

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля наук Российской Федерации, ведущего научного сотрудника лаборатории иммунопатофизиологии в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук Зурочки Александра Владимировича на диссертационную работу Череповича Богдана Сергеевича на тему: «Комплексная оценка постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2», представленную в диссертационный совет ДСУ 24.1.173.01 на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – Иммунология

Актуальность темы диссертационной работы

Актуальность темы «Комплексная оценка постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2» обусловлена сохраняющейся значимостью коронавирусной инфекции COVID-19 в глобальном здравоохранении, несмотря на снижение остроты пандемии. Вирус SARS-CoV-2 продолжает циркулировать, демонстрируя высокую способность к мутациям и порождая новые варианты, такие как сублинии Omicron, которые могут частично ускользать от ранее сформированного иммунного ответа. Это ставит под сомнение долгосрочную защиту как после перенесённой инфекции, так и после вакцинации, требуя постоянного мониторинга и переоценки эффективности иммунитета. При этом иммунный ответ у разных групп населения существенно варьируется — он зависит от возраста, наличия сопутствующих заболеваний, генетических особенностей, типа использованной вакцины и количества введённых доз. Особенно интерес представляет так называемый гибридный иммунитет, формирующийся у лиц, переболевших COVID-19 и впоследствии получивших вакцину: современные исследования указывают на его повышенную прочность и длительность по сравнению с изолированным постинфекционным или поствакцинальным иммунитетом. Особенно важным стало понимание не просто наличия, а функциональной зрелости и протективной эффективности адаптивного иммунитета к SARS-CoV-2. Работа Череповича Б.С. направлена на решение именно этой задачи на разработку и применение комплексной методологической платформы для всесторонней оценки иммунитета против SARS-CoV-2. Тема диссертации является чрезвычайно актуальной и соответствует приоритетным направлениям современной иммунологии.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автор чётко формулирует цель и задачи исследования, опираясь на детальный анализ современной литературы. В работе последовательно реализован переход от методологического этапа – создания и валидации оригинальных диагностических тест-систем – к их применению в клинических и экспериментальных условиях. Все выводы логически вытекают из полученных данных и подкреплены статистически значимыми результатами. Использование международных стандартов (ВОЗ), строгая стандартизация протоколов и применение адекватных статистических методов обеспечивают высокую научную обоснованность и надёжность сделанных заключений.

Достоверность и новизна полученных результатов

Достоверность результатов обеспечена использованием представительных выборок, включая образцы от людей и трёх видов животных (мышей, собак и коров), строгого соблюдения методологических протоколов, применения международных стандартов, рекомендованных ВОЗ, а также подтверждена высокой воспроизводимостью экспериментальных данных.

Научная новизна настоящей работы заключается в том, что впервые установлено незавершённое созревание IgG-антител к рецептор-связывающему домену (RBD) SARS-CoV-2 у подавляющего большинства (91,2%) лиц с постинфекционным или гибридным иммунитетом, что проявляется в сохранении низкой авидности антител даже спустя длительное время после перенесённой инфекции или вакцинации. С использованием разработанной оригинальной тест-системы показано, что индекс авидности IgG к RBD может выступать прогностическим маркером тяжести повторного течения COVID-19: низкие значения индекса достоверно ассоциированы с более тяжёлым клиническим течением реинфекции. Кроме того, впервые разработан и валидирован суррогатный вируснейтрализующий тест (sVNT), продемонстрировавший высокую корреляцию с результатами классической реакции вирусной нейтрализации как у людей, так и у исследованных видов животных, что создаёт предпосылки для его широкого применения на этапе доклинических испытаний вакцин. Наконец, в ходе исследования впервые выявлено, что почти у трети многократно вакцинированных реконвалесцентов отсутствует специфический клеточно-опосредованный иммунный ответ, оцениваемый по продукции интерферона-гамма (IFN- γ), что ставит под сомнение достаточность исключительно гуморального иммунитета для

обеспечения полноценной защиты и подчёркивает необходимость комплексной оценки иммунного статуса.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные результаты имеют высокую теоретическую и практическую значимость. С использованием разработанных тестов была проведена оценка качественной характеристики антител – их авидности. Анализ показал, что наиболее выраженный иммунный ответ формируется у лиц с гибридным иммунитетом, то есть у переболевших COVID-19 и прошедших полный курс вакцинации препаратом «Гам-Ковид-Вак» неоднократно. Вместе с тем выяснилось, что антитела высокой авидности обнаружены лишь у 8,8% участников этой группы, что свидетельствует о незавершённости процесса их созревания (матuration). Кроме того, установлено, что определение индекса авидности может быть применено в клинической практике как прогностический критерий тяжести повторного заболевания COVID-19.

