

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения

«Государственный научный центр

«Институт иммунологии» Федерального

медико-биологического агентства,

член-корреспондент РАН, д.м.н.,

профессор

М.Р. Хаитов

«28» ноября 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Государственный научный центр «Институт иммунологии»
Федерального медико-биологического агентства
о диссертационной работе Бязровой М.Г.
«Особенности активации и дифференцировки субпопуляций
В-лимфоцитов человека при иммунопатологиях»
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности «3.2.7. Иммунология»

Соискатель Бязрова Мария Георгиевна, 02.08.1995 года рождения, гражданство Российской Федерации, в 2019 году с отличием окончила магистратуру биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. С 2019 по 2023 году обучалась в очной аспирантуре по специальности «иммунология» на кафедре иммунологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. В период подготовки диссертации соискатель работал в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России).

Диссертация «Особенности активации и дифференцировки субпопуляций В-лимфоцитов человека при иммунопатологиях» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России).

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Филатов Александр Васильевич, заведующий лабораторией иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России).

Слушали:

1. Выступление Бязровой М.Г. об основных результатах диссертационной работы.
2. Выступление рецензента д.м.н. Пашенкова М.В.
3. Выступление рецензента д.м.н. Донецковой А.Д.

По результатам рассмотрения диссертации принято следующее

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Актуальность исследования

Диссертация Бязровой М.Г. «Особенности активации и дифференцировки субпопуляций В-лимфоцитов человека при иммунопатологиях» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» посвящена вопросам, имеющим большое научное и научно-практическое значение.

В-лимфоциты играют важную роль в иммунной защите, и изучение их функций имеет большое значение для современной иммунологии и медицины. Основной функцией В-лимфоцитов является продукция антител, специфически связывающихся с антигенами и нейтрализующих возбудителей инфекций.

Понимание того, как формируется В-клеточный иммунитет, необходимо для усовершенствования существующей иммунотерапии, а также для разработки новых вакцин против вирусных и бактериальных инфекций, включая такие актуальные заболевания, как COVID-19, а также разработки методов получения моноклональных антител человека. Эффективность разрабатываемых вакцин в значительной степени определяется долговременностью иммунной памяти против SARS-CoV-2 на уровне В-клеток памяти.

Особый интерес представляет изучение роли В-клеток в патогенезе общей вариабельной иммунной недостаточности (ОВИН). Кроме несомненного практического значения, изучение дефектов активации В-лимфоцитов, которые наблюдаются у пациентов с ОВИН, может помочь в изучении процессов нормальной активации и дифференцировки В-лимфоцитов.

В-лимфоциты также играют ключевую роль в развитии аллергических реакций. При контакте с аллергеном В-клетки активируются и вырабатывают аллерген-специфичные IgE. Повторный контакт с аллергеном вызывает активацию клеток врожденного иммунитета, таких как тучные клетки и базофилы, которые участвуют в развитии аллергической реакции. В-лимфоциты способны также секретировать протективные антитела G₄ изотипа, однако остается неясным, каким образом регулируется активация их синтеза. Понимание формирования аллерген-специфического В-клеточного ответа лежит в основе разработки алерговакцин.

Диссертационная работа посвящена изучению функциональных свойств В-лимфоцитов, а также определению возможных путей воздействия на В-клетки. Диссертация является актуальным и важным исследованием, поскольку ее результаты могут стать основой для разработки новых подходов для диагностики и терапии иммунозависимых заболеваний.

Цель исследования диссертационной работы

Изучение особенностей активации и дифференцировки субпопуляций В-лимфоцитов человека при иммунопатологиях, инфекционных заболеваниях, вакцинации и аллергии.

