

# КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ У БОЛЬНЫХ COVID-19: МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ПАТОФИЗИОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

С.Г. Щербак<sup>1, 2</sup>, Д.А. Вологжанин<sup>1, 2</sup>, А.С. Голота<sup>2</sup>, Т.А. Камилова<sup>2</sup>, С.В. Макаренко<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> Городская больница № 40 Курортного административного района, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Пандемия COVID-19 вызвана коронавирусом SARS-CoV-2. С точки зрения того, что имеет значение для сдерживания вируса, наибольшее внимание привлекают нейтрализующие антитела к SARS-CoV-2, однако важно признать значение вирусспецифичного Т-клеточного ответа, который закладывает основу для эффективной выработки нейтрализующих антител. Большинство людей с инфекцией SARS-CoV-2 выживают и избавляются от вируса. Т-клеточные ответы развиваются рано, но относительно ослаблены при тяжелом течении заболевания, отчасти по причине лимфопении. Понимание роли различных субпопуляций Т-клеток в защите или патогенезе COVID-19 имеет решающее значение для профилактики и лечения. Профиль экспрессии различных Т-клеточных субпопуляций различается при COVID-19 различной степени тяжести и ассоциирован с величиной ответов Т-клеток и исходом заболевания. Структурные изменения генома, транскриптома и протеома SARS-CoV-2 способствуют появлению новых вариантов вируса, могут уменьшить его взаимодействие с антителами и таким образом помочь избежать нейтрализации. Существует сильная корреляция между количеством вирусспецифичных Т-клеток CD4 и титрами нейтрализующих антител IgG против SARS-CoV-2. Во время первичной вирусной инфекции наблюдается широкий разброс клеточных и гуморальных иммунных ответов, при этом пациенты с тяжелыми и продолжительными симптомами демонстрируют крайне несбалансированные клеточные и гуморальные иммунные ответы. В этом обзоре внимание уделяется генерации и клиническому значению клеточного иммунитета в защите от тяжелой острой инфекции и реинфекции, а также потенциальному участию перекрестно-реактивных Т-клеток, специфичных к сезонным коронавирусам, в ответе на SARS-CoV-2.

**Ключевые слова:** COVID-19; коронавирус SARS-CoV-2; клеточный иммунитет; иммунологическая память; нейтрализующие антитела; перекрестно-реактивный иммунитет.

**Для цитирования:** Щербак С.Г., Вологжанин Д.А., Голота А.С., Камилова Т.А., Макаренко С.В. Клеточный иммунитет у больных COVID-19: молекулярная биология, патофизиология и клиническое значение. *Клиническая практика*. 2022;13(2):66–87. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract106239>

Поступила 13.04.2022

Принята 08.06.2022

Опубликована 20.06.2022

## ВВЕДЕНИЕ

Начало каждого десятилетия XXI века отмечено вспышкой нового коронавируса. Эпидемии SARS-CoV (2002–2003 гг.) и MERS-CoV (2012 г.) характеризовались гораздо более высоким уровнем смертности по сравнению с пандемией COVID-19, возбудителем которой является коронавирус SARS-CoV-2, но были относительно ограничены в отношении масштаба эпидемии. Способность SARS-CoV-2 вызывать субклинические, бессимптомные инфекции у больших групп населения способствовала «тихому распространению» нового коронавируса и, в конечном итоге, сделала COVID-19 самой серьезной чрезвычайной ситуацией в области об-

щественного здравоохранения со времен пандемии «испанского» гриппа (1918 г.). Однако достижения в науке, особенно в эпидемиологии, вирусологии, иммунологии и вычислительной биологии, позволяют научному сообществу проводить всесторонние и высокоточные оценки для быстрой идентификации патогенов, выполнять высокопроизводительный анализ на серологическом, клеточном и молекулярном уровнях, а также разрабатывать довольно точные модели прогнозирования, связанные с эволюцией патогенов и появлением вариантов, вызывающих обеспокоенность (variants of concern, VOC) [1].

Коронавирусы — семейство оболочечных одноцепочечных вирусов с позитивно-смысловой РНК.

## CELLULAR IMMUNITY IN PATIENTS WITH COVID-19: MOLECULAR BIOLOGY, PATHOPHYSIOLOGY, AND CLINICAL IMPLICATIONS

S.G. Scherbak<sup>1, 2</sup>, D.A. Vologzhanin<sup>1, 2</sup>, A.S. Golota<sup>2</sup>, T.A. Kamilova<sup>2</sup>, S.V. Makarenko<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Saint-Petersburg City Hospital No 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russian Federation

*The COVID-19 pandemic is caused by the SARS-CoV-2 coronavirus. From the viewpoint of factors critical to contain the virus, the neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 garner most of the attention, however, it is essential to acknowledge that it is the level of the virus-specific T cell and B cell response that forms a basis for an effective neutralizing antibody response. T cell responses develop early and correlate with the protection, but they are relatively attenuated in the severe disease, in part due to lymphopenia. Understanding the role of different T cell subpopulations in the protection or the COVID-19 pathogenesis is critical to the prevention and treatment. The expression profile of different T cell subpopulations varies with the COVID-19 severity and is associated with the degree of T cell responses and the disease outcome. The structural changes in the genome, transcriptome, and proteome of SARS-CoV-2 promote the emergence of new variants of the virus and can reduce its interaction with antibodies and result in avoiding the neutralization. There is a strong correlation between the number of virus-specific CD4 T cells and neutralizing IgG antibody titers against SARS-CoV-2. During the primary viral infection, there is a wide variation in the cellular and humoral immune responses, patients with severe and prolonged symptoms showing highly imbalanced cellular and humoral immune responses. This review focuses on the generation and clinical significance of cellular immunity in the protection against severe acute infection and reinfection, as well as the potential involvement of seasonal coronavirus-specific cross-reactive T cells in response to SARS-CoV-2.*

**Keywords:** COVID-19; SARS-CoV-2 coronavirus; cellular immunity; immunological memory; neutralizing antibodies; cross-reactive immunity.

**For citation:** Scherbak SG, Vologzhanin DA, Golota AS, Kamilova TA, Makarenko SV. Cellular Immunity in Patients with COVID-19: Molecular Biology, Pathophysiology, and Clinical Implications. *Journal of Clinical Practice*. 2022;13(2):66–87. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract106239>

Submitted 13.04.2022

Revised 08.06.2022

Published 20.06.2022

Существуют 7 коронавирусов человека (human coronavirus, HCoV): высокопатогенные MERS (Middle Eastern respiratory virus), SARS-CoV, SARS-CoV-2 и четыре сезонных, «простудных», HCoV, которые воздействуют более чем на 90% взрослых. Эти вирусы демонстрируют умеренную гомологию аминокислотных последовательностей с SARS-CoV-2, особенно заметную у SARS-CoV и MERS. Гуморальный иммунитет против сезонных HCoV почти не поддерживается, часто встречается повторное заражение в течение одного года. Т-клеточные ответы против HCoV имеют относительно низкую интенсивность, их продолжительность неизвестна. Т-клеточный ответ на ближневосточный респираторный вирус MERS является, по-видимому, более сильным и стойким, чем гуморальный [2]. Ответ

В-клеток и антител на SARS-CoV исчезает в течение 4 лет, ответ Т-клеток может выявляться через 17 лет [3].

### КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ОСТРУЮ ИНФЕКЦИЮ SARS-COV-2

Клеточный иммунный ответ является важным компонентом иммунной защиты от внутриклеточных патогенов и основной детерминантой клинического исхода после заражения SARS-CoV-2. Антитела играют решающую роль в нейтрализации и элиминации вируса, но есть доказательства того, что вирус SARS-CoV-2 может распространяться при межклеточном контакте и что такое распространение устойчиво к нейтрализации антителами [4]. Это наблюдение позволяет предположить,

что Т-клеточный иммунитет может иметь важное значение для элиминации вируса.

Большинство людей с инфекцией SARS-CoV-2 выживают и избавляются от вируса. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки выявляются почти у всех инфицированных. Оценка общих вирус-специфичных Т-клеточных ответов является более сложной задачей, чем исследование гуморального иммунитета, из-за сложности изучения клеточных ответов на пептиды, представленные множественными аллелями системы HLA (human leukocyte antigens). Основной функцией, которую выполняют Т-лимфоциты, является целенаправленная эрадикация инфицированных клеток. Т-клетки также оказывают критически важную помощь В-лимфоцитам для развития патоген-специфичного гуморального иммунного ответа [1]. Во время пандемии COVID-19 разработана концепция «клеточной сенсibilизации без сероконверсии» [2]. Наличие антител против патогена считалось золотым стандартом для первичной инфекции, но у многих людей, подвергшихся воздействию SARS-CoV-2, таких как медицинские работники, развиваются вирус-специфичные клеточные реакции без вирус-специфичных антител [5]. В настоящее время появляется все больше данных, подтверждающих роль клеточного иммунитета как в предотвращении начальной инфекции, так и, что более важно, в ограничении степени тяжести заболевания. Раннее развитие ответа цитотоксических Т-клеток CD8, обычно в течение 7 дней после появления симптомов, достигающее пика через 14 дней, коррелирует с эффективным клиренсом вируса и легким течением заболевания [6] и соответствует аналогичной кинетике гуморального ответа [7]. В Т-клеточных ответах на вирус доминируют эпитопы из белков, экспрессируемых в первые 3 часа после заражения, в частности, из вирусной РНК-полимеразы [8].

### **Лимфоцитопения**

Относительное и абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов и естественных клеток-киллеров (NK CD16 CD56), а также соотношение хелперных/индукторных (CD3 CD4) и цитотоксических (CD3 CD8) Т-клеток предоставляют ценную информацию об иммунном статусе пациентов. Т-лимфоциты-хелперы секретируют интерлейкин IL-2, IL-4, интерферон типа I (IFN- $\gamma$ ) и другие цитокины и активируют макрофаги и NK. Цитотоксические Т-лимфоциты и NK являются основными эффекторными клетками. Глубокая лимфоцитопения

наблюдается в крови многих пациентов с острым COVID-19 и коррелирует с тяжелым клиническим исходом. Соотношение CD4/CD8 определено как независимый предиктор тяжести и клинических исходов заболевания у пациентов. Это привело к модели «сосуществования подавления и активации» с потерей до 80% периферических Т-клеток одновременно с интенсивной пролиферацией ~20% пула Т-клеток CD8. Вероятные механизмы, лежащие в основе лимфоцитопении, — нарушение пролиферации, апоптоз или экстравазация лимфоцитов в ткани, особенно в легкие, где повреждение ткани SARS-CoV-2 наиболее выражено. Лимфоцитопения при COVID-19 развивается быстрее, глубже и продолжительнее, чем при других вирусных инфекциях. Разрешение лимфоцитопении коррелирует с выздоровлением, но может занять несколько недель. Клеточный рецептор ACE2, используемый вирусом SARS-CoV-2 для проникновения в клетку, не экспрессируется В- или Т-лимфоцитами, следовательно лимфоцитопения при COVID-19 не связана с прямой вирусной инвазией и разрушением лимфоцитов вирусом SARS-CoV-2. Изучение субпопуляций лимфоцитов и цитокинов позволяет по-новому взглянуть на патогенез COVID-19, что помогает понять иммунную функцию пациентов и дифференцировать COVID-19 от внебольничной пневмонии [9].

У пациентов с крайне тяжелой формой COVID-19 первоначальный ответ на инфекцию SARS-CoV-2 характеризуется наиболее серьезными иммунными дисфункциями, связанными с системным воспалительным ответом и развитием измененных врожденных и адаптивных иммунных ответов. В частности, у этих пациентов кроме тяжелой лимфоцитопении, затрагивающей Т-клетки CD4 и CD8, NK и В-клетки, описаны фенотипические и функциональные изменения Т-клеток, а также повышенные концентрации в плазме как про-, так и противовоспалительных цитокинов. Эти изменения максимальны при поступлении в отделение интенсивной терапии и имеют тенденцию к нормализации со временем. Тем не менее, несмотря на наличие глубоких иммунных изменений (системное воспаление, лимфоцитопения и снижение экспрессии HLA класса II), выздоравливающие критически больные пациенты генерировали хороший ответ Т-клеток памяти против SARS-CoV-2, который сохраняется более года после выписки из стационара. В то время как уровни антител против SARS-CoV-2, по-видимому, снижаются после выздоровления,

SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки памяти сохраняются в течение более длительного времени. Измерение пролиферации Т-клеток является наиболее чувствительным методом оценки Т-клеток памяти и предложено экспертами в качестве эталонного метода наблюдения за пациентами с первичным иммунодефицитом [10].

### Цитокины

Эффективность вирус-специфичных Т-клеток в уничтожении патогенов связана с тонким балансом между противовирусными и провоспалительными свойствами. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки у людей, которые перенесли инфекцию SARS-CoV-2 без симптомов, могут проявлять непатологические, но защитные характеристики. Количественное определение в цельной крови Т-клеток, реагирующих на вирусные белки, и секреции цитокинов показало, что частота SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток одинакова у бессимптомных и симптоматических лиц, но у первых повышена продукция IFN- $\gamma$  и IL-2. Пропорциональная секреция IL-10 и провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ) наблюдается только при бессимптомной инфекции, в то время как у лиц с симптомами SARS-CoV-2-специфичные факторы вызывают непропорциональную секрецию воспалительных цитокинов. Таким образом, для бессимптомных лиц, инфицированных SARS-CoV-2, характерен не слабый, а высокофункциональный вирус-специфичный клеточный иммунный ответ [11].

