

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Зорниковой Ксении Викторовны  
на тему: «Динамика гуморального и Т-клеточного иммунного  
ответа на вирус SARS-CoV-2»  
по специальности 3.2.7 – Иммунология**

**Актуальность темы диссертационной работы**

Впервые новая коронавирусная инфекция, вызываемая вирусом SARS-CoV-2, была обнаружена в 2019 году. Эпидемия привела к большому количеству жертв и повлекла за собой серьезные экономические проблемы. С появлением новых вариантов коронавируса ситуация еще более осложнилась. Вместе с тем пандемия предоставила уникальную возможность изучить формирование иммунного ответа на абсолютно новую инфекцию. Несмотря на то, что пандемия пошла на спад, изучение нового коронавируса и иммунного ответа на него все еще представляет для науки значительный интерес.

Изначально наиболее активно изучался гуморальный ответ на вирус, однако со временем были выявлены случаи, когда заболевание COVID-19 проходило без образования антител, что дало толчок к активному изучению Т-клеточного ответа.

При изучении Т-клеточных ответов наибольший интерес представляет не только реакция распознавания вирусных антигенов, но и непосредственно репертуар Т-клеточных рецепторов, поскольку именно изучение структуры репертуара может пролить свет на особенности формирования и поддержания популяции Т-клеток памяти. Вследствие этого работа, направленная на изучение репертуара Т-клеточных рецепторов, сформировавшегося в ответ на антигены нового вируса SARS-CoV-2, и его изменения с течением времени, является весьма актуальной и позволяет понять не только особенности клеточного иммунитета против конкретного вируса, но и дает фундаментальные знания о том, как формируется и работает Т-клеточный иммунитет в целом.

## **Научная новизна полученных результатов**

Известно, что элиминация вируса SARS-CoV-2 может происходить без образования антител. В рассматриваемой диссертационной работе было также продемонстрировано, что CD8<sup>+</sup> Т-клеточный иммунитет сохраняется у переболевших COVID-19 дольше, чем IgG антитела. При этом Т-клеточный иммунный ответ на разные структурные белки вируса SARS-CoV-2 (S-, M- и N-белки) может отличаться как по силе, так и по стойкости. Так было продемонстрировано, что из трех изученных структурных белков ответ на N-белок был наименее стабильным.

В работе было выявлено, что из 15-и эпитопов, считавшихся иммуногенными в других исследованиях, лишь 11 вызывали ответ у более чем половины протестированных доноров. Количество эпитоп-специфичных Т-клеток снижается со временем, хотя, как было продемонстрировано в работе, сохраняется на протяжении как минимум 8 месяцев. Для нескольких иммуногенных эпитопов вируса SARS-CoV-2 был охарактеризован репертуар бета цепей Т-клеточных рецепторов, а всего в работе было описано 715 уникальных клонотипов. В работе было показано, что эпитоп-специфичный ответ различался по характеристикам репертуара Т-клеточных рецепторов, что влияло на стойкость ответа на иммуногенные эпитопы: наиболее стойкий ответ формировался за счет наиболее разнообразного эпитоп-специфичного репертуара.

## **Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическая значимость работы определяется раскрытием некоторых фундаментальных механизмов Т-клеточного ответа и формирования пула Т-клеток памяти, возникающих после иммунного ответа на вирусные антигены. В работе было показано, что ответ на иммунодоминантные эпитопы сохраняется длительное время (как минимум 8 месяцев после заболевания), хотя количество и частота эпитоп-специфичных клонов со временем уменьшается. Интенсивность ответа зависит не столько от времени после заболевания, сколько от антигенной специфичности клона и характеристик

эпитоп-специфичного репертуара, таких как размер клонов и публичность клонотипов, но наиболее важной характеристикой является именно клональность ответа. В работе доказано, что длительное поддержание Т-клеточной памяти связано с поликлональностью ответа.

Выявленные закономерности могут быть использованы при изучении эволюции вируса, а также иметь значение для практического применения, например, при разработке новых противовирусных вакцин.

### **Достоверность полученных результатов и выводов диссертационной работы**

Достоверность результатов, обоснованность научных положений и выводов не вызывает сомнений. В работе использованы современные методы, выборка обследованных доноров была достаточной и репрезентативной, все полученные экспериментальные данные были тщательно проанализированы и описаны. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне с использованием цитологических, иммунохимических, молекулярных, иммунологических и статистических методов.

