

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

## **СТЕНОГРАММА**

заседания диссертационного совета Д 002.019.01  
«20» июня 2018 года

Защита диссертации **Белогуровым Алексеем Анатольевичем** на тему:

**«БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АУТОИММУННОЙ  
НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ»,**

представленной на соискание ученой степени  
доктора химический наук

Специальность 02.00.10 – Биоорганическая химия

Москва – 2018 г.

## СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 20 июня 2018 года.

Председатель диссертационного совета  
академик РАН

В.Т. Иванов

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

Из 30 членов совета присутствует 25 человек, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1. Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3. Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
4. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
5. Д.х.н.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
6. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
7. Академик РАН	Богданов Алексей Алексеевич	(03.01.03)
8. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
9. Член-корр. РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
10. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
11. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
12. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
13. Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
14. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
15. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
16. Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
17. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
18. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
19. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
20. Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
21. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
22. Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(03.01.03)
23. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
24. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
25. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

**Председательствующий:** Дорогие коллеги, доброе утро. Есть предложение начать нашу работу. Вашему вниманию была предложена повестка дня, уже на сайте института. Она предельно простая, два пункта: защита диссертации, и еще в разделе «Разное» принять к защите еще одну диссертацию. Других предложений нет. Мне кажется, она абсолютно посильная и нет причин ее менять. Есть другие соображения какие-то? Принимаем эту повестку дня и приступаем к работе.

Итак, защита Алексеем Анатольевичем Белогуровым докторской диссертации. Владимир Александрович, материалы личного дела для начала.

**Ученый секретарь:** *(Кратко докладывает об основном содержании представленных соискателем документов)* Алексей Анатольевич Белогуров, Российская Федерация. Окончил Московский государственный университет имени Ломоносова в две тысячи пятом году. Аспирант кафедры «Химии и природных соединений» Московского государственного университета имени Ломоносова с пятого по восьмой год. В восьмом году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности «Биохимия». С седьмого по восьмой - инженер-исследователь в лаборатории биокатализа нашего института, восьмой-девятый – младший научный сотрудник, девятый-двенадцатый – научный сотрудник, двенадцатый-четырнадцатый – старший научный сотрудник нашего института.

Работа выполнена в лаборатории биокатализа Института биоорганической химии. По теме диссертации опубликована тридцать одна работа в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах. Из них три обзора, имеется четыре патента, одна монография. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте «ВАК» вовремя, а именно девятнадцатого марта две тысячи восемнадцатого года, и все необходимые документы в деле имеются.

**Председательствующий:** Вопросы, замечания? Обычно не бывает, сегодня не исключение. Спасибо. Алексей Анатольевич, Вам слово для доклада. Сорок минут.

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Глубокоуважаемые члены диссертационного совета, коллеги, позвольте представить вам мою работу на тему «Биохимических основ аутоиммунной нейродегенерации».

*(Кратко излагает основное содержание диссертационной работы)*

**Председательствующий:** Спасибо за доклад. Ну что, переходим к обсуждению? Вопросы. Да, прошу.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Спасибо. Очень мощная работа, целостная. Здорово все это звучит и выглядит. Я остановлюсь на нескольких моментах, которые меня зацепили, и мне интересно, как Вы прокомментируете. Я по хронологии. Очень красивая

вот эта первая была идея с epitope spreading, который приводит к образованию антител. Epitope spreading – здорово, но объяснение, которое было предложено через вторичную перестройку В-клеточного рецептора, для меня звучит немножко малореалистично при том, что есть более прямые пути, как это может произойти, – то есть, есть достаточное количество этого антигена на молекулярных клетках, то дальше может идти эволюция созревания аффинности антител и в результате образуются антитела специфичные к МВР. Это к вопросу, как этот epitope spreading может происходить.

**Председательствующий:** Это вопрос, или это дискуссия уже?

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Это вопрос, который я прошу прокомментировать. У меня будет всего три пункта. Вот это был первый.

**Председательствующий:** Сформулируйте первый вопрос.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Можно я сформулирую первый и третий, потому что они связаны непосредственно?

**Председательствующий:** Хорошо, да.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Первый вопрос связан с тем, как Вы видите возможные механизмы такого epitope spreading. И дальше вся история, которую мы сегодня услышали, - она была про CD4 клетки и про антитела. А в конце почему-то внимание было сфокусировано на CD8 клетках, и презентация на МНС-I, хотя, казалось бы, интересно было бы. Что происходит на МНС-II. Рассеянный склероз ассоциирован с определенными аллелями, в первую очередь, МНС-II, не МНС-I. Довольно маловероятно ожидать один конкретный какой-то эпитоп для CD8 клеток, раз нет четкой ассоциации с МНС-I. Скорее, можно искать конкретные эпитопы для CD4 клеток в контексте МНС-II, а CD8 уже могут находить ряд мишеней через эпитоп, опять же, спрединг. У них могут быть разные пептиды. Это два связанных вопроса: epitope spreading здесь, и почему в результате в конце перескок на МНС-I и фокус на МНС-I, хотя, казалось бы, самое интересное ядро связано с МНС-II должно было быть.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Спасибо большое, очень важные и интересные вопросы. Я согласен, что, в принципе, в случае эпитоп спрединга и образования клеток, которые, по сути, специфичны только к собственным антигенам, можно объяснить, действительно, проще. Но здесь есть один интересный очень момент, который придает интригу всей это схеме. Состоит он в том, что - это было показано еще я думаю, что где-то лет десять назад приблизительно – то, что подобная перестройка, то есть TCR revision, которая происходит в тимусе, мы считали, то есть удобно было, что в тимусе он происходит, один раз, и больше после этого он никогда не происходит, потому что RAG-1 и RAG-2 могут экспрессироваться только один раз, и

это происходит только в тимусе. Но, повторяюсь, лет примерно десять назад было показано, что это не совсем так и перестройка TCR, как минимум, альфа-цепей может происходить и на периферии, потому что Т-клетка определенным образом может еще раз перезапустить реэкспрессию RAG-1 и RAG-2. И дальше следует следующее – то, что этот фенотип клеток даже получил специальное наименование Th-40. Почему Th-40? Потому что было показано, что это CD-40-зависимый механизм. То есть экспрессия CD-40 на поверхности Т-клетки и активационный сигнал, который идет через CD-40, действительно, может в определенных условиях приводить к перезапуску экспрессии RAG-1 и RAG-2. И вот самое загадочное в этой истории – то, что белок LMP-1, который я упоминал, - его основная функция – это мимикрировать под CD-40. То есть мы знаем все, что EBV заражает В-клетки, тем не менее, в В-клетках есть функция LMP-1, как у так называемой late membrane protein, то есть он экспрессируется в некоей фазе, когда вирус находится внутри клетки. Вот его функция – это иммортализация В-клеток за счет CD-40-подобного сигналинга. И вот эта связь LMP-1, АПК, Т-клеток и Т-клеток, которые перестраивают ТКР, причем здесь присутствует LMP-1, который похож на CD-40, - вот она, может быть, неслучайна.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Но очень красиво! Но мне все-таки пока...

