

ДИНАМИКА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К SARS-COV-2 В ПРОФЕССИОНАЛЬНО ОДНОРОДНОЙ ГРУППЕ ЛЮДЕЙ ЗА ДВУХЛЕТНИЙ ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПЕРИОД COVID-19

В. Г. Помелова , Т. А. Быченкова, Н. И. Бекман, Н. С. Осин, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин

Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Для оперативного мониторинга состояния системы иммунитета при COVID-19 важно контролировать уровень специфических IgG к SARS-CoV-2. Однако неясно, какой уровень антител и насколько долго может обеспечить защиту от нового заражения. Целью работы было оценить в двухлетнем контролируемом обследовании динамику уровней IgG к SARS-CoV-2. В исследовании участвовали здоровые лица ($n = 70$), переболевшие COVID-19 ($n = 42$) и вакцинированные «Спутником V» ($n = 43$). Период наблюдения: апрель 2020 г. — апрель 2022 г. IgG выявляли в сыворотке крови ($n = 312$) на иммуночипе и в коммерческом тесте. Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни для $p \leq 0,05$. Уровни IgG у переболевших (медиана 97,1; 95% ДИ: 80–162 BAU/мл) и вакцинированных (103,1; 78–139 BAU/мл) были достоверно выше, чем у здоровых людей (4,3; 4,1–4,5 BAU/мл). Напряженность иммунного ответа значительно возросла после вакцинации переболевших (до 1023; 657–1191 BAU/мл) или введения бустера вакцинированным (413; 213–545 BAU/мл). У реконвалесцентов старшего возраста (60+) уровень IgG достоверно выше, у вакцинированных — достоверно ниже, чем у людей моложе 60. IgG у вакцинированных снижались быстрее (через 3–4 месяца), чем у переболевших, а через 5–9 месяцев стабилизировались на уровне <100 BAU/мл у 60% обследованных. Таким образом, показатели напряженности и продолжительности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных людей сильно варьируют в зависимости от возраста, срока наблюдения, дополнительной вакцинации / ревакцинации. За весь период наблюдений отмечено три случая заболевания после полного цикла вакцинации, в том числе у ранее переболевшего (а затем вакцинированного) человека.

Ключевые слова: COVID-19, IgG, SARS-CoV-2, динамика иммунного ответа, пациенты, возраст, вакцина «Спутник V», иммуночип

Благодарности: сотрудникам ФГУП «ГосНИИБП» Т. А. Канаевой — за постановку анализа на иммуночипе; А. С. Балабану — за печать антигенов на наноплоттере и подготовку иммуночипа к работе; О. Б. Стаднику — за организацию сбора и тестирования образцов сывороток в коммерческом тесте.

Вклад авторов: В. Г. Помелова — идея, дизайн экспериментов, подготовка рукописи; Т. А. Быченкова — руководство проведением иммунохимических исследований на иммуночипе, обработка результатов; Н. И. Бекман — статистический анализ, подготовка иллюстративного материала; Н. С. Осин — организация технической части исследований, анализ и обсуждение результатов, корректировка рукописи; Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин — анализ и обсуждение результатов, корректировка рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим отделом ФГУП «ГосНИИБП» (протокол № 4 от 09 июня 2021 г.). Все участники подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

 **Для корреспонденции:** Вера Гавриловна Помелова
Волоколамское шоссе, д. 75, корпус 1, г. Москва, 125424, Россия; v.pomelova@immunoscreen.ru

Статья получена: 19.05.2022 **Статья принята к печати:** 04.06.2022 **Опубликована онлайн:** 16.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.020

DYNAMICS OF HUMORAL IMMUNITY TO SARS-COV-2 IN THE PROFESSIONALLY HOMOGENEOUS GROUP OF PEOPLE OVER A TWO-YEAR PERIOD OF COVID-19 OUTBREAK

Pomelova VG , Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS, Ishkov YuN, Styazhkin KK

State Research Institute of Biological Instrumentation of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

It is important to control the levels of specific IgG against SARS-CoV-2 to ensure the timely monitoring of immunity in patients with COVID-19. Yet it is unclear what antibody levels protect against new infection and how long the protection is maintained. The study was aimed to assess the dynamic changes in the levels of IgG against SARS-CoV-2 by the two-year controlled observation. Healthy individuals ($n = 70$), COVID-19 survivors ($n = 42$), and people vaccinated with Sputnik V ($n = 43$) were enrolled. They were followed-up from April 2020 to April 2022. Serum IgG levels were defined ($n = 312$) using immunochip and the commercially available test system. Significance of differences was estimated using the Mann-Whitney U test for $p \leq 0.05$. IgG levels in the disease survivors (median 97.1; 95% CI: 80–162 BAU/mL) and vaccinated individuals (103.1; 78–139 BAU/mL) were significantly higher than in healthy people (4.3; 4.1–4.5 BAU/mL). Intensity of immune response significantly increased after vaccination of the disease survivors (up to 1023; 657–1191 BAU/mL) or administration of booster dose to vaccinated individuals (413; 213–545 BAU/mL). In elderly convalescents (60+), IgG levels were significantly higher, and in vaccinated people these were significantly lower, than in people under the age of 60. IgG levels decreased faster in vaccinated individuals (after 3–4 months), than in the disease survivors, and stabilized at <100 BAU/mL in 60% of subjects within 5–9 months. Thus, intensity and duration of immune response in COVID-19 survivors and vaccinated people vary significantly depending on age, observation period, and additional vaccinations/revaccinations. Three cases of infection after full vaccination were reported over the entire follow-up period, including infection in a patient having a history of the disease and subsequent vaccination.

Keywords: COVID-19, IgG, SARS-CoV-2, dynamics of immune response, patients, age, Sputnik V vaccine, immunochip

Acknowledgements: we would like to thank staff members of the State Research Institute of Biological Instrumentation: Kanaeva TA for carrying out immunochip-based analysis, Balaban AS for antigen printing with nanoplotter and immunochip preparation for analysis, Stadnik OB for management of the serum samples acquisition and testing using commercially available immunoassay kit.

Author contribution: Pomelova VG — concept, experimental design, manuscript writing; Bychenkova TA — management of immunochip-based immunochemistry studies, data processing; Bekman NI — statistical analysis, preparation of illustrations; Osin NS — providing technical assistance, data analysis and discussion, manuscript editing; Ishkov YuN, Styazhkin KK — data analysis and discussion, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the State Research Institute of Biological Instrumentation (protocol № 4 dated June 09, 2021). The informed consent was submitted by all subjects.

 **Correspondence should be addressed:** Vera G. Pomelova
Volokolamskoe shosse, 75, corp. 1, Moscow, 125424, Russia; v.pomelova@immunoscreen.ru

Received: 19.05.2022 **Accepted:** 04.06.2022 **Published online:** 16.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.020

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), объявленная ВОЗ в марте 2020 г., потребовала серьезных усилий со стороны органов здравоохранения разных стран, в том числе России, по организации надзора за заболеваемостью и принятию мер по снижению риска заражения. С эпидемиологических позиций наиболее надежную защиту обеспечивает формирование коллективного иммунитета, который формируется либо естественным путем за счет возрастания в популяции доли невосприимчивых лиц, перенесших инфекцию в той или иной форме, либо благодаря вакцинации.

