

Отзыв официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Астаховой Екатерины Андреевны на тему: «Особенности В-клеточного иммунного ответа на антигены SARS-CoV-2» по специальности 3.2.7. Иммунология

Актуальность темы исследования

Работа посвящена сравнительному анализу формирования В-клеточного иммунитета на антигены возбудителя новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 в когортах вакцинированных и инфицированных испытуемых. Актуальность темы исследования связана с необходимостью надежной индукции и долговременного сохранения В-клеточной памяти в целях продукции количества высокоспецифических и протективных антител, достаточного для эффективной защиты организма при повторной встрече с данным вирусом. В мировой литературе сведения о формировании В-клеточной памяти представлены преимущественно на основании исследований изменений иммунного ответа в ходе развития инфекций, вызванных вирусом гриппа, малярии, гепатита, а также после вакцинации мРНК-вакцинами, тогда как закономерности развития В-клеточной памяти после иммунизации другими вакцинами остаются мало изученными. Представленная к защите диссертационная работа своевременно закрывает эту брешь; при этом диссертант сосредоточилась на определении и изучении функциональной активности *in vitro* В-клеток памяти, специфических по отношению к антигенным эпитопам рецептор-связывающего домена (область RBD) коронавируса SARS-CoV-2. Выбор данной специфичности как молекулярной мишени для вакцинных иммунных ответов особенно актуален, поскольку именно эта область отвечает за проникновение вируса в клетки организма, и поэтому RBD-специфические антитела обладают высоким протективным потенциалом.

Быстрая эволюция мутантных вариантов SARS-CoV-2 в период пандемии определила целесообразность разработки и оценки применения различных вакцин и новых схем вакцинации и ревакцинаций с целью выявления наиболее оптимальных вариантов, обеспечивающих высокий уровень защиты от новых вариантов вируса. Высокую актуальность исследования диссертанта подчеркивает и то, что в данной диссертации методично и последовательно проведено сравнение вирус-нейтрализующей активности сывороток вакцинированных после гомо- и гетерологичной ревакцинаций, а также сравнение по авидности сывороточных антител после внутримышечной и интраназальной ревакцинаций.

Основные результаты диссертационной работы

Диссертационная работа включает в себя 4 независимых исследования. В первой части диссертант определила корреляционные взаимоотношения между разными методами оценки вирус-нейтрализующей активности антител, и с учетом полученных новых сведений разработала тест суррогатной вирус-нейтрализации с использованием инновационной технологии чипов. Во второй части диссертант представила характеристику долговременной В-клеточной памяти исследованных

участников после перенесенной инфекции COVID-19 и/или вакцинации вакциной Спутник V. Полученные данные позволили автору заключить, что гибридный по своему происхождению иммунитет, вызванный инфицированием и вакцинацией, количественно преобладает над иммунными реакциями, сформированными только вакцинацией Спутником V. В третьей части работы диссертант сравнила нейтрализующую активность сывороток после гомо- и гетерологичной ревакцинации, что позволило обосновать преимущества гетерологичной ревакцинации, которая способствовала большему увеличению нейтрализующих антител. Использование титров нейтрализации антител после ревакцинации позволило построить антигенные карты и сделать вывод о недостаточности широты сформированного нейтрализующего ответа. Четвертая часть работы посвящена сравнительному изучению созревания avidности сывороточных антител в течение полугода после ревакцинации вакцинами Спутник V или Салнавак. Получены оригинальные данные о созревании avidности антител против RBD области вирусных вариантов WT и Delta, но не Omicron BA.4/5.

Степень достоверности полученных результатов

В ходе выполнения работы автор использовал современные иммунологические и клеточно-биологические методы исследований. Экспериментальные подходы к диссертационному исследованию на всех его этапах были адекватны решению поставленных задач. Полученные результаты тщательно документированы и статистически обработаны, а выводы сделаны только на основании статистически значимых, достоверных данных. В совокупности, перечисленные характеристики выполнения диссертационной работы подтверждают достоверность и воспроизводимость ее результатов.

Научная новизна диссертационной работы

Диссертантом получены новые научные данные, которые во многом углубляют понимание механизмов формирования долговременной В-клеточной памяти и антительного ответа после инфекции COVID-19, вакцинации и ревакцинации Спутником V и другими вакцинами. Оригинальные, независимо полученные данные диссертанта по изучению эффективности гетерологичной вакцинации тематически соответствуют последним работам, опубликованным в ведущих мировых журналах первого квартиля (Ciancaglini соавт., Mol Ther. 2025, август; Munro и соавт., J.Infection 2025 август; Loyal и соавт., Eur J Immunol., 2025 июль; Agrupis и соавт., Expert Rev Vaccines, 2025 июль; Ramgi и соавт., 2025 июль и другие публикации), убедительно подчеркивая научную новизну диссертационного исследования.