Врожденный иммунный ответ — это первая линия защиты организма, которая играет ключевую роль в обнаружении вирусов и борьбе с ними. SARS-CoV-2 первоначально поражает верхние дыхательные пути, где эпителиальные клетки слизистой оболочки секретируют соединения, защищающие от патогенов, такие как муцины, дефензины, гистатины и протегрины. Если этот защитный слой нарушен, сенсоры врожденного иммунитета (pattern recognition receptor) распознают патоген, инициируя высвобождение белков врожденного иммунитета в течение нескольких часов после воздействия вируса. Как и у других коронавирусов, РНК SARS-CoV-2 обнаруживается эндосомальными рецепторами TLR2 (Toll-like receptor 2), TLR3 и TLR7 или цитозольными белками RIG-1 (retinoic acid-induced gene 1) и MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5) [12]. Обнаружение вируса запускает активацию транскрипционных факторов и секрецию провоспалительных цито-

кинов TNF- $\alpha$ , IL-1 и IL-6 моноцитами, макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками в очаге инфекции. Высвобождение этих цитокинов стимулирует NK, которые ответственны за непосредственное уничтожение инфицированных вирусом клеток посредством дегрануляции и апоптоза [13]. Противовирусные ответы усиливаются за счет индукции экспрессии IFN типа I и IFN-стимулируемых генов (interferon-stimulated gene, ISG) [12, 13].

Отсроченная и субоптимальная активация сигнального пути IFN типа I является причиной развития тяжелой формы COVID-19 с ранним началом воспаления и отсроченным адаптивным иммунным ответом [14]. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 зарегистрированы ослабленные ответы IFN типа I и повышение уровней противовирусных цитокинов, приводящее к синдрому высвобождения цитокинов или цитокиновому шторму [12]. Неэффективный ответ IFN типа I может быть результатом подавления противовирусных ответов хозяина вирусом SARS-CoV-2 и усиления его проникновения в клетку [15]. Нейтрофилы, а также моноциты, макрофаги, NK и дендритные клетки являются факторами гипервоспаления, наблюдаемого у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [16]. Резкое увеличение количества незрелых нейтрофилов сильно коррелирует с тяжестью заболевания и связано с повышенными уровнями IL-6 и IP-10 (interferon- $\gamma$ -inducible protein 10), двух ключевых участников цитокинового шторма [17].

Экстремальный характер активации Т-клеток при острой инфекции SARS-CoV-2 способствует иммунопатологии. Вирус-специфичные Т-клеточные ответы при бессимптомной инфекции характеризуются высокими уровнями IFN- $\gamma$  и IL-2, сбалансированной продукцией IL-10 и воспалительных цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ), в то время как симптоматическая форма заболевания характеризуется более поляризованной продукцией медиаторов воспаления — усиленной секрецией IL-6 и IL-1 $\beta$  и низкими уровнями IFN- $\gamma$  и IL-2 [11].

Предложены две гипотезы, объясняющие смертность, связанную с COVID-19: цитокиновый шторм, приводящий к гипервоспалительной реакции и повреждению органов, и нарушение защитного иммунитета хозяина, «иммунологический коллапс», приводящий к неконтролируемой диссеминации вируса и повреждению органов. Высокочувствительный функциональный иммуноанализ ELISpot использовали у пациентов с тяжелой формой COVID-19, пациентов с сепсисом, пациентов без

сепсиса в крайне тяжелом состоянии и здоровых добровольцев (контрольной группы) для оценки адаптивного и врожденного иммунного статуса путем количественного определения Т-клеточной продукции IFN- $\gamma$  и моноцитарной продукции TNF- $\alpha$ . Циркулирующие субпопуляции Т-клеток были значительно уменьшены у пациентов с COVID-19. Кроме того, стимулированные мононуклеарные клетки крови продуцировали менее 50% от количества IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , наблюдаемого у пациентов с сепсисом и пациентов без сепсиса в крайне тяжелом состоянии, что согласуется с выраженным нарушением функции иммунных эффекторных клеток. У 25% пациентов с COVID-19 был повышен уровень IL-6 вне связи с повышением уровня других провоспалительных цитокинов. Эти результаты подтверждают гипотезу о том, что COVID-19 подавляет функциональный адаптивный и врожденный иммунитет хозяина. Лимфопения (потеря Т-клеток CD4 и CD8, NK и В-клеток), развивающаяся у пациентов с COVID-19 в критическом состоянии, коррелирует с увеличением числа вторичных инфекций и смертностью. В настоящее время преобладающая парадигма, определяющая терапевтический подход к COVID-19, заключается в том, что пациенты умирают от последствий воспаления, опосредованного цитокиновым штормом, повреждающим легкие и другие органы. Основываясь на этой теории чрезмерного воспаления, пациентов с COVID-19 лечат препаратами, которые блокируют провоспалительные цитокины или ингибируют воспалительный сигнальный каскад. Результаты исследования K.E. Remy и соавт. [18] убедительно свидетельствуют о том, что доминирующим эндотипом COVID-19 является не гипервоспаление, а иммуносупрессия, которая проявляется глубокой и стойкой потерей Т-клеток CD4 и CD8 при сниженной чувствительности оставшихся лимфоцитов к активации Т-клеточного рецептора. Ингибирование воспалительной реакции может быть ошибочным выбором и фактически ухудшить клиническую траекторию у некоторых пациентов с COVID-19 из-за дальнейшего подавления и без того слабого защитного иммунного ответа. У большинства пациентов с COVID-19 либо не было повышения, либо было лишь незначительное повышение уровней основных провоспалительных цитокинов, включая TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , умеренное повышение уровня IL-6 в плазме, и только у 22% пациентов его концентрация превышала 1000 пг/мкл, что обычно наблюдается при бактериальном сепсисе или синдроме высвобождения

цитокинов и является свидетельством системной гипервоспалительной реакции [18].

### КОРРЕЛЯЦИЯ Т-КЛЕТОЧНЫХ ОТВЕТОВ С ФЕНОТИПАМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ COVID-19

При многих первичных вирусных инфекциях обычно требуется 7–10 дней, чтобы запустить и расширить адаптивный Т-клеточный иммунный ответ на вирус. Это совпадает с типичными сроками выздоровления или развития тяжелого заболевания у пациентов с COVID-19. Такой характер прогрессирования повышает вероятность того, что слабый Т-клеточный ответ способствует сохранению вируса SARS-CoV-2 и смертности от COVID-19, тогда как сильный Т-клеточный ответ является защитным у большинства людей [19]. Большинство Т-клеток в организме присутствуют в качестве резидентных клеток памяти в тканях, и развитие вирус-специфичных пулов памяти в дыхательных путях имеет важное значение для защиты от повторного заражения. Количество резидентных SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток памяти, в легких коррелирует с клинической защитой, их можно обнаружить в течение как минимум 10 мес после заражения [11].

У пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, наблюдается преходящее (продолжающееся 2–3 нед после появления симптомов) снижение доли циркулирующих Т-клеток [20]. В частности, отмечено заметное истощение Т-клеток эффекторной памяти (effector memory T cells, Tem) CD4 линий Th1 и Th17, субпопуляций Tem CD8 и Т-клеток V $\gamma$ 9V $\delta$ 2, а также относительное сохранение Th2-клеток, регуляторных Т-клеток (Treg) и Т-клеток V $\delta$ 1 $\gamma$  $\delta$  [21]. Прямым следствием этого эффекта является повышенное соотношение нейтрофилов и лимфоцитов в крови, и степень его увеличения является предиктором тяжести заболевания. Повышенное соотношение незрелых нейтрофилов к Т-клеткам CD8, а также Т-клеткам  $\gamma\delta$  является высокочувствительным и специфичным прогностическим маркером гипоксии и начала развития пневмонии [17]. Эта фаза транзитной лимфопении может отражать индуцированную активацией гибель клеток, но также может свидетельствовать о выходе Т-клеток из крови в участки тканей, где происходит активная репликация вируса, с восстановлением гомеостаза после успешного сдерживания патогена [21]. Восстановление количества циркулирующих Т-клеток характеризуется появлением Tem CD127 и Т-клеток центральной памяти CD4 (экспрессирующих CD45RO, CCR7 и L-селектин CD62L), а также тер-

минально дифференцированных Т-клеток CD8, экспрессирующих CD57 [22].

D. Mathew и колл. [20] связали высокоактивированные циркулирующие Т-клетки CD4 с тяжелым заболеванием у пациентов, госпитализированных с тяжелой формой COVID-19, в то время как сдержанный характер активации Т- и В-клеток наблюдался у госпитализированных пациентов с менее тяжелым течением заболевания, что позволяет предположить опосредованную Т-клетками иммунопатологию как компонент тяжелой формы заболевания. У лиц старше 65 лет наблюдается склонность к развитию тяжелых осложнений COVID-19, что также может быть связано, по крайней мере отчасти, с нехваткой наивных Т-клеток и нескорректированным адаптивным иммунным ответом [23, 24]. Эти наблюдения предполагают связь между «опытом» Т-клеток и связанными со старением нарушениями иммунорегуляторных механизмов, определяющих исход заболевания. Гендерные исследования показали, что мужчины с COVID-19 болеют тяжелее, чем женщины, и отличительной чертой этой разницы в течении заболевания является относительная недостаточность активированных (CD38<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>), а также терминально дифференцированных (PD-1<sup>+</sup> и TIM-3<sup>+</sup>) и IFN $\gamma$ -продуцирующих Т-клеток CD8 у взрослых мужчин с COVID-19 [25].

Анализ SARS-CoV-2-специфичного Т-клеточного ответа в ранние сроки после появления симптомов, а также через 6 и более месяцев после заражения, показал, что Т-клеточные ответы сокращаются с периодом полураспада около 3–5 мес [3, 26–28]. Объединив данные о гомологии последовательностей SARS-CoV-2 с другими человеческими CoV и современные биоинформационные подходы, A. Grifoni и соавт. [26] идентифицировали пептидные эпитопы SARS-CoV-2, которые, по прогнозам *in silico*, связываются с двенадцатью наиболее известными аллелями HLA класса IА и IВ (охватывающими 85% населения в целом), а также с несколькими аллелями HLA класса II у разных этнических групп (гаплотипы) и аллельными вариантами. Затем эти пептиды были включены в качестве стимуляторов в тесты AIM (activation-induced marker assays) и ICS (intracellular cytokine secretion assays) для индукции вирус-специфичных ответов Т-клеток CD4 и CD8. Распределение вирус-специфичного ответа Т-клеток CD4 оказалось сосредоточенным преимущественно на структурных белках (S-белок — 27%, М-белок — 21%, N-белок — 11%), в то время как ответы, направленные против неструктурных бел-

ков и ORF8, составили всего 15%. Сходные частоты были отмечены для вирус-специфичных CD8 Т-клеток на структурные S-, М- и N-белки, в то время как ответы на неструктурные белки (nsp6, ORF8 и ORF3a) составили 32% ответа Т-клеток CD8 [26]. HLA-B\*07:02-рестриктивный нуклеопротеиновый эпитоп N105-113 является наиболее иммунодоминантным эпитопом Т-клеток CD8 из известных сегодня, и его доминирование обеспечивается высокой частотой наивных предшественников и разнообразным набором клонотипов TCR $\alpha\beta$  [29]. Анализ репертуара Т-клеточных рецепторов (T-cell receptor, TCR) показал, что только высокопролиферирующие клонотипы Т-клеток, которые включали в себя SARS-CoV-2-специфичные клетки, сохранялись после заражения и были общими для субпопуляций терминально дифференцированных CD8<sup>+</sup> GZMB<sup>+</sup> и предшественников клеток памяти GZMK<sup>+</sup>. В целом, это исследование описывает развитие иммунитета против SARS-CoV-2 и идентифицирует популяцию эффекторных Т-клеток CD8 с фенотипом предшественников клеток памяти [30]. Напротив, эпитопы SARS-CoV-2, рестриктивные аллелем HLA-A\*02:01 (распространенным в европеоидной популяции), S269-277 и Orf1 ab3183-3191, вызывают относительно прохладный ответ Т-клеток CD8, в которых почти отсутствует экспрессия маркеров активации, таких как CD38, HLA-DR, PD-1 и CD71. Их фенотипические профили характерны для наивных Т-клеток (CD27<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> CD95<sup>-</sup>), стволовых Т-клеток памяти (CD27<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> CD95<sup>+</sup>) и Т-клеток центральной памяти (CD27<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup>), но не Т-клеток эффекторной памяти (CD27<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup>) [31]. Поскольку частоты аллелей HLA-B\*07:02 и HLA-A\*02:01 в человеческой популяции довольно высоки, сопоставление ответов Т-клеток CD8, рестриктивных этими аллелями, с клиническим течением COVID-19, может дать ценную информацию о SARS-CoV-2-специфичном Т-клеточном иммунитете.

Для прогнозирования аффинности связывания пептидов SARS-CoV-2 с почти 10 000 различных аллелей HLA класса I и II методом *in silico* в масштабе, соизмеримом с масштабом пандемии, идентифицированы предполагаемые эпитопы у более чем 90% населения 60 стран мира [32]. С применением масс-спектрометрии в исследовании *in vitro* комплексов пептид–HLA из клеток, инфицированных SARS-CoV-2, в разные моменты времени после заражения, идентифицированы новые пептидные эпитопы из ORF, рестриктивные антигенами

HLA класса I, которые индуцировали более сильные ответы Т-клеток CD8, чем наблюдаемые с каноническими пептидами [33]. Этот подход к скринингу эпитопов имеет преимущество беспристрастности по сравнению с традиционными методами, основанными на оценке ответов Т-клеток, рестриктированных известными супертипами аллелей HLA, которые могут недооценивать качество и количество ответов Т-клеток CD8 на SARS-CoV-2.

