



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-171>

© БЛЯХЕР М.С., ФЕДОРОВА И.М., ТУЛЬСКАЯ Е.А., КАПУСТИН И.В., КОТЕЛЕВА С.И., РАМАЗАНОВА З.К., ОДИНЦОВ Е.Е., САНДАЛОВА С.В., НОВИКОВА Л.И., АЛЕШКИН А.В., БОЧКАРЕВА С.С., 2023

Формирование и сохранение специфического Т-клеточного иммунитета после перенесённой COVID-19-инфекции или вакцинации против неё

Бляхер М.С., Федорова И.М., Тульская Е.А., Капустин И.В., Котелева С.И.,
Рамазанова З.К., Одинцов Е.Е., Сандалова С.В., Новикова Л.И., Алешкин А.В.,
Бочкарева С.С.

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212,
г. Москва, Россия

Цель работы – оценка показателей специфического Т-клеточного иммунитета в отношении SARS-CoV-2 при первичном и вторичном ответе на антигены вируса скрининговым методом.

Материалы и методы. Пациенты, перенёвшие COVID-19 в лёгкой и среднетяжёлой форме, были обследованы через 1–1,5 месяца после заболевания и через 6–10 месяцев (перед вакцинацией и после неё). Здоровые добровольцы обследованы перед вакцинацией «Гам-КОВИД-Вак», 2–6 раз в ходе неё, а также через 6–8 месяцев (перед ревакцинацией и после неё). Уровень антител класса IgG и IgM к SARS-CoV-2 оценивали методом ИФА на тест-системах фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Антигенную (АГ) активацию Т-клеток во фракции мононуклеаров, выделенных из крови обследуемых, оценивали по повышению продукции IFN- γ после АГ-стимуляции этих клеток в лунках готовых планшетов из ИФА-наборов, предназначенных для обнаружения антител против SARS-CoV-2. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Excel и Statistica 10.0.

Результаты. После вакцинации здоровых людей у 88,5% выявлены АГ-специфические Т-клетки, причём у половины появление в крови Т-клеток, распознающих антиген, опережало появление антител к нему. Через 6–8 месяцев снижается как уровень АГ-активации, так и число проб, в которых она регистрируется. При ревакцинации уровень АГ-активации Т-клеток памяти *in vitro* повышается, и они до полугода выявляются у 76,9–100,0% привитых. Напротив, после COVID-19 у 86,7% людей на момент вакцинации в крови сохранялись АГ-специфические Т-клетки с высокой активностью. После вакцинации переболевших значительно увеличились показатели активности Т-клеток, распознающих RBD-домен S-белка SARS-CoV-2, и доля людей, в крови которых эти клетки выявлялись.

Заключение. Показано, что Т-клеточный иммунитет против антигенов вируса SARS-CoV-2 сохраняется не менее 6 месяцев после заболевания. У привитых ранее не болевших COVID-19 людей такая длительность сохранения АГ-специфических Т-клеток в циркулирующей крови достигается только после ревакцинации.

Ключевые слова: Т-клеточный иммунитет; антигены SARS-CoV-2; продукция интерферона γ ; вакцинация; COVID-19

Для цитирования: Бляхер М.С., Федорова И.М., Тульская Е.А., Капустин И.В., Котелева С.И., Рамазанова З.К., Одинцов Е.Е., Сандалова С.В., Новикова Л.И., Алешкин А.В., Бочкарева С.С. Формирование и сохранение специфического Т-клеточного иммунитета после перенесённой COVID-19-инфекции или вакцинации против неё. *Вопросы вирусологии.* 2023; 68(3): 205–214. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-171> EDN: <https://elibrary.ru/ттqnhо>

Для корреспонденции: Бляхер Мария Сергеевна, д-р мед. наук, профессор, ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, г. Москва, Россия. E-mail: maria.s.b@bk.ru

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической, экспериментальной работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт государственного бюджета.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Исследование одобрено этическим комитетом ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (протокол № 41 от 10 декабря 2020 г).

Поступила 24.04.2023

Принята в печать 19.06.2023

Опубликована 30.06.2023

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-171>

Development and preservation of specific T-cell immunity after COVID-19 or vaccination against this infection

Mariya S. Blyakher, Irina M. Fedorova, Elena A. Tulskeya, Ivan V. Kapustin, Svetlana I. Koteleva, Zarema K. Ramazanova, Evgeny E. Odintsov, Svetlana V. Sandalova, Lidia I. Novikova, Andrej V. Aleshkin, Svetlana S. Bochkareva

G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russia

Aim – evaluation of specific T-cell immunity against SARS-CoV-2 in primary and secondary response to virus antigens by screening method.

Materials and methods. Patients were tested 1–1.5 months after COVID-19 and 6–10 months before and after vaccination. Healthy volunteers were screened before, 2–6 times during the vaccination course, and 6–8 months after revaccination with the Sputnik V vaccine. IgG and IgM antibodies to SARS-CoV-2 were detected by ELISA using commercially available kits (Vector-Best, Russia). Antigenic (AG) activation of T cells in the fraction of blood's mononuclear cells was assessed by IFN- γ production after AG stimulation in the wells of plates from ELISA kits intended for detection of antibodies against SARS-CoV-2. Data were processed by MS Excel and Statistica 10.0 software.

Results. AG-specific T cells were detected in 88.5% of vaccinated healthy volunteers, half of whom were found to have T cells appearing earlier than antibodies to AG. After 6-8 months, the level of AG activation decreases. Following the revaccination, the level of AG activation of memory T cells in vitro increases within six months in 76.9–100.0% of vaccinated subjects. On the contrary, after COVID-19, 86.7% of individuals had in their blood the AG-specific T cells with high activity at the time of vaccination. The activity of T cells recognizing the RBD domain of the SARS-CoV-2 S protein and the proportion of individuals who had these cells in their blood increased after the vaccination of convalescents.

Conclusion. T-cell immunity against SARS-CoV-2 antigens has been shown to persist for 6 months after illness. In vaccinated individuals without history of COVID-19, such duration of the preservation of AG-specific T cells in blood was only achieved after the revaccination.

Keywords: *T-cell immunity; SARS-COV-2 antigens; IFN- γ production; vaccination; COVID-19*

For citation: Blyakher M.S., Fedorova I.M., Tulskeya E.A., Kapustin I.V., Koteleva S.I., Ramazanova Z.K., Odintsov E.E., Sandalova S.V., Novikova L.I., Aleshkin A.V., Bochkareva S.S. Development and preservation of specific T-cell immunity after COVID-19 or vaccination against this infection. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(3): 205-214 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-171> EDN: <https://elibrary.ru/ttqnho>

For correspondence: Maria S. Blyakher, Dr. Sci. (Med.), G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russia. E-mail: maria.s.b@bk.ru

Information about the authors:

Blyakher M.S., <https://orcid.org/0000-0003-3480-6873>

Fedorova I.M., <https://orcid.org/0000-0002-0335-2752>

Tulskeya E.A., <https://orcid.org/0000-0003-1969-4009>

Kapustin I.V., <https://orcid.org/0000-0001-6191-260X>

Koteleva S.I., <https://orcid.org/0000-0003-1878-2234>

Ramazanova Z.K., <https://orcid.org/0000-0002-9314-3312>

Odintsov E.E., <https://orcid.org/0000-0001-5895-2520>

Sandalova S.V., <https://orcid.org/0000-0002-4548-9888>

Novikova L.I., <https://orcid.org/0000-0002-0307-4561>

Aleshkin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-0532-1378>

Bochkareva S.S., <https://orcid.org/0000-0002-1204-7645>

Contribution: All authors made a significant contribution to the search and analytical, experimental work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Funding. The research was funded by the state budget.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the G.N. Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology (protocol No. 41 dated Dec. 10, 2020).