Для оперативного мониторинга состояния системы иммунитета целесообразно контролировать уровень циркулирующих антител класса IgG [1, 2]. Для этой цели необходимо использовать зарегистрированные тест-системы, позволяющие количественно определить уровень антител против разных антигенов коронавируса (S, S1, RBD, N). Считается, что уровень антител к рецепторсвязывающему домену (RBD) S1-субъединицы шипового белка S наилучшим образом коррелирует с титром вируснейтрализующих антител, измеренных в реакции биологической нейтрализации [3].

Вместе с тем, до настоящего времени неясно, какой уровень антител может обеспечить достаточную защиту при встрече пациента с тем же, и, особенно, с новым вариантом коронавируса SARS-CoV-2, и как долго сохраняется необходимый уровень защиты после перенесенной инфекции или в результате вакцинации [4]. Показатели напряженности и длительности иммунитета сильно варьируют у пациентов [5] и в значительной степени зависят от пола, возраста, тяжести течения COVID-19 [6–9].

Изучение динамики гуморального иммунного ответа ограничивается, в основном, 6–8 месяцами после начала заболевания или вакцинации [5, 8, 9]. В связи с этим необходимы более продолжительные наблюдения для оценки индивидуальных особенностей формирования протективного иммунитета как основы для прогнозирования будущих тенденций в развитии пандемии [10], разработки персонализированных протоколов вакцинации [8] и лечения.

Представляется актуальным получить сведения о формировании и поддержании уровня IgG-антител к вирусу SARS-CoV-2 за наиболее продолжительный из описанных в литературе двухлетний период наблюдений.

Цель работы — оценить динамику уровней IgG к SARS-CoV-2 в двухлетнем контролируемом наблюдении сотрудников Государственного научно-исследовательского института биологического приборостроения и установить факторы, влияющие на напряженность и продолжительность гуморального иммунного ответа.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Работа выполнена в лаборатории молекулярной диагностики ФГУП «ГосНИИБП» в период с апреля 2020 г. по апрель 2022 г. В обследование включены 77 сотрудников института и 8 членов их семей, заболевших COVID-19 или прошедших вакцинацию в указанный период. Включение «семейных» случаев было обосновано возможностью расширения возрастного диапазона (16–88 лет) при оценке уровня и динамики IgG у переболевших и вакцинированных людей, а также установлением вероятных особенностей течения заболевания между совместно проживающими

родственниками. Критерии включения: документально подтвержденный факт заболевания COVID-19 или вакцинации / ревакцинации (выписка из истории болезни, сертификат о профилактических прививках). Критерии исключения: неполная информация о пациенте; ошибка в маркировке или неадекватный вид образцов сыворотки (гемолиз, высыхание, микробный прирост).

Обследуемых (всего 155 человек) разделили на три группы (табл. 1): контрольная группа А — условно здоровые доноры (70 человек, сыворотки от которых были получены до начала пандемии для выполнения другого проекта [11]); группа Б — реконвалесценты (переболели COVID-19, не были вакцинированы до начала заболевания); группа В — вакцинированные (не болели COVID-19 до вакцинации, вакцинированы двумя дозами вакцины «Спутник V»).

В группе Б 24 из 42 (57,1%) переболевших прошли полный цикл вакцинации «Спутником V» через 6–22 (в среднем 13,5) месяца после начала заболевания; из них 3 человека позже были вакцинированы дополнительно «Спутником Лайт» (подгруппа Б + В).

В группе В 14 из 43 (32,6%) человек были ревакцинированы (РВ) бустерными дозами одной из вакцин (через 6–9 месяцев после введения первой дозы вакцины «Спутник V»): «Спутник V» — две дозы (8 человек), «Спутник Лайт» (4 человека) или «Ковивак» — две дозы (2 человека) (подгруппа В + РВ).

Все перечисленные выше вакцины: «Спутник V», «Спутник Лайт» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи», Россия), Ковивак (ФГАНУ ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова; Россия) зарегистрированы и разрешены к применению на территории Российской Федерации. Вакцинацию проводил медицинский работник в соответствии с инструкциями производителя.

Выделенные группы не различались статистически значимо по полу (всего 71 мужчина и 84 женщины) и возрасту (в среднем 52 года, диапазон от 16 до 88 лет).

От каждого участника получено от 1 до 12 порций сывороток крови, в том числе до начала заболевания (или вакцинации) и на разных сроках после начала заболевания (или введения первой дозы вакцины); всего 312 сывороток (табл. 1). До исследования аликвоты сыворотки хранили при –20 °С.

Согласно истории болезни (с учетом продолжительности госпитализации и степени поражения легких по результатам компьютерной томографии) среднетяжелое и тяжелое течение COVID-19 установлено у 11 из 42 (26,2%) заболевших группы Б; остальные перенесли заболевание в легкой форме.

Определение IgG к SARS-CoV-2

В 99 из 312 (31,7%) сывороток содержание IgG измерено иммунохемилюминесцентным методом на иммунохимическом анализаторе ARCHITECT i1000sr («Эббот лабораториз»; США) с помощью Набора «SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit» («Эббот Ирландия Диагностическое подразделение»; Ирландия). Анализ был выполнен в компании INVITRO (Москва).

В 312 (100%) образцах сыворотки содержание IgG измерено на экспериментальном иммуночипе (ФГУП «ГосНИИБП»), разработанном на основе отечественной патентнозащищенной технологии фосфоресцентного анализа ФОСФАН, предназначенной для выявления маркеров инфекционных и соматических заболеваний [11–13]. Иммуноанализ проводили в лунках стандартных

Таблица 1. Общая характеристика участников обследования

Группа (число) обследованных	Шифр группы	Период заболевания или вакцинации	Число		Средний возраст (диапазон), лет	Число исследованных образцов сыворотки
			мужчин	женщин		
Условно здоровые (70)	З	Нет	30	40	50 (20–64)	70
Перенесшие COVID-19 (42)	Б	04.2020 – 10.2021	22	20	50 (16–78)*	132
Из них вакцинированы «Спутником V» через 6–22 мес после начала заболевания (24)**	Б + В	02.2021 – 11.2021	12	12	49 (21–78)*	32
Вакцинированные (43)	В	12.2020 – 09.2021	19	24	55 (26–88)*	110
Из них ревакцинированы (14)***	В + РВ	07.2021 – 01.2022	8	6	61 (38–76)*	14
Всего (155)		04.2020 – 01.2022	71	84	52 (16–88)*	312

Примечания: * — крайние точки возрастного диапазона (16, 76, 78, 88 лет) принадлежат членам семей сотрудников Института; ** — в том числе 3 человека были ревакцинированы «Спутником Лайт» примерно через 6 месяцев после введения первой дозы вакцины «Спутник V»; *** — введен бустер: «Спутник V», 2 дозы (8 человек), «Спутник Лайт» (4 человека) или «Ковивак», 2 дозы (2 человека) через 6–9 месяцев после введения первой дозы вакцины «Спутник V».

