

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

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

Актуальность темы диссертационной работы

Норовирусная инфекция остаётся одной из ведущих причин острых гастроэнтеритов во всём мире, являясь основной этиологической причиной вспышек в организованных коллективах. В Российской Федерации отмечается устойчивый рост заболеваемости, при этом по статистике Свердловская область относится к субъектам с наиболее высокими показателями. Высокая скорость молекулярной эволюции норовирусов, обусловленная ошибками РНК-зависимой РНК-полимеразы, приводит к частому появлению и глобальному распространению новых эпидемических вариантов, что требует постоянного обновления данных о спектре циркулирующих норовирусов и совершенствования системы эпидемиологического надзора.

Существенным методологическим ограничением, сдерживающим развитие фундаментальных исследований норовирусов, является отсутствие стандартной и высокочувствительной клеточной модели для культивирования данного патогена, что делает невозможным получение высококонцентрированного вирусного материала традиционными вирусологическими методами и вынуждает исследователей работать непосредственно с клиническими образцами, содержащими низкие концентрации РНК возбудителя. Это обстоятельство принципиально осложняет проведение углублённых молекулярно-генетических исследований и требует разработки специализированных подходов для прямого анализа нуклеиновых кислот вируса, минуя этап культивирования.

Особую значимость приобретает комплексный подход, сочетающий мониторинг генетического разнообразия возбудителя с изучением популяционной восприимчивости хозяина, определяемой полиморфизмами генов семейства FUT, ответственными за синтез комплекса HBGAs – функциональных ко-рецепторов, определяющих взаимодействие норовирусов с клеткой-хозяина. Диссертационная работа Быкова Р.О., направленная на систематический анализ генетического разнообразия норовирусов в Свердловской области за трёхлетний период и оценку распространённости однонуклеотидных полиморфизмов в генах FUT1 и FUT2 в региональной популяции, является своевременной и имеющей существенное значение для профилактической медицины.

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

Автор обладает несомненно высоким уровнем компетенции в области современной молекулярной вирусологии, что позволило чётко сформулировать цель и задачи исследования. Для решения поставленных задач применён широкий спектр методов: полимеразная цепная реакция, фрагментное секвенирование по Сэнгеру, полногеномное секвенирование (NGS) с использованием разработанных автором оригинальных панелей праймеров для ПЦР-обогащения, биоинформатический анализ, филогенетический анализ, рекомбинационный анализ, трёхмерное моделирование белков, а также корректные методы статистической обработки данных. Основные

научные положения аргументированы и логически вытекают из экспериментальных данных, подкреплённых значительным объёмом фактического материала. Сделанные выводы полностью соответствуют поставленным задачам, обоснованы и достоверны.

Надёжность полученных результатов подтверждается применением валидированных методик, устойчивой воспроизводимостью экспериментальных данных, использованием взаимодополняющих методов анализа (филогенетического, рекомбинационного, трёхмерного моделирования) и сопоставлением полученных последовательностей с референсными штаммами из общедоступных баз GenBank. Репрезентативный объём выборки и корректная статистическая обработка подтверждают обоснованность выводов.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые на территории Уральского федерального округа проведён трёхлетний молекулярно-эпидемиологический мониторинг норовирусов с детальной характеристикой циркулирующих норовирусов и выделением доминирующих генотипов. Впервые для региона идентифицированы нуклеотидные и аминокислотные замены в фрагменте гена ORF1/ORF2 и в полноразмерных геномах, включая анализ рекомбинантных генотипов, что позволило выявить генетические варианты, ранее не описанные на данной территории. Методом полногеномного секвенирования с использованием разработанных автором панелей праймеров полностью охарактеризованы геномы циркулирующих штаммов GII.4[P16] и GII.7[P7]. Для локальных штаммов установлены уникальные паттерны несинонимичных замен в антигенных детерминантах (эпитоп А) и рецептор-связывающих доменах белка VP1, подтверждены события рекомбинационной изменчивости. Впервые в Российской Федерации выполнено пилотное исследование функционально значимых полиморфизмов в генах FUT1 и FUT2 среди региональной популяции с оценкой распространённости «несекреторного» фенотипа, ассоциированного с резистентностью к норовирусной инфекции. Проведена реконструкция трёхмерных моделей капсидного белка VP1 для выявленных вариантов, визуализировано пространственное расположение аминокислотных замен и оценено их потенциальное влияние на антигенные свойства вируса.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость работы состоит в получении новых фундаментальных данных о генетическом разнообразии норовирусов в крупном индустриальном регионе России и динамике их генотипической структуры в постпандемический период. Установленные филогенетические связи и обнаруженные рекомбинантные формы расширяют представления о микроэволюционных процессах в популяциях норовируса человека. Впервые полученные региональные данные о генетическом профиле полиморфизмов генов FUT создают основу для изучения популяционной восприимчивости к норовирусной инфекции на территории России.

