

О результатах публичной защиты диссертации

ШУСТОВОЙ Елены Юрьевны

диссертация 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.

Диссертационный совет 24.1.255.01 на базе ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) принял решение о присуждении ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.10. Вирусология ШУСТОВОЙ Елене Юрьевне (Протокол № 28 от 6 ноября 2024 года).

Присутствовали: Ишмухаметов А.А. д.м.н., профессор, академик РАН (1.5.10. Вирусология), Ткаченко Е.А. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Белякова А.В. к.б.н. (1.5.10. Вирусология), Костинов М.П. д.м.н., профессор, член-корр. РАН (1.5.10. Вирусология), Дзагурова Т.К. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Иванов А.П. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Карганова Г.Г. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Еровиченков А.А. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Гамбарян А.С. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Калинина Н.О. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Иванова О.Е. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Карпова О.В. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Кюрегян К.К. д.б.н., профессор РАН (1.5.10. Вирусология), Козловская Л.И. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Колясникова Н.М. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Бутенко А.М. профессор, д.б.н. (1.5.10. Вирусология).

Председатель диссертационного совета 24.1.255.01
академик РАН, профессор, доктор медицинских наук



А.А. Ишмухаметов

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.255.01
кандидат биологических наук

А.В. Белякова

«6» ноября 2024 г.

ПРОТОКОЛ № 28

заседания совета по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, соискание ученой степени кандидата наук
24.1.255.01 на базе ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)

от 6 ноября 2024 года
13:30 час. МСК.

По списку членов диссертационного совета – 22 чел.

Присутствовало на заседании – 16 чел.

Председатель	– академик РАН, профессор, д.м.н. Ишмухаметов А.А.
Заместитель председателя	– профессор, д.м.н. Ткаченко Е.А
Ученый секретарь	– к.б.н. Белякова А.В.

Присутствовали члены диссертационного совета:

Костинов М.П. д.м.н., профессор, член-корр. РАН (1.5.10. Вирусология), Дзагурова Т.К. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Иванов А.П. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Карганова Г.Г. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Гамбарян А.С. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Калинина Н.О. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Иванова О.Е. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Карпова О.В. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Кюрегян К.К. д.б.н., профессор РАН (1.5.10. Вирусология), Козловская Л.И. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Колясникова Н.М. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Бутенко А.М. профессор, д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Еровиченков А.А. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология),.

ПОВЕСТКА ЗАСЕДАНИЯ:

1. Защита диссертации ШУСТОВОЙ Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология. Работа выполнена в лаборатории молекулярной биологии вирусов Федерального государственного автономного научного учреждения «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 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Официальные оппоненты:

Юминова Надежда Васильевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний, отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе, профессор отдела аспирантуры, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

Подколзин Александр Тихонович – доктор медицинских наук, заместитель директора по эпидемиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

СЛУШАЛИ: доклад по диссертации ШУСТОВОЙ Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Актуальность темы исследования

Энтеровирусы (ЭВ) входят в число наиболее изученных вирусов человека благодаря их раннему открытию в 1950-х гг. и легкому культивированию в культуре клеток. Известно более ста типов (серотипов) неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ), которые вызывают различные заболевания. Энтеровирусы характеризуются большой генетической изменчивостью, основанной на двух эволюционных механизмах: мутации и рекомбинации. Отсутствие корректирующей активности 3D-полимеразы приводит к точечным мутациям и генерации популяции родственных последовательностей. В биосфере энтеровирусы благодаря частой рекомбинации представляют собой резервуар генетической информации, включающий 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 с генами структурных белков. Этим можно объяснить невозможность привязать тип энтеровируса к определенному заболеванию: разные типы могут вызывать сходные клинические проявления, а один тип – разные заболевания. 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 начала данного исследования не было.

Способность энтеровирусов к межвидовой передаче также может увеличивать риск возникновения новых вспышек инфекционных заболеваний пандемического характера. В XX веке энтеровирусы вызвали пандемию полиомиелита, менее известные пандемии острого геморрагического конъюнктивита (EV-D70) и менингоэнцефалита (EV-A71), причем источник этих вирусов не установлен. Поэтому особый интерес представляют циркулирующие энтеровирусы, вызывающие заболевания у животных и способные к передаче между животными и человеком. Каждый случай такой передачи важен для характеристики потенциала энтеровирусов как источника новых заболеваний.

Степень разработанности темы

На момент начала исследования закономерности рекомбинации у энтеровирусов вида А были изучены только в общем виде. Была изучена динамика рекомбинации отдельных типов на основании анализа небольшого количества изолятов энтеровирусов вида А. В качестве мишени для изучения рекомбинации рассматривали 2 структурные области генома, кодирующие белки VP1 и VP4 и одну неструктурную область, кодирующую белок 3D. В связи с большей распространенностью и высоким процентом выделяемости из клинических образцов, большинство исследований были направлены на изучение рекомбинационных событий у энтеровирусов вида В, и на сравнение видов, но не отдельных типов. Изучение динамики рекомбинационных событий изолятов энтеровирусов вида А с большим временным охватом и сравнением разных типов ранее не проводилось и имеет как фундаментальное значение, так и важно для оценки потенциала этих вирусов. Также были описаны несколько случаев межвидового перехода энтеровирусов, в частности, возникновение эпизоотии классического вируса везикулярной болезни свиней (ВВБС) в 1961 году в результате смены хозяина вирусом CV-B5. При этом возникновение эпизоотии везикулярной болезни свиней (ВБС) в 1975 году в Советском Союзе было менее известно и молекулярно-генетическое исследование этой эпизоотии не проводилось.