полистироловых микропланшетов аналогично методу твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). В отличие от ИФА, на дне каждой лунки напечатаны восемь микрозон (диаметром 0,5 мм каждая), по четыре микрозоны на каждый из двух антигенов: рекомбинантный SARS-CoV-2 белок S-RBD: «уханьский» вариант (кат. № ATMP02479COV; AtaGenix, Китай) и рекомбинантный SARS-CoV-2 белок S-RBD (L452R, T478K): вариант B.1.617.2, Дельта (код: YP-009724390.1, кат. № ATMP02527COV; AtaGenix, Китай).

Образцы сыворотки в разведении 1 : 100 вносили по 50 мкл в лунки микропланшета. После инкубации в течение 1,5 ч вносили по 50 мкл моноклональных антител против IgG человека («СОРБЕНТ»; Россия), биотинилированных (100 нг/50 мкл, инкубация 1 ч) и по 40 мкл конъюгата стрептавидина (Sigma-Aldrich; США) с платинопропорфирином (13 нг/40 мкл, инкубация 30 мин). Все стадии выполняли при комнатной температуре и встряхивании на шейкере. Между стадиями проводили трехкратную промывку микропланшета буферным раствором, а на финальной стадии — дополнительную трехкратную промывку дистиллированной водой. Микропланшет высушивали и измеряли интенсивность флуоресценции на приборе-индикаторе ИФИ-05 («Иммуноскрин», Россия; РУ № РЗН от 21 января 2022 г.) путем сканирования dna лунок в режиме временного разрешения.

Концентрацию IgG рассчитывали (в BAU/мл) по калибровочным кривым для каждого из двух антигенов иммуночипа. Калибровочные пробы были аттестованы относительно первого международного стандарта ВОЗ. Диапазон измерений: 0–10000 BAU/мл. Качество измерений контролировали с использованием положительной контрольной сыворотки (от переболевшего COVID-19 человека) с уровнем IgG примерно 500 BAU/мл и отрицательной контрольной сыворотки (приготовлена на основе сыворотки, полученной от условно здорового донора до начала пандемии; по данным тестирования в коммерческом тесте не содержит IgG к SARS-CoV-2), которые включали в каждую постановку анализа. Результат исследования пробы считали положительным (антитела выявлены) при содержании IgG $\geq 10,0$ BAU /мл.

Статистическая обработка

Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных программ Microsoft Office Professional Plus Excel 2013 версии 15.0.4727.1000 (Microsoft; США) и MedCalc версии 10 (MedCalc Software; Бельгия) с использованием параметрических и непараметрических методов анализа данных. Степень корреляции результатов оценивали по методу Пирсона, а

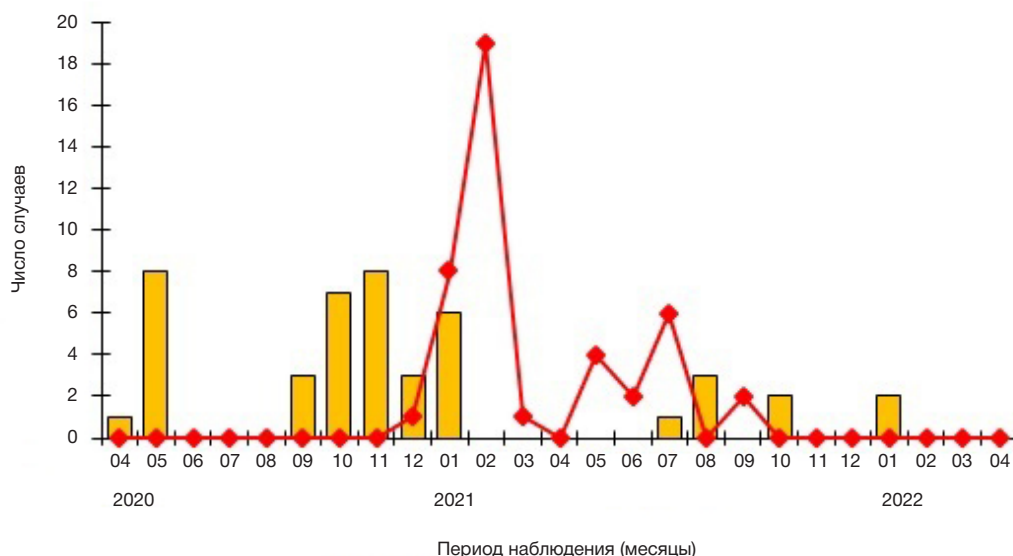


Рис. 1. Распределение числа заболевших COVID-19 (гистограммы) и вакцинированных «Спутником V» (график) по месяцам в течение двухлетнего периода наблюдений

Таблица 2. Уровень IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке в зависимости от пола и возраста участников обследования

Группа	Показатель	Число проб	Медиана [95% ДИ] уровня IgG, BAU/мл	Значение <i>p</i>
Б: перенесшие COVID-19	Пол:			
	мужской	44	83,1 [56,5–106,7]	0,2099
	женский	39	160,1 [85,9–225,7]	
	Возраст, лет:			
	≥ 60	26	162,8 [95,9–241,2]*	0,0268
	< 60	57	84,4 [55,6–128,5]*	
В: вакцинированные	Пол:			
	мужской	19	79,7 [35,7–143,4]	0,1104
	женский	33	117,7 [86,6–224,5]	
	Возраст, лет:			
	≥ 60	22	77,4 [25,9–99,6]*	0,0191
	< 60	30	137,0 [101,8–228,1]*	

Примечания: ДИ — доверительный интервал; * — различия между группами статистически значимы.

достоверность различий — по критерию Манна–Уитни для уровня значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлена высокая степень корреляции между уровнями IgG, измеренными в коммерческом тесте и на иммуночипе с «уханским» вариантом SARS-CoV-2 ($r = 0,933363$; $N = 99$) или вариантом Дельта ($r = 0,928544$; $N = 99$) коэффициент корреляции результатов между двумя вариантами вируса составил 0,978057 ($N = 312$). С учетом этого результаты выявления IgG представлены только для иммуночипа с «уханским» вариантом вируса.

Распределение случаев заболевания COVID-19 среди участников обследования представлено на рис. 1. Первые случаи зарегистрированы в апреле 2020 г. с максимальным

числом заболевших в мае того же года. С сентября 2020 г. по январь 2021 г. отмечена вторая волна подъема заболеваемости: заболели 27 из 42 (64,3%) человек группы Б. С июля по октябрь 2021 г. заболели шесть человек; из них пятеро не были вакцинированы, тогда как один ранее переболел COVID-19 и был вакцинирован «Спутником V» через 10 месяцев после выздоровления.

