

ОТЗЫВ

**официального оппонента Баклаушева Владимира Павловича
на диссертацию Шитикова Савелия Андреевича
«Клональная структура и динамика Т-клеточного ответа
на вирус SARS-CoV-2 после вакцинации Ad5-nCoV»
представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 3.2.7. Иммунология**

Актуальность темы исследования

Аденовирусные вакцины впервые приобрели широкое клиническое применение во время пандемии COVID-19. До этого они часто применялись для исследовательских целей в качестве вектора для доставки генетической информации; также на их основе разработана одна из вакцин от лихорадки Эбола. Накопленный опыт использования аденовирусов позволил оперативно разработать вакцину от вируса SARS-CoV-2 в короткие сроки. Помимо быстрой разработки вакцин на базе аденовирусных векторов, процедура одобрения таких новых препаратов по результатам клинических исследований и вывод этих препаратов на мировые или локальные рынки также был существенно сокращен. Это позволило решить регуляторные вопросы и начать массовую вакцинацию для снижения нагрузки на системы здравоохранения и снижения смертности от COVID-19. В результате такого решения, широкое клиническое применение получили несколько вакцин на основе аденовирусов, хорошо выполняющих задачу иммунизации населения, но не до конца изученных со стороны мирового научного сообщества.

В своей работе Шитиков Савелий Андреевич ставит целью изучение Т-клеточного ответа на S-белок вируса SARS-CoV-2 у добровольцев, вакцинированных аденовирусной вакциной Ad5-nCoV. Полученные результаты демонстрируют устойчивость и длительность клеточного звена иммунитета, а также расширяют наши представления о соотношениях различных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток после вакцинации. Несмотря на снижение

актуальности новой коронавирусной инфекции, изучение вакцин на основе аденовирусов все еще является актуальным и перспективным, поскольку углубляет как фундаментальные знания об иммунной защите, так и может способствовать разработке новых вакцин и совершенствованию существующих в свете возможной угрозы новых пандемий. Помимо этого, полученные результаты могут лечь в основу разработки новых стратегий по периодическому мониторингу популяционного иммунитета для оценки эффективности вакцинации. Таким образом, диссертационная работа имеет безусловное фундаментальное и практическое значение, а ее актуальность не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне с использованием современных клеточных, молекулярно-генетических, и иммунологических методов. Поставленная в работе научная цель адекватно распределена на задачи, каждая из которых нашла отражение в выводах диссертации. Основные положения и выводы, сформулированные автором, являются логически обоснованными. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Научная новизна и значимость исследования

В своей работе Шитиков С.А. вносит значительный вклад в анализ антиген-специфичного Т-клеточного ответа на S-белок после однократной иммунизации здоровых добровольцев вакциной Ad5-nCoV. В частности, впервые демонстрируется динамика ответа Т-клеток после вакцинации Ad5-nCoV, а также впервые демонстрируется клонотипический состав Т-клеток, проводится анализ размеров и количества CD4⁺ и CD8⁺ клонотипов, распознающих S-белок. Полученные автором данные успешно опубликованы в высокоимпактных профильных журналах – результаты диссертационной

работы представлены в 6 печатных работах в рецензируемых научных изданиях, индексируемых Web of Science, Scopus и RSCI.

Структура, содержание и оформление диссертационной работы

Диссертационная работа С.А. Шитикова выстроена по традиционному плану, изложена на 128 страницах, содержит 26 рисунков и 6 таблиц. В списке литературы автор ссылается на 139 источников, среди которых имеются в том числе работы российских научных групп. Оформление диссертации соответствует всем установленным требованиям. Работа имеет законченный характер, текст выстроен логично.

Во Введении автор обсуждает актуальность темы исследования, его научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, а также четко и ясно формулирует цель и устанавливает задачи исследования. Помимо этого, автор представляет 3 положения, выносимые на защиту. Далее, в обзоре литературы, описывается пандемия COVID-19 и современные научные работы, в которых изучались многие аспекты биологии семейства коронавирусов, включая SARS-CoV-2, и вспышки острого респираторного синдрома у людей. Не менее детально проанализированы и представлены имеющиеся литературные данные об иммунном ответе на вирус SARS-CoV-2, а также об основных вакцинах против COVID-19.

В главе «Материалы и методы» автор представляет методологическую часть работы, где подробным образом описывает методы и подходы, используемые в ходе исследования. Отдельно хотелось бы выделить представленную схему анализа образцов, логично и понятно визуализирующую всю проведенную автором работу.

