

НАРУШЕНИЕ В-КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И СВЯЗАННЫХ С НИМ НАРУШЕНИЙ ИММУНИТЕТА У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ

Добрынина М.А.^{1,2}, Зурочка А.В.^{1,3}, Комелькова М.В.^{1,3},
Зурочка В.А.^{1,3}, Сарапульцев А.П.^{1,3}

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

² ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», г. Челябинск, Россия

Резюме. Изменения В-клеточного ответа иммунной системы, описанные у больных COVID-19, являются недостаточно изученными у постковидных пациентов несмотря на то, что В-клетки играют важную роль в формировании постинфекционного иммунитета.

Целью исследования явилось изучение особенностей В-клеточного ответа иммунной системы у постковидных пациентов. С этой целью были исследованы, помимо стандартной иммунограммы, следующие фенотипы: В-клетки общие (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺), В-клетки памяти общие (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD27⁺), В-не клетки памяти общие (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺), В1-клетки памяти (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁺), В2-клетки памяти (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁻, CD27⁺), В1-не клетки памяти (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁻), В2-не клетки памяти (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁻, CD27⁻). Проведенное исследование у пациентов с постковидным синдромом с нарушением уровня В1-клеток памяти выявило резкое повышение данных клеток у 15,3% обследованных. Это сопровождалось увеличением общих В-клеток памяти и В1-общих лимфоцитов (преимущественно за счет В1-клеток памяти), повышенным уровнем общих Т-лимфоцитов и общего IgA. В то же время у данной группы пациентов отмечалось резкое снижение плазмочитов и В2-лимфоцитов (как клеток памяти, так и не клеток памяти), натуральных киллеров, Т-регуляторных клеток, Т-клеток ранней активации (CD25⁺) и С3а-фрагмента комплемента. Эти данные говорят о том, что у пациентов формируется особый тип нарушения иммунной системы, а именно дезорганизация переключения В-лимфоцитов с синтеза IgM на IgG и IgA, что приводит к резкому снижению В2-субпопуляций лимфоцитов. Возможно, такое нарушение связано с резким снижением Т-регуляторных лимфоцитов и Т-лимфоцитов, отвечающих

Адрес для переписки:

Добрынина Мария Александровна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: mzurochka@mail.ru

Address for correspondence:

Maria A. Dobrynina
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences
106 Pervomaiskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: mzurochka@mail.ru

Образец цитирования:

М.А. Добрынина, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова,
В.А. Зурочка, А.П. Сарапульцев «Нарушение
В-клеточного звена иммунной системы и связанных
с ним нарушений иммунитета у постковидных
пациентов» // Российский иммунологический журнал,
2023. Т. 26, № 3. С. 241-250.
doi: 10.46235/1028-7221-9636-DIT

© Добрынина М.А. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.A. Dobrynina, A.V. Zurochka, M.V. Komelkova,
V.A. Zurochka, A.P. Sarapultsev "Disturbances in the
B cell component of immune system and associated immune
alterations in post-COVID patients", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2023,
Vol. 26, no. 3, pp. 241-250.
doi: 10.46235/1028-7221-9636-DIT

© Dobrynina M.A. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-9636-DIT

за регуляцию формирования дифференцировки В-лимфоцитов с клеток, несущих IgM-рецепторы на клетки, синтезирующие IgG и IgA (Т-лимфоцитов ранней активации, несущих маркер к IL-2). Кроме того, у таких больных также наблюдается снижение параметров гемоглобина и тромбоцитов, что может в свою очередь способствовать у них проявлениям гипоксии и возможному нарушению системы свертывания крови.

Таким образом, данный фенотип нарушения иммунной системы у пациентов является более трудоемким в определении (так как требует нестандартных подходов к оценке иммунного статуса больных с постковидным синдромом нарушений иммунной системы), что, несомненно, усложняет обследование, но в то же время эти пациенты нуждаются в подборе иммунопрепаратов с целью иммунокоррекции данного нарушения. Полученные данные расширяют представление о формировании постковидных нарушений иммунной системы и требуют более глубокого изучения причин, приводящих к таким нарушениям.

