

И.А. Кадырова<sup>1</sup>, А.Б. Балгабекова<sup>1\*</sup>, В.И. Барханская<sup>2</sup>, Л.Н. Әбсағит<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Қарағанды медицина университеті, Қарағанды, Қазақстан;

<sup>2</sup>Назарбаев университеті, Астана, Қазақстан

\*Хат-хабарларға арналған автор: [ArushanP@qmu.kz](mailto:ArushanP@qmu.kz)

## Спутник-V вакцинасымен вакцинацияланған адамдардың TLR7, TLR4, TMPRSS13, IL-4 және IFN- $\gamma$ гендерінің экспрессия динамикасын бағалау

Мақалада Спутник-V вакцинасымен имундалғаннан кейін туындаған TLR7, TLR4, TMPRSS13, IFN- $\gamma$ , IL-4 гендерінің экспрессиясының өзгерістері зерттелген. Жұмыс Қарағанды медицина университетінің базасында жүргізілді. COVID-19-ға қарсы екпе алмаған еріктілерден веноздық қан үлгілері вакцинациядан бұрын, Спутник-V 1- және 2-дозаларын енгізгеннен 21 күн өткеннен кейін және 6 айдан соң жиналды. Биологиялық үлгілерді жинағаннан кейін, вакцинаны дельта тәрізді бұлшық етке  $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$  рекомбинантты аденовирустық (rAd) бөлшектері бар Спутник-V 0,5 мл дозасы енгізілді. 1 және 2 дозалары, сәйкесінше, 21 күн аралығымен енгізілетін rAd26 және rAd5-тен тұрды. Зерттеу басталғанға дейін екі апта ішінде респираторлық симптомдардың болуы немесе зертханалық расталған COVID-19 диагнозын есептемеу критерийі болды. Үлгілерден РНҚ бөліп алған соң, кері транскрипциямен полимераздық тізбекті реакция өткізілді. Статистикалық өңдеу IBMSPSS 26 нұсқасында орындалды. Краскел-Уоллис критерийі, Пирсон  $\chi^2$  немесе топаралық салыстырулар үшін нақты Фишер критерийі қолданылды. 95 % сенімділік интервалдары (СИ) биномдық «дәл» әдіспен есептелді. Алынған нәтижелер бойынша TLR7, TLR4, TMPRSS13, IFN- $\gamma$  және IL-4 гендерінің гиперэкспрессиясы анықталды. Бұл Спутник-V вакцинациясынан кейін иннативті иммунитеттің ұзақ уақыт белсендірілуін көрсетеді. Зерттеу нәтижелері аденовирустық векторларға негізделген вакциналарды қолдана отырып, адамдарда жаттыққан иммунитетті индукциялау мүмкіндігі туралы гипотезаны растайды. Біздің нәтижелеріміз қоғамды жұқпалы аурулардан қорғауды жақсарту перспективаларын ашатын жақсырақ вакцинация стратегиялары мен жаңа вакциналарды әзірлеуге негіз бола алады.

*Кілт сөздер:* гендердің экспрессиясы, Спутник-V вакцинасы, IL-4, IFN- $\gamma$ , TLR7, TLR4, TMPRSS13, SARS-CoV-2.

### Кіріспе

Бүгінгі таңда жаңа коронавирустық инфекция ретінде белгілі COVID-19 әлемдік қоғамдастықтың 200-ге жуық елдеріндегі жеке тұлғалардың едәуір санын қамтитын пандемиялық инфекциялық ауру болып саналады. Бұл патологиялық процесс *Coronaviridae* тұқымдастығының жедел респираторлық синдром-2 (SARS-CoV-2) жоғары патогенді микроорганизм болып табылатын коронавирус вирусының әсерінен туындайды. SARS-CoV-2 генетикалық құрылымы көптеген геномдық компоненттерден, соның ішінде құрылымдық және құрылымдық емес ақуыздардан тұрады. Бұл вирустың мутациясы мен таралуының жоғары жылдамдығы оның алдын алу және жою шараларының тиімділігіне айтарлықтай қиындықтар туғызды. Қазіргі уақытта, SARS-CoV-2-ге қарсы вакцинация COVID-19-бен күресудің тиімді стратегиясы ретінде танылды [1], әрі вакцинаның екі немесе одан да көп дозалары бір дозамен салыстырғанда сенімді қорғауды қамтамасыз ететіні белгілі. COVID-19-дан өлім қаупі әр елде айтарлықтай өзгеретінін және вакцинация деңгейі мен вакцинация көлемі сияқты факторларға байланысты болуы мүмкін екенін ескеру маңызды [2].

2023 жылдың басына қарай Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы шұғыл қолдану үшін 11 вакцинаны мақұлдады (NuvaXovid (Novavax), Spikevax (Moderna), Comirnaty (Pfizer), Ad26.COV2.S (Janssen-J&J) және Vaxzevria (Astra Zeneca) және т.б.) [3]. 71-ден астам елде Спутник-V рекомбинантты аденовирустық векторлық вакцина қолданылды [4–5].