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Я с тобой согласен, что действительно может быть проще.

**Председательствующий:** Пока вопрос-ответ. Вопросы кончились, или еще вопросы есть?

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Вторая часть вопроса – почему мы перешли на CD8? Ответ следующий: то, что действительно известно то, что рассеянный склероз – это в первую очередь CD4 опосредованное заболевание. С этим спорить бесполезно. И основную роль играют действительно CD4-клетки. Правильно и то, что генетическая предрасположенность – она связана в первую очередь с ГКС второго класса, а именно с самым известным HLA-DR-1501. Но, тем не менее, вот роль токсического ответа, а именно CD8 опосредованно, - она, на мой взгляд, очень недооценена. Почему? Потому что, приведу самый простой факт – то, что в бляшках демиелинизации, которые анализируют внутри ЦНС, соотношение CD4 к CD8-клеткам – один к десяти, то есть там в десять раз больше ЦТЛ. И известно, и это было показано как *in vivo*, так и *ex vivo*, - то, что CD8-положительные клетки – токсические они могут в одиночку как минимум вызывать аутоиммунную нейродегенерацию. То есть адаптивный перенос активированных CD8-клеток на некоторых моделях вызывает абсолютно четкий ЕАЕ. Поэтому недооценивать это звено тоже нельзя.

Переходя к вопросу о том, что концентрироваться на одном пептиде, для нас этот пептид – он не является каким-то основополагающим. То есть мы просто для себя его нашли для

того, чтобы эффективно оперировать этой моделью и, допустим, активировать Т-клетки для этой модели. Безусловно, у каждой модели, у каждого, более того, пациента, действительно, потому что ГКС первого класса достаточно вариативен, этот пептид может быть свой. Но здесь мы сосредотачиваемся не на пептиде, не на цитотоксических лимфоцитах, а мы сосредотачиваемся на олигодендроците. Мы стараемся защитить эту клетку, ингибируя презентацию каких ли бы то ни было пептидов, миелиновых, которые могут быть опознаны ЦТЛ. Поэтому сама природа пептида неважна: мы ингибируем иммунопротеасому.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Логика тут понятна. Никто, конечно, не отмечает роль CD8. Но если говорить именно о пептидах, а речь о них шла, и о каком-то коровом событии, молекулярном, которое может стоять, то, конечно, интересно было бы услышать (то, чего не хватило) фокус на все-таки МНС-II презентированных пептидов, вот там можно было. На самом деле, спектр пептидов, тем более в одном конкретном белке, который реально может хорошо нарезаться, быть презентированным и быть иммуногенным при этом, очень ограничен. Было бы, конечно, здорово выйти, если говорить про молекулярную этиологию и про тему склероза вообще, на какие-то ключевые мишени – один или несколько пептидов, презентированных на МНС-II, которые лежат в центре всех этих событий.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Отвечая на этот вопрос, могу следующее сказать – то, что тот анализ, который мы провели, который здесь представлен, - по сути, я понимаю, что нельзя утверждать, что это один и тот же пептид, но тем не менее. То есть тот пептид, который связывает антитело, - он, в принципе, похож на тот пептид, который презентует ГКС второго класса на поверхности В-клетки. Я согласен. Не всегда, но, в целом, не один и тот же пептид, но близко, потому что интернализация пойдет именно через БКР. Да, там может быть процессинг, там может быть выбор из другого пептида, но тем не менее.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Спасибо. Нет, понятно, что это огромная тема, и даже одной очень большой сильной докторской ее сразу не закрыть: там надо дальше копать. Вторая часть вопроса у меня была. Очень привлекательной выглядит, конечно, идея терапии аутоиммунных заболеваний, связанных с В-клеточным ответом через избирательную элиминацию В-лимфоцитов, несущих на поверхности memory В-cell, несущих на поверхности антитела, специфичные self-антигенам. И у Вас очень красивые картинки с избирательной элиминацией через токсин, связанный с клеткой. Вопрос следующий: насколько Вы уверены, так как у Вас токсин связан с МВР и затем на факсе. Вы смотрите, опять же, клетки, связанные с МВР, - насколько Вы уверены, что клетки

умирают, а не просто экранированы, потому что Вы дали высокую концентрацию МВР – закрыли эти антитела, и теперь, когда Вы снова красите МВР флуоресцентным красителем, Вы не видите его на... Сцепленный вопрос, технический, - можете ли Вы... выглядит так, что Вы можете специфично насортировать уже антиген специфичной В-клетки, посмотреть, что с ним происходит, более уже интимно – умирают, не умирают?

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Спасибо за вопрос, тоже все очень-очень по делу. Отвечая на первую часть, введение иммунотоксина производится обычно после наступления первых клинических признаков ЕАЕ, то есть это приблизительно десятый-двенадцатый день после иммунизации. Введение обычно, в зависимости от иммунотоксина, в зависимости от дозировки, производится пятью-шестью последовательными ежедневными инъекциями, то есть это (двенадцать плюс пять) семнадцатый день. Сам анализ проточной цитометрии В-клеточной популяции производится в нашем случае обычно где-то на двадцать пятый день, то есть проходит еще как минимум десять дней, наверное, с момента последнего введения иммунотоксина до анализа. И, более того, обычно, по имеющимся данным, связывание с БКР (с В-клеточным рецептором) чего бы то ни было приводит к достаточно быстрой интернализации всего этого хозяйства внутри клетки. Это время исчисляется, в общем-то, получасом-часом. Поэтому практически исключено то, что БКР экранирован...

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Теоретически. Но контроль же простой: Вы можете дать МВР с чем-то нетоксичным такого же ответа, в идеале с нейтрализованным токсином, и убедиться, что они...

