

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и
межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов
энтеровирусов», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология**

Актуальность темы диссертации

Энтеровирусы (семейство *Picornaviridae* род *Enterovirus*) являются одними из самых распространенных вирусов человека. Это небольшие РНК-содержащие вирусы, размером около 30 нм. Наиболее часто выделяемые энтеровирусы у человека - это виды А, В, С и D. В течение десятилетий большинство исследований было сосредоточено на полиовирусе, но в последние годы знания о неполиомиелитных энтеровирусах значительно расширились. На данный момент известно более ста типов неполиомиелитных энтеровирусов. Энтеровирусы распространяются либо фекально-оральным путем, либо через дыхательные пути. Известно, что разные энтеровирусы поражают все возрастные группы населения и характеризуются различной тяжестью клинических проявлений. Более 20 клинических симптомов ассоциируют с энтеровирусами человека: от легких заболеваний, включая недифференцированную лихорадку, конъюнктивит и экзантему, до более тяжелых заболеваний, таких как пневмония, менингит, миокардит, перикардит. Особое медицинское значение имеет способность неполиомиелитных энтеровирусов вызывать тяжелые неврологические проявления. Для энтеровирусов характерна изменчивость генома, в первую очередь, связанная с высокой частотой нуклеотидных замен. Важную роль при образовании новых вариантов энтеровирусов также играет процесс рекомбинации. События рекомбинации часто предшествуют появлению новых эволюционных ветвей энтеровирусов. Энтеровирусы имеют значительный патенциал для межвидовой инфекции, что может увеличивать риск возникновения новых вспышек инфекционных заболеваний пандемического характера. Поэтому особый

интерес представляют циркулирующие неполиомиелитные энтеровирусы, вызывающие заболевания у животных и способные к межвидовой передаче между животными и человеком.

Диссертационная работа Шустовой Елены Юрьевны на тему «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов» имеет высокую актуальность

Целью диссертационной работы является изучение закономерности рекомбинационных событий у различных типов энтеровирусов и их роли в реализации межвидового перехода.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Сформировать выборку энтеровирусов вида А различных типов с широким географическим и временным охватом.
2. Провести филогенетический анализ энтеровирусов вида А по трем участкам генома с использованием метода молекулярного датирования.
3. Оценить общие закономерности рекомбинации у энтеровирусов вида А друг относительно друга и относительно прототипных штаммов энтеровирусов.
4. С помощью филогенетического анализа участков генома вирусов везикулярной болезни свиней изучить эпизод межвидового перехода.

Краткая характеристика основного содержания работы

Диссертационная работа построена по классической схеме и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста, иллюстрирована 39 рисунками и 25 таблицами. Список литературы включает 227 источников.

В главе «Введение» автором подробно обоснована актуальность работы, степень разработанности темы, цель и задачи проводимого исследования, научная новизна и значимость полученных результатов. Все запланированные Е.Ю. Шустовой задачи соответствовали цели исследования и были выполнены.

Обзор литературы состоит из 5 подразделов. В обзоре литературы подробно отображена история и характеристика энтеровирусов, описана рекомбинация энтеровирусов разных типов, метод байесовского подхода в филогенетики. Также представлена информация о межвидовой передаче энтеровирусов путем смены хозяина.

Значимость и достоверность научных результатов, полученных в ходе выполнения исследований, во многом определены использованием современных вирусологических и молекулярных методов исследования, которые описаны в главе «Материалы и методы». Использование современных вирусологических методов (выделение вирусов на культуре клеток, идентификация энтеровирусов в реакции нейтрализации), молекулярно-биологических (выделение РНК, ПЦР, секвенирование) и филогенетических методов.

Результаты собственных исследований и их обсуждение представлены в девяти главах диссертационной работы Е.Ю. Шустовой. В главе «получение нуклеотидных последовательностей энтеровирусов» подробно описана проделанная работа с энтеровирусами вида А и вида В. Автором получено 240 нуклеотидных последовательностей 13 типов энтеровирусов вида А в трёх участках генома (VP1,2С и 3D) и полная нуклеотидная последовательность штамма Т75, энтеровируса вида В. Все последовательности депонированы в GenBank. В главах, описывающих филогенетические взаимоотношения участков генома VP1, 2С и 3D энтеровирусов человека вида А, Шустовой Е.Ю. подробно проанализирована естественная рекомбинация изучаемых штаммов, описаны рекомбинационные события в разных участках генома с указанием времени жизни общего предка отдельных типов. Также произведен анализ консервативных групп энтеровирусов в разных участках генома. С помощью

байесовского подхода Шустовой Е.Ю. рассчитаны скорости накопления мутаций в геноме энтеровирусов, а также - экспериментальные средние расхождения последовательностей в капсидной области генома VP1 при 50% пороге рекомбинации по анализу филогенетических групп в области генома 3D. Благодаря экспериментальным данным, Шустовой Е.Ю. было установлено время полужизни рекомбинантных форм энтеровирусов. Все данные наглядно представлены в таблицах и рисунках. В главах 3.6-3.9 - описаны филогенетические взаимоотношения энтеровирусов вида В и штаммов O72 и T75. Показано, что эти вирусы произошли от разных типов человеческого энтеровируса. Для штамма T75 построены филогенетические деревья по трем участкам генома, а также проведён анализ генетического сходства полногеномных последовательностей энтеровирусов вида В по сравнению с прототипным штаммом T75.