Спутник-V клиникалық сынақтардың 1-ші және 2-ші фазаларында жақсы қауіпсіздік профилін көрсетті, сонымен қатар SARS-CoV-2-ге қарсы айтарлықтай гуморальды және жасушалық иммундық жауапты тудырды. 20 000 қатысушыдан алынған 3-кезең деректері вакцинаның бірінші дозасын енгізгеннен кейін 21 күн өткен соң және екінші дозаны алғаннан кейін 21 күн өткен соң 91,6 % тиімділігін көрсетті. Гамалей орталығының 2021 жылғы 19 сәуірдегі пресс-релизіне сәйкес, бұл вакцина SARS-CoV-19-ға қарсы 97,6 % тиімділігін көрсетті, бұл оны әлемдегі ең тиімді вакцина және COVID-19 ауыр инфекциясына қарсы 100 % тиімді екенін дәлелдейді [6–7]. Сонымен қатар, COVID-19-ға қарсы аденовирустық вакциналар ұзақ уақыт бойы SARS-CoV-2-ге қарсы антигенге тән жасушалық және/немесе гуморальды иммундық жауаптарды тудыруы мүмкін S ақуызының экспрессиясын жүзеге асыратыны туралы хабарланды [8].

Адамның перифериялық қанының мононуклеарлы жасушалары (PBMCs) вакцинадан туындаған иммундық реакцияны қалыптастыруға белсенді қатысатын маңызды жасушалық компоненттері болып табылады. PBMCs құрамына Т-жасушалары, В-жасушалары, табиғи киллер-жасушалар, моноциттер және дендритті жасушалар сияқты иммундық жасушалардың әртүрлі түрлері кіреді [9]. Т-жасушалары, соның ішінде CD4 + көмекші жасушалар және CD8 + цитотоксикалық жасушалар жасушалық иммундық реакцияларға қатысады, В-жасушалары гуморальды иммунитетке жауап береді, ал табиғи киллер-жасушалар тікелей вирус жұқтырған жасушаларды жоюға қабілетті. Моноциттер микроортаға бейімделу, қабыну процестерін реттеу және екі негізгі жасуша түріне (макрофагтар (MUs) және антигенді ұсынатын дендритті жасушалар (DCs)) дифференциациялану қабілетіне ие [10]. MUs және DCs түрінің жасушалары туа біткен иммунитетті реттеуде шешуші рөл атқарады және бактериялық инфекциялар жағдайында туа біткен және бейімделгіш иммундық жауаптардың интеграциясына ықпал етеді [11]. Олар антигендерді ұстау және таныстыру, оларды Т-жасушаларына беру және иммундық реакцияларды бастау функциясын орындайды. Ғылыми зерттеулер перифериялық қанның мононуклеарлы жасушалары (PBMCs) адам ағзасының вакцинацияға иммундық жауабын зерттеуге қолайлы модель екенін көрсетті [12]. Біз жүргізген зерттеу жұмысымыздың шеңберінде аденовирустық вектордың рецепторлардың өзара әрекеттесуіне және одан әрі қабыну каскадын басталуына тигізетін әсерін зерттеу мақсатында Спутник-V-мен вакцинацияланған қатысушылардың PBMCs-де TLR7, TLR4, TMRSS13, IL-4 және IFN- $\gamma$  гендерінің экспрессиясына талдау жасадық.

#### *Зерттеу материалдары мен әдістері*

*Популяцияны зерттеу және дизайн.* Біз Қарағанды медициналық университетінің базасында тіркелген клиникалық зерттеу (#NCT04871841) жүргіздік [13]. «Scientific Reports» журналының 12-басылымында жарияланған мақаламызда келтірілгендей зерттеуге қатысушылардың бастапқы скринингі 2021 жылдың сәуір-мамыр айларында Қарағанды медициналық университетінде Спутник-V-мен вакцинация жүргізілгенге дейін өткізілді. Зерттеуге қатысуға бұрын COVID-19-ға қарсы еспе алмаған еріктілер шақырылды. Зерттеу басталғанға дейін екі апта ішінде респираторлық симптомдардың болуы немесе зертханалық расталған COVID-19 диагнозын есептемеу критерийі болды. Симптомсыз COVID-19-ды растау мақсатында назофарингеальды жағындыда SARS-CoV-2 бар-жоғын анықтау үшін ПТР және нуклеокапсидті ақуызды (NCP) анықтау үшін ИФТ жасалды [14].

*Вакцинация процедурасы.* Биологиялық үлгілерді жинағаннан кейін, вакцинаны клиника қызметкерлері Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің ұсынымдарына сәйкес енгізді. Дельта тәрізді бұлшық етке нативті Spike ақуызын кодтайтын  $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$  рекомбинантты аденовирустық (rAd) бөлшектері бар Спутник-V препаратының (Мәскеуден, Ресейден жеткізілген) 0,5 мл дозасы енгізілді. 1 және 2-дозалары, сәйкесінше, 21 күн аралығымен енгізілетін rAd26 және rAd5-тен тұрды.

*Үлгілерді жинау және өңдеу.* Веноздық қан үлгілері төрт уақыт нүктесінде жиналды: вакцинацияға дейін — базалық нүкте; 1 және 2 дозаны енгізгеннен кейін 21 күн өткен соң және 6 ай өткеннен кейін. Қан (5 мл) этилендиамин тетра-сірке қышқылы (EDTA) (Improvacuter, GEL&EDTA K2, Improve Medical Instruments, Гуанчжоу, Қытай) бар сынауықтарға венопункция арқылы жиналды [14]. Қан плазмасы 10 минут  $2000 \times g$  центрифугалау көмегімен бөлініп алынды. Барлық үлгілер