Определение корреляций между антиген-специфичными Т-клетками и клиническим течением заболевания дает противоречивые результаты. Например, преобладание SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток CD8, экспрессирующих гранзим-В, коррелирует со скоростью развития симптомов после заражения и ассоциировано с более тяжелым течением заболевания, а избыток функционально истощенных вирус-специфичных CD8 Т-клеток — с более легким [28, 34]. Однако С. Rydzynski-Moderbacher и соавт. [35] продемонстрировали сильную положительную связь между легкой формой заболевания и общим количеством IFN $\gamma$ -продуцирующих SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток CD8, CD4 и циркулирующих фолликулярных Т-хелперов в острой фазе инфекции. В этом исследовании также показано, что повышенные уровни хемокина CXCL10 в сыворотке крови являются информативным суррогатным маркером острой фазы воспаления, который идентифицирует субоптимальные SARS-CoV-2-специфичные ответы Т-клеток CD4 и CD8. Другие исследователи также сообщили о более высокой частоте SARS-CoV-2-специфичных полифункциональных Т-клеток CD8 у пациентов с легким течением заболевания [19]. Возможно, различия в методах анализа могут объяснить несоответствие результатов. А. Kusnadi и соавт. [34] использовали транскриптомный анализ, в то время как С. Rydzynski-Moderbacher и соавт. [35] — анализ белков. Действительно, несоответствие между уровнями мРНК и белка IL-6 описано в условиях инфекции SARS-CoV-2 [36].

### **КЛЕТКИ ПАМЯТИ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ SARS-COV-2**

Иммунологическая память является отличительной чертой адаптивного иммунитета и способствует ускоренному и усиленному иммунному ответу при повторном заражении тем же патогеном. Как правило, это В- и Т-лимфоциты памяти, которые заранее запрограммированы на выработку вирус-специфичных нейтрализующих антител и актива-

цию эффекторных клеток, что приводит к более сильному иммунному ответу в случае повторного заражения. J.M. Dan и колл. [37] идентифицировали клетки памяти как В- и Т-лимфоциты у выздоровевших от COVID-19 в период от 5 до 8 мес после заражения. Величина иммунной памяти, генерируемой в результате естественной инфекции SARS-CoV-2, может быть связана с тяжестью заболевания. Доля (частота выявления) Т-лимфоцитов памяти CD4 и CD8 выше у пациентов с COVID-19, не находившихся в больнице, тогда как доля В-лимфоцитов памяти была выше у госпитализированных пациентов [37]. Вирус-специфичные CD4 и CD8 Т-клетки памяти обнаружены соответственно у 58 и 14,5% лиц, тесно контактировавших с инфицированными пациентами, в количестве менее 4% от общего числа Т-лимфоцитов, в то время как у 71,1 и 35,6% пациентов с COVID-19 развились выраженные ответы IFN $\gamma$ -продуцирующих Т-клеток CD4 и CD8 соответственно, в количестве, превышающем 4% [38].

До 62% случаев инфекции SARS-CoV-2 протекает бессимптомно. Определение того, насколько хорошо установлен защитный иммунитет у бессимптомных пациентов с COVID-19, предоставит ценную информацию для понимания коллективного иммунитета [39]. Сопоставимые уровни SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток памяти обнаружены при бессимптомном и симптоматическом COVID-19. Для оценки способности к пролиферации и функциональности (по цитокиновому профилю) SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток памяти мононуклеарные клетки периферической крови пациентов с COVID-19, собранные в период между 48–86-м днями от начала заболевания, стимулировали *in vitro* в течение 10 дней синтетическими пептидами, предназначенными для таргетирования вирусных белков S (spike protein), M (membrane glycoprotein), NP (nucleocapsid protein), гликопротеина оболочки E (envelope protein) и РНК-зависимой РНК-полимеразы RdRp, кодируемой геномной областью ORF1ab вируса SARS-CoV-2. После стимуляции пептидами вируса SARS-CoV-2 в 35,2 и 50,7% образцов мононуклеаров периферической крови пациентов с симптоматической COVID-19 образовались SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки CD4 и CD8 соответственно; в 22 и 39% образцов от бессимптомных пациентов с COVID-19 также образовались SARS-CoV-2-специфичные Т-лимфоциты CD4 и CD8 соответственно. Продукция IFN $\gamma$  составляла  $1536 \pm 165$  и  $1182 \pm 220$  единиц MEI SARS-CoV-2-специфичными Т-клетками памяти

CD8 у бессимптомных и симптоматических пациентов соответственно; клетками CD4 —  $636 \pm 56$  и  $579 \pm 102$  единиц MEI у бессимптомных и симптоматических пациентов соответственно. Пролиферировали в ответ на пептидную стимуляцию 89% Т-клеток CD8 от пациентов с симптомами и 72% Т-клеток CD8 от бессимптомных пациентов, 97% Т-клеток CD4 от пациентов с симптомами и 83% Т-клеток CD4 от бессимптомных пациентов. Таким образом, у бессимптомных пациентов способность к пролиферации SARS-CoV-2-специфичного Т-клеточного иммунитета несколько снижена ( $p < 0,0001$ ). В интервале между 48-м и 86-м днями от начала заболевания количество Т-клеток памяти CD4 и CD8 не изменялось. Возможно, ко времени сбора образцов оно сократилось до стабильного плато. Кроме того, не было разницы между пациентами с тяжелым течением COVID-19 и COVID-19 средней степени тяжести в отношении доли SARS-CoV-2-специфичных IFN $\gamma$ -продуцирующих Т-лимфоцитов CD4 и CD8, размноженных *in vitro* [38]. А. Grifoni и соавт. [26] подтвердили, что SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки CD4 и CD8 обнаружены соответственно у 100 и 70% выздоравливающих пациентов с COVID-19.

Интересно, что ранее существовавшие Т-лимфоциты памяти CD4 и CD8, потенциально эффективные против SARS-CoV-2, обнаружены у людей без истории инфекции COVID-19 или вакцинации [40]. Лица, находившиеся в тесном контакте с больными, часто являются отрицательными как по ПЦР-тесту, так и по антителам, что указывает на то, что SARS-CoV-2 не смог успешно заразить этих людей. Однако анализ их образцов показал наличие SARS-CoV-2-специфичного Т-клеточного иммунитета. Эти реактивные Т-лимфоциты могли возникнуть в результате предыдущего воздействия «простудных» коронавирусов [41]. В экспериментах *in vitro* доказано, что перекрестно-реактивные Т-клетки, образованные в результате воздействия других коронавирусов человека, действительно существуют, но их частота значительно ниже частоты Т-клеток, наблюдаемой у лиц, тесно контактировавших с инфицированными людьми (контактеров). У значительной части пациентов с COVID-19 обнаружены вирус-специфичные Т-клетки (35% CD4 и 44% CD8) через 48–86 дней от начала болезни. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки обнаружены также у лиц, тесно контактировавших с пациентами (16% CD4 и 26% CD8), но в меньшем количестве, чем у пациентов. Авторы провели аналогичную

оценку пролиферативного потенциала перекрестно-реактивных Т-клеток, специфичных к распространенным «простудным коронавирусам», собранных до сентября 2019 г. После 10-дневного культивирования только 3,3 и 6,7% образцов здоровых доноров, не подвергавшихся воздействию, содержали перекрестно-реактивные Т-клетки памяти CD4 и CD8 соответственно. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки памяти CD8 из 14,5% образцов, полученных от контактеров, и 83,3% образцов, полученных от пациентов с COVID-19, пролиферировали *in vitro* после пептидной стимуляции. Эти результаты ясно показывают, что у многих выздоровевших от COVID-19 сформировались эффективные пулы Т-клеток памяти против SARS-CoV-2 и что воздействие SARS-CoV-2 может способствовать установлению иммунной Т-клеточной памяти не только у пациентов с COVID-19, но и у некоторых контактеров даже при отсутствии заражения. Между пациентами с COVID-19 и близкими контактерами наблюдались достоверные различия в доле двойных (IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ )-продуцирующих Т-клеток CD4 и Т-клеток CD8 от общего числа Т-лимфоцитов. Количество клеток CD4 (но не CD8), продуцирующих оба цитокина, было значительно больше при тесном контакте с пациентами, чем у других здоровых людей. Пептиды SARS-CoV-2 индуцируют более высокие уровни продукции IFN- $\gamma$  в Т-клетках CD4 и CD8 у пациентов с COVID-19, чем у близких контактеров [38].

При сравнении Т-клеток памяти после выздоровления от COVID-19 с легким и тяжелым течением заболевания оказалось, что широта (по числу пептидных пулов) и величина Т-клеточного ответа значительно больше в тяжелых случаях по сравнению с легкими. Общие и S-специфичные ответы Т-клеток коррелировали с S-специфичными ответами антител. Авторы идентифицировали 41 пептид, содержащий эпитопы CD4 и/или CD8. Среди пептидов, содержащих Т-клеточные эпитопы, шесть иммунодоминантных групп эпитопов часто становились мишенями для Т-клеток у многих доноров, в том числе три — в S-белке, два — в мембранном белке и один в нуклеопротеине. Функции SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток оценивали *ex vivo* по профилю продукции цитокинов. Значительно более сильные Т-клеточные ответы наблюдались у тех, кто перенес тяжелое заболевание. В легких случаях доля S-, M- и NP-специфичных Т-клеток CD8 была больше, чем CD4, с более высокой частотой продукции цитокинов (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2)



этим Т-клетками. При этом M/NP-специфичные Т-клетки CD8 демонстрируют более широкую функциональность, чем Т-клетки, нацеленные на S-белок, у тех, кто перенес заболевание легко, но не у тех, кто болел тяжело. Более широкие (по числу мишеней) и сильные Т-клеточные ответы SARS-CoV-2 у пациентов с тяжелым течением заболевания могут быть результатом более высокой вирусной нагрузки или плохо функционирующего раннего Т-клеточного иммунитета. Альтернативная возможность состоит в том, что чрезмерный Т-клеточный ответ способствовал большей тяжести заболевания [19].

### **ФЕНОТИП И ФУНКЦИЯ SARS-COV-2-СПЕЦИФИЧНЫХ Т-КЛЕТОК**

#### **Анализ маркеров, индуцированных активацией и IFN-γ**

Высокие уровни вирусной нагрузки в тканях могут вызывать их иммунное повреждение. Остается недостаточно определенной роль Т-клеток памяти в месте заражения, которые, вероятно, обеспечивают наиболее мощную защиту, как это наблюдается при инфекции вируса гриппа. Возможно, иерархия иммунодоминантных пулов циркулирующих Т-клеток памяти в крови не отражает иерархию Т-клеток памяти в легких. Следовательно, понимание особенностей резидентных Т-клеток памяти в тканях и их связи с тяжестью заболевания имеет большое значение и заслуживает дальнейшего изучения. SARS-CoV-2-специфичные субпопуляции Т-клеток памяти могут быть идентифицированы не только в легких и легочных лимфатических узлах, но и в костном мозге, селезенке и лимфоузлах кишечника, в течение как минимум шести месяцев после заражения. Т-клетки CD4 присутствуют в этих тканях в основном как эффекторные Т-клетки памяти (T<sub>em</sub>). В пуле Т-клеток CD8 преобладают субпопуляции T<sub>em</sub> и T<sub>em</sub>RA (T<sub>em</sub> CD45RA<sup>+</sup>), а канонические резидентные Т-клетки памяти CD4 и CD8, коэкспрессирующие CD69 и CD103, в основном наблюдались в легких [42]. В дыхательных путях молодых пациентов и пациентов с более благоприятным течением заболевания находится большее количество активированных резидентных Т-клеток, которые коэкспрессируют CD69, CD103, PD-1 и HLA-DR. Связь между реактивными резидентными Т-клетками дыхательных путей и течением заболевания является более убедительным показателем тяжести заболевания, чем стандартные оценки, такие как оценка органной недостаточности по шкале SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) и отношение

PaO<sub>2</sub>:FiO<sub>2</sub>, которые используются для стратификации клинического статуса пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом [43]. В легких пациентов с тяжелым течением COVID-19 могут выявляться клонально размноженные клетки Th17, которые продуцируют большое количество IL-17A и ГМ-КСФ (гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор), что делает возможным терапевтическое вмешательство, блокирующее сигнал ГМ-КСФ путем введения моноклональных антител против рецептора ГМ-КСФ, таких как маврилимумаб или лензилумаб [44].

Эффективный контроль вирусной инфекции связан с фенотипом Т-хелперов CD4 типа 1 (Th1), тогда как у пациентов с тяжелым течением инфекции часто наблюдается профиль Th2. Высокий уровень экспрессии эффекторных молекул Т-клетками CD8 при остром течении COVID-19 связан с улучшением клинического исхода. Однако чрезмерно высокие уровни активации Т-клеток ассоциированы с плохим исходом [20]. Экспрессия маркеров потенциального истощения, таких как PD-1 и TIM-3, связана с прогрессированием заболевания, хотя она не обязательно отражает функциональное истощение, а скорее, постоянную активацию, так как среди Т-клеток PD-1<sup>+</sup> доля клеток, продуцирующих IFN-γ, выше, чем среди клеток PD-1<sup>-</sup> [45].

Оценка иммунных ответов Т-клеток с использованием пептидных пулов, охватывающих весь вирусный протеом, позволила идентифицировать ответы Т-клеток почти на все вирусные белки. Величина ответов Т-клеток CD4 и CD8 сильно коррелирует с уровнем экспрессии белкового продукта почти каждого гена, хотя некоторые из них, например, nsp12, индуцируют слабые ответы Т-клеток CD8. Это, вероятно, отражает дифференциальные механизмы презентации антигена [46]. S-специфичные Т-клеточные ответы CD4 являются преобладающими и поддерживают образование нейтрализующих вирус антител, при этом фолликулярные Т-хелперы коррелируют с гуморальным иммунитетом в фазе памяти [47].

Геном SARS-CoV-2 кодирует множество распознаваемых Т-клетками эпитопов. Большинство исследований было сосредоточено на ответах Т-клеток на структурные белки S, M и NP, но многие другие области вирусного генома, такие как ORF3, nsp3, nsp4 и nsp12, тоже кодируют важные эпитопы. К настоящему времени идентифицировано более 1400 потенциальных эпитопов [26]. Появляются геномные области иммунодоминантности,

как и определенные пептидные эпитопы, которые обычно являются общими у доноров, в том числе в пределах рецептор-связывающего домена (receptor binding domain, RBD) S-белка. Это позволяет выбрать клоны Т-клеток с наиболее желаемыми свойствами и генерировать антиген-специфичные трансгенные Т-клетки [48]. Кроме того, иммунодоминантные пептиды могут быть получены из последовательностей с открытой рамкой считывания, которые не захватываются современными схемами вакцинации [33, 49].

