

УТВЕРЖДАЮ

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



А.Н. Куличенко

« 20 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической ценности диссертационной работы Мухтургина Геннадия Борисовича «Закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Yersinia pestis* разного плазмидного состава (экспериментальное исследование)», представленной в диссертационный совет Д 001.038.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Актуальность диссертационной работы

Актуальность темы исследований не вызывает сомнений, так как в условиях современной социально-экономической и геополитической формации в мире, чума рассматривается как одна из наиболее актуальных биологических угроз, которая способна привести к возникновению чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения. На фоне происходящих в настоящее время климатических изменений имеет место тенденция роста эпизоотической активности горных и высокогорных природных очагов чумы России и других стран СНГ, Монголии, Китая.

На территории РФ зарегистрировано 11 природных очагов чумы, среди которых Горно-Алтайский высокогорный природный очаг в настоящее время является одним из наиболее активных. Повышение эпидемиологического потенциала этого очага связывают с заносом и укоренением нетипичных для этой территории штаммов основного подвида *Yersinia pestis* subsp. *pestis* и общим ростом эпизоотической активности. В 2014-2016 гг. в Кош-Агачском районе Республике Алтай зарегистрировано случаи заболевания местных жителей бубонной чумой, что послужило основанием для проведения дополнительных профилактических (противоэпидемических) мероприятий и научных исследований свойств возбудителя и патогенеза вызываемого им заболевания.

В связи с обострением эпидобстановки в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы особый интерес приобретают исследования штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis* и *Y. pestis* subsp. *altaica*, циркулирующих в Тувинском и Горно-Алтайском природных очагах, т.к. они имеют выраженные отличия, находясь под постоянным селективным воздействием биотических и абиотических факторов. Особенность фено- и генотипических свойств штаммов *Y. pestis* из Горно-Алтайского очага заключается в обнаружении в отдельные годы природных изолятов, не содержащих резидентных плазмид: рУV и рУР. Отличием тувинских штаммов чумного микроба является наличие в их геноме дополнительной плазмиды рТР33, предположительно являющейся кольцевым геномом фага, содержащего гены фагового морфогенеза, а также гены системы белков токсин-анатоксин, играющей роль в процессе колонизации преджелудка блох. Вероятно белки, кодируемые этой плазмидой, являются факторами адаптации штаммов *Y. pestis* к условиям конкретных ландшафтно-географических биоценозов природных очагов чумы, или возможно, плазида рТР33 играет роль в патогенности этих штаммов.

В связи с выше изложенным диссертационная работа Г.Б. Мухтургина «Закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Yersinia pestis* разного плазмидного состава (экспериментальное исследование)», цель которой выявить закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Y. pestis*, различающихся по плазмидному составу, представляется своевременной и актуальной.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Диссертационные исследования Мухтургина Геннадия Борисовича выполнены в лабораториях патофизиологии и экспериментальных животных ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Диссертант принимал непосредственное участие в постановке научных задач, проведении экспериментов, обобщении, системном анализе полученных данных, обсуждении результатов в научных публикациях и докладах.

Исследования по разделам диссертационной работы «Состояние клеток иммунной системы экспериментальных животных при взаимодействии с *Yersinia pestis* исходных и дефектных по плазмидному составу штаммов», «Популяционный состав клеток крови и перитонеальной жидкости лабораторных животных при экспериментальной чумной инфекции» и «Морфологические изменения в иммунокомпетентных органах белых мышей при экспериментальной чумной инфекции» были выполнены совместно с сотрудниками лаборатории патофизиологии.

Диссертационные исследования были выполнены в рамках плановой НИР ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора «Особенности пато- и иммуногенеза экспериментальной чумной инфекции, вызванной *Y. pestis* с разным плазмидным составом» (№ ГР 01201068223, 2011-2015 гг.) и научных исследований в соответствии с Отраслевыми научно-исследовательскими программами Роспотребнадзора: «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (2011-2015 гг.) и «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными

болезнями» (2016-2020 гг.) п. 6.3.2. «Исследование неизвестных ранее аспектов иммуногенеза и патогенеза при опасных инфекционных болезнях с целью совершенствования лечебных и профилактических мероприятий».