Received 24 April 2023

Accepted 19 June 2023

Published 30 June 2023

Введение

Волнообразное изменение заболеваемости новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), чаще всего связанное с появлением новых штаммов вируса SARS-CoV-2¹, продолжается по настоящее время. Изучение формирования гуморального и клеточного иммунного ответа у людей, переболевших COVID-19, является необходимым для разработки вакцин, интерпретации патогенеза COVID-19 и корректировки мер борьбы с пандемией.

В большинстве опубликованных исследований Т-клеточный иммунитет к SARS-CoV-2 оценивают с помощью синтезированных авторами пептидов, соответствующих эпитопам Т-клеток, с помощью перекрывающихся пулов пептидов вирусных белков. Наиболее часто используются методы проточной цитометрии и ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot) [1–3].

В то же время для исследования динамики развития клеточного иммунитета, длительности его сохранения, изменения при ревакцинации человека или его повторном заболевании, помимо использования унифицированных методов [4], крайне желательно обследование как можно большего количества людей, а также вовлеченность в исследования как можно большего числа лабораторий. Для этой цели ранее нами был предложен способ определения специфического клеточного иммунного ответа на антигены (АГ) коронавируса SARS-CoV-2, предполагающий активацию мононуклеаров крови человека в лунках планшетов с сорбированными АГ вируса, причём используются планшеты с АГ из наборов, предназначенных для обнаружения антител (АТ) против SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа (ИФА) [5]. Присутствие в пробах крови АГ-специфических Т-клеток регистрируется по повышению продукции ими интерферона (IFN) γ по сравнению с нестимулированной пробой. Чувствительность и специфичность метода, контроль участия НК-клеток в результирующей реакции подробно описаны в статье [6].

Цель работы – оценка показателей специфического Т-клеточного иммунитета в отношении SARS-CoV-2 при первичном и вторичном ответе на АГ вируса скрининговым методом. В настоящей работе представлены результаты мониторинга Т-клеточного иммунитета у лиц, впервые привитых вакциной против SARS-CoV-2, и у людей, переболевших COVID-19 в 2020–2021 гг.

Материалы и методы

Образцы цельной венозной крови и сыворотки были получены от 93 человек обоёго пола в возрасте 18–70 лет, постоянно проживающих в Московском регионе. В число обследованных включены: 49 человек, перенёвших COVID-19 в лёгкой или среднетяжёлой форме в период с декабря 2020 г. по октябрь 2021 г. (диагностика и лечение проведены в поликлиниках и клиниках Москвы); 44 здоровых

добровольца, не имевших в анамнезе данного заболевания и планирующих вакцинацию против инфекции, обусловленной SARS-CoV-2 (они же приняли участие в исследовании по формированию Т-клеточного ответа после вакцинации). Работы с клиническим материалом проводились в соответствии с международными этическими нормами при информированном добровольном согласии обследуемых. Исследование одобрено этическим комитетом ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» (протокол № 41 от 10 декабря 2020 г.).

Переболевшие COVID-19 обследовались через 1–1,5 месяца после перенесённого заболевания. Из них 14 человек позднее (через 6–10 месяцев) обследовались перед вакцинацией «Гам-КОВИД-Вак» и после её завершения. Здоровый контроль – непосредственно перед вакцинацией (в день введения первого компонента вакцины), в этой группе брали кровь 4–6 раз в ходе вакцинации, а также через 3 и 6 месяцев после неё.

Кровь собирали в пробирки с гепарином (4 мл крови для исследования лимфоцитов) и с активатором образования сгустка (2 мл крови на сыворотку).

АТ к SARS-CoV-2 класса IgG (АТ IgM) и IgM (АТ IgM) определяли методом ИФА с помощью тест-систем «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия, № РЗН 2020/10388 от 18.05.2020) и «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия, № РЗН 2020/10389 от 18.05.2020) соответственно согласно инструкциям разработчика. Трактовка результатов ИФА-тестирования проводилась в зависимости от коэффициента позитивности (КП). Реакция считалась отрицательной при КП < 0,8, положительной – при КП \geq 1,1, сомнительной – при $0,8 \leq$ КП < 1,1.

Мононуклеары выделяли из цельной венозной крови в градиенте плотности Histopaque-1077 (Sigma, США), разводили до концентрации 5×10^6 /мл в полной среде RPMI-1640 (ООО «ПанЭко», Россия) с антибиотиками и 10% эмбриональной телячьей сывороткой (FCS) (Biosera, Франция). Доля лимфоцитов среди выделенных мононуклеаров колебалась от 85 до 92%.

Стимуляция лимфоцитов антигенами SARS-CoV-2

Активацию лимфоцитов проводили в 96-луночных планшетах с АГ SARS-CoV-2, сорбированными в лунках планшетов:

- антиген 1 (АГ1) – цельновиральный инактивированный АГ SARS-CoV-2 (ИФА-набор для выявления АТ IgG к SARS-CoV-2 производства ФБУН ГНЦ «Вектор», № РЗН 2020/10017 от 10.04.2020);
- антиген 2 (АГ2) – рекомбинантный полноразмерный поверхностный тримеризованный S-гликопротеин SARS-CoV-2 (ИФА-набор для выявления АТ IgG к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», № РЗН 2020/10388 от 18.05.2020);
- антиген 3 (АГ3) – рекомбинантный рецептор-связывающий домен поверхностного S-гликопротеина SARS-CoV-2 (ИФА-набор для выявления

¹<https://stopкоронавирус.рф/news/20220301-1300.htm>

Таблица 1. Средние показатели стимуляции Т-клеток различными вариантами антигенов SARS-CoV-2 у людей ($n = 49$), перенёвших COVID-19 1–1,5 месяца назад, Me [Q₁–Q₃]**Table 1. Mean rates of T-cell stimulation by different variants of SARS-CoV-2 antigens in individuals ($n = 49$) who had COVID-19 1–1.5 months ago, Me [Q₁–Q₃]**

Длительность стимуляции, ч Stimulation duration, h	Концентрация IFN- γ после стимуляции мононуклеаров крови антигенами SARS-CoV-2 (пг/мл) IFN- γ concentration after stimulation of blood mononuclear cells with SARS-CoV-2 antigens (pg/ml)			
	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 2 Antigen 2	Антиген 3 Antigen 3	Контрольный антиген Control antigen
20	84,2 [#] [43,1–296,6]	14,0 [4,8–48,4]	0,0 [0,0–12,6]	16,8 [2,1–24,2]
72	310,0 [#] [139,3–600,3]	228,8 ^{#*} [156,1–882,8]	27,7 [2,9–59,9]	0,0 [0,0–3,0]

Примечание. *Значимое отличие от величины при 20-часовой стимуляции ($p < 0,05$). [#]Значимое отличие от стимуляции контрольным антигеном ($p < 0,05$).