Транскриптомное и протеомное профилирование раннего иммунного ответа у пациентов с легкой или средней тяжести формой COVID-19 выявило последовательную активацию интерферонового сигналинга, Т- и В-клеток в течение 2 нед после появления симптомов и связь ранних иммунных профилей с клиническими, вирусологическими и иммунологическими исходами. В частности, ранние сигнатуры IFN типа I и уровни белка противовирусного врожденного иммунитета RIG-I (ген *DDX58*) в плазме, а также повышенные уровни индуцированных интерфероном хемокинов (*CXCL10*, *CXCL11*, *MCP1*, *MCP2* и *MCP3*) ассоциированы с исходами заболевания, включая прогрессирование заболевания, вирусную нагрузку в ротоглотке и SARS-CoV-2-специфичный ответ Т-клеток и антител, который измеряли в течение 7 мес после включения пациента в исследование. Это предполагает сложную нелинейную зависимость между IFN и тяжестью заболевания [50]. Внутриклеточный РНК-сенсор RIG-I имеет ключевое значение в ответе на инфекцию РНК-вирусов, индуцированный активацией IFN типа I и III. Взаимодействие между геликазным доменом RIG-I и РНК SARS-CoV-2 ингибирует репликацию вируса в легких человека [51]. Высокая экспрессия лигандов моноцитарно-макрофагального хемотаксического рецептора CCR2 — MCP1, MCP2 и MCP3 — ассоциирована с прогрессированием заболевания, а высокая экспрессия самого рецептора CCR2 — с тяжелым течением COVID-19 [52]. Хотя эти факторы необходимы для эффективного иммунного ответа, их избыточная экспрессия может привести к тяжелым симптомам и повреждению тканей. Терапевтические стратегии, позволяющие сбалансировать положительные и отрицательные эффекты передачи сигналов рецептором CCR2, могут принести пользу при лечении пациентов с COVID-19 [50].

**Фенотип SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток памяти.** С начала пандемии COVID-19 ключевой

вопрос сосредоточен на том, какие SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки, стимулированные во время острой инфекции, дают долгоживущие Т-клетки памяти. S. Adamo и соавт. [53] исследовали SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки CD8 в течение года после выздоровления от острой инфекции и обнаружили отчетливую сигнатуру, идентифицирующую долгоживущие циркулирующие эффекторные Т-клетки памяти CD8, которые экспрессируют CD45RA, IL7RA (interleukin-7 receptor alpha) и TCF1 (T cell factor 1, фактор дифференцировки естественных клеток-киллеров) и сохраняют низкую экспрессию CCR7. Отслеживая отдельные клоны SARS-CoV-2-специфичных CD8 Т-клеток, авторы установили, что интерфероновая сигнатура маркирует клоны, дающие начало долгоживущим клеткам, тогда как сигналинг через протеинкиназу mTOR (mechanistic target of rapamycin, регулятор дифференцировки короткоживущих Т-клеток CD8) связан с исчезновением клонов из крови [53]. Ответы Т-клеток памяти сохраняются в течение первых 12 мес после устранения инфекции популяциями Т-клеток CD8 (IFN- $\gamma^+$ ) и CD4 (IL-2<sup>+</sup> IFN- $\gamma^+$  или IL-2<sup>+</sup> IFN- $\gamma^-$ ), которые нацелены по меньшей мере на 17 и 19 эпитопов соответственно [2]. Это дает уверенность в том, что отдельные точечные мутации вируса вряд ли позволят ему уклониться от распознавания Т-клетками.

Транскриптомный анализ одиночных Т-лимфоцитов через 4 нед после заражения показывает сильно увеличенные популяции цитотоксических Т-клеток CD8 и CD4 с высокой экспрессией маркеров цитотоксичности (CD8: перфорин PRF1, гранзим-Н GZMH, гранулизин GNLY; CD4: гранзим-А GZMA). Повышенная продукция цитотоксических факторов перфорина и гранзима-В наблюдается только у пациентов с тяжелым течением заболевания наряду с экспрессией маркеров истощения, таких как PD-1 [54]. Это может указывать на гиперактивацию и/или функциональное истощение. Сильный ответ CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов также был связан с эффективной эрадикацией SARS-CoV-2 за счет активации других клеток иммунной системы [55].

Ответы Т-клеток CD4 в равной степени нацелены на несколько белков SARS-CoV-2, тогда как ответы Т-клеток CD8 преимущественно нацелены на вирусный нуклеопротеин, что подчеркивает важность его включения в будущие вакцины. Продольный анализ выявил снижение и стабильный ответ антител, специфичных к S-белку и нуклеокапсиду, соответственно. Напротив, функциональные отве-

ты Т-клеток оставались устойчивыми и даже увеличивались как по частоте, так и по интенсивности [56]. Надежный клеточный иммунитет сохраняется в течение 6 месяцев и более [56–58].

Реакции клеточной иммунной памяти после COVID-19 трудно точно оценить из-за возможного наличия Т-клеток памяти, образовавшихся в результате предыдущего воздействия эндемичных коронавирусов. Для изучения корреляции между симптоматикой и клеточным иммунным ответом проведено крупномасштабное долгосрочное исследование сероконверсии на основе пептидного пула, специфичного только для коронавируса SARS-CoV-2 и не перекрывающегося с пептидами эндемичных коронавирусов. Эта работа демонстрирует, что долговременные ответы SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток памяти характеризуются секрецией IFN- $\gamma$  и IL-2, тогда как перекрестно-реактивные Т-клетки памяти в первую очередь генерируют IFN- $\gamma$  в ответ на SARS-CoV-2. Тяжесть заболевания, а также специфические симптомы COVID-19 коррелировали с величиной SARS-CoV-2-специфичного Т-клеточного ответа памяти через 4–5 мес после сероконверсии [59].

#### **Перекрестное распознавание Т-клетками других коронавирусов человека**

У здоровых доноров, не подвергшихся воздействию SARS-CoV-2, идентифицированы Т-клетки, которые реагируют на пептиды SARS-CoV-2 в тестах AIM и ICS [3, 26–28, 40], что предполагает возможность ранее существовавшей перекрестно-реактивной иммунной памяти на сезонные коронавирусы. Это не неожиданно, учитывая, что некоторые штаммы HCoV (HKU1, OC43, 229E и NL63) являются эндемичными для человеческой популяции, вызывают около 20% инфекций верхних дыхательных путей и, вероятно, индуцируют и поддерживают ответы Т- и В-клеток памяти. Перекрестно-реактивные ответы Т-клеток CD4 на S-белок SARS-CoV-2 обычно сосредоточены на эпитопах, локализованных на С-конце белка, из-за большей гомологии последовательности с S-белком эндемичного коронавируса [40]. Почти половина здоровых субъектов, не подвергавшихся воздействию вируса SARS-CoV-2, демонстрировали ответы Т-клеток CD4 на широкий спектр пептидов SARS-CoV-2. Перекрестно-реактивные ответы Т-клеток CD8 обнаружены только у 20% здоровых лиц, не подвергшихся воздействию SARS-CoV-2 субъектов, и были менее заметными [26].

N. Le Bert и соавт. [3] обнаружили длительный Т-клеточный иммунитет к нуклеопротеину (N) коронавируса SARS у тех, кто был инфицирован в 2003 г. Эти перекрестно реагирующие с пептидами N-белка вируса SARS-CoV-2 Т-клетки и Т-клетки, перекрестно реагирующие с неструктурными белками 13 других коронавирусов, также присутствовали у людей, не инфицированных каким-либо из HCoV. Кроме того, авторы изучили реакции Т-клеток на N-белок и неструктурные белки (nsp7 и nsp13) вируса SARS-CoV-2 у лиц, выздоравливающих от COVID-19. У всех этих пациентов обнаружены Т-клетки CD4 и CD8, которые распознают несколько областей N-белка. Т-клетки долговременной памяти выздоровевших пациентов, которые реагируют на N-белок SARS-CoV через 17 лет после вспышки атипичной пневмонии (инфекции SARS-CoV), продемонстрировали сильную перекрестную реактивность с N-белком вируса SARS-CoV-2. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки обнаружены также у здоровых доноров без указаний на перенесенные атипичную пневмонию и COVID-19 или контакт с заболевшими этими инфекциями в анамнезе. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки у неинфицированных доноров проявляли другой характер иммунодоминантности и часто были нацелены не только на N-белок, но и на nsp7 и nsp13. Эпитопная характеристика nsp7-специфичных Т-клеток у этих доноров показала низкую гомологию с сезонными коронавирусами человека, но при этом обнаружилось распознавание консервативных белковых фрагментов бета-коронавирусов животных [3].

Популяция Т-клеток, праймированных эпитопами сезонных коронавирусов, перекрестно реагирует с SARS-CoV-2 и может способствовать клинической защите, особенно в раннем возрасте. Вирусы HCoV демонстрируют умеренную гомологию аминокислотных последовательностей с SARS-CoV-2, особенно заметную у SARS-CoV и MERS. Поэтому некоторые Т-клеточные эпитопы являются общими для HCoV, и эта перекрестная реактивность может иметь важное клиническое значение [3].

Обладатели HCoV-специфичных Т-клеток могут быть подготовлены к более высокому защитному клеточному иммунитету после воздействия SARS-CoV-2, а недавнее инфицирование HCoV, по видимому, связано с лучшим клиническим исходом после заражения SARS-CoV-2 [60]. Эта идея подтверждается наблюдением, что HCoV-специфичные Т-клетки отсутствуют в репертуаре Т-клеток у пожилых людей, которые, как известно, подвержены

высокому риску тяжелого течения COVID-19. Следовательно, ранее существовавший HCoV-специфичный Т-клеточный репертуар может быть включен в иммунный ответ против SARS-CoV-2 [56]. Действительно, наиболее иммунодоминантным CD8Т-клеточным ответом является ответ на пептид N105-113 нуклеокапсидного белка, рестриктированный антигеном HLA-B\*07:02, из-за более высокой частоты Т-клеток, способных распознавать N105-113, в репертуаре наивных Т-клеток, чем среди клеток, праймированных HCoV [29]. Ответы Т-клеток CD8 на эпитоп N105-113 коррелируют с защитой от тяжелого течения COVID-19 [61]. Примечательно, что у детей и молодых людей наблюдается более высокий уровень перекрестной реактивности антител между HCoV и SARS-CoV-2, возможно, в результате недавнего инфицирования HCoV, а антитела, которые могут нейтрализовать SARS-CoV-2, обнаруживаются у некоторых детей до любого контакта с SARS-CoV-2 [62]. Влияние возраста на перекрестно-реактивный адаптивный иммунитет может быть связано с сильной иммунной активацией при первичных инфекциях HCoV у детей.

В свете изложенного важной областью будущих исследований является картирование существовавшего до COVID-19 репертуара перекрестно-реактивных Т-клеток и оценка того, в какой степени они включены в общий SARS-CoV-2-специфичный иммунный ответ после инфекции или вакцинации.

### ВАРИАНТЫ SARS-COV-2

За последние 18 мес в геноме SARS-CoV-2 обнаружен широкий спектр мутаций, многие из которых привели к развитию вариантов с новыми свойствами. Вирусные варианты возникают в результате мутаций в вирусном геноме во время репликации [63]. Однако скорость, с которой эти нуклеотидные замены происходят в геноме SARS-CoV-2, значительно ниже, чем у других РНК-вирусов, поскольку его неструктурный белок nsp14 обладает «корректорской» экзорибонуклеазной активностью [64]. Благоприятные для вируса геномные изменения в отношении точности репликации, скорости трансмиссии и уклонения от иммунитета будут увеличиваться в популяции благодаря естественному отбору. Различные варианты лечения (реконвалесцентная плазма, моноклональные антитела и вакцины) способствуют сохранению этих вариантов. Если вариант явно изменил фенотип (вирулентность и трансмиссивность) вируса, его называют штаммом [63, 64].

Всемирная организация здравоохранения классифицирует варианты SARS-CoV-2 на два типа: варианты, вызывающие обеспокоенность (variants of concern, VOC) по причине их способности к усиленной трансмиссии или уклонению от иммунного ответа, и варианты, представляющие интерес (variants of interest, VOI). Несколько VOC выделились из исходного штамма дикого типа, изолированного в Ухане в декабре 2019 г. VOC обладают повышенной трансмиссивностью, повышенной вирулентностью, устойчивостью к вакцинам и способностью ускользать от иммунного надзора и диагностического обнаружения [65]. Мутации VOC часто локализованы в пределах RBD S-белка, который является мишенью для многих нейтрализующих антител [66]. Следовательно, нейтрализация вирусных VOC антителами может быть серьезно нарушена.