Ключевые слова: В-лимфоциты, В1-лимфоциты, иммунная система, Т-лимфоциты, Treg-лимфоциты, общий анализ крови, SARS-CoV-2 инфекция, постковидные пациенты

DISTURBANCES IN THE B CELL COMPONENT OF IMMUNE SYSTEM AND ASSOCIATED IMMUNE ALTERATIONS IN POST-COVID PATIENTS

Dobrynina M.A.^{a, b}, Zurochka A.V.^{a, c}, Komelkova M.V.^{a, c},
Zurochka V.A.^{a, c}, Sarapultsev A.P.^{a, c}

^a Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

^b A. Burnazyan Russian State Research Center – Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russian Federation

^c South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. There is only limited data on B-cell response in post-COVID patients despite its importance in studying the post-infection immunity. The present study aimed to investigate the features of the B-cell response in post-COVID patients, focusing on various B cell phenotypes. Along with the standard immunogram, the following cell phenotypes were examined: common B cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺); common memory cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD27⁺); common non-memory cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺); B1 memory cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁺); B2 memory cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁻, CD27⁺); B1 non-memory cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁻); and B2 non-memory cells (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁻, CD27⁻). The study revealed a sharp increase in B1 memory cells in 15.3% of post-COVID patients with impaired levels of B1 memory cells. This increase was accompanied by elevated levels of total B memory cells, B1 total lymphocytes (mainly, B1 memory cells), total T lymphocytes, and total IgA. By contrast, the patients with impaired B1 memory cells exhibited a sharp decrease in plasma cells, B2 lymphocytes (both memory and non-memory cells), natural killer cells, T regulatory cells, early activation T cells (CD25⁺), and C3a complement fragment. These findings suggest a unique immune system disorder characterized by dysregulated B lymphocyte switching from IgM to IgG and IgA synthesis, thus resulting in marked decrease in B2 lymphocyte subpopulations. This disorder may be associated with reduced T regulatory lymphocytes and early activation of T lymphocytes responsible for regulating B lymphocyte differentiation. Furthermore, the patients also exhibited reduced hemoglobin and platelet parameters, thus, potentially, contributing to hypoxia and blood clotting abnormalities. Thus, the phenotype identification of these immune system disorders in post-COVID patients requires non-standard approaches to assessing immune status, thus complicating clinical examination, but highlighting the need for immunocorrective therapies. These findings contribute to better understanding of post-COVID immune system disorders and require further investigation into the underlying causal factors.

Keywords: B cells, B1 lymphocytes, immune system, T lymphocytes, T regulatory lymphocytes, complete blood count, SARS-CoV-2 infection, post-COVID patients

Работа выполнена по теме Гос. задания «Имунофизиологические и патофизиологические механизмы регуляции и коррекции функций организма», № гос. регистрации 122020900136-4 и поддержана грантом РФФИ и NSFC, 20-515-55003.

Введение

Пандемия, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к значительному росту числа пациентов с широким спектром персистирующих симптомов (усталость, одышка, лихорадка, кашель, миалгии, нервно-психические заболевания), характеризующихся длительностью их течения, что оказывает существенное влияние на здоровье населения [10, 11, 16] и создает значительную нагрузку на системы здравоохранения [7].

Литературные данные свидетельствуют о том, что причиной таких постинфекционных синдромов может являться длительное нарушение регуляции иммунного ответа. Данные литературы свидетельствуют о целом комплексе фенотипических и функциональных изменений В- и Т-клеток по всей траектории иммунного ответа на SARS-CoV-2, от острого заболевания до клинического выздоровления, зачастую сохраняющемся до 6-8 месяцев после реконвалесценции [17]. Данные изменения обычно включают в себя сдвиги в популяциях врожденных и адаптивных иммунных клеток CD45 и повышение уровня маркеров активации и истощения на CD4⁺ и CD8⁺ клетках людей [9]. Интересно, что среди людей, перенесших COVID-19, те, кому в последующем был поставлен диагноз лонг-ковида (longcovid) характеризовались высокой активностью клеток врожденного иммунного ответа на фоне практически полного отсутствия наивных Т- и В-клеток, и демонстрировали повышенную экспрессию IFN I типа (IFN β) и IFN III типа (IFN λ 1), которая оставалась стабильно высокой даже через 8 месяцев с момента установки диагноза [15].

В то время как большинство исследований, посвященных иммунным нарушениям у лиц с постострыми последствиями COVID-19, направлено на изучение клеток врожденного иммунитета и популяций Т-лимфоцитов [18], повреждению В-клеточного звена иммунной системы, который определяет продолжительность и широту защитного иммунитета, уделено недостаточно внимания. SARS-CoV-2 вызывает стойкий ответ В-клеток [13], но уровни антител со временем снижаются, что повышает риск ослабления иммунитета, поскольку титр нейтрализующих антител снижается ниже порогового значения, необходимого для защиты от повторного заражения [8]. Реакция В-клеток памяти, специфичная

для SARS-CoV-2, увеличивается в течение первых 4-5 месяцев после заражения, прежде чем стабилизируется [13], однако специфичные для SARS-CoV-2 плазматические клетки сохраняются в костном мозге между 7 и 11 месяцами после заражения, поддерживая уровни сывороточных антител [19].

