

УТВЕРЖДАЮ

и.о. проректора
по научной работе и
международной деятельности
Федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования
«Орловский государственный
университет имени И.С. Тургенева»,
доктор технических наук,
профессор
С. Ю. Радченко



Отзыв ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» о значимости диссертационной работы Череповича Богдана Сергеевича на тему: «Комплексная оценка постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология в диссертационный совет ДСУ 24.1.173.01. созданный на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертация Череповича Богдана Сергеевича посвящена комплексной оценке постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2 — одного из наиболее значимых научных и практических направлений современной иммунологии. Тема работы чрезвычайно актуальна, поскольку пандемия, вызванная новым коронавирусом, оказала беспрецедентное влияние на глобальное здравоохранение, экономику и социальную стабильность. Несмотря на успешную разработку вакцин и

терапевтических подходов, SARS-CoV-2 продолжает циркулировать в популяции, постоянно мутируя и формируя новые варианты, способные ускользать от ранее сформированного иммунного ответа.

Понимание механизмов формирования и функционирования как гуморального, так и клеточного звеньев иммунитета после перенесённой инфекции и/или вакцинации имеет ключевое значение для разработки эффективных стратегий профилактики, прогнозирования рисков реинфекции и персонализированного подхода к лечению. Особенно важна оценка не только количественных, но и качественных характеристик иммунного ответа, таких как авидность антител и их нейтрализующая активность, а также напряжённость Т-клеточного иммунитета.

Таким образом, диссертационная работа Череповича Б.С. представляет собой важное научное исследование, объединяющее теоретические и прикладные аспекты иммунологии, и отвечает насущным потребностям современной медицинской науки и практики.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационное исследование «Комплексная оценка постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2» полностью соответствует приоритетам государственной политики в области здравоохранения и науки, в частности — подпункту «в» пункта 20 Перечня «Приоритеты и перспективы научно-технологического развития Российской Федерации», утверждённого Указом Президента РФ от 28 февраля 2024 г. № 145, где особое внимание уделяется персонализированной медицине.

Вышеуказанное исследование выполнено в соответствии с основными направлениями научных исследований, проводимых в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.М. Мечникова».

Новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы заключается в следующем:

1. Впервые показано, что у подавляющего большинства (91,2%) лиц с постинфекционным или поствакцинальным иммунитетом процесс созревания IgG-антител к RBD SARS-CoV-2 остаётся неполным, что выражается в низкой авидности антител даже спустя длительное время после контакта с антигеном.
2. Установлена прогностическая роль индекса авидности: низкие значения коррелируют с тяжёлым течением повторной инфекции, что позволяет использовать данный параметр как маркер риска при реинфекциях.
3. Разработан и валидирован суррогатный вируснейтрализующий тест (sVNT), позволяющий определять антитела, блокирующие взаимодействие RBD и ACE2-рецептора. Впервые продемонстрирована его применимость на трёх видах лабораторных животных (мыши, собаки, коровы), что открывает возможности его использования на этапе доклинических испытаний вакцинных препаратов.
4. Показана высокая корреляция результатов sVNT с классической реакцией нейтрализации, что подтверждает его ценность как безопасной, быстрой и стандартизируемой альтернативы трудоёмким вирусологическим методам.
5. Разработан оригинальный ИГРА-тест на основе цельной крови для оценки Т-клеточного иммунитета, который не требует сложного оборудования и может быть внедрён в рутинную лабораторную практику.
6. Впервые выявлено, что у трети многократно вакцинированных реконвалесцентов отсутствует специфический клеточно-опосредованный иммунный ответ, о чём свидетельствует отсутствие продукции IFN- γ после стимуляции Т-лимфоцитов антигенами SARS-CoV-2.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты, полученные Череповичем Б.С., обладают высокой научной и практической ценностью. Разработанные тест-системы для оценки авидности антител и нейтрализующей активности, а также методика оценки Т-клеточного ответа, могут быть использованы:

- в научных исследованиях для комплексной оценки иммунного статуса;
- при проведении доклинических и клинических испытаний вакцин;
- в клинической практике для мониторинга популяционного иммунитета и прогнозирования рисков реинфекции;
- при отборе доноров для плазмотерапии;
- в системе персонализированной медицины для оценки эффективности вакцинации и необходимости ревакцинации.