Задачи исследования:

1. Создать систему для стимуляции В-лимфоцитов *in vitro* с использованием CD40L и ИЛ-21.
2. Сравнить эффективность стимуляции *in vitro* субпопуляций В-лимфоцитов у здоровых добровольцев и пациентов с ОВИН.
3. Изучить генерацию плазмбластов и В-клеток памяти у пациентов с острой формой COVID-19.
4. Изучить формирование долговременной В-клеточной памяти у реципиентов вакцины «Гам-КОВИД-Вак».
5. Определить влияние вектор-нейтрализующих антител на эффективность ревакцинации вакциной «Спутник Лайт» и «Гам-КОВИД-Вак».
6. Изучить особенности В-клеточного ответа у пациентов с сезонной аллергией на пыльцу березы.

Положения, выносимые на защиту:

1. Установлено, что характерной особенностью В-клеточного иммунного ответа при инфекции SARS-CoV-2, вакцинации препаратом «Гам-КОВИД-Вак» и аллергии на пыльцу березы является массивное образование антиген-специфических плазмбластов, которое служит предиктором эффективности последующего формирования В-клеток памяти.
2. Доказано, что введение вакцины «Гам-КОВИД-Вак», а также инфекция SARS-CoV-2 вызывают формирование антиген-специфических переключённых В-клеток памяти, а нарушение процесса активации

переключённых В-клеток памяти ассоциировано с развитием иммунопатологии, в частности, ОВИН.

Соответствие темы диссертации указанной специальности

Тема диссертации полностью соответствует специальности «3.2.7. Иммунология» (Направления исследований №2: Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии. Направления исследований №3: Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты. Направления исследований №5: Изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний. Направления исследований №6: Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов).

Связь темы диссертации с планами ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Диссертационная работа Бязровой М. Г. выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ, проводимых ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, и была поддержана грантами РФФ:

«Перепрограммирование В-клеток памяти с целью создания продуцентов человеческих терапевтических моноклональных антител» (Соглашение 24-45-00016);

«Создание антиген-специфических иммортализованных клонов В-лимфоцитов человека, предназначенных для получения терапевтических моноклональных антител» (Соглашение 19-15-00331);

«Анализ долговременной В-клеточной иммунологической памяти после перенесенной инфекции SARS-CoV-2» (Соглашение 21-15-00286);

«Сравнение циркулирующих и тканерезидентных В-клеток памяти при формировании долговременного иммунитета» (Соглашение 23-25-004860).

Тема диссертации была утверждена на заседании кафедры иммунологии Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (протокол №19-11 от 09.11.2019 г.).

Основные результаты диссертационной работы

При В-клеточном ответе происходит активация антиген-специфических В-клеток и их дифференцировка в одну из следующих популяций: плазмбласты, клетки памяти и плазматические клетки. Для моделирования процессов активации и дифференцировки В-лимфоцитов, происходящих в зародышевом центре лимфоидного фолликула, автором была разработана система стимуляции В-лимфоцитов *in vitro* с использованием клеточных линий, стабильно экспрессирующих *CD40L*, и рекомбинантного ИЛ-21.

Для оптимизации олигоклональной стимуляции В-лимфоцитов *in vitro* была разработана бесфидерная система стимуляции В-лимфоцитов, где фидерные клетки были заменены разработанными рекомбинантными химерными белками, в состав которых входил рецепторный домен молекулы *CD40L*. Лиганд *CD40* рецептора относится к суперсемейству белков ФНО, для функциональной активности которых необходима гексамеризация молекул. Гексамеризация *CD40L* в одном случае достигалась за счет введения в слитый белок Fc-фрагмента IgG и тримеризующего изолейцинового zipper (LIF), а в другом случае за счет слияния с фибриллярным доменом адипонектина (LA).

Разработанный метод активации В-лимфоцитов *in vitro* позволил определить функциональные дефекты В-клеточного ответа у пациентов с ОВИН. У пациентов с ОВИН были обнаружены отклонения в стимуляции В-клеток памяти с помощью *CD40L* и цитокина ИЛ-21. Наиболее отчетливо это проявлялось в отношении субпопуляции переключенных В-клеток памяти,

которые по сравнению с клетками от здоровых доноров при стимуляции *in vitro* в меньшей степени дифференцировались в плазмбласты, примерно на порядок меньше секретируют IgG, однако сохраняли способность к переключению синтеза с IgM на IgG.

