

treatment and facing a possible “no cure” state in clinical treatment, where the patient had no high-order antibiotics to treat the disease. In the literature there was also raised the possibility that the use of tigecycline may increase mortality, so it should be discussed whether the use of tigecycline is also a factor in the death of patients.

It is worth mentioning that there are still imperfections in this study. The interpretation of the survey results in this study is limited by the sample size, and the KP resistant strains have geographical differences and resistance migration. In future studies, large samples, multi-center and multi-region in-depth studies are needed to further investigate the death of patients caused by CR-KP.

In the past few decades, the interaction of multiple mechanisms has made KP resistant to carbapenems. More targeted new antibiotics are being developed, and it is believed that the worldwide problem of CRKP treatment will be solved as soon as possible in the near future.

In described case with 11 patients with blood-born CR-KP antibiotic treatment plan was dynamically adjusted according to the drug sensitivity results of the laboratory, and the tigecycline-based combination of different antibiotics was used. Nevertheless that gave little effect, and eventually all these patients died due to the aggravation of bloodstream infection and various complications.

REFERENCES

1. Tzouveleki, L. S. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clinical Microbiology Reviews*. – 2012. – Т. 25, № 4. – С. 682–707.
2. Munoz-Price, L. S. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet Infectious Diseases*. – 2013. – Т. 13, № 9. – С. 785–796.
3. Qureshi, Z. A. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2012. – Т. 56, № 4. – С. 2108–2113.
4. Giannella, M. Effect of combination therapy containing a high dose carbapenem on mortality in patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2018. – Т. 51, № 2. – С. 244–248.

ДИНАМИКА КЛЕТКИ ПАМЯТИ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-COV-2

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

**А. С. Георгиева¹, М. И. Ванслав², Е. М. Назаренко¹,
А. Е. Шатова³, Д. Б. Нижегородова^{1,2}, М. М. Зафранская^{1,2}**

**A. Georgieva¹, M. Vanslau², E. Nazarenko¹, A. Shatova³,
D. Nizheharodava^{1,2}, M. Zafranskaya^{1,2}**

¹Учреждение 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

²Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», ИПКиПКЗ БГМУ, аг. Лесной, Республика Беларусь

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

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

²*Institute of Advanced Training and Retraining of healthcare personnel of the educational institution “Belarusian State Medical University”, IPKBSMU,
Lesnoy ag., Republic of Belarus*

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

Вакцинирование считается эффективным методом предотвращения и контроля распространения инфекционных 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 добровольцев. Установлено увеличение наивных В клеток-памяти, плазмобластов с тенденцией к увеличению тер-

минально дифференцированных Т-клеток-памяти через 9-12 мес. после полной вакцинации, сохраняющиеся 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 обеспокоенность, 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 внутривенное 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 родственными 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⁺ отрицательной экспрессией для обнаружения клеток памяти и CD27 с положительной экспрессией; для терминально дифференцированных Т-клеток-памяти - CD45RO⁻ 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⁺CD27⁺, плазмобласты CD27^{high}CD38^{high}, наивные Т-клетки памяти CD45RO⁻CD27⁺, терминально дифференцированные Т-клетки памяти CD45RO⁻CD27⁻) в динамике после вакцинации.

Через 3 недели после введения первой дозы вакцины Vero Cell наблюдалась тенденция к повышению CD27^{high}CD38^{high} В-клеток и CD45RO⁻CD27⁺ Т-клеток. Однако наивные CD45RO⁻CD27⁺, предшественники CD45RO⁻CD27⁻, 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^{high}CD38^{high} В-клеток с уровнем значимости $p=0,032$. Так же наблюдается тенденция к повышению CD19⁺CD27⁺ В-клеток, соответственно количество CD45RO⁻CD27⁻ 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⁺CD27⁺ $p=0,043$; для CD27^{high}CD38^{high} показатель $p=0,034$).

Таблица

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

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

По данным проведённых ранее исследований [4] абсолютные количества CD19⁺IgD⁺CD27⁻ наивных В-клеток, CD19⁺IgD⁺CD27⁺ предварительно переключённых В-клеток памяти и CD19⁺IgM⁺CD38⁺⁺ плазмобластов были значимо связаны с анти-SARS-CoV-2 ответом в одномерном анализе. Однако только количество CD19⁺IgD⁺CD27⁻ 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⁺IgD⁺CD27⁻ наивных В-клеток. Таким образом, резко сокращённый пул CD19⁺IgD⁺CD27⁻ 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⁺IgD⁺CD27⁻ 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⁺CD45RA⁺(CD45RO⁻) 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⁺CD45RO⁻CD27⁻ Т-клетки эффекторного типа происходят из предшественников CD27⁺ 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- γ и TNF- α . Было высказано предположение, что эта субпопуляция CD8⁺ Т-клеток играет важную роль в противоопухолевой защите хозяина. Популяция клеток CD27⁻ является эффекторными клетками памяти, что выявлено как на транскрипционном, так и на белковом уровне. Клетки CD27⁺CD45RO⁺, 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. Mayoorn, 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^{hi}CD38^{hi} 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. Sathiakumar, 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⁻ 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. Kleinhapl, C. Enzinger, M. H. Stradner, H. T. Greinix, P. Schlenke, I. Steinmetz // *Front Immunol*. – 2021 Dec. – 7;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.