Аминокислотная замена D614G (замена аспарагина в позиции 614 на глицин), возникшая в результате мутации 1841A>G в гене S-белка еще во время первой волны пандемии, была одной из самых ранних обнаруженных модификаций и быстро стала доминирующей во всем мире. Хотя варианты с этой аминокислотной заменой более заразны, нейтрализация реконвалесцентной сывороткой была эффективной [67]. Вариант Alpha (B.1.1.7) впервые обнаружен в сентябре 2020 г. и вскоре стал преобладающим штаммом в Великобритании. Появление варианта Beta (B.1.351) в октябре 2020 г. в Южной Африке привело ко второй волне пандемии. Вариант Gamma (P.1/501y.V3) был обнаружен в январе 2021 г. и стал причиной повторного всплеска инфекции в Бразилии, несмотря на большое число ранее инфицированных. Вариант Delta (B.1.617.2), обнаруженный в декабре 2020 г., стал причиной резкого роста числа случаев, вызвавшего вторую волну пандемии в Индии и США. Вариант Omicron (B.1.1.529), обозначенный ВОЗ как VOC, обнаружен в ноябре 2021 г. лабораториями геномного надзора мирового уровня в Южной Африке и быстро распространился в большинстве стран мира. Появление этих вариантов вызывает обеспокоенность, поскольку они влияют на вирулентность вируса, а также на частоту заражения, в том числе повторного, избегая естественного и индуцированного вакцинами иммунитета, поскольку они содержат геномные изменения, которые повышают их приспособленность, по сравнению с ранее циркулировавшими штаммами. S-белок SARS-CoV-2 состоит из двух субъединиц, S1 и S2. N-концевая субъединица S1 содержит видоспецифичный RBD, в котором об-

наруживается большинство аминокислотных замен, наблюдаемых в циркулирующих вариантах. Сообщалось о многих VOI, которые, по прогнозам, влияют на трансмиссивность, вирулентность и естественно приобретенный или вакцинный иммунитет. К VOI относятся следующие штаммы: Epsilon (B.1.427/B.1.429), идентифицированный в Калифорнии, Zeta (P.2) — в Бразилии, Eta (B.1.525) — в Нигерии и Великобритании, Theta (P.3) — на Филиппинах, Iota (B.1.526/B.1.526.1) — в Нью-Йорке, Kappa (B.1.617) и Delta Plus (B.1.617.2.1) — в Индии, Lambda (C.37) — в Перу, Mu (B.1.621) — в Колумбии. Каждый VOC SARS-CoV-2 демонстрирует новые изменения. Четыре основные аминокислотные замены в RBD: замена N501Y в сайте связывания ACE2 является общей для штаммов Alpha, Beta, Gamma и Omicron; замены E484K/Q/A и K417T/N присутствуют у штаммов Beta, Gamma и Omicron; замена L452R уникальна для штамма Delta. VOC Omicron имеет от 26 до 32 аминокислотных замен в S-белке, в том числе несколько общих замен с вариантами Beta и Delta [16]. Риск тяжелых исходов после заражения штаммом Omicron значительно ниже, чем штаммом Delta. Предыдущая инфекция SARS-CoV-2 обеспечивает некоторую защиту от госпитализации и высокую степень защиты от смерти невакцинированных лиц и дополнительную защиту вакцинированных лиц (но только в отношении смертности) [68].

Анализ эпидемиологических данных о реконвалесцентах выявил повышенную способность варианта Omicron уклоняться от иммунитета [69]. Расчетные прогнозы показали, что структурные изменения могут уменьшить его взаимодействие с антителами, но не помогают полностью избежать нейтрализации [70]. Появление высокоинфекционного варианта Omicron значительно увеличило распространенность прорывной инфекции (заражения после вакцинации), но подавляющее большинство Т-клеточных ответов против Omicron сохраняется и, вероятно, способствует ослаблению клинической тяжести [2].

Изучение способности Т-клеточного иммунитета, индуцированного различными вакцинами (мРНК-1273, BNT162b2, Ad26.COV2.S и NVX-CoV2373), перекрестно распознавать ранние варианты SARS-CoV-2 проведено методом AIM с внутриклеточным окрашиванием цитокинов. Ответы Т-клеток на ранние варианты Alpha, Beta и Gamma сохранялись после всех вакцин. В то же время наблюдалось значительное уменьшение количества В-клеток памяти и нейтрализующих антител. Через 6 мес по-

сле вакцинации ответы Т-клеток памяти CD4 были сохранены на 90% и CD8 на 87% против вариантов Alpha, Beta и Gamma, а против штамма Omicron несколько ниже — CD4 на 84% и CD8 на 85%. Распознавание В-клетками памяти RBD штамма Omicron снижено до 42% по сравнению с другими вариантами. Анализ репертуара Т-клеточных эпитопов определил медиану из 11 и 10 эпитопов из S-белка Omicron, распознаваемых Т-клетками CD4 и CD8, соответственно, с функциональной сохранностью >80%. Влияние эпитопов Omicron на связывание молекулами HLA не отличалось от других вариантов. Эксперименты по идентификации эпитопов показали, что Т-клеточные ответы CD4 и CD8 у вакцинированных доноров были широкими (по числу эпитопов) и в большинстве случаев — на полностью консервативные эпитопы. Эти данные объясняют ограниченное влияние мутаций на ответы Т-клеток на уровне популяции и опровергают модель, согласно которой мутации, накопленные в штамме Omicron, могут быть результатом давления Т-клеточного иммунитета на популяционном уровне [71].

Потенциальная важность вирусной мутации в уклонении от контроля Т-клеток является предметом серьезных дискуссий. Единичные точечные мутации действительно могут отменить функциональные ответы отдельных клонов Т-клеток, но маловероятно, что они полностью отменяют иммунный контроль [72]. Мутации S-белка могут привести к потере распознавания Т-клетками эпитопов, рестриктированных распространенными аллелями HLA, такими как A\*03:01, A\*11:01 и A\*01:01 [73]. Распознавание Т-клетками варианта Omicron также, по-видимому, является в целом перекрестно-реактивным, хотя большое количество мутаций в S-белке инактивирует презентацию или распознавание некоторых эпитопов. В настоящее время потенциальные механизмы, с помощью которых белки или РНК вируса могут непосредственно подавлять презентацию антигена, неясны, известно лишь, что ORF8 может подавлять экспрессию белков HLA класса I [74]. Напротив, иммунодоминантный эпитоп N105–113 является консервативным и присутствует в вариантах Delta и Omicron [61].

Т-клеточные ответы развиваются рано и коррелируют с защитой, но относительно ослаблены при тяжелом течении заболевания, отчасти по причине лимфопении. Т-клеточная память включает в себя распознавание около 30 эпитопов у каждого человека. Такая широта распознавания может ограничивать воздействие вирусных мутаций и, вероятно,

лежит в основе защиты от тяжелых заболеваний, вызванных вариантами вируса, включая Omicron. Существующие вакцины против SARS-CoV-2 вызывают устойчивый Т-клеточный ответ, способствующий сильной защите от госпитализации или смерти, а новые или гетерологичные схемы терапии имеют потенциал дальнейшего усиления клеточного ответа. Действительно, сравнение ответов SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток CD4 и CD8 на варианты B.1.1.7, B.1.351, P.1 и CAL.20C у реконвалесцентов COVID-19 и у реципиентов вакцины Moderna (мРНК-1273) или Pfizer/BioNTech (BNT162b2) показало, что реактивность против вариантов SARS-CoV-2 аналогична по величине и частоте ответа, то есть проанализированные варианты SARS-CoV-2 почти не нарушают общую реактивность Т-клеток на SARS-CoV-2 [75]. Аналогичные результаты получены L. Guo и колл. [76]. Авторы проанализировали ответы Т-клеток памяти у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19. Ответы Т-клеток памяти на исходный штамм не нарушались новыми вариантами. Это исследование предполагает, что перекрестно-реактивные SARS-CoV-2-специфичные Т-клеточные ответы особенно важны для защиты от тяжелого заболевания, вызванного новыми штаммами VOC, тогда как ответы нейтрализующих антител, по-видимому, со временем снижаются [76].

### **СВЯЗЬ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА SARS-COV-2**

Адаптивный иммунный ответ является вторым звеном иммунной системы хозяина, которое имеет решающее значение для элиминации вируса. Для праймирования и стимуляции клеточных и гуморальных эффекторных клеток необходимы компоненты врожденной иммунной системы. Реакции интерферонов типа I, продуцируемых Т-лимфоцитами, индуцируют созревание дендритных клеток, моноцитов и макрофагов в антигенпрезентирующие клетки, которые представляют вирусные иммуногенные пептиды в комплексе с молекулами HLA класса II [54]. NK-клетки взаимодействуют с дендритными клетками и участвуют в антигенной презентации [13]. Антигенпрезентирующие клетки активируют дифференцировку наивных Т-лимфоцитов CD4 и CD8, а также Treg посредством связывания TCR. Идентифицирован паттерн антигенного иммунодоминирования у выздоравливающих от COVID-19: девять вирусных белков отвечают за 83% общего ответа Т-лимфоцитов и Т-клеток CD4,

восемь вирусных белков отвечают за 81% общего ответа Т-лимфоцитов CD8 [46]. К ним относятся белки S, N и М, а также ряд неструктурных белков. Однако у пациентов с тяжелым течением COVID-19 общее количество антигенпрезентирующих клеток и NK уменьшено, что приводит к подавлению антигенпрезентирующего потенциала. Т-клеточная лимфопения, особенно истощение субпопуляции Т-лимфоцитов CD4, и повышенное отношение нейтрофилов к лимфоцитам (индикатор воспаления) коррелируют с тяжестью COVID-19. Это может быть следствием подавления вирусом ответа IFN типа I [77] и неингибируемого цитокинового ответа, приводящего к воспалительной активации врожденных эффекторных клеток, которая негативно влияет на последующую активацию Т-лимфоцитов [78]. Под влиянием фолликулярных Т-хелперов наивные В-лимфоциты пролиферируют и подвергаются соматической гипермутации, чтобы увеличить сродство продуцируемых ими антител в лимфоидном микроокружении зародышевого центра. Субоптимальная дифференцировка фолликулярных Т-хелперов приводит к заметному уменьшению количества зародышевых В-лимфоцитов в лимфатических узлах и селезенке во время острой инфекции COVID-19 [79]. Таким образом, нарушение синергизма между врожденной и адаптивной иммунной системой может привести к худшему исходу [16].

Гуморальный иммунный ответ является основной функцией В-лимфоцитов. Анализ SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток и их роли в прогрессировании заболевания показал, что существует сильная корреляция между количеством вирус-специфичных Т-клеток CD4 и титрами нейтрализующих антител IgG против RBD S-белка SARS-CoV-2 [80]. Во время первичной вирусной инфекции наблюдается широкий разброс клеточных и гуморальных иммунных ответов, при этом некоторые пациенты демонстрируют сбалансированный SARS-CoV-2-специфичный В-клеточный и Т-клеточный иммунитет, тогда как у других наблюдается либо более высокий уровень активации нейтрализующих антител, либо более сильный Т-клеточный ответ на вирус. Пациенты с тяжелыми и продолжительными симптомами демонстрируют крайне несбалансированные клеточные и гуморальные иммунные ответы, в результате чего уровни SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток или антител очень низки [38].

Неспособность HCoV-специфичных антител и клеточных реакций обеспечить стерилизующий

иммунитет вызвала опасения, что защитный иммунитет против SARS-CoV-2 будет недолговечным. Информация на текущий момент дает неоднозначную картину. Сравнение уровней Т-клеточной памяти у бессимптомных и симптоматических пациентов с COVID-19 показало, что размеры и качество их пулов Т-клеток памяти сопоставимы, однако пролиферативная способность *in vitro* Т-клеток памяти CD4 от бессимптомных пациентов значительно ниже. Поскольку величина экспансии Т-клеток памяти CD4 *in vitro* коррелирует с титрами анти-RBD и анти-N антител IgG, вероятно, продукция антител у бессимптомных лиц ниже, чем у пациентов с симптомами. Это наблюдение согласуется с выводами о быстрой элиминации антител против SARS-CoV-2 и антител IgG у бессимптомных пациентов [39]. Действительно, как показали Q.X. Long и соавт. [81], гуморальный ответ на SARS-CoV-2 относительно недолог, В-клетки памяти быстро исчезли после первичного заражения. Уровни вирус-специфических IgG у лиц, инфицированных SARS-CoV-2, снизились на 70% в течение ранней фазы выздоровления, и значительная часть людей (40% бессимптомных и 12,9% симптоматических пациентов) стали IgG-серонегативными [81]. Эти данные были уточнены в дальнейшем. В костном мозге пациентов, выздоровевших от легкой формы COVID-19, обнаружены покоящиеся долгоживущие плазматические клетки, способные постоянно продуцировать антитела, специфичные к S-белку [82]. G.E. Hartley и соавт. [83] обнаружили, что В-клетки памяти против S- или N-белков SARS-CoV-2 оставались через 8 мес после заражения. Оказалось, что В-лимфоциты памяти не распадаются через 6 мес, а эволюционируют и могут давать эффективный ответ против вируса при повторном воздействии [84]. Исследуя природу и качество В-клеток памяти через 1,3 и 6,2 мес после заражения SARS-CoV-2, C. Gaebler и колл. [84] обнаружили, что титры антител IgM и IgG против RBD S-белка SARS-CoV-2 значительно снижаются за этот период времени, а нейтрализующая активность в плазме снижается в 5 раз. Напротив, количество RBD-специфичных В-клеток памяти остается неизменным через 6,2 мес после инфицирования. О продолжающейся эволюции гуморального ответа свидетельствует то, что через 6,2 мес антитела, которые они продуцируют, имеют большую соматическую гипермутацию, устойчивость к мутациям RBD и повышенную эффективность. Авторы пришли к выводу, что ответ В-клеток памяти на SARS-CoV-2 развивается между 1,3 и 6,2 мес

после заражения в соответствии с персистенцией антигена [84].

Между гуморальным и Т-клеточным иммунитетом существует обратная связь. Активированные В-лимфоциты могут секретировать антигены и индуцировать Т-клеточный иммунитет [9]. Т-клеточный иммунитет и перекрестный гуморальный иммунитет (антитела к коронавирусам, вызывающим сезонную простуду, и другим РНК-содержащим вирусам) защищают от COVID-19. Антитела IgG, перекрестно реагирующие с субъединицей S2 белка шипа SARS-CoV-2, обнаружены у некоторых неинфицированных SARS-CoV-2 лиц. Эти антитела обладают способностью нейтрализовать SARS-CoV-2, хотя титр антител может быть недостаточным, чтобы надежно защитить от COVID-19 [85].

