

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Шаршова Кирилла Александровича «Экология и генетическое разнообразие вируса гриппа у диких птиц в азиатской части России (2007-2020)», представленную к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность и степень разработанности темы диссертационной работы

Диссертационная работа К.А. Шаршова посвящена одной из наиболее значимых проблем современной вирусологии — изучению экологических закономерностей, генетического разнообразия и эволюции вируса гриппа А (ВГА) в природных популяциях птиц. Актуальность выбранного направления определяется тем, что птицы являются природным резервуаром ВГА и основным источником появления новых вирусных вариантов, способных преодолевать межвидовые барьеры. Так, в настоящее время продолжается распространение высокопатогенных вариантов вирусов H5Nx, вызывающих инфекционный процесс среди домашних и диких птиц, различных видов млекопитающих, а в отдельных случаях — человека. В связи с этим ВГА птиц представляют комплексную угрозу для природных экосистем, ветеринарного благополучия, птицеводства и общественного здравоохранения.

Продолжающаяся панзоотия высокопатогенного ВГА H5N1 характеризуется расширением географии и спектра восприимчивых хозяев. Наиболее существенные риски связаны с взаимодействием природных и хозяйственных популяций птиц, переносом вирусов вдоль миграционных путей, возникновением реассортантных генотипов и возможной адаптацией возбудителя к новым видам. Эпизоотии гриппа наносят птицеводству значительный ущерб, обусловленный гибелью и вынужденным уничтожением поголовья, проведением противоэпизоотических мероприятий, ограничением перемещения продукции и введением торговых запретов. Все это определяет необходимость непрерывного наблюдения за ВГА, циркулирующими в природных резервуарах.

Несмотря на продолжительную историю и высокую интенсивность исследований гриппа птиц, ряд фундаментальных вопросов остается недостаточно разработанным. К ним относятся оценка распространенности вируса в крупных и репрезентативных выборках диких птиц, установление связей конкретных субтипов с таксономической принадлежностью хозяев, сезоном и территорией, изучение полного геномного разнообразия низкопатогенных вариантов, а также комплексный

филогенетический и филогеографический анализ вирусов, циркулирующих в азиатской части России. Таким образом, перед автором стояла сложная задача — не только дополнить уже имеющиеся сведения, но и сформировать целостное представление о пространственно-временной организации вирусного генофонда Северной Азии.

Для решения поставленных задач К.А. Шаршовым был использован значительный объем биоматериала, собранного с 2007 по 2020 год от почти 35 000 особей диких птиц. Наряду с классическими вирусологическими и молекулярно-биологическими методами применялись полногеномное секвенирование, филогенетический, филогеографический, биоинформатический и статистический анализ. Такое сочетание масштабной выборки, многолетних наблюдений и современных методических подходов позволило автору получить новые данные об экологической гетерогенности, субтиповом составе и генетической структуре вирусных популяций.

Выбор азиатской части России в качестве территории исследования является обоснованным. Северная Азия включает обширные гнездовые ареалы водоплавающих птиц и участки важнейших миграционных путей, связывающих Сибирь и Дальний Восток с Европой, Центральной, Восточной и Южной Азией, а также Северной Америкой. В этих условиях формируются многочисленные зоны контакта между видами и популяциями различного географического происхождения, создающие предпосылки для переноса вирусов, обмена сегментами генома и появления новых реассортантных вариантов.

Таким образом, избранная тема обладает безусловной фундаментальной научной значимостью и практической актуальностью. Выполненное исследование существенно расширяет и систематизирует сведения о циркуляции ВГА у диких птиц Северной Азии и создает научную основу для совершенствования мониторинга, раннего выявления эпизоотически значимых генетических вариантов и разработки мер профилактики и контроля инфекции.

Научная новизна полученных результатов и практическая значимость исследования

В ходе выполнения диссертационной работы К.А. Шаршовым получены уникальные данные о циркуляции ВГА среди диких птиц Северной Азии в 2007–2020 гг. Впервые на основании масштабной выборки, включающей 34 835 особей 269 видов

птиц, относящихся к 48 семействам и 20 отрядам, установлены показатели распространённости ВГА и выявлены достоверные различия между отдельными таксономическими группами хозяев.

Автором впервые для территории Северной Азии проведён комплексный анализ ассоциированности поверхностных белков ВГА – гемагглютинаина (НА) и нейраминидазы (NA) – с видом птицы-хозяина, географическим районом и временем года. На основании полученных результатов предложена концепция географической гетерогенности распространения ВГА, отражающая неоднородность их циркуляции в различных регионах Сибири и Дальнего Востока.

