

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Быкова Романа Олеговича «Генетическое разнообразие норовирусов в Свердловской области (территориальная модель исследования)», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.10 – «Вирусология»

Обоснование актуальности исследования

Норовирусная инфекция остается одной из ведущих причин острых гастроэнтеритов во всем мире, создавая значительную нагрузку на систему здравоохранения. Несмотря на многолетние исследования, молекулярно-эпидемиологический мониторинг норовирусов на территории многих регионов России до настоящего времени носит фрагментарный характер, что не позволяет объективно оценивать генетическое разнообразие циркулирующих штаммов и прогнозировать эпидемические тенденции.

Выбор Свердловской области в качестве модельной территории обусловлен стабильно высоким уровнем заболеваемости норовирусной инфекцией. Непрерывная генетическая изменчивость возбудителя, а также наличие в популяции генетических маркеров восприимчивости (полиморфизмы FUT) определяют актуальность комплексного изучения как свойств патогена, так и факторов резистентности хозяина.

Таким образом, диссертационное исследование Быкова Р.О., включающее анализ генетического разнообразия норовирусов в Свердловской области в 2022-2024 гг., определение полиморфизмов генов FUT в региональной популяции, а также реконструкцию пространственной структуры вирусных белков, анализ их мутабельности и функциональной роли в инфекционном процессе, рекомбинационный и филогенетический анализ, является актуальным и своевременным. Работа вносит вклад в понимание эволюционных механизмов адаптации норовирусов и представляет актуальные данные о спектре циркулирующих норовирусов на территории Свердловской области.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Научные положения, сформулированные в диссертации, базируются на репрезентативном фактическом материале, полученном с применением современных молекулярно-генетических методов, включая секвенирование по Сэнгеру и полногеномное секвенирование нового поколения (NGS). Использованные методические подходы адекватны поставленным задачам, а объём исследованных клинических образцов и нуклеотидных последовательностей достаточен для статистически значимых выводов. Проведённый

филогенетический и популяционно-генетический анализ выполнен с применением актуальных биоинформатических инструментов и международных баз данных, что подтверждает надёжность полученных результатов. Выводы диссертации логически вытекают из экспериментальных данных и не противоречат известным положениям современной вирусологии.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые на территории субъекта Уральского федерального округа проведён трёхлетний молекулярно-эпидемиологический мониторинг норовирусов, в ходе которого охарактеризован спектр циркулирующих генотипов, выявлены ранее не описанные нуклеотидные и аминокислотные замены, в том числе у рекомбинантных форм. Впервые в Российской Федерации выполнена идентификация однонуклеотидных полиморфизмов генов FUT1 и FUT2 в региональной популяции и проведена реконструкция пространственных моделей капсидного белка VP1 с оценкой потенциального влияния мутаций на антигенные свойства вируса.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о микроэволюционных процессах норовирусов и популяционной восприимчивости к инфекции. Полученные полноразмерные геномы локальных штаммов GI.4[P16] и GI.7[P7] вносят вклад в понимание механизмов рекомбинационной изменчивости и антигенного дрейфа норовирусов. Практическая значимость работы определяется возможностью использования полученных данных для совершенствования эпидемиологического надзора, прогнозирования вспышек и разработки региональных диагностических протоколов и их интеграции в других субъектах Российской Федерации. Результаты анализа полиморфизмов генов FUT создают основу для оценки совместного влияния микроэволюционных процессов патогена и популяционной изменчивости хозяина.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из которых 5 оригинальных статей, в том числе 3 в рецензируемых журналах из Перечня ВАК и 2 в международных изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science и относящихся к первому квартилю (Q1) по специальности «Вирусология». Результаты исследования представлены на 9 научно-практических форумах, конференциях и конгрессах различного уровня. Количество и качество публикаций соответствуют критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

1. В качестве одного из перспективных направлений, вытекающих из проведённого исследования, представляется целесообразным предложить разработанный в работе подход к анализу аминокислотных замен в структуре белка VP1 (с использованием 3D-моделирования) в качестве методологической основы для скрининга потенциально значимых мутаций при мониторинге других генетических вариантов норовирусов.

