

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Шлеевой Маргариты Олеговны «Особенности биохимии и физиологии покоящихся микобактерий», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия

Диссертационная работа Шлеевой Маргариты Олеговны представляет собой комплексное исследование, посвященное изучению биохимических особенностей покоящихся форм микобактерий, в частности внутриклеточного патогена *Mycobacterium tuberculosis*.

Целью исследования являлось получение *in vitro* покоящихся микобактерий, сохраняющих потенциал к реактивации в течение длительного времени (1 год и более), и их биохимическая характеристика, включающая выявление факторов сохранения жизнеспособности микобактерий в состоянии покоя, а также установление механизма реактивации из этого состояния.

В диссертационной работе решены следующие задачи:

1. Разработаны подходы, позволяющие получить длительно выживающие (не меньше 1 года) в состоянии обратимого покоя и «некультивируемости» формы *M. smegmatis* и *M. tuberculosis in vitro*, обладающие свойствами, максимально приближенными к персистирующим микобактериям в ситуации *in vivo*. Проведен анализ инфекционного потенциала полученных форм в экспериментах с животными.

2. Проведена биохимическая и микробиологическая характеристика микобактерий, находящихся в состоянии длительного покоя.

3. Выявлены факторы, обеспечивающие сохранение жизнеспособности покоящихся микобактерий в условиях длительного отсутствия деления.

4. Проведен поиск инициаторов реактивации микобактерий из состояния покоя и изучены механизмы их действия.

5. Охарактеризованы биохимические процессы, происходящие при реактивации микобактерий из состояния покоя.

Автором обнаружено, что патогенные и непатогенные микобактерии (*M. tuberculosis* и *M. smegmatis*) в условиях плавного закисления ростовой среды *in vitro* в постстационарной фазе роста культур способны формировать покоящиеся морфологически измененные «некультивируемые» клетки. «Некультивируемые» клетки являются устойчивыми к антибиотикам, способны к длительному выживанию в состоянии покоя и к реактивации и реверсии ростовых процессов. Полученные *in vitro* покоящиеся «некультивируемые» формы *M. tuberculosis* при заражении ими мышей способны вызывать инфекцию *in vivo*, сходную по характеристикам с латентным туберкулезом и его

реактивацией. Микобактерии в состоянии длительного покоя содержат значительное количество и разнообразие белков и потенциально активных ферментов, которые могут обеспечивать их устойчивость к повреждающим воздействиям и поддержание жизнеспособности в период покоя. В покоящихся микобактериях значительно повышается уровень свободных порфиринов, что обуславливает фоточувствительность бактерий и возможность их фотоинактивации. Поддержание длительного состояния покоя клеток *M. smegmatis* зависит от внутриклеточной концентрации трегалозы, известного стабилизатора биомолекул. Особенности обмена трегалозы позволяют выявить общности механизмов покоя у микобактерий и экзоспор стрептомицетов и аскомицетовых дрожжей. Реактивация микобактерий и реверсия ростовых процессов включают несколько стадий: начальную, связанную с активацией трегалазы и гидролизом трегалозы; метаболическую реактивацию, начинающуюся с синтеза цАМФ, и последующую активацию метаболических реакций и биосинтетических процессов, обеспечивающих начало клеточного деления

Проведенные автором исследования являются важными для понимания явлений латентности и реактивации туберкулеза и особенностей биохимии и физиологии покоящихся микобактерий. Белки, обнаруженные в ходе протеомного анализа покоящихся клеток *M. tuberculosis*, являются потенциальными мишенями для создания антитуберкулезных препаратов и могут быть использованы для диагностики латентного туберкулеза. Предложенные модели образования «некультивируемых» покоящихся клеток микобактерий *in vitro* и *in vivo*, имитирующие состояние патогена в период латентного туберкулеза, являются новым инструментом для изучения механизмов образования покоящихся форм и реактивации возбудителя туберкулеза. Созданная модель хронического/латентного туберкулеза *in vivo* на животных может быть применена для исследования ответа иммунной системы хозяина на эту форму возбудителя. Полученные в результате могут быть использованы для разработки новых методов диагностики латентного туберкулеза и борьбы с этой формой инфекции, в частности, методов дезинфекции и фотодинамической инактивации микобактерий.

Актуальность, достоверность, научная новизна и практическая значимость работы Шлеевой М.О. не вызывают сомнений. Результаты диссертации представляют собой законченное научное исследование.

Знакомство с авторефератом позволяет заключить, что в данной работе применен комплексный научный подход, позволяющий получить информацию о биохимических процессах, происходящих в покоящихся клетках *M. tuberculosis*. Несомненным достоинством рассматриваемой диссертационной работы является расширение сведений о

латентном туберкулезе. Полученные результаты вполне соответствуют уровню докторской диссертации по рассматриваемой специальности. Автореферат диссертации составлен с соблюдением установленных требований, дает полное представление о работе.

Научная новизна проведенных исследований подтверждена публикациями в отечественных и зарубежных изданиях, по материалам диссертационной работы опубликовано 25 статей в российских и международных научных журналах, 1 патент РФ и 20 тезисов конференций. Полученные результаты прошли неоднократную апробацию на российских и международных конференциях.

В целом, на основании автореферата, можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Шлеевой Маргариты Олеговны «Особенности биохимии и физиологии покоящихся микобактерий» по актуальности, новизне, научной ценности и практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Шлеева Маргарита Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

16 декабря 2020 г.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории биохимии
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биохимии и
физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук (ИБФРМ РАН),
доктор биологических наук, профессор
просп. Энтузиастов, 13,
г. Саратов, 410049,
тел.: (8452)970444
E.mail: guliy_olga@mail.ru

о.а.

О.И. Гулий

Подпись вед.н.с., д.б.н., профессора Гулий О.И. заверяю:
Ученый секретарь ИБФРМ РАН
к.б.н.
тел.: (8452)970444
E.mail: secr@ibppm.ru
16 декабря 2020 года



О.Г. Селиванова