Одним из наиболее значимых результатов является установление одновременной циркуляции в популяциях диких птиц 44 различных комбинаций субтипов ВГА. Для 12 комбинаций НА и NA (H1N1, H3N8, H4N6, H5N3, H8N4, H9N2, H10N7, H11N9, H12N5, H14N9, H15N4 и H16N3) выявлена их достоверная ассоциированность, что может свидетельствовать об относительной устойчивости данных фенотипических сочетаний в природных популяциях.

Впервые показана достоверная преимущественная связь ряда НА с определённым субтипом NA: H1 с N1, H3 с N8, H4 с N6, H8 с N4, H12 с N5, H15 с N4 и H16 с N3. В то же время для вариантов H2Nx, H5Nx, H6Nx, H7Nx и H10Nx установлено существенно большее разнообразие сочетаний с NA. Эти результаты представляют несомненный интерес для понимания закономерностей формирования субтипového разнообразия и оценки способности отдельных вариантов вируса к реассортации.

Особого внимания заслуживает выполненный автором панорамный филогенетический анализ 267 полных геномов вирусов, выделенных от диких и домашних птиц Северной Азии в 2007–2020 гг. На его основе сформировано представление о филогенетических паттернах всех восьми сегментов вирусного генома, выявлены географически-, субтип- и видоспецифичные группы, а также установлены многочисленные события внутри- и межконтинентальной реассортации.

К числу наиболее существенных результатов исследования относится доказательство значимого вклада низкопатогенных ВГА различных субтипов и высокопатогенных вариантов H5Nx, циркулирующих в Сибири, в поток вирусных генов и реассортационные процессы в Восточно-Азиатском регионе. В частности, выявлены пять реассортантных генотипов высокопатогенного вируса H5N6, которые,

вероятнее всего, распространились в Японию в 2016–2017 гг. с территории азиатской части России и Северного Китая и содержали сегменты генома вирусов, циркулировавших в Сибири.

Автором показано, что высокопатогенные вирусы H5N6 клады 2.3.4.4, обнаруженные в Японии в 2016–2017 гг., сформировались в результате реассортации совместно циркулировавших высокопатогенных китайских и низкопатогенных евразийских вирусов диких птиц. Существенно дополняют эти результаты сведения о других реассортационных событиях, включая обмен генетическим материалом между евразийской и североамериканской линиями, а также данные о редких субтипах H12N5, H12N2, H14N3 и впервые выявленном H14N9.

Значительный объём диссертационной работы посвящён высокопатогенным вариантам ВГА птиц. Проанализированы их генетическое разнообразие, происхождение, распространение и участие в процессах реассортации. Эта часть исследования представляет особую ценность, поскольку сопоставление результатов многолетнего мониторинга с данными полногеномного секвенирования позволяет своевременно выявлять появление новых генотипов, устанавливать вероятные источники их происхождения и оценивать направления дальнейшего распространения. Подобная информация необходима для национального и международного эпидемиологического и эпизоотологического надзора.

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых сведений об экологических особенностях циркуляции ВГА, их субтиповом и генетическом разнообразии, а также о распределении вирусных вариантов по филогенетическим группам в зависимости от анализируемого сегмента генома. Выявленные случаи реассортации, включая межконтинентальный обмен генетическим материалом, и распространение родственных вирусов среди диких и домашних птиц позволяют обоснованно рассматривать гнездовые территории водоплавающих птиц Северной Азии как активный центр формирования и перераспределения биоразнообразия ВГА.

Полученные данные существенно дополняют современные представления об экологии и эволюции ВГА не только в Евразии, но и в глобальном масштабе. По моему мнению, учитывая мой опыт участия в работе Глобальной системы надзора за гриппом и реагирования на него (GISRS) ВОЗ, особую ценность представляет объединение в одной работе экологических, вирусологических и полногеномных данных. Такой подход позволяет рассматривать обнаруженные генетические варианты не

изолированно, а в контексте конкретных хозяев, территорий и сезонов циркуляции, что особенно важно для интерпретации результатов молекулярно-генетического надзора и оценки эпидемических и пандемических рисков.

Диссертационная работа имеет выраженную практическую направленность. На основе многолетних исследований автором сформулированы предложения по совершенствованию мониторинга ВГА птиц, подготовлены методические рекомендации и лабораторный регламент, предложены подходы к оптимизации полногеномного секвенирования и дифференциальной ПЦР-диагностики.