Вакцинация стартовала с конца декабря 2020 г. Уже к апрелю 2021 г. полный цикл вакцинации «Спутником V» прошли 30 из 43 (69,8%), а к октябрю того же года — 100% участников группы В. Два человека этой группы заболели в январе 2022 г. через шесть месяцев после введения первой дозы вакцины (рис. 1).

У людей старшего возраста (60+), перенесших COVID-19, уровень IgG был статистически значимо выше ($p = 0,0268$), чем у людей моложе 60 лет. Наоборот, после

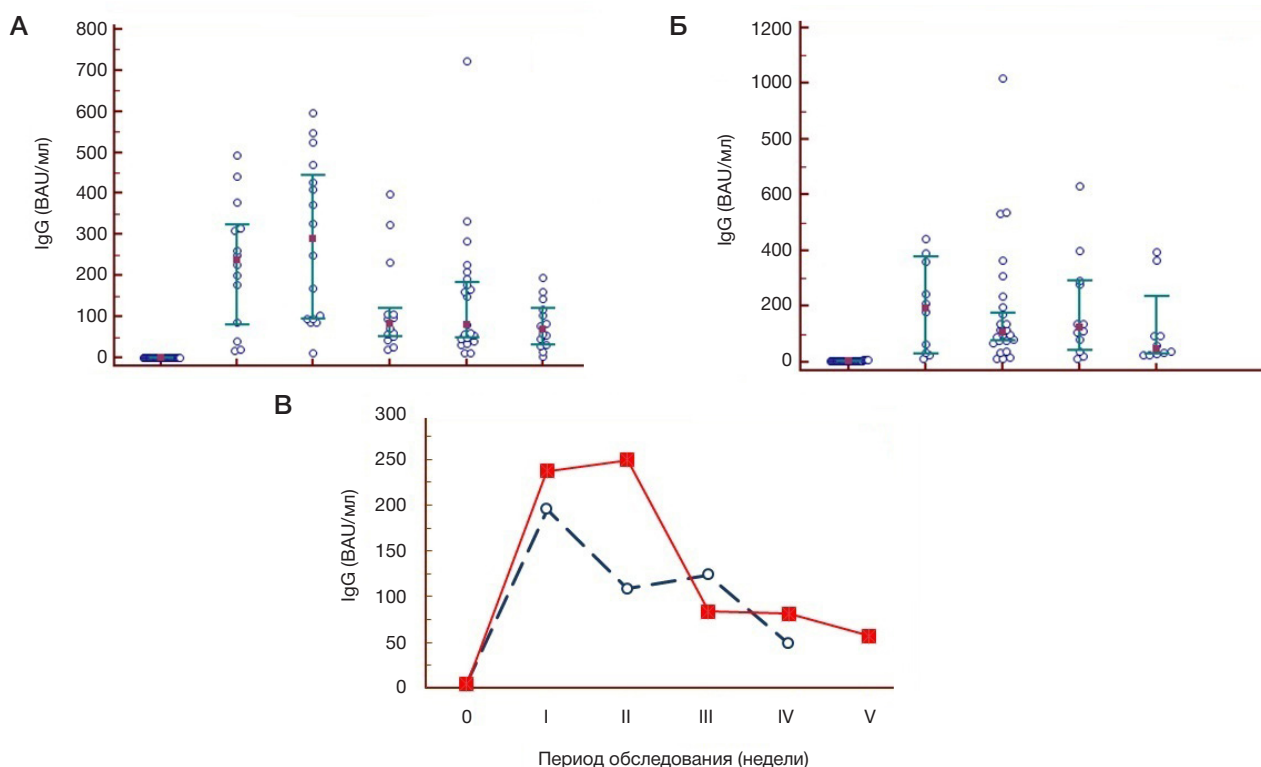


Рис. 2. А. Распределение уровней антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови перенесших COVID-19. 0 — до начала заболевания ($n = 16$); I — 2–8 ($n = 14$); II — 9–16 ($n = 17$); III — 17–24 ($n = 14$); IV — 25–36 ($n = 22$); V — 37–68 ($n = 15$). Б. Распределение уровней антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови вакцинированных «Спутником V» людей. 0 — до начала вакцинации ($n = 38$); I — 6–8 ($n = 10$); II — 9–16 ($n = 24$); III — 17–24 ($n = 12$); IV — 25–36 ($n = 12$). Для А и Б значения медианы (красная точка) даны с указанием 95%-го ДИ. В. Медианные значения IgG за период обследования. 0 — до начала заболевания или вакцинации; I — 2–8 (для переболевших) или 6–8 (для вакцинированных); II — 9–16; III — 17–24; IV — 25–36; V — 37–68. Даны значения медианы уровней IgG у перенесших заболевание (красная линия) и вакцинированных людей (синяя пунктирная линия)

полного цикла вакцинации неболевших людей выявлена статистически значимая отрицательная корреляция с возрастом ($p = 0,0191$). Пол пациента не оказывал статистически значимого влияния на уровень антител (табл. 2).

Большинство заболевших (73,8%) перенесли заболевание в легкой форме. Среднетяжелое и тяжелое течение отмечено у 11 (26,2%) человек. Эти случаи были равномерно распределены по месяцам в течение периода наблюдений. Мужчины тяжело болели чаще (восемь из 22 или 36,4%), чем женщины (три из 20 или 15%); различия, однако, статистически незначимы из-за малого объема выборки. Возраст заболевших с тяжелым течением COVID-19 составил 35–77 лет (в среднем 58 лет). Из восьми тяжело болевших мужчин лишь трое были старшего возраста (70–77 лет), тогда как возраст остальных не превышал 53 лет.

Отмечена высокая гетерогенность уровней антител как у переболевших COVID-19 (рис. 2А), так и у вакцинированных двумя дозами «Спутника V» людей (рис. 2Б), особенно на ранних сроках после начала болезни или введения первой дозы вакцины (рис. 2А, Б).

У вакцинированных уровень IgG снижался постепенно (рис. 2В). Максимальное значение (медиана 195,3; 95% ДИ: 45,5–403,2 BAU/мл) отмечено на 37–55-й день после введения первой дозы вакцины. К 3–4 месяцу уровень антител снизился в два раза (медиана 108,7; 95% ДИ: 75,1–147,2 BAU/мл), а к 7–9 месяцу — в четыре раза (медиана 48,7; 95% ДИ: 29,8–145,7 BAU/мл). У реконвалесцентов отмечен схожий характер снижения IgG (рис. 2В). Исключение составил уровень антител к третьему–четвертому месяцу от начала заболевания. Его значение (медиана 249,8; 95% ДИ: 94,9–427,5 BAU/мл) было статистически значимо выше ($p = 0,029$) по сравнению с вакцинированными на аналогичном сроке после введения первой дозы вакцины. Через 5–9 месяцев содержание антител стабилизировалось на уровне менее 100 BAU/мл (рис. 2В) примерно у 60% обследованных.