В 2020 году пандемия COVID-19, вызванная инфекцией коронавируса SARS-CoV-2, явилась большим вызовом для всего мирового здравоохранения. Большие усилия были сосредоточены на изучении иммунитета при COVID-19. Автором было показано, что характерной особенностью пациентов с COVID-19 являлось значительное увеличение количества плазмбластов (CD27⁺CD38⁺), тогда как у здоровых добровольцев они практически отсутствуют. Метод ELISpot впервые был использован для определения уровня антиген-специфических плазмбластов у пациентов с COVID-19. Автором работы было продемонстрировано образование RBD-специфичных плазмбластов у пациентов с тяжелой формой течения COVID-19. В отличие от плазмбластов, покоящиеся В-клетки памяти не секретируют антитела. Для их дифференцировки в антитело-секретирующие клетки (АСК), В-лимфоциты были активированы *in vitro* комбинацией CD40L и ИЛ-21 в течение 7 дней, что приводило к образованию клеток, секретирующих вирус-связывающие и вирус-нейтрализующие антитела. Полученные автором диссертации результаты показали, что во время острой инфекции вирусом SARS-CoV-2 начинают формироваться В-клетки памяти, которые при стимуляции секретируют антитела, связывающие и нейтрализующие вирус SARS-CoV-2. При этом было доказано, что популяции SARS-CoV-2-специфичных В-клеток памяти и SARS-CoV-2-специфичных плазмбластов формируются в результате фолликулярного и экстрафолликулярного иммунного ответа, соответственно.

Векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» («Спутник V», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России), была первой зарегистрированной вакциной против SARS-CoV-2. Автором диссертационной работы был проведен анализ В-клеточного иммунного ответа у вакцинированных добровольцев. Был проведен анализ реакции антител вакцинированных добровольцев с панелью из

42 пептидов, покрывающих всю аминокислотную последовательность шиповидного белка. Был определен пептид P12, для которого уровень P12-специфических антител высоко коррелировал не только с нейтрализацией уханьского варианта SARS-CoV-2, но также варианта Omicron BA.1. Последовательность пептида P12 является высоко консервативной и может быть использована при разработке вакцин. Автором диссертационной работы было показано, что у добровольцев, вакцинированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак», RBD-специфичные плазмабласты появлялись через 7 дней после введения первой дозы. Через 28 дней после первой вакцинации RBD-специфичные В-клетки памяти обнаруживались у 37,5% наивных реципиентов и демонстрировали дальнейшее увеличение процента RBD-специфичных В-клеток памяти через три месяца после вакцинации, приближаясь к уровню, наблюдаемому у переболевших доноров.

Вакцина «Гам-КОВИД-Вак» включает два компонента, основанных на разных серотипах аденовируса человека (hAd26 и hAd5). Использование разных аденовирусных векторов помогает снизить риск образования антивекторных антител, что может снизить эффективность последующих ревакцинаций из-за нейтрализации вектора. Автором диссертационной работы было доказано, что первичная вакцинация вакциной «Гам-КОВИД-Вак» приводила к увеличению количества Ad26-нейтрализующих антител, титр которых со временем снижался, но сохранялся на значимом уровне вплоть до момента ревакцинации. В результате вакцинации вакциной «Спутник Лайт» титр Ad26-нейтрализующих антител увеличивался в 4,2 раза. Для установления взаимосвязи между уровнями Ad26-нейтрализующих антител до вакцинации и SARS-CoV-2-нейтрализующих антител после ревакцинации был проведен корреляционный анализ Спирмена, который не выявил какой-либо взаимосвязи между этими параметрами. Основываясь на этих данных, проведение ревакцинации через 6–9 месяцев после первичной вакцинации представляется вполне обоснованным, поскольку указанный временной промежуток дает преимущество в снижении титров Ad26-

нейтрализующих антител при сохранении гуморального иммунитета к SARS-CoV-2.

