

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 avidности 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 квартала (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-нейтрализующих 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 авидности 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

Указанные замечания лишь отмечают некоторые стилистические упущения при оформлении диссертационной работы, и не касаются сути оригинальных и новых результатов, полученных в ходе ее выполнения. Замечания не умаляют научной значимости диссертационного исследования, высокого качества ее выполнения и научно-практического потенциала, которым обладают полученные результаты. Диссертация отвечает всем требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова. Содержание диссертации соответствует паспорту 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 Положению о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Таким образом, диссертант Астахова Екатерина Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. – «Иммунология».

Официальный оппонент: доктор медицинских наук, профессор,
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: fnkerr@fnkerr.ru