Также был разработан метод выявления антител, способных блокировать взаимодействие рецептор-связывающего домена (RBD) вируса SARS-CoV-2 с клеточным рецептором ACE2. Данный метод может служить альтернативой классической реакции вирусной нейтрализации. Показана его универсальность: он применим как для оценки иммуногенности вакцинных кандидатов при доклинических испытаниях на любых видах животных, так и в клинико-диагностической практике для мониторинга уровня популяционного гуморального иммунитета к SARS-CoV-2.

Кроме того, создан метод *in vitro*-оценки функционального ответа иммунных клеток периферической крови человека на стимуляцию антигенами SARS-CoV-2 с целью определения напряжённости Т-клеточного иммунитета. Метод основан на детекции гамма-интерферона (IFN- γ), продуцируемого Т-лимфоцитами цельной крови в ответ на воздействие специфических пептидов вирусных антигенов. Разработанная методика применима как в научных исследованиях, так и в практическом здравоохранении для оценки популяционного клеточного иммунитета. С её помощью установлено, что у 28,7% добровольцев с гибридным иммунитетом, несмотря на многократную вакцинацию, специфическая Т-клеточная реакция отсутствовала.

Данные, полученные в ходе диссертационной работы, внедрены в протоколы доклинических исследований по изучению иммуногенности и протективности кандидатной вакцины против SARS-CoV-2. Кроме того, материалы диссертации используются в учебном и научном процессе кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. акад. А.А. Воробьёва ИОЗ

им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова при изучении дисциплин микробиологии и иммунологии, читаемых студентам по направлениям подготовки 31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.03 «Стоматология», 32.05.01 «Медико-профилактическое дело», 33.05.01 «Фармация», 31.05.02 «Педиатрия».

Соответствие диссертации паспорту специальности

Результаты проведенного исследования полностью соответствуют:

- п. 2 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии»;
- п. 6 «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов»;
- п. 9 «Разработка и усовершенствование методов оценки качества постинфекционного и поствакцинального иммунитета, эффективности и безопасности новых вакцинных препаратов»

паспорта специальности 3.2.7 – Иммунология (медицинские науки).

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Результаты диссертационного исследования представлены в 9 печатных работах, в том числе в 5 статьях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed и включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России и 4 публикациях в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Содержание и оформление диссертационной работы

Диссертационная работа оформлена в традиционном стиле, изложена на 157 страницах печатного текста, иллюстрирована 35 рисунками и 13 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 239 источников. Структура диссертации соответствует требуемым стандартам.

Во «Введении» обоснована актуальность темы в контексте пандемии COVID-19, сформулированы цель и задачи исследования, определены научная новизна и практическая значимость. Указаны методологическая база, личный вклад автора, а также данные об апробации и внедрении результатов в научно-практическую деятельность.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором последовательно рассматриваются характеристики SARS-CoV-2, адаптивный иммунный ответ (гуморальный и клеточный), вакцинные платформы и методы оценки иммунитета. Глава подчёркивает необходимость комплексного подхода и указывает на остающиеся научные вопросы.

Во второй главе подробно описаны материалы и методы: характеристика образцов (600 сывороток от людей и 37 — от животных), методы оценки гуморального иммунитета (РН, ИФА, sVNT, определение авидности) и клеточного иммунитета (разработанный ИГРА-тест на основе IFN- γ).

