

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ФГАНУ  
«Федеральный научный центр  
исследований и разработки  
иммунобиологических препаратов»  
(Институт полиомиелита)  
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Ишмухаметов

«14» *Ишмухаметов* 2024 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного научного учреждения  
«Федеральный научный центр исследований и разработки  
иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита).

Диссертация Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по специальности 1.5.10. Вирусология, выполнена в лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В период подготовки диссертации соискатель Шустова Е.Ю. с 2008 года работала в ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» РАН в должности лаборанта-исследователя в лаборатории молекулярной биологии вирусов.

В 2009 году Шустова Е.Ю. окончила ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина», присуждена квалификация - биохимик по специальности «Биохимия».

В 2012 году Шустова Е.Ю. окончила очную академическую аспирантуру ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» РАН по специальности 03.02.02. – «Вирусология» (Справка об обучении в аспирантуре № 26 от 19 августа 2021 г. и справка о сдаче кандидатских экзаменов № 25 от 19 августа 2021 г. выданы ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) и переведена на должность младшего научного сотрудника в лабораторию молекулярной биологии вирусов.

С 2015 по 2019 годы Елена Юрьевна прервала свою научно исследовательскую деятельность в связи с выходом в декретный отпуск и отпуск по уходу за детьми.

С 2019 года по настоящее время Шустова Е.Ю. работает в должности научного сотрудника лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Научный руководитель - Лукашев Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е. И. Марциновского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

#### **Оценка выполненной соискателем работы:**

Диссертация Шустовой Е.Ю. является научно-квалифицированной работой, которая содержит изложение новых научно-обоснованных результатов в области изучения роли рекомбинации в эволюции и потенциала циркулирующих энтеровирусов, а также способности энтеровирусов к межвидовой передаче. Диссертация является актуальной, законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой.

Автор владеет проблематикой, языком, методологией и терминологией. Сформулированная во введении цель исследования – «изучение закономерности рекомбинационных событий у различных типов энтеровирусов и их роль в реализации межвидового перехода» достаточно и подробно отражена в трех главах работы.

Диссертация раскрывает вопросы поставленных задач и соответствует требованию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследований и взаимосвязи результатов и выводов.

#### **Актуальность работы.**

Энтеровирусы входят в число наиболее изученных вирусов человека. В биосфере энтеровирусы, благодаря частой рекомбинации, представляют собой резервуар генетической информации, который включает ограниченное количество наборов капсидных генов, определяющих конечное число типов и, практически неограниченное «облако» генов неструктурных белков, которые в пределах таксономического вида могут в любой комбинации сочетаться со структурными генами. Этим можно объяснить невозможность привязать тип энтеровирусов к определенному заболеванию: разные типы могут вызывать сходные клинические проявления, а отдельный тип – разные заболевания. Для энтеровирусов также характерно возникновение новых клинических форм даже для хорошо известных

типов, что может быть связано с рекомбинацией и обосновывает актуальность данного исследования. Частые рекомбинационные события потенциально способствуют возникновению новых типов с эпидемическим потенциалом. По предварительным данным, закономерности рекомбинации и эволюции у разных видов и даже типов энтеровирусов могут быть различными, однако целостной картины эволюционной и рекомбинационной динамики энтеровирусов на момент данного исследования не было.

Актуальность энтеровирусов также связана и с возможностью межвидовой передачи, увеличивая риск возникновения новых вспышек инфекционных заболеваний пандемического характера. В 20 веке энтеровирусы вызвали пандемию полиомиелита и менее известные пандемии острого геморрагического конъюнктивита (EV-D70) и менингоэнцефалита (EV-A71), причем источник этих вирусов не был установлен. Одним из значимых ветеринарных патогенов является вирус везикулярной болезни свиней (ВВБС, SVDV), который произошел в результате межвидового перехода энтеровируса вида В Коксаки В5.

Каждый случай такой передачи важен для характеристики потенциала энтеровирусов, как источника новых заболеваний.

#### **Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.**

Автором проведен анализ литературы, изучена степень разработанности проблемы с определением цели, задач исследования и его дизайна. Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Лично или с участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования.