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Ну, например. Да, да. Контроль такой, безусловно, можно сделать.

**Чудаков Дмитрий Михайлович, д.б.н.:** Спасибо. Все, я иссяк, коллеги, спасибо. Очень здорово.

**Председательствующий:** Спасибо. У меня вопрос попроще. Вначале, когда Вы говорили об этиологии рассеянного склероза, Вы упомянули, что для запуска аутоиммунных процессов необходимо присутствие вирусных антигенов каких-то. Я упустил, о каком вирусе речь идет? О каких вирусных антигенах речь идет?

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Теорий этиологии рассеянного склероза множество, начиная от бактериальных инфекций, климатических условий, наследственной предрасположенности и так далее. В том числе существует вирусная теория развития рассеянного склероза. Состоит она в том, что попадание неких вирусов, их в настоящий момент порядка десятка, включая вирус Эпштейн-Барр, особенно в форме – мы все знаем, что мы все инфицированы, практически

вся популяция инфицирована EBV – но его клиническое проявление в виде мононуклеоза, особенно в детстве, может повысить шанс человека заболеть рассеянным склерозом за счет того, что Т или В-клеточный ответ переключается с вирусного антигена на собственный.

**Председательствующий:** То есть там возможны самые различные вирусы, я так понимаю?

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Абсолютно верно.

**Председательствующий:** Спасибо.

**Соискатель (Белогуров А.А.):** EBV – только один из.

**Ефремов Роман Гербертович. д.физ.-мат.н., член совета:** Алексей, спасибо большое, очень большая многоплановая работа. И далеко не во всех аспектах я хорошо разбираюсь. Вопрос связан с тем, что было заявлено в качестве одной из задач структурно-функциональное исследование, понимание на молекулярном уровне взаимосвязи структуры и функции. И история начинается с ...

**Председательствующий:** Давайте попытаемся через микрофон, чтобы лучше было слышно.

**Ефремов Роман Гербертович. д.физ.-мат.н., член совета:** Да, история начинается с выявления MBP как основного объекта исследования. Но почему именно MBP? Вот структура известна, достаточно небольшой белок. Пробовали ли посмотреть структурную гомологию, скажем, в PDB на предмет сходства водорастворимых каких-то петлевых участков? То есть почему «помазанник Божий» - именно этот белок? Ведь он же в аксоне плотно упакован. То есть там, скорее всего, конформационно лабильных эпитопов вряд ли можно найти, когда белок уже встроен в оболочку. То есть потом прозвучало, что один из пептидов, который был идентифицирован как возможная детерминанта, - что есть сходные пептиды и в других системах, которые тоже могут присутствовать. Вот почему свет клином сошелся на MBP все-таки? Самое начало мне интересно.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Спасибо, Роман Георгиевич, за вопрос. Могу здесь доложить следующее. Вы здесь совершенно правы, что основной белок миелина – это один из аутоантигенов при аутоиммунной нейродегенерации. Таких антигенов насчитывается как минимум пять. Это и миелинолигодендроцит гликопротеин, это и протеолипидный белок, и так называемый МАГ. А вопрос – почему мы сконцентрировались на основном белке миелина. Первое, я честно признаюсь, - это исторически. То есть мы вот занимались этим основным белком миелина, под руководством Александра Габиевича Габиева я защитил кандидатскую



диссертацию. Мы изучали расщепление основного белка миелина антителами. В общем, так мы и перетекли с этим белком далее, продолжили им заниматься.

Исследовали ли мы другие антигены? Ответ – да, исследовали. Просто вследствие достаточно ограниченного количества времени, я доложил не все результаты, которые есть в докторской работе. Вот здесь эти данные схематично представлены. Мы использовали фаг-дисплейную библиотеку, о которой я упомянул, и мы скринировали эту фаг-дисплейную библиотеку на различные миелиновые антигены, предотбирали. И, таким образом, далее секвенируя последовательности переменных фрагментов, которые в составе фаговых частиц связывают другие миелиновые антигены, мы, в общем, выявили некие такие кластеры зародышевых линий, которые соответствуют переменным фрагментам, которые связывают различные миелиновые антигены. То есть вот мое понятие структурно-функционального такого анализа – оно состоит именно в этом, что мы определили непосредственно нуклеотидную соответствующую ей аминокислотную последовательность. И, таким образом, антигенов проанализировано несколько. И, используя эти данные, мы пытались найти, как Вы говорите, здесь уже со стороны антител. То есть мы пытались найти антитела, которые гомологичны и которые связывают что-то другое. И вот именно таким образом мы вышли на LMP-1. Мы нашли, что антитела, похожие, близкие по сиквенсу антитела, - они связывают вирусный белок. Такую пару удалось составить только для случая «основной белок миелина и вирусный белок LMP-1».

А касательно последней части Вашего вопроса, по поводу гомологии, то есть смотрели ли мы на что-то похожее, - МВР, в общем, достаточно, надо признать, уникальный белок, но, тем не менее, у него аналогов функциональных вообще нет, но есть аналоги по аминокислотной последовательности. И, исходя из его состава, я уже упоминал, что он очень основный, то это, конечно, в первую очередь транскрипционные факторы, потому что очень многие из нефолдированные и сильно положительно заряженные для того, чтобы взаимодействовать эффективно с ДНК. И свою структуру они обретают только после связывания с ДНК, с участком, собственно говоря, промотером. И, более того, мы анализировали связывание таких аутоантител, в том числе моноклональных антител, с другими мишенями. И должен вам доложить, что с гистонами, с некоторыми положительно заряженными белками, которые по композиции похожи на основной белок миелина, подобные антитела связываются. То есть, скорее, это взаимодействие, но такое, полиспецифическое.

И, возвращаясь к тому, что Вы говорите, что, действительно, основной белок миелина – он компактизован и находится внутри миелинового слоя, в общем, это действительно так.

Тем не менее, если посмотреть на эту модель, сделана она на основе твердофазного ЯМР, вот один из фрагментов, именно вот этот в том числе, - было относительно недавно показано, что подобные фрагменты – они имеют способность проходить через липидный слой и выпетливаться с другой стороны мембраны. То есть теоретически основной белок миелина может быть доступен на поверхности олигодендроцита, не говоря о том, что уже если олигодендроцит поврежден и миелиновый слой каким-то образом обнажен, то там доступность его резко повышается.

