ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Файзулоева Евгения Бахтиеровича на диссертацию Пылаевой Софии Константиновны на тему: «Диагностические и прогностические маркеры при инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, в различные периоды пандемии», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.1.22. Инфекционные болезни

Актуальность исследования

Диссертационная работа С.К. Пылаевой посвящена решению важной проблемы медицинской вирусологии – оценке особенностей гуморального иммунитета к новому коронавирусу в различные периоды пандемии, а также выявлению клинико-лабораторных маркеров для прогнозирования течения новой коронавирусной инфекции.

В настоящее время, как и во время пандемии, базовым подходом к эпидемиологическому мониторингу SARS-CoV-2 являлось полногеномное секвенирование с последующим филогенетическим анализом, *in silico* моделированием взаимодействия возбудителя с факторами иммунитета хозяина, где важное место отводится анализу взаимодействия RBD-домена S-белка вируса с ACE-2 рецептором. Особое внимание при этом уделяется выявлению новых эпидемически значимых вариантов, характеризующихся увеличением контагиозности, вирулентности, изменением клинической картины заболевания и снижением эффективности диагностики, вакцинопрофилактики или противовирусных препаратов. В силу ряда ограничений реакция нейтрализации в практике эпидемиологического мониторинга SARS-CoV-2 используется редко. В то же время оценка вируснейтрализующей активности сывороток крови очень информативна, поскольку позволяет количественно охарактеризовать протективную активность противовирусных антител.

Пандемия COVID-19 продемонстрировала, что подходы к серологическому мониторингу, выработанные для вирусов с относительно стабильной антигенной структурой (например, вирусы кори, эпидемического паротита и краснухи, представленные одним серотипом), применительно к SARS-CoV-2 применимы не в полной мере. В условиях, когда SARS-CoV-2 продолжает эволюционировать, он сам перестает быть стабильной мишенью для нейтрализующих антител. Антигенное разнообразие SARS-CoV-2 постоянно расширяется. Диверсификация появившегося в конце 2021 года варианта Омикрон привела к появлению ряда эпидемически-значимых сублиний со статусом VOI (Variant of interest) или VUM (Variant under monitoring), таких как XBB.1.5 (начало 2023), EG.5 (август 2023) BA.2.86 («Пирола», август 2023), JN.1 (декабрь 2023), KP.3.1.1 (июль 2024); NB.1.8.1 («Nimbus», май 2025); XFG («Stratus», июнь 2025); BA.3.2 («Cicada», декабрь 2025); PQ.16.1.1 (июль

2026). Рост антигенного разнообразия вируса в большой степени определяется селекцией ускользающих от естественного и поствакцинального иммунитета его вариантов. Это проявилось в снижении эффективности вакцин первого поколения, основанных на Ухань-подобном вирусе, еще в 2022 году, когда широкое распространение получил вариант Omicron.

В этих условиях исследование С.К. Пылаевой приобретает особую актуальность, поскольку основано на использовании не только иммунохимических методов выявления антител к SARS-CoV-2 разных классов, но и реакции нейтрализации, направленной на определение функциональных противовирусных антител, при этом охватывает периоды до и после окончания пандемии и построено на сопоставлении данных, полученных на единой методической основе.

Актуальность работы усиливается проблемой ложноположительных результатов серологического скрининга. Массовое тестирование медицинского персонала и пациентов перед плановой госпитализацией в разгар пандемии сопровождалось получением ложноположительных результатов определения IgM при отсутствии сероконверсии и клинических признаков инфекции. Такие результаты имели прямые организационные последствия – отстранение сотрудников от работы, блокирование плановой госпитализации, однако систематического анализа их природы не проводилось. Имевшиеся данные были фрагментарны и касались преимущественно пациентов с аутоиммунной патологией, тогда как в других исследованиях, было показано отсутствие существенного влияния аутоантител на специфичность серологических тестов. Это противоречие требовало разрешения.