Алгоритмы, предложенные автором, позволяют выявлять биомаркеры протективного иммунитета и могут лечь в основу новых диагностических и прогностических подходов.

Личный вклад автора

Черепович Б.С. принимал непосредственное участие во всех этапах исследования: самостоятельно определил научную проблему, разработал методологию, провёл эксперименты, выполнил статистическую обработку данных и интерпретацию результатов. Автор принимал участие в разработке и регистрации двух наборов реагентов для ИФА-диагностики (качественно определение IgG-антител к RBD SARS-CoV-2 и их авидности), участвовал в создании суррогатного вируснейтрализующего теста и ИГРА-тест системы. Череповичем Б.С. самостоятельно и в соавторстве подготовлены 9 публикаций по теме исследования, включая 5 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных (Web of Science, Scopus, PubMed), включённых в Перечень ВАК и тезисы конференций.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Основные научные положения, результаты и практические рекомендации диссертации Череповича Б.С. рекомендуется включить в учебные курсы по иммунологии, вирусологии и вакцинологии в медицинских вузах, использовать в научно-исследовательских институтах при разработке и тестировании новых вакцин против SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций, внедрить в практику клинических и диагностических лабораторий

для мониторинга гуморального и клеточного иммунитета у пациентов и вакцинированных лиц, а также применять при формировании стратегий ревакцинации и персонализированного подхода к иммунопрофилактике.

Количество печатных работ

По материалам диссертации автором опубликовано 9 научных работ, отражающих основные положения диссертации в том числе:

- 5 статей в рецензируемых журналах, индексируемых в Web of Science, Scopus, PubMed и включённых в Перечень ВАК;
- 4 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских конференций.

Структура и содержание диссертации, её завершённость

Диссертация изложена на 157 страницах машинописного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перечень сокращений и список литературы (239 источников). Работа содержит 13 таблиц и 35 рисунков.

Во «Введении» обоснована актуальность темы в контексте пандемии COVID-19, вызванной SARS-CoV-2, с акцентом на необходимость комплексной оценки постинфекционного и поствакцинального адаптивного иммунитета на фоне появления новых вариантов вируса и неоднозначности существующих данных о длительности и эффективности иммунной защиты. Сформулирована цель исследования — оценка формирования гуморального и клеточного иммунитета после перенесённой инфекции и/или вакцинации, — и определены конкретные задачи, включающие разработку и апробацию тест-систем для мониторинга IgG-антител к RBD, их авидности, суррогатного вируснейтрализующего теста (sVNT) и метода оценки Т-клеточного ответа через измерение IFN- γ .

Глава 1 представляет собой систематизированный обзор современных научных данных по SARS-CoV-2 и иммунному ответу на него. В начале

главы описывается история возникновения и глобального распространения пандемии COVID-19, приводится общая характеристика вируса — его структура, геном, жизненный цикл, а также рассматриваются основные варианты вируса, включая «Альфа», «Дельта» и «Омикрон», с акцентом на их повышенную контагиозность и способность ускользать от иммунного ответа. Далее подробно анализируются компоненты адаптивного иммунитета: гуморальный и клеточный. В контексте гуморального иммунитета освещается динамика выработки антител классов IgM, IgA и IgG, их роль в нейтрализации вируса, значение антител к S- и N-белкам, а также особое внимание уделяется авидности IgG-антител к рецептор-связывающему домену как маркеру зрелости иммунного ответа и прогностическому фактору при повторных инфекциях. В разделе, посвящённом клеточному иммунитету, рассматриваются функции CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, формирование Т-клеточной памяти, влияние генетического полиморфизма HLA на индивидуальную эффективность иммунного ответа и сохранение Т-клеточной реактивности даже против новых вариантов вируса, включая «Омикрон». Отдельное внимание уделено вакцинам против SARS-CoV-2: описаны основные платформы — мРНК-, векторные, инактивированные и рекомбинантные, их принципы действия, преимущества и ограничения. Завершает главу анализ методов оценки адаптивного иммунитета: для гуморального звена — серологические тесты (ELISA, CLIA, LFIA), классическая реакция нейтрализации, псевдовирусные и суррогатные нейтрализующие тесты (sVNT); для клеточного звена — ELISpot, IGRA на основе IFN-γ, проточная цитометрия, МНС-тетрамеры и NGS-секвенирование TCR. В заключение подчёркивается необходимость комплексного подхода к оценке иммунитета, стандартизации методик и дальнейшего изучения долгосрочных иммунологических последствий как перенесённой инфекции, так и вакцинации.

