

# **ДИНАМИКА КЛЕТОК ПАМЯТИ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-COV-2**

## **MEMORY CELLS DYNAMICS AFTER VACCINATION AGAINST SARS-COV-2 INFECTION**

**А. С. Георгиева<sup>1</sup>, М. И. Ванслав<sup>2</sup>, Е. М. Назаренко<sup>1</sup>,  
А. Е. Шатова<sup>3</sup>, Д. Б. Нижегородова<sup>1,2</sup>, М. М. Зафранская<sup>1,2</sup>**

**A. Georgieva<sup>1</sup>, M. Vanslau<sup>2</sup>, E. Nazarenko<sup>1</sup>, A. Shatova<sup>3</sup>,  
D. Nizheharodava<sup>1,2</sup>, M. Zafranskaya<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Учреждение образования «Международный государственный экологический институт  
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
*Alenageorgieva834@gmail.com*

<sup>2</sup>Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения  
образования «Белорусский государственный медицинский университет», ИПКуПКЗ БГМУ,  
аг. Лесной, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Кардиология», ГУ  
«РНПЦ «Кардиология»,  
г. Минск, Республика Беларусь

<sup>1</sup>*International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU  
Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Institute of Advanced Training and Retraining of healthcare personnel of the educational institution “Belaru-  
sian State Medical University”, IPKBSMU,  
Lesnoy ag., Republic of Belarus*

<sup>3</sup>*State institution “Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”,  
State Institution “RNPC “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus*

Вакцинирование считается эффективным методом предотвращения и контроля распространения ин-  
фекционных заболеваний, в том числе вызванных вирусом SARS-CoV-2. В статье представлена динамика  
клеток памяти у 15-ти вакцинированных вакциной «Vero Cell» и «Спутник Лайт» в качестве бустера добро-  
вольцев. Установлено увеличение наивных В клеток-памяти, плазмобластов с тенденцией к увеличению тер-

минально дифференцированных Т-клеток-памяти через 9-12 мес. после полной вакцинации, сохраняющееся в течение года после бустерной вакцинации.

Vaccination is considered an effective method of preventing and controlling the spread of infectious diseases, including those caused by the SARS-CoV-2 virus. The article presents the dynamics of memory cells in 15 vaccinated with the vaccine “Vero Cell” and “Sputnik Lite” as a booster of volunteers. An increase in naive B memory cells, plasmoblasts with a tendency to increase terminally differentiated T memory cells 9-12 months after full vaccination, persisting for a year after booster vaccination, was found.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, клетки памяти, вакцинирование, Vero Cell, Спутник Лайт.

**Keywords:** SARS-CoV-2, memory cells, vaccination, Vero Cell, Sputnik Light.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-207-210>

Коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2), также известный как коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19), возник в декабре 2019 года в Ухане, Китай. С тех пор он быстро распространился по всему миру, вызывая на своем пути заболеваемость и смертность. В марте 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) признала вспышку COVID-19 пандемией. Чтобы положить конец пандемии COVID-19, необходим справедливый доступ к эффективной вакцине. В настоящее время в 184 странах было введено 7,38 миллиарда доз вакцины. Население в странах и регионах с самыми высокими доходами получает инъекции в 20 раз больше, чем население в регионах с самыми низкими доходами. Это неравенство в прививках приводит к появлению новых мутантных штаммов, которые могут сделать прививки неэффективными.

ВОЗ при поддержке Стратегической консультативной группы экспертов (SAGE) по иммунизации и ее рабочей группы по вакцинам против COVID-19 предположила, что (1) ослабление иммунитета с течением времени, (2) снижение эффективности защиты от тяжелого заболевания вызывает беспокойство, и (3) недостаточность иммунитета для защиты в некоторых группах риска являются причинами для поддержки ревакцинации вакцины против covid-19. Управление дозами ревакцинации может различаться в зависимости от вакцинного продукта, эпидемиологической обстановки, группы риска и уровня охвата прививками.

Несмотря на рекомендации ВОЗ по ревакцинации, нехватка вакцины, ее распределение и справедливость остаются ключевыми проблемами в странах с низким и средним уровнем дохода. В качестве решения этих проблем было рекомендовано внутрикожное введение вакцины против Covid-19. [1].