**Председательствующий:** Полиспецифическое – это то же самое, что неспецифическое, или это разные вещи?

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Я предпочитаю, Вадим Тихонович, «полиспецифическое».

**Председательствующий:** Еще вопросы есть? Вопросов нет. Нет, кажется, есть. Прошу.

**Патрушев Лев Иванович, д.б.н., член совета:** Скажите пожалуйста, а что известно о генетической предрасположенности к рассеянному склерозу? Какие мутации вызывают его?

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Как я уже упоминал в ответах Дмитрию, основная генетическая предрасположенность – она связана с локусом HLA, а именно в настоящий момент выявлено до пяти различных вариантов ГКС второго класса, которые так или иначе ассоциированы с рассеянным склерозом. Дальше история более сложная, потому что все эти работы – они известны уже на протяжении пятнадцати-двадцати лет, о подобной предрасположенности. И, с другой стороны, - что все-таки имеются данные о том, что рассеянный склероз может наследоваться, особенно по материнской линии. То есть связка «мать-дочь» - там риск действительно повышается, не сильно, но повышается. И сейчас все проходящие исследования – они пытаются найти многопараметрическую некую зависимость риска возникновения рассеянных склерозов и неких генетических маркеров – как Вы говорите, какая-то мутация. К сожалению, такой мутации, но единичной, точно не удалось обнаружить, это уже ясно. Возможно, удастся через некоторое время определить, скажем так, пятнадцать-двадцать различных мутаций в различных отделах генома, которые вместе или какими-то кластерами повышают риск развития заболевания. Но вот сейчас такие довольно оптимистичные данные, связанные с нахождением некоторых таких мутаций в некодируемой области. В первую очередь это связано с промотерами цитокинов, в том числе TNF-альфа. Есть некоторые данные, что подобные мутации увеличивают риск, но пока они, безусловно, недостоверные.

**Патрушев Лев Иванович, д.б.н., член совета:** Спасибо.

**Председательствующий:** Иссякли вопросы? Похоже, так. Спасибо, немножко отдохните. Переходим к заслушиванию отзывов. Для начала отзыв ведущей организации.

**Ученый секретарь:** *(Оглашает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Ведущей организацией является государственное учреждение Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии Наук, то есть ФИЦ «Биотехнология». Отзыв полностью положительный. Подчеркивается актуальность темы, которая обусловлена комплексной природой аутоиммунных заболеваний, в частности аутоиммунной нейродегенерации, которая активно исследуется во многих лабораториях мира, и, к сожалению, приходится констатировать, что к настоящему моменту так и не удалось составить полноценную картину этиологии патогенеза аутоиммунных заболеваний. И это обуславливает острую необходимость перехода к более избирательной терапии, которая будет в значительной степени эффективной и будет способствовать радикальному снижению нежелательных побочных явлений. И решение этой задачи имеет свои функциональные трудности, связанные с отсутствием понимания триггерных механизмов индукции аутоиммунных заболеваний и особенностей их развития.

Степень обоснованности работы. Поставлены адекватные задачи, которые удалось решить с использованием широкого набора классических и современных биоорганических, молекулярнобиологических и биохимических методов исследований,

Результаты Диссертационной работы являются приоритетными. Научно—практическая значимость рукописи не вызывает сомнений. С точки зрения развития фундаментальной науки в ходе выполнения диссертационной работы соискатель (Белогуров А.А.) в значительной степени расширил современное представление о молекулярных основах протекания аутоиммунной нейродегенерации. Автором был детально исследован характер развития аутоиммунной реакции адаптивного иммунитета в части его гуморального звена. Впервые создана библиотека одноцепочечных антител, содержащих переменные фрагменты иммуноглобулинов, присутствующих в репертуаре больных рассеянным склерозом. С использованием этой библиотеки удалось получить первое материальное свидетельство участия вируса Эпштейн-Барр в возникновении рассеянного склероза — автором найдены моноклональные антитела, способные одновременно связывать основной белок миелина и латентный мембранный белок 1 (LMP1) вируса Эпштейн-Барр. Автору удалось обнаружить и детально изучить убиквитин-независимую дегградацию основного белка миелина протеасомой.

Автором впервые обнародован факт разрушения физиологически важного аутоантигена к подобному механизму. Можно утверждать, что наряду со специфической аминокислотной

последовательностью и ацетилированием открыт третий тип убиквитин-независимых дегронов-заряд-опосредованных.

Работа сочетает в себе не только фундаментальные научные исследования, но и разработку перспективных лекарственных препаратов для терапии рассеянного склероза, некоторые из которых могут быть внедрены в биотехнологическое производство в кратчайшей перспективе. Примером этого является создание иммунотоксинов на основе иммунодоминантных фрагментов основного белка миелина, слитых с панелью бактериальных токсинов и константного фрагмента иммуноглобулина.

Результаты исследования являются новыми. Научные положения настоящей работы расширяют и углубляют современные представления о механизмах аутоиммунной нейродегенерации как с фундаментальной точки зрения, так и с прицелом на создание высокоспецифичных препаратов нового поколения.

Приведенные в работе научные положения, выводы и рекомендации аргументированы, опираются на экспериментальные данные и являются их логическим следствием. В работе нет взаимно противоречивых выводов.

Полнота изложения. Основные результаты отражены в тридцать одной публикации, имеются четыре патента, два из которых международные, одна монография

Рекомендации по использованию результатов исследования. Приводится целая серия различных организаций, где это может быть использовано.

И замечания. Автор проводит определение констант связывания антител, представленное на рисунке 4.2, на основе обсчета одной кривой. В данном случае следовало указать динамический (плавающий) характер данной величины, которая подходит лишь для сравнительного анализа. В части «Изучение особенностей фрагментации МВР различными типами протеасом», возможно, стоило бы привести результаты контрольных экспериментов, демонстрирующих правильность расчета количества пептидов, образованных протеасомой и иммунопротеасомой, исходя из теоретического изотопного распределения.

К диссертационной работе имеется ряд замечаний оформительского характера. Например, использование термина «Цитокиновые сети» в качестве заголовка в обзоре литературы, термин «дефолдирование» на рисунке 2.11, «B5i» вместо «Бета-5i» в таблице 1, англоязычное обозначение «sec» на рисунке 4.4Б, англоязычное обозначение «Control rhAb» на рисунке 4.6Г и «a-human» на рисунке 4.6Д, англоязычное обозначение «median» на рисунке 4.6Г, встречается обозначение фактора некроза опухоли как в виде «TNF» (в тексте), так и в виде «TNF-альфа».