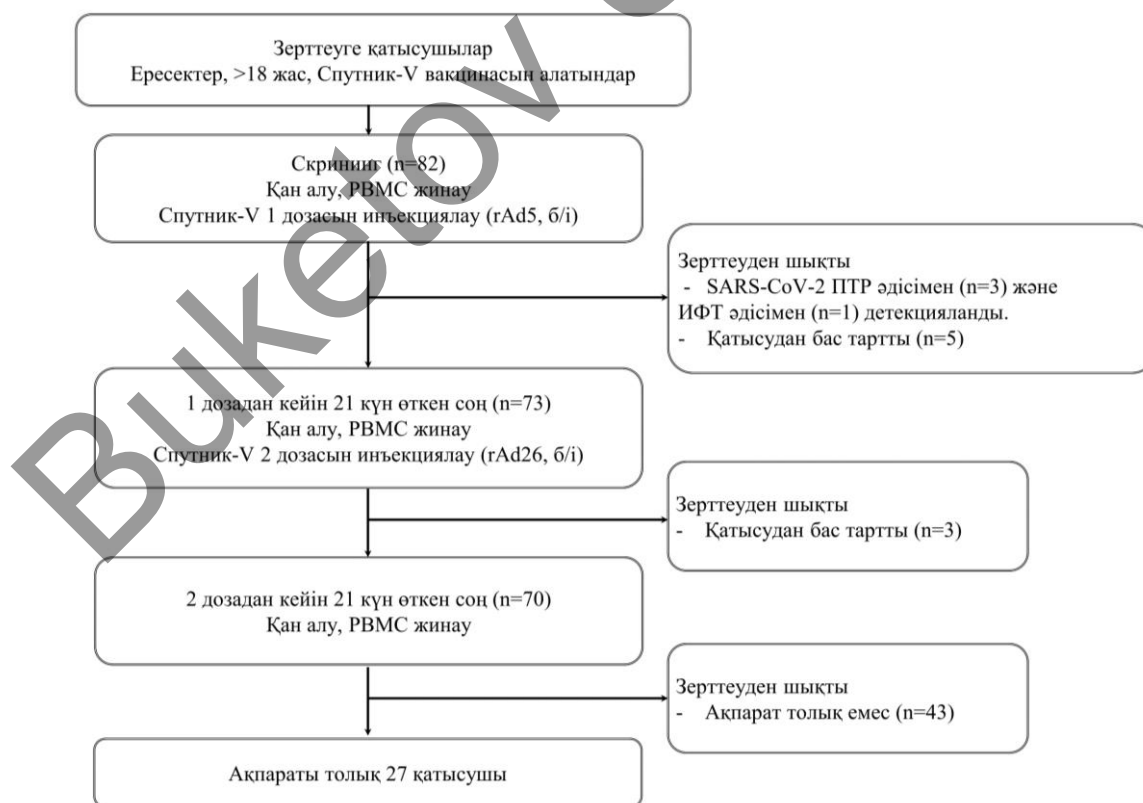
талдау жүргізілгенге дейін  $-80^{\circ}\text{C}$  температурада сақталды. Перифериялық қанның моноклеарлы жасушалары (PBMCs) қан үлгілерінен Ficoll (Sigma-Aldrich) тығыздық градиентінде центрифугалау арқылы, содан кейін PBMCs жинау арқылы оқшауланған [14].

*Сандық кері транскрипция-полимеразды тізбекті реакция.* Жалпы РНҚ PureLink™ RNA (Invitrogen®, THERMOFISHERSCIENTIFIC, АҚШ) жиынтығымен өндірушінің нұсқауларына сәйкес бөлінді. РНҚ концентрациясы мен тұтастығы (RIN) P330 (IMPLEN) спектрофотометрінде бағаланды. Әрі қарай көлемі 20 мкл комплементарлы ДНҚ (қДНҚ) синтездеп алу үшін 10 есе кездейсоқ RT праймерлерін (AppliedBiosystems, АҚШ), 100 мм dNTP (AppliedBiosystems, АҚШ), 50 бірлік/мкл кері транскриптазаны (AppliedBiosystems, АҚШ) және 10 есе кері транскрипция буферін (AppliedBiosystems, АҚШ) қолданылды. Сандық ПТР CFX96-да (Bio-Rad, Франция) SYBRGreen көмегімен жүргізілді. ПТР әр циклінің тиімділігін (E) бағалау мақсатында стандарт ретінде әрбір мақсатты ген үшін аралас қДНҚ-ның сегіз сериялық сұйылтулары талданды. Флуоресценция әр циклдің соңында тіркелді. Содан кейін ПТР өнімдерінің ерекшелігін растау үшін балку қисығы салынды. Сандық бағалау CFXManager бағдарламалық жасақтамасының 3.1 нұсқасымен (Bio-Rad, Франция),  $\Delta\Delta\text{Ct}$  әдісімен деректерді талдау арқылы жүргізілді. Арақатынастар орташа геометриялық мән ретінде есептелді:  $(1 + E)^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ , мұндағы E — тиімділік, ал  $\Delta\Delta\text{Ct}$  — вакцинацияның 1-ші, 2-ші дозасынан кейін және вакцинациядан кейін 6 ай өткен соң қатысушылардың PBMCs-де бастапқы деңгейімен салыстырғандағы мақсатты геннің экспрессиясы. Эндогендік бақылау ретінде TBP және GAPDH гендерінің экспрессиясы бағаланды.