Основные результаты работы представлены в соответствующей главе на 32 страницах, разделены на 5 смысловых частей и содержат богатый и наглядный иллюстративный материал. На основании полученных результатов автором работы сформулировано 6 выводов, которые

соответствуют задачам исследования, а также положениям, выносимым на защиту.

Замечания

Несмотря на общее, безусловно, положительное впечатление от работы, имеется ряд замечаний/вопросов, которые я хотел бы адресовать диссертанту, прежде чем он станет кандидатом наук:

1. Сутовое замечаний/вопрос. Диссертация выполнена в 2020 — 2021 гг. Судя по соотношению ссылок в обзоре (работы 2024 года = 0; 2023 = 4; 2022 = 26; 2021 = 53; 2020 = 40; 2019 = 7), по крайней мере эта глава также была написана в 2022. Почему диссертация защищается в конце 2024? Гораздо более актуальной она была бы во время пандемии. Аргументируйте, почему Ваша работа актуальна сегодня?
2. Сутовое замечание. Поскольку работа выполнена с участием добровольцев, получивших вакцину Ad5-nCoV, содержащую последовательность S-белка, Т-клеточный ответ в диссертации оценивался только на полноразмерный S-белок и его пептиды, но не на другие структурные белки. Мне представляется это неким ограничением диссертации, поскольку некоторые исследователи считают, что Т-клетки, распознающие эпитопы более консервативного N-белка обеспечивают более устойчивый Т-клеточный иммунитет – в т.ч. к новым вариантам SARS-CoV-2. Прошу автора прокомментировать эту ремарку и обосновать выбор именно S-белка.
3. Сутовое замечание. Положение №1, вынесенное на защиту: «Вакцинация аденовирусной вакциной против COVID-19 вызывает иммунный ответ на Спайк-белок вируса SARS-CoV-2 со стороны CD4+ и CD8+ Т-клеток» с моей точки зрения, слишком очевидно, почти так же, как если бы сказать: вакцинация вызывает иммунный ответ у CD19+ В-клеток и выработку антител. Для таких утверждений не нужно делать диссертацию.

4. Вопрос. Почему в 3-ю задачу попала временная точка – 14 дней? (хотя анализировали 14 и 28 дней). Я понимаю, что в этой точке наблюдается пик Т-клеточного ответа. Но получается, что мы сначала выяснили, что пик ответа Т-клеток приходится не на 28-е сутки, а на 14-е, а потом откорректировали сами себе задачу.
5. Техническое замечание. Несмотря на хорошую представленность данных диссертации в научной печати, включая публикацию в Nature Methods, только в одной статье диссертант первый автор.
6. Техническое замечание. С. 14 (обзор) «В геноме вируса SARS-CoV-2 закодированы три структурных белка: мембранный белок (М), белок нуклеокапсида (N), белок оболочки (Е) и шиповидный гликопротеин (Спайк или S)». У кого плохо с арифметикой? Я насчитал 4 структурных белка (потому что S-белок тоже структурный).
7. Техническое замечание. С.14. Нужно внимательнее относиться к терминологии и таксономии. SARS-CoV-2 – коронавирус тяжелого ОСТРОГО респираторного синдрома-2. Кроме того, спайк-белок (или S-белок) в первом случае пишется со строчной буквы (за исключением случаев, когда слово стоит в начале предложения), и только во втором всегда – с прописной. Ну, а авторское написание «Пул пептидов» (в середине предложения, с. 46) или «щелочная фосфотаза» (с. 47) свидетельствует о недостаточном внимании к правилам русского языка.

Заключения

Сделанные замечания не умаляют научно-квалификационной и практической ценности выполненного диссертационного исследования. Диссертация Савелия Андреевича Шитикова «Клональная структура и динамика Т-клеточного ответа на вирус SARS-CoV-2 после вакцинации Ad5-nCoV» является законченным научно-квалификационным трудом, имеющим очевидную практическую ценность. Диссертация отвечает требованиям,

установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (биологические науки) равно как и критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертация 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. Соискатель Шитиков Савелий Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук,
заведующий отделом разработки клеточных препаратов Федеральное
государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр мозга и
нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства

Баклаушев Владимир Павлович

16.12.2024

Контактные данные:

тел.: +7(495)2803550, e-mail: baklaushev@fccps.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.01.04 – Биохимия

Адрес места работы:

117513, Москва, улица Островитянова, 1, стр. 10

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр
мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства,
отдел разработки клеточных препаратов

Тел.: +7(495)2803550, доб. 7755; e-mail: baklaushev@fccps.ru

Подпись сотрудника ФГБУ «ФЦМН» ФМБА России

В.П. Баклаушева удостоверяю:

Учёный секретарь, к.м.н.

А.Ю. Суворов
16.12.2024