Дополнительный аспект актуальности касается прогностических маркеров тяжести COVID-19. Поиск интегрального показателя, отражающего системный характер патологического процесса и воспроизводимого в рутинной лабораторной практике, представляет несомненный интерес. Лактатдегидрогеназа, как универсальный индикатор цитолиза, в этом контексте выглядит перспективным кандидатом, однако её изоферментный спектр при COVID-19 оставался изученным недостаточно. Отдельные работы указывали на связь изменений ЛДГ3 и ЛДГ4 с неблагоприятным исходом, что сделало обоснованным дальнейшее изучение этого направления.

Таким образом, диссертация С.К. Пылаевой заполняет реально существующие пробелы в знании, а её актуальность не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационной работы определяется совокупностью результатов, впервые полученных автором в условиях Российской Федерации.

Прежде всего, впервые предложен и апробирован алгоритм верификации ложноположительных результатов определения IgM к SARS-CoV-2, основанный на

оценке сероконверсии в парных сыворотках. Принципиально важным представляется вывод об отсутствии статистически значимой ассоциации между наличием аутоиммунных заболеваний и ложноположительными результатами. Этот вывод, полученный на репрезентативной выборке, согласуется с данными, независимых исследований, в которых специфичность серологических тестов в группе пациентов с аутоиммунной патологией существенно не отличалась от таковой в общей популяции. Таким образом, диссертант не просто подтверждает известное наблюдение на новом материале, но и обоснованно отвергает распространённую гипотезу о ведущей роли аутоиммунного компонента в генезе ложноположительных результатов.

Впервые в российских условиях охарактеризована динамика перекрестной нейтрализующей активности сывороток в отношении изолятов, соответствующих последовательно сменявшимся вариантам вируса. Установлено, что сыворотки пациентов, перенёсших инфекцию в период циркуляции варианта Дельта, обладают более широким спектром нейтрализующей активности по сравнению с сыворотками реконвалесцентов более ранних периодов. Этот результат согласуется с данными о том, что инфекция, вызванная вариантом Дельта, индуцирует антитела с широким профилем кросс-нейтрализации, включая способность распознавать более поздние варианты. Полученные автором данные количественно характеризуют этот феномен применительно к актуальным циркулирующим вариантам 2023–2025 гг., что ранее не было сделано на систематической основе.

Впервые количественно охарактеризована корреляция между уровнями IgG, определяемыми коммерческой ИХЛА тест-системой, и титрами вируснейтрализующих антител в различные периоды пандемии. Показано, что корреляция между этими показателями является слабо положительной. Этот результат имеет важное методологическое значение, поскольку согласуется с наблюдениями, полученными при валидации других коммерческих платформ: связь между результатами иммунохимических тестов и нейтрализующей активностью сывороток может существенно варьировать в зависимости от антигенного состава тест-системы и циркулирующего варианта. Полученные автором данные убедительно демонстрируют ограничения использования IgG как единственного критерия защищённости.

Наконец, впервые для российской популяции установлено прогностическое значение изоферментного спектра ЛДГ при COVID-19. Показано, что снижение долей ЛДГ1 и ЛДГ2 при одновременном увеличении ЛДГ3 и ЛДГ4 на 9-е сутки заболевания является более чувствительным маркером неблагоприятного течения, чем общая активность фермента. Этот результат согласуется с данными независимых исследований, в которых было показано, что повышенная активность ЛДГ3 и ЛДГ4 ассоциирована с неблагоприятным исходом COVID-19. Наблюдение диссертанта об изменении изоферментного паттерна у умерших пациентов в сторону относительного увеличения ЛДГ1 и ЛДГ2 при снижении ЛДГ5 представляет особый

интерес и заслуживает дальнейшего осмысления в контексте патогенеза полиорганного поражения.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость работы определяется углублением представлений о закономерностях формирования гуморального иммунитета к эволюционирующему вирусу. Совокупность полученных данных (динамика кросс-нейтрализующей активности, несоответствие между связывающей и функциональной активностью антител, возрастные особенности нейтрализующего ответа) формирует целостную картину, важную для понимания пределов и возможностей гуморальной защиты при COVID-19. Установленный факт сохранения перекрестной нейтрализующей активности в сыворотках пациентов, перенёсших инфекцию в период доминирования варианта Дельта, по отношению к изолятам 2023–2025 гг. имеет значение для прогнозирования эпидемической ситуации и оценки рисков повторных инфекций.

