

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

На диссертационную работу диссертации Мамедова Азада Энверовича «Молекулярный механизм взаимодействия фрагментов основного белка миелина с главным комплексом гистосовместимости II класса человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - «молекулярная биология»

Актуальность темы исследования

Неотъемлемой характеристикой аутоиммунитета является иммунологическая атака на собственные ткани. Механизм запуска специфического ответа иммунной системы против аутоантигенов во многом неизвестен. В патогенезе рассеянного склероза было продемонстрировано значение многих факторов, в том числе - генетических, особенно значимым представляется генотип HLA. В связи с тем, что рассеянный склероз - это практически неизлечимое аутоиммунное заболевание, поражающее людей трудоспособного возраста и резко снижающее качество жизни пациентов, изучение его механизмов имеет не только научную, но и серьезную практическую значимость.

Научная новизна, достоверность и значимость результатов

Риск развития аутоиммунного нейродегенеративного заболевания - рассеянного склероза возрастает у лиц, несущих определенные аллели HLA II класса. Напротив, некоторые аллели генов HLA могут быть протективными, понижая вероятность возникновения рассеянного склероза. В ходе выполнения диссертационной работы автором, совместно с коллегами из РНИМУ им. Пирогова и Центра рассеянного склероза было проанализировано распределение высокополиморфного локуса HLA-DRB1 у более чем тысячи пациентов с рассеянным склерозом (РС) и здоровых доноров русской национальности. Было установлено, что носительство аллелей HLA-DRB1*15 и HLA-DRB1*03 связано с риском развития заболевания, и что аллели HLA-DRB1*01 и HLA-DRB1*11 являются

протективными. Также был идентифицирован ранее неизвестный пептид MBP₁₅₃₋₁₆₁, расположенный на С-конце основного белка миелина (MBP), одного из антигенов РС, а также энцефалитогенный пептид MBP₉₀₋₉₈, которые связывались с рекомбинантным белком HLA-DRB1*01:01 со сродством, сравнимым с классическим антигенным пептидом 306–318 гемагглютинирина вируса гриппа (HA), что подразумевает способность HLA-DRB1*01:01 к презентации этих пептидов.

Измерения кинетики связывания пептидов MBP и HA с HLA-DRB1*01:01, катализируемого HLA-DM, выявили значительно более низкую скорость обмена CLIP (Class II-associated invariant chain peptide) для пептидов MBP₁₅₃₋₁₆₁ и MBP₉₀₋₉₈ по сравнению с пептидом HA. Анализ связывания химерных пептидов MBP-HA продемонстрировал, что наблюдаемое различие между миелиновыми пептидами и HA обусловлено отсутствием якорных остатков в С-концевой части пептидов MBP. Автором было продемонстрировано, что миелиновые пептиды не способны конкурировать с вирусным за связывание с протективным HLA-DRB1*01:01. Кроме того, в данной работе было показано, что в случае нормального индивидуума с гетерозиготным генотипом HLA-DRB1*01:01/*15:01 пептид MBP₁₄₆₋₁₇₀ не был обнаружен среди пептидов, связанных с HLA, экспонированными на поверхности дендритных клеток, а также этот пептид не способен вызывать пролиферативную активность CD4 Т-клеток.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа, в целом, построена по традиционному принципу. В разделе «введение» изложено обоснование актуальности работы, а также теоретическая и практическая значимость данных исследований. Отмечено, что молекулярные механизмы, с помощью которых полиморфизм последовательности MHC II (HLA II) влияет на предрасположенность к тому или иному аутоиммунному заболеванию, до сих пор неясны.

Тем более непонятны и механизмы протективности разных аллелей HLA-DRB1, что и явилось предметом данной работы.

В обзоре литературы А.Э. Мамедов рассматривает как общие вопросы структуры и функций главного комплекса гистосовместимости, так и вопросы, связанные с молекулярными и клеточными механизмами презентации антигенов HLA II. Также Азад Эиверович приводит данные об эпидемиологии и нейропатологии рассеянного склероза и очень подробно останавливается на иммунологических событиях, происходящих при РС. Отдельная глава посвящена вопросам ассоциации аллелей гена HLA-DRB1 с рассеянным склерозом.

В разделе Материалы и Методы подробно описаны методики, использованные для осуществления поставленных задач. Следует отметить разнообразие подходов, использованных в данной работе. Описание методов занимает 24 страницы, и методик использовано тоже более 20, что говорит о диссертанте, как об очень квалифицированном молекулярном биологе.

Раздел «Результаты и обсуждение» очень порадовал тщательностью и добросовестностью выполнения всех экспериментов, которые, в результате долгой и кропотливой работы привели диссертанта к четырем выводам. Как мне представляется, самой большой удачей работы является доказательство очень важной роли кинетической компоненты презентации антигена HLA II в процессе активации иммунного ответа при рассеянном склерозе и новые знания о механизмах, делающих некоторые аллели HLA II протективными для РС.

Выводы диссертации соответствуют результатам, полученным в работе. Мне кажется, что выводы несколько многословны, но их значимости это не умаляет.

По материалам диссертации опубликованы 3 статьи, результаты были представлены на отечественных и зарубежных конференциях.

Замечания

В отличие от автореферата диссертации, сама диссертация не выглядит столь же структурированной.

1. Автор не захотел, видимо, облегчить понимание своей рукописи – в диссертации отсутствуют разделы, повествующие о целях и задачах исследования.

2. Обзор литературы очень подробный, но в конце обзора хотелось бы прочитать некое заключение, которое подводило бы читателя к пониманию того, какие важные вопросы остались нерешенными, и как их предлагает решить диссертант.

3. Не очень удобно следить по тексту за описанием создания векторов. Карты помещены в приложение, а без карт следить за логикой клонирования довольно трудно. Списка праймеров тоже в диссертации не приведено, в результате описание конструирования векторов представляет часто набор заглавных букв из названий промежуточных конструкторов.

4. Обсуждение результатов практически отсутствует, и сразу за последней картинкой следуют выводы. Несколько удивляет отсутствие раздела «заключение» в самой диссертации, хотя в автореферате он есть, и отсутствие раздела «благодарности».

5. Хотелось бы получить от диссертанта разъяснение, что означает фраза *«Полученные результаты обеспечивают новый вектор оптимизации пептидных лигандов с точки зрения кинетической дискриминации антигенов HLA класса II.»* Куда направлен вектор и какая у дискриминации точка зрения?

Заключение

Диссертация Мамедова Азада Энверовича «Молекулярный механизм взаимодействия фрагментов основного белка миелина с главным комплексом гистосовместимости II класса человека» соответствует требованиям ВАК п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых

степеней» (утверждено постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. N 842 с изменениями Постановления правительства РФ от 21.04.2016 г. N 335, в редакции Постановления Правительства РФ от 28.08.2017 г. N 1024, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Мамедов Азад Энверович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН,
руководитель лаборатории клеточной биологии,
Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального
медико-биологического агентства

Лагарькова Мария Андреевна



25.05.2020

Адрес места работы: 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а. Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства

Тел.: (499) 246-4900; e-mail: lagar@rcpcm.org

Подпись М.А. Лагарьковой заверяю.

Ученый секретарь ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России

К.б.н.

Кострюкова Е.С.

