

ОТЗЫВ

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

Туберкулез (ТБ) остается серьезной проблемой, несущей биологические и экономические угрозы как для всего мира, так и для России. В мире ежегодно заболевает туберкулезом более 10 млн. человек, из них более 1 млн. – дети. Полагают, что около одной четверти населения мира имеют латентный туберкулез, т.е. инфицированы микобактериями туберкулеза при отсутствии активного процесса заболевания и без заражения окружающих. Возбудитель ТБ - *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) способен в неблагоприятных условиях образовывать покоящиеся формы, которые не только приобретают устойчивость ко всем известным антибактериальным препаратам, но и способны десятилетиями сохранять жизнеспособность в организме человека и переходить в активное состояние, вызывая возобновление болезни. Актуальность работы М.О. Шлеевой определяется необходимостью новых подходов и методов, основанных на фундаментальных знаниях особенностей биохимии покоящихся форм микобактерий в различных физиологических состояниях, для борьбы с латентной формой туберкулеза. Автором получены интересные данные по накоплению эндогенных порфиринов при переходе микобактерий в состояние покоя. На основе полученных результатов впервые продемонстрированы механизмы внутриклеточного накопления порфиринов и их структура в покоящихся микобактериях и подобраны условия для проведения фотодинамической инактивации микобактерий.

Автором диссертации разработана оригинальная модель получения покоящихся «некультивируемых» форм микобактерий. Впервые было продемонстрировано, что инфицирование мышей полученными формами *M. tuberculosis* приводило к развитию длительной (до 1,5 лет) хронической формы туберкулеза у животных. Полученные покоящиеся микобактерии были использованы в серии экспериментов, целью которых было установление особенностей биохимического состава и изучение возможных процессов в состоянии длительного покоя и реактивации клеток. На основании этих экспериментов было обнаружено сохранение значительного количества белков, а также ферментативной активности некоторых энзимов. Эти находки позволили сформулировать оригинальную гипотезу о возможном наличии «минимального» метаболизма в период покоя микобактерий.

М.О. Шлеевой также было продемонстрировано наличие значительного количества белков и ферментов, обеспечивающих защиту клетки в период отсутствия репликации (ферменты, участвующие в защите от окислительного стресса, дезактивации АФК и в восстановлении окисленных молекул), защите белков (шапероны) и ДНК (гистон-подобные белки).

Приоритетной находкой в работе является установление роли трегалозы в поддержании покоящегося состояния и выхода из него.

Обнаруженные особенности накопления и метаболизма трегалозы в покоящихся микобактериях позволили Шлеевой М.О. сделать вывод о сходстве между полученными формами микобактерий и истинными спорами актиномицетов и аскомицетовых дрожжей, что является новым взглядом на состояние покоя у неспорообразующих бактерий. Важный раздел работы посвящен изучению открытого впервые Шлеевой М.О. явления накопления этерифицированных (гидрофобных) форм свободных порфиринов у покоящихся клеток микобактерий, которое может быть также механизмом стабилизации клеток при длительной персистенции.

Обнаруженное явление накопления эндогенных порфиринов в покоящихся микобактериях позволило успешно применить метод фотодинамической инактивации таких форм *in vitro*, что открывает новые перспективы в разработке новых подходов для инактивации патогенных микобактерий в организме хозяина.

Значительный раздел работы Шлеевой посвящен реактивации покоящихся микобактерий и изучению механизмов этого процесса. Впервые диссертантом была выявлена роль накопления цАМФ под действием соответствующей аденилатциклазы на ранних стадиях реактивации и охарактеризованы несколько стадий этого процесса, предшествующих делению клеток.

В целом, на основе полученных в работе Шлеевой М.О. результатов впервые установлены принципиально новые механизмы образования покоящихся микобактерий, поддержания их жизнеспособности длительное время без репликации и их реактивации, что составляет новое направление в фундаментальной микробиологии. Нет сомнений, что эти исследования являются существенными также для медицинской микробиологии и, в частности, для понимания механизмов латентного туберкулеза и борьбы с ним.

По своему содержанию, уровню проведенных исследований, актуальности выбранной темы, степени обоснованности выдвигаемых положений и выводов, достоверности полученных результатов, их научной и практической значимости диссертационная работа М.О. Шлеевой полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор, Шлеева Маргарита Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 - Биохимия.

Мокроусов Игорь Владиславович

доктор биологических наук (специальность - 03.02.03 - микробиология)

заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики
Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Тел.: +7812 2332149

Адрес электронной почты: imokrousov@mail.ru

Почтовый адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д.14

« 17 » сентября 2021 г.

«Подпись Мокроусова И.В. заверяю»

Ученый секретарь Санкт-Петербургского НИИ
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера
кандидат медицинских наук



Трифоновна Галина Федоровна

М.П.