Достоверность и новизна диссертационных исследований, полученных результатов

Диссертантом получены новые данные об антифагоцитарных и цитотоксических свойствах штаммов *Y. pestis*, изолированных в Тувинском и Горно-Алтайском природных очагах чумы, и их изогенных вариантов, проявляющихся разной способностью к разрушению перекиси водорода и адгезивной активностью. Установлено, что высокие показатели перекись разрушающей активности чумного микроба характерны для бактерий с наличием плазмиды рУР, а адгезивной активности – рУV.

Определены особенности морфологических изменений в иммунокомпетентных органах животных, которые проявляются разной степенью выраженности иммуно-воспалительного процесса, зависящих от плазмидного состава *Y. pestis*.

При проведении комплексного сравнительного исследования особенностей формирования резистентности организма экспериментальных животных (белых мышей и морских свинок) к штаммам *Y. pestis*, отличающимся по плазмидному профилю, установлены различия по степени активации бактерицидного потенциала фагоцитов, пролиферации иммунокомпетентных клеток и дегрануляции тучных клеток.

Увеличение площади Т-зависимых зон в иммунокомпетентных органах белых мышей, инфицированных селекционными штаммами *Y. pestis* subsp. *altaica* и *Y. pestis* subsp. *pestis*, у которых отсутствуют плазмиды рУР и рУV, свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета и снижении плазмоцитарной реакции.

Положительной оценки заслуживает тот факт, что по результатам исследования автором была предложена научно обоснованная концептуальная схема механизмов действия чумного микроба с разным плазмидным составом на функциональное состояние эффекторных клеток иммунной системы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Представлены новые данные о механизмах реализации патогенного потенциала, обусловленного особенностями плазмидного состава штаммов *Y. pestis*, изолированных в Тувинском и Горно-Алтайском природных очагах чумы и их изогенных вариантов.

Результаты сравнительного исследования позволили диссертанту установить ряд важнейших параметров морфологических изменений в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных в динамике инфекционного процесса, вызванного штаммами *Y. pestis* с разным плазмидным спектром, которые проявляются в различной степени активации бактерицидного потенциала клеток иммунной системы, пролиферации клеток крови и их популяционном составе, а также дегрануляции тучных клеток.

Эти данные дополняют теоретические знания и определяют дальнейшее развитие исследований по проблеме изучения процесса формирования резистентности макроорганизма к возбудителю чумы. Полученные в ходе экспериментов данные могут быть использованы при изучении молекулярно-генетических механизмов патогенеза инфекционного процесса.

Результаты исследований послужили основой для разработки и модификации методов изучения бактерицидных механизмов фагоцитоза и иммунной перестройки организма, которые отражены в четырех методических рекомендациях – «Использование показателей адгезивной активности *Yersinia pestis* для оценки вирулентности» (Иркутск, 2012); «Фотометрическое определение поглотительной способности фагоцитов экспериментальных животных с применением 96-луночных плоскодонных планшет» (Иркутск, 2013); «Обеззараживание образцов крови, содержащих *Yersinia pestis*, для проведения цитофлуориметрических исследований» (Иркутск, 2015); «Определение протеолитической, супероксиддисмутазной и общей перекись разрушающей активности чумного микроба с применением фотометрического анализатора» (Иркутск, 2015).

Научные и практически значимые материалы исследований внедрены в практику научно-исследовательской работы ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, а также включены в лекционные курсы при подготовке кадров учреждений Роспотребнадзора и других ведомств по программам дополнительного профессионального образования при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

Материалы диссертации апробированы на международных, всероссийских и региональных и конференциях. Основные результаты диссертационной работы Г.Б. Мухтургина опубликованы в 15 научных работах, из которых 7 – в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК Минобрнауки России и 2 – в ведущих рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Содержание автореферата в полной мере соответствует диссертационной работе, всем ее положениям, отражает основные идеи, научную новизну и практическую значимость результатов исследования.

Оценка содержания и завершенности диссертационной работы

Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста. Объем и структура работы соответствует требованиям ВАК, состоит из введения, обзора литературы (Глава 1), материалов и методов для проведения исследований (Глава 2), результатов собственных исследований и их обсуждения (Глава 3), заключения, выводов, перечня сокращений и условных обозначений, списка литературы. Список литературных источников содержит 230 наименований, в т.ч. 83 – зарубежных. Работа иллюстрирована 7 таблицами и 20 рисунками.

Введение содержит обоснование актуальности темы исследования, его цель и задачи, методологию, положения, выносимые на защиту, научную новизну и практическую значимость диссертационного исследования, результаты апробации и внедрения его результатов.

