

ОТЗЫВ

официального оппонента заслуженного деятеля науки РФ, доктора медицинских наук, профессора Афанасьева Станислава Степановича на диссертационную работу Коршенко Виктории Александровны «Антилактоферриновая активность холерных вибрионов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность избранной темы

Продолжающаяся более 50 лет седьмая пандемия холеры в настоящее время характеризуется интенсивными проявлениями заболевания в Африке, Азии и Америке с высокой вероятностью выноса инфекции в другие страны, в том числе и в Российскую Федерацию. Основным этиологическим агентом продолжает оставаться *Vibrio cholerae El Tor*, сменивший с начала 60-х годов прошлого столетия холерный вибрион классического биовара.

Отличием вибрионов Эль Тор, обусловивших седьмую пандемию холеры, от ранее выделяемых возбудителей является их выраженная фенотипическая и генотипическая вариабельность, обусловленная необходимостью персистенции как в организме человека, так и в объектах окружающей среды.

Вопросам, касающимся особенностей персистенции патогенных и условно патогенных микроорганизмов в различных экологических нишах, характеристики «персистентного потенциала» возбудителей заболеваний, расшифровки механизмов адаптации к условиям окружающей среды, придается в последние годы особое значение, поскольку борьба с патогенами во многом зависит от преодоления их адаптивной устойчивости к защитным механизмам хозяина. Холерные вибрионы в этом плане не исключение, этот вид патогенных микроорганизмов в процессе эволюции приобрел способность модифицировать в определенных экологических условиях не только вирулентный потенциал, но и признаки, обуславливающие их способность персистировать в организме человека, вызывая вибриононосительство, и в водной среде с сохранением или утратой детерминант патогенности.

Маркеры персистенции у холерных вибрионов изучаются в Ростовском противочумном институте уже на протяжении ряда лет, охарактеризованы антилизозимная, антикомплементарная, РНК-азная, супероксиддисмутазная, каталазная и другие активности. Исследования в области изучения роли антилактоферриновой активности в патогенезе холеры, в частности, участии этого маркера персистенции в адгезии и колонизации возбудителя холеры, выяснении диапазона активности в различных биотопах, установлении наличия или отсутствия корреляции с другими признаками патогенности и персистенции, выяснении механизма действия антилактоферриновой активности никем ранее не проводились и остаются до настоящего времени малоизученными. Все вышеизложенное дает основание говорить об актуальности исследований Коршенко Виктории Александровны, касающихся роли антилактоферриновой активности в патогенезе холеры и в реализации персистентного потенциала холерных виб-

рионов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена на сертифицированном оборудовании с использованием современных методов исследования. В рамках данной диссертационной работы были опубликованы 4 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных исследований. Научные положения диссертации апробированы на 13 научных конференциях, материалы которых опубликованы в различных сборниках. Внедрение результатов данной диссертационной работы в Ростовском Государственном Медицинском Университете на кафедре микробиологии при чтении лекций, проведении практических занятий свидетельствует о востребованности результатов данных исследований.

Значительное количество зарубежных источников в обзоре литературы свидетельствует о знаниях автора в области освещенности данной проблемы в мировой научной литературе. При обсуждении полученных результатов соискатель, опираясь на проанализированные литературные источники, дает логичное объяснение результатов исследования. Выводы соответствуют поставленным целям и задачам работы. В целом, работа характеризуется высоким методическим уровнем получения и обработки данных, а также анализа полученных результатов, что подтверждает обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций.

Научная новизна проведенных исследований и полученных результатов

В данной диссертационной работе впервые доказано наличие антилактоферриновой активности у холерных вибрионов различных биоваров и серогрупп. Выявлены различия в уровнях АЛФА у *Vibrio cholerae El Tor*, *Vibrio cholerae 0139* и *Vibrio cholerae classical*. При комплексной оценке антилактоферриновой активности у эпидемически значимых штаммов вибрионов Эль Тор, выделенных от людей (больных, вибрионосителей), автором зарегистрированы высокие показатели АЛФА, что косвенно указывает на роль антилактоферриновой активности в патогенезе холеры, возможно, в роли «малых факторов» патогенности.

Впервые, в рамках данной диссертационной работы, установлено наличие прямой корреляционной связи АЛФА с признаками персистенции, характерными для холерных вибрионов Эль Тор, выделенных от людей (антикомплементарной активностью и билирезистентностью). С признаками персистенции, характерными для вибрионов, изолированных из объектов окружающей среды (антилизоцимная и РНК-азная активности), корреляция практически отсутствовала или была слабой. Это доказывает, что антилактоферриновая активность может рассматриваться как новый признак в составе «персистентного потенциала» холерных вибрионов. Автором получены новые сведения о механизме действия антилактоферриновой активности. Впервые до-

казано участие в механизме АЛФА углеводных лектиновых рецепторов, как связующего звена между лактоферрином и клетками холерного вибриона. Показано участие в процессе АЛФА гемагглютинин/протеазы.