Связывающие и нейтрализующие антитела против SARS-CoV-2 демонстрируют увеличенный период полураспада более 200 дней, что предполагает образование долгоживущих плазматических клеток. Персистенция S-специфичных IgG-продуцирующих В-клеток памяти в течение длительного времени после выздоровления от COVID-19 является предзнаменованием быстрого гуморального ответа при повторном воздействии вируса или вакцинации [57].

#### **ФАКТОРЫ ОТВЕТА Т-ЛИМФОЦИТОВ CD8 НА ЭПИТОПЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВЛИЯТЬ НА ИММУНОДОМИНАНТНОСТЬ**

Иммунодоминантность — сложная и широко обсуждаемая тема в биологии Т-клеток. Текущая пандемия SARS-CoV-2 дала возможность профилировать адаптивные иммунные ответы и определить молекулярные факторы, способствующие возникновению ответов на иммунодоминантные вирусные эпитопы. Изучение динамики процессинга иммуногенных пептидов из белков S, M, N SARS-CoV-2, способных активировать Т-клетки CD8, позволило выяснить, как иммунодоминантный эпитоп противодействует вирусным механизмам иммунного ускользания. Один из наиболее иммунодоминантных эпитопов CD8, NP105-SPRWYFYLL-113, обнаружен в нуклеопротеине вируса SARS-CoV-2. Частота этого эпитопа ассоциирована с высокой частотой наивных Т-клеток-предшественников, которые могут распознавать этот эпитоп [29].

Эпитопы CD8 представляют собой пептиды, связанные с молекулами HLA класса I, которые могут вызывать ответ цитотоксических лимфоцитов. Несколько факторов могут влиять на то, являются

ли эти эпитопы доминантными или субдоминантными. Уровень экспрессии вирусного белка влияет на количество материала, доступного для антигенного процессинга. Во время процессинга белки расщепляются с образованием 8–11 аминокислотных пептидов. Сродство этих пептидов к молекулам HLA класса I определяет, какие комплексы пептид–HLA экспонируются на поверхности клетки. На клеточной поверхности комплексы пептид–HLA взаимодействуют с TCR T-клетки CD8 для индукции T-клеточного ответа. Фактическое разнообразие последовательностей TCR в настоящее время неизвестно, последние оценки имеют порядок величины  $>10^8$ . Это высокое разнообразие достигается за счет рекомбинации сегментов V (variable), D (diversity) и J (junction) генов TCR- $\alpha$  и TCR- $\beta$ . Во время рекомбинации случайно выбираются генные сегменты V и J (TCR- $\alpha$ ) или V, D и J (TCR- $\beta$ ) с образованием зрелого гена TCR [86]. Несмотря на большое разнообразие, каждый TCR может распознавать несколько комплексов пептид–HLA, что объясняется огромным разнообразием пептидов инфекционных агентов. Это означает, что одна T-клетка может отвечать на несколько комплексов пептид–HLA, но сила этого взаимодействия будет различаться для разных комплексов, тем самым потенциально генерируя иммунодоминантные и субдоминантные ответы для разных молекул HLA.

Количество комплексов пептид–HLA на поверхности АПК также может влиять на активацию T-клеток, поскольку чем больше комплексов, тем выше вероятность встречи и взаимодействия с T-клеткой CD8. Антигенная нагрузка на поверхности клетки является результатом действия многих факторов, включая экспрессию белка, содержащего антиген, количество высокоаффинных пептидов, объем необходимого процессинга и стабильность пептида [33]. Большинство идентифицированных эпитопов CD8 происходят из нуклеопротеина (NP) вируса SARS-CoV-2, который является наиболее экспрессируемым белком в первые дни после инфицирования клеток. Его РНК-транскрипт дает самую высокую плотность рибосом, что указывает на максимальную скорость трансляции после инфекции. Размер гена и его белкового продукта влияет на количество эпитопов, которые он может генерировать. Например, в гене *ORF1* (open reading frame) вируса SARS-CoV-2 идентифицировано наибольшее количество эпитопов, пропорционально размеру гена, составляющего 70% вирусного генома и кодирующего 16 неструктурных белков [87].

Мутации SARS-CoV-2 могут изменить образование эпитопа через изменения протеасомального расщепления, тем самым избегая T-клеточных ответов. После протеасомальной деградации белка пептиды высвобождаются в цитозоль, где они могут подвергаться дальнейшему процессингу цитозольными пептидазами. Основной аминопептидазой, ответственной за урезание N-конца пептидных предшественников, является высокополиморфный белок ERAP1 (endoplasmic reticulum aminopeptidase 1). Десять гаплотипов, составляющих 99% естественной изменчивости ERAP1 в популяции, различаются по эффективности генерации эпитопов и могут влиять общий уровень экспрессии ERAP1 в клетках, на предпочтения в отношении определенных аминокислот и скорость, с которой ERAP1 обрезает аминокислоты, — все это может приводить к различиям в генерации эпитопов. В контексте SARS-CoV-2 аминопептидазы ERAP важны для генерации пептидов из 8–11 аминокислот из 15 предшественников [88].

В большинстве исследований, идентифицирующих эпитопы SARS-CoV-2, идентифицирован сильный эпитоп NP105–113, который связывается с HLA-B\*07, распространенным аллелем в европеоидной популяции. В исследованиях по выявлению эпитопов SARS-CoV-2 следует учитывать этническую и популяционную принадлежность по причине различной распространенности антигенов системы HLA в разных популяциях. На этой стадии процессинга и презентации антигена продемонстрирована вирусная иммуноэвазия (уклонение от иммунного надзора). В качестве стратегии иммуноэвазии вирусы могут подавлять появление комплексов пептид–HLA на поверхности клетки разными способами. При заражении SARS-CoV-2 белок, кодируемый геном *ORF8*, предположительно направляет комплекс пептид–HLA на лизосомную деградацию посредством аутофагии [74]. Стабильность и период полужизни комплексов пептид–HLA на клеточной поверхности фактически являются лучшими детерминантами иммуногенности, влияющими на антигенную нагрузку и ответ T-клеток CD8. Связывание эпитопа SARS-CoV-2 N105–113 с HLA-B\*07 является высокотермостабильным ( $\geq 60^\circ\text{C}$ ), что способствует иммунодоминантности этого эпитопа [89].

Несмотря на доминирующий ответ на эпитоп NP105–113, не удалось идентифицировать общие последовательности TCR ни у пациентов с SARS-CoV-2, ни у доноров до пандемии, распознаю-



щих этот эпитоп. Это означает, что данный эпитоп в комплексе с HLA-B\*07:02 может эффективно распознаваться несколькими TCR. Напротив, несколько TCR идентифицированы для субдоминантного эпитопа S269, который связывается с HLA-A\*02:01, потенциально показывая отсутствие пластичности TCR [29]. Это говорит о том, что в случае инфекции SARS-CoV-2 разнообразие TCR может усиливать иммунодоминантные ответы.

Важно понять роль, которую факторы, влияющие на иммунодоминантность, играют в этой вирусной инфекции, и установить функциональную корреляцию иммунодоминантных ответов T-клеток с исходами заболевания. Важно также выяснить, будут ли изменяться паттерны иммунодоминирования с течением времени.

### **Т-КЛЕТОЧНЫЕ ОТВЕТЫ У РЕЦИПИЕНТОВ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19. СХОДНЫЕ ТРАЕКТОРИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ ИНФЕКЦИЕЙ SARS-COV-2 И ВАКЦИНАЦИЕЙ ПРОТИВ COVID-19**

Против SARS-CoV-2 разработан широкий спектр вакцин, и многие из них демонстрируют очень высокий уровень защиты с особенно заметной эффективностью в отношении тяжелого течения заболевания и смерти. Большинство вакцин против COVID-19, таких как основанные на мРНК Pfizer-BioNTech (BNT162b2) и Moderna (mRNA-1273), белковые (Novavax — NVX-CoV2373) и вирусные векторные (Johnson & Johnson Janssen — Ad26.COVS.S, Oxford-AstraZeneca — AZD1222/ChAdOx1, Sputnik V — Gam-COVID-Vac-rAd26/rAd5), в первую очередь нацелены на S-белок, в то время как традиционные инактивированные вакцины (Sinopharm — BBIBP-CorV, Sinovac — CoronaVac, Covaxin — BBV152) нацелены на весь вирус [16]. Вакцина Sputnik V (Gam-COVID-Vac-rAd26/rAd5) на основе вирусного вектора, в которой используется двухдозовый режим прайм-буст, индуцировала сильные S-специфичные клеточные и гуморальные реакции во время испытаний III фазы [90].

Для оптимизации эффективности вакцин важно точно определить детерминанты клеточного T-клеточного ответа в контексте вакциноопосредованной иммунной защиты. Учитывая, что вакцины против SARS-CoV-2 начали массово применять всего несколько месяцев назад, описания вакциноиндуцированных SARS-CoV-2-специфичных T-клеток сосредоточены, в основном, на острых реакциях и реакциях ранней фазы памяти. Ре-

ципиенты вакцин Pfizer (BNT162b2) и Moderna (мРНК-1273) генерируют S-специфичные T-клетки CD4, которые распознают несколько пептидных эпитопов из S-белка SARS-CoV-2 дикого типа, а также некоторые эпитопы, измененные в вариантах B.1.1.7 и B.1.351 [72]. Эти мРНК-вакцины также, по-видимому, усиливают ответы T-клеток CD4 на S-белок эндемического вируса HCoV-NL63. Используя мультимеры пептид-HLA для отслеживания индуцированных вакциной BNT162b2 S-специфичных T-клеток CD4 и CD8, U. Sahin и соавт. [91] обнаружили эффекторные T-клетки памяти, которые вырабатывали преимущественно IFN- $\gamma$  (T-клетки CD8) или IFN- $\gamma^+$  IL-2 $^+$  (T-клетки CD4). Способность SARS-CoV-2 адаптироваться к среде организма хозяина и довольно быстро эволюционировать стала проблемой для вакцинологов. Требуется разработка вакцин, нацеленных на более консервативные вирусные детерминанты (например, нуклеопротеин), где мутации могут сильно нарушить репликацию вируса [1].

Клинический эффект (в предотвращении заболевания) наблюдается в течение 11 дней после первой вакцинации [92], и в этот ранний период можно увидеть устойчивый ответ T-клеток CD8 [93]. Ответы T-клеток необходимы для выработки высокоаффинных антител, а двойная вакцинация Pfizer-BioNTech (BNT162b2) приводит к надежной индукции вирус-специфичных T-клеток CD4 с профилем Th1 [91], которые обычно обнаруживаются на 8-й день после праймирования, достигают пика вскоре после буст-вакцинации, а через 4 мес падают до уровня перед буст-иммунизацией [94].

Ответы T-клеток после двойной вакцинации по величине подобны ответам после естественного заражения, но ключевой вопрос касается их долговечности. Проблема состоит в ослаблении гуморального ответа на вакцинацию. Предполагается, что клеточный иммунитет останется достаточно сильным, так как вакцинация индуцирует субпопуляции T-стволовых клеток памяти. Одной из характерных особенностей вакцин против SARS-CoV-2 является их способность защищать от тяжелых форм заболевания, которая позволяет предположить, что клеточные ответы обеспечивают контроль над серьезным повреждением тканей, несмотря на ограниченную способность антител предотвращать первичную инфекцию. Хотя многие вирусные VOC могут ускользать от гуморального иммунитета, клеточные реакции, индуцированные вакцинами, демонстрируют сильную перекрест-

ную защиту против них. Индуцированный вакциной клеточный ответ заметно усилен у доноров с предшествующей естественной инфекцией и обычно достигает пика после одной дозы вакцины [95]. Кроме того, способность различных схем вакцинации вызывать оптимальные клеточные ответы и то, как они будут способствовать защите от новых вариантов вируса, таких как Omicron, являются критически важными вопросами для борьбы с пандемией. Omicron имеет в 2 раза больше мутаций, чем Delta, что снизило эффективность существующих вакцин и лечения моноклональными антителами. Бустерная вакцинация мРНК-вакцинами обеспечивает защиту более чем на 70% от госпитализации и смерти при прорывной омикронных инфекций [68]. Однако эффективность бустерной вакцинации против инфекции и симптоматического заболевания со временем снижается, при этом вариант Omicron демонстрирует частичное ускользание от иммунного ответа [96].

Ни одна вакцина не эффективна на 100%. Идеальная вакцина должна вызывать иммунный ответ, который должным образом задействует несколько компонентов иммунной системы. Учитывая, что ответ нейтрализующих антител сведет к минимуму, но не полностью предотвратит инфекцию, для избавления от патогена Т-клеточное звено иммунитета должно развернуть клоны, нацеленные на несколько вирусных антигенных детерминант. Такой скоординированный Т-клеточный ответ важен для оптимизации защиты хозяина от патогена напрямую (путем оказания помощи В-клеткам в создании нейтрализующих антител), а также от потенциальной иммунопатологии, опосредованной перекрестно-реактивными Т-клетками памяти. Например, субоптимальный ответ нейтрализующих антител может привести к неадекватному клиренсу вируса после вторичной инфекции, чрезмерному вторичному Т-клеточному ответу и иммунопатологии у людей, предрасположенных к гипервоспалительным реакциям [1].