*Статистикалық талдау.* Статистикалық өңдеу IBMSPSS 26 нұсқасында орындалды. Крускел-Уоллис критерийі, Пирсон  $\chi^2$  немесе топаралық салыстырулар үшін Фишердің нақты критерийі қолданылды. 95 % сенімділік интервалдары (СИ) биномдық «дәл» әдіспен есептелді.

*Этика туралы мәлімдеме.* Зерттеудің барлық рәсімдерін Қарағанды медициналық университетінің биоэтика комитеті мақұлдады. Жазбаша ақпараттандырылған келісім барлық қатысушылардан алынды.

*Зерттеуге қатысушылар.* Зерттеуге жалпы 82 зерттеу қатысушысы кірді (1-сурет). Асимптома-тикалық SARS-CoV-2 инфекциясын анықтау үшін диагностикалық ПТР тестілеу және NCP антиденелерін анықтау қатысушыларға келген сайын жүргізілді.



1-сурет. Зерттеуге қатысушылардың рекрутингісі

Нәтижесінде 1-дозаны қабылдағаннан кейін қатысушылар арасында COVID-19-дың 4 жағдайы тіркелді; 2-дозаны қабылдағаннан кейін инфекцияның жаңа жағдайлары табылған жоқ (1-сурет). Зерттеуге қатысудан бас тарту себебінен жалпы 8 қатысушы топтан кетті. Зерттеуге барлығы 70 қатысушы қатысты.

РНҚ-ны РВМСs-ден оқшаулау үшін толық деректері болған 27 қатысушының үлгілері пайдаланылды. Ген экспрессиясын зерттеуге үлгілерді іріктеудің соңғы кезеңінде келесі критерийлер есепке алынды: оқшауланған РНҚ-ның RIN сапа критерийлері, үлгінің тазалығы, концентрациясы (1-сурет, 1-кесте). Осылайша, 13 пациенттің РНҚ-сы одан әрі талдаудан өтті.

1 - кесте

**Дозаны енгізгеннен кейін бастапқы және 2 рет келу кезіндегі қол жетімді толық қан анализі деректері бар қатысушылардың сипаттамалары**

Сипаттама	Жалпы, N = 13
Жасы, жыл, медиана (IQR)	44,0 (37,8, 53,0)
Ер адамдар, n (%)	4 (30,8 %)
ДСИ, кг/м <sup>2</sup> , медиана (IQR)	24,8 (22,9, 25,9)
Қазақ ұлты, n (%)	7 (53,8 %)
Ілеспе аурулары бар	8 (61,5 %)

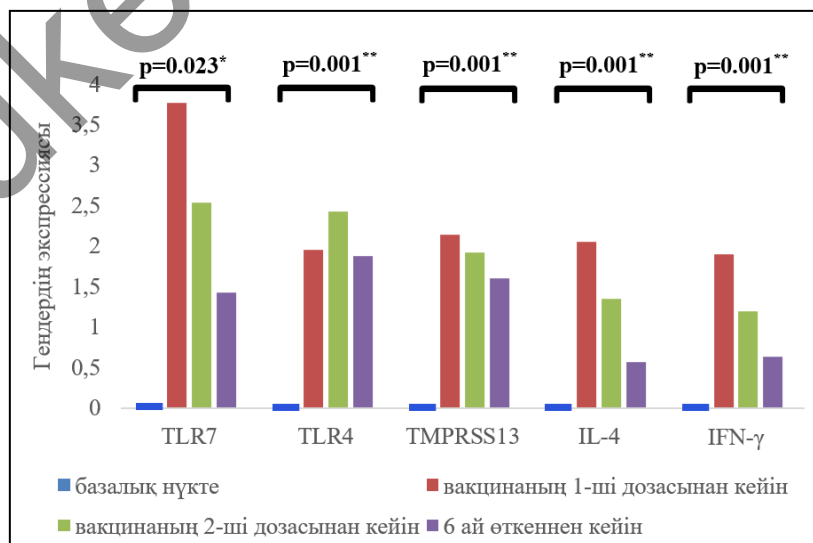
*Зерттеу нәтижелері және оны талдау*

Алынған шекті циклдардың нәтижелері  $\Delta\Delta Ct$  әдісімен талданды. Алынған мәндерді интерпретациялау мақсатында TLR7, TLR4, TMPRSS13, IL-4 және IFN- $\gamma$  гендердің экспрессиясының мәндері бастапқы вакцинаға дейінгі қабылдаумен салыстырғанда ген экспрессиясының өзгеру жиілігін көрсететін  $\log - \log_2FC$  (FC — fold change) трансформациясынан өтті (2-сурет, 2-кесте).

2 - кесте

**Зерттелген гендер үшін  $\log_2FC$  мәндері**

Геннің атауы	1-дозадан кейін $\log_2FC$ мәндері	2-дозадан кейін $\log_2FC$ мәндері	6 ай өткен соң $\log_2FC$ мәндері	$p^*$ мәні
TLR7	3,77	2,54	1,42	0,023*
TLR4	1,95	2,43	1,88	0,001**
TMPRSS13	2,14	1,92	1,6	0,001**
IL-4	2,05	1,35	0,57	0,001**
IFN- $\gamma$	1,9	1,19	0,63	0,001**