Особое внимание заслуживает третья глава — «Результаты и обсуждения собственных исследований», которая логически разделена на два крупных блока:

- Гуморальный иммунитет: автор представляет результаты разработки и валидации двух зарегистрированных ИФА-тестов (для количественного определения IgG к RBD и оценки их авидности), показывает незавершённость созревания антител у 91,2% лиц, устанавливает прогностическую роль авидности для тяжести реинфекции, а также создаёт и валидирует sVNT с высокой корреляцией к «золотому стандарту» ($r = 0,81-0,87$) и универсальностью, которая подтверждается на для трёх видах животных, иммунизированных кандидатным вакцинным препаратом.
- Клеточный иммунитет: разработан оригинальный ИГРА-тест без выделения моноклеаров, с чувствительностью 92,2% и специфичностью 100%. На когорте из 258 добровольцев показано, что специфический Т-клеточный ответ выявлен лишь у 71,3%, а у почти трети — отсутствует полностью. Не выявлено корреляции между уровнями IgG и IFN- γ , однако подтверждено временное усиление Т-ответа после ревакцинации.

Таким образом, третья глава представляет собой логически структурированное, методологически выдержанное и наглядно оформленное изложение оригинальных результатов, которые не только успешно решают поставленные исследовательские задачи, но и намечают новые направления для углублённого изучения иммунной защиты против SARS-CoV-2. В заключении автор обобщает ключевые находки, подчёркивая их значение для раскрытия сложной, многокомпонентной природы иммунитета к этому вирусу. Все научные положения и выводы диссертационной работы опираются на достоверные эмпирические данные и подтверждены собранным

фактическим материалом. На основе полученных результатов сформулированы конкретные практические рекомендации.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации составлен в соответствии с установленными требованиями и в полной мере отражает основные положения диссертационной работы.

Замечания по содержанию и оформлению

В представленной диссертационной работе отмечаются отдельные стилистические и пунктуационные неточности, однако они носят формальный характер и не влияют на научную ценность, содержание или выводы исследования. Тем не менее, имеется несколько вопросов, требующих обсуждения:

1. При оценке клеточного иммунитета использовался пул пептидов. Была ли проведена верификация эпитопного состава этого пула на предмет охвата доминантных Т-клеточных эпитопов циркулирующих вариантов вируса?
2. В выводах была установлена высокая степень корреляции между показателем КП%/sVNT-титра с титрами ВНА для добровольцев с постинфекционным ($r = 0,8187$, $p < 0,0001$), поствакцинальным ($r = 0,8539$, $p < 0,0001$) и гибридным ($r = 0,8689$, $p < 0,001$) иммунитетом, а также для животных: собак ($r = 0,9151$, $p < 0,0001$) трансгенных мышей ($r = 0,8085$, $p < 0,0001$) и коров ($r = 0,9207$, $p < 0,0001$), а в рекомендациях написано что можно применять методику на любых животных, не является ли это не совсем обоснованным, все таки ряд животных изучаемых экспериментально могут не отвечать идентичным образом на воздействие, например варианты трансгенных животных с измененным генотипом?
3. Почему выбор IFN- γ является основным для оценки клеточного иммунитета на пептиды SARS- CoV- 2?

Поставленные вопросы не снижают позитивную оценку диссертационной работы автора.

Заключение

Диссертационная работа Череповича Богдана Сергеевича на тему «Комплексная оценка постинфекционного и поствакцинального иммунитета против SARS-CoV-2» является законченным научным исследованием, выполненным на высоком методологическом уровне. Работа содержит

существенные научные результаты, имеющие важное значение для иммунологии, в которой содержится решение научной задачи – разработка и апробация тест систем для оценки как гуморального, так и клеточного иммунитета против SARS-CoV-2, имеющей существенное значение для иммунологии, что соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (со всеми дополнениями и изменениями в последующих редакциях), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Все положения, выносимые на защиту, подтверждены экспериментальными данными и соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – Иммунология.

Считаю, что Черепович Богдан Сергеевич заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – Иммунология.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института иммунологии и физиологии

Уральского отделения Российской академии наук,

Заслуженный деятель науки Российской Федерации,

доктор медицинских наук,

профессор



Зурочка Александр Владимирович

«5» ноября 2025 г.

На обработку персональных данных согласен



А.В. Зурочка

Данные об авторе отзыва:

Зурочка Александр Владимирович, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, Адрес организации: 620078, г. Екатеринбург ул. Первомайская, стр.106, телефон: +7(343)374-00-70, электронный адрес: iip@iip.uran.ru, сайт организации: <https://www.iip.uran.ru>, тел. 89193077598, e-mail: av_zurochka@mail.ru

Подпись Зурочки А.В. заверяю:

ученый секретарь Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук,
кандидат биологических наук, доцент

Храмцова Юлия Сергеевна