Следует отметить, что сделанные замечания не касаются существа диссертационной работы и не умаляют значимости полученных в ней результатов.

И заключение, что диссертационная работа является самостоятельным и законченным исследованием, в котором сформулирован ряд научных положений, являющихся новыми по своей постановке и предлагаемым направлениям решения.

В целом, диссертация Белогурова полностью отвечает требованиям "Положения о присуждении ученых степеней", а её автор Белогуров Алексей Анатольевич заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 — «Биоорганическая химия».

Рассмотрено на совместном семинаре. Заведующий лабораторией подписал структурной биохимии белка, Федеральное государственное учреждение Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук профессор Левицкий. И отзыв утвержден директором этого центра Поповым.

**Председательствующий:** Там была пара замечаний. Если есть желание, можете ответить.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Первое замечание было касательно динамического характера константы. Я совершенно согласен с этим замечанием. Ведущая организация имеет в виду этот рисунок 4.2 здесь на панели Б действительно из одной кривой поверхностного плазмонного резонанса мною были вычислены константы диссоциации. Мы использовали эти данные, эти КД, как и было сказано, только для сравнительного анализа. Но согласен с тем, что, возможно, стоило отметить в работе то, что эти константы имеют динамический и, как было указано ведущей организацией, плавающий характер.

Второе замечание касается того, что в работе можно было бы представить данные по неким контрольным экспериментам, которые касаются этого нашего подхода с введением нуклида кислорода с массовым числом восемнадцать. И просто для того, чтобы вопрос был несколько понятнее, мы получали два пика соответствующего кислорода с массовым числом шестнадцать и восемнадцать в каждой серии для каждого пептида. И, вследствие природного распределения углерода, природного изотопного распределения углерода (вот здесь, для примера, показано для фуллерена C<sub>40</sub>, существует некая природная фракция, которая дает некий пик со смещением в два дальтона, который накладывается на пик, соответствующий кислороду-восемнадцать. Поэтому, действительно, стоило бы привести непосредственно в работе эксперименты, которые бы показывали, что наша теоретическая компенсация, которую мы приводили исходя из этого уравнения, где M<sub>2</sub> на M<sub>0</sub> – это, по сути, соотношение вот этих вот пиков, соответствующих O<sub>16</sub> и O<sub>18</sub>.

Соответственно, мы данные эксперименты проводили, мы подвергали гидролизу белок одним и тем же типом протеасом в воде с кислородом с массовым числом шестнадцать и массовым числом восемнадцать, далее эти образцы смешивали и показывали, что интенсивность пиков отличается только на величину природного изотопного распределения кислорода.

С оформительскими замечаниями я полностью согласен.

**Председательствующий:** Спасибо. Есть ли отзывы на автореферат? Кажется, есть. Слушаем.

**Ученый секретарь:** *(Оглашает отзывы на автореферат. Все отзывы положительные. Отзывы прилагаются).* В диссертационный совет поступило пять отзывов на автореферат. Все отзывы положительные, все отзывы без замечаний. И поэтому просто некоторые выдержки из этих отзывов.

«Алексей Анатольевич впервые вычленил репертуар аутореактивных иммуноглобулинов в ряду нейтральных аутоантигенов в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом, а также модельных животных. Особенного упоминания заслуживают новые способы лечения рассеянного склероза, предложенные автором. Далее про препарат, что тот, что разработан, успешно прошел доклинические и токсикологические тесты, а также первые две фазы клинических испытаний, и в настоящий момент проходит третью фазу клинических испытаний». Тут подписано директором Федерального государственного бюджетного учреждения Государственный научный центр Институт иммунологии Федерального медико-биологического агентства, это член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор Хаитов.

Далее отзыв, также без замечаний, тоже много положительных слов. Руководитель Лаборатории молекулярной иммунологии рака Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук доктор биологических наук профессор Сащенко.

Далее. «Диссертационная работа Белогурова проясняет ряд важных аспектов этиологии патогенеза аутоиммунной нейродегенерации. Впервые описаны зародышевые линии, характерные для кросс-реактивных антитела, способных одновременно связывать нейтральный и вирусный антиген». Подписано: зав. отделом иммунологии нашего института, это Рэм Викторович Петров подписал. Отзыв положительный.

«Автор справедливо отмечает, что описанная платформа может стать основой для исследования аутоантигенных эпитопов, которые в составе бимодальных токсинов имеют шанс стать высокоспецифичными препаратами в борьбе с аутоиммунными нарушениями». Подписано: Казначеева, зав. лабораторией ионных каналов клеточных

мембран Института цитологии Российской академии наук, это доктор биологических наук.

И, наконец, последний, пятый, отзыв на диссертацию, и, опять же, все положительно. Пишется: «Можно утверждать, что фундаментальные открытия Белогурова, а также разработанные им новые терапевтические стратегии способны вывести мировое здравоохранение на качественно новый уровень борьбы с аутоиммунной нейродегенерацией». Подписано академиком Российской академии наук, доктором медицинских наук, председателем Комитета по здравоохранению Санкт-Петербурга Дубина. То есть без замечаний.

**Председательствующий:** Спасибо. Там нет необходимости как-то отвечать. Мы принимаем к сведению все эти положительные отзывы. Теперь послушаем, что нам скажут официальные оппоненты. Академик Угрюмов Михаил Вениаминович.

**Угрюмов Михаил Вениаминович, академик РАН, д.б.н., официальный оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).* Глубокоуважаемый Вадим Тихонович, глубокоуважаемый Алексей Анатольевич, глубокоуважаемые коллеги, вот я довольно много защит видел в своей жизни и представляю, какой должен быть уровень докторской диссертации. И могу смело сказать, что та работа, которую мы заслушали, - она значительно превышает те требования, минимальные, которые предъявляются к докторским диссертациям. Ну и другими словами, если это эмоционально как-то выразить, вообще говоря, это в какой-то степени праздник науки. Не только праздники футбола бывают, да? Правда, они собирают гораздо больше людей, чем праздники науки, но тем не менее. Но я, на самом деле, помню те времена – это были восьмидесятые, семидесятые годы – когда на такие защиты аудитория, гораздо большая, чем эта, ломилась, причем сбегались люди. Вадим Тихонович, Вы тоже, наверное, помните эти времена, когда сбегались люди со всего города, иногда специально приезжали, и слово «защита» - оно не было такой вот лингвистической установкой. Действительно, шли бури там, хорошие работы всегда успешно защищались, но это вызывало колоссальные дискуссии и давало такую пищу для дальнейших работ на многие годы, иногда десятилетия. И в этом отношении как раз работа Алексея Анатольевича – она полностью этому соответствует.