В тех работах, которые были посвящены долгосрочным В-клеточным ответам [9] также было показано усиление активации В-клеток, определяемое повышением часто ты маркеров CD95⁺, CD69⁺ и PD1⁺, которое с течением времени возвращается к нормальным значениям; однако устойчивое присутствие В-клеток FCRL4⁺ и PD1⁺ у таких пациентов предполагает сохранение их дисрегуляции [9]. Крайне важно, что содержание антигенспецифичных В-клеток памяти к SARS-CoV-2 обычно пропорционально тяжести COVID-19, и в группе с тяжелым течением заболевания, как правило, наблюдается более высокое содержание всех В-клеток памяти IgM⁺, IgA⁺ и IgG⁺ по сравнению с другими группами [12], что придает их изучению особенную значимость.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что у пациентов, перенесших острый COVID-19, отмечается три вида нарушений иммунной системы, выделенных нами в отдельные фенотипы (поражение НК-клеток, цитотоксических клеток и клеток, несущих рецептор CD46⁺) [1, 2, 3]. В то же время исследование В-клеток отдельно не проводилось, что и сформировало цель данной работы, которая заключается в изучении В-клеточного роста иммунной системы у постковидных пациентов и особенностей нарушений иммунной системы у таких больных.

Материалы и методы

Было обследовано 98 пациентов, перенесших SARS-CoV-2-инфекцию. Критерием включения в группы исследований были: подтвержденный диагноз SARS-CoV-2-инфекции методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), наличие IgA, IgM, IgG к вирусу SARS-CoV-2 инфекции, данные компьютерной томографии о перенесенной пневмонии (варианты: поражение от 25% легких до 75% легких). Кроме того, критериями включения являлись наличие жалоб на усталость, боль, симптомы, возникающие после физической нагрузки, изменения в работе и/или учебе, нарушение работы сердечно-сосудистой, нервной систем, наличие когнитивных, психических и физических нарушений [6, 14].

Исследование проводилось не менее чем через 6 месяцев после перенесенной пневмонии вызванной SARS-CoV-2 инфекцией. Все пациенты были предварительно обследованы врачом-тера-

певтом и иммунологом-аллергологом для выявления сопутствующих заболеваний.

Определение групп сравнения проводилось по уровню В1-клеток памяти. В качестве референсных интервалов и пороговых значений В1-клеток памяти были приняты данные, представленные в монографии Зурочка А.В. и соавт. (2018) [4]. Кроме того, группы были рандомизированы по полу, возрасту, сопутствующим заболеваниям по критерию χ^2 . Таким образом, нами было выделено 2 группы сравнения: группа 1 – постковидные пациенты с повышенным уровнем В1-клеток памяти ($n = 15$), группа 2 – постковидные пациенты с нормальным уровнем В1-клеток памяти ($n = 83$).

Все исследования были одобрены Независимым локальным этическим комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска (протокол № 8 от 11.04.2022), на базе которой проводились данные исследования.

Иммунологические исследования

Оценка иммунного статуса осуществлялась методом проточной цитометрии на цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter, США) по стандартизированной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета [4, 5].

В ходе исследования были определены следующие параметры: CD45⁺ и CD46⁺ (панлейкоцитарный маркер для гейтирования лимфоцитов), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺ (Т-лимфоциты), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺ (хелперы-индукторы), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, CD16⁺, CD56⁺ (ТНК-клетки) CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, CD16⁺, CD56⁺ (натуральные киллеры), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, CD19⁺ (В-лимфоциты), CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺, CD127⁻ (Т-регуляторные клетки/супрессоры), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺ (активированные хелперы, ранняя активация лимфоцитов), CD45⁺ (CD46⁺), CD3⁺, HLA-DR (активированные Т-лимфоциты – поздняя активация лимфоцитов), В-клетки памяти общие (CD45⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD27⁺), В не клетки памяти общие (CD45⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD5⁺), В1-клетки памяти (CD45⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁺), В2 клетки памяти (CD45⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD5⁻, CD27⁺), В1 не клетки памяти (CD45⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁻), В2 не клетки памяти (CD45⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD5⁻, CD27⁻) (Beckman Coulter, BioLegend, США).