Патогенез аллергических заболеваний неразрывно связан с реакцией В-лимфоцитов, однако изучение В-клеточного ответа весьма затруднено из-за малого количества IgE-позитивных В-клеток. Автором диссертационной работы был разработан метод детекции аллерген-специфических IgE-позитивных В-лимфоцитов человека. Динамика содержания IgE-позитивных В-клеток у пациентов с аллергией на мажорный аллерген березы Bet v 1 примерно следовала за изменениями уровня Bet v 1-специфических IgE антител. Процент общих IgE-позитивных В-клеток, а также Bet v 1- специфических IgE-позитивных В-клеток возрастал во время сезона цветения, достигал максимума в образцах, собранных в мае-июне, и снижался сразу после окончания цветения березы. Автором диссертационной работы были получены более 70 нуклеотидных последовательностей гена IGHV из IgE-позитивных В-лимфоцитов. Большинство полученных последовательностей принадлежали к семейству IGHV3 (40/71), остальные семейства были представлены следующим образом: IGHV1 (23/71), IGHV4 (2/71), IGHV5 (4/71) и IGHV6 (2/71). Последовательности, полученные в конце сезона цветения, показали более низкий уровень гипермутаций (медиана - 5,4%) и по этому показателю приближались к наивным В-лимфоцитам. Данный факт подтвердил гипотезу о том, что Bet v 1-специфичные В-клетки, циркулирующие в конце сезона, происходят из наивных В-лимфоцитов, но не из IgG-позитивных В-клеток памяти.

Достоверность результатов диссертационной работы

Результаты получены на откалиброванном и сертифицированном оборудовании. Показана воспроизводимость результатов исследований в различных условиях. Все предоставленные в работе результаты основаны на проработке собранного в ходе исследования экспериментального материала. Установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной

тематике. Использованы адекватные современные методики сбора и обработки экспериментальных данных; объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений. Примененные статистические методы адекватны поставленным задачам. Проверка статистических гипотез осуществлялась при допустимом в биологических исследованиях 5 % уровне значимости.

Научная новизна работы

Результаты диссертационной работы обладают несомненной новизной.

Впервые с помощью В-клеточного ELISpot был проанализирован В-клеточный ответ в острой фазе COVID-19. Впервые были определены циркулирующие и индуцированные антитело-секретирующие В-клетки при COVID-19.

Впервые описана динамика образования антиген-специфических плазмбластов и формирование пула антиген-специфических-В-клеток памяти после вакцинации вакциной «Гам-КОВИД-Вак».

Впервые описан консервативный пептид SARS-CoV-2 (P12), расположенный в шиповидном белке, антитела против которого обладают вирус-нейтрализующей активностью.

Впервые показано, что эффективность ревакцинации вакцинами «Спутник Лайт» и «Гам-КОВИД-Вак» на основе Ad26 не зависит от уровня Ad26-нейтрализующих антител, присутствующих до ревакцинации.

Впервые была показана динамика появления IgE-позитивных плазмбластов, специфичных к мажорному аллергену березы Bet v 1, в сезон цветения березы.

Теоретическая значимость работы

Установлено, что разработанные рекомбинантные химерные белки, включающие в свой состав рецепторный домен молекулы CD40L, способны вызывать дифференцировку В-лимфоцитов в антитело-секретирующие клетки.

Показано, что характерной особенностью В-клеточного иммунного ответа при инфекции SARS-CoV-2, вакцинации вакциной «Гам-КОВИД-Вак» и аллергии на пыльцу березы является массированное появление антиген-специфических плазмбластов. На основании полученных результатов была предложена гипотеза о формировании субпопуляции SARS-CoV-2-специфичных плазмбластов в результате экстрафолликулярного ответа при COVID-19.

Описан консервативный пептид P12, расположенный в шиповидном белке SARS-CoV-2, на который вырабатываются вирус-нейтрализующие IgG антитела после вакцинации вакциной «Гам-КОВИД-Вак».