2. Учитывая выявленную в работе динамическую смену доминирующих генотипов, безусловно, целесообразно продолжить молекулярно-генетический мониторинг на территории Свердловской области для получения актуализированных данных о циркулирующих штаммах и своевременного обнаружения новых генетических линий, а также расширить его на другие субъекты Уральского федерального округа с целью сравнительного анализа региональных особенностей вирусной популяции.

3. Принимая во внимание отсутствие в настоящей работе прямых клинико-генетических корреляций, в качестве отдельной и весьма значимой задачи видится проведение проспективного исследования «случай-контроль» для оценки корреляционной зависимости между манифестными формами норовирусной инфекции (включая степень дегидратации, длительность симптомов и необходимость госпитализации) и наличием полиморфизмов в генах FUT1/FUT2, что позволило бы определить прогностическую значимость несекреторного фенотипа как фактора, потенциально снижающего риск тяжёлого течения заболевания.

Соответствие диссертации критериям пункта 9 Положения о присуждении учёных степеней

Представленная диссертационная работа по своей структуре, объёму, методическому оснащению, обоснованности выводов и практической значимости соответствует критериям, установленным пунктом 9 Положения о присуждении учёных степеней (утв. Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

К достоинствам диссертации следует отнести комплексный дизайн, интеграцию классического генотипирования и NGS, методическую разработку панелей амплификации полного генома и попытку связать изменчивость вируса с генетическими особенностями популяции хозяина. При положительной оценке исследования считаю необходимым выделить следующие дискуссионные вопросы:

1. Из 894 клинических образцов, положительных на норовирус, пригодные для генотипирования последовательности получены в 416 случаях (47%). Анализировались ли

факторы, влияющие на успешность генотипирования, и могло ли различие в эффективности получения последовательностей привести к смещению оценки распространённости отдельных генотипов?

2. В работе представлены результаты пространственного моделирования капсидного белка VP1 с выявлением потенциально значимых аминокислотных замен. Насколько обоснован выбор последовательностей и референсных геномов для моделирования? Какие из предполагаемых функциональных эффектов имеют экспериментальное подтверждение, а какие остаются результатами исключительно *in silico* анализа?

3. В исследовании выявлены полиморфизмы генов FUT1/FUT2, потенциально ассоциированные с невосприимчивостью к норовирусной инфекции. Учитывая отсутствие прямого определения секреторного фенотипа и сопоставления с пациентами, перенёвшими лабораторно подтверждённую инфекцию, насколько обоснован вывод о возможной защитной роли выявленных генетических вариантов?

Желаю отметить, что выявленные замечания отражают скорее стремление к более глубокой научной дискуссии, нежели критику представленных результатов. Все они находятся в плоскости уточнения методологических допущений и терминологической строгости и никоим образом не влияют на справедливость основных защищаемых положений и выводов.

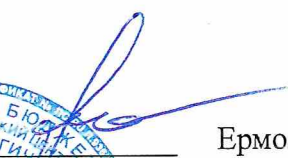
Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Диссертационная работа Быкова Романа Олеговича является завершённым научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне. Автором последовательно решены все поставленные задачи, в рамках которых охарактеризован актуальный генотипический состав популяции норовирусов, циркулирующих на территории Свердловской области в 2022-2024 годах, выявлены филогенетические связи локальных штаммов с глобальной популяцией возбудителя, подтверждена рекомбинантная природа генотипа GII.7[P7], а также впервые для региона проведён скрининг полиморфизмов генов FUT1 и FUT2. Полученные данные не только расширяют фундаментальные представления об эволюционной динамике норовирусов, но и имеют прямой выход в практическую деятельность, позволяя совершенствовать систему эпидемиологического надзора и прогнозирования вспышечной заболеваемости. И таким образом, данная квалификационная работа полностью соответствует критериям, установленным пунктом 9 Положения о присуждении учёных степеней (утв. Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям. В работе

содержится решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для вирусологии и эпидемиологии, а её автор, Быков Роман Олегович, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.10 – Вирусология.

Заместитель генерального
директора по научной и
образовательной деятельности
ФГБУ НМИЦ ИБ ФМБА России,
доктор медицинских наук
Тел. +7 (952) 371-28-90
e-mail: ermolenko.kd@yandex.ru




Ермоленко Константин Дмитриевич

Подпись Ермоленко К.Д. заверяю:

Ученый секретарь
ФГБУ НМИЦ ИБ ФМБА России



Волжанин Валерий Михайлович

«14» 10 2026 г.