

ОТЗЫВ

об автореферате диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук Шлеевой Маргариты Олеговны на тему
«Особенности биохимии и физиологии покоящихся микобактерий»
по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Диссертация Маргариты Олеговны Шлеевой посвящена чрезвычайно актуальной проблеме биохимии и медицинской химии – изучению биохимических особенностей покоящихся клеток микобактерий, в том числе такого патогена как *M. tuberculosis*. Известно, что именно покоящиеся формы *M. tuberculosis* определяют существование латентной формы туберкулёза, причём эти клетки отличаются высокой устойчивостью ко многим антибактериальным лекарственным средствам. Таким образом, исследование биохимических механизмов возникновения покоящегося состояния микобактерий, а также выхода из него, несомненно, имеет большое фундаментальное и практическое значение.

Автором диссертации разработана модельная система, в которой *M. tuberculosis* и *M. smegmatis* переходят в покоящиеся «некультивируемое» состояние. При этом клетки микобактерий принимают овоидную форму, в них существенно снижался синтез цАМФ, АТФ и нуклеиновых кислот, а также замедлялись другие метаболические процессы. Показано, что в покоящихся клетках микобактерий происходит накопление трегалозы. Кроме того, обнаружена корреляция между содержанием трегалозы в овоидных клетках *M. smegmatis* и их жизнеспособностью при длительном покое. Этот факт согласуется с тем, что трегалоза быстро расходуется в ходе реактивации покоящихся клеток. Ещё одним соединением, накапливающимся в покоящихся клетках микобактерий, является красный флюоресцирующий пигмент, который был идентифицирован как тетраметилловый эфир копропорфирина III и ряд других веществ порфириновой природы. По мнению автора диссертации порфирины защищают покоящиеся формы микобактерий, стабилизируя их биополимеры и клеточные структуры. Вместе с тем установлено, что порфирины играют важную роль в фотодинамической инактивации «некультивируемых» клеток микобактерий.

Сравнительный анализ протеомов покоящихся и вегетативных клеток *M. tuberculosis* показал, что у «некультивируемых» микобактерий имеются 90 белков, отсутствующих у клеток в вегетативном состоянии. Многие из этих белков участвуют в детоксикации активных форм кислорода и защите от окислительного стресса, в том числе супероксиддисмутаза, тиолпероксидаза, каталаза-пероксидаза, алкилгидропероксидаза и другие. В протеоме «некультивируемых» клеток *M. smegmatis* обнаружены ферменты, синтезирующие антиоксидант микотиол (аналог глутатиона). Тогда как, в покоящихся клетках *M. tuberculosis* присутствуют тиоредоксин и тиоредоксинредуктаза – важные компоненты антиоксидантных ферментативных систем. В протеомах овоидных клеток микобактерий обнаружены шапероны, защищающие белки в условиях окислительного стресса, а также бактериоферритины, участвующие в связывании и запасании железа. Следует отметить, что «хелатируемые» (слабосвязанные) ионы железа катализируют реакции свободнорадикального окисления. Кроме того, у покоящихся микобактерий выявлены

белки, которые связываются с ДНК и, по-видимому, способны вызывать компактизацию бактериальной хромосомы. Все эти результаты с учетом протекторной роли трегалозы и порфиринов указывают на чрезвычайную важность стабилизирующих и антистрессорных факторов для выживания микобактерий в состоянии покоя.

В диссертационной работе Шлеевой М.О. также получены принципиально новые данные о биохимических процессах, происходящих при реактивации покоящихся форм микобактерий. На основании этих данных автор диссертации предлагает состоящую из нескольких стадий схему реактивации покоящихся микобактерий. На первом этапе преобладают катаболические процессы (гидролиз трегалозы, рост уровня АТФ), на втором активируется аденилатциклаза и увеличивается содержание цАМФ, который активирует многие метаболические и биосинтетические процессы, что на третьем этапе приводит к стимуляции общего метаболизма и началу деления клеток. Установлено, что важным фактором реактивации являются жирные кислоты, например, олеиновая. Эти липидные факторы запускают регуляторную цепочку, включающую аденилатциклазу, цАМФ-зависимый транскрипционный фактор и Rpf (пептидогликан-гидролазу), наконец Rpf вместе с RipA (L,D-эндопептидазой) стимулируют деление микобактериальных клеток.

Полученные в диссертационной работе результаты опубликованы в ведущих мировых и отечественных журналах, доложены на крупных научных конференциях, имеется также патент № 2009137650 от 13 октября 2009 г.

Автореферат полностью отражает суть диссертационного исследования, написан хорошим языком и качественно иллюстрирован. Выводы, сделанные соискателем на основании собственных экспериментальных результатов, достаточно обоснованы и соответствуют цели и задачам диссертационной работы. Исходя из автореферата можно заключить, что диссертация Шлеевой М.О. содержит решение фундаментальной научной задачи, связанной с биохимической характеристикой покоящегося состояния микобактерий и выяснением молекулярных механизмов выхода из него.

По актуальности, научной новизне, теоретической, практической значимости и достоверности результатов диссертация Шлеевой Маргариты Олеговны на тему «Особенности биохимии и физиологии покоящихся микобактерий» полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Рууге Энно Куставич,
доктор физико-математических наук, профессор,
главный научный сотрудник НИИ экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Контактные данные:

тел. (раб.): +7(495)414-67-53; e-mail: ruuge@mail.ru

Адрес места работы:

121552, Российская Федерация, г. Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15А
ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России



Рууге Э.К.

Подпись главного научного сотрудника НИИ экспериментальной кардиологии
ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России

профессора Рууге Э.К. заверяю:

Ученый секретарь НИИ экспериментальной кардиологии

доктор медицинских наук



17.03.2021

Плеханова О.С.