Note. *Significant difference from the value at 20-hours stimulation ($p < 0.05$). [#]Significant difference from control antigen stimulation ($p < 0,05$).

АТ IgG к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-RBD-ИФА-Гамалеи», № РЗН 2020/10393 от 18.05.2020).

В качестве контрольного АГ использовали полистироловые планшеты, предназначенные для выявления АТ IgG к вирусу денге (Vircell, S.L., Испания, REF-G1018), с сорбированным вирусом денге (тип 1 – штамм Гавайи, тип 2 – Новая Гвинея, тип 3 – штамм H87 и тип 4 – штамм H241) – возбудителем, с которым подавляющее большинство жителей Московского региона не контактировало. Планшеты инкубировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Спонтанную продукцию IFN- γ оценивали в пробах, инкубированных в аналогичных условиях без АГ.

Супернатанты, собранные через 20 и 72 ч культивирования, хранили до исследования при температуре –40 °С. Концентрацию IFN- γ определяли методом ИФА с помощью тест-системы «Гамма-интерферон-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия, № РЗН 2017/16008 от 24.07.2017). Результаты учитывали как разницу (Δ) между АГ-стимулированной и спонтанной продукцией IFN- γ и представляли в виде медианы (Me) и межквартильного диапазона [Q₁–Q₃]. В качестве порогового значения концентрации IFN- γ использовали 50 пг/мл (среднее значение различий между концентрациями IFN- γ , измеренными в триплетах, при определении уровня АГ-стимулированной продукции IFN- γ выделенными лимфоцитами).

Статистический анализ данных проведён с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel и Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Справедливость проверяемой гипотезы исследования оценивали по величине p , критическим значением которой считали $p < 0,05$.

Результаты

Обследование переболевших людей

С помощью разработанного нами метода было проведено определение АГ-специфических Т-клеток в образцах крови 49 людей через 1–1,5 месяца после COVID-19, перенесённого ими в 2020–2021 гг. Заболевание у всех протекало в лёгкой и среднетяжёлой

форме, инфицирование вирусом SARS-CoV-2 было подтверждено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), лечение было амбулаторным.

АГ-стимуляция Т-лимфоцитов каждым из трёх применённых АГ регистрировалась по повышению продукции IFN- γ по сравнению с нестимулированной пробой. Для оценки неспецифической активации NK-клеток АГ SARS-CoV-2, фиксированными на пластике, использовали контрольный АГ, также фиксированный на пластике. В **табл. 1** показаны различия в величине стимулирующего эффекта при длительности стимуляции 20 и 72 ч.

На стимуляцию АГ вируса денге, также фиксированными в лунках полистиролового планшета, реакция мононуклеаров в обеих группах была низкой как при 20-часовой, так и при 72-часовой стимуляции.

Для АГ2 преимущество увеличения времени стимуляции мононуклеаров в планшетах очевидно. Величина эффекта при стимуляции АГ1 и АГ3 также увеличивается при 72-часовой АГ-стимуляции. При этом реакция на АГ3 появлялась только через 72 ч и была обнаружена у 24,5% переболевших.

Разработанный метод оказался удобен и при обследовании здоровых лиц, привитых против инфекции, обусловленной SARS-CoV-2. В **табл. 2** показана величина стимулирующего эффекта каждого из трёх АГ у 44 привитых людей через 3 недели после завершения вакцинации двухкомпонентной вакциной «Гам-КОВИД-Вак». В этой группе Т-клетки, специфичные в отношении АГ2 и АГ3, надёжно выявляются только при АГ-стимуляции в течение 72 ч.

Сохранение антиген-специфических Т-клеток у переболевших людей и изменение показателей Т-клеточной памяти в ходе вакцинации

В соответствии с Временными методическими рекомендациями по вакцинации против SARS-CoV-2² Минздрава России, в 2021 г. после перенесённого заболевания пациентам рекомендовалось прививаться через 6 месяцев. В связи с этим 14 человек из 49, ранее перенёвших COVID-19, были вакцинированы вакциной

²<https://minzdrav.gov.ru/news/2021/08/24/17217>

Таблица 2. Средние показатели стимуляции Т-клеток различными вариантами антигенов SARS-CoV-2 у здоровых людей ($n = 44$) после вакцинации, Ме [Q₁–Q₃]**Table 2. Mean rates of T-cell stimulation by different variants of SARS-CoV-2 antigens for healthy individuals ($n = 44$) after vaccination, Me [Q₁–Q₃]**

Длительность стимуляции, ч Stimulation duration, h	Концентрация IFN- γ после стимуляции мононуклеаров крови антигенами SARS-CoV-2 (пг/мл) IFN- γ concentration after stimulation of blood mononuclear cells with SARS-CoV-2 antigens (pg/ml)			
	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 2 Antigen 2	Антиген 3 Antigen 3	Контрольный антиген Control antigen
20	74,0 [#] [11,6–125,1]	0,0	5,8 [0,0–67,4]	5,4 [2,5–53,2]
72	139,6 [#] [70,9–349,5]	70,9 ^{#*} [0,0–263,6]	60,6 ^{#*} [23,6–109,9]	33,5 [9,7–46,5]

Примечание. *Значимое отличие от величины при 20-часовой стимуляции ($p < 0,05$). [#]Значимое отличие от стимуляции контрольным антигеном ($p < 0,05$).

Note. *Significant difference from the value at 20-hours stimulation ($p < 0.05$). [#]Significant difference from control antigen stimulation ($p < 0.05$).

Таблица 3. Реакция Т-лимфоцитов на антигенную стимуляцию мононуклеаров крови людей, перенёвших COVID-19 ($n = 14$) 6–10 месяцев назад, перед вакцинацией и после неё, Ме [Q₁–Q₃]**Table 3. The response of T-lymphocytes to antigenic stimulation of blood mononuclear cells from individuals who had COVID-19 ($n = 14$) 6–10 months ago, before and after vaccination, Me [Q₁–Q₃]**

Срок после перенесенного заболевания Period after illness	Концентрация IFN- γ после стимуляции мононуклеаров крови (пг/мл) IFN- γ concentration after stimulation of blood mononuclear cells (pg/ml)			
	20 ч 20 h		72 ч 72 h	
	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 2 Antigen 2	Антиген 3 Antigen 3
1–1,5 месяца 1–1,5 month	90,5 [15,7–198,0]	134,6 [35,8–464,4]	86,4 [4,9–293,7]	1,6 [0,0–45,5]
6–10 месяцев (перед вакцинацией) 6–10 month (before vaccination)	49,5 [17,3–89,0]	144,1 [47,6–738,2]	145,8 [40,3–576,4]	13,5 [1,5–29,9]
Через 1–2 недели после вакцинации 1–2 weeks after vaccination	90,4 [56,8–180,1]	266,5 [94,2–830,6]	381,6* [73,5–915,5]	52,0* [0,0–103,4]

Примечание. *Значимое отличие от величины через 1–1,5 месяца после перенесённого заболевания ($p < 0,05$).