Автор работы, владея широким спектром биологических методов исследований, является хорошо подготовленным специалистом. Основные положения и выводы работы являются достоверными и логически обоснованными.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертация построена по классическому плану и состоит из глав «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы» и «Список литературы». Объем работы составляет 113 страниц, работа содержит 21 рисунок и 3 таблицы. Список литературы включает 170 источников.

В разделе «Введение» автор обосновывает актуальность исследования, излагает цель и задачи. Этот раздел также содержит подразделы «Научная

новизна работы», «Теоретическая и практическая значимость работы», «Методология и методы исследования», «Основные положения, выносимые на защиту», «Личный вклад автора» и «Апробация результатов и публикации».

Раздел «Обзор литературы» детально описывает особенностям вируса SARS-CoV-2 и иммунного ответа на него. В обзоре присутствуют главы, посвященные исследованиям репертуара T-клеточных рецепторов и методам, используемым в мире для их изучения.

В главе «Материалы и методы» представлена методическая часть работы, содержащая описание обследованных пациентов, иммунохимических, молекулярных и статистических методов.

Раздел «Результаты» описывает полученные в ходе работы результаты и содержит 4 подраздела. Разделы выстроены последовательно, описание данных достаточно четкое, а иллюстрации полные. В первом подразделе автор приводит анализ гуморального и T-клеточного ответов в двух временных точках у 50 человек, перенесших COVID-19. Показано, что клеточный иммунный ответ на антигены S-, M- и N- белков вируса SARS-CoV-2 развивается чаще и сохраняется дольше, чем гуморальный. Далее автор анализирует эпитоп-специфичный ответ CD8<sup>+</sup> T-клеток на образцах, полученных от 26 доноров. В этом подразделе показано, что эпитоп-специфичный ответ CD8<sup>+</sup> T-клеток снижается, но остается детектируемым в течение 8 месяцев после инфекции. Последним этапом работы является исследование клонального репертуара цитотоксических клеток, в котором автор демонстрирует, что поликлональный ответ коррелирует с длительной персистенцией CD8<sup>+</sup> T-клеток в крови.

В разделе «Обсуждение результатов» автором анализируются полученные данные, проводится сравнение с другими исследованиями в данной области.

Работа завершается четырьмя выводами, отражающими суть полученных сведений и логично вытекающих из результатов работы.

Работа написана хорошим языком, автор последователен в изложении результатов и их обсуждении. Результаты структурированы и дополнены рисунками и таблицами.

Автореферат диссертации полностью отражает основное содержание работы.

### **Замечания, комментарии и вопросы к представленной работе**

Поскольку я был рецензентом Научно-квалификационной работы Зорниковой К.В., то практически все мои замечания уже были учтены при написании диссертации, тем не менее я могу сделать небольшие замечания:

1. В диссертации сделаны 4 вывода. Некоторые из них выглядят очень конкретно. Я бы даже сказал слишком конкретно. Например, в выводе 2 с точностью до десятых долей процентов указываются доли эпитопов, распознаваемых специфичными CD8<sup>+</sup> Т-клетками памяти. На мой взгляд можно было бы не входить в такую детализацию. Напротив, мне не хватило еще одного вывода, который бы обобщал бы все предыдущие.

Тем более, что раздел Результаты заканчивается фразой: «В результате было показано, что изначальное количество специфичных к эпитопу клонов в наибольшей мере влияло как на стабильность, так и на повышенную стабильность эпитоп-специфичного ответа. Это подчеркивает важность индукции поликлонального ответа для формирования долговременной Т-клеточной памяти». Эта фраза просто просится быть таким завершающим выводом.

2. На Рис. 21 приведены результаты корреляционного анализа некоторых переменных. Указаны коэффициенты корреляции и приведены значения  $r$ , полученные с помощью теста Манна-Уитни. Логичней было бы привести значения  $r$  из самого корреляционного анализа.

3. Термину «персистирование» я бы предпочел термин персистенция.

Высказанные замечания не затрагивают полученных результатов и сущности сделанных выводов, а также не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой диссертации.

### **Заключение**

Диссертационная работа Зорниковой Ксении Викторовны на тему «Динамика гуморального и Т-клеточного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 3.2.7 – Иммунология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Зорникова Ксения Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7 – Иммунология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,  
заведующий лабораторией иммунохимии  
ФГБУ «Государственный научный центр  
«Институт иммунологии» Федерального  
медико-биологического агентства России

**Филатов Александр Васильевич**

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защищена диссертация: 14.00.36 — Аллергология и иммунология

Адрес места работы:

115522, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24  
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный  
научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-  
биологического агентства России, лаборатория иммунохимии  
Тел.: 8 (499) 311-67-78; e-mail: info@nrcii.ru