Во «Главе 2» описаны материалы и методы, использованные для оценки гуморального и клеточного иммунного ответа на SARS-CoV-2. В

исследовании применялись сыворотки и цельная кровь 600 добровольцев (147 серонегативных и 453 серопозитивных), а также сыворотки 37 животных (коров, собак и трансгенных мышей), иммунизированных экспериментальной вакциной на основе S-белка. Все эксперименты с животными проведены в соответствии с этическими и биобезопасными нормами.

Для оценки гуморального иммунитета использовались разработанные автором иммуноферментные тест-системы:

- определение IgG к RBD и N-белку SARS-CoV-2;
- оценка авидности IgG к RBD с применением хаотропного агента (мочевина);
- суррогатный вируснейтрализующий тест, показывающий способность антител блокировать связывание RBD с рецептором ACE2.

Кроме того, проводилась классическая реакция нейтрализации (РН) с использованием лабораторного штамма SARS-CoV-2 «Dubrovka».

Для оценки клеточного иммунитета разработан и адаптирован тест на основе принципа IGRA: в цельной крови после 24-часовой стимуляции пулом иммунодоминантных пептидов SARS-CoV-2 измеряли концентрацию IFN- γ методом ИФА.

Особого внимания заслуживает **третья глава** диссертации — «Результаты и обсуждения собственных исследований», являющаяся центральной частью научного вклада работы. Она логически разделена на два основных направления: исследование гуморального и клеточного иммунного ответа на SARS-CoV-2. В рамках первого направления автор последовательно излагает результаты разработки, валидации и практического применения собственных диагностических тест-систем, предназначенных для оценки антитело-опосредованного (гуморального) иммунитета. В частности, подробно описаны создание и метрологическая оценка двух зарегистрированных ИФА-наборов: «SARS-CoV-2-ИФА-IgG» — для количественного определения IgG-антител к RBD-домену S-белка вируса, и

«SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» — для дополнительной оценки авидности этих антител. Приведены убедительные показатели чувствительности (99%) и специфичности (100%), высокая воспроизводимость (коэффициент вариации менее 8%), отсутствие перекрёстной реактивности и устойчивость к влиянию таких интерферирующих веществ, как билирубин, гемоглобин и липиды. Ключевым достижением стала калибровка тест-систем по международному стандарту ВОЗ (NIBSC 20/136), что позволило выражать результаты в общепринятых единицах ВАУ/мл и обеспечило их сопоставимость на глобальном уровне. Далее представлены важные данные по авидности IgG-антител: у подавляющего большинства (91,2%) обследованных лиц процесс созревания антител остаётся незавершённым (индекс авидности $< 50\%$), вне зависимости от типа иммунитета — постинфекционного, поствакцинального или гибридного — и от числа контактов с антигеном. Особенно значимым является выявленная связь между низким индексом авидности и тяжестью повторного заболевания: у пациентов с тяжёлым течением реинфекции он составлял в среднем 28,4%, тогда как при лёгком течении — 81,4%, что позволяет рассматривать авидность как потенциальный прогностический маркер риска тяжёлого исхода. Также детально описана разработка и комплексная валидация суррогатного вируснейтрализующего теста (sVNT), предназначенного для выявления антител, ингибирующих взаимодействие RBD-домена вируса с клеточным рецептором ACE2. Автор подтверждает высокую чувствительность (96%) и специфичность (100%) sVNT, а также его тесную корреляцию ($r = 0,81-0,87$, $p < 0,0001$) с результатами классической реакции нейтрализации на культуре клеток Vero — «золотым стандартом» в этой области. Успешная апробация метода на трёх видах животных (собаках, коровах и трансгенных мышах) подтвердила его универсальность и применимость в доклинических исследованиях вакцин без необходимости разработки видоспецифичных реагентов. Кроме того, показана возможность

использования sVNT в клинической практике — для мониторинга популяционного иммунитета и отбора доноров реконвалесцентной плазмы.