Изучено влияние анти-векторных антител на эффективность вакцинации вакцинами «Спутник Лайт» и «Гам-КОВИД-Вак». Проведена модернизация существующих методов детекции антиген-специфических плазмбластов и В-клеток памяти при вакцинации «Гам-КОВИД-Вак» и у пациентов с COVID-19. Полученные результаты способствуют углублению знаний о механизмах формирования В-клеточного ответа при вакцинацией вакциной «Гам-КОВИД-Вак» и у пациентов с COVID-19, а также обеспечивают научную базу для оптимизации подходов к вакцинации и мониторингу иммунного ответа.

Выдвинута гипотеза о происхождении Bet v 1-специфичных В-клеток, циркулирующих в конце сезона цветения березы, из наивных В-лимфоцитов, но не из IgG-клеток памяти.

Научно-практическая значимость работы

Диссертационная работа обладает высокой научно-практической значимостью, так как ее результаты могут быть использованы для решения актуальных задач медицины и вакцинологии.

Разработка рекомбинантных химерных белков, содержащих рецепторный домен молекулы CD40L, представляет собой важный этап в создании платформы для получения моноклональных антител человека. Этот подход открывает новые возможности для разработки более эффективных и специфичных методов производства терапевтических антител, которые найдут применение при

лечения онкологических, аутоиммунных и инфекционных заболеваний. Кроме того, такие технологии способствуют расширению инструментов для создания биопрепаратов нового поколения, что окажет значительное влияние на развитие современной медицины и биотехнологии.

Анализ эффективности вакцинации и ревакцинации на примере вакцин «Гам-КОВИД-Вак» и «Спутник Лайт» важен для понимания долговременного формирования В-клеточного иммунитета против SARS-CoV-2. Данные по долгосрочной защите от вируса помогут в разработке стратегий вакцинации.

Полученные данные о В-клеточной иммунологической памяти будут использованы в построении эпидемиологической модели коронавирусной инфекции, а также для ответа на вопрос о возможности реинфекции коронавирусом.

Разработанная система для определения Ad26-нейтрализующих антител представляет собой продуктивный подход для оценки иммунного ответа на вакцинацию. Этот метод позволяет не только контролировать эффективность аденовирусных вакцин, таких как «Гам-КОВИД-Вак», но и адаптировать стратегии ревакцинации, с учетом персонализированных данных по иммунному статусу реципиента. Такие системы могут стать стандартом в клинической практике для оценки эффективности вакцинации с помощью аденовирусных вакцин, что особенно важно в условиях пандемии.

Исследования по динамике аллерген-специфического В-клеточного ответа, открывают новые горизонты для создания аллерговакцин. Знание о том, как происходит активация и дифференцировка В-клеток при распознавании аллергена, поможет разработать более целенаправленные и эффективные терапии для пациентов с аллергическими заболеваниями. Учитывая высокую распространенность аллергий, такие разработки помогут улучшить качество жизни пациентов.

Расшифровка нуклеотидных последовательностей генов иммуноглобулинов IgE⁺-лимфоцитов является важным достижением, позволяющим детализировать и анализировать генетическое разнообразие В-

клеток, отвечающих на аллергены, а также изучать механизмы, лежащие в основе аллергической реакции. Изучение репертуара IgE⁺-лимфоцитов поможет не только в разработке вакцин с использованием новых эпитопов аллергенов, но и в создании терапевтических моноклональных антител.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По основным материалам диссертационной работы опубликовано 18 печатных работ, в том числе 13 статей в рецензируемых международных и российских научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и доктора наук, 5 публикаций в сборниках материалов конференций.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Byazrova M.**, Yusubalieva G., Spiridonova A., Efimov G., Mazurov D., Baranov K., Baklaushev V., Filatov A. Pattern of circulating SARS-CoV-2-specific antibody-secreting and memory B-cell generation in patients with acute COVID-19. Clin. Transl. Immunology. 2021; 10 (2): e1245.
2. **Byazrova M.**, Kulemzin S., Astakhova E., Belovezhets T., Efimov G., Chikaev A., Kolotygin I., Gorchakov A., Taranin A., Filatov A. Memory B Cells Induced by Sputnik V Vaccination Produce SARS-CoV-2 Neutralizing Antibodies Upon Ex Vivo Restimulation. Front. Immunol. 2022; 13: 840707.
3. **Byazrova M.**, Astakhova E., Minnegalieva A., Sukhova M., Mikhailov A., Prilipov A., Gorchakov A., Filatov A. Anti-Ad26 humoral immunity does not compromise SARS-COV-2 neutralizing antibody responses following Gam-COVID-Vac booster vaccination. NPJ Vaccines. 2022; 7 (1): 145.
4. **Byazrova M.**, Gattinger P., Astakhova E., Hofer G., Khaitov M., Filatov A. and Valenta R. Dissection of Antibody Responses of Gam-COVID-Vac-Vaccinated