Практическая значимость полученных автором результатов

Практическая значимость результатов диссертационной работы В.А. Коршенко заключается в отработке метода оценки уровня адгезии холерных вибрионов на модели культур клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80. Материалы направлены в Федеральную службу по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам для получения патента на изобретение.

Впервые на модели клеточной линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80 дана количественная оценка адгезивной активности холерных вибрионов и доказана ее прямая корреляционная связь с АЛФА.

В Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУЗ Роспотребнадзора депонирован авторский штамм *Vibrio cholerae* P-18775 O1 серогруппы биовара Эль Тор, обладающий высокой антикомплементарной и антилактоферриновой активностью (штамму присвоен номер *Vibrio cholerae* KM275 Государственной коллекции патогенных бактерий).

По материалам диссертационной работы оформлен раздел в методических рекомендациях «Методики создания условий стресса для холерных вибрионов при изучении персистентного потенциала возбудителя холеры». Кроме этого по материалам работы оформлен раздел в методических рекомендациях по изучению свойств, обуславливающих персистенцию холерных вибрионов.

Материалы диссертационной работы Коршенко В.А. используются в Ростовском Государственном Медицинском Университете на кафедре микробиологии при чтении лекций, проведении практических занятий.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные результаты и выводы диссертации являются вкладом в изучение биологии возбудителя холеры, а именно - в расшифровку особенностей и механизма персистенции *V.cholerae* в различных экологических нишах, что, несомненно, будет способствовать совершенствованию эпиднадзора за этой актуальной для здравоохранения инфекцией. Результаты исследования, патент, депонированный штамм, методические рекомендации, могут быть использованы специалистами - микробиологами, изучающими вопросы особенностей персистирования возбудителей инфекционных заболеваний в организме млекопитающих и в объектах окружающей среды. Не подлежит сомнению использование полученных автором результатов и выводов в учебном процессе.

Содержание диссертации, ее завершенность

Диссертационная работа В.А. Коршенко представляет собой завершенный, логически выстроенный научный труд и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов соб-

ственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 273 цитируемые работы, из которых 132 - российских и 141 - зарубежный источник. Работа иллюстрирована 17 рисунками и 22 таблицами, текст диссертации состоит из 145 страниц.

В обзоре литературы (первая глава), дается всесторонняя характеристика белка – лактоферрина, а также описывается его роль в защите макроорганизма против микробных и вирусных инфекций. Помимо этого автор описывает антилактоферриновую активность, как фактор персистенции микроорганизмов, в том числе и холерных вибрионов, специфически инактивирующих лактоферрин.

Вторая глава диссертации посвящена описанию используемых материалов и методов. Содержит сведения по примененным современным микробиологическим, иммунологическим, культуральным методам исследования.

В третьей главе собственных исследований дана характеристика антилактоферриновой активности холерных вибрионов различных биоваров и серогрупп, изученной *in vivo* и *in vitro*. Помимо этого, в этой главе автор описывает влияние различных видов стресса на антилактоферриновую активность, а также различия по уровню антилактоферриновой активности между холерными вибрионами и микроорганизмами III-IV групп патогенности.

Четвертая глава собственных исследований посвящена изучению роли лектинов, гемагглютинин/протеазы в антилактоферриновой активности, определению её генетической детерминированности.

В пятой главе приведены результаты по изучению роли антилактоферриновой активности в адгезии холерных вибрионов, на наиболее адекватной биомодели - культуре клеток NuTu 80. Полученные результаты доказывают, что имеется выраженная прямая корреляционная связь между этими показателями (высокие значения адгезивной активности соответствовали высоким значениям АЛФА и наоборот).

Заключение четко отражает все этапы работы и их результативность.

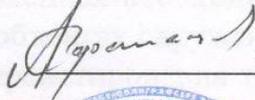
Основные положения, выносимые на защиту, и Выводы диссертационной работы соответствуют сформулированным цели и задачам работы, полностью отражают суть проведенных экспериментов, обоснованы достаточным фактическим материалом и являются логическим завершением представленной диссертационной работы. Основное содержание работы отражено в 17 публикациях, в том числе в четырех статьях, опубликованных в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и 13 статьях и тезисах сообщений на научных конференциях.

Диссертационная работа хорошо оформлена, достаточно иллюстрирована наглядными графиками, рисунками и таблицами. Написана понятным литературным языком. Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Коршенко Викторией Александровны на тему «Антилактоферриновая активность холерных вибрионов» является законче-

ной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – вклад в расшифровку биологических особенностей и механизма персистенции *V.cholerae* в различных экологических нишах, доказательство участия антилактоферриновой активности в персистенции холерных вибрионов. По содержанию, актуальности темы, научной новизне и практической значимости исследования, представлению результатов диссертация полностью соответствует критериям, установленным в п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842, а ее автор – Коршенко Виктория Александровна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

<p>Зам. директора по медицинской биотехнологии Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор</p>	<p> С.С. Афанасьев</p>
<p>Подпись С.С. Афанасьева заверяю: начальник отдела кадров ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора</p>	<p> Г.М. Лазунина</p>

