

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации КУЗНЕЦОВОЙ Дарьи Александровны «Роль сидерофора иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология (медицинские науки)

Актуальность диссертационного исследования. В патогенезе инфекционных заболеваний сидерофорам принадлежит важная роль. Выступая в качестве факторов вирулентности, они принимают участие в обеспечения бактерий железом, а также выполняют и другие функции – поглощение других металлов, защита бактерий от тяжёлых металлов и прооксидантов, регуляцию экспрессии генов. Они способствуют выживанию бактерий в сыворотке крови, препятствуют ассимиляции железа фагоцитами, стимулируют продукцию провоспалительных цитокинов и служат секретлируемым токсином, разрушающим митохондрии фагоцитов. Способность патогенных бактерий продуцировать несколько сидерофоров коррелирует с тяжестью вызываемого патогенами заболевания. Известна способность микроба чумы *Yersinia pestis* синтезировать сидерофор иерсиниабактин (Ybt), который не только участвует в процессах усвоения железа бактериями при 37°C, но и играет важную роль в их устойчивости к защитным механизмам организма млекопитающих. В последние десятилетия у *Y. pestis* выявлено наличие генов, отвечающих за биосинтез и других сидерофоров, хотя сами сидерофоры не были выделены и охарактеризованы. Показано, что помимо иерсиниабактина, *Y. pestis* синтезирует еще один сидерофор – иерсиниахелин (Ych), который кодируется генами хромосомного *uzi* локуса. Отсутствие в научной литературе данных о специфичности иерсиниахелина для *Y. pestis* и его функции в физиологии микроба чумы определило актуальность диссертационного исследования Кузнецовой Дарьи Александровны. Автором сформулированы **задачи исследования**, адекватные и достаточные для достижения поставленной **цели** – Изучение специфичности и роли сидерофора иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы.

Новизна научного исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в работе Кузнецовой Д.А., заключается во впервые проведенном сравнительном анализе генетических детерминант сидерофора иерсиниахелина, установлении их специфичности для *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* и структурных отличий в терминаторах транскрипции

оперонов, отвечающих за биосинтез иерсиниахелина у разных штаммов данных микробов. Автором предложены праймеры для проведения внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* методом ПЦР *in silico* и *in vitro*. С их помощью штаммы возбудителя псевдотуберкулёза можно разделить на четыре геногруппы по длине ампликона: 292-257-239-204 п.н., автором установлено, что фрагмент 204 п.н. характерен для всех исследованных в работе штаммов *Y. pseudotuberculosis* O:1b серотипа, выделенных во время 7 вспышек псевдотуберкулёза в разных регионах нашей страны на протяжении 40 лет (с 1981 по 2021 г.). Разработана и зарегистрирована компьютерная программа «SiderophoreAnalyzer для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях энтеробактерий». Впервые доказано, что сидерофор иерсиниахелин кодируется функционально активными генами *usi* локуса бактерий *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*. Сконструированы три рекомбинантные плазмиды, содержащие гены биосинтеза иерсиниахелина (pSC-A-KIM, pSC-A-YPIII, pSC-A-5EV), и с их помощью продемонстрирована экспрессия иерсиниахелина в гетерологичном хозяине *E. coli* H1884AentDF, не синтезирующем собственные сидерофоры. Впервые показано участие иерсиниахелина в процессах ассимиляции железа и защите бактерий от токсического действия реактивных форм кислорода. При температуре 26 °C в условиях дефицита железа иерсиниахелин секретируется в окружающую среду, способствуя усвоению железа бактериями, при температуре 37 °C он остается внутри клеток, защищая их от бактерицидного действия реактивных соединений кислорода. У иерсиниахелина выявлено новое для сидерофоров свойство – способность стимулировать образование геморагий в организме хозяина, которое не было обнаружено у других сидерофоров. Новизна исследований подтверждена патентом Российской Федерации и свидетельством о регистрации программы для ЭВМ.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования определяются расширением представления о роли бактериальных сидерофоров в патогенезе чумы и псевдотуберкулёза как факторов вирулентности бактерий; возможностью конструирования противомикробных препаратов нового поколения, избирательное действие которых обусловлено специфичностью рецепторов сидерофоров на поверхности бактерий. Сконструированная автором данного исследования плазмида pSC-A-5EV может быть использована для получения чистого препарата иерсиниахелина. Полученные два рекомбинантных штамма *Y. pestis* EV76– *Y. pestis* KM1933 и *Y. pestis* KM1986 могут быть использованы для дальнейшего изучения функциональных свойств иерсиниахелина в бактериях

микроба чумы. Разработанные праймеры, позволяющие проводить внутривидовую дифференциацию штаммов *Y. pseudotuberculosis*, целесообразно применять в эпидемиологическом надзоре для отслеживания популяционной структуры возбудителя псевдотуберкулёза на территории Российской Федерации. Компьютерная программа «SiderophoreAnalyzer даёт возможность оценить наличие и разнообразие в геномах бактерий сидерофорзависимых систем ассимиляции железа.

Выводы диссертации соответствуют поставленной цели и задачам исследования, полностью отражают полученные результаты. Достоверность полученных данных основана на достаточном количестве собранного материала и современных методах лабораторного исследования и статистической обработки.

Работа выполнена в рамках трёх плановых научных тем. Результаты исследования были представлены в материалах 8 конференций, отражены в 11 научных работах, из них 3 в рецензируемых научных изданиях.

Автореферат написан в соответствии с требованиями, полностью формирует общее понимание о выполненной диссертационной работе. Замечаний и предложений не имеется.

Заключение

Диссертационная работа Кузнецовой Дарьи Александровны «Роль сидерофора иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой сформулированы теоретические положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как решение важной научной проблемы – анализ специфичной сидерофорзависимой системы ассимиляции железа *Y. pestis* и разработка новых подходов к совершенствованию внутривидовой дифференциации *Y. pseudotuberculosis*.

Актуальность, новизна и практическая значимость выполненной работы полностью соответствуют требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлениями Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации 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 26.05.2020 № 751, 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 «О внесении изменений в Положение о присуждении учёных степеней»), предъявляемым к диссертациям на

соискание учёной степени кандидата медицинских наук, а её автор Кузнецова Дарья Александровна заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки).

Врио директора Федерального казённого учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Куличенко Александр Николаевич

Заместитель директора по научной и противоэпидемической работе Федерального казённого учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

Малецкая Ольга Викторовна

19.12.2025

Подписи Куличенко А.Н. и Малецкой О.В. удостоверяю:

Учёный секретарь ФКУЗ Ставропольский
противочумный институт Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук



Т.Л. Красовская

Адрес: 355035, Ставропольский край, г. Ставрополь,
ул. Советская, тел. +7 865 226-03-12
E-mail: post@snipchi.ru