2-сурет. 4 уақыт нүктесіндегі ген экспрессиясының динамикасы

Біздің зерттеуіміз TLR7 генінің ең үлкен экспрессиясын вакцинаның бірінші дозасынан кейін ( $\log_2FC = 3,77$ ), біртіндеп экспрессияның төмендеуі вакцинаның екінші дозасынан кейін және 6 айдан кейін ( $\log_2FC = 2,54, 1,42$  сәйкесінше) ( $p = 0,023$ ) көрсетеді. Вакцинаның бірінші дозасынан кейін TLR4 генінің экспрессиясы  $\log_2FC = 1,95$  болды, вакцинаның екінші дозасынан кейін  $\log_2FC = 2,43$  дейін өсті. Вакцинациядан кейін 6 ай өткен соң TLR4 генінің экспрессиясы жоғары  $\log_2FC = 1,88$  деңгейінде сақталды және  $p < 0,001$  топтар арасындағы статистикалық маңызды айырмашылықтарды көрсетеді. Зерттелген контексте TLR4 және TLR7 сияқты туа біткен тану рецепторлары консервативті вирустық немесе микробтық мотивтерді анықтауға, сондай-ақ қабылдаушы жасушаға ықтимал қауіпті көрсететін жасушаішілік сигналдарды қабылдауға негізделген антигендерге иммундық реакцияларды тудырады. Бұл тенденция ChAdOx1-S (AstraZeneca) аденовирустық вакцинасымен вакцинацияланғаннан кейін жеке адамдардың PBMCs-де TLR4 және TLR7 гендерінің экспрессиясын талдаған зерттеу нәтижелеріне сәйкес келеді [15–16].

TMPRSS13 генінің экспрессиясы өсіп ( $\log_2FC = 2,14$ ), екінші дозадан кейін және 6 айдан кейін біртіндеп төмендеп, сәйкесінше  $\log_2FC = 1,92$  және 1,6-ға жетті. 0,001 p-мәнінде TMPRSS13 генінің экспрессиясындағы деректер статистикалық маңызды болып саналды, бұл айтарлықтай топаралық айырмашылықтардың болуын көрсетеді. TMPRSS13 SARS- және MERS-CoV ақуыздарын белсендіреді, бұл оның TMPRSS2-ге қарағанда SARS-CoV-2 протеинінің адгезиялық активаторы екені бұған дейін көрсетілген [17]. Осылайша, TMPRSS13 генінің экспрессиясының жоғарылауы ACE2 рецепторымен байланысу үшін оны одан әрі белсендіру мақсатында вакцина құрамындағы ақуыздың адгезиясын енгізуге жауап береді.

IL-4 және IFN- $\gamma$  гендері вакцинаның бірінші дозасынан кейін экспрессияның жоғарылауымен, содан кейін біртіндеп төмендеуімен ұқсас динамиканы көрсетеді. Вакцинаның бірінші дозасынан кейін IL-4 генінің экспрессия деңгейі  $\log_2FC = 2,05$  болды, бірақ екінші дозадан кейін  $\log_2FC = 1,35$  дейін және 6 айдан кейін  $\log_2FC = 0,57$  дейін төмендеді ( $p = 0,001$ ). Алайда, шетелдік зерттеу chadox1 ncov-19 вакцинациясынан кейін перифериялық қанның мононуклеарлы жасушаларында (PBMCs) IL-4 генінің экспрессиясының жоғарылауын растаған жоқ [18].

Біздің зерттеуге қатысушылардың IFN- $\gamma$  генінің экспрессия деңгейі вакцинаның бірінші дозасынан кейін  $\log_2FC = 1,9$ ; екінші дозадан кейін одан әрі төмендеді ( $\log_2FC = 1,19$ ) және вакцинациядан кейін 6 айдан кейін  $\log_2FC = 0,63$  ( $p = 0,001$ ) болды. Осыған ұқсас нәтижелер клиникалық зерттеудің бірінші кезеңінде had5-Covid-19 аденовирустық вакцинасын (ImmunityBio/NantKwest) қолдану кезінде IFN- $\gamma$  генінің экспрессия деңгейін зерттеуде байқалғаны бұрын атап өтілген. Деректерге сәйкес [19], зерттеуге қатысушылардың PBMCs-дегі IFN- $\gamma$  ең жоғары деңгейі вакцинациядан кейінгі 14-ші күні шарықтау шегіне жетті, содан кейін 28-ші күні аздап төмендеді.

Ген экспрессиясына қатысты деректерге корреляциялық талдау жүргізу кезінде вакцинаның бірінші және екінші дозаларын алған пациенттерде TLR7, TLR4 және TMPRSS13 гендері арасындағы корреляцияның айтарлықтай деңгейі анықталды. Сонымен қатар, IFN- $\gamma$  гені әлсіз теріс корреляцияны көрсетті (3-кесте).

Вакцинаның бірінші дозасынан кейінгі TLR4 экспрессия деңгейлері басқа гендердің экспрессиясымен айтарлықтай арақатынасы бар, мысалы: TLR7  $r = 0,992$   $p < 0,0001$ ; TMPRSS13  $r = 0,992$   $p < 0,01$ ; IL-4  $r = 0,988$   $p < 0,001$ . Вакцинаның екінші дозасынан кейін TLR4 генінің экспрессиясымен және келесі гендердің экспрессиясымен тікелей корреляциялық байланысы анықталды: TLR7 ( $r = 0,840$   $p = 0,001$ ); TMPRSS13 ( $r = 0,898$   $p = 0,000$ ); IL-4 ( $r = 0,893$   $p = 0,001$ ).