Практическая значимость определяется возможностью использования полученных результатов для совершенствования регионального молекулярно-эпидемиологического мониторинга норовирусов, идентификации эпидемически значимых генотипов и рекомбинантов при расследовании вспышек, прогнозирования появления новых геновариантов на основе эволюционных тенденций, разработки региональных протоколов лабораторной диагностики и генотипирования. Сформированная коллекция секвенированных геномов может служить ресурсом для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований, в том числе в области разработки вакцин и этиотропных препаратов.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Основные результаты диссертационного исследования достаточно полно и системно представлены в научной литературе. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, среди которых 5 оригинальных статей в рецензируемых журналах: три статьи опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК, а две – в международных журналах, индексируемых в Scopus и Web of Science, относящихся к первому квартилю (Q1), что свидетельствует о признании полученных результатов на международном уровне и соответствии современным стандартам научной публикационной активности. Промежуточные результаты исследования были представлены в форме 7 тезисов докладов на 9 научно-практических форумах, конференциях и конгрессах различного уровня, включая международные, что обеспечило широкую апробацию работы в профессиональном сообществе. Таким образом, степень публикационной активности автора и представительство материалов на научных мероприятиях полностью соответствуют критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и свидетельствуют о высоком уровне завершенности работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Учитывая высокую методическую проработку исследования и полученные автором новые данные о генетическом разнообразии норовирусов в регионе, представляется целесообразным предложить следующие направления для дальнейшего использования результатов:

В первую очередь, заслуживает внимания возможность использования созданной коллекции нуклеотидных последовательностей и сформированных филогенетических кластеров в качестве референсной базы для оперативной идентификации вновь выявляемых штаммов при проведении эпидемиологических расследований на территории Уральского региона.

Разработанный подход к комплексному анализу может быть рекомендован для внедрения в практику региональных центров гигиены и эпидемиологии, осуществляющих мониторинг острых кишечных инфекций, что позволит унифицировать процедуру генотипирования и повысить её информативность.

Наконец, учитывая полученные данные о рекомбинационной природе GII.7[P7], представляется обоснованным рекомендовать включение анализа рекомбинационных событий с использованием РНI-теста в рутинный протокол молекулярно-эпидемиологического мониторинга норовирусов, что позволит своевременно идентифицировать эмерджентные варианты, способные вызывать вспышки групповой заболеваемости.

Структура и содержание диссертации

Диссертация Быкова Р.О. является завершённым квалификационным трудом. Исследование изложено на 188 страницах и включает введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», описание результатов собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, список литературы, приложения. Работа иллюстрирована 19 таблицами, 28 рисунками; список литературы включает 173 источника – 16 отечественных, 157 зарубежных авторов.

Во введении четко сформулированы цель, задачи, приведены научная новизна, положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость работы.

В обзоре литературы представлены актуальные сведения, которые раскрывают тему диссертационного исследования, используются источники последних лет. Обзор литературы отличается последовательным изложением и использованием литературного языка.