Раздел «Заключение» суммирует все основные результаты, полученные автором.

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

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Обоснованность и достоверность полученных результатов и положений диссертационной работы, а также достоверность выводов обеспечивается точным выбором Е.Ю. Шустовой методов исследования и большим объёмом, проведённой ею научно-исследовательской работы.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты. По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ: 1 статья - в журнале, рекомендованном ВАК, 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в библиографических базах – Web of Science, Scopus, PubMed.

Материалы диссертации были представлены и обсуждены на различных международных конференциях: «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» (СПб, Россия, 5-7 июня 2013 года); V Европейский конгресс вирусологов (Лион, Франция, 11-14 сентября 2013 года); Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность» (Москва, Россия 16-17 апреля 2024 года).

Все выводы и практические рекомендации по диссертации Е.Ю. Шустовой логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и поставленным задачам.

Научная новизна выполненной работы

Автором, впервые был выполнен анализ рекомбинаций у энтеровирусов вида А, как единого целого процесса. Еленой Юрьевной была изучена динамика глобального пула всей генетической информации в трёх участках генома, включая анализ особенностей отдельных типов вируса. Также Шустова Е.Ю., впервые изучила временную динамику рекомбинации у разных типов этого вида. Диссертантом было исследовано происхождение вирусов Т75 и О72, вызвавших две крупные вспышки везикулярной болезни свиней в Советском Союзе.

Практическая значимость работы

Шустовой Е.Ю. были депонированы GenBank 240 нуклеотидных последовательностей трёх областей генома (VP1, 2С и 3D) вирусов вида А, выделенных в разных районах России и странах СНГ, последовательность структурной области генома, кодирующий белок VP1 штамма О72 энтеровируса вида В и полная нуклеотидная последовательность штамма Т75 энтеровируса штамма В, вызвавших вспышки везикулярной болезни свиней в СССР.

В ходе прочтения диссертации возникли вопросы к автору данного исследования:

1. В главе диссертации «Материалы и методы» в табл. 3 представлены штаммы, вошедшие в исследование с указанием их типа. Как были получены эти данные? Если данные получены Вами, то не нужно ли эту таблицу вынести в главу «результаты»?

2. В диссертации Вами использовано понятие «тип энтеровирусов», хотя в литературе используется термин «серотип», почему?

3. В своей диссертации Вы пишете, что энтеровирусы представляют собой резервуар генетической информации, включающий ограниченное количество наборов капсидных генов и тем самым, определяющих конечное число типов, и практически неограниченное «облако» генов неструктурных белков, тем самым и можно объяснить невозможность привязать тип ЭВ к определенному заболеванию. Можно ли понимать это так, что тип заболевания зависит от неструктурных белков?

4. Для построения филогенетических деревьев автором была использована модель молекулярных часов SRD60, почему была выбрана именно данная модель?

5. И чем, по Вашему мнению, обуславливается генетическая идентичность «новых» энтеровирусов человека вида А?

Все перечисленные замечания, носят уточняющий характер, и не умоляют высокой теоретической и практической значимости представленной диссертацией Шустовой Е.Ю., убедительно доказывающей что механизмы возникновения новых ЭВ связаны напрямую как с процессами рекомбинации, так и с межвидовым переходом.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук является законченной научно-квалификационной работой по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований полностью

соответствует требованиям 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 учёной степени кандидата наук, а ее автор Шустова Елена Юрьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10.Вирусология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний
отдела вирусологии им. О.Г. Анджaparидзе,
профессор отдела аспирантуры ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
доктор биологических наук
эл. почта: yuminova@mail.ru
телефон: +79104229706

Юминова Надежда Васильевна

Подпись д.б.н. Юминовой Н.В. заверяю.

Учёный секретарь ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
кандидат биологических наук

Алаторцева Галина Ивановна

«18» октября 2024 г.



Адрес места работы: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии наук, 105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный пер, дом 5А. Тел.: +7 (495) 917-49-00. Факс +7 (495) 917-49-00, <http://www.instmech.ru/>, e-mail: mech.inst@mail.ru