Note. *Significant difference from the value 1–1.5 month after disease ($p < 0.05$).

«Гам-КОВИД-Вак». Перед вакцинацией у всех 14 пациентов в сыворотке крови присутствовали АГ IgG, однако показатели КП были ниже, чем у этих же людей при первом обследовании (Ме 7,6 и 13,3 соответственно). У троих сохранились АГ IgM.

Изменение активности АГ-специфических Т-клеток в течение полугода у этой группы людей показано в табл. 3. Результаты 72-часовой стимуляции приведены для всех антигенов, 20-часовой стимуляции – только для АГ1.

Через 1–1,5 месяца после перенесённого заболевания мононуклеары, выделенные из крови переболевших, при 20-часовой стимуляции реагировали на АГ1 у 87,5% людей, а при 72-часовой на АГ1 – у 71,4%, на АГ2 – у 50%, на АГ3 – у 28,6%. Средняя концентрация IFN- γ была максимальной при 72-часовой стимуляции АГ1.

Через полгода после первого обследования на 20-часовую стимуляцию АГ1 реагировали Т-клетки 57,1% доноров, на 72-часовую АГ1 – 78,6%, на АГ2 – 71,4%, АГ3 – 14,3% доноров. Уже через 1–2 недели после вакцинации эти частоты сменялись на 71,4; 100,0; 92,9; и 57,1% соответственно.

Ранее (при обследовании через 1 месяц после перенесённого заболевания) удлинение инкубации мо-

нонуклеаров с АГ1 приводило не к увеличению доли положительных проб, а только к усилению АГ-стимулированной продукции IFN- γ у некоторых людей. По прошествии 6 месяцев после заболевания у 14,3% обследованных 72-часовой период инкубации приводил к значительной активации Т-клеток, что подтверждается высокой продукцией IFN- γ . После вакцинации этой группы то же наблюдалось уже у 57,1% людей.

Совокупность полученных данных свидетельствует, что на момент вакцинации в обследованной нами группе больше чем у половины людей, переболевших COVID-19, в крови сохранялись АГ-специфические Т-клетки и активность этих клеток была высока. После вакцинации значительно увеличились показатели активности Т-клеток, распознающих АГ2 и АГ3, и доля обследованных, в крови которых эти клетки выявлялись.

Обследование здоровых людей в ходе вакцинации

Динамика формирования и длительность сохранения Т-клеточного иммунитета были исследованы также у 44 здоровых лиц, не имевших в анамнезе COVID-19 и привитых в первой половине 2021 г. двухкомпонентной вакциной «Гам-КОВИД-Вак». На первых этапах проведённой работы не было ясно, какой срок после вакцинации оптимален для оценки пока-

Таблица 4. Реакция Т-лимфоцитов на антигенную стимуляцию мононуклеаров крови здоровых людей ($n = 44$) в ходе вакцинации, Me [Q₁–Q₃]**Table 4. The response of T-lymphocytes to antigenic stimulation of blood mononuclear cells from healthy individuals ($n = 44$) during vaccination, Me [Q₁–Q₃]**

Срок обследования Observations period	Концентрация IFN- γ после стимуляции мононуклеаров крови (пг/мл) IFN- γ concentration after stimulation of blood mononuclear cells (pg/ml)			
	20 ч 20 h		72 ч 72 h	
	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 2 Antigen 2	Антиген 3 Antigen 3
1 неделя после введения первого компонента ($n = 22$) 1 week after injection of the 1 st vaccine component ($n = 22$)	4,9 [0,0–16,5]	2,5 [0,0–29,6]	0,0 [0,0–0,6]	0,0 [0,0–0,0]
3 недели после введения первого компонента ($n = 40$) 3 weeks after injection of the 1 st vaccine component ($n = 40$)	78,9* [18,3–204,9]	110,5* [42,0–159,5]	0,0 [0,0–14,1]	14,4 [7,2–21,7]
3 недели после введения второго компонента ($n = 34$) 3 weeks after injection of the 2 nd vaccine component ($n = 34$)	41,9 [11,1–87,4]	112,5* [15,7–411,3]	51,0* [21,1–383,6]	53,2* [40,0–81,1]

Примечание. *Значимое отличие от величины через 1 неделю после введения первого компонента вакцины ($p < 0,05$).

Note. *Significant difference from the value 1 week after injection of the 1st component of the vaccine ($p < 0.05$).

зателей Т-клеточного иммунитета в периферической крови привитых людей, поэтому первые 22 человека из 44 привитых сдавали кровь еженедельно. Из них у 10 человек Т-клеточная реакция и АТ появились после введения первого компонента вакцины – на 2–3-й неделе. Среднее увеличение IFN- γ (Me [Q₁–Q₃]) после 72-часовой стимуляции мононуклеаров АГ1 составляло 144,1 [96,8–222,9] пг/мл, сывороточная концентрация АТ IgG против S-гликопротеина SARS-CoV-2 была в диапазоне 10,1 < КП < 16,3. Особенностью подгруппы было появление Т-клеточной реакции на АГ на одну неделю раньше появления АТ (с 8-х по 15-е сутки после вакцинации). Возраст привитых людей в этой подгруппе был от 31 года до 57 лет.

У других 12 человек АТ IgG против S-гликопротеина SARS-CoV-2 появились через 3–4 недели после введения второго компонента вакцины. Средний возраст участников исследования в этой группе был выше, чем в первой: 2/3 группы составляли лица старше 60 лет. Опережение гуморального ответа Т-клеточным было отмечено в этой группе у небольшого количества участников исследования: у 4 из 12 человек (у 2 до 60 лет и у 2 – старше 60 лет). Из остального состава группы у троих были выявлены только АТ, а Т-клеточный ответ за указанный период наблюдения не был выявлен.

В табл. 4 представлено изменение Т-клеточного ответа на АГ1, АГ2 и АГ3 во всей группе из 44 здоровых привитых людей без разделения по возрасту и соотношению гуморального и клеточного ответа.

Через 7–12 дней после введения первого компонента вакцины 20-часовая стимуляция в присутствии АГ1 приводит к активации Т-клеток только у 13,6% привитых, а через 3 недели – у 45,0%. Увеличение длительности стимуляции мононуклеаров с 20 до 72 ч на этом этапе вакцинации приводило к увеличению разницы между концентрацией в АГ-стимулированной и интактной пробах, но доля положительных реакций не возрастала. Через 3 недели после полного курса вакцинации при 72-часовой стимуляции мононукле-

аров Т-клетки привитых людей активируются всеми исследованными АГ: АГ1 – у 88,2%, АГ2 – у 76,5%, АГ3 – у 82,3%. При этом у 8 привитых (23,5%) АГ-активация Т-лимфоцитов обнаружена только при 72-часовой инкубации, но не при 20-часовой.

Следовательно, при обследовании здоровых вакцинированных людей оптимальным сроком активации мононуклеаров также является 72-часовая стимуляция.