Subjects Suggests Involvement of Epitopes outside RBD in SARS-CoV-2 Neutralization. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (6): 5104.

5. Zghaebi M., **Byazrova M.**, Flicker S., Villazala-Merino S., Campion N., Stanek V., Tu A., Breiteneder H., Filatov A., Khaitov M., Niederberger-Leppin V., Eckl-Dorna J. and Valenta R. Tracing Human IgE B Cell Antigen Receptor-Bearing Cells With a Monoclonal Anti-Human IgE Antibody That Specifically Recognizes Non-Receptor-Bound IgE. *Front. Immunol.* 2021; 12: 803236.

6. Eckl-Dorna J., Villazala-Merino S, Campion N, **Byazrova M**, Filatov A, Kudlay D, Karsonova A, Riabova K, Khaitov M, Karaulov A, Niederberger-Leppin V and Valenta R. Tracing IgE-Producing Cells in Allergic Patients. *Cells.* 2019; 8 (9): 994.

7. Астахова Е.А., Фролов Е.А., Шилкина А.Б., **Бязрова М.Г.**, Латышева Е.А., Латышева Т.В., Филатов А.В. Стимуляции В-клеток в системе ИЛ-21/CD40L в норме и у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью. *Иммунология.* 2021; 41 (6): 631–640.

8. **Бязрова М.Г.**, Топтыгина А.П., Митина Т.Н., Филатов А.В. Стратегия гейтирования плазмабластов на примере иммунизации вакциной против гепатита В. *Медицинская иммунология.* 2020; 22 (6): 1185–1194.

9. **Бязрова М.Г.**, Астахова Е.А., Спиридонова А.Б., Васильева Ю.В., Прилипов А.Г., Филатов А.В. Стимуляция В-лимфоцитов человека *in vitro* с помощью ИЛ-21/CD40L и их характеристика. *Иммунология.* 2020; 41 (1): 18–27.

10. Лушова А.А., Жеремян Э.А., Астахова Е.А., Спиридонова А.Б., Бязрова М.Г., Филатов А.В. Субпопуляции В-лимфоцитов: функции и молекулярные маркеры. *Иммунология.* 2019; 40 (6), 63–76.

11. Lin N., Yin W., Miller H., **Byazrova M.**, Herrada A., Benlagha K., Lee P., Guan F., Lei J., Gong Q., Yan Y., Filatov A. and Liu C. The role of regulatory T cells and follicular T helper cells in HBV infection. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1169601.

12. Wang X., Guan F., Miller H., **Byazrova M.**, Cndotti F., Benlagha K., Camara N., Lei J., Filatov A., Liu C. The role of dendritic cells in COVID-19 infection. *Emerg Microbes Infect.*, 2023. *Emerg. Microbes Infect.* 2023; 12 (1): 2195019.

13. Yang Y., Miller H., **Byazrova M.**, Cndotti F., Benlagha K., Camara N., Shi J., Forsman H., Lee P., Yang L., Filatov A., Zhai Z., Liu C. The characterization of CD8⁺ T-cell responses in COVID-19. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13 (1): 2287118.