Иммунологическая память является основной целью вакцинации. Это явление характеризуется качественно и количественно улучшенным и/или усиленным распознаванием антигена/эпитопа В- и Т-клетками адаптивной иммунной системы. В- и Т-клетки выполняют разные, но совместные функции в ответе на инфекции. В-клетки памяти генерируют высокоаффинные нейтрализующие антитела, которые, если они вырабатываются в достаточном количестве, могут предотвратить заражение клеток вирусами и бактериями. Т-клетки памяти также участвуют в этой защите, поскольку их быстрое размножение и цитотоксические свойства способствуют контролю и выведению патогенов, тем самым ограничивая или устраняя развитие патологии. [2].

Периферические В-клетки необходимы для гуморального ответа на вакцинацию. Ранняя активация В-клеток и их дифференцировка в плазмобласты, секретирующие антитела, является неотъемлемой частью защитного противовирусного ответа. Помимо антигенспецифической активации, опосредованной рецептором В-клеток (BCR), В-клетки также могут неспецифически активироваться лигандами Toll-подобного рецептора (TLR) или интерфероном I типа. Пиковые частоты плазмобластов выявляются в крови инфицированных пациентов примерно через 7 дней после заражения. *In vitro* В-клетки памяти эффективно дифференцируются в плазматические клетки, секретирующие антитела, в присутствии IL-2, IL-10, CD40L и взаимодействия с BCR, тогда как дифференцировка наивных В-клеток прекращается на стадии бластной активности без какой-либо секреции антител. Благодаря более высокой экспрессии TLR в В-клетках памяти по сравнению с наивными В-клетками, TLR-опосредованная стимуляция запускает дифференцировку В-клеток памяти, но не наивных В-клеток, в плазматические клетки, секретирующие антитела.

Взаимодействие с Т-клетками во вторичных лимфоидных органах облегчает активацию наивных В-клеток *in vivo*, что может привести к образованию зародышевых центров для созревания В-клеток. Отобранные В-клетки сохраняются в лимфоидных или нелимфоидных органах в течение длительных периодов времени и составляют часть иммунной памяти. Во время последующего заражения тем же вирусом или антигенно родственным вирусом ранее разросшиеся «первичные» В-клетки памяти могут повторно войти в зародышевые центры для дальнейшего созревания и отбора, чтобы стать «вторичными» В-клетками памяти. Таким образом, ответ В-клеток включает образование В-клеток памяти и плазмобластов, при этом только последние обладают способностью секретировать антитела. [3].

**Цель исследования:** оценить в динамике количественные изменения В- и Т-клеток памяти после прохождения курса вакцинации против инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

**Материалом** послужила периферическая кровь 15-ти добровольцев, прошедших курс вакцинации против инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Забор биологического материала осуществлялся:

- до вакцинации,

- через 3 недели после 1-й дозы вакцины,
- через 6 мес. после 2-й дозы вакцины (перед бустером),
- через 9-12 мес. после полного курса вакцинации или
- через 9-12 мес. после бустерной вакцинации.

Использовался метод проточной цитометрии (Cytoflex). Для обнаружения наивных В-клеток-памяти использовался коктейль моноклональных антител CD19CD27 с положительной экспрессией; для плазмобластов - CD27CD38; для наивных Т-клеток-памяти CD45RO<sup>+</sup> отрицательной экспрессией для обнаружения клеток памяти и CD27 с положительной экспрессией; для терминально дифференцированных Т-клеток-памяти - CD45RO<sup>+</sup> с отрицательной и CD27 с положительной экспрессией.

Для обработки полученных результатов использовался метод статистического анализа данных в приложениях *Excel* и *STATISTICA*. Для сравнения групп 1-4.1 (таблица) использовался непараметрический Т-критерий Вилкоксона, для групп 1 и 4.2 был применён критерий Манна-Уитни. Результаты представлены в медианах и 25÷75 процентилях.

**Результаты.** В таблице представлены результаты статистической обработки количества клеток-памяти (наивные В-клетки памяти CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>, плазмобласты CD27<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup>, наивные Т-клетки памяти CD45RO<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>, терминально дифференцированные Т-клетки памяти CD45RO<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>) в динамике после вакцинации.

Через 3 недели после введения первой дозы вакцины Vero Cell наблюдалась тенденция к повышению CD27<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup> В-клеток и CD45RO<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> Т-клеток. Однако наивные CD45RO<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>, предшественники CD45RO<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>, наоборот показывают тенденцию снижения таких клеток, что говорит о стимулировании таких клеток антигеном и их дальнейшей дифференцировке в более зрелые клетки.

При анализе клеток спустя 6 месяцев после получения второй дозы вакцины наблюдается характерное увеличение CD27<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup> В-клеток с уровнем значимости  $p=0,032$ . Так же наблюдается тенденция к повышению CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup> В-клеток, соответственно количество CD45RO<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> наоборот снижается.

