



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
(ИМБ РАН)

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: isinfo@imb.ru
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

19.05.2020 № 12312-2191

На № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Института
молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
академик РАН
Макаров Александр Александрович



« 19 » мая 2020 г.

ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертационную работу **Азада Энверовича Мамедова «Молекулярный механизм взаимодействия фрагментов основного белка миелина с главным комплексом гистосовместимости II класса человека»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности - 03.01.03 - Молекулярная биология

В настоящее время, по данным ВОЗ, аутоиммунными заболеваниями поражено около 5% населения Земли, при этом отмечена тенденция к увеличению числа заболевших. Рассеянный склероз (РС) является одним из наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний нейродегенеративного

характера. По приблизительным оценкам, от 2 до 2,5 миллионов человек во всем мире страдают этим заболеванием. В Российской Федерации зарегистрировано около 500 тысяч больных рассеянным склерозом. РС, безусловно, является социально значимым заболеванием, т.к. поражает молодых людей в период их когнитивной, трудовой и репродуктивной активности, превращая их в инвалидов, поддержание жизни которых требует значительных материальных вложений. РС, как и другие аутоиммунные патологии, представляет собой серьезную клиническую проблему из-за хронического характера заболевания, нуждающегося в постоянной поддерживающей терапии.

Аутоиммунные заболевания, и РС, в частности, являются предметом исследований во многих мировых научных центрах. Несмотря на это, многое в понимании их природы остается неясным и является вызовом, требующим безотлагательного ответа со стороны современной науки.

В патогенезе РС было установлено значение как экологических, так и генетических факторов, особенно генотипа HLA.

Исследования геномных ассоциаций выявили тот факт, что регион HLA класса II оказывает наиболее сильное генетическое влияние на риск развития РС. Вместе с тем механизм, обуславливающий связь конкретных типов HLA с развитием РС, не установлен. Поскольку аллели HLA-DRB1 обладают различной структурой, обеспечивающей способность к презентации антигена в зависимости от их аминокислотной последовательности, ассоциация MHC II с РС была использована для подтверждения концепции о связи патогенеза заболевания с аутоиммунной реакцией против миелин-родственных антигенов в контексте аллеля HLA-DRB1. Однако молекулярные механизмы, с помощью которых полиморфизм последовательности MHC II влияет на предрасположенность к тому или иному аутоиммунному заболеванию, до сих пор не ясны. Тем более не понятны и механизмы протективности разных аллелей HLA-DRB1.

Изучение механизмов аутоиммунитета на сегодняшний день сконцентрировано на нарушениях в формировании тримолекулярного комплекса HLA-пептид-TCR, что, возможно, генерирует и активирует аутореактивные Т-клетки. Чтобы в будущем влиять на ход аутоиммунных заболеваний, необходимо обратить пристальное внимание также и на механизмы протективности. В связи с тем, что HLA является главным генетическим фактором РС, как в случае и других аутоиммунных патологий, важно исследовать процесс связывания и презентации антигенов МНС и пытаться обнаружить возможные механизмы протективности в этом процессе.

Целью диссертационной работы А.Э. Мамедова являлось исследование процесса распознавания и презентации аутоантигенов МНС II человека при рассеянном склерозе и поиске возможного механизма протективности в контексте генетически протективного аллеля HLA-DRB1.

Диссертация А.Э. Мамедова построена по классической схеме, изложена на 130 странице, и содержит следующие разделы: список сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы, благодарности и список использованной литературы, включающий 191 источник, и приложение. Работа содержит 36 рисунков и 13 таблиц.

Во «Введении» сформулированы актуальность темы, научная новизна и практическая значимость работы. Раздел «Обзор литературы» непосредственно связан с темой исследования, в нем описаны структура, функциональность и механизм действия МНС II класса человека, подробное описание этиологии РС, современное состояние исследований роли иммунной системы в патогенезе РС, а также описание известных на настоящий момент данных по ассоциации аллелей HLA-DRB1 в разных популяциях с РС; материал хорошо структурирован и четко изложен. Раздел написан ясным языком и дает возможность заинтересованному читателю быстро войти в круг обсуждаемых проблем. В разделе «Материалы и методы» детально описаны методы, использованные в работе над данной диссертацией. Необходимо отметить

большой арсенал современных методов, которые были умело использованы А.Э.Мамедовым для достижения поставленных в диссертационной работе целей.