Уровни общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG, IgA к коронавирусу COVID-19, С1-ингибитора, С3а- и С5а-компонентов комплемента проводилось методом иммуноферментного на иммуноферментном анализаторе Multiscan FC Thermo Scientific (Китай) с использованием наборов реагентов «Вектор-Бест» (Россия).

Гематологические исследования

Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный и качественный состав ростков кроветворения проведен стандартизованным методом на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция).

Статистическая обработка данных

Обработка и анализ данных осуществлялись с помощью R 3.1.1 12 (R Foundation for Statistical Computing, Австрия) и Microsoft Excel версии 14.0. Так как распределение в количественных данных было не нормальным (p -value теста Шапиро–Уилка $< 0,05$), то использованные статистические критерии были непараметрическими.

Результаты и обсуждение

При делении общей выборки исследованных постковидных пациентов по уровню В1-клеток памяти было выявлено, что у 15,3% наблюдался повышенный абсолютный и относительный уровень В1-клеток памяти по сравнению с группой с нормальным их содержанием (табл. 1). Это повышение сопровождалось трехкратным увеличением количества общих В-клеток памяти и четырехкратным – В1-общих лимфоцитов (преимущественно за счет В1-клеток памяти).

В то же время у этих пациентов обнаружено снижение более чем в 4 раза субпопуляции общих В2-лимфоцитов, которое происходило как за счет снижения В2-лимфоцитов клеток памяти, так и В2-лимфоцитов не клеток памяти (табл. 1). Кроме того, у пациентов с повышенным уровнем В1-клеток памяти отмечено усиление продукции IgA (рис. 1).

Анализ полученных показателей выявил нарушение врожденных факторов иммунной системы. Так, у пациентов, перенесших COVID-19, с повышенным уровнем В1-клеток памяти отмечено значимое абсолютное и относительное снижение уровня натуральных киллеров CD45⁺CD3⁻CD16⁺ CD 56⁺ (NK-киллеры, абс., 10^6 кл/л – группа 1: $208,8 \pm 20,65$; группа 2: $269,35 \pm 20,25$; NK-киллеры, отн. % – группа 1: $9,17 \pm 1,16$; группа 2: $12,32 \pm 0,74$). Вместе с тем, у этих пациентов обнаружено снижение на 13% С3а-фрагмента комплемента относительно группы постковидных пациентов с нормальным уровнем В1-клеток памяти (группа 1: $100,29 \pm 4,26$; группа 2: $114,78 \pm 2,92$).

Исследование популяции Т-лимфоцитов у постковидных пациентов группы 1 выявило повышение ее уровня по сравнению с группой 2, а также изменения в субпопуляционном составе. Так, у пациентов с повышенным содержанием В1-клеток памяти отмечено снижение в 1,3 раза

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ В-ЛИМФОЦИТОВ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ УРОВНЯ В1-КЛЕТОК ПАМЯТИ

TABLE 1. CONTENT OF B LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN POST-COVID PATIENTS WITH A VIOLATION OF THE LEVEL OF B1 MEMORY CELLS

Показатели иммунной системы Immune system indicators	Группа 1. Постковидные пациенты с повышенным уровнем В1-клеток памяти Group 1. Post-COVID patients with increased levels of B1 memory cells n = 15	Группа 2. Постковидные пациенты с нормальным уровнем В1-клеток памяти Group 2. Post-COVID patients with normal levels of B1 memory cells n = 83
В-лимфоциты клетки памяти общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD27⁺), отн. (%) Memory cell B lymphocytes, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD27 ⁺), rel. (%)	6,74±0,93*	2,77±0,19
В-лимфоциты клетки памяти общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD27⁺), абс. (10⁶ кл/л) B lymphocytes, memory cells, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD27 ⁺), abs. (10 ⁶ cell/L)	168,13±33,34*	61,43±4,92
В-лимфоциты не клетки памяти общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺), отн. (%) B lymphocytes, not memory cells, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺), rel. (%)	3,207±0,530*	7,75±0,50
В-лимфоциты не клетки памяти общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺), абс. (10⁶ кл/л) B lymphocytes, not memory cells, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺), abs. (10 ⁶ cell/L)	69,80±10,13*	169,30±12,75
В1-лимфоциты клетки памяти (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺), отн. (%) B1 lymphocytes, memory cell (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺), rel. (%)	6,21±0,86*	0,37±0,04
В1-лимфоциты клетки памяти (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺), абс. (10⁶ кл/л) B1 lymphocytes, memory cell (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺), abs. (10 ⁶ cell/L)	154,80±30,56*	7,67±0,77
В1-лимфоциты общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺), отн. (%) B1 lymphocytes, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺), rel. (%)	8,17±0,75*	2,02±0,16
В1-лимфоциты общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺), абс. (10⁶ кл/л) B1 lymphocytes, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺), abs. (10 ⁶ cell/L)	196,20±29,13*	42,47±3,46
В2-лимфоциты клетки памяти (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺), отн. (%) Memory cell B2 lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺), rel. (%)	0,53±0,10*	2,46±0,17
В2-лимфоциты клетки памяти (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺), абс. (10⁶ кл/л) Memory cell B2 lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺), abs. (10 ⁶ cell/L)	13,07±3,18*	54,69±4,52
В2-лимфоциты не клетки памяти (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁻), отн. (%) B2 lymphocytes are not memory cells (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁻), rel. (%)	1,25±0,29*	6,06±0,41