В главе «Материалы и методы исследования» содержатся исчерпывающие сведения о группах пациентов, применяемых методиках молекулярно-генетического исследования, подробно описан разработанный оригинальный протокол обогащения нуклеиновых кислот генотипов GII.4[P16], GII.7[P7] для реализации последующего секвенирования методом NGS, приведены сведения об использованных методах статистического анализа. Методология исследования адекватна поставленным цели и задачам, основана на анализе достаточного количества материала, комплексном подходе к интерпретации результатов, а также на грамотной статистической обработке полученных данных.

В главе «Результаты собственных исследований» подробно описаны полученные автором результаты, включая данные проведенного впервые на территории Уральского региона анализа распространенности генетических факторов восприимчивости к норовирусной инфекции, подробно охарактеризованы установленные закономерности циркуляции и эволюции возбудителя.

В обсуждении обобщены основные результаты научного исследования, подведены его итоги, отражающие достижение цели и решение поставленных задач. Автором приведены рекомендации по практическому применению полученных результатов и четко обозначены перспективы дальнейшей разработки темы исследования.

Выводы обоснованы, логично вытекают из материалов диссертации, соответствуют цели и результатам выполненного исследования.

Автореферат написан логично и грамотно, полностью отражает все основные результаты работы.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний по оформлению диссертационной работы не выявлено. Представленный материал изложен логично, иллюстративный и справочный аппарат соответствует предъявляемым требованиям.

При безусловно положительной оценке работы в целом, в ходе её анализа возникли отдельные вопросы технического и методологического характера, требующие уточнения, а именно:

1. В работе не проводился корреляционный анализ между наличием полиморфизмов FUT1/FUT2 и тяжестью клинических проявлений, что оставляет открытым вопрос о прогностической значимости выявленных генетических маркеров. Представляется перспективным следующим вопросом: как должен быть организован дизайн исследования, чтобы корректно оценить связь между наличием несекреторных аллелей и тяжестью течения норовирусной инфекции в популяции? Будет ли стратификация выборки в исследовании проводиться по возрасту и полу?

2. В работе продемонстрировано, что генотип GII.7[P7] практически полностью идентичен (99%) последовательностям из Японии и Нижнего Новгорода, что позволило выдвинуть гипотезу о недавнем заносе. Однако, учитывая, что GII.7[P7] обнаруживался в России и ранее, не могли бы вы уточнить – полученные данные подтверждают именно экзогенный завоз (интродукцию из Японии в 2023-2024 гг.) или же это может быть реактивация эндемичной линии,

которая долгое время циркулировала латентно на территории РФ, но в силу низкой вирусной нагрузки не попадала в выборки?

Заключение

Диссертационная работа Быкова Романа Олеговича на тему «Генетическое разнообразие норовирусов в Свердловской области (территориальная модель исследования)», выполненная под руководством доктора биологических наук Семенова Александра Владимировича, и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.5.10. Вирусология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена задача актуализации спектра циркулирующих норовирусов в Свердловской области, совершенствования комплексного алгоритма мониторинга, включающего разработку и адаптацию лабораторных протоколов, NGS-секвенирование и скрининг генетических маркеров восприимчивости человека с использованием практических инструментов для выявления рекомбинантных штаммов, что имеет прямое значение для совершенствования системы санитарно-эпидемиологического контроля.

По своей актуальности, научной новизне, практической значимости, объёму и достоверности материалов диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения о присуждении учёных степеней (утв. Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Быков Роман Олегович, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Начальник кафедры инфекционных болезней

(с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний)

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ

доктор медицинских наук, профессор

«24» 08 2026 г.

К.В. Козлов

Подпись доктора медицинских наук профессора Козлова К.В. заверяю

Начальник отдела (организации научной работы и подготовки научно-педагогических кадров)

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ

кандидат медицинских наук, доцент

«26» 08 2026 г.



Д.В. Овчинников

Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Адрес организации: 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, литера Ж;

Телефон: 8 (812) 667-71-18

e-mail: vmeda_nio@mil.ru

Сайт: <http://vmeda.mil.ru>