В целом, измеренные уровни антител у реконвалесцентов группы Б (медиана 97,1; 95% ДИ: 80–162 BAU/мл) и вакцинированных группы В (медиана 103,1; 95% ДИ: 78–139 BAU/мл) были сопоставимы и статистически значимо выше ($p < 0,0001$), чем у условно здоровых доноров (медиана 4,3; 95% ДИ: 4,1–4,5 BAU/мл). Вакцинация переболевших (подгруппа Б + В) или введение бустера вакцинированным (подгруппа В + РВ) приводили к статистически значимому ($p < 0,0001$) повышению напряженности иммунного ответа: до значений медианы 1023 BAU/мл (95% ДИ: 657–1191) и 413 BAU/мл (95% ДИ: 213–545 BAU/мл) соответственно (рис. 3).

За весь период наблюдений выявлено три «новых» случая заболевания COVID-19 (рис. 1, табл. 3), подтвержденных положительным результатом ПЦР. Заболели три женщины в возрасте 40–43 года. Из них двое ранее не болели COVID-19, одна переболела примерно за 16 месяцев до нового заболевания. Все заболели после полного цикла вакцинации «Спутником V» примерно через шесть месяцев после введения первой дозы вакцины; у всех отмечено легкое течение заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определено достоверное влияние возраста на уровень IgG (табл. 2). У реконвалесцентов старшего возраста (60+) уровень антител был статистически значимо выше, чем у людей моложе 60 лет. Наоборот, у людей не болевших,

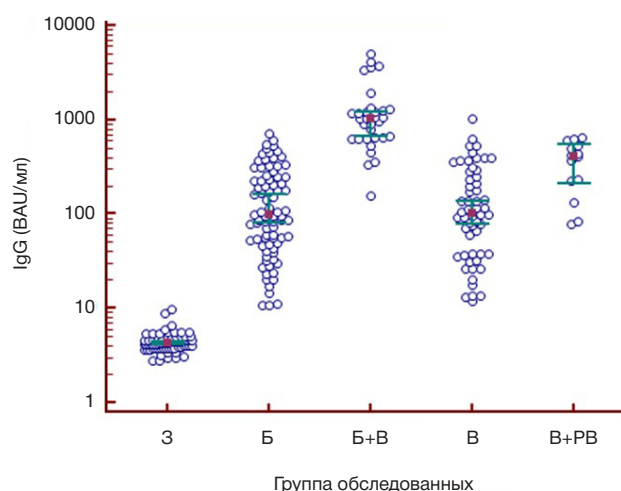


Рис. 3. Распределение уровней IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови участников обследования групп 3 ($n = 70$), Б ($n = 84$), Б + В ($n = 32$), В ($n = 58$) и В + РВ ($n = 14$). Представлены значения медианы (красная точка) с указанием 95%-го ДИ

но прошедших полный цикл вакцинации, отмечена отрицательная корреляция с возрастом. Аналогичные закономерности выявлены и в других работах [6, 7].

Статистически значимое влияние пола на уровень антител при COVID-19 выявить не удалось вследствие ограниченного объема выборки. Вместе с тем, очевидно, что гормональный фон, обусловленный биологическими различиями между мужчинами и женщинами, может влиять на характер иммунного ответа. По нашим данным, уровень антител у мужчин был почти в два раза ниже, чем у женщин (табл. 2), при этом мужчины в два раза чаще, чем женщины, болели COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме.

Эти наблюдения согласуются с результатами исследований репрезентативных выборок пациентов [6, 14, 15]. По некоторым данным, у мужчин отмечен сниженный уровень $CD4^+$ -Т-клеток и $CD19^+$ -В-клеток, играющих ключевую роль в формировании гуморального и клеточного иммунитета в защите от COVID-19 [6]. Это может обусловить замедленное формирование протективных антител к рецепторсвязывающему домену белка S1 коронавируса. У женщин уровень IgG резко возрастал и достигал пика на четвертой неделе после появления клинических симптомов, тогда как у мужчин уровень антител повышался постепенно с пиком на седьмой неделе [6, 14]. Факт замедленного формирования антител в сочетании с комплексом других клинических и биохимических данных позволил рассматривать мужской пол пациента как фактор риска более тяжелого течения COVID-19 и смерти [6, 9].

Нам не удалось проследить влияние тяжести заболевания на уровень и динамику протективного иммунитета, хотя сведения о наличии такой связи имеются [7]. К сожалению, мы располагали только «поздними» образцами, собранными, в основном, не ранее 7–12 месяцев от начала заболевания в связи с отказом сотрудников, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, предоставить образцы вскоре после выздоровления.

Анализ «семейных» случаев заболевания у трех сотрудников Института не выявил каких-то закономерностей в характере течения COVID-19 у совместно проживающих с ними родственников (всего шесть человек), заболевших с интервалом в 2–3 дня. Двое

Таблица 3. Характеристика «новых» случаев заболевания COVID-19 у ранее переболевших и вакцинированных сотрудников

ФИО (группа)	Пол	Возраст	Дата предшествующего заболевания COVID-19	Дата вакцинации и вид (доза) вакцины	Уровень IgG, BAU/мл	Дата нового заболевания COVID-19
РАА (В)	Ж	43	нет	«Спутник V»: 02.05.2021 (1) 23.05.2021 (2)	360,5*	15.10.2021
ЖОА (Б + В)	Ж	40	15.10.2020	«Спутник V»: 18.07.2021 (1) 08.08.2021 (2)	617,2**	31.01.2022
ЗЮН (В)	Ж	43	нет	«Спутник V»: 23.07.2021 (1) 07.08.2021 (2)	37,2***	26.01.2022

Примечания: * — уровень IgG на 42-й день от введения первой дозы вакцины; ** — уровень IgG на 90-й день от введения первой дозы вакцины; *** — уровень IgG на момент начала заболевания.

сотрудников (женщина 63 лет и мужчина 58 лет) перенесли заболевание в легкой форме; из числа их родственников (три человека в возрасте 26–78 лет и два человека 16 и 42 лет, соответственно) только один (78 лет) был госпитализирован в состоянии средней тяжести. Третья сотрудница (62 лет) болела в критически тяжелой форме, однако ее муж (65 лет) перенес заболевание легко.

Напряженность гуморального иммунитета зависела от срока после начала заболевания или введения первой дозы вакцины. Уровень IgG у вакцинированных быстро снижался уже к 3–4 месяцу наблюдений (рис. 2Б), что согласуется с данными литературы [8]. Уровень антител у реконвалесцентов на 3–4 месяце наблюдений был статистически значимо выше ($p = 0,029$), чем у вакцинированных (рис. 2Б). Это обусловлено вкладом сывороток с высоким уровнем антител от пациентов старшего возраста обоих полов, прежде всего мужчин, уровень антител у которых достиг максимальных значений на данном сроке (данные не представлены). Полученные результаты подтверждают вывод о положительной корреляции между возрастом и уровнем IgG у переболевших COVID-19 (табл. 2) и, по-видимому, косвенно свидетельствуют о замедленном формировании протективного иммунитета у мужчин, что было отмечено ранее [6].