#### **Степень достоверности и апробация результатов.**

Достоверность полученных в ходе работы данных определяется достаточным числом исследований, длительным сроком наблюдений, комплексным подходом к проведению исследований, выполненным с использованием современных методов и статистической обработки полученных результатов. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы. Материалы исследования были представлены и обсуждены на международных конференциях: Международной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» к 90-летию Санкт-Петербургского Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург, Россия, 5-7 июня 2013 года), V Европейском конгрессе вирусологов (Лион, Франция, 11-14 сентября 2013), Конгрессе с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2024» (Москва, Россия 16-17 апреля 2024).

### **Научная новизна.**

Впервые выполнен анализ рекомбинации у энтеровирусов вида А как единого целого. Изучена динамика глобального пула генетической информации, причем сразу в трех участках генома, включая анализ особенностей отдельных типов.

Впервые изучена временная динамика рекомбинации у разных типов энтеровирусов вида А.

Впервые показано, что граница областей VP1-2A, считавшаяся «горячей точкой» рекомбинации, на самом деле может быть артефактом, наблюдаемым по причине разной силы филогенетического сигнала в этих участках генома, а частота рекомбинации между областями генома VP1/2C и 2C/3D практически сопоставима.

Было исследовано происхождение вирусов T75 и O72, вызвавших две крупные вспышки везикулярной болезни свиней. Впервые была получена полная нуклеотидная последовательность вируса T75.

### **Практическая значимость.**

Рекомбинация является важнейшим фактором эволюции вирусов с потенциально важными с медицинской точки зрения последствиями, а энтеровирусы отличаются высокой динамикой рекомбинационных событий. В результате данного исследования было проанализировано 80 штаммов энтеровирусов вида А с широким временным и географическим охватом выделения. Это позволило разделить циркулирующие типы энтеровирусов вида А на 3 группы с разной частотой рекомбинации.

Учитывая высокую скорость накопления мутаций и частую рекомбинацию у энтеровирусов, а также полученные данные о случае перехода энтеровируса человека к животным, очевидна необходимость дальнейшего изучения пути передачи энтеровирусов, то есть реализация более широкого филогенетического анализа, по сравнению с применяемым в настоящее время.

В результате проведенных исследований депонированы в GenBank 240 нуклеотидных последовательностей трех областей генома (VP1, 2C и 3D) энтеровирусов вида А, выделенных в разных городах России и странах СНГ, одна последовательность структурной области генома VP1 штамма O72 энтеровируса вида В и полная геномная последовательность штамма T75 энтеровируса вида В, вызвавшего вспышку везикулярной болезни свиней.

### **Научная специальность, которой соответствует диссертация.**

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10.

Вирусология, биологические науки и направлениям исследования: пунктам: 1 - изучение природы и происхождения вирусов как автономных генетических структур, способных функционировать и репродуцироваться в восприимчивых к ним клетках животных, растений, простейших, грибов, бактерий, архей; 4 - молекулярная биология вирусов, структурно-функциональная биология вирусных белков. Структура и экспрессия вирусных геномов. Эволюция вирусов и их разнообразие. Генетика и геномика вирусов. Популяционная генетика; 8 - проблемы экологии вирусов, их географического распространения, эпидемиологии и путей распространения вирусных инфекций, изучение путей передачи вирусов, их носительства, выявление естественных хозяев.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.**

Научная деятельность Шустовой Е.Ю. опубликована в 25 научных работах, по данным проведенных исследований, вошедших в диссертационную работу опубликовано 5 научных работ: 1 научная работа в издании согласно Перечню ВАК, 4 работы в научных изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science, Scopus, PubMed.

Диссертация проверена в системе «Антиплагиат.Эксперт». В диссертации соблюдены ссылки на авторов и источники заимствования материала. Доля личного участия в получении, обобщении, анализе и интерпретации вирусологических экспериментальных данных – в пределах 93%.