Вот есть отзыв – собственно говоря, мне не хотелось бы повторять основные положения, основные достижения диссертации, которые были хорошо представлены в докладе, в отзыве третьего учреждения и так далее. Поэтому мне, может быть, да и вас не хочется задерживать, - я просто, может быть, расскажу то, что произвело на меня наибольшее впечатление и что мне больше всего импонировало, какие-то вопросы у меня возникли,

конечно, замечания: ни одна большая работа не может обойтись без замечаний. Некоторые соображения возникли по ходу обсуждения, по ходу доклада.

Во-первых, я если что-то понимаю, то кое-что в нейронауках и в нейродегенеративных заболеваниях. Самые первые слова, которые были сказаны, - это то, что рассеянный склероз – это социально значимое нейродегенеративное заболевание и этому нужно посвятить всю жизнь. Алексей Анатольевич это делает. Но есть и другие нейродегенеративные заболевания – скажем, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона. И с точки зрения социальной значимости, такой формальной, - они, может быть, более значимые, значительные. Почему? Потому что там гораздо больше больных и гораздо большие затраты на этих больных, чем при рассеянном склерозе.

Но есть один эмоциональный момент, который абсолютно выделяет рассеянный склероз. Я это просто испытал, общаясь с больными. Когда Вы говорите, скажем: «Мы имеем дело с больными с болезнью Паркинсона, с болезнью Альцгеймера», то все-таки это люди пожилые, это все-таки шестьдесят пять лет, семьдесят лет. И несмотря на то, что они, как и рассеянный склероз, фатальные заболевания до сих пор, но есть какая-то терапия, которая может это все растянуть при удачном стечении обстоятельств на десять лет, такое более-менее сбалансированное состояние больного. Вы сами понимаете, что в этом возрасте уже десять лет – это почти конец жизни. А вот когда речь идет о рассеянном склерозе, я наблюдаю сейчас молодых людей, абсолютно социально очень благополучных, очень интересных людей, талантливых людей, у них хорошие семьи, и вдруг на этом фоне у них появляется эта симптоматика. И как сказать врачу, что это острое, что это быстротекущее заболевание, в общем-то, и через какое-то небольшое время они станут полными инвалидами или погибнут? Вот это совершенно ужасно. Вы обратили внимание, что на первом слайде как раз было показано, что возраст проявления этих заболеваний – это молодой возраст? Это здорово отличает его от всех других нейродегенеративных заболеваний. Поэтому мне кажется, что это важно – то, что такая работа была посвящена именно рассеянному склерозу. Это первое такое эмоциональное замечание.

Второе. Мы говорили о том, что это, конечно, чрезвычайно масштабная работа, которая намного превышает минимальные требования к докторским диссертациям, и работа, которая, конечно же, была выполнена консорциумом. Естественно, что основную часть, подавляющее большинство результатов – все получено Алексеем Анатольевичем, в этом нет сомнений. Но эту работу еще надо было и организовать. Фактически такие работы могут выполняться виртуальными институтами, где участвуют все – и клиницисты, и все-все-все. Вот это, собрать таких людей, тоже чрезвычайно трудно, и это было сделано.



Поскольку я с этим сталкиваюсь регулярно и уже многие годы, я понимаю, насколько это сложно, особенно в нашей стране, где действительно специалистов высокого класса, к сожалению, становится все меньше и меньше. Это второй момент, который мне хотелось бы отметить.

Третий момент – это то, что такая масштабная работа должна была выполняться и выполнялась по единой методологии, и выполняться должна была очень целеустремленно. И вот та методология – мы очень много знаем красивый слов сейчас, особенно в медицинской аудитории. Мы все время слышим, пересыпают: «конвергенция наук», «трансляционная медицина», «персонализированная медицина» и так далее. И я думаю, что не очень многие люди, которые произносят эти слова (я не имею в виду эту аудиторию) вообще понимают до конца смысл этих слов, но просто под это деньги дают, поэтому они с удовольствием их произносят. Вот работа Алексея Анатольевича – это классический вариант методологии трансляционной медицины. То есть что это значит? Что от понимания молекулярных механизмов патогенеза и использования их как маркеров – переход к разработке современных методов диагностики и лечения. Здесь о диагностике практически не было ничего сказано, в основном, о лечении. Но речь идет и о диагностике. Вот это, мне кажется, та методология, по которой развиваются все современные медико-биологические исследования, и очень важно, что она здесь соблюдалась.

Важным элементом этой методологии, как мне кажется, является сочетание использования не только клинического материала, но и сочетания с экспериментальным моделированием. Об этом не очень много сегодня говорилось, но, мне кажется, невероятно важно это. Почему? Мы тоже имеем дело примерно с такого же рода исследованиями, но в другой области. Что мы можем сказать? Нам очень важно понимать, что происходит у больного. Но мы не можем манипулировать больным, мы не можем проводить детальные исследования на больных. Мы можем только при удачном стечении обстоятельств получить некие реперные точки. А вот дальше уже по этим реперным точкам мы должны воспроизводить модели, делать модели и уже на моделях детально изучать молекулярные механизмы. И вот в этой работе этот элемент тоже прекрасно совершенно выполнен. И таким образом была воспроизведена вся цепочка понимания молекулярных механизмов от поиска библиотеки антигенов на поверхности лимфоцитов, на поверхности олигодендроцитов, в которых виноваты протеасомы, до создания иммунотоксинов и фактически лигандов, связанных с токсинами. Вот эта вся цепочка была задействована, и это производит очень приятное впечатление. И таким образом сейчас должна строиться наука, но далеко не всем это по силам, даже в зарубежных странах.

Мне не хотелось бы останавливаться на всех основных положениях. Тут у меня все написано, я даже не хотел об этом говорить: это, как я уже сказал, все было сказано, и не один раз.