Практическая значимость работы не вызывает сомнений и подтверждается конкретными результатами, пригодными для внедрения в клиническую лабораторную практику. В практике эпидемиологического мониторинга SARS-CoV-2 наиболее эффективным представляется одновременное использование молекулярно-биологических, серологических и вирусологических методов в сочетании с клиническими наблюдениями. В диссертации С.К. Пылаевой успешно сочетаются эти подходы.

Существенный элемент практической значимости связан с созданием коллекции тест-штаммов SARS-CoV-2, представляющих основные генетические линии, циркулировавшие в московском регионе в 2021–2025 гг. Для 54 изолятов получены последовательности гена S, депонированные в международной базе данных GISAID. Анализ фрагмента нуклеотидной последовательности SARS-CoV-2 позволил идентифицировать различные геноварианты, включая клады B.1.617 (Дельта), 22B (Омикрон), 22D (Омикрон), 22E (BQ.1), 22F (XBB), 23A (XBB.1.9), 23B (XBB.1.16), 23D (XBB) и 23F (EG.5.1). Этот аспект работы имеет самостоятельную ценность, поскольку коллекция тест-штаммов и их генетическая характеристика являются необходимым условием для корректной оценки популяционного иммунитета, эффективности вакцин и противовирусных препаратов на клеточных и животных моделях вирусной инфекции. Депонирование нуклеотидных последовательностей изолятов в международную базу GISAID является вкладом диссертационного исследования в глобальный мониторинг эволюции SARS-CoV-2 и создаёт предпосылки для дальнейших сравнительных исследований на международном уровне.

Предложенный алгоритм верификации ложноположительных результатов IgM на основе исследования парных сывороток с интервалом 14–21 день является простым, воспроизводимым и не требующим дополнительных ресурсов. Учитывая

масштабы серологического скрининга, сохраняющиеся в условиях продолжающейся циркуляции вируса, этот алгоритм имеет прикладное значение для организации работы стационаров и предотвращения необоснованных ограничений для пациентов и медицинского персонала.

Установленное пороговое значение общей активности ЛДГ, ассоциированное с повышенными рисками перевода в ОРИТ и летального исхода, представляет собой конкретный и легко воспроизводимый критерий. Ценность этого показателя заключается в его доступности для любой клинической лаборатории и в отсутствии необходимости в сложном специализированном оборудовании. Показано также, что определение изоферментного спектра ЛДГ может использоваться как дополнительный метод ранней идентификации пациентов группы высокого риска, что имеет значение для своевременной эскалации терапии и маршрутизации пациентов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность и обоснованность результатов, выводов и практических рекомендаций обеспечиваются продуманным дизайном исследования, репрезентативностью выборок и корректной статистической обработкой данных. Статистическая обработка проведена с использованием адекватных методов: непараметрических критериев для сравнения групп, корреляционного анализа Спирмена, расчёта 95% доверительных интервалов и относительного риска. Применение непараметрических методов обосновано характером распределения лабораторных показателей; сами методы устойчивы к выбросам, что повышает надёжность выводов. Выводы и практические рекомендации логично вытекают из полученных данных и соответствуют поставленным задачам. Основные положения работы представлены на авторитетных российских научных форумах, включая конференции с международным участием, и опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах.

Оценка содержания, завершенность работы и качество её оформления

Диссертационная работа изложена на 122 страницах машинописного текста, иллюстрирована 31 таблицей и 13 рисунками, включает 4 клинических наблюдения. Структура работы традиционна и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы и приложение. Библиографический список включает 153 источника, в том числе 24 отечественных и 129 зарубежных.