Байқалған тікелей корреляциялық тәуелділік [20] көрсетілгендей цитокиндік реакцияларды индукциялаудағы эндосомалық TLR, атап айтқанда TLR3, TLR7, TLR8 және мембранамен байланысты TLR4 функционалдық рөлімен негізделуі мүмкін. Цитокиндер — бұл иммундық жүйенің гуморальды және жасушалық реакцияларында көп функциялы рөл атқаратын шағын өлшемді целлюлярлық сигналдық молекулалар [16]. Зерттеуге сәйкес, әртүрлі цитокин гендерінің экспрессиясындағы ауытқулар көбінесе вакцинацияға иммундық реакциямен байланысты. IL-4 цитокин экспрессиясындағы ұқсас өзгерістер біздің зерттеу деректерімізде тіркелді.

Алайда, вакцинаның бірінші дозасынан кейінгі IFN- $\gamma$  экспрессиясының корреляциялық талдауы TLR7, TLR4, TMPRSS13, IL-4-пен статистикалық маңызды байланысты анықтаған жоқ (сәйкесінше  $r = -0,285$   $p = 0,643$  кезінде;  $r = -0,294$   $p = 0,631$  кезінде;  $r = -0,281$   $p = 0,647$  кезінде;  $r = -0,244$   $p = 0,692$ ). Сондай-ақ, кейін IFN- $\gamma$  экспрессия деңгейлері вакцинаның екінші дозасынан кейін TLR7,

TLR4, TMPRSS13, IL-4 гендерінің экспрессиясымен корреляцияланбайды (тиісінше  $r = -0,116$  кезінде  $p = 0,735$ ;  $r = -0,076$  кезінде  $p = 0,823$ ;  $r = -0,138$  кезінде  $p = 0,703$ ;  $r = -0,133$  кезінде  $p = 0,715$ ).

3 - кесте

**Вакцинаның бірінші және екінші дозасынан кейінгі ген экспрессиясының корреляциялық матрицасы**

		TLR7_2нүкте	TLR7_3нүкте	TLR4_2нүкте	TLR4_3нүкте	TMPRSS13_2нүкте	TMPRSS13_3нүкте	IL-4_2нүкте	IL-4_3нүкте	IFN- $\gamma$ _2нүкте	IFN- $\gamma$ _3нүкте
TLR7_2нүкте	Пирсон б-ша корреляция	1	-0,126	,999**	0,027	,992**	-0,176	,988**	-0,170	-0,285	-0,156
	екі жақты мән		0,747	0,000	0,946	0,000	0,676	0,000	0,687	0,643	0,689
TLR7_3нүкте	Пирсон б-ша корреляция		1	-0,248	,840**	-0,128	,988**	-0,141	,991**	0,907	-0,116
	екі жақты мән			0,687	0,001	0,784	0,000	0,763	0,000	0,093	0,735
TLR4_2нүкте	Пирсон б-ша корреляция			1	-0,044	1,000**	-0,342	,996**	-0,338	-0,294	-0,244
	екі жақты мән				0,944	0,000	0,658	0,000	0,662	0,631	0,693
TLR4_3нүкте	Пирсон б-ша корреляция				1	0,125	,898**	0,046	,893**	0,890	0,076
	екі жақты мән					0,790	0,000	0,922	0,001	0,110	0,823
TMPRSS13_2нүкте	Пирсон б-ша корреляция					1	-0,161	,997**	-0,157	-0,281	-0,147
	екі жақты мән						0,730	0,000	0,737	0,647	0,753
TMPRSS13_3нүкте	Пирсон б-ша корреляция						1	-0,182	1,000**	0,891	-0,138
	екі жақты мән							0,696	0,000	0,109	0,703
IL-4_2нүкте	Пирсон б-ша корреляция							1	-0,178	-0,244	-0,156
	екі жақты мән								0,703	0,692	0,739
IL-4_3нүкте	Пирсон б-ша корреляция								1	0,900	-0,133
	екі жақты мән									0,100	0,715
IFN- $\gamma$ _2нүкте	Пирсон б-ша корреляция									1	0,194
	екі жақты мән										0,806
IFN- $\gamma$ _3нүкте	Пирсон б-ша корреляция										1
	екі жақты мән										

TLR4, TLR7, IL-4, IFN- $\gamma$ , TMPRSS13 гендерінің гиперэкспрессиясымен алынған нәтижелер PBMCs активациясының индукциясын және Спутник-V Ad векторымен жасушалық-делдалдық жауаптарды көрсетеді.

*Қорытынды*

Қорытындылай келе, ұсынылған зерттеу жұмысы Спутник-V вакцинасының аденовирустық векторларының әсері туралы білімді айтарлықтай тереңдеткенін атап өткен жөн, нақтырақ айтқанда рецепторлық интеракция және қабыну механизмдері контекстінде. Зерттеуге қатысушылардың TLR7, TLR4, TMPRSS13, IFN- $\gamma$  және IL-4 гендерінің сандық ПТР экспрессиясынан алынған деректер бастапқы мәнге қатысты гиперэкспрессияны айқындайды, бұл Спутник-V вакцинациясынан кейін иннативті иммунитеттің ұзақ уақыт белсендірілгенін көрсетеді. Вакцинация арқылы Толл тәрізді рецепторлардың экспрессиясының табиғи күшеюі олардың экзогендік ақуыздармен және нуклеин қышқылдарымен өзара әрекеттесу функциясына байланысты болуы иммундық жауаптың тереңдігін сипаттайды. TLR4, TLR7 және IFN- $\gamma$  гендері IL-4 экспрессиясын белсендіретін реакциялар каскадын бастайды. Барлық кезеңдерде TMPRSS13 генінің экспрессиясының тұрақты жоғарылауы оның S ақуызын белсендірудегі және енудегі рөлін көрсетеді.