Теперь дальше. Что касается теперь некоторых замечаний, понятно, что такая большая работа – она не может не вызвать какие-то замечания. Но эти замечания не столько умаляют значимость этой работы, сколько наоборот указывают путь для ее развития, для ее совершенствования. И поэтому именно так и нужно это воспринимать.

Вот опять если вернуться к социальной значимости заболевания, то в диссертации сегодня, по крайней мере, это не прозвучало, но было написано, что пишется и в отношении других нейродегенеративных заболеваний, что со временем происходит очень быстрый рост числа больных. И вот, если я понимаю, с чем связан этот рост, когда мы говорим о болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера (это связано в первую очередь с загрязнением окружающей среды, поскольку эти токсические факторы, внешние, - они могут попадать в мозг интерназально и вызывать дегенерацию нейронов, с одной стороны, с другой стороны, увеличением продолжительности жизни, там все понятно), вот почему это происходит при рассеянном склерозе, мне так и оказалось не очень понятно. Это первое. Наверное, Алексей Анатольевич как-то мне на этот вопрос ответит.

Дальше. Вы знаете, естественно, когда мы говорим о молекулярных механизмах, дегенерации нейронов, здесь все время звучит: «нейродегенерация», «нейродегенерация», но когда мы читаем в диссертации, как это все представлено, в обзоре, и в результатах, и в обсуждениях, то, что прекрасно понимает Алексей Анатольевич, то, что прекрасно мы все понимаем, - оно ни в одном месте не было прописано. То есть если посмотреть эту цепочку рассуждений, то, о чем говорится? Есть антигены, которые вызывают аутоиммунную реакцию, в том числе на миелине, миелин разрушается, это приводит к дегенерации нейронов. То есть как бы скачок от того, что разрушился миелин, - это вызывает автоматически дегенерацию нейронов. Вот это так везде прописано. На самом деле, понятно, что это не так, и Алексей Анатольевич это знает лучше, чем мы все. Почему? Потому что, хорошо, просто оголяется аксон. Но с вас сняли костюм – вы же не умерли при этом, правда? Там единственное, что нужно вставить, и эти слова тоже написаны, но в других местах, - что эта реакция на миелин, аутоиммунная реакция (не только, и на лимфоциты), - она приводит к развитию нейровоспалительного процесса фактически. Воспалительные цитокины – они-то как раз и вызывают дегенерацию нейронов. Простая такая вещь, очевидная, всем понятная, в первую очередь диссертанту, но прописано это – я не увидел, чтобы это было прописано.

Вы знаете, вот в этой работе при обсуждении полученных результатов все время звучит «проницаемость гематоэнцефалического барьера». Вот сама проблема проницаемости гематоэнцефалического барьера и механизмы проницаемости – они как-то не очень освещены. И надо сказать, что это та проблема, которая вообще до сих пор практически не понятна. То есть что имеется в виду? Что находится, скажем, при нейродегенеративных заболеваниях, например, - классики болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона пишут: «При нейродегенеративных заболеваниях увеличивается проницаемость гематоэнцефалического барьера». На чем это основывается? Это основывается просто на том, что находят какие-то молекулы, которые являются маркерами проницаемости. Вот они экспрессируются, и говорят: «Да, проницаемость увеличена». На самом деле, это совершенно не так, потому что для каждого вещества и для каждой группы веществ, я уж не говорю о клетках, свои механизмы проницаемости гематоэнцефалического барьера. И поэтому вот эти гистогематические взаимоотношения – сосуды, нервные ткани – это только морфологический субстрат, на который накладываются биохимические молекулярные механизмы – транспортеры, ферменты деградации и так далее, и так далее. И для каждого класса веществ, а может быть, для каждого отдельного вещества, это абсолютно свои понятия. И поэтому, когда речь идет о проницаемости через гематоэнцефалические барьеры лимфоцитов, липосом, просто иммунотоксинов, на это, может быть, в будущем, на механизмы на эти, побольше обращать внимание, тем более что была приведена хорошая схема проницаемости лимфоцитов и написано, что существует несколько этапов, несколько стадий проникновения. Вот эти стадии никак не были описаны. И мне казалось, это было бы хорошо, если бы это было дополнено.

Теперь мы с вами перейдем к разделу «Материалы и методы». Понимаете, мы можем разбить всю работы на три блока: первый блок – это поиск молекулярных мишеней для лечения, и потом следующий блок – это создание иммунотоксинов, чтобы сажать на эти мишени, и третий блок – это оценка эффективности действия этих иммунотоксинов. И вот здесь, конечно, на людях сейчас это вторая фаза уже идет, это очень здорово, но основные работы проводились на животных. И вот в этом разделе, где материалы и методики, были довольно скупо описаны эти методы, которые позволяют оценивать изменение поведения животных. То есть там просто написано, что таки-то, такие-то варианты поведения оценивались, и все. Как оценивались – этого просто не было написано, просто выпало, и все.

То же самое, отсутствие необходимой детализации для понимания того, что происходит, было в разделе по иммунной гистохимии. Там дается стандартная методика выявления антигена на срезах. Но, поскольку речь идет о многих и разных антигенах, специфических,

то и надо было упомянуть, какие все-таки антитела, специфические, были использованы. Это есть в общем списке антител и реактивов, который есть в диссертации, он сделан, но это все равно при наложении этого непонятно, какие конкретно антитела использовались, хотя, наверное, при желании, при минимальном опыте нетрудно догадаться, какие. Но все-таки этого нет.

И дальше, конечно же, Алексей Анатольевич – он высокого класса иммунолог, молекулярный биолог, но там есть и клинический раздел, и оценка клинической результативности, скажем, лекарственных средств, - она, наверное, тоже важна, и так вот нельзя от нее отмахиваться. Например, там написано, в разделе «Пациенты с рассеянным склерозом» написано, что для исследования была использована группа больных с достоверным диагнозом рассеянного склероза. Однако за счет чего, как эта достоверность была определена и какие критерии были для этого использованы, - этого не было указано. Теперь, если перейти к «Результатам и обсуждению», знаете, это автор диссертации выбирает стиль изложения, но бывает «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение». Бывает, у автора есть право объединить результаты и обсуждения. Но мне всегда казалось, что это немножко ущербно для работы. Ущербно почему? Считайте, вы пишете первый раздел по какому-то блоку, который вы делаете. У вас результаты есть по этому конкретному разделу, у вас есть обсуждение. И вы обсуждать можете не всю палитру результатов, которые вы получили в работе, а только те результаты, которые у вас именно в этом разделе описаны. Дальше у вас эта палитра немножко может расширяться, но все равно все привязывается к результатам, описанным в конкретном разделе. Вот иногда, знаете, можно представить, как будто вы раскидываете пасьянс. Если вы раскидываете пасьянс из всех результатов, то вы можете за счет мозговой деятельности собрать очень интересные пазлы, но только при комбинаторике всех этих результатов. Вот когда сливаются результаты и обсуждения по разделам, то мне кажется, эта возможность – она минимизируется.