У пациентов, не прошедших бустерную вакцинацию, через 9-12 месяцев после второй дозы количество В-клеток памяти статистически значимо превышало аналогичные показатели до вакцинации (с уровнем значимости для CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>  $p=0,043$ ; для CD27<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup> показатель  $p=0,034$ ).

Таблица

Клетки памяти после вакцинации против инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2

| №   | Клетки памяти                                     | В-клетки                                 |                                                                                      | Т-клетки                              |                                                               |
|-----|---------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
|     |                                                   | CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup>      | CD27 <sup>high</sup> CD38 <sup>high</sup>                                            | CD45RO <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> | CD45RO <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup>                         |
| 1   | До вакцинации                                     | 32,35<br>(29,08÷39,75)                   | 0,065<br>(0,032÷0,16)                                                                | 36,30<br>(27,40÷44,90)                | 19,500<br>(11,40÷27,20)                                       |
| 2   | 3 недели после вакцинации (после первой дозы)     | 36,70<br>(32,25÷51,90)                   | 0,28<br>(0,09÷0,67)                                                                  | 30,400<br>(16,90÷49)                  | 28,900<br>(8,14÷36,70)                                        |
| 3   | перед бустером (6 мес. после второй дозы вакцины) | 39,40<br>(36,10÷48,20)                   | 0,30<br>(0,11÷0,35)                                                                  | 20,700<br>(11,50÷49,80)               | 15,100<br>(10,80÷30,70)                                       |
| 4.1 | 9-12 мес. после второй дозы вакцины               | 56,70<br>(54,90÷59,90)                   | 0,48<br>(0,36÷0,61)                                                                  | 22,500<br>(20,40÷37,50)               | 22,200<br>(16,80÷33,80)                                       |
| 4.2 | 9-12 мес. после бустера                           | 31,20<br>(23,90÷38,90)                   | 0,42<br>(0,14÷1,30)                                                                  | 22,700<br>(21,90÷34,30)               | 24,600<br>(16÷28,90)                                          |
| p   |                                                   | $p_{1-3}=0,062$ ;<br>$p_{1-4.1}=0,043$ ; | $p_{1-2}=0,054$ ;<br>$p_{1-3}=0,032$ ;<br>$p_{1-4.1}=0,034$ ;<br>$p_{1-4.2}=0,036$ ; | $p_{1-2}=0,1$ ;<br>$p_{1-3}=0,043$ ;  | $p_{1-2}=0,097$ ;<br>$p_{1-3}=0,067$ ;<br>$p_{1-4.2}=0,061$ . |

По данным проведённых ранее исследований [4] абсолютные количества CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> наивных В-клеток, CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup> предварительно переключенных В-клеток памяти и CD19<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>CD38<sup>++</sup> плазмобластов были значимо связаны с анти-SARS-CoV-2 ответом в одномерном анализе. Однако только количество CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> наивных В-клеток было независимым предиктором строгого ответа на вакцинацию в многофакторном анализе, что указывает на их функциональную значимость для получения гуморального иммунного ответа. Действительно, выработка специфических антител к новому антигену зависит от присутствия антигенспецифических клонов В-клеток в популяции CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> наивных В-клеток. Таким образом, резко сокращенный пул CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> наивных В-клеток снижает вероятность появления В-клеток с В-клеточным рецептором достаточной антигенной avidности, который может успешно взаимодействовать с Т-фолликулярными хелперными клетками и впоследствии подвергаться соматической гипермутации с развитием оптимальный ответ антител. Следовательно, связь величины гуморального вакцинационного ответа с обилием CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> наивных В-клеток, скорее всего, является причинно-следственной связью. [4].

Т-клеточная память является важным механизмом долгосрочной защиты от различных патогенов. Генерация и сохранение Т-клеток памяти являются жизненно важными компонентами противоопухолевого иммунитета, учитывая их способность сохраняться в течение длительного времени, а также быстро активироваться и мигрировать.

Популяция Т-клеток памяти представляет собой гетерогенную популяцию, включающую как эффекторные клетки, которые вызывают прямой вторичный иммунный ответ, так и покоящиеся или промежуточные клетки, которые служат резервуаром и выполняют возможную регуляторную роль. Т-клеточная память – важнейшее свойство иммунной системы, характеризующееся увеличением частоты антигенспецифических Т-клеток с прямой эффекторной активностью.