В целом, к 5–9 месяцу содержание антител снижалось, стабилизируясь на уровне менее 100 BAU/мл (рис. 2Б) примерно у 60% обследованных, что отмечено и другими [10]. Вместе с тем, выявлены значительные индивидуальные различия в динамике гуморального иммунного ответа между участниками обследования, от которых удалось получить не менее двух порций сывороток. Если у каждого из вакцинированных уровень IgG постепенно снижался, как было отмечено ранее для интегрального показателя по данной группе (рис. 2Б, 2В), то у некоторых пациентов, перенесших COVID-19, уровень протективного иммунитета оставался неизменным до конца периода наблюдений (данные не представлены).

За весь период наблюдений выявлено лишь три «новых» случая заболевания после полного цикла вакцинации «Спутником V» (рис. 1, табл. 3). Люди заболели в легкой форме в октябре 2021 г. и в январе 2022 г., то есть в период доминирования в Москве высококонтагиозных вариантов «Дельта» и «Омикрон» коронавируса с ежедневным приростом заболевших до 9000 и 26 000 человек соответственно [16, 17]. Вместе с общим числом (табл. 1) вакцинированных неболевших (43 человека) и вакцинированных переболевших людей (24) частота заболевания COVID-19 среди вакцинированных составила 4,5%. Эти данные согласуются с известными сведениями

о том, что вакцина «Спутник V» не обеспечивает 100% защиты [18, 19], однако способствует более легкому течению COVID-19 у вакцинированных [20].

Следует отметить, что у одной из трех заболевших после вакцинации пациенток уровень IgG на момент начала заболевания был низким (37,2 BAU/мл). У двух других содержание антител составило 360,5 и 617,2 BAU/мл на 42-й или 90-й день от введения первой дозы вакцины, соответственно (табл. 3), т. е. за 3–4,5 месяца до начала заболевания; этот уровень, однако, мог снизиться в два раза и более к моменту нового заражения, если учитывать динамику IgG у вакцинированных (рис. 2Б). Хотя до настоящего времени неясно, какой уровень антител может обеспечить достаточную защиту при встрече пациента с тем же, и, особенно, с новым вариантом коронавируса SARS-CoV-2 [4], наличие антител, безусловно, не единственный фактор защиты от COVID-19 [9]. Отсутствие новых случаев заболеваний у 95,5% обследованных, среди которых значительная часть была с уровнем циркулирующих антител ниже 100 BAU/мл (рис. 2Б), позволяет согласиться с мнением о том, что длительный протективный иммунитет в значительной степени обеспечивается за счет комплексного взаимодействия факторов гуморального и клеточного иммунитета [5].

Важная особенность работы состоит в использовании иммуночипа, позволяющего оценить уровень антител к рецепторсвязывающим доменам одновременно двух вариантов SARS-CoV-2 («уханьского» и «Дельта»). Результаты приведены для первого варианта, поскольку измеренные с каждым из вариантов уровни антител практически совпадали ($r = 0,978057$). Это позволяет предположить, что иммунный ответ у переболевших COVID-19 и вакцинированных «Спутником V» обеспечивает эффективную защиту от обоих вариантов, что было отмечено ранее [21]. Вместе с тем, такое совпадение установлено только для сывороток пациентов, заболевших с апреля 2020 г. по январь 2021 г., т. е. в первые две волны подъема заболеваемости среди сотрудников (рис. 1), когда заболевания COVID-19 были в значительной мере обусловлены «уханьским» (референсным) и местными российскими вариантами вируса [22, 23]. У заболевших с июля по октябрь 2021 г. (третья волна заболеваемости на рис. 1) отмечен не менее чем в два раза более высокий уровень антител к варианту Дельта, который в тот период доминировал в популяции [17, 23].

Повышение мультиплексности анализа и, как следствие, его информативности — это общемировая тенденция, связанная с возможностью объединения нескольких тестов в едином формате за счет миниатюризации и создания микроэррезов высокой плотности. Сложные мультиплексные

технологии на основе методов хемилюминесценции и проточной цитофлуориметрии (например, тесты компаний Мерк, Люминекс и др.) обеспечивают возможность одновременного выявления до 100 различных маркеров и наиболее хорошо подходят для оценки комплексного ответа иммунной системы при изучении различных аспектов COVID-19 [24, 25]. Вместе с тем, такие тесты дорогостоящие, требуют сложного оборудования и высокой квалификации оператора.

На наш взгляд, для целей мониторинга преимущества имеют более простые и экономичные тесты, такие как ФОСФАН. Действительно, совокупность полученных данных (высокая степень корреляции с коммерческим тестом, выявление особенностей связывания специфических антител с рецепторсвязывающими доменами двух вариантов нового коронавируса) с учетом принципиальной возможности построения мультиплексных тестов различного дизайна в зависимости от задач исследования (например, использование в составе иммуночипа более широкого спектра диагностически значимых антигенов, внутренних положительных и отрицательных контролей) подтверждает предположение о том, что технологическая платформа ФОСФАН может иметь хорошие перспективы для целей мониторинга уровня циркулирующих антител у перенесших COVID-19 и вакцинированных людей. Возможно, разработанный иммуночип позволит не только выявлять специфические антитела, но и дифференцировать варианты вируса на основе статистически значимых различий в титрах антител, по крайней мере, у ранее не болевших

COVID-19 и не вакцинированных пациентов. Подробный разбор этой ситуации выходит за рамки настоящего исследования и будет представлен позже.

ВЫВОДЫ

1. Показатели напряженности и продолжительности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных людей сильно варьируют в зависимости от возраста, срока наблюдения, дополнительной вакцинации / ревакцинации.
2. Уровень IgG был статистически значимо выше: у людей старшего возраста (60+), переболевших COVID-19, по сравнению с людьми моложе 60 лет; у переболевших COVID-19 и вакцинированных «Спутником V» по сравнению с неболевшими и невакцинированными людьми; у переболевших после последующей вакцинации и у вакцинированных после введения бустера.
3. Уровень IgG был статистически значимо ниже у вакцинированных старшего возраста (60+) по сравнению с людьми моложе 60 лет.
4. Уровень IgG у вакцинированных снижался быстрее (через 3–4 месяца), чем у переболевших COVID-19, а через 5–9 месяцев стабилизировался на уровне менее 100 BAU/мл примерно у 60% обследованных.
5. Частота заболевания COVID-19 среди вакцинированных составила 4,5% (трое заболевших из 67 вакцинированных человек).
6. Мультиплексный анализ с использованием иммуночипа — перспективный подход к количественному определению уровня антител одновременно к двум и, возможно, более вариантам нового коронавируса SARS-CoV-2.