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

Показатели иммунной системы Immune system indicators	Группа 1. Постковидные пациенты с повышенным уровнем В1-клеток памяти Group 1. Post-COVID patients with increased levels of B1 memory cells n = 15	Группа 2. Постковидные пациенты с нормальным уровнем В1-клеток памяти Group 2. Post-COVID patients with normal levels of B1 memory cells n = 83
В2-лимфоциты не клетки памяти (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁻CD27⁻), абс. (10⁶ кл/л) B2 lymphocytes, not memory cells (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁻), abs. (10 ⁶ cell/L)	25,51±7,55*	134,18±10,81
В2-лимфоциты общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺), отн. (%) B2 lymphocytes, total (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺), rel. (%)	1,78±0,28*	8,53±0,46
В2-лимфоциты общие (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺), абс. (10⁶ кл/л) B2 lymphocytes, total (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺), abs. (10 ⁶ cell/L)	41,93±7,87*	189,0±12,99

Примечание. * – достоверность различий между группами, $p < 0,05$.

Note. *, significance of differences between groups, $p < 0.05$.

Т-регуляторных клеток и в 1,6 раза Т-клеток ранней активации лимфоцитов (CD25⁺) (табл. 2).

При анализе показателей тромбоцитарного роста кроветворения у пациентов с повышенным уровнем В1-клеток памяти выявлено снижение среднего объема тромбоцитов (группа 1: 7,32±0,3; группа 2: 7,99±0,11). Кроме того, у таких больных наблюдается снижение параметров гемоглобина: среднего корпускулярного объема гемоглобина (группа 1: 28,03±0,62; группа 2: 29,67±0,28) и средней концентрации корпуску-

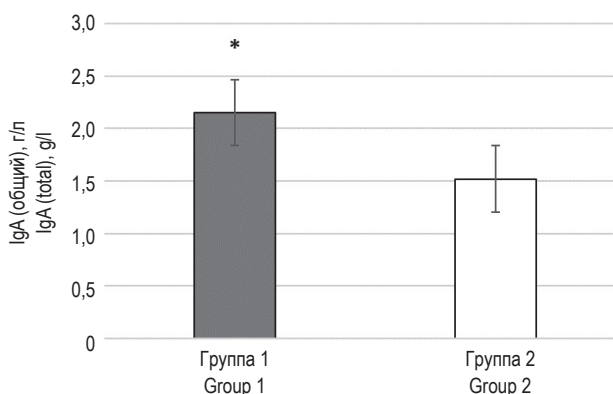


Рисунок 1. Уровень общего IgA у постковидных пациентов с нарушением уровня В1-клеток памяти

Примечание. * – достоверность различий между группами, $p < 0,05$.

Figure 1. Level of total IgA in post-COVID patients with impaired levels of B1 memory cells

Note. *, significance of differences between groups, $p < 0.05$.

лярного гемоглобина (группа 1: 332,27±1,15; группа 2: 340,85±1,12). Данные изменения в системе эритроцитарного и тромбоцитарного роста кроветворения могут способствовать проявлениям гипоксии и нарушению системы свертывания крови.