Научно-практическая значимость

Полученные Екатериной Андреевной Астаховой результаты создают перспективную основу для дальнейших фундаментальных и трансляционных исследований В-клеточного иммунного ответа после вакцинации и ревакцинации, направленных на выбор оптимального режима (режимов) гетерологичной

иммунизации и познание фундаментальных закономерностей, лежащих в основе ее успешности и эпидемиологической эффективности. Перспективы практической ценности и внедрения результатов, в том числе – разработанных подходов к оценке В-клеточных ответов *in vitro*, достаточно высоки, поскольку такие подходы могут быть с успехом использованы для скрининговой оценки эффективности иммунизации, а также разработки адаптационных схем вакцинопрофилактики COVID-19 с целью повышения авидности антител и защитной эффективности В-клеточного ответа.

Общая характеристика и структура диссертационной работы

Диссертационная работа Астаховой Екатерины Андреевны – цельная научная работа, с классической структурой, включающей разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение». Работа изложена на 116 страницах, содержит 47 рисунков, 1 таблицу и 179 библиографических ссылок. Обзорная и методическая части описаны тщательно, разнообразные иммунологические методы, использованные диссертантом в работе, представлены достаточно детально. Следует отметить высокую технологичность всех этапов выполнения работы, в том числе – разработку инновационного метода оценки В-клеточных продуктов. Так, диссертантом модифицирована методика ELISpot с целью ее адаптации к выполнению задач диссертационного исследования. Разработанные диссертантом модификации данной технологии позволили разработать новый высокочувствительный тест определения содержания антителопродуцирующих клеток в клинически воспроизводимом удобном формате. Использование других современных технологий - технологии чипов, проточной цитофлуориметрии и определения люциферазной активности позволили методически разнообразить титрование вирус-нейтролизующих антител с использованием в качестве мишеней псевдовиральных частиц SARS-COV-2, несущих репортерные гены GFP или люциферазы. По своему содержанию, целостности раскрытия актуальной темы в области иммунологии, методам выполнения, полученным результатам, выводам и значению для дальнейших иммунологических исследований диссертационная работа Е.А.Астаховой полностью соответствует паспорту специальности 3.2.7. – «Иммунология» (по биологическим наукам).

Основные замечания и вопросы по сути работы

Оценка эффективности гетерологичной вакцинации является одной из несомненных удач соискателя. Однако следует отметить, что работа выиграла бы еще больше, если исследования коллег в этой области, но с использованием других вакцин и опубликованные в самые последние годы, нашли бы еще большее и более углубленное отражение в обзоре, а также при обсуждении собственных данных и перспектив исследований.

При описании в методической части (раздел 2.10) чипов, напечатанных на эпоксид-активированных слайдах, фотография оригинального чипа с указанием их размеров и ссылки на имеющуюся публикацию или патент повысили бы информативность

описания.

Вопрос: с какими механизмами может быть связана выявленная в ходе диссертационной работы разница в созревании avidности антител IgG в отношении антигенных специфичностей RBD разных штаммов у вакцинированных Спутником V или Салнаваком (WT и Delta против ВА.4/5, Вывод 4)?

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация 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. Диссертационное исследование оформлено 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 Астахова Екатерина Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент: доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярных механизмов критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А.Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии Минобрнауки РФ

Писарев Владимир Митрофанович

Контактные данные: Тел.: _____, e-mail _____

Специальности, по которой официальным оппонентом защищена докторская диссертация: 1.3.5. Аллергология и иммунология, ранее 3.2.7); 1.5.7. Генетика.

Подпись главного научного сотрудника, заведующего лабораторией НИИ общей реаниматологии Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР) Писарева Владимира Митрофановича заверяю:

Зам. директора - руководителя НИИ ОР им. В.А.Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии Министерства образования и науки Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

КУЗОВЛЕВ Артем Николаевич

30 января 2026 г.

Почтовый адрес организации: Российская Федерация, 107031 Москва, улица

Петровка, дом 15, строение 2 Тел.: +7 (495) 139-98-02; +7 (495) 641-30-06; e-mail:
fnkcr@fnkcr.ru