Зерттеу нәтижелері аденовирустық векторларға негізделген вакциналарды қолдана отырып, адамдарда жаттыққан иммунитетті индукциялау мүмкіндігі туралы гипотезаны растайды. Сонымен қатар, біздің зерттеуіміз Спутник-V вакцинасын алғаннан кейін 6 ай өткен соң да вакцинаның бірінші және екінші дозасынан кейін де қабынуға қарсы функцияның ұзақ мерзімді сақталуын анықтаған бірінші зерттеу болып табылады. Біздің нәтижелеріміз қоғамды жұқпалы аурулардан қорғауды жақсарту перспективаларын ашатын жақсырақ вакцинация стратегиялары мен жаңа вакциналарды әзірлеуге негіз бола алады.

*Алғыс жариялау*

Қалалық БМСК орталығына материал алуды ұйымдастыруға көмектескені үшін алғыс айтамыз.

## References

- 1 Folegatti, P.M., Ewer, K.J., Aley, P.K., et al. (2020). Oxford COVID Vaccine Trial Group (2020) Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 396; 467–478. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31604-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31604-4)
- 2 Masic, I., Naser, N., & Zildzic, M. (2020). Public Health Aspects of COVID-19 Infection with Focus on Cardiovascular Diseases. *Mater Sociomed*, 32; 71–76. <https://doi.org/10.35455/msm.2020.32.71-76>
- 3 Herrador-Alcaide, T.C. & Sanchez-Robles, B. (2023). COVID-19 Vaccines, Healthcare Policies and Stock Markets: Are There Winners and Losers? *Risk Manag Healthc Policy*, 16; 971–989. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S406216>
- 4 Nogrady, B. (2021). Mounting evidence suggests Sputnik COVID vaccine is safe and effective. *Nature*, 595(7867); 339–340. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01813-2>
- 5 Pereson, M.J., Amaya, L., Neukam, K., Baré, P., et al. (2022). Heterologous gam-COVID-vac (sputnik V)/mRNA-1273 (moderna) vaccination induces a stronger humoral response than homologous sputnik V in a real-world data analysis. *Clin Microbiol Infect*, 10; 1382–1388. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.05.009>
- 6 Official website of the vaccine against coronavirus Sputnik V (2023). Retrieved from <https://sputnikvaccine.com/rus/about-vaccine/clinical-trials>
- 7 Tan, B.K., Mainbourg, S., Friggeri, A., et al. (2021). Arterial and venous thromboembolism in COVID-19: a study-level meta-analysis. *Thorax*, 2021. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-215383>
- 8 Jiang, M., Väisänen, E., Kolehmainen, P., et al. (2023). COVID-19 adenovirus vector vaccine induces higher interferon and pro-inflammatory responses than mRNA vaccines in human PBMCs, macrophages and moDCs. *Vaccine*, 41(26); 3813–3823. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.04.049>
- 9 Kleiveland, C.R., Verhoeckx, K., Cotter, P., Lopez-Exposito, I., et al. (2015). *Peripheral Blood Mononuclear Cells. The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. Cham (CH), Springer; Chapter 15.
- 10 Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.F., & Wang, H. (2014). Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
- 11 Jiang, M., Kolehmainen, P., Kakkola, L., Maljanen, S., et al. (2021). SARS-CoV-2 Isolates Show Impaired Replication in Human Immune Cells but Differential Ability to Replicate and Induce Innate Immunity in Lung Epithelial Cells. *Microbiol Spectr.*, 9(1). <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00774-21>
- 12 Wang, I.M., Bett, A.J., Cristescu, R., Loboda, A., & ter Meulen, J. (2012). Transcriptional profiling of vaccine-induced immune responses in humans and non-human primates. *Microb Biotechnol.*, 5(2); 177–187. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00317>
- 13 (2023). CTG Labs — NCBI, clinicaltrials.gov/study/NCT04871841.
- 14 Yegorov, S., Kadyrova, I., Negmetzhanov, B., et al. (2022). Sputnik-V reactogenicity and immunogenicity in the blood and mucosa: a prospective cohort study. *Sci Rep* 12, 13207. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17514-3>
- 15 Murphy, D.M., Cox, D.J., Connolly, S.A., et al. (2023). Trained immunity is induced in humans after immunization with an adenoviral vector COVID-19 vaccine. *J Clin Invest*, 133(2). <https://doi.org/10.1172/JCI162581>
- 16 O'Connor, D. & Pollard, A.J. (2013). Characterizing vaccine responses using host genomic and transcriptomic analysis. *Clin Infect Dis.*, 57(6); 860–869. <https://doi.org/10.1093/cid/cit373>
- 17 Hoffmann, M., Hofmann-Winkler, H., Smith, J.C., et al. (2021). Camostat mesylate inhibits SARS-CoV-2 activation by TMPRSS2-related proteases and its metabolite GBPA exerts antiviral activity. *EBioMedicine*, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103255>
- 18 Ewer, K.J., Barrett, J.R., Belij-Rammerstorfer, S., et al. (2021). T-cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial. *Nat Med.*, 27(2); 270–278. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01194-5>
- 19 Zhu, F.C., Li, Y.H., Guan, X.H., et al. (2020). Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet*, 395(10240); 1845–1854. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
- 20 Manik, M. & Singh, R.K. (2022). Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19. *J Med Virol.*, 94(3); 869–877. <https://doi.org/10.5455/msm.2020.32.71-76>

