter M., Najeeb J., Otrelo-Cardoso A.R., Yost K.E., Daniel B., Nadeau K.C., Chang H.Y., Satpathy A.T., Jardetzky T.S., Kim P.S., Wang T.T., Pinsky B.A., Blish C.A., Boyd S.D. Human B cell clonal expansion and convergent antibody responses to SARS-CoV-2. *Cell. Host Microbe.*, 2020, vol. 28, no. 4, pp. 516–525. doi: 10.1016/j.chom.2020.09.002
21. Niu L., Wittrock K.N., Clabaugh G.C., Srivastava V., Cho M.W. A structural landscape of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 receptor binding domain. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 12: 647934. doi: 10.3389/fimmu.2021.647934
22. Nowill A.E., Caruso M., de Campos-Lima P.O. T-cell immunity to SARS-CoV-2: what if the known best is not the optimal course for the long run? Adapting to evolving targets. *Front. Immunol.*, 2023, vol. 14: 1133225. doi: 10.3389/fimmu.2023.1133225
23. Pušnik J., König J., Mai K., Richter E., Zorn J., Proksch H., Schulte B., Alter G., Streeck H. Persistent maintenance of intermediate memory B cells following SARS-CoV-2 infection and vaccination recall response. *J. Virol.*, 2022 vol. 96: e00760-22. doi: 10.1128/jvi.00760-22
24. Pušnik J., Monzon-Posadas W.O., Zorn J., Peters K., Baum M., Proksch H., Schlüter C.B., Alter G., Menting T., Streeck H. SARS-CoV-2 humoral and cellular immunity following different combinations of vaccination and breakthrough infection. *Nat. Commun.*, 2023, vol. 14, no. 1: 572. doi: 10.1038/s41467-023-36250-4
25. Rezaei M., Sadeghi M., Korourian A., Tabarsi P., Porabdollah M., Askari E., Mortaz E., Mahmoudi S., Marjani M., Velayati A.A. Comparative evaluation of SARS-CoV-2 IgG assays against nucleocapsid and spike antigens. *Hum. Antibodies*, 2021, vol. 29, pp. 109–113. doi: 10.3233/HAB-210440

26. Rubio-Casillas A., Redwan E.M., Uversky V.N. Does SARS-CoV-2 induce IgG4 synthesis to evade the immune system? *Biomolecules*, 2023, vol. 13: 1338. doi: 10.3390/biom13091338
27. Sakharkar M., Rappazzo C.G., Wieland-Alter W.F., Hsieh C.L., Wrapp D., Esterman E.S., Kaku C.I., Wec A.Z., Geoghegan J.C., McLellan J.S., Connor R.I., Wright P.F., Walker L.M. Prolonged evolution of the human B cell response to SARS-CoV-2 infection. *Sci. Immunol.*, 2021, vol. 6, no. 56: eabg6916. doi: 10.1126/sciimmunol.abg6916
28. Sariol A., Perlman S. Lessons for COVID-19 immunity from other coronavirus infections. *Immunity*, 2020, vol. 53, no. 2, pp. 248–263. doi: 10.1016/j.immuni.2020.07.005
29. Satoguina J.S., Weyand E., Larbi J., Hoerauf A. T regulatory-1 cells induce IgG4 production by B cells: role of IL-10. *J. Immunol.*, 2005, vol. 174, pp. 4718–4726. doi: 10.4049/jimmunol.174.8.4718
30. Shrotri M., Navaratnam A.M.D., Nguyen V., Byrne T., Geismar C., Fragaszy E., Beale S., Fong W.L.E., Patel P., Kovar J., Hayward A.C., Aldridge R.W.; Virus Watch Collaborative. Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1. *Lancet*, 2021, vol. 398, no. 10298, pp. 385–387. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01642-1
31. Wang Z., Muecksch F., Schaefer-Babajew D., Finkin S., Viant C., Gaebler C., Hoffmann H.H., Barnes C.O., Cipolla M., Ramos V., Oliveira T.Y., Cho A., Schmidt F., Da Silva J., Bednarski E., Aguado L., Yee J., Daga M., Turroja M., Millard K.G., Jankovic M., Gazumyan A., Zhao Z., Rice C.M., Bieniasz P.D., Caskey M., Hatzioannou T., Nussenzweig M.C. Naturally enhanced neutralizing breadth against SARS-CoV-2 one year after infection. *Nature*, 2021, vol. 595, no. 7867, pp. 426–431. doi: 10.1038/s41586-021-03696-9
32. Woodruff M.C., Ramonell R.P., Nguyen D.C., Cashman K.S., Saini A.S., Haddad N.S., Ley A.M., Kyu S., Howell J.C., Ozturk T., Lee S., Suryadevara N., Case J.B., Bugrovsky R., Chen W., Estrada J., Morrison-Porter A., Derrico A., Anam F.A., Sharma M., Wu H.M., Le S.N., Jenks S.A., Tipton C.M., Staitieh B., Daiss J.L., Ghosn E., Diamond M.S., Carnahan R.H., Crowe J.E. Jr., Hu W.T., Lee F.E., Sanz I. Extrafollicular B cell responses correlate with neutralizing antibodies and morbidity in COVID-19. *Nat. Immunol.*, 2020, vol. 21, no. 12, pp. 1506–1516. doi: 10.1038/s41590-020-00814-z
33. Zost S.J., Gilchuk P., Case J.B., Binshtein E., Chen R.E., Nkolola J.P., Schäfer A., Reidy J.X., Trivette A., Nargi R.S., Sutton R.E., Suryadevara N., Martinez D.R., Williamson L.E., Chen E.C., Jones T., Day S., Myers L., Hassan A.O., Kafai N.M., Winkler E.S., Fox J.M., Shrihari S., Mueller B.K., Meiler J., Chandrashekar A., Mercado N.B., Steinhardt J.J., Ren K., Loo Y.M., Kallewaard N.L., McCune B.T., Keeler S.P., Holtzman M.J., Barouch D.H., Gralinski L.E., Baric R.S., Thackray L.B., Diamond M.S., Carnahan R.H., Crowe J.E. Jr. Potently neutralizing and protective human antibodies against SARS-CoV-2. *Nature*, 2020, vol. 584, no. 7821, pp. 443–449. doi: 10.1038/s41586-020-2548-6

Авторы:

Афридонова З.Э., аспирант лаборатории цитокинов ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Топтыгина А.П., д.м.н., главный научный сотрудник, руководитель лаборатории цитокинов ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия; профессор кафедры иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

Семикина Е.Л., д.м.н., главный научный сотрудник, зав. лабораторным отделом ФГАУ НИИЦ здоровья детей Минздрава РФ, Москва, Россия; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия.

Authors:

Afridonova Z.E., PhD Student, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Toptygina A.P., DSc (Medicine), Head Researcher, Head of the Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation; Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation;

Semikina E.L., DSc (Medicine), Head Researcher, Head of Laboratory Department, National Medical Research Center of Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.02.2024
Отправлена на доработку 26.02.2024
Принята к печати 01.03.2024

Received 07.02.2024
Revision received 26.02.2024
Accepted 01.03.2024