По результатам мониторинга создана и зарегистрирована база данных «Распространённость вирусов гриппа А и авулавирюсов у диких птиц в азиатской части России» — свидетельство о государственной регистрации № 2022620256 от 17 января 2023 г. Сформирована коллекция изолятов различных субтипов; 123 штамма приняты на патентное депонирование в государственные коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России и Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. В международные базы данных депонированы нуклеотидные последовательности 2318 сегментов генома ВГА птиц. Это чрезвычайно важно, так как обеспечивает доступность полученных результатов для мирового научного сообщества и позволяет использовать их в глобальном молекулярно-эпидемиологическом анализе, сравнении новых изолятов и отслеживании распространения ВГА различных генетических линий в глобальном масштабе.

Практически значимым результатом является также создание и апробация панели из 12 штаммов ВГА субтипов H1N1, H2N2, H5N1, H8N4, H10N5, H13N8, H15N4 и H16N3, рекомендованной для разработки штаммов-продуцентов, совершенствования диагностических препаратов и проведения последующих прикладных научных исследований и разработок. Дополнительным подтверждением практической значимости результатов служит их защита 15 патентами Российской Федерации.

Структура работы, оценка содержания и завершенности

Диссертационная работа изложена на 435 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, объединённую главу «Результаты и обсуждение», состоящую из пяти основных разделов, заключение, выводы и список литературы. Самостоятельная глава

«Обсуждение» в структуре диссертации отсутствует, поскольку интерпретация полученных данных и их сопоставление с результатами других исследователей представлены непосредственно в соответствующих разделах главы, посвящённой результатам. Библиографический список содержит 612 источников, в том числе 14 работ отечественных и 598 работ зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 102 рисунками и содержит 65 таблиц.

Во введении автором обстоятельно обоснованы актуальность и степень разработанности выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, охарактеризованы примененные методологические подходы. Представлены основные положения, выносимые на защиту, раскрыты научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, приведены сведения об их достоверности и апробации, а также определен личный вклад соискателя в выполнение работы.

Глава «Обзор литературы» написана грамотно, логично структурирована и непосредственно соответствует тематике диссертационного исследования. Она включает пять крупных разделов с соответствующими подразделами, в которых обобщены современные представления о таксономии, морфологии и репликации вирусов гриппа, организации их генома и функциях вирусных белков, а также об экологии и генетическом разнообразии ВГА. Отдельное внимание уделено высокопатогенным ВГА птиц субтипов H5. Автор не ограничивается изложением накопленных сведений, но обозначает недостаточно изученные вопросы и определяет перспективные направления дальнейших исследований.

В главе «Материалы и методы» достаточно полно охарактеризованы применённые методические подходы, что свидетельствует о значительном объёме выполненной экспериментальной и аналитической работы. Представлено описание исследованных выборок и биологических образцов, вирусных штаммов, контрольных препаратов, реактивов и рабочих растворов. Подробно изложены вирусологические методы, включая культивирование и титрование вирусов *in vitro*, а также эксперименты на лабораторных животных; молекулярно-биологические методы, в том числе различные варианты ПЦР и секвенирования; биоинформационные подходы, компьютерная обработка данных и методы статистического анализа результатов.

Объединённая глава «Результаты и обсуждение» состоит из пяти основных, последовательно выстроенных разделов, в которых представлены результаты

проведённых исследований. Значительный объём главы обусловлен масштабностью собранного материала и необходимостью детального описания выполненных работ. В каждом разделе полученные данные не только изложены, но и содержательно проанализированы, сопоставлены с опубликованными сведениями и рассмотрены в контексте современных представлений об экологии, генетическом разнообразии и эволюции вирусов гриппа птиц. Обсуждение результатов отличается обстоятельностью, логичностью и глубиной научной интерпретации. На мой взгляд, в дальнейшем этот раздел можно будет оформить в виде монографии.

В разделах «Заключение» и «Выводы» обобщены основные результаты диссертационного исследования. Выводы сформулированы чётко и последовательно, имеют достаточное фактическое обоснование, соответствуют поставленным задачам и закономерно следуют из представленных экспериментальных и аналитических данных.

В целом диссертационная работа полностью соответствует паспорту научной специальности 1.5.10 – Вирусология, по которой она представлена к защите. Материал изложен ясно, последовательно и логично, структура работы отвечает поставленным цели и задачам, а оформление соответствует действующим требованиям. Автореферат достаточно полно отражает основное содержание диссертации, её научную новизну, теоретическую и практическую значимость, а также ключевые результаты и выводы исследования.

