ОТЗЫВ

официального оппонента Шестопалова Александра Михайловича на диссертационную работу **Мансур Улы** на тему: «Генетическое разнообразие и молекулярный анализ вирусов парагриппа человека, циркулировавших в Санкт-Петербурге в период с 2017 по 2025 год», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – Вирусология

Обоснование актуальности исследования

Вирусы парагриппа человека относятся к числу наиболее распространенных возбудителей острых респираторных вирусных инфекций, однако уровень их молекулярно-генетической изученности заметно отстает от достигнутого для вирусов гриппа, респираторно-синцитиального вируса и коронавирусов. Это отставание имеет вполне определенные причины: отсутствие пандемического потенциала, сопоставимого с вирусами гриппа, длительное отсутствие средств специфической профилактики и методические трудности работы с представителями семейства Paramyxoviridae, связанные с размером генома и невысокой вирусной нагрузкой в клиническом материале. Между тем эпидемиологическое значение этой группы возбудителей весьма существенно: вирусы парагриппа устойчиво занимают одно из ведущих мест в этиологической структуре ОРВИ, являются основной причиной крупа у детей раннего возраста и вызывают тяжелые поражения нижних дыхательных путей у пациентов с иммуносупрессией.

Особого внимания заслуживает то обстоятельство, что род Respirovirus, к которому относятся вирусы парагриппа человека 1 и 3 типов, включает также патогенов животных — вирус парагриппа крупного рогатого скота 3 типа и вирус Сендай, поражающий грызунов. Филогенетическая близость этих вирусов и документированные случаи межвидовых переходов делают полногеномную характеристику циркулирующих у человека вирусов парагриппа задачей, имеющей значение не только для медицинской вирусологии, но и для оценки экологии данной группы возбудителей в целом. С этих позиций накопление референсных полногеномных данных по вирусам парагриппа человека представляется необходимым элементом системы надзора за респираторными инфекциями.

До недавнего времени российский сегмент таких данных практически отсутствовал. Отечественные исследования вирусов парагриппа ограничивались

преимущественно оценкой частоты выявления возбудителя, тогда как систематическая молекулярно-генетическая характеристика циркулирующих штаммов не проводилась, а полногеномные последовательности российского происхождения в международных базах данных представлены не были. Это исключало российские данные из глобальных филогенетических реконструкций и не позволяло оценить положение отечественных штаммов среди циркулирующих в мире вариантов. Представленная диссертационная работа направлена на устранение этого пробела, чем и определяется ее актуальность.

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

Научные положения, сформулированные в диссертации, базируются на значительном репрезентативном фактическом материале, полученном с применением современных молекулярно-генетических методов, включая секвенирование нового поколения (NGS). Использованные методические подходы адекватны поставленным задачам, а объём исследованных клинических образцов и нуклеотидных последовательностей достаточен для статистически значимых выводов. Филогенетический анализ проведен с использованием актуальных биоинформатических инструментов и международных баз данных, что подтверждает надёжность полученных результатов. Выводы диссертации логически вытекают из экспериментальных данных и не противоречат ранее полученным данным.

Научная новизна исследования.

Наиболее значимым с фундаментальной точки зрения результатом является выявление и обоснование ранее не описанной филогенетической группы вируса парагриппа человека 3 типа — кластера D. Обособленность группы подтверждена совокупностью независимых критериев: монофилетичностью на полногеномном дереве при высоких значениях бутстреп-поддержки, величиной средних попарных генетических расстояний, превышающей пороговое значение для выделения кластеров, воспроизводимостью группы при независимой филогенетической реконструкции по гену HN, наличием обширного набора групп-специфических аминокислотных замен в белках P, HN, F и L, а также характерным профилем потенциальных сайтов N-связанного гликозилирования. Вхождение в состав кластера наряду с российскими штаммами вирусов, выявленных в последние годы во Франции, Германии, Пакистане, Сингапуре, Малайзии и США, свидетельствует о его глобальном распространении и исключает интерпретацию результата как локального артефакта. Впервые для российских штаммов