Примечательно, что после завершения вакцинации Т-клетки большинства обследованных активировались как АГ1, так и АГ2 практически одинаково – в 30 и 28 пробах соответственно. На этом сроке в группе обследованных были 3 человека, у которых Т-клетки отвечали на стимуляцию АГ3, но не давали реакцию на крупный цельновирионный АГ.

Уровень АТ к гликопротеину S вируса SARS-CoV-2 за описанный период изменялся следующим образом. Перед вакцинацией у людей, вошедших в группу здоровых, в крови отсутствовали АТ против SARS-CoV-2. Через 7–12 дней после первого компонента вакцины АТ IgM отсутствовали, а сывороточная концентрация АТ IgG определялась в диапазоне КП 0,0–7,1 (Me 0). Перед введением второго компонента АТ IgM обнаруживались у двоих (КП 2,8 и 3,5), медиана КП для АТ IgG равна 6,0. После полного курса вакцинации через 3 недели у большинства привитых уровень IgG против SARS-CoV-2 находился выше предела обнаружения (КП > 13,5); только у двоих из 44 доноров КП был 4,6 и 9,5 соответственно.

Также была проведена оценка длительности сохранения Т-клеточного иммунитета после вакцинации здоровых людей. Для этой цели было обследовано 17 из 44 участников описанной группы. Снижение уровня АТ IgG по сравнению с достигнутым в ходе вакцинации к этому моменту произошло у всех обследуемых (в среднем с КП 16,1 до 3,4; $p < 0,001$).

За период, прошедший между окончанием вакцинации и планируемой ревакцинацией (6–7 месяцев), никто из обследованных не перенёс заболевания, связанного с ПЦП-подтвержденной инфекцией SARS-CoV-2,

Таблица 5. Изменение реакции Т-лимфоцитов на антигенную стимуляцию мононуклеаров крови здоровых людей ($n = 17$) после ревакцинации вакциной «Гам-КОВИД-Вак», Me [Q₁–Q₃]
Table 5. Changes in the response of T-lymphocytes on the antigenic stimulation of blood mononuclear cells from healthy individuals ($n = 17$) after revaccination with «Gam-COVID-Vac» vaccine, Me [Q₁–Q₃]

Срок обследования Observation period	Концентрация IFN- γ после стимуляции мононуклеаров крови (пг/мл) IFN- γ concentration after stimulation of blood mononuclear cells (pg/ml)			
	20 ч 20 h		72 ч 72 h	
	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 1 Antigen 1	Антиген 2 Antigen 2	Антиген 3 Antigen 3
Перед ревакцинацией Before revaccination	20,5 [11,8–57,0]	85,8 [45,7–272,2]	74,8 [39,6–231,5]	28,1 [7,0–76,2]
1–3 недели после ревакцинации 1–3 weeks after revaccination	43,5 [13,0–126,1]	162,3 [127,6–359,1]	139,6 [92,6–324,4]	67,9* [24,0–125,0]
6 месяцев после ревакцинации 6 months after revaccination	56,8* [36,0–144,7]	549,4* [108,5–1234,3]	300,9* [117,9–863,4]	300,5* [25,2–628,2]

Примечание. *Значимое отличие от величины перед ревакцинацией ($p < 0,05$).

Note. *Significant difference from the value before revaccination ($p < 0.05$).

хотя бессимптомную инфекцию исключить было нельзя. Обследование проводилось перед ревакцинацией, через 1–2 недели после ревакцинации вакцинами «Гам-КОВИД-Вак» и через 6 месяцев после этого (табл. 5). Участники исследования ревакцинировались в разное время с июля по ноябрь 2021 г., в период до появления на территории России штамма омикрон.

К моменту ревакцинации у людей, привитых вакциной «Гам-КОВИД-Вак» 6 месяцев назад, эффективность стимуляции мононуклеаров АГ1 снижается и в 20-часовых, и в 72-часовых культурах. Только у 17,6% доноров через 20 ч стимуляции в планшете с АГ1 активируются Т-клетки. Через 72 ч стимуляции АГ1 активирует Т-клетки у 70,6% обследованных, АГ2 – у 52,9%, АГ3 – у 41,9%. У данной группы людей также выполняется закономерность, описанная ранее на материале переболевших: оптимальные условия для стимуляции создавались не при 20-часовой, а при 72-часовой инкубации мононуклеаров в лунках с АГ.

Через 1–2 недели после ревакцинации показатели Т-клеточного иммунитета в отношении всех АГ значимо возрастают. Активация Т-лимфоцитов АГ1, АГ2 и АГ3 через 72 ч регистрируется в 100,0; 94,1 и 58,8% проб. Формирование вторичного иммунитета, по-видимому, не завершается за 2 недели, и через 6 месяцев АГ3 распознается Т-клетками уже 88,2% доноров, а АГ1 и АГ2 – 100,0% доноров.

Уровень АТ IgG против S-гликопротеина SARS-CoV-2 значимо ($p < 0,001$) увеличился после ревакцинации и через 3–4 недели характеризовался средним КП 15,3 [14,8–15,3]. Через 6 месяцев концентрация АТ оставалась высокой более чем у половины ревакцинированных: КП 10,9 [6,6–14,2].

Как для научных, так и для практических целей необходимо понимание широты распознавания Т-клетками, циркулирующими на периферии, иммунодоминантных эпитопов вируса SARS-CoV-2. В табл. 6 представлены сводные результаты по частоте проявления положительных реакций мононуклеаров на 72-часовую АГ-стимуляцию.

Как видно из табл. 6, максимальная частота положительных реакций на АГ-стимуляцию наблюдается при использовании АГ1. Повторная встреча клеток иммунной системы с вирусом SARS-CoV-2 в результате ревакцинации или вакцинации переболевших приводит к увеличению числа людей, Т-клетки которых активируются более мелкими фрагментами вируса – АГ2 и АГ3. Наибольшее количество проб, в которых АГ-специфические Т-клетки активировались стимуляцией АГ2 и АГ3, выявлялось через 6 месяцев после первого обследования и позднее.

Обсуждение

Проведённое исследование показало, что разработанный нами метод пригоден для мониторинга постинфекционного и поствакцинального иммунитета. АГ SARS-CoV-2, фиксированные в лунках планшетов из ИФА-наборов для обнаружения АТ IgG, доступны для поглощения, процессинга, презентации и распознавания клетками мононуклеарной фракции, выделенной из крови пациента. Данное обстоятельство упрощает и удешевляет исследования Т-клеточного иммунитета. Его главным преимуществом является тот факт, что, возможно, уступая другим вариантам IGRA-тестов в чувствительности и аспектам узкой специфичности, данный метод может позволить решить важные задачи в исследовании клеточного иммунитета.

