

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.255.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТКИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИМ. М.П. ЧУМАКОВА РАН» (ИНСТИТУТ ПОЛИОМИЕЛИТА) МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 06.11.2024 г. № 28

О присуждении Шустовой Елене Юрьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов» по специальности 1.5.10. Вирусология принята к защите 28.08.2024 г. (Протокол заседания № 24) диссертационным советом 24.1.255.01, созданным на базе ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) Минобрнауки России (108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1), Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о выдаче разрешения на создание диссертационного совета №188 от 10 марта 2021 г.).

Соискатель Шустова Елена Юрьевна, 01.02.1987 года рождения.

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 РАМН» по специальности 03.02.02. – «Вирусология» (Справка об обучении в аспирантуре № 26 от 19 августа 2021 г. выдана ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), работает научным сотрудником лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Диссертация выполнена в 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).

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.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации г. Санкт-Петербург в своем положительном отзыве, подписанном Дарьей Михайловной Даниленко, кандидатом биологических наук, заместителем директора по научной работе, заведующим отделом этиологии и эпидемиологии, указала на то, что диссертация Шустовой Елены Юрьевны на тему: «Роль рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов энтеровирусов» является законченным научно-квалификационным исследованием, содержащим решение актуальной научной задачи – изучению закономерности рекомбинационных событий у различных типов энтеровирусов (ЭВ) и их роли в реализации межвидового перехода, так же диссертационное исследование обладает несомненной практической и теоретической значимостью. Диссертация Шустовой Е.Ю. соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в пп. 9-14 «Положения о присуждении 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.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Соискателем имеет 25 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 5 работ: 1 научная работа, в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, 4 научные работы, в изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science, Scopus, PubMed.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Энтеновирус 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 (БАК, К-2).

2. Recombination strategies and evolutionary dynamics of the Human enterovirus A global gene pool/ Lukashev A.N., **Shumilina E.Y.**, Belalov I.S., Ivanova O.E., Ereemeeva 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., Lukashev 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).

В опубликованных работах приведены исследования 80-ти изолятов неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) вида А, получены 240

нуклеотидных последовательностей трех областей генома (VP1, 2С и 3D). Получены нуклеотидные последовательности участка генома VP1 штамма О72 и полная нуклеотидная последовательность штамма Т75 ЭВ вида В, вызвавших вспышки везикулярной болезни свиней в Советском Союзе. Рекомбинационные события у ЭВ вида А изучены в меньшей степени, чем у других видов. В данной работе впервые изучена временная динамика рекомбинации у НПЭВ вида А разных типов. Представлены данные, что ЭВ разных типов имеют разную скорость рекомбинации. Впервые показано, что граница областей VP1-2А, считавшаяся «горячей точкой» рекомбинации, может быть артефактом, а частота рекомбинации между областями генома VP1/2С и 2С/3D примерно сопоставима. Доказано, что две крупные вспышки везикулярной болезни свиней (ВБС) в Советском Союзе, произошли вследствие двух независимых переходов ЭВ вида В от человека свиньям.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют. Авторский вклад в опубликованных работах соискателя составляет около 93 %.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы:

1. Игнатъева Георгия Михайловича – доктора медицинских наук, профессора, ведущего научного сотрудника отдела вирусологии им. О.Г. Анджапаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
2. Маркушина Станислава Георгиевича – доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией генетики РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
3. Южакова Антона Геннадьевича – кандидата биологических наук, заведующего лабораторией биохимии и молекулярной биологии ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский

институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук»;

4. Голицыной Людмилы Николаевны – кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника, лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

5. Сперанской Анны Сергеевны – кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией мультимиксных исследований ФБУН «Научно-исследовательского института системной биологии и медицины» Роспотребнадзора.

В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования изучена динамика рекомбинации у разных типов ЭВ вида А в трех участках генома, включая анализ особенностей отдельных типов. В результате данных исследований показано, что разные типы ЭВ вида А рекомбинируют с разной частотой, а время полужизни циркулирующих ЭВ вида А без рекомбинации существенно отличается. Также в диссертационной работе показано, что вирус Т75 произошел вследствие независимого параллельного межвидового перехода от человеческого вируса CV-B4, в тот же промежуток времени, что и остальные классические вирусы везикулярной болезни свиней (ВВБС) от человеческого CV-B5, хотя ранее считалось, что Т75 является вторым типом ВВБС.