Наивные Т-клетки и Т-клетки памяти человека можно идентифицировать по взаимной экспрессии изоформ CD45RA или CD45RO. Костимулирующая молекула CD27 обычно используется для определения стадий дифференцировки Т-клеток. Более поздние сообщения показывают, что в компартменте CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>(CD45RO<sup>-</sup>) наивных клеток можно идентифицировать подмножество эффекторных Т-клеток, у которых отсутствует рецептор CD27, а также рецепторы самонаведения в лимфатических узлах CD62L и CCR7. Считается, что эти CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>-</sup>CD27<sup>-</sup> Т-клетки эффекторного типа происходят из предшественников CD27<sup>+</sup> в ответ на антигенную стимуляцию. Они характеризуются более короткой длиной теломерного рестрикционного фрагмента (TRF) по сравнению с непраймированными клетками, проявляют цитолитическую активность и обильно продуцируют IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ . Было высказано предположение, что эта субпопуляция CD8<sup>+</sup> Т-клеток играет важную роль в противоопухолевой защите хозяина. Популяция клеток CD27<sup>-</sup> является эффекторными клетками памяти, что выявлено как на транскрипционном, так и на белковом уровне. Клетки CD27<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>, с другой стороны, имеют более спокойный фенотип и действуют как тип клеток, не обладающих памятью, согласно транскрипционному и функциональному анализу, демонстрируя неспособность реагировать на запуск антигена и Т-клеточного рецептора без костимуляции. [5].

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют об увеличении наивных В-клеток-памяти, плазмобластов, с тенденцией к увеличению терминально дифференцированных Т-клеток-памяти через 9-12 мес. после полной вакцинации вакциной Vero Cell, сохраняющееся в течение года после бустерной вакцинации вакциной Спутник Лайт.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Chalermphanchai, N. Safety, tolerability, and antibody response after intradermal vaccination of PFE-BNT in adults who have completed two-doses of Verocell (inactivated vaccine) / N. Chalermphanchai, W. Arunothong, N. Jettavan, S. Chanta, T. Boonpisitsakul, M. Mayo, P. Lueangchiranothai, N. Yodsurang, W. Chanchue, Y. Tananuchit, K. Jangaroon, W. Meungsuwan, T. Nantawong // Vaccine X. – 2022 Apr. – 10:100148. – P.1-6.
2. Corrado, M. Targeting memory T cell metabolism to improve immunity / M. Corrado, E. L. Pearce // J Clin Invest. – 2022 Jan 4. – 132(1). – P. 1-11.
3. Rouers, A. CD27<sup>hi</sup>CD38<sup>hi</sup> plasmablasts are activated B cells of mixed origin with distinct function / A. Rouers, R. Appanna, M. Chevrier, J. Lum, M. C. Lau, L. Tan, T. Loy, A. Tay, R. Sethi, D. Sathikumar, K. Kaur, J. Böhme, Y. S. Leo, L. Renia, S. W. Howland, A. Singhal, J. Chen, K. Fink // iScience. – 2021 Apr 29. – 24(5):102482. – P. 1-18.
4. Schulz, E. CD19+IgD+CD27<sup>-</sup> Naïve B Cells as Predictors of Humoral Response to COVID 19 mRNA Vaccination in Immunocompromised Patients / E. Schulz, I. Hodl, P. Forstner, S. Hatzl, N. Sareban, M. Moritz, J. Fessler, B. Dreo, B. Uhl, C. Url, A. J. Grisold, M. Khalil, B. Kleinhapfl, C. Enzinger, M. H. Stradner, H. T. Greinix, P. Schlenke, I. Steinmetz // Front Immunol. – 2021 Dec. – 12:803742. – P. 1-10.
5. Takahashi, H. / Circulating naïve and effector memory T cells correlate with prognosis in head and neck squamous cell carcinoma // H. Takahashi, K. Sakakura, S. Ida, R. Kawabata-Iwakawa, T. Matsuyama, H. Tada, I. Mito, K. Chikamatsu. – Cancer Sci. – 2022 Jan. – 113(1). – P. 53-64.

Министерство образования Республики Беларусь  
Учреждение образования  
«Международный государственный экологический  
институт имени А. Д. Сахарова»  
Белорусского государственного университета



# **САХАРОВСКИЕ ЧТЕНИЯ 2024 ГОДА: ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ XXI ВЕКА**

## **SAKHAROV READINGS 2024: ENVIRONMENTAL PROBLEMS OF THE XXI CENTURY**

**Материалы 24-й международной научной конференции**

23-24 мая 2024 г.  
г. Минск, Республика Беларусь

В двух частях  
Часть 1

Минск  
«ИВЦ Минфина»  
2024