Вторая часть третьей главы посвящена исследованию клеточно-опосредованного иммунного ответа — компоненту адаптивного иммунитета, имеющего важное значение и требующего более сложных методологических подходов к оценке. Автор представляет разработанный и валидированный ИГРА-тест (Interferon Gamma Release Assay), основанный на использовании пептидного пула, включающего иммунодоминантные CD4⁺ и CD8⁺ эпитопы SARS-CoV-2, что существенно снижает риск перекрёстных реакций. Метод отличается простотой выполнения: стимуляция лимфоцитов проводится прямо в пробирках с цельной кровью, без предварительного выделения мононуклеаров. Диагностические характеристики теста высоки: чувствительность составляет 92,2%, специфичность — 100%. При применении ИГРА-теста к когорте из 258 добровольцев с гибридным иммунитетом было установлено, что специфический Т-клеточный ответ (продукция IFN- γ) обнаружен лишь у 71,3% участников, что указывает на выраженную гетерогенность клеточного иммунитета даже среди лиц с подтверждённым контактом с вирусом. При этом не выявлено значимой корреляции между уровнями гуморального ответа (IgG к RBD) и клеточного (IFN- γ). В то же время отмечено, что концентрация IFN- γ достоверно выше у тех, кто прошёл ревакцинацию за 1–2 месяца до обследования, что свидетельствует о временной динамике Т-клеточного иммунного ответа.

Таким образом, третья глава представляет собой целостное, методологически обоснованное и детально проиллюстрированное изложение оригинальных научных результатов, которые не только полностью соответствуют целям и задачам исследования, но и открывают новые горизонты для понимания механизмов иммунной защиты против SARS-CoV-2.

В заключении автор обобщает полученные данные, подчёркивая их значение для формирования целостного представления о комплексной

природе противовирусного иммунитета. Все научные положения и выводы диссертации подкреплены достоверными экспериментальными данными и легли в основу практических рекомендаций.

Структура диссертации логична, последовательна и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Все поставленные задачи решены, выводы обоснованы и подтверждены экспериментальными данными. Работа является завершённым научным исследованием, имеющим как теоретическую, так и прикладную значимость.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Достоинствами работы являются высокий научный уровень и методологическая строгость, комплексный подход к оценке адаптивного иммунитета, разработка и регистрация оригинальных диагностических тест-систем, а также чёткая интерпретация результатов и их соответствие современным представлениям в иммунологии. Недостатков, существенно влияющих на научную ценность работы, не выявлено; незначительные стилистические и редакционные погрешности не снижают общего качества диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Череповича Богдана Сергеевича на тему «Комплексная оценка постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – комплексной оценки адаптивного иммунного ответа к SARS-CoV-2, имеющей существенное значение для иммунологии, что соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного правительством РФ от 24.09.2013 №842 со всеми последующими редакциями и изменениями предъявляемыми к кандидатским диссертациям, а ее автор

Черепович Богдан Сергеевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности - 3.2.7. Иммунология.

Диссертационная работа, автореферат и отзыв обсуждены и одобрены на совместном заседании кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин и кафедры внутренних болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» (Протокол №4 от 05.11.2025 г.).

Директор Медицинского института, заведующий кафедрой иммунологии и специализированных клинических дисциплин Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», доктор медицинских наук, профессор

Снимщикова Ирина Анатольевна

«10» ноября 2025 г.

Подпись д.м.н, профессора И.А. Снимщиковой заверяю:

ученый секретарь Ученого совета
ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева»
кандидат биологических наук, доцент

Чаадаева Наталья Николаевна

«10» ноября 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»; 302026, Орловская область, г. Орел, ул. Комсомольская, д. 95, +7(4862) 75-13-18; e-mail: info@oreluniver.ru; сайт: <https://oreluniver.ru/>