Работы, опубликованные в сборниках материалов конференций

1. **Бязрова М.Г.** Плазмабластный ответ во время острой инфекции SARS-CoV-2. Объединенный иммунологический форум-2024, Пушкинские горы, 28 июня – 5 июля 2024 г.

2. **Byazrova M.**, Shilkina A., Astakhova E., Frolov E., Latysheva E., Latysheva T., Filatov A. Revealing functional defects in the IL-21/CD40L activation of B-lymphocytes in patients with COVID-19. EAACI Hybrid Congress 2022, 2 July 2022;

3. **Byazrova M.**, Eckl-Dorna J., Niederberger V., Elisyutina O., Smolnikov E., Litovkina A., Filatov A., Khaitov M. and Valenta R. Tracing Cells Producing Allergen-Specific IgE in Allergic Patients. ECI 2021 1 – 4 September 2021,

4. **Byazrova M.**, Astakhova E., Spiridonova A., Prilipov A. The interaction of CD40 receptor on B cells with different forms of recombinant CD40L. Filatov, FEBS 2021, 3 – 8 July 2021, Ljubljana, Slovenia

5. **Byazrova M.**, Eckl-Dorna J., Niederberger V., Elisyutina O., Khaitov M., Valenta R. and Filatov A. Increase of IgE⁺ lymphocytes in allergic patients after allergen exposure: A possible target for allergy treatment. EAACI 2019, 1 – 5 June 2019, Lisbon, Portugal.

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на:

1. Объединенный иммунологический форум-2024, Пушкинские горы, Россия, 28 июня – 5 июля 2024 г.

2. Международный междисциплинарный конгресс по аллергологии и иммунологии, Москва, Россия, 10 – 11 июня 2024 г.
3. Научно-практическая конференция «Первичные иммунодефициты: от науки к практике», Москва, Россия, 11 – 13 апреля 2024 г.
4. 19-й Международный междисциплинарный конгресс по аллергологии и иммунологии, Москва, Россия, 1 – 2 июня 2023 г.
5. 18-й Международный междисциплинарный конгресс по аллергологии и иммунологии, Москва, Россия, 9 июня 2022 г.
6. EAACI Hybrid Congress 2022, Прага, Чехия, 2 июля 2022 г.
7. FEBS 2021, Любляна, Словения, 3 – 8 июля 2021 г.
8. EAACI 2019, Лиссабон, Португалия, 1 – 5 июня 2019 г.

**Секция Ученого совета отмечает, что в результате выполненных
соискателем исследований:**

- разработана новая экспериментальная модель процессов активации и дифференцировки В-лимфоцитов *in vitro*, позволяющая выявлять дефекты активации В-клеток при иммунопатологиях, а также особенности образования антиген-специфических В-клеток памяти при инфекционных заболеваниях (COVID-19) и при вакцинации (например, «Гам-КОВИД-Вак»);
- предложена оригинальная гипотеза о формировании субпопуляции SARS-CoV-2-специфичных плазмбластов в результате экстрафолликулярного ответа при COVID-19;
- доказана перспективность использования стимуляции В-клеток памяти *in vitro* для предсказания специфичности антител, которые они будут секретировать при повторной встрече с антигеном;
- введена новая методика определения аллерген-специфичных IgE-позитивных В-клеток.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказано существование консервативного эпитопа (пептид P12), расположенного в шиповидном белке SARS-CoV-2 в непосредственной близости от N-конца рецептор-связывающего домена, к которому образуются вирус-нейтрализующие IgG-антитела при введении вакцины «Гам-КОВИД-Вак»;
- применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, а также методы выделения, культивирования и стимуляции клеток;
- изложено обоснованное предположение о том, что Bet v 1-специфичные В-клетки, циркулирующие в конце сезона цветения березы, происходят из наивных В-лимфоцитов, но не из IgG-позитивных В-клеток памяти;
- раскрыта способность гексамеризованной формы молекулы CD40L вызывать дифференцировку В-лимфоцитов в антитело-секретирующие клетки;
- изучено влияние анти-векторных антител на эффективность вакцинации вакцинами «Спутник Лайт» и «Гам-КОВИД-Вак»;
- проведена модернизация существующих методов детекции антиген-специфических плазмбластов и В-клеток памяти при вакцинации «Гам-КОВИД-Вак» и у пациентов с COVID-19.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- разработана и введена в экспериментальное использование система определения Ad26-нейтрализующих антител;
- определены перспективы практического применения знаний о динамике аллерген-специфического В-клеточного ответа для разработки алерговакцин;