Очень важно, чтобы исследования проводились на стандартно произведённых наборах реагентов, тогда результаты, полученные в разных лабораториях, будут сравнимыми. В статье Д.А. Потеряева и соавт. [4] справедливо указывается, что «количественное значение защитного уровня Т-клеток, определяемое одним набором ELISPOT, нельзя прямо экстраполировать на другой набор». Разнообразие пептидов вирусных белков, синтезированных разными авторами, способствует пониманию взаимодействия между вирусом и организмом хозяина, однако может создавать и сложности. Существует мнение, что исследования Т-клеток памяти с использованием только коротких синтетических

Таблица 6. Частота положительных реакций на антигенную стимуляцию мононуклеаров крови, которые способны активироваться после заболевания и (или) вакцинации

Table 6. The frequency of positive reactions to antigenic stimulation of blood mononuclear cells that are able to be activated after disease and/or vaccination

Группа Group	Срок обследования Observations period	Доля лиц с положительной реакцией при стимуляции мононуклеаров крови (%) Proportion of individuals with a positive reaction after blood mononuclear cells stimulation mononuclear cells (%)				
		Реакция на 1 антиген Reaction to 1 antigen			Реакция на 2 антигена Reaction to 2 antigens	
		Антиген 1 Antigen 1	Антиген 2 Antigen 2	Антиген 3 Antigen 3	Антигены 1 и 2 Antigens 1 and 2	Антигены 2 и 3 Antigens 2 and 3
Переболевшие (n = 14) People who had COVID-19 (n = 14)	1–1,5 месяца после заболевания 1–1,5 month after disease	74,1	50,0	28,6	50,0	28,6
	Перед вакцинацией Before vaccination	78,6	71,4	14,3	71,4	14,3
	1–2 недели после вакцинации 1–2 weeks after vaccination	100,0	92,9	57,1	92,9	57,1
Здоровые (n = 17) Healthy people (n = 17)	6 месяцев после вакцинации 6 months after vaccination	100,0	100,0	64,2	100,0	57,1
	После полного курса вакцинации After full vaccination schedule	88,2	76,5	82,3	76,5	70,6
	Перед ревакцинацией Before revaccination	70,6	52,9	41,9	52,9	23,5
	1–3 недели после ревакцинации 1–3 weeks after revaccination	100,0	94,1	58,8	94,1	47,1
	6 месяцев после ревакцинации 6 months after revaccination	100,0	100,0	88,2	100,0	74,6

пептидов может выявлять в числе прочих низкоаффинные Т-клетки, не играющие роли в уничтожении инфицированных вирусом мишеней, но приводящие к завышенной оценке числа клеток памяти [7].

Переход от текущего состояния, когда Т-клеточный иммунитет квалифицированно может исследоваться только в ограниченном круге хорошо оборудованных лабораторий, к тому, чтобы его оценка стала действительно широкодоступной, потребует значительного времени. Тем не менее если бы уже на настоящем этапе можно было создать условия для получения материалов исследования из лабораторий разного уровня обеспеченности, то это значительно приблизило бы создание стандартного дизайна исследований для сравнения показателей у разных пациентов или у одного и того же человека на разных стадиях постинфекционного/поствакцинального периода.

Полученные данные показывают, что предлагаемый нами метод может успешно применяться как скрининговый. Наши результаты соответствуют данным научных статей, сообщающих о длительном (6 и более месяцев) сохранении у переболевших Т-клеток памяти, специфичных к спайк-белку, если такие клетки обнаруживались у них сразу после перенесённого заболевания [8–10], в том числе при лёгких формах заболевания [11]. Некоторые авторы указывают, что и уровень АТ к спайк-белку у переболевших за полгода и даже за год не претерпевает существенного снижения [12–14]. Мы же, напротив, отмечали снижение концентрации АТ. Возможно, эти различия зависят от размера выборки и доли пациентов разных

возрастов. W.N. Chia и соавт. [15], проанализировав данные более 500 пациентов, пришли к выводу, что прогноз продолжительности иммунитета может быть точно определён только на индивидуальном уровне.

После вакцинации переболевших у обследованных нами пациентов через 1–2 недели появились Т-клетки, специфичные не только в отношении спайк-белка (у 100,0% группы), но и его RBD-домена (у 57,1% группы). Вероятно, несмотря на то что переболевшие при введении вакцины развивали вторичный иммунный ответ на АГ вируса, срок в 1–2 недели после вакцинации был неоптимальным для выявления АГ-специфических Т-клеток (позднее у тех же лиц показатели активации Т-клеток АГ1, АГ2 и АГ3 были выше), однако в процессе работы нас интересовало, в частности, как быстро в крови человека появляются такие клетки.

При мониторинге поствакцинального иммунного ответа у здоровых людей, не имевших АТ к SARS-CoV-2, мы в соответствии с информированным согласием доноров также начинали забор крови для исследования через 1 неделю после введения первого компонента вакцины. В этот момент, ещё до появления АТ против спайк-белка, у 13,6% привитых (3 человека из 22) Т-клетки активировались в присутствии АГ1, а через 3 недели – у 45,0%. Реакция на АГ2 и АГ3 на этом сроке не была обнаружена ни при 24-часовой, ни при 72-часовой стимуляции, тогда как после введения второго компонента вакцины через 3 недели АГ3 активирует Т-клетки у 82,3% участников исследования.

Нам представляется интересным наблюдение, что у людей, в крови которых удалось выявить АГ-специфи-

ческие Т-клетки уже после введения первого компонента вакцины «Гам-КОВИД-Вак», Т-клеточная реакция на АГ на одну неделю опережала появление АГ. Возраст привитых людей в этой группе был от 31 до 57 лет. В научной литературе имеются единичные сообщения на этот счёт [16]. Однако показано, что при COVID-19 Т-клетки появляются раньше, чем АГ [17].

Появление и динамика количества АГ-специфических Т-клеток в большинстве статей анализируются начиная с 1 месяца после завершения вакцинации. При этом имеются противоречивые сведения о доле привитых людей, у которых образовались Т-клетки памяти [18–22]. Наличие реакции Т-клеток на тот или иной АГ SARS-CoV-2, вероятно, зависит от биологической доступности АГ, сорбированных на пластике, особенно небольших пептидов. В этом смысле технология Quantiferon, где АГ SARS-CoV-2 или их Т-клеточные эпитопы напылены на пластик [8, 9], имеет преимущество перед обычными ИФА-тест-системами, где использование полистирола с высокой сорбционной способностью может ограничивать захват и процессинг АГ мононуклеарами крови. В то же время цельновирионный АГ (АГ1) и S-белок (АГ2) содержат RBD, эпитопы которого могут вызывать активацию АГ-специфических Т-клеток, сформировавшихся в организме вакцинированных людей, а биодоступность RBD из планшетов с АГ1 и АГ2, вероятно, выше, чем из планшетов с АГ3.

С этими же особенностями связан, по-видимому, и наблюдавшийся нами переход от состояния, когда после первого введения вакцины или сразу после болезни АГ-специфические Т-клетки эффективно выявлялись через 20 ч инкубации, а по прошествии нескольких месяцев у значительной части обследованных их можно было обнаружить только при 72-часовой стимуляции.

По-видимому, для того чтобы после активации АГ, фиксированными на пластике, в культуре мононуклеаров накопилось количество IFN- γ , надёжно показывающее факт активации, требуется именно 72 ч инкубации. Однако на этапе первичного иммунного ответа (после введения первого компонента вакцины) количество Т-клеток, взаимодействующих с АГ, ещё слишком мало, и биодоступность АГ на пластике имеет решающее значение: Т-лимфоциты привитых первым компонентом вакцины активируются в присутствии крупного вирусного фрагмента (АГ1).