Достоверность результатов, обоснованность выводов

Достоверность полученных результатов, обоснованность сформулированных положений и выводов, а также правомерность предложенных практических рекомендаций обеспечиваются комплексным характером исследования. В работе использован широкий спектр современных вирусологических, молекулярно-генетических, биоинформатических и статистических методов, соответствующих поставленным цели и задачам. Дополнительным подтверждением научной состоятельности результатов является их опубликование в рецензируемых отечественных и зарубежных изданиях, включая высокорейтинговые научные журналы.

Достоверность представленных данных определяется также значительным объемом выполненных исследований, использованием больших репрезентативных выборок биологического материала и изучением большого числа вирусных изолятов.

Примененные методические подходы адекватны характеру решаемых задач, а результаты экспериментальных и молекулярно-генетических исследований подвергнуты необходимой статистической обработке.

Сформулированные в диссертации научные положения, заключение и выводы имеют достаточное фактическое и методическое обоснование. Основные положения, выносимые на защиту, логично следуют из результатов многолетних исследований, а выводы соответствуют поставленным задачам. Таким образом, достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений, выводов и практических рекомендаций сомнений не вызывают.

Публикации и апробация результатов, личный вклад.

Результаты диссертационного исследования получили широкое отражение в научных изданиях. По материалам работы опубликовано 138 печатных трудов, в том числе 52 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК, одна коллективная монография и 15 патентов Российской Федерации. Такой объём публикаций свидетельствует о достаточной полноте представления основных результатов диссертации и их доступности для научного сообщества.

Основной объём экспериментальных исследований и анализа полученных данных выполнен лично автором либо при его непосредственном участии. Отдельные этапы работы проводились совместно со специалистами профильных подразделений и сотрудниками российских и зарубежных научных организаций. Сведения о распределении вклада между участниками исследования, характере выполненных совместных работ, а также соответствующие благодарности подробно представлены в диссертации и автореферате.

Вопросы и замечания к диссертационной работе

В целом диссертационная работа заслуживает безусловно положительной оценки. Автором проделан огромный объём экспериментальной и аналитической работы. Принципиальных вопросов и замечаний к результатам, представленным в диссертационной работе, у меня нет. Отдельные замечания относятся преимущественно к оформлению текста (встречаются единичные опечатки, редакционные неточности и отдельные стилистически несогласованные предложения) и не снижают научной ценности проведенного исследования. Также обращает на себя внимание некоторая несогласованность числа задач и выводов.

Вместе с тем масштабность представленного материала и значимость полученных результатов позволяют сформулировать ряд вопросов дискуссионного характера, по которым хотелось бы услышать пояснения и мнение соискателя:

1. В работе при анализе молекулярно-генетического разнообразия ВГА птиц автор уделил большое внимание не только поверхностным белкам (НА и NA), но и внутренним, что действительно важно, учитывая частую встречаемость событий реассортации. Вместе с тем, используемая классификация ВГА преимущественно основана на субтипировании по НА и NA и совершенно не учитывает эволюционные пути сегментов, кодирующих внутренние белки. Нужно ли по мнению автора совершенствовать имеющуюся классификацию ВГА птиц, и если да, то как это можно сделать?
2. Есть ли различия в скорости эволюции (генетического дрейфа) вирусов гриппа птиц в зависимости от подтипа вируса и/или хозяина?
3. Существует ли какая-то тенденция в изменении частот реассортации для высокопатогенных и низкопатогенных вирусов гриппа А птиц в рамках одного подтипа?
4. Что по мнению автора вносит больший вклад в географическое распределение ВГА птиц разных подтипов: видовая специфичность вирусов или пути миграции птиц?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Шаршова Кирилла Александровича «Экология и генетическое разнообразие вируса гриппа у диких птиц в Азиатской части России (2007–2020)», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – Вирусология является завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлен значительный вклад в решение крупной актуальной научной междисциплинарной проблемы. Проведённые автором исследования позволили впервые комплексно охарактеризовать экологические закономерности и генетические особенности циркуляции вируса гриппа в азиатской части России. Полученные результаты имеют существенное прикладное значение и могут быть использованы для совершенствования систем мониторинга, профилактики и контроля инфекции, а также в образовательных целях.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пунктов 9-14 «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, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а сам автор, Шаршов Кирилл Александрович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Официальный оппонент:

Васин Андрей Владимирович, доктор биологических наук, доцент, профессор РАН, директор Института биомедицинских систем и биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»

«22» сентября 2026 г.



МП

Адрес места работы:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (ФГАОУ ВО СПбПУ), 195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая улица, 29
Тел.: +7(812)290-95-00; e-mail: ibsib@spbstu.ru