И.А. Кадырова, А.Б. Балгабекова, В.И. Барханская, Л.Н. Эбсағит

### Оценка динамики экспрессии генов TLR7, TLR4, TMPRSS13, IL-4 и IFN-γ у лиц, вакцинированных вакциной «Спутник-V»

В статье исследованы изменения в экспрессии генов TLR 7, TLR 4, TMPRSS 13, IFN-γ и IL 4, индуцированные иммунизацией вакциной «Спутник-V». Работа проводилась на базе Медицинского университета Караганды. Образцы венозной крови добровольцев, ранее не вакцинированных против

COVID-19, были собраны до вакцинации, через 21 день после введения 1 и 2 доз «Спутника-V» и через 6 месяцев. После сбора биологических образцов 0,5 мл вакцины «Спутник-V», содержащей  $1 \pm 0,5 \times 10^{11}$  рекомбинантных аденовирусных (rAd) частиц, вводили в дельтовидную мышцу. Дозы 1 и 2 состояли из rAd26 и rAd5, соответственно, инъецируемых с интервалом в 21 день. Критерием исключения считалось наличие респираторных симптомов или лабораторно подтвержденный диагноз COVID-19 в течение двух недель до начала исследования. РНК выделяли из образцов и проводили полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией. Статистическая обработка была выполнена в IBM SPSS версии 26. Применялись критерий Крускала-Уоллиса,  $\chi^2$  Пирсона или точный критерий Фишера для межгрупповых сравнений. 95 % доверительные интервалы были рассчитаны с использованием биномиального «точного» метода. По полученным результатам была выявлена гиперэкспрессия генов TLR7, TLR4, Tmprss13, IFN- $\gamma$  и IL-4. Это указывает на длительную активацию инновативного иммунитета после вакцинации вакциной «Спутник-V». Результаты исследования подтверждают гипотезу о возможности индукции тренированного иммунитета у людей с использованием вакцин на основе аденовирусных векторов. Наши результаты могут служить основой для разработки более эффективных стратегий вакцинации и новых вакцин, открывая перспективы для улучшения защиты общества от инфекционных болезней.

*Ключевые слова:* экспрессия генов, вакцина «Спутник-V», IL-4, IFN- $\gamma$ , TLR7, TLR4, Tmprss13, SARS-CoV-2.

I.A. Kadyrova, A.B. Balgabekova, V.I. Barkhanskaya, L.N. Absaghit

### Evaluation of the dynamics of TLR7, TLR4, Tmprss13, IL-4 and IFN- $\gamma$ gene expression in individuals vaccinated with Sputnik-V

In our work, changes in the expression of TLR 7, TLR 4, Tmprss 13, IFN- $\gamma$  and IL 4 genes induced by immunization with Sputnik-V vaccine were investigated. The work was carried out on the basis of the Karaganda Medical University. Venous blood samples of volunteers who had not previously been vaccinated against COVID-19 were collected before vaccination, 21 days after administration of 1 and 2 doses of Sputnik-V and 6 months later. After collecting biological samples, 0.5 ml of Sputnik V vaccine containing  $1 \pm 0.5 \times 10^{11}$  recombinant adenovirus (rAd) particles was injected into the deltoid muscle. Doses 1 and 2 consisted of rAd26 and rAd5, respectively, injected at intervals of 21 days. The exclusion criterion was considered to be the presence of respiratory symptoms or a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 within two weeks before the start of the study. RNA was isolated from the samples and a reverse transcription polymerase chain reaction was performed. Statistical processing was performed in IBM SPSS version 26. The Kruskal-Wallis criterion, Pearson's  $\chi^2$  or Fisher's exact criterion were used for intergroup comparisons. 95 % confidence intervals (CI) were calculated using the binomial "exact" method. According to the results obtained, the overexpression of the genes TLR 7, TLR 4, Tmprss 13, IFN- $\gamma$  and IL 4 was detected. This indicates a prolonged activation of innate immunity after Sputnik-V vaccination. The results of the study confirm the hypothesis about the possibility of induction of trained immunity in humans using vaccines based on adenovirus vectors. Our results can serve as a basis for the development of more effective vaccination strategies and new vaccines, opening up prospects for improving the protection of society from infectious diseases.

*Keywords:* gene expression, Sputnik-V vaccine, IL-4, IFN- $\gamma$ , TLR7, TLR4, Tmprss13, SARS-CoV-2.

#### Information about the authors

**Kadyrova Irina Adilevna** — Associate professor, PhD, Candidate of chemical sciences, Senior researcher, Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan; e-mail: [ikadyrova@qmu.kz](mailto:ikadyrova@qmu.kz);

**Balgabekova Aruzhan Bekasylovna** — Master student of Research Biologist, trainee researcher of the scientific-research laboratory, Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan; e-mail: [aruzhanp@qmu.kz](mailto:aruzhanp@qmu.kz);

**Barkhanskaya Valentina Ivanovna** — MD, Master student of molecular medicine, Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan; e-mail: [valentina.barkhanskaya@nu.edu.kz](mailto:valentina.barkhanskaya@nu.edu.kz);

**Absaghit Laylim Nygymetollakyzy** — Master student of Research Biologist, Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan; e-mail: [absaghit@qmu.kz](mailto:absaghit@qmu.kz).