Литература

1. Попова А. Ю., Ежлова Е. Б., Мельникова А. А., Андреева Е. Е., Комбарова С. Ю., Лялина Л. В. и др. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 жителей Москвы в эпидемический период COVID-19. *Инфекционные болезни*. 2020; 18(4): 8–16. DOI: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16.
2. Ahmed ZB, Razu MH, Akter F, Rabby RI, Karmaker P, Kha M. Seropositivity of SARS-CoV-2 IgG Antibody among People in Dhaka City during the Prevacination Period. *Hindawi BioMed Research International*. 2022; 2022: 6. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/4451144>.
3. Santiago L, Uranga-Murillo I, Arias M, González-Ramírez AM, Macías-León J, Moreo E, et al. Determination of the Concentration of IgG against the Spike Receptor-Binding Domain That Predicts the Viral Neutralizing Activity of Convalescent Plasma and Serum against SARS-CoV-2. *Biology*. 2021; 10: 208. Available from: <https://doi.org/10.3390/biology10030208>.
4. Кармишин А. М., Носов Н. Ю., Поступайло В. Б., Жигарловский Б. А., Круглов А. А., Петухов А. Н. Метод количественной оценки напряженности и длительности иммунитета к SARS-CoV-2 и динамики изменения титров антител. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2021; 2 (23): 5–12. DOI: 10.47183/mes.2021.019.
5. Dan JM, Mateus J, Kato Yu, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371: eabf4063 (2021). DOI: 10.1126/science.abf4063.
6. Huang B, Cai Yu, Li N, Li K, Wang Z, Li L, et al. Sex-based clinical and immunological differences in COVID-19. *BMC Infectious Diseases*. 2021; 21: 647. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06313-2>.
7. Schlickeiser S, Schwarz T, Steiner S, Wittke K, Al Beshir N, Meyer O, et al. Disease severity, fever, age, and sex correlate with SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses. *Front Immunol*. 2021; 11: 628971. DOI: 10.3389/fimmu.2020.628971.
8. Naaber P, Tserel L, Kangro K, Sepp E, Jürjenson V, Adamson A, et al. Dynamics of antibody response to BNT162b2 vaccine after six months: a longitudinal prospective study. *The Lancet Regional Health — Europe*. 2021; 10: 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100208>.
9. Markewitz R, Torge A, Wandinger K-P, Pauli D, Franke A, Bujanda L, et al. Clinical correlates of anti SARS CoV 2 antibody profiles in Spanish COVID 19 patients from a high incidence region. *Scientific Reports*. 2021; 11: 4363. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83969-5>.
10. Li C, Yu D, Wu X, Liang H, Zhou Z, Xie Y, et al. Twelve-month specific IgG response to SARS-CoV-2 receptor-binding domain among COVID-19 convalescent plasma donors in Wuhan. *Nature Communications*. 2021; 12: 4846. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25109-1> | www.nature.com/naturecommunications.
11. Pomelova VG, Korenberg EI, Kuznetsova TI, Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS. C6 Peptide-Based Multiplex Phosphorescence Analysis (PHOSPHAN) for Serologic Confirmation of Lyme Borreliosis. *PLoS ONE*. 2015; 10 (7): e0130048. DOI: 10.1371/journal.pone.0130048.
12. Бекман Н. И., Помелова В. Г., Осин Н. С. Мультиплексный анализ наркотических средств на основе технологии иммуночипов ФОСФАН. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63 (3): 178–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-178-183>.
13. Бекман Н. И., Ларичева С. Ю., Быченкова Т. А., Помелова В. Г., Осин Н. С. Одновременное определение тиреотропного гормона и свободного тироксина в сухих пятнах крови человека с использованием фосфоресцентных наночастиц. *Биоорганическая химия*. 2020; 46 (2): 170–9. DOI: 10.31857/s0132341320020074.

14. Markmann AJ, Giallourou N, Bhowmik DR, Hou YJ, Lerner A, Martinez DR. et al. Sex disparities and neutralizing-antibody durability to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *mSphere*. 2021; 6: e00275-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00275-21>.
15. Zeng F, Dai C, Cai P, Wang J, Xu L, Li J, et al. A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: A possible reason underlying different outcome between sex. *J Med Virol*. 2020; 1–5. DOI: 10.1002/jmv.25989.
16. Статистика коронавируса в Москве. Доступно по ссылке: <http://russian-trade.com/coronavirus-russia/Moskva>.
17. Кнорре Д. Д., Набиева Е., Гарушанц С. К. Российский консорциум по секвенированию геномов коронавирусов (CORGI). Доступно по ссылке: <http://taxameter.ru>.
18. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tuchvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase — studies from Russia. *The Lancet*. 2020; 396 (10255): 887–97. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3).
19. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tuchvatullin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, 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. *The Lancet*. 2021; 397 (10275): 671. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8).
20. Колобухина Л. В., Бурасова О. А., Кружкова И. С., Бакалин В. В., Генералова Л. В., Шараев А. В. и др. Оценка клинического течения COVID-19 у пациентов, вакцинированных «Спутник V», изменчивости RBD-домена S-белка SARS-COV-2 и вируснейтрализующих свойств сыворотки. *Вестник РГМУ*. 2021; 5: 66–75. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.046.
21. Gushchin VA, Dolzhikova IV, Shchetinin AM, Odintsova AS, Siniavin AE, Nikiforova MA, et al. Neutralizing activity of sera from Sputnik V-vaccinated people against variants of concern (VOC: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.617.3) and Moscow endemic SARS-CoV-2 variants. *Vaccines*. 2021; 9: 779. Available from: <https://doi.org/10.3390/vaccines9070779>.
22. Гарафутдинов Р. Р., Мавзютов А. Р., Никоноров Ю. М., Чубукова О. В., Матниязов Р. Т., Баймиев Ан. Х. и др. Бетакоронавирус SARS-CoV-2, его геном, разнообразие генотипов и молекулярно-биологические меры борьбы с ним. *Биомика*. 2020; 12 (2): 242–71. DOI: 10.31301/2221-6197.bmc.2020-15.
23. Борисова Н. И., Котов И. А., Колесников А. А., Каптелова В. В., Сперанская А. С., Кондрашева Л. Ю. и др. Мониторинг распространения вариантов SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus) на территории Московского региона с помощью таргетного высокопроизводительного секвенирования. *Вопросы вирусологии*. 2021; 66 (4): 269–78. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-72>.
24. Wu J, Tang L, Ma Y, Zhang D, Li Q, Mei H, Hu Y. Immunological profiling of COVID-19 patients with pulmonary sequelae. 2021; *mBio* 12: e01599-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.01599-21>.
25. Grossberg AN, Koza LA, Ledreux A, Prusmack C, Krishnamurthy HK, Jayaraman V, et al. A multiplex chemiluminescent immunoassay for serological profiling of COVID-19-positive symptomatic and asymptomatic patients. *Nature Communications*. 2021; 12: 740. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21040-7>.