Критических замечаний отзывы не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в вопросах рассмотренной диссертации, большим опытом работы в изучении различных вопросов вирусологии, известностью специалистов и организации в области изучаемой проблемы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан план исследования для анализа эволюционных событий ЭВ, как облака генетической информации, основанный на филогенетическом

анализе методом байесовского датирования с анализом нерекомбинантных групп ЭВ разных типов в трех участках генома;

предложен анализ филогенетических отношений по трем областям генома ЭВ вида А: полный фрагмент нуклеотидной последовательности, кодирующей структурную область VP1, часть нуклеотидной последовательности, кодирующей неструктурную область 2С и часть нуклеотидной последовательности, кодирующей неструктурную область 3D;

доказано, что в неструктурной области генома 2С и 3D ЭВ вида А происходят множественные рекомбинационные события;

введен комплекс методов анализа рекомбинационных событий для оценки временных и географических аспектов рекомбинации: байесовский алгоритм для молекулярного датирования узлов дерева, анализ консервативных групп в разных областях генома, график парных расстояний по доле нуклеотидных различий каждой пары последовательностей в разных областях генома.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что ЭВ типов EV-A71 и CV-A16 почти не участвуют в рекомбинации с другими типами, но возможно рекомбинируют внутри своих групп. Вирусы группы Коксаки вовлечены в рекомбинационные процессы в значительно большей степени;

применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс современных лабораторных методов исследования, включая молекулярно-биологические и филогенетические;

изложена теория, согласно которой описанная ранее «горячая точка» рекомбинации, расположенная на границе структурных и неструктурных областей генома, могла быть артефактом филогенетического анализа, так как частота рекомбинаций между участками генома VP1 и 2С не выше, чем между 2С и 3D;

раскрыта новая информация подтверждающая, что вирус Т75, вызвавший вспышку ВБС в 1975 году, произошел от человеческого CV-B4, а не от CV-B5, как считалось ранее;

изучено и доказано на основании расчетов средних расхождений последовательностей в капсидной области генома VP1 при 50% пороге рекомбинации филогенетических групп в области генома 3D, что время полужизни циркулирующих ЭВ человека вида А без признаков рекомбинации варьируется от 2 лет до 28 лет.

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

разработаны и внедрены в практику полимеразные цепные реакции (ПЦР), полу-вложенный ПЦР с использованием специфических праймеров, адаптированных для всех типов ЭВ вида А в областях генома 2С и 3D;

определены и депонированы в GenBank 240 нуклеотидных последовательностей трех областей генома (VP1, 2С и 3D) НПЭВ вида А, одна последовательность структурной области генома VP1 штамма O72 и полная геномная последовательность штамма T75 ЭВ вида В, вызвавших вспышки ВБС в Советском Союзе;

создана система практических рекомендаций, согласно которой для изучения эволюционных процессов ЭВ, требуется рутинное секвенирование полных геномов ЭВ человека и животных, а также усовершенствование эпиднадзора в регионах, так как недостаточно определения нуклеотидной последовательности только структурной области генома VP1, которая на данный момент является основной целью исследований во многих работах;

представлены данные на основе филогенетического анализа структурной области генома белка VP1 прототипных штаммов O72 и T75, доказывающие, что в один и тот же промежуток времени произошло два независимых межвидовых перехода двух разных типов ЭВ от человека свиньям.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

для экспериментальной работы накоплен достаточный объем данных, необходимых для получения достоверных результатов. Методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне;

теория исследования построена на известных проверенных данных и согласуется с опубликованными работами по теме диссертации;

идея базируется на анализе теоретических и практических данных зарубежных ученых в области филогенетического анализа НПЭВ;

использовано сравнение авторских данных с полученными результатами зарубежных исследователей;

установлено, что результаты исследований согласуются с данными других авторов, представленных в независимых источниках по вопросам рекомбинации и филогенетического анализа ЭВ;

использованы современные молекулярно-биологические, вирусологические и филогенетические методы исследования.

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автором самостоятельно проведено планирование, организация всех этапов диссертационного исследования; определены цели и задачи, осуществлена систематизация и сбор первичных данных и их статистическая обработка. Результаты исследования представлены на международных конференциях. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов. Автором сформулированы основные положения и выводы диссертации. С участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования, в рецензируемых научных изданиях, одобренных ВАК. Все выводы диссертации и положения, выносимые на защиту, логично выстроены на основе полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было.

Соискатель Шустова Е.Ю. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании 6 ноября 2024 г. диссертационный совет принял решение: за успешное решение научной задачи по изучению роли рекомбинации и межвидового перехода в возникновении циркулирующих вариантов неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ), имеющее существенное значение для развития биологической науки и, в частности, вирусологии, присудить Шустовой Е.Ю. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного 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.

Председатель диссертационного совета 24.1.255.01
академик РАН, профессор, д.м.н.

Ишмухаметов Айдар Айратович

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.255.01
кандидат биологических наук

Белякова Алла Владимировна

«6» ноября 2024 г.