

## ОТЗЫВ

на диссертационную работу Анастасии Леонидовны Сычевой «Клональная характеристика Т-клеточного ответа человека при иммунизации инактивированными вакцинами», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Рассматриваемая диссертация представляет собой, по-видимому, самый подробный на сегодняшний день разбор а молекулярном уровне динамики развития иммунного ответа Т-клеток человека на вакцинацию против двух важных вирусных инфекций – гриппа и клещевого энцефалита. Актуальность темы не вызывает сомнений, поскольку наши представления о том, как именно работают используемые в широкой практике вакцины, остаются весьма неполными и, хуже того, приблизительными. В этом смысле работа А. Л. Сычевой представляет собой приятное исключение, поскольку самый современный технический уровень ее выполнения методами молекулярной биологии (иммунологии), адекватность исследуемой выборки пациентов, прекрасная обработка материала методами статистики и биоинформатики позволили получить огромный массив надежных данных о структуре иммунного ответа на вакцину на уровне отдельных клонов Т-лимфоцитов. Все эти мои комплименты проведенному исследованию вполне разделили рецензенты высоко рейтинговых международных журналов, опубликовавших несколько работ автора и ее коллег на своих страницах.

Я сначала скептически отнесся к разделу работы, посвященному вакцинации против гриппа, потому что даже при очень подробном анализе динамики появления специфических клонов Т-клеток после вакцинации по одному донору сложно сделать какие-то выводы. Однако более внимательное прочтение вывода из этого раздела работы изменило мое первоначальное мнение (я считал, что это лишний кусок в диссертации, хватило бы огромного объема данных по вакцинации против клещевого энцефалита). Действительно, показать, что после каждой вакцинации у неоднократно привитого взрослого человека расширяется пул клонов клеток памяти, специфичных к вирусу, – это серьезный результат.

Хотелось бы выделить и убедительно обоснованный вывод о конвергентной селекции специфичных к вакцине клонов Т-клеток и Т-клеток со сходной с ними аминокислотной последовательностью TCR (Рис. 27, 28). Такой «континуум иммунных ответов» при слабых различиях в константах связывания с комплексом р-МНС интуитивно ожидаем, но его очень трудно показать на реальном материале, что все же было сделано в обсуждаемой работе. Между тем, этот результат важен и для решения несколько ушедшей в тень, но вовсе не до конца решенной, проблемы аллогенного распознавания – легко представить себе, что распознавание аллогенных молекул МНС идет сходным образом, с вовлечением в ответ клонов Т-клеток с похожей, но не идентичной структурой TCR, для которых «не свое» оказывается чужим в несколько разной степени. Это означает, что раздел диссертации, посвященный конвергентной селекции Т-клонов, интеллектуально и методически можно приложить к таким слабо исследованным на молекулярном уровне проблемам иммунологии, как механизмы отторжения (трансплантология), развитие РТПХ (пересадка костного мозга), остающемуся во многом загадочным феномену аллогенной ингибиции и другим. В этой области просматривается хорошее сочетание давно разработанных моделей, насущных проблем реальной медицины и методических подходов, примененных А. Л. Сычевой.

Вывод №4, который произвел на меня особое впечатление, касается размеров популяции иммунных Т-клеток, специфичных к введенной вакцине. До 3% всего репертуара TCR в организме человека – это колоссальная цифра, которая заставляет задуматься о том, что же остается для поддержания пристойного уровня иммунного ответа при разных обстоятельствах после вакцинации, скажем, против десятка инфекций. Этот результат заставляет по-другому взглянуть на проблему иммунного истощения, причем не рабочей популяции эффекторных клеток (эти-то быстро уйдут после пика и заменятся свежими), а о резервах иммунологической памяти – хватит ли на все?



Работа прекрасно иллюстрирована и – редкий случай – это касается всех ее разделов. Для потенциальных читателей молекулярных биологов будут полезны иллюстрации к литературному обзору, графически представляющие основные принципы строения и взаимодействия «Т-клетка – МНС», а для специалистов по вакцинам, например, Рис. 13, дающий прекрасный пример того, как нужно описывать протоколы вакцинации. Правда, это не относится к Рис. 19, где использование разных типов линий для Т-клеток CD4 и CD8, третьего типа линии для их суммы и разных цветов для каждого донора выглядит неоправданным (сумма клонов CD4 и CD8 вообще не нужна, как и использование разных цветов – для каждого донора все равно отдельный рисунок).

При очень высокой оценке научной части работы у меня есть претензии к технической и стилистической ее составляющей. Приведу несколько примеров:

Стр. 32 – нельзя разведенную кровь, наносимую на градиент плотности, называть «полученный раствор» - это не раствор.

Как представитель московской, а не питерской, школы генетиков, предпочел бы увидеть использование слова «аллель» в мужском роде.

В научном тексте можно употреблять только слово «грибы», а никак не «грибки»; грибки – это под водочку.

«Дифференциация» звучит странно - принятый термин для клеток – «дифференцировка».

Гораздо лучше сказать не «CD4<sup>+</sup> Т-клетки», а «Т-клетки CD4<sup>+</sup>», не «*in vitro* стимуляция», а стимуляция *in vitro*, и т. д. по всему тексту. Для примера: выражение «CD4<sup>+</sup> (или CD8<sup>+</sup>) Т-клеточного ответ» звучит плохо, наверное, все-таки «ответ Т-клеток CD4<sup>+</sup> (или CD8<sup>+</sup>)»

Во многих разделах литературного обзора автор не приводит уточнений, что изложенное им касается именно противовирусного иммунитета (иногда даже в названиях подразделов

– стр. 18). Это представляется недостатком, поскольку и биология возбудителей, и патогенез вызываемых ими инфекций вызывают очень разные типы иммунного ответа и требуют разных вакцин, зачастую таких, для которых вообще невозможно дать оценку иммуногенности, измерив только антитела.

Такого рода замечания, безусловно, не влияют на общую высокую оценку рассматриваемой диссертации, а только обращают внимание автора на тот факт, что научный текст, как и любой другой выносимый на люди, всегда заслуживает серьезной правки. В целом же, диссертационная работа выполнена на самом высоком уровне и ее основные выводы полностью подтверждаются полученными результатами. Применение улучшенных методов NGS для характеристики клонов Т-клеток, участвующих в ответе на вакцины, и блестящее владение автором методами биоинформатики позволило получить вполне уникальные данные и оценить события, происходящие после неоднократного введения вакцин с новой степенью точности.

Таким образом, диссертационная работа Сычевой Анастасии Леонидовны соответствует критериям(в том числе п.9),установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539; 26.09.2022 г. № 1690), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

А. С. Апт

Д. б. н., профессор

Подпись проф. А. С. Апта заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ «ЦНИИТ»

Канд. психол. наук



Н. В. Золотова

*Email: alexapto151@gmail.com*

*84997859072*

*Адрес: ..Моеква, 107564, Яузская аллея 2.2*

*12.09.2023*