В целом наше исследование подтверждает литературные данные о наличии устойчивого изменения лимфоцитов после перенесенного COVID-19 [13, 17]. Более того, нами были выделены дистинктные фенотипы по ответу иммунной системы у постковидных больных. В этом ключе интересно сопоставить наши результаты с работой Shuwa H.S. (2021), в которой также было выделено три 3 подгруппы выздоравливающих пациентов на основе различных фенотипов лимфоцитов, при этом выявление одной из них четко ассоциировалось с худшим клиническим исходом [1, 2, 3, 17]. Так, в данной работе группа 1 характеризовалась высокой экспрессией транспортирующих молекул и увеличенной долей наивных В- и Т-клеток; группа 2 – высокой долей IgA⁺ и IgG⁺, В-клеток и В-клеток памяти (как переключаемых, так и не переключаемых); а группа 3 показала повышенное содержание цитотоксических Т-клеток, CD8⁺TEMRA и цитокинов типа 1 как CD8⁺, так и CD4⁺Т-клеток и характеризовалась худшей клинической картиной [17].

Интересно, что пациенты группы 2 (наиболее близкой к выявленной нами) по анамнестическим и демографическим характеристикам не отличались от группы 3, но имели существенно

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ УРОВНЯ В1-КЛЕТОК ПАМЯТИ

TABLE 2. CONTENT OF SUBPOPULATIONS OF T LYMPHOCYTES IN POST-COVID PATIENTS WITH A VIOLATION OF THE LEVEL OF B1 MEMORY CELLS

Показатели иммунной системы Immune system indicators	Группа 1. Постковидные пациенты с повышенным уровнем В1-клеток памяти Group 1. Post-COVID patients with increased levels of B1 memory cells n = 15	Группа 2. Постковидные пациенты с нормальным уровнем В1-клеток памяти Group 2. Post-COVID patients with normal levels of B1 memory cells n = 83
Общее число Т-лимфоцитов (CD45⁺CD3⁺CD19⁻), отн. (%) Total number of T lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻), rel. (%)	77,05±1,47*	71,75±0,95
Общее число Т-лимфоцитов (CD46⁺CD3⁺CD19⁻), абс. (10⁶ кл/л) Total number of T lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻), abs. (10 ⁶ cell/L)	1806,33±161,03*	1576,26±63,78
Т-лимфоциты (CD45⁺CD3⁺CD4⁺CD25⁺) ранняя активация, отн. % T lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺) early activation, rel. %	4,51±0,71*	7,63±0,35
Т-лимфоциты (CD45⁺CD3⁺CD4⁺CD25⁺) ранняя активация, абс. (10⁶ кл/л) T lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺) early activation, abs. (10 ⁶ cell/L)	46,20±6,66*	75,52±4,55
Т-регуляторные лимфоциты (CD45⁺CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127⁻) отн. % T regulatory lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻) rel. %	1,63±0,17*	2,16±0,17
Т-регуляторные лимфоциты (CD45⁺CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127⁻) абс. (10⁶ кл/л) T regulatory lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻) (10 ⁶ cell/L)	17,20±1,36*	22,624±1,760

Примечание. * – достоверность различий между группами, p < 0,05.

Note. *, significance of differences between groups, p < 0.05

более благоприятную (по данным рентгена) клиническую картину. В силу этого можно говорить, что именно особенности иммунного ответа являлись фактором, определяющим процесс выздоровления.

По-видимому, у пациентов, с повышенным уровнем В1-клеток памяти сформировался особый тип нарушения иммунной системы, заключающийся в дезорганизации переключения В-лимфоцитов с синтеза IgM на IgG и IgA, что привело к резкому снижению В2-субпопуляций лимфоцитов. Возможно, такое нарушение связано с резким снижением Т-регуляторных лимфоцитов и Т-лимфоцитов, отвечающих за регуляцию дифференцировки В-лимфоцитов с клеток, несущих IgM-рецепторы, на клетки, синтезирующие IgG и IgA (Т-лимфоцитов ранней активации,

несущих маркер к IL-2). Необходимо отметить, что представленность изотипов Ig среди популяции В-клеток памяти, специфичных для SARS-CoV-2, меняется со временем [8], что является как ограничением данного исследования, так и причиной возможных расхождений с другими авторами, которые исследовали больных в другие временные периоды.

В целом настоящее исследование подтверждает данные о наличии фенотипических и функциональных изменений в В- и Т-клетках по всей траектории иммунного ответа и выявляет комплекс изменений лимфоцитов у выздоравливающих пациентов с COVID-19 [17], который может быть ассоциирован с развитием долгосрочных осложнений в виде антипатогенных или аутово-

спалительных реакций и требовать адресной иммунокоррекции.