В обзоре литературы «Современное представление о молекулярных механизмах действия факторов вирулентности *Yersinia pestis*» дана характеристика природным очагам

чумы, отмечено увеличение в последние годы активности и эпидпотенциала Горно-Алтайского высокогорного очага. Указывается, что возбудитель чумы, циркулирующий на территории природных очагов Сибири, различается по плазмидному составу, питательным потребностям, ферментативной активности и вирулентности для отдельных видов диких и лабораторных животных.

Приведён анализ современных данных об устойчивости возбудителя чумы к клеточным факторам врождённого иммунитета, о его способности размножаться в нейтрофилах, а также адгезинах чумного микроба, роли антигенов в реализации патогенных свойств *Y. pestis* и закономерностях, лежащих в основе активации врождённого иммунитета при чумной инфекции.

При выполнении диссертационной работы использованы экспериментальные биомодели (НПО «Вектор» Новосибирск РД 42-26-3 ...3738) – беспородные белые мыши (510 особей 18-20 г) и морские свинки (180 особей 250-300 г). В качестве контроля диссертантом применялась смешанная культура клеток интактных животных. Для сравнительного исследования механизмов реализации патогенного потенциала чумного микроба с разным плазмидным составом в работу были взяты штаммы, выделенные в Тувинском очаге чумы: *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638 и *Y. pestis* subsp. *pestis* И-3560 (pYP⁺, pYV⁺, pTP33⁺, pYT⁺), его производных с отсутствием плазмид pYP и/или pYV (*Y. pestis* subsp. *pestis* И-3480 (pYP⁻, pYV⁻, pTP33⁺, pYT⁺) и Горно-Алтайском высокогорном природном очагах чумы: *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2359 (pYP⁺, pYV⁺, pYT⁺), *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948 (pYP⁻, pYV⁺, pYT⁺) и селекционированный от него *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948/3 (pYP⁻, pYV⁻, pYT⁺). Плазмидный состав штаммов подтверждён методом электрофоретического анализа и ПЦР.

Работа проведена с использованием современных биологических, бактериологических, иммунологических, биохимических и гистологических методов исследования. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

В разделе «Заключение» представлен глубокий анализ и обсуждение результатов диссертационных исследований. Выводы изложены кратко, соответствуют задачам и отражают основные результаты исследования. Научные положения, выносимые на защиту, логически следуют из полученных результатов и выводов диссертационной работы.

Диссертационная работа по сути изучаемой проблемы соответствует паспорту специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

В целом диссертационная работа Г.Б. Мухтургина заслуживает положительной оценки. По содержанию диссертационной работы и автореферата диссертации принципиальных замечаний нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Г.Б. Мухтургина на тему «Закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Yersinia pestis* разного плазмидного состава (экспериментальное исследование)» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенного исследования решены актуальные научные задачи – получены новые знания об особенностях взаимодействия клеток иммунной системы макроорганизма со штаммами *Y. pestis* в зависимости от плазмидного

состава возбудителя и установлены закономерности патофизиологических изменений в органах иммунной системы, популяционном составе эффекторных иммунокомпетентных клеток организма, инфицированного возбудителем чумы с разным плазмидным составом.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 1.10.2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а сам автор по совокупности представленных им материалов, актуальности темы выполненной диссертации, научно-практической значимости и ценности полученных результатов и личному вкладу достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Диссертация Г.Б. Мухтургина «Закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Yersinia pestis* разного плазмидного состава (экспериментальное исследование)» и отзыв ведущей организации обсуждены на межлабораторной конференции сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний лаборатории бруцеллёза, лаборатории бруцеллёза, лаборатории чумных вакцин (протокол № 1 от 02.03.2020 года).

Заведующая сектором иммунологии
и патоморфологии особо опасных
инфекционных заболеваний лаборатории
бруцеллёза, кандидат биологических наук

О.В. Логвиненко

Врач клинической лабораторной
диагностики сектора иммунологии
и патоморфологии особо опасных
инфекционных заболеваний лаборатории
бруцеллёза, кандидат медицинских наук

Е.Л. Ракина

Подписи Ольги Васильевны Логвиненко и Екатерины Львовны Ракиной заверяю:
Ученый секретарь ФКУЗ Ставропольский
противочумный институт Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук



Т.Л. Красовская

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, 355035, г. Ставрополь,
ул. Советская, д. 13-15. Тел/факс: (865-2)26-03-12, E-mail: stavimpri@mail.ru

«10» марта 2020 г.