Результаты и научные положения диссертации соответствуют пунктам 7 и 10 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология (медицинские науки), а также пунктам 2 и 3 паспорта специальности 3.1.22. Инфекционные болезни (медицинские науки).

Работа отличается внутренним единством и последовательностью изложения. Переход от одного этапа исследования к другому логически обоснован: анализ диагностических проблем (ложноположительные результаты IgM) создаёт предпосылки для корректной интерпретации серологических данных, которые затем используются при оценке гуморального ответа; характеристика эволюции вируса и спектра нейтрализующей активности формирует контекст для понимания ограничений IgG как маркера защиты; наконец, поиск прогностических маркеров тяжести замыкает исследование на клинически значимый результат.

В разделе «Материалы и методы» подробно охарактеризованы биологический материал, использованные тест-системы, методы выделения и генетической характеристики изолятов, постановки реакции нейтрализации, а также статистические подходы. Широкий спектр применённых методов – от классической вирусологии (выделение вируса в культуре клеток, реакция нейтрализации) до современных молекулярно-биологических (секвенирование, филогенетический анализ) и иммунохимических (ИХЛА, ИФА, ИХА) – свидетельствует о высоком методическом уровне работы.

Глава 3. Результаты и их обсуждение построены в соответствии с задачами исследования, что обеспечивает логическую связь между теоретической частью и эмпирическими данными. Структурно глава разделена на пять разделов.

Первый раздел посвящён характеристике пациентов с ложноположительными результатами определения IgM к SARS-CoV-2. В нём проведено сравнение лиц с изолированным выявлением IgM и негативной контрольной группы, включая анализ демографических показателей и частоты встречаемости аутоиммунных маркеров. Здесь же представлены результаты сравнения воспроизводимости различных тест-систем (ИХЛА, ИФА, ИХА) при определении IgM и IgG, что позволило обосновать алгоритм верификации сомнительных результатов.

Второй раздел отражает результаты выделения изолятов SARS-CoV-2 из назофарингеальных мазков пациентов, госпитализированных в 2021–2025 гг. В нём представлено распределение изолятов по времени выделения и по кладам (генетическим линиям), что демонстрирует смену доминирующих вариантов вируса в московском регионе.

Третий раздел посвящён анализу вируснейтрализующей активности сывороток крови. В нём дан сравнительный анализ групп пациентов, разделённых по временным интервалам, проведена оценка нейтрализующей способности сывороток в отношении различных вариантов вируса, проанализировано соотношение между титрами вируснейтрализующих антител и уровнями IgG, а также сопоставлена тяжесть заболевания с титрами ВНА в разные периоды пандемии.

Четвёртый раздел содержит результаты исследования прогностической значимости лейкоцитарных индексов и биохимических показателей (ИСНЛ, ЛДГ,

D-димер, СРБ, ферритин, фибриноген) для оценки риска тяжелого течения COVID-19 в различные периоды пандемии.

Пятый раздел посвящён определению значимости общей лактатдегидрогеназы и её изоферментов. В нём рассмотрена связь течения болезни с активностью общей ЛДГ, соотношение фракций ЛДГ и тяжесть течения заболевания, а также проведено сравнение соотношений фракций ЛДГ при органных поражениях и сопутствующих заболеваниях.

Таким образом, глава «Результаты и их обсуждение» представляет собой последовательное изложение эмпирических данных, охватывающих все поставленные задачи – от верификации ложноположительных результатов серодиагностики до прогнозирования неблагоприятного течения COVID-19 на основе биохимических маркеров. Автор не только ограничивается констатацией полученных данных, но и сопоставляет их с результатами других исследователей, что повышает ценность работы.

В заключении суммированы основные результаты, сформулированы выводы и практические рекомендации. Перспективы дальнейшей разработки темы включают изучение кросс-реактивности антител и её влияния на эффективность вакцин, продолжение мониторинга генетической изменчивости вируса, совершенствование алгоритмов серологической диагностики и валидацию прогностической значимости ЛДГ и её изоферментов на более крупных когортах.