- создана система для секвенирования переменных генов, адаптированная для IgE⁺-лимфоцитов.

- представлены рекомендации для выбора оптимальных сроков для ревакцинации вакцинами на основе аденовирусных векторов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты получены на сертифицированном и откалиброванном оборудовании, эксперименты проведены по стандартизованным методикам, показана воспроизводимость результатов исследований в различных условиях;

- теория построена на известных, проверяемых фактах и согласуется с общепринятыми представлениями о В-клеточном ответе;

- идея базируется на обобщении передового опыта автора и других исследователей по рассматриваемой тематике, как отечественных, так и зарубежных исследований;

- использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике, как отечественных, так и зарубежных исследований;

- установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

- использованы современные методы сбора и обработки исходной информации, а также адекватные статистические методы исследования.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования, непосредственном участии в получении исходных данных и научных экспериментах, личном участии в апробации результатов исследования, обработке, анализе и интерпретации полученных данных, подготовке основных публикаций по теме выполненных работ.

Диссертация Бязровой М.Г. «Особенности активации и дифференцировки субпопуляций В-лимфоцитов человека при иммунопатологиях» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием соответствующего методологически обоснованного плана научного исследования, основной идейной линией, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертационная работа изложена на 195 страницах машинописного текста, включает 4 таблицы и 40 рисунков. Диссертационная работа написана в традиционном стиле и включает в себя следующие разделы: «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследований», «Обсуждение результатов исследования», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Библиография включает 241 источника из них 12 русскоязычных источников и 229 иностранных источников.

Положительная оценка диссертации вытекает из ее актуальности, достоверности полученных данных, их научной новизны, теоретической и научно-практической значимости, обоснованности выводов.

Исходя из вышеперечисленного, **постановили:**

Диссертационная работа Бязровой М.Г. «Особенности активации и дифференцировки субпопуляций В-лимфоцитов человека при иммунопатологиях» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных научных задач, имеющих значение для иммунологии: разработана экспериментальная модель процессов активации и дифференцировки В-лимфоцитов *in vitro*, исследованы особенности активации В-лимфоцитов у

пациентов с ОВИН; выявлены характерные особенности формирования В-клеточного ответа при инфекции SARS-CoV-2 и вакцинации вакциной «Гам-КОВИД-Вак»; доказано, что вектор-нейтрализующие антитела не влияют на эффективность ревакцинации вакцинами «Гам-КОВИД-Вак» и «Спутник Лайт»; изучена динамика В-клеточного ответа у пациентов с аллергией на пыльцу березы. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года с изменениями постановления Правительства Российской Федерации № 723 от 30.07.2014; № 335 от 21.04.2016 г.; № 748 от 02.08.2016 г.; №650 от 29.05.2017; № 1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.10.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; № 1539 от 11.09.2021 г.) и может быть представлена к защите в диссертационном совете.

Заключение принято на заседании секции № 1 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России 06 ноября 2024 года. Присутствовало на заседании 11 членов секции, в том числе докторов наук – 7, кандидатов наук по специальности по «3.2.7. Иммунология» – 4. Результаты голосования: «за» 11 человек, «против» – 0 человек, «воздержалось» – 0 человек, протокол № 6 от 06 ноября 2024 года.

Председатель секции №1 Ученого совета
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии»
ФМБА России, к.м.н.


27.11.24

А.И. Мартынов

Секретарь секции, к.м.н.

Е.Ю. Малкина



27.11.24