вирусов парагриппа человека выполнен также анализ рекомбинационных событий на основе полногеномных последовательностей: показано отсутствие статистически подтвержденных событий для hPIV1 и hPIV4 и единичный характер таких событий для hPIV2 и hPIV3. Указанные разделы работы соответствуют паспорту специальности в части изучения генетического разнообразия, изменчивости и эволюции вирусов.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Практическая значимость работы определяется тремя обстоятельствами. Во-первых, разработанные праймерные панели представляют собой готовый к внедрению методический инструмент с полностью охарактеризованными аналитическими параметрами и патентной защитой, пригодный для использования в программах геномного мониторинга возбудителей ОРВИ. Во-вторых, сформированная коллекция современных изолятов и поликлональных антисывороток, депонированная в Государственную коллекцию вирусов, представляет собой самостоятельный научный ресурс, доступный для последующих исследований, в том числе в области разработки средств специфической профилактики. В-третьих, депонированные в открытую международную базу данных последовательности доступны научному сообществу и могут непосредственно использоваться при проектировании диагностических систем и в глобальных эволюционных исследованиях.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Основные результаты работы опубликованы в достаточном объеме. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 4 статьи в международных рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, включая издания International Journal of Molecular Sciences, Viruses и The Lancet Global Health; получено 2 патента Российской Федерации на изобретение. Результаты доложены на ряде российских и международных научных форумов, в том числе на XVI Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (Москва, 2024), конгрессе «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2024» (Москва, 2024), XI и XII Международных конференциях молодых ученых — биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов и молекулярных биологов (Новосибирск, 2024, 2025) и VIII Российско-Китайском форуме по инфекционным заболеваниям (Санкт-Петербург, 2025). Объем публикаций превышает требования, предъявляемые к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

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.

Структура диссертационного исследования

Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 30 рисунками, построена по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы из 247 источников. Обзор литературы отличается полнотой и критическим характером изложения; особо следует отметить раздел, посвященный систематизации существующих схем филогенетической классификации вирусов парагриппа человека, сопровождаемый оригинальными обобщающими схемами, построенными самим соискателем, — этот раздел упорядочивает весьма разрозненную и терминологически неоднородную область и представляет самостоятельную ценность. Глава «Материалы и методы» изложена с уровнем детализации, обеспечивающим воспроизводимость исследования, включая указание версий программного обеспечения и параметров его запуска. Результаты изложены последовательно и наглядно иллюстрированы. Глава «Обсуждение» свидетельствует о способности автора к самостоятельному анализу и корректному сопоставлению собственных данных с результатами зарубежных исследований. Выводы конкретны, соответствуют поставленным задачам и в полной мере обоснованы фактическим материалом. Автореферат адекватно отражает содержание диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

К достоинствам работы стоит отнести значительный объем и репрезентативную выборку биологического материала для проведения исследований, сочетание методов классической вирусологии - соискателем выполнено выделение вирусов парагриппа человека всех четырех типов на клеточных линиях LLC-MK2 и MA-104 с последующей всесторонней характеристикой биологических свойств полученных изолятов с современными методами молекулярной биологии и филогенетического анализа.

Заслуживает положительной оценки методическое решение соискателя не распространять ампликонную стратегию на вирус парагриппа человека 4 типа, а применить для него метод неспецифической амплификации SMART-9N. Обоснование этого решения — выраженная генетическая гетерогенность hPIV4, представленного двумя подтипами, и отсутствие априорных сведений о подтиповой принадлежности циркулирующих вирусов — представляется убедительным и свидетельствует о методической зрелости автора. Применение SMART-9N обеспечило полное покрытие генома всех исследованных изолятов при достаточной глубине секвенирования и отсутствии участков с нулевым покрытием. Отдельного упоминания заслуживает проведенное соискателем сопоставление полногеномных последовательностей, полученных непосредственно из клинических образцов, с последовательностями соответствующих культивированных изолятов. Анализ 36 пар представляет собой корректно выполненный внутренний методический контроль, обосновывающий использование последовательностей культивированных изолятов в качестве надежных представителей исходных клинических вирусов, — контроль, который в работах подобного профиля выполняется далеко не всегда.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы не имеется. Имеется ряд замечаний редакционного характера:

1. В тексте диссертации встречаются единичные опечатки: в разделе 1.5.3 — «для эффективного получения полных полных вирусных геномов»; в разделе 3.9.3 — «представлены в таблице 17ю».