Сходство иммунных реакций, вызванных инфекцией SARS-CoV-2 и вакцинацией против COVID-19, убедительно демонстрируют результаты клинических исследований вакцины BNT162b2 [91, 97]. Вакцина BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) широко используется во всем мире и эффективно предотвращает инфекцию SARS-CoV-2, а также развитие тяжелых симптомов после инфекции [98]. Сравнение иммунного ответа у пациентов с COVID-19 с ответом на вакцинацию показало, что иммунный ответ после

первой дозы вакцины BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) (с 0-го по 21-й день) в значительной степени отражает траекторию иммунного ответа после заражения SARS-CoV-2, и определило иммунологические биомаркеры, общие у лиц, получающих вакцину, и пациентов с COVID-19, включая ранние иммунные сигнатуры (RIG-I, IFN- $\gamma$ , CXCL10, MCP1, MCP2, MCP3), ассоциированные с прогрессированием заболевания, контролем распространения вируса в организме и SARS-CoV-2-специфичным ответом Т-клеток и антител. Ранние белки (IFN- $\gamma$ , MCP1, CXCL11, MCP2, CXCL10) в наборе данных об инфекции SARS-CoV-2 и транскрипционная сигнатура IFN активируются в течение первых 7 дней после вакцинации. Поздние иммунные маркеры (SLAMF1, TNFRSF9, CCL3, CCL4, TGF $\alpha$ , TNFSF14) и транскрипционные модули, связанные с В-клетками, активируются позднее и демонстрируют самые высокие уровни через 21 день после вакцинации. Ответ на вторую дозу вакцины (с 22-го по 28-й день) характеризуется быстрой активацией как ранних, так и поздних иммунных показателей. Интересно, что три белка (TRAIL, CXCL1 и CXCL6), уровень активности которых значительно повышается у пациентов с COVID-19, не индуцируются второй дозой вакцины. Белки CXCL1 и CXCL6 регулируют рекрутирование нейтрофилов, а белок TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) — апоптоз во время воспаления. Их отсутствие означает отсутствие ответа нейтрофилов на вторую дозу вакцины. Белки, ассоциированные с Т-клетками (CXCL9 и CXCL10) и антителами (IFN- $\gamma$ , MCP1, L10, PDL1, CXCL10, ADA и CXCL11) после инфекции, ассоциированы также с Т-клетками и антителами после вакцинации. Эти результаты предполагают, что биомаркеры плазмы могут быть полезными коррелятами защитного иммунитета как после естественной инфекции, так и после вакцинации [50].

#### **АДОПТИВНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SARS-COV-2- СПЕЦИФИЧНЫХ Т-КЛЕТОК**

Появились сообщения, демонстрирующие потенциальную полезность адоптивной иммунотерапии (иммунотерапии активированными лимфоцитами из периферической крови пациента) с использованием размноженных ex-vivo SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток [99–101]. Клинические испытания продемонстрировали безопасность адоптивного переноса очищенных Т-клеток CD45RA<sup>-</sup> доноров, выздоравливающих от COVID-19, частично HLA-

совместимым реципиентам с диагнозом COVID-19 средней и тяжелой степени тяжести [102]. Учитывая, что пациентов с тяжелым течением COVID-19 часто лечат иммунодепрессантами, Т-клеткам придают устойчивость к глюкокортикоидам путем инактивации гена глюкокортикоидного рецептора (NR3C1) *ex vivo* с помощью методов редактирования генов CRISPR-Cas9 [101]. Для подавления SARS-CoV-2-ассоциированного гипервоспаления у пациентов с дисбалансом в соотношении Treg/Th17 применяют иммунотерапию с использованием Treg [103, 104].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Т-клеточный ответ является критически важным компонентом иммунной защиты от SARS-CoV-2, необходимым для элиминации вируса, способным предотвращать инфекцию без сероконверсии, обеспечивать надежную иммунную память и опосредовать распознавание вирусных вариантов. SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки выявляются после вакцинации, где они могут обеспечить защиту от тяжелого течения инфекции и смерти. Людям, у которых развился низкий Т-клеточный ответ после вакцинации, могут помочь оптимизированные вакцины, которые содержат высокоиммуногенные пептидные эпитопы.

То, что в настоящее время известно об иммунном ответе на SARS-CoV-2, — вероятно, лишь вершина айсберга, и в дальнейшем нам придется сосуществовать с этим вирусом. Одним из наследий текущей пандемии станет импульс для разработки методов клеточной иммунологии человека, так как Т-клеточный иммунитет играет центральную роль в контроле инфекции SARS-CoV-2, и его значение до сих пор недооценено. Настало время изучить и использовать Т-клеточный иммунитет, чтобы раскрыть все его значение во многих других областях медицины.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** С.Г. Щербак, А.С. Голота — написание текста статьи; С.В. Макаренко, Д.А. Вологжанин — написание и редактирование текста статьи; Т.А. Камилова — поисково-аналитическая работа, обсуждение и редактирование текста рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

**Authors' contribution.** S.G. Shcherbak, A.S. Golota — writing the manuscript; S.V. Makarenko, D.A. Volozhanin — revision and writing the manuscript; T.A. Kamilova — search and analytical work, revision the manuscript. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

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

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Khanolkar A. Elucidating T cell and B cell responses to SARS-CoV-2 in humans: gaining insights into protective immunity and immunopathology. *Cells*. 2021;11(1):67. doi: 10.3390/cells11010067
2. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol*. 2022;23(2):186–193. doi: 10.1038/s41590-021-01122-w
3. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature*. 2020;584(7821):457–462. doi: 10.1038/s41586-020-2550-z
4. Zeng C, Evans JP, King T, et al. SARS-CoV-2 spreads through cell-to-cell transmission. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022;119(1):e2111400119. doi: 10.1073/pnas.2111400119
5. Da Silva AR, Pallikkuth S, Williams E, et al. Differential T-Cell reactivity to endemic coronaviruses and SARS-CoV-2 in community and health care workers. *J Infect Dis*. 2021;224(1):70–80. doi: 10.1093/infdis/jiab176
6. Bergamaschi L, Mescia F, Turner L, et al. Longitudinal analysis reveals that delayed bystander CD8+ T cell activation and early immune pathology distinguish severe COVID-19 from mild disease. *Immunity*. 2021;54(6):1257–1275. doi: 10.1016/j.immuni.2021.05.010
7. Lucas C, Klein J, Sundaram ME, et al. Delayed production of neutralizing antibodies correlates with fatal COVID-19. *Nat Med*. 2021;27(7):1178–1186. doi: 10.1038/s41591-021-01355-0
8. Swadling L, Diniz OM, Schmidt NM, et al. Pre-existing polymerase-specific T cells expand in abortive seronegative SARS-CoV-2. *Nature*. 2022;601(7891):110–117. doi: 10.1038/s41586-021-04186-8
9. Liu G, Jiang X, Zeng X, et al. Analysis of lymphocyte subpopulations and cytokines in COVID-19-associated pneumonia and community-acquired pneumonia. *J Immunol Res*. 2021;2021:6657894. doi: 10.1155/2021/6657894
10. Venet F, Gossez M, Bidar F, et al. T cell response against SARS-CoV-2 persists after one year in patients surviving severe COVID-19. *EBioMedicine*. 2022;78:103967. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.103967

11. Le Bert N, Clapham HE, Tan AT, et al. Highly functional virus-specific cellular immune response in asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *J Exp Med*. 2021;218(5):e20202617. doi: 10.1084/jem.20202617
12. Schultze JL, Aschenbrenner AC. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell*. 2021;184(7):1671–1692. doi: 10.1016/j.cell.2021.02.029
13. Bao C, Tao X, Cui W, et al. Natural killer cells associated with SARS-CoV-2 viral RNA shedding, antibody response and mortality in COVID-19 patients. *Exp Hematol Oncol*. 2021;10(1):5. doi: 10.1186/s40164-021-00199-1
14. Yu KK, Fischinger S, Smith MT, et al. Comorbid illnesses are associated with altered adaptive immune responses to SARS-CoV-2. *JCI Insight*. 2021;6(6):e146242. doi: 10.1172/jci.insight.146242
15. King C, Sprent J. Dual nature of type I interferons in SARS-CoV-2-induced inflammation. *Trends Immunol*. 2021;42(4):312–322. doi: 10.1016/j.it.2021.02.003
16. Priyal M, Barmania F, Mellet J, et al. SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunity. *Front Immunol*. 2022;12:809244. doi: 10.3389/fimmu.2021.809244
17. Carissimo G, Xu W, Kwok I, et al. Whole blood immunophenotyping uncovers immature neutrophil-to-VD2 T-cell ratio as an early marker for severe COVID-19. *Nat Commun*. 2020;11(1):1–12. doi: 10.1038/s41467-020-19080-6
18. Remy KE, Mazer M, Striker DA, et al. Severe immunosuppression and not a cytokine storm characterizes COVID-19 infections. *JCI Insight*. 2020;5(17):e140329. doi: 10.1172/jci.insight.140329
19. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020;21(11):1336–1345. doi: 10.1038/s41590-020-0782-6
20. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*. 2020;369(6508):eabc8511. doi: 10.1126/science.abc8511
21. Laing AG, Lorenc A, del Barrio I, et al. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat Med*. 2020;26(10):1623–1635. doi: 10.1038/s41591-020-1038-6
22. Rodriguez L, Pekkarinen PT, Lakshminanth T, et al. Systems-level immunomonitoring from acute to recovery phase of severe COVID-19. *Cell Rep Med*. 2020;1(5):100078. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100078
23. Blanchard-Rohner G, Didierlaurent A, Tilmanne A, et al. Pediatric COVID-19: immunopathogenesis, transmission and prevention. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(9):1002. doi: 10.3390/vaccines9091002
24. Garibaldi BT, Fiksel J, Muschelli J, et al. Patient trajectories among persons hospitalized for COVID-19: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2021;174(1):33–41. doi: 10.7326/M20-3905
25. Takahashi T, Ellingson MK, Wong P, et al. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature*. 2020;588(7837):315–320. doi: 10.1038/s41586-020-2700-3
26. Grifoni A, Sidney J, Vita R, et al. SARS-CoV-2 human T cell epitopes: Adaptive immune response against COVID-19. *Cell Host Microbe*. 2021;29(7):1076–1092. doi: 10.1016/j.chom.2021.05.010
27. Braun, J, Loyal L, Frentsch M, et al. SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. *Nature*. 2020;587(7833):270–274. doi: 10.1038/s41586-020-2598-9
28. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell*. 2020;183(1):158–168. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.017
29. Nguyen TH, Rowntree LC, Petersen J, et al. CD8(+) T cells specific for an immunodominant SARS-CoV-2 nucleocapsid epitope display high naive precursor frequency and TCR promiscuity. *Immunity*. 2021;54(5):1066–1082. doi: 10.1016/j.immuni.2021.04.009
30. Notarbartolo S, Ranzani V, Bandera A, et al. Integrated longitudinal immunophenotypic, transcriptional and repertoire analyses delineate immune responses in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2021;6(62):eabg5021. doi: 10.1126/sciimmunol.abg5021
31. Habel JR, Nguyen TH, van de Sandt CE, et al. Suboptimal SARS-CoV-2-specific CD8+ T cell response associated with the prominent HLA-A\*02:01 phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(39):24384–24391. doi: 10.1073/pnas.2015486117
32. Campbell KM, Steiner G, Wells DK, et al. Prioritization of SARS-CoV-2 epitopes using a pan-HLA and global population inference approach. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.03.30.016931
33. Weingarten-Gabbay S, Klaeger S, Sarkizova S, et al. Profiling SARS-CoV-2 HLA-I peptidome reveals T cell epitopes from out-of-frame ORFs. *Cell*. 2021;184(15):3962–3980. doi: 10.1016/j.cell.2021.05.046
34. Kusunadi A, Ramirez-Suástegui C, Fajardo V, et al. Severely ill COVID-19 patients display impaired exhaustion features in SARS-CoV-2-reactive CD8+ T cells. *Sci Immunol*. 2021;6(55):eabe4782. doi: 10.1126/sciimmunol.abe4782
35. Rydzynski-Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, et al. Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. *Cell*. 2020;183(4):996–1012.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.038
36. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020;369(6504):718–724. doi: 10.1126/science.abc6027
37. Dan JM, Mateus J, Kato Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021;371(6529):eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063
38. Wang Z, Yang X, Zhong J, et al. Exposure to SARS-CoV-2 generates T-cell memory in the absence of a detectable viral infection. *Nat Commun*. 2021;12(1):1724. doi: 10.1038/s41467-021-22036-z
39. Choe PG, Kang CK, Suh HJ, et al. Waning antibody responses in asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Emerging Infect Dis*. 2021;27(1):327–329. doi: 10.3201/eid2701.203515
40. Mateus J, Grifoni A, Tarke A, et al. Selective and cross-reactive SARS-CoV-2 T cell epitopes in unexposed humans. *Science*. 2020;370(6512):89–94. doi: 10.1126/science.abd3871
41. Sette A, Crotty S. Pre-existing immunity to SARS-CoV-2: the knowns and unknowns. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(8):457–458. doi: 10.1038/s41577-020-0389-z
42. Poon MM, Rybkina K, Kato Y, et al. SARS-CoV-2 infection generates tissue-localized immunological memory in humans. *Sci Immunol*. 2021;6(65):eabl9105. doi: 10.1126/sciimmunol.abl9105
43. Szabo PA, Dogra P, Gray JI, et al. Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe COVID-19. *Immunity*. 2021;54(4):797–814.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2021.03.005
44. Zhao Y, Kilian C, Turner JE, et al. Clonal expansion and activation of tissue-resident memory-like Th17 cells expressing GM-CSF in the lungs of severe COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2021;6(56):eabf6692. doi: 10.1126/sciimmunol.abf6692
45. Rha MS, Jeong HW, Ko JH, et al. PD-1-Expressing SARS-CoV-2-specific CD8+ T cells are not exhausted, but functional in patients with COVID-19. *Immunity*. 2021;54(1):44–52. doi: 10.1016/j.immuni.2020.12.002
46. Tarke A, Sidney J, Kidd CK, et al. Comprehensive analysis of T cell immunodominance and immunoprevalence of SARS-CoV-2 epitopes in COVID-19 cases. *Cell Rep Med*. 2021;2(2):100204. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100204
47. Boppana S, Qin K, Files JK, et al. SARS-CoV-2-specific circulating T follicular helper cells correlate with neutralizing antibodies and increase during early convalescence. *PLoS Pathog*. 2021;17(7):e1009761. doi: 10.1371/journal.ppat.1009761
48. Verhagen J, van der Meijden ED, Lang V, et al. Human CD4+ T cells specific for dominant epitopes of SARS-CoV-2 Spike and Nucleocapsid proteins with therapeutic potential. *Clin Exp Immunol*. 2021;205(3):363–378. doi: 10.1111/cei.13627