References

1. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Andreeva EE, Kombarova SY, Lyalina LV, et al. Kollektivnyy immunitet k SARS-CoV-2 zhitel'ey Moskvy v ehpidemicheskij period COVID-19. *Infekcionnye bolezni*. 2020; 18 (4): 8–16. DOI: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16. Russian.
2. Ahmed ZB, Razu MH, Akter F, Rabby RI, Karmaker P, Kha M. Seropositivity of SARS-CoV-2 IgG Antibody among People in Dhaka City during the Prevaccination Period. *Hindawi BioMed Research International*. 2022; 2022: 6. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/4451144>.
3. Santiago L, Uranga-Murillo I, Arias M, González-Ramírez AM, Macías-León J, Moreo E, et al. Determination of the Concentration of IgG against the Spike Receptor-Binding Domain That Predicts the Viral Neutralizing Activity of Convalescent Plasma and Serum against SARS-CoV-2. *Biology*. 2021; 10: 208. Available from: <https://doi.org/10.3390/biology10030208>.
4. Karmishin AM, Nosov NY, Postupajlo VB, Zhigalovskij BA, Kruglov AA, Petuxov AN. Method for quantitative assessment of protective immunity against SARS-COV-2, its duration and antibody dynamics. *Extreme Medicine*. 2021; 2 (23): 5–12. DOI: 10.47183/mes.2021.019. Russian.
5. Dan JM, Mateus J, Kato Yu, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371: eabf4063 (2021). DOI: 10.1126/science.abf4063.
6. Huang B, Cai Yu, Li N, Li K, Wang Z, Li L, et al. Sex-based clinical and immunological differences in COVID-19. *BMC Infectious Diseases*. 2021; 21: 647. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06313-2>.
7. Schlickeiser S, Schwarz T, Steiner S, Wittke K, Al Beshir N, Meyer O, et al. Disease severity, fever, age, and sex correlate with SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses. *Front Immunol*. 2021; 11: 628971. DOI: 10.3389/fimmu.2020.628971.
8. Naaber P, Tserel L, Kangro K, Sepp E, Jürjenson V, Adamson A, et al. Dynamics of antibody response to BNT162b2 vaccine after six months: a longitudinal prospective study. *The Lancet Regional Health — Europe*. 2021; 10: 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100208>.
9. Markewitz R, Torge A, Wandinger K-P, Pauli D, Franke A, Bujanda L, et al. Clinical correlates of anti SARS CoV 2 antibody profiles in Spanish COVID 19 patients from a high incidence region. *Scientific Reports*. 2021; 11: 4363. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83969-5>.
10. Li C, Yu D, Wu X, Liang H, Zhou Z, Xie Y, et al. Twelve-month specific IgG response to SARS-CoV-2 receptor-binding domain among COVID-19 convalescent plasma donors in Wuhan. *Nature Communications*. 2021; 12: 4846. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25109-1> | www.nature.com/naturecommunications.
11. Pomelova VG, Korenberg EI, Kuznetsova TI, Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS. C6 Peptide-Based Multiplex Phosphorescence Analysis (PHOSPHAN) for Serologic Confirmation of Lyme Borreliosis. *PLoS ONE*. 2015; 10 (7): e0130048. DOI: 10.1371/journal.pone.0130048.
12. Bekman NI, Pomelova VG, Osin NS. Mul'tipleksnyj analiz narkoticheskix sredstv na osnove tekhnologii immunochipov FOSFAN. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63 (3): 178–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-178-183>. Russian.
13. Bekman NI, Laricheva SY, Bychenkova TA, Pomelova VG, Osin NS. Odnovremennoe opredelenie tireotropnogo gormona i svobodnogo tiroksina v suxix pyatnax krovi cheloveka s ispol'zovaniem fosforescentnyx nanochastic. *Bioorganicheskaya ximiya*. 2020; 46 (2): 170–9. DOI: 10.31857/s0132341320020074. Russian.
14. Markmann AJ, Giallourou N, Bhowmik DR, Hou YJ, Lerner A, Martinez DR. et al. Sex disparities and neutralizing-antibody durability to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *mSphere*. 2021; 6: e00275-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00275-21>.
15. Zeng F, Dai C, Cai P, Wang J, Xu L, Li J, et al. A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: A possible reason underlying different outcome between sex. *J Med Virol*. 2020; 1–5. DOI: 10.1002/jmv.25989.
16. Статистика коронавируса в Москве. Доступно по ссылке: <http://russian-trade.com/coronavirus-russia/Moskva>.

17. Knorre DD, Nabieva E, Garushyanc SK. Rossijskij konsorcium po sekvenirovaniyu genomov koronavirusov (CORGI). Dostupno po ssylke: <http://taxameter.ru>. Russian.
18. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tuchvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase — studies from Russia. *The Lancet*. 2020; 396 (10255): 887–97. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3).
19. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tuchvatullin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, 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. *The Lancet*. 2021; 397 (10275): 671. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8).
20. Kolobuxina LV, Burgasova OA, Kruzhkova IS, Bakalin VV, Generalova LV, Shagaev AV, i dr. Ocenka klinicheskogo techeniya COVID-19 u pacientov, vakcinirovannyx «Sputnik V», izmenchivosti RBD-domena S-belka SARS-COV-2 i virusnejtralizuyushhix svojstv syvorotki. *Vestnik RGMU*. 2021; 5: 66–75. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.046. Russian.
21. Gushchin VA, Dolzhikova IV, Shchetinin AM, Odintsova AS, Siniavin AE, Nikiforova MA, et al. Neutralizing activity of sera from Sputnik V-vaccinated people against variants of concern (VOC: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.617.3) and Moscow endemic SARS-CoV-2 variants. *Vaccines*. 2021; 9: 779. Available from: <https://doi.org/10.3390/vaccines9070779>.
22. Garafutdinov RR, Mavzyutov AR, Nikonorov YuM, Chubukova OV, Matniyazov RT, Bajmiev AnX, i dr. Betakoronavirus SARS-CoV-2, ego genom, raznoobrazie genotipov i molekulyarno-biologicheskie mery bor'by s nim. *Biomika*. 2020; 12 (2): 242–71. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15. Russian.
23. Borisova NI, Kotov IA, Kolesnikov AA, Kaptelova VV, Speranskaya AS, Kondrasheva L.u, i dr. Monitoring rasprostraneniya variantov SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus) na territorii Moskovskogo regiona s pomoshh'yu targetnogo vysokoproizvoditel'nogo sekvenirovaniya. *Voprosy virusologii*. 2021; 66 (4): 269–78. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-72>. Russian.
24. Wu J, Tang L, Ma Y, Zhang D, Li Q, Mei H, Hu Y. Immunological profiling of COVID-19 patients with pulmonary sequelae. 2021; *mBio* 12: e01599-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.01599-21>.
25. Grossberg AN, Koza LA, Ledreux A, Prusmack C, Krishnamurthy HK, Jayaraman V, et al. A multiplex chemiluminescent immunoassay for serological profiling of COVID-19-positive symptomatic and asymptomatic patients. *Nature Communications*. 2021; 12: 740. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21040-7>.