Выводы

1. У 15,3% пациентов с постковидным синдромом нарушения иммунной системы выявляется резкое увеличение В1-клеток памяти.

2. Повышение В1-клеток памяти сопровождается увеличением В1-общих клеток (за счет В1-клеток памяти), уровня общих Т-лимфоцитов, уровня IgA, но резко снижается В-лимфоцитов

не клеток памяти, В2-лимфоцитов как клеток памяти, так и не клеток памяти, уровень натуральных киллеров, Т-регуляторных клеток, Т-клеток ранней активации лимфоцитов (CD25⁺), уровень С3а-фрагмента комплемента.

3. У больных с повышенным содержанием В1-клеток памяти также наблюдается снижение параметров гемоглобина и тромбоцитов.

4. Все эти изменения формируют новый, неизвестный ранее фенотип повреждения иммунной системы у постковидных пациентов.

Список литературы / References

1. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш. Исследование нарушения натуральных киллеров у пациентов, перенесших Covid-19 // Российский иммунологический журнал 2022. Т. 25, № 2. С. 161-166. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh. Study of natural killer cell dysfunction in post-Covid-19 patients. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology* 2022, Vol. 25, no. 2, pp. 161-166. (In Russ.). doi: 10.46235/1028-7221-1132-ION.
2. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш., Зурочка В.А., Ху Д., Рябова Л.В., Сарапульцев А.П. Исследование экспрессии CD45⁺ и CD46⁺ на субпопуляциях лимфоцитов периферической крови постковидных пациентов // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 431-436. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh., Zurochka V.A., Khu D., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Study of CD45⁺ and CD46⁺ expression on subpopulations of peripheral blood lymphocytes in post-COVID patients. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 431-436. (In Russ.). doi: 10.46235/1028-7221-1160-SOC.
3. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш., Семенова Д.А. Оценка взаимосвязи нарушения цитотоксических Т-лимфоцитов с другими компартментами иммунной системы у постковидных пациентов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2022. Т. 19, № 3. С. 294-303. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Luo S., Semenova D.A. Evaluation of the relationship between cytotoxic T-lymphocyte disorders and other compartments of the immune system in post-covid patients. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 294-303. (In Russ.)]
4. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in biomedical research]. Ekaterinburg: RIO, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018. 720 p.
5. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал, 2014, Т. 8 (17), № 4. С. 974-992. [Khaidukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan A.A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorometer-analyzers". *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 974-992. (In Russ.)]
6. Agergaard J., Ullahammer W.M., Gunst J.D., Østergaard L., Schiøttz-Christensen B. Characteristics of a danish post-COVID cohort referred for examination due to persistent symptoms six months after mild acute COVID-19. *J. Clin. Med.*, 2022, Vol. 11, no. 24, 7338. doi: 10.3390/jcm11247338.
7. Chippa V, Aleem A, Anjum F. Post Acute Coronavirus (COVID-19) Syndrome. 2023 Feb 3. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.
8. Dan J.M., Mateus J., Kato Y., Hastie K.M., Yu E.D., Faliti C.E., Grifoni A., Ramirez S.I., Haupt S., Frazier A., Nakao C., Rayaprolu V., Rawlings S.A., Peters B., Krammer F., Simon V., Saphire E.O., Smith D.M., Weiskopf D., Sette A., Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*, 2021, Vol. 371, no. 6529, eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063.
9. Files J.K., Boppana S., Perez M.D., Sarkar S., Lowman K.E., Qin K., Sterrett S., Carlin E., Bansal A., Sabbaj S., Long D.M., Kutsch O., Kobie J., Goepfert P.A., Erdmann N. Sustained cellular immune dysregulation in individuals recovering from SARS-CoV-2 infection. *J. Clin. Invest.*, 2021, Vol. 131, no. 1, e140491. doi: 10.1172/JCI140491.
10. Jimeno-Almazán A., Pallarés J.G., Buendía-Romero Á., Martínez-Cava A., Franco-López F., Sánchez-Alcaraz Martínez B.J., Bernal-Morel E., Courel-Ibáñez J. Post-COVID-19 Syndrome and the Potential Benefits of Exercise. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, Vol. 18, no. 10, 5329. doi: 10.3390/ijerph18105329.
11. Kadir M., Ahmad T., Bass J. Post-COVID Sequelae: From Lung Disease to Long Disease. *Cureus*, 2023, Vol. 15, no. 3, e35668. doi: 10.7759/cureus.35668.