Заключение

Проведённое исследование показало, что разработанный нами метод может быть успешно применён для мониторинга Т-клеточного ответа на АГ SARS-CoV-2 у людей в постинфекционном и поствакцинальном периоде. Он достаточно чувствителен и специфичен, относительно несложен, осуществим на отечественных реагентах, недорог. Для указанной задачи целесообразно применять готовые полистироловые планшеты с фиксированным полноразмерным S-гликопротеином SARS-CoV-2 (АГ2).

Увеличение продолжительности АГ-стимуляции до 72 ч позволяет обнаруживать предложенным на-

ми методом АГ-специфические Т-клетки не только к цельновирионному АГ SARS-CoV-2, но и к его S-гликопротеину, а также к его фрагменту – RBD.

В настоящее время, через 3 года после начала пандемии COVID-19, обусловленной новым коронавирусом SARS-CoV-2, когда выявлено уже так много новых штаммов этого вируса, возникает вопрос о том, имеет ли значение выявление Т-клеток памяти, специфичных к S-гликопротеину первоначального возбудителя COVID-19 [21], однако использованный нами метод осуществим и на планшетах с АГ других, более актуальных штаммов SARS-CoV-2, если соответствующие ИФА-тест-системы будут выпускаться.

Проведённый нами мониторинг постинфекционного иммунитета у лиц, перенёсших COVID-19 в 2020–2021 гг., показал, что Т-клеточный иммунитет против АГ вируса SARS-CoV-2 сохраняется не менее 6 месяцев после заболевания. У привитых, если они ранее не болели COVID-19, такая длительность сохранения АГ-специфических Т-клеток в циркулирующей крови достигается только после ревакцинации, что подтверждается и другими авторами [9, 22, 23].

ЛИТЕРАТУРА

1. Sette A., Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccines. *Immunol. Rev.* 2022; 310(1): 27–46. <https://doi.org/10.1111/imr.13089>
2. Quadeer A.A., Ahmed S.F., McKay M.R. Landscape of epitopes targeted by T cells in 852 individuals recovered from COVID-19: Meta-analysis, immunoprevalence, and web platform. *Cell Rep. Med.* 2021; 2(6): 1003–12. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100312>
3. Kedzierska K., Thomas P.G. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Rep. Med.* 2022; 3(3): 100562. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100562>
4. Потеряев Д.А., Аббасова С.Г., Игнатъева П.Е., Стрижакова О.М., Колесник С.В., Хамитов Р.А. Оценка Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных против COVID-19 лиц с помощью ELISPOT набора ТиграТест® SARS-CoV-2. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2021; 21(3): 178–92. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192> <https://www.elibrary.ru/uouyprx>
5. Бляхер М.С., Капустин И.В., Одинцов Е.Е., Рамазанова З.К., Сандалова С.В., Тульская Е.А. и др. Способ определения специфического клеточного иммунного ответа на антигены коронавируса (SARS-COV-2). Патент РФ № 2780369 С1; 2021.
6. Бляхер М.С., Фёдорова И.М., Тульская Е.А., Капустин И.В., Котелева С.И., Рамазанова З.К. и др. Определение специфического Т-клеточного иммунитета к антигенам вируса SARS-CoV-2 у людей, переболевших COVID-19. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(6): 527–37. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-151>
7. Bacher P., Rosati E., Esser D., Martini G.R., Saggau C., Schiminsky E., et al. Low-avidity CD4+ T cell responses to SARS-CoV-2 in unexposed individuals and humans with severe COVID-19. *Immunity.* 2020; 53(6): 1258–71.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.11.016>
8. Лобов А.В., Иванова П.И., Погодина Е.А., Казей В.И., Максимова Е.Д., Шубина И.Ж. Оценка клеточного звена иммунитета при новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Российский биотерапевтический журнал.* 2021; 20(4): 10–7. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-4-10-17> <https://www.elibrary.ru/hdnbwe>
9. Jaganathan S., Stieber F., Rao S.N., Nikolayevskyy V., Manisero D., Allen N., et al. Preliminary evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIArearch anti-SARS-CoV-2 total test in recently vaccinated individuals. *Infect. Dis. Ther.* 2021; 10(4): 2765–76. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00521-8>
10. Yao L., Wang G.L., Shen Y., Wang Z.Y., Zhan B.D., Duan L.J., et al. Persistence of antibody and cellular immune responses in coronavirus disease 2019 patients over nine months after infection. *J. Infect. Dis.* 2021; 224(4): 586–94. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab255>
11. Rank A., Tzortzini A., Kling E., Schmid C., Claus R., Löll E., et al. One year after mild COVID-19: The majority of patients maintain