По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 научные статьи и 1 научный обзор в журналах из перечня ВАК, индексируемых в Scopus и RSCI, а также 1 глава монографии. Содержание публикаций отражает основные результаты работы. Автореферат соответствует основным положениям диссертации.

Таким образом, диссертация представляет собой завершённое научно-квалификационное исследование, выполненное на высоком методическом уровне и объединяющее вирусологические, серологические, молекулярно-биологические и клинико-лабораторные аспекты в единый экспериментальный цикл.

Замечания

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

К сожалению, в диссертации не определена субвидовая таксономическая принадлежность двух изолятов SARS-CoV-2, использованных для постановки реакции нейтрализации – 12454 (изолирован в 2024 г.) и 12751 (изолирован в 2025 г.). Это существенно затрудняет интерпретацию полученных результатов. Было бы полезно провести генетическую характеристику этих изолятов ретроспективно.

При прочтении диссертации выявлены отдельные неудачные формулировки, стилистические и технические погрешности и опечатки. Так, например, на рисунке 8 ось Y графика подписана как «Титр нейтрализующих антител, Log2», тогда как на

шкале отложены обратные значения разведений сывороток, что требует уточнения в подписи во избежание разночтений при интерпретации графика.

Перечисленные замечания не влияют на общую положительную оценку работы.

Вопросы к соискателю

1. Накопленный за время пандемии опыт показывает, что разные геноварианты SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero могут вызывать ЦПД различной степени выраженности. Наблюдали ли Вы такие различия между изолятами, использованными в работе для оценки титра нейтрализующих антител? Могло ли это повлиять на результат реакции нейтрализации, принимая во внимание применяемый в диссертации микроскопический учет результатов по ЦПД?

2. Особый интерес представляет наблюдение о слабой положительной корреляции между уровнем IgG к SARS-CoV-2, определяемым коммерческой тест-системой на основе ИХЛА-анализа, и титрами вируснейтрализующих антител к циркулирующему варианту вируса. Как можно объяснить слабую корреляцию между результатами определения IgG к SARS-CoV-2 и ВНА?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Совокупность представленных результатов позволяет высоко оценить вклад С.К. Пылаевой в разработку подходов к серодиагностике и прогнозированию течения COVID-19, а также в понимание закономерностей формирования гуморального иммунного ответа и эволюции SARS-CoV-2. Полученные данные имеют значение как для понимания антигенных свойств различных вариантов вируса и формирования перекрестного иммунитета, так и для дальнейшего совершенствования алгоритмов лабораторной диагностики и ведения пациентов с COVID-19.

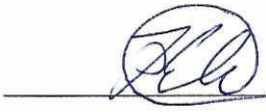
Диссертация Пылаевой Софии Константиновны на тему: «Диагностические и прогностические маркеры при инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, в различные периоды пандемии» является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне. Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объёму и уровню проведённых исследований, достоверности полученных результатов соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 20.03.2021 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, от 18.03.2023 N 415, от 26.10.2023 N 1786, от 25.01.2024 N 62, от 16.10.2024 №1382, от 18.07.2026 №905 ред. от 18.07.2026 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени

кандидата наук, а ее автор, Пылаева София Константиновна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.1.22. Инфекционные болезни.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (В соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №1 от 09.01.2020 г. (ред. от 01.03.2024 г.), необходимых для работы диссертационного совета 24.1.255.01

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией прикладной вирусологии
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин
и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки
и высшего образования Российской Федерации,
доктор биологических наук (1.5.10. Вирусология)
e-mail: faizuloev@mail.ru
тел. +7 (495) 917-49-00



Евгений Бахтиерович Файзулоев

Подпись д.б.н. Файзулоева Е.Б. заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова





А.В. Васильева

«05» октября 2026 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова). Адрес: 105064, г. Москва, Малый Казенный переулок, дом 5А. Тел.: 8-495-917-49-00, E-mail: mech.inst@mail.ru.