12. Kang C.K., Kim M., Hong J., Kim G., Lee S., Chang E., Choe P.G., Kim N.J., Kim I.S., Seo J.Y., Song D., Lee D.S., Shin H.M., Kim Y.W., Lee C.H., Park W.B., Kim H.R., Oh M.D. Distinct immune response at 1 year post-COVID-19 according to disease severity. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 830433. doi: 10.3389/fimmu.2022.830433.
13. Laidlaw B.J., Ellebedy A.H. The germinal centre B cell response to SARS-CoV-2. *Nat. Rev. Immunol.*, 2022, Vol. 22, no. 1, pp. 7-18.
14. Munblit D., Nicholson T., Akrami A., Apfelbacher C., Chen J., de Groot W., Diaz J.V., Gorst S.L., Harman N., Kokorina A., Olliaro P., Parr C., Preller J., Schiess N., Schmitt J., Seylanova N., Simpson F., Tong A., Needham D.M., Williamson P.R.; PC-COS project steering committee. A core outcome set for post-COVID-19 condition in adults for use in clinical practice and research: an international Delphi consensus study. *Lancet Respir. Med.*, 2022, Vol. 10, no. 7, pp. 715-724.
15. Phetsouphanh C., Darley D.R., Wilson D.B., Howe A., Munier C.M.L., Patel S.K., Juno J.A., Burrell L.M., Kent S.J., Dore G.J., Kelleher A.D., Matthews G.V. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat. Immunol.*, 2022, Vol. 23, pp. 210-216.
16. Proal A.D., VanElzakker M.B. Long COVID or post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): An overview of biological factors that may contribute to persistent symptoms. *Front. Microbiol.*, 2021, Vol. 12, 698169. doi: 10.3389/fmicb.2021.698169.
17. Shuwa H.A., Shaw T.N., Knight S.B., Wemyss K., McClure F.A., Pearmain L., Prise I., Jagger C., Morgan D.J., Khan S., Brand O., Mann E.R., Ustianowski A., Bakerly N.D., Dark P., Brightling C.E., Brij S.; CIRCO; Felton T., Simpson A., Grainger J.R., Hussell T., Konkel J.E., Menon M. Alterations in T and B cell function persist in convalescent COVID-19 patients. *Med*, 2021, Vol. 2, no. 6, pp. 720-735.e4.
18. Turner J.S., Day A., Alsoussi W.B., Liu Z., O'Halloran J.A., Presti R.M., Patterson B.K., Whelan S.P.J., Ellebedy A.H., Mudd P.A. SARS-CoV-2 viral RNA shedding for more than 87 days in an individual with an impaired CD8⁺ T cell response. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 11, 618402. doi:10.3389/fimmu.2020.618402.
19. Turner J.S., Kim W., Kalaidina E., Goss C.W., Rauseo A.M., Schmitz A.J., Hansen L., Haile A., Klebert M.K., Pusic I., O'Halloran J.A., Presti R.M., Ellebedy A.H. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. *Nature*, 2021, Vol. 595, no. 7867, pp. 421-425.

Авторы:

Добрынина М.А. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург; доцент кафедры терапии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Зурочка А.В. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург; заведующий лабораторией иммунобиотехнологии Российско-Китайского Центра ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», г. Челябинск, Россия

Authors:

Dobrynina M.A., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg; Associate Professor, Department of Therapy of the University of Innovation and Continuing Education, A. Burnazyan Russian State Research Center — Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russian Federation

Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Honored Worker of Science of the Russian Federation, Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg; Head, Immunobiotechnology Laboratory of the Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

Комелькова М.В. — д.б.н., заведующая лабораторией системной патологии и перспективных лекарственных средств научно-образовательного Российско-китайского центра системной патологии ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», г. Челябинск; профессор ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Зурочка В.А. — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург; старший научный сотрудник лаборатории биотехнологий Российско-Китайского Центра ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», г. Челябинск, Россия

Сарапульцев А.П. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург; директор научно-образовательного Российско-китайского центра системной патологии ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», г. Челябинск, Россия

Komelkova M.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Systemic Pathology and Promising Medicines of Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk; Professor, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg; Senior Research Associate, Laboratory of Immunobiotechnology, Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

Sarapultsev A.P., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg; Director, Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 12.05.2023
Принята к печати 29.06.2023

Received 12.05.2023
Accepted 29.06.2023