- specific immunity, but one in four still suffer from long-term symptoms. *J. Clin. Med.* 2021; 10(15): 3305. <https://doi.org/10.3390/jcm10153305>
12. Mak W.A., Koeleman J.G.M., van der Vliet M., Keuren F., Ong D.S.Y. SARS-CoV-2 antibody and T cell responses one year after COVID-19 and the booster effect of vaccination: A prospective cohort study. *J. Infect.* 2022; 84(2): 171–8. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.12.003>
 13. Martynova E., Hamza S., Garanina E.E., Kabwe E., Markelova M., Shakirova V., et al. Long term immune response produced by the SputnikV vaccine. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(20): 11211. <https://doi.org/10.3390/ijms222011211>
 14. Комбарова С.Ю., Алешкин А.В., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Затевалов А.М., Мехтиев Э.Р. и др. Особенности гуморального ответа на инфекцию, вакцинацию и ревакцинацию при COVID-19. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2022; 173(6): 719–25. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-6-719-725> <https://www.elibrary.ru/jghnpl>
 15. Chia W.N., Zhu F., Ong S.W.X., Young B.E., Fong S.W., Le Bert N., et al. Dynamics of SARS-CoV-2 neutralising antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *Lancet Microbe.* 2021; 2(6): e240–9. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(21\)00025-2](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(21)00025-2)
 16. Kalimuddin S., Tham C.Y.L., Qui M., de Alwis R., Sim J.X.Y., Lim J.M.E., et al. Early T cell and binding antibody responses are associated with COVID-19 RNA vaccine efficacy onset. *Med.* 2021; 2(6): 682–8.e4. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.04.003>
 17. Goletti D., Petrone L., Manissero D., Bertoletti A., Rao S., Ndunda N., et al. The potential clinical utility of measuring severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific T-cell responses. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021; 27(12): 1784–9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.07.005>
 18. Anderson E.J., Rouphael N.G., Widge A.T., Jackson L.A., Roberts P.C., Makhene M., et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(25): 2427–38. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2028436>
 19. Sahin U., Muik A., Vogler I., Derhovanessian E., Kranz L., Vormehr M., et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. *medRxiv.* 2020. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175>
 20. Ewer K.J., Barrett J.R., Belij-Rammerstorfer S., Sharpe H., Makinson R., Morter R., et al. T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial. *Nat. Med.* 2021; 27(2): 270–8. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01194-5>
 21. Sadoff J., Le Gars M., Shukarev G., Heerwegh D., Truyers C., de Groot A.M., et al. Interim results of a phase 1-2a trial of Ad26.COV2.S COVID-19 vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(19): 1824–35. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034201>
 22. Parry H.M., Bruton R., Tut G., Ali M., Stephens C., Faustini S., et al. Single vaccination with BNT162b2 or ChAdOx1 in older people induces equivalent antibody generation but enhanced cellular responses after ChAdOx1. *Lancet.* 2021. Preprint. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3825573>
 23. Tomalka J.A., Suthar M.S., Deeks S.G., Sekaly R.P. Fighting the SARS-CoV-2 pandemic requires a global approach to understanding the heterogeneity of vaccine responses. *Nat. Immunol.* 2022; 23(3): 360–70. <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01130-4>
- REFERENCES**
1. Sette A., Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccines. *Immunol. Rev.* 2022; 310(1): 27–46. <https://doi.org/10.1111/immr.13089>
 2. Quadeer A.A., Ahmed S.F., McKay M.R. Landscape of epitopes targeted by T cells in 852 individuals recovered from COVID-19: Meta-analysis, immunoprevalence, and web platform. *Cell Rep. Med.* 2021; 2(6): 1003–12. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100312>
 3. Kedzierska K., Thomas P.G. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Rep. Med.* 2022; 3(3): 100562. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100562>
 4. Poteryaev D.A., Abbasova S.A., Ignat'eva P.E., Strizhakova O.M., Kolesnik S.V., Khamitov R.A. Assessment of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescents and vaccinated subjects, using Tigratest® SARS-CoV-2 ELISPOT kit. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie.* 2021; 21(3): 178–92. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192> <https://www.elibrary.ru/uoyypx> (in Russian)
 5. Blyakher M.S., Kapustin I.V., Odintsov E.E., Ramazanova Z.K., Sandalova S.V., Tul'skaya E.A., et al. Method for determining the specific cellular immune response to coronavirus antigens (SARS-CoV-2). Patent RF № 2280590; 2022. (in Russian)
 6. Blyakher M.S., Fedorova I.M., Tul'skaya E.A., Kapustin I.V., Koteleva S.I., Ramazanova Z.K., et al. Assessment of specific T-cell immunity to SARS-CoV-2 virus antigens in COVID-19 convalescents. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(6): 527–37. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-151> (in Russian)
 7. Bacher P., Rosati E., Esser D., Martini G.R., Saggau C., Schiminsky E., et al. Low-avidity CD4+ T cell responses to SARS-CoV-2 in unexposed individuals and humans with severe COVID-19. *Immunity.* 2020; 53(6): 1258–71.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.11.016>
 8. Lobov A.V., Ivanova P.I., Pogodina E.A., Kazey V.I., Maksimova E.D., Shubina I.Zh. Assessment of the cellular immunity response to the new coronavirus infection COVID-19. *Rossiyskiy bioterapevicheskiy zhurnal.* 2021; 20(4): 10–7. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-4-10-17> <https://www.elibrary.ru/hdnbwe> (in Russian)
 9. Jaganathan S., Stieber F., Rao S.N., Nikolayevskyy V., Manissero D., Allen N., et al. Preliminary evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIAreac anti-SARS-CoV-2 total test in recently vaccinated individuals. *Infect. Dis. Ther.* 2021; 10(4): 2765–76. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00521-8>
 10. Yao L., Wang G.L., Shen Y., Wang Z.Y., Zhan B.D., Duan L.J., et al. Persistence of antibody and cellular immune responses in coronavirus disease 2019 patients over nine months after infection. *J. Infect. Dis.* 2021; 224(4): 586–94. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab255>
 11. Rank A., Tzortzini A., Kling E., Schmid C., Claus R., Löll E., et al. One year after mild COVID-19: The majority of patients maintain specific immunity, but one in four still suffer from long-term symptoms. *J. Clin. Med.* 2021; 10(15): 3305. <https://doi.org/10.3390/jcm10153305>
 12. Mak W.A., Koeleman J.G.M., van der Vliet M., Keuren F., Ong D.S.Y. SARS-CoV-2 antibody and T cell responses one year after COVID-19 and the booster effect of vaccination: A prospective cohort study. *J. Infect.* 2022; 84(2): 171–8. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.12.003>
 13. Martynova E., Hamza S., Garanina E.E., Kabwe E., Markelova M., Shakirova V., et al. Long term immune response produced by the SputnikV vaccine. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(20): 11211. <https://doi.org/10.3390/ijms222011211>
 14. Kombarova S.Yu., Aleshkin A.V., Novikova L.I., Bochkareva S.S., Zatevalov A.M., Mekhtiev E.R., et al. Features of the humoral response to infection, vaccination, and revaccination during COVID-19. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2022; 173(6): 719–25. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-6-719-725> <https://www.elibrary.ru/jghnpl> (in Russian)
 15. Chia W.N., Zhu F., Ong S.W.X., Young B.E., Fong S.W., Le Bert N., et al. Dynamics of SARS-CoV-2 neutralising antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *Lancet Microbe.* 2021; 2(6): e240–9. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(21\)00025-2](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(21)00025-2)
 16. Kalimuddin S., Tham C.Y.L., Qui M., de Alwis R., Sim J.X.Y., Lim J.M.E., et al. Early T cell and binding antibody responses are associated with COVID-19 RNA vaccine efficacy onset. *Med.* 2021; 2(6): 682–8.e4. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.04.003>
 17. Goletti D., Petrone L., Manissero D., Bertoletti A., Rao S., Ndunda N., et al. The potential clinical utility of measuring severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific T-cell responses. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021; 27(12): 1784–9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.07.005>
 18. Anderson E.J., Rouphael N.G., Widge A.T., Jackson L.A., Roberts P.C., Makhene M., et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(25): 2427–38. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2028436>
 19. Sahin U., Muik A., Vogler I., Derhovanessian E., Kranz L., Vormehr M., et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. *medRxiv.* 2020. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175>
 20. Ewer K.J., Barrett J.R., Belij-Rammerstorfer S., Sharpe H., Makinson R., Morter R., et al. T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial. *Nat. Med.* 2021; 27(2): 270–8. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01194-5>
 21. Sadoff J., Le Gars M., Shukarev G., Heerwegh D., Truyers C., de Groot A.M., et al. Interim results of a phase 1-2a trial of Ad26.COV2.S COVID-19 vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(19): 1824–35. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034201>
 22. Parry H.M., Bruton R., Tut G., Ali M., Stephens C., Faustini S., et al. Single vaccination with BNT162b2 or ChAdOx1 in older people induces equivalent antibody generation but enhanced cellular responses after ChAdOx1. *Lancet.* 2021. Preprint. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3825573>
 23. Tomalka J.A., Suthar M.S., Deeks S.G., Sekaly R.P. Fighting the SARS-CoV-2 pandemic requires a global approach to understanding the heterogeneity of vaccine responses. *Nat. Immunol.* 2022; 23(3): 360–70. <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01130-4>