Основные научные результаты диссертации достаточно полно отражены в следующих опубликованных статьях:

1. Энтеровирус типа 71: Ящуроподобное заболевание, энцефаломиелит, острый отек легких / Лашкевич В.А., Королева Г.А., Лукашев А.Н., Кармышева В.Я., Мустафина А.Н., Худякова Л.В., **Шумилина Е.Ю.** // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. – № 6. – С. 38-47. DOI: 10.17816/EID40646 (ВАК, К-2).

2. Recombination strategies and evolutionary dynamics of the Human enterovirus A global gene pool/ Lukashov A.N., **Shumilina E.Y.**, Belalov I.S., Ivanova O.E., Eremeeva T.P., Reznik V. I., Trotsenko O. E., Drexler J. F., Drosten C. //Journal of General Virology. – 2014. – V. 96. – P. 868-873. DOI: 10.1099/vir.0.060004-0 (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q2).

3. Epizootic of vesicular disease in pigs caused by coxsackievirus B4 in the Soviet Union in 1975 / Lomakina N.F., **Shustova E.Y.**, Strizhakova O.M., Drexler J.F., Lukashov A. N. // Journal of General Virology. – 2016. – V. 97. – P. 49-52. DOI: 10.1099/jgv.0.000318 (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q2).

4. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in a child : fast transformation from Sabin-like virus to vaccine-derived poliovirus triggered an epidemiological response in two countries of the European region / Ivanova O.E., Kozlovskaya L.I., Ereemeeva T.P., Shakaryan A.K., Ivanov A.P., Baykova O.Y., Krasota A.Y., **Shustova E.Y.**, Mustafina A.N., Morozova N.S., Bobokhonova M.S., Deshevoi S.E., Ishmukhametov A.A. // *Int. J. Infect. Dis.* – 2022. – V. 125. – P. 35–41. DOI: 10.1016/j.ijid.2022.09.034 (Scopus, Pub Med, Q3).

5. Non-Polio Enteroviruses Isolated by Acute Flaccid Paralysis Surveillance Laboratories in the Russian Federation in 1998 – 2021 : Distinct Epidemiological Features of Types / Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Morozova N.S., Mikhailova Y.M., Kozlovskaya L.I., Baikova O.Y., Shakaryan A.K., Krasota A.Y., Korotkova E.A., Yakovchuk E.V., **Shustova E.Y.**, Lukashev A.N. // *Viruses.* – 2024. – V. 16. – N 135. – P. 1-15. DOI: 10.3390/v16010135 (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q1).

### **Общее заключение.**

Диссертационное исследование Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов» является законченной научно-квалификационной работой. В диссертационной работе научно обоснованы и наглядно показаны признаки и общие закономерности рекомбинации энтеровирусов вида А, различия эволюционного процесса у энтеровирусов разного типа. А также установлено и научно обосновано происхождение нового вируса везикулярной болезни свиней.

Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные данные и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов. Достоверность результатов подтверждена корреляцией полученных практическими методами данных с теоретическими заключениями.

Диссертация Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14, Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №№842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №650 от 29.05.2017 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; №101 от 26.01.2023 г.; с изменениями в действующей ред. №62 от 25.01.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, кандидата наук и может быть рекомендована к защите.

Заключение организации, где выполнялось диссертация Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении

циркулирующих вариантов энтеровирусов» принято на заседании научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Присутствовало на заседании 18 членов комиссии (имеющих ученую степень доктора наук – 10 членов, кандидата наук – 8 членов) из 24 списочного состава научной экспертной комиссии.

Результаты голосования:

«За» – 18 членов комиссии;

«Против» – нет;

«Воздержалось» – нет;

Протокол заседания № 3 от 19 апреля 2024 г.

Председатель научной экспертной комиссии -  
руководитель научного направления учреждения,  
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита), доктор медицинских наук,  
профессор, Заслуженный деятель науки РФ

Евгений Александрович Ткаченко

Секретарь научной экспертной комиссии -  
ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита),  
кандидат биологических наук

Алла Владимировна Белякова

Подписи проф., д.м.н. Ткаченко Е.А., к.б.н. Беляковой А.В. удостоверяю.

Начальник отдела кадров

ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

(Институт полиомиелита)



А.И. Симакова

«14» мая 2024 г.