Раздел «Результаты и обсуждение» является основным разделом работы и содержит семь частей. Первая часть содержит проведенный совместно с профессором О.О. Фаворовой, доцентом О.Г. Кулаковой (Лаборатория медицинской геномики РНИМУ им. Н.И. Пирогова), и профессором А.Н. Бойко (Московским центром рассеянного склероза) анализ распределения высокополиморфного локуса *HLA-DRB1* у более чем тысячи пациентов с ремиттирующим РС и здоровых индивидов русской национальности. Впервые было установлено, что носительство аллелей *HLA-DRB1*15* и *HLA-DRB1*03* ассоциировано с риском развития РС, тогда как носительство *HLA-DRB1*01* и *HLA-DRB1*11* является протективным. Во второй части описан подбор условий получения рекомбинантных *HLA-DR* и *HLA-DM*, а также метода кинетического анализа загрузки пептида на *HLA-DR*. В третьей части приведены результаты поиска миелиновых пептидов, способных связываться протективным *HLA-DRB1*01:01*. С использованием фрагментов МВР из библиотеки эпитопов автором диссертации было показано, что *HLA-DRB1*01:01* специфически связывает С-концевой пептид МВР₁₄₆₋₁₇₀, а *HLA-DRB1*15:01* - энцефалитогенный пептид МВР₈₁₋₁₀₄. В этой части исследования были определены эпитопы связывания МВР₈₁₋₁₀₄ и МВР₁₄₆₋₁₇₀ с *HLA-DRB1*0101*.

В следующих трех частях А.Э. Мамедовым была высказана гипотеза и получены экспериментальные данные о роли кинетической составляющей в процессе представления аутоантигенов при рассеянном склерозе в сравнении с вирусными антигенными детерминантами (конкретно, классическим антигенным пептидом 306-318 гемагглютинином (НА) вируса гриппа). Автором было продемонстрировано, что *HLA-DRB1*01:01* кинетически дискриминировал вирусный и миелиновые пептиды, причем ключевую роль в разнице скорости связывания пептидов играет строение С-концевой части

пептида. Кроме того, было показано, что миелиновые пептиды не способны конкурировать с вирусным за связывание с протективным HLA-DRB1*01:01, однако миелиновый пептид MBP₈₅₋₉₇ превосходит вирусный в связывании с HLA-DRB1*15:01.

Наконец, последняя часть описывает попытки ответить на вопрос, осуществляется ли презентация ли миелинового пептида протективным HLA-DRB1*01:01 на поверхности дендритных клеток и активирует ли он Т-клеточный ответ. В случае нормального индивидуума с гетерозиготным генотипом HLA-DRB1*01:01/*15:01 автором было продемонстрировано, что в результате анализа LC-MS/MS пептид MBP₁₄₆₋₁₇₀ не был обнаружен среди пептидов, связанных с HLA, экспонированными на поверхности дендритных клеток, а также не активировал пролиферацию CD4-позитивных Т-клеток в результате анализа, проведенного при помощи красителя CFSE и цитофлуориметрии.

Диссертационная работа А.Э.Мамедова выполнена на современном мировом уровне и, безусловно, вносит заметный вклад в понимание природы рассеянного склероза.

Незначительные замечания касаются текста диссертационной работы.

1. Имеются небольшие стилистические шероховатости и англицизмы.
2. На Рисунке 4.4.Б на фотографии геля не для всех маркерных полос приведена соответствующая им величина.

Указанные незначительные замечания не являются существенными и не снижают общего положительного впечатления от диссертационной работы, выполненной на высоком научном уровне. По теме работы опубликовано три статьи в рецензируемых журналах, в каждой из которых А.Э. Мамедов является первым автором. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации. Выводы, представленные в диссертационной работе А.Э. Мамедова, полностью соответствуют полученным результатам, являются достоверными и четко обоснованными.

Диссертационная работа Мамедова Азада Энверовича соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология.

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний Института молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН (протокол №4 от 18 мая 2020 г).

Составитель отзыва:

д.б.н., профессор,

Прасолов В.С

главный научный сотрудник лаборатории

клеточных основ развития злокачественных заболеваний

ФГБУН Института молекулярной биологии

им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32,

+7 (499) 135-23-11

prassolov45@mail.ru



Подпись В.С. Прасолова удостоверяю

Ученый секретарь ИМБ РАН



Бочаров А.А.