2. При изложении результатов оценки возрастного и сезонного распределения инфекций целесообразно было бы приводить конкретные значения показателей статистической значимости, а не ограничиваться указанием на наличие или отсутствие различий.

3. Ряд рисунков в обзоре литературы заимствован из англоязычных источников с сохранением оригинальных подписей; перевод обозначений на русский язык облегчил бы восприятие материала.

Высказанные замечания носят исключительно редакционный характер, не затрагивают существа полученных результатов и не снижают научной и практической ценности выполненного исследования.

В порядке обсуждения хотелось бы задать соискателю следующие вопросы:

1. Вирусы парагриппа человека 1 и 3 типов относятся к роду Respirovirus, включающему также вирус парагриппа крупного рогатого скота 3 типа и вирус Сендай. Позволяют ли полученные полногеномные данные оценить степень генетической близости циркулирующих у человека вирусов к их аналогам, выделяемым от животных, и считает ли автор целесообразным включение вирусов парагриппа в программы мониторинга, ориентированные на выявление межвидовых переходов?

2. Период наблюдения охватывает сезоны, предшествовавшие пандемии COVID-19, пандемические сезоны и период последующего восстановления циркуляции респираторных вирусов. Что говорят полученные филогенетические данные о характере возобновления циркуляции вирусов парагриппа: сохранялись ли ранее циркулировавшие линии на территории региона в период противоэпидемических ограничений, либо имел место повторный занос вариантов извне?

3. Анализ рекомбинации выявил единичные события у вирусов 2 и 3 типов, причем у штаммов hPIV3 точки разрыва локализованы в области гена HN. Рассматривает ли автор рекомбинацию как фактор, способный вносить вклад в формирование новых филогенетических групп вирусов парагриппа человека, и какие данные потребовались бы для проверки такого предположения?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Мансур Улы «Генетическое разнообразие и молекулярный анализ вирусов парагриппа человека, циркулировавших в Санкт-Петербурге в период с 2017 по 2025 год» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком методическом уровне, в которой содержится решение актуальной научной задачи — комплексной молекулярно-генетической характеристики вирусов парагриппа человека, циркулирующих на территории Российской Федерации, и разработки методических подходов к их полногеномному секвенированию, имеющей существенное значение для вирусологии и системы надзора за острыми респираторными вирусными инфекциями.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, объему выполненных исследований, а также теоретической и практической значимости полученных результатов диссертация полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции постановлений Правительства Российской

Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 № 1382, от 18.07.2026 № 905, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам соискатель, Мансур Ула, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – Вирусология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (В соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №1 от 09.01.2020 г (ред. от 01.03.2024 г.), необходимых для работы диссертационного совета 21.1.017.01

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник, директор, Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

заслуженный деятель науки РФ, доктор биологических наук, профессор

Шестопалов Александр Михайлович

e-mail: shestopalov2@mail.ru

тел. (383) 274-94-23

Личную подпись Шестопалова А.М. заверяю
Вед.специалист отдела кадров ФИЦ ФТМ
"10" ноября 2026 г. подпись Веб. Вендиктова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» ОТДЕЛ КАДРОВ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (ФИЦ ФТМ),

г. Новосибирск, 630060, ул. Тимакова, д. 2

тел.: (383) 274-95-80, факс (383) 335-97-74,

e-mail: director@frcftm.ru

https://frcftm.ru/