Цель работы: изучение закономерности рекомбинационных событий у различных типов энтеровирусов и их роль в реализации межвидового перехода.

Задачи работы:

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 относительно друг друга и относительно прототипных штаммов энтеровирусов.
4. С помощью филогенетического анализа участков генома вирусов везикулярной болезни свиней изучить эпизод межвидового перехода.

Научная новизна

Важным свойством энтеровирусов является их способность к обширной рекомбинации. В данной работе впервые выполнен анализ рекомбинации у энтеровирусов вида А как единого целого. Изучена динамика глобального пула генетической информации в трех участках генома, включая анализ особенностей отдельных типов. Впервые изучена временная динамика рекомбинации у разных типов этого вида. Впервые показано, что граница областей VP1-2A, считавшаяся «горячей точкой» рекомбинации, 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 примерно сопоставима. Рекомбинация может способствовать возникновению новых заболеваний человека и животных и привести к увеличению патогенности вирусов. У энтеровирусов рекомбинация также связана с их возможностью к межвидовой передаче. Было исследовано происхождение вирусов T75 и O72, вызвавших две крупные вспышки везикулярной болезни свиней в Советском Союзе. Ранее сообщений о происхождении второй вспышки, вызванной вирусом T75, в международной литературе опубликовано не было, молекулярное исследование не проводилось.

Теоретическая и практическая значимость работы

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 ЭВ вида А на 3 группы с разной частотой рекомбинации.

Учитывая высокую скорость накопления мутаций, частую рекомбинацию у энтеровирусов, а также возможность межвидового перехода энтеровирусов, очевидно, что необходимо дальнейшее изучение пути передачи энтеровирусов и реализация более широкого филогенетического анализа, чем применяется сейчас.

В результате работы депонированы в GenBank 240 нуклеотидных последовательностей трех областей генома (VP1, 2С и 3D) энтеровирусов вида А, выделенные в разных городах России и странах СНГ, последовательность структурной области генома, кодирующей белок VP1 штамма О72 энтеровируса вида В и полная нуклеотидная последовательность штамма Т75 энтеровируса вида В, вызвавших вспышки везикулярной болезни свиней в Советском Союзе.

Методология и методы исследования

В исследовании были использованы вирусологические (выделение вирусов на культуре клеток, идентификация ЭВ в реакции нейтрализации), молекулярно-биологические (выделение РНК, ПЦР, секвенирование) и филогенетические методы.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота естественной рекомбинации у неполиомиелитных энтеровирусов вида А значительно варьируется у разных типов.
2. Время полужизни циркулирующих энтеровирусов вида А без рекомбинации варьируется от 2 до 28 лет в зависимости от типа.
3. Частота рекомбинации между участками генома структурной области VP1 и неструктурной 2С не выше, чем между областями генома 2С и 3D.
4. Возникновение ВВБС, вызвавшего эпизоотию в Советском Союзе в 1972 г. и 1975 г., произошло в результате двух независимых межвидовых переходов энтеровирусов человека.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Положения диссертации соответствуют пунктам 1, 4, 8 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Выводы

1. Частота естественной рекомбинации у неполиомиелитных энтеровирусов вида А значительно различается у разных типов. Большая часть типов энтеровирусов этого вида участвует в рекомбинации часто, но типы EV-A71 и CV-A16 вовлечены в рекомбинацию в значительно меньшей степени. «Новые» представители вида – энтеровирусы EV-A76 и EV-A90 – не рекомбинируют с основными типами.
2. Время полужизни циркулирующего вируса без признаков рекомбинации составляет от 2 лет у CV-A2, CV-A4 и CV-A10 и до 28 лет у EV-A71. Для большинства типов энтеровирусов вида А время циркуляции до 50% вероятности участия в рекомбинации соответствовало интервалу 2-6 лет.
3. Частота рекомбинации энтеровирусов вида А между участками генома 2С и 3D не ниже, чем в известной ранее «горячей точке» рекомбинации между участками генома VP1 и 2С.
4. Возникновение нового энтеровируса свиней (ВВБС), вызвавшего эпизоотию в Советском Союзе в 1975 (штамм Т75), произошло в период с 1945 по 1975 гг. в результате второго межвидового перехода вируса CV-B4 от человека к свиньям, независимого от

возникновения классического варианта ВВБС в результате межвидового перехода вируса CV-В5 от человека.

Официальные оппоненты - Юминова Н.В. д.б.н., Подколзин А.Т. д.м.н. – *дали положительные отзывы на диссертацию.*

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации - *дала положительный отзыв на диссертацию.*

Счетная комиссия избрана в составе: председатель – Кюрегян К.К. д.б.н., профессор РАН, члены комиссии – Козловская Л.И. д.б.н., Иванов А.П. д.м.н.

Результаты голосования: диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук по специальности 1.5.10. Вирусология, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – «16», против – «нет», недействительных бюллетеней – «нет».

Протокол тайного голосования утвержден открытым голосованием.

ПОСТАНОВИЛИ: основываясь на результатах тайного голосования присудить ШУСТОВОЙ Елене Юрьевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Председатель диссертационного совета 24.1.255.01
академик РАН, профессор, доктор медицинских наук

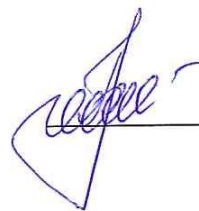


А.А. Ишмухаметов

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.255.01
кандидат биологических наук



«6» *ноября* 2024 г.



А.В. Белякова