49. Nagler A, Kalaora S, Barbolin C, et al. Identification of presented SARS-CoV-2 HLA class I and HLA class II peptides using HLA peptidomics. *Cell Rep.* 2021;35(13):109305. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109305
50. Hu Zi, van der Ploeg K, Chakraborty S, et al. Early immune responses have long-term associations with clinical, virologic, and immunologic outcomes in patients with COVID-19. *Res Sq.* 2022;rs.3.rs-847082. doi: 10.21203/rs.3.rs-847082/v1
51. Yamada T, Sato S, Sotoyama Y, et al. RIG-I triggers a signaling-abortive anti-SARS-CoV-2 defense in human lung cells. *Nat Immunol.* 2021;22(7):820–828. doi: 10.1038/s41590-021-00942-0
52. Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature.* 2021; 591(7848):92–98. doi: 10.1038/s41586-020-03065-y
53. Adamo S, Michler J, Zurbuchen Y, et al. Signature of long-lived memory CD8+ T cells in acute SARS-CoV-2 infection. *Nature.* 2022;602(7895):148–155. doi: 10.1038/s41586-021-04280-x
54. Kalfaoglu B, Almeida-Santos J, Tye CA, Satou Y. T-cell dysregulation in COVID-19. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021;538:204–210. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.10.079
55. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell.* 2021;184(4):861–880. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.007
56. Bilich T, Nelde A, Heitmann JS, et al. T cell and antibody kinetics delineate SARS-CoV-2 peptides mediating long-term immune responses in COVID-19 convalescent individuals. *Sci Transl Med.* 2021;13(590):eabf7517. doi: 10.1126/scitranslmed.abf7517
57. Cohen KW, Linderman S, Moodie Z, et al. Longitudinal analysis shows durable and broad immune memory after SARS-CoV-2 infection with persisting antibody responses and memory B and T cells. *Cell Rep Med.* 2021;2(7):100354. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100354
58. Jung JH, Rha MS, Sa M, et al. SARS-CoV-2-specific T cell memory is sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells. *Nat Commun.* 2021;12(1):4043. doi: 10.1038/s41467-021-24377-1
59. Laurén I, Havervall S, Ng H, et al. Long-term SARS-CoV-2-specific and cross-reactive cellular immune responses correlate with humoral responses, disease severity, and symptomatology. *Immun Inflamm Dis.* 2022;10(4):e595. doi: 10.1002/iid3.595
60. Sagar M, Reifler K, Rossi M, et al. Recent endemic coronavirus infection is associated with less-severe COVID-19. *J Clin Invest.* 2021;131(1):e143380. doi: 10.1172/JCI143380
61. Peng Y, Felce SL, Dong D, et al. An immunodominant NP 105-113-B\*07:02 cytotoxic T cell response controls viral replication and is associated with less severe COVID-19 disease. *Nat Immunol.* 2022;23(1):50–61. doi: 10.1038/s41590-021-01084-z
62. Ng KW, Faulkner N, Cornish GH, et al. Preexisting and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans. *Science.* 2020;370(6522):1339–1343. doi: 10.1126/science.abe1107
63. Luring AS, Hodcroft EB. Genetic variants of SARS-CoV-2—what do they mean? *JAMA.* 2021;325(6):529–531. doi: 10.1001/jama.2020.27124
64. Moeller NH, Shi K, Demir Ö, et al. Structure and dynamics of SARS-CoV-2 proofreading exonuclease ExoN. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(9):e2106379119. doi: 10.1073/pnas.2106379119
65. SARS-CoV-2 variants of concern as of 7 April 2022. European Centre for Disease Prevention and Control. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>. Accessed: 15.02.2022.
66. Liu C, Ginn HM, Dejnirattisai W, et al. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.617 by vaccine and convalescent serum. *Cell.* 2021;184(16):4220–4236. doi: 10.1016/j.cell.2021.06.020
67. Legros V, Denolly S, Vogrig M, et al. A longitudinal study of SARS-CoV-2-infected patients reveals a high correlation between neutralizing antibodies and COVID-19 severity. *Cell Mol Immunol.* 2021;18(2):318–327. doi: 10.1038/s41423-020-00588-2
68. Nyberg T, Ferguson NM, Nash SG, et al. Comparative analysis of the risks of hospitalisation and death associated with SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) and delta (B.1.617.2) variants in England: a cohort study. *Lancet.* 2022;399(10332):1303–1312. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00462-7
69. Pulliam JR, van Schalkwyk C, Govender N, et al. Increased risk of SARS-CoV-2 reinfection associated with emergence of the Omicron variant in South Africa. *Science.* 2022;376(6593):eabn4947. doi: 10.1126/science.abn4947
70. Ford CT, Machado JD, Janies DA. Predictions of the SARS-CoV-2 Omicron variant (B.1.1.529) spike protein receptor-binding domain structure and neutralizing antibody interactions. *bioRxiv.* 2021;2021.12.03.471024. doi: 10.1101/2021.12.03.471024
71. Tarke A, Coelho CH, Zhang Z, et al. SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to cross-recognize variants from Alpha to Omicron. *Cell.* 2022;185(5):847–859.e11. doi: 10.1016/j.cell.2022.01.015
72. Woldemeskel BA, Garliss CC, Blankson JN. SARS-CoV-2 mRNA vaccines induce broad CD4+ T cell responses that recognize SARS-CoV-2 variants and HCoV-NL63. *J Clin Invest.* 2021;131(10):e149335. doi: 10.1172/JCI149335
73. De Silva TI, Liu G, Lindsey BB, et al. The impact of viral mutations on recognition by SARS-CoV-2 specific T-cells. *Science.* 2021;24(11):103353. doi: 10.1016/j.isci.2021.103353
74. Zhang Y, Chen Y, Li Y, et al. The ORF8 protein of SARS-CoV-2 mediates immune evasion through down-regulating MHC-I. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021;118(23):e2024202118. doi: 10.1073/pnas.2024202118
75. Tarke A, Sidney J, Methot N, et al. Impact of SARS-CoV-2 variants on the total CD4+ and CD8+ T cell reactivity in infected or vaccinated individuals. *Cell Rep Med.* 2021;2(7):100355. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100355
76. Guo L, Wang G, Wang Y, et al. SARS-CoV-2-specific antibody and T-cell responses 1 year after infection in people recovered from COVID-19: a longitudinal cohort study. *Lancet Microbe.* 2022;3(5):e348–e356. doi: 10.1016/S2666-5247(22)00036-2
77. Lauro R, Irrera N, Eid AH, Bitto A. Could antigen presenting cells represent a protective element during SARS-CoV-2 infection in children? *Pathogens.* 2021;10(4):476. doi: 10.3390/pathogens10040476
78. Fung SY, Yuen KS, Ye ZW, et al. A tug-of-war between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and host antiviral defence: lessons from other pathogenic viruses. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):558–570. doi: 10.1080/22221751.2020.1736644
79. Kaneko N, Kuo HH, Boucau J, et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell.* 2020;183(1):143–157. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.025
80. Ni L, Ye F, Cheng ML, et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity.* 2020;52(6):971–977. doi: 10.1016/j.immuni.2020.04.023
81. Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020;26(8):1200–1204. doi: 10.1038/s41591-020-0965-6
82. Turner JS, Kim W, Kalaidina E, et al. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. *Nature.* 2021;595(7867):421–425. doi: 10.1038/s41586-021-03647-4
83. Hartley GE, Edwards ES, Aui PM, et al. Rapid generation of durable B cell memory to SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins in COVID-19 and convalescence. *Sci Immunol.* 2020; 5(54):eabf8891. doi: 10.1126/sciimmunol.abf8891
84. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JC, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature.* 2021;591(7851):639–644. doi: 10.1038/s41586-021-03207-w
85. Zaman MS, Sizemore RC. Diverse manifestations of COVID-19: some suggested mechanisms. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(18):9785. doi: 10.3390/ijerph18189785
86. Zhang JY, Wang XM, Xing X, et al. Single-cell landscape of immunological responses in patients with COVID-19. *Nature Immunol.* 2020;21(9):1107–1118. doi: 10.1038/s41590-020-0762-x

87. Saini SK, Hersby DS, Tamhane T, et al. SARS-CoV-2 genome-wide T cell epitope mapping reveals immunodominance and substantial CD8(+) T cell activation in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2021;6(58):eabf7550. doi: 10.1126/sciimmunol.abf7550
88. Wellington D, Yin Z, Kessler BM, Dong T. Immunodominance complexity: lessons yet to be learned from dominant T cell responses to SARS-COV-2. *Curr Opin Virol*. 2021;50:183–191. doi: 10.1016/j.coviro.2021.08.009
89. Lineburg KE, Grant EJ, Swaminathan S, et al. CD8+ T cells specific for an immunodominant SARS-CoV-2 nucleocapsid epitope cross-react with selective seasonal coronaviruses. *Immunity*. 2021;54(5):1055–1065. doi: 10.1016/j.immuni.2021.04.006
90. Logunov DY, Dolzhenko IV, Shcheblyakov DV, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021;397(10275):671–681. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8
91. Sahin U, Muik A, Vogler I, et al. BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. *Nature*. 2021;595(7868):572–577. doi: 10.1038/s41586-021-03653-6
92. Baden LR, Sahly HM, Essink B, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(5):403–416. doi: 10.1056/NEJMoa2035389
93. Oberhardt V, Luxenburger H, Kemming J, et al. Rapid and stable mobilization of CD8+ T cells by SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *Nature*. 2021;597(7875):268–273. doi: 10.1038/s41586-021-03841-4
94. Skelly DT, Harding AC, Gilbert-Jaramillo J, et al. Two doses of SARS-CoV-2 vaccination induce robust immune responses to emerging SARS-CoV-2 variants of concern. *Nat Commun*. 2021;12(1):5061. doi: 10.1038/s41467-021-25167-5
95. Mazzoni A, Di Lauria N, Maggi L, et al. First-dose mRNA vaccination is sufficient to reactivate immunological memory to SARS-CoV-2 in subjects who have recovered from COVID-19. *J Clin Invest*. 2021;131(12):e149150. doi: 10.1172/JCI149150
96. McLean G, Kamil J, Lee B, et al. The impact of evolving SARS-CoV-2 mutations and variants on COVID-19 vaccines. *mBio*. 2022;13(2):e0297921. doi: 10.1128/mbio.02979-21
97. Haranaka M, Baber J, Ogama Y, et al. A randomized study to evaluate safety and immunogenicity of the BNT162b2 COVID-19 vaccine in healthy Japanese adults. *Nat Commun*. 2021;12(1):7105. doi: 10.1038/s41467-021-27316-2
98. Skowronski DM, de Serres G. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(16):1576–1577. doi: 10.1056/NEJMc2036242
99. Keller MD, Harris KM, Jensen-Wachspress MA, et al. SARS-CoV-2-specific T cells are rapidly expanded for therapeutic use and target conserved regions of the membrane protein. *Blood*. 2020;136(25):2905–2917. doi: 10.1182/blood.2020008488
100. Basar R, Uprety N, Ensley E, et al. Generation of glucocorticoid-resistant SARS-CoV-2 T cells for adoptive cell therapy. *Cell Rep*. 2021;36(3):109432. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109432
101. Cooper RS, Fraser AR, Smith L, et al. Rapid GMP-compliant expansion of SARS-CoV-2-specific T cells from convalescent donors for use as an allogeneic cell therapy for COVID-19. *Front Immunol*. 2021;11:598402. doi: 10.3389/fimmu.2020.598402
102. Pérez-Martínez A, Mora-Rillo M, Ferreras C, et al. Phase I dose-escalation single centre clinical trial to evaluate the safety of infusion of memory T cells as adoptive therapy in COVID-19 (RELEASE). *Clinical Medicine*. 2021;39:101086. doi: 10.1016/j.jclinm.2021.101086
103. Gladstone DE, Kim BS, Mooney K, et al. Regulatory T cells for treating patients with COVID-19 and acute respiratory distress syndrome: two case reports. *Ann Intern Med*. 2020;173(10):852–853. doi: 10.7326/L20-0681
104. Baeten P, van Zeebroeck L, Kleinewietfeld M, et al. Improving the efficacy of regulatory T cell therapy. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2022;62(2):363–381. doi: 10.1007/s12016-021-08866-1

## ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

**Голота Александр Сергеевич**, к.м.н., доцент;  
адрес: Россия, 197706, Санкт-Петербург, г. Сестрорецк,  
ул. Борисова, д. 9, лит. Б;  
e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Соавторы:

**Вологжанин Дмитрий Александрович**, д.м.н.и.;  
e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

**Камилова Татьяна Аскарровна**, к.б.н.и.;  
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

**Макаренко Станислав Вячеславович**;  
e-mail: st.makarenko@gmail.com;  
eLibrary SPIN: 8114-3984;  
ORCID <http://orcid.org/0000-0002-1595-6668>

**Щербак Сергей Григорьевич**, д.м.н., профессор;  
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5036-1259>

## AUTHORS' INFO

The author responsible for the correspondence:

**Aleksandr S. Golota**, MD, PhD, Associate Professor;  
address: 9B Borisova st., 197706, Saint Petersburg,  
Sestroretsk, Russia;  
e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Co-authors:

**Dmitry A. Vologzhanin**, MD, PhD;  
e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

**Tatyana A. Kamilova**, Cand. Sci. (Biol.);  
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

**Stanislav V. Makarenko**;  
e-mail: st.makarenko@gmail.com;  
eLibrary SPIN: 8114-3984;  
ORCID <http://orcid.org/0000-0002-1595-6668>

**Sergey G. Scherbak**, MD, PhD, Professor;  
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5036-1259>