Дальше, опять же, я все-таки физиолог, наверное. Если нейронауками заниматься, ты будешь и как физиолог. Поэтому у меня на это глаз реагирует, может быть, более болезненно, чем у всех остальных. Вот когда говорится об оценке изменения поведения экспериментальных животных при моделировании патологии, при действии потенциальных лекарственных средств, эта оценка носит визуальный характер, там оценивают в баллах: поползло быстрее – два балла, медленнее – один балл, и так далее, и так далее. Честно говоря, я уже давно что-то не видел работ, в которых бы давалась такая визуальная оценка, потому что сейчас есть (и не только сейчас, это уже много лет) автоматизированные системы для анализа изображений, где учитывается огромное

количество параметров - тут же вам гистрограммы и так далее. Мне казалось, что все-таки эта объективизация данных – она, наверное, нужна не только на уровне молекулярно-биологических процессов, но и на уровне физиологических процессов. И в этом отношении, наверное, это же замечание в какой-то степени можно отнести к морфологическим данным – в основном, к иммуноцитохимическим. Дело в том, что, опять же, эффект – эффект моделирования, эффект действия лекарственных средств и так далее – он описывается как? За счет поведения и за счет того, что происходит в тканях, в клетках, используемых на цитохимию, иногда можно использовать гибридизацию *in situ*, и смотрите, что происходит с метаболизмом этих веществ. И то же самое, сейчас – я уже тоже не припомню, наверное, лет десять – чтобы я видел публикации такого рода, где не было бы строгого количественного анализа проведено. Вот здесь тоже дается такой анализ – визуальный анализ: здесь вроде больше, тут вроде меньше, и так далее. И, конечно же, такие данные, наверное, по выявлению внутриклеточных антигенов, функционально значимых, - они, наверное, должны и очень корректно интерпретироваться. Например, если вы видите накопление какого-то антигена, который синтезируется и который секретируется, как в работе, например, - речь идет о BDNF, ростовом факторе, - вот вы видите, в одном случае опыт больше внутриклеточного фактора, в контроле меньше, то мы не можем однозначно интерпретировать, что происходит, за счет чего это – за счет того, что в опыте происходит выделение быстрее или что? Почему? Потому что то содержание, которое мы видим, внутриклеточное, если речь идет о секретируемой белке, речь идет о том, что результирующая, по крайней мере, трех процессов: синтеза, выделения и деградации. Опять же, с этой точки зрения анализа такого строгого по отдельным показателям (я еще раз говорю, это отдельные показатели, я как оппонент должен был выбрать самое плохое, что я и вынужден был сделать, но это не умаляет совершенно работы) – этого не было сделано.

И последнее, что мне хотелось, - здесь эти вопросы вставали, о том, что в конечном итоге, если мы опять вернемся к болезни и к этиологии – не только к патогенезу, но и к этиологии, причинам, которые вызывают – то все-таки нейродегенеративные заболевания – они делятся, такие классические, о которых я говорил, - болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера – все уже понимают, что это не болезнь (это лукавство), это синдром. Синдром – что это значит? Вот причины развития этих заболеваний мы знаем, но это даже не верхушка айсберга, с одной стороны. С другой стороны, все эти заболевания делятся (по крайней мере, те, о которых я говорил) на моногенные и полигенные формы. Вот здесь вопросы на эту тему примерно были. И там мы прекрасно понимаем, какое соотношение между моногенными и полигенными формами. То есть это примерно при болезни

Паркинсона пять процентов моногенных, девяносто пять – полигенных, при болезни Альцгеймера моногенных побольше, и так далее. Но что это значит? Это значит, что моногенные формы проявляются очень рано, то есть они проявляются уже в возрасте до двадцати пяти лет, у человека развивается бурная такая симптоматика. Вот здесь, когда выбирали больных для клинических испытаний, брали широкий диапазон возраста – по крайней мере, от двадцати пяти до пятидесяти пяти лет. Ведь нам очень важно из этого синдрома – вряд ли есть у кого-то какие-то соображения, настолько оптимистичны люди, что думают, что сейчас благодаря этой диссертации завтра всех больных вылечат, - но можно, по крайней мере, быть нацеленными на то, что мы можем выделить какую-то группу из этого синдрома, которую мы действительно можем или лечить, или, по крайней мере, здорово поддерживать. И вот когда мы берем в таком широком диапазоне возрастную группу, не получается ли так, что мы смешиваем различные формы одного и того же заболевания и в результате получаем среднюю температуру по больнице? Вот это тоже такой вопрос у меня есть.

И, кроме того, - я еще раз говорю, там надо придирается, я уж не говорю про какие-то ошибки, опечатки, этого практически ничего нет, и я никогда это не смотрю – но, на самом деле, в выводах мне тоже показалось, что некоторые формулировки – они могли бы быть даны более точными. Вы знаете, наша слабость всегда – это то, что выводы – это что? Это какой-то основной, такой фундаментальный результат. Другой разговор, вы его можете тут же интерпретировать: «Получено то-то, что может свидетельствовать о том-то». Но это результат, то есть то, что сделали, а не то, что делали. Вот некоторые выводы формулируются именно так, что делали то-то, то-то, вот только непонятно, что сделали, что не сделали. Я тут написал, о чем конкретно идет речь.

Ну, и, скажем, есть тоже выводы, в которых не очень конкретно сформулированы вопросы. Например, написано так: «Разработки подхода к индукции толерантности инкапсулированных фрагментов» к чему-то. Напрашивается, с точки зрения даже русского языка, - толерантности чего к чему? В выводе этого нет, поэтому повисает такое непонимание.

Вот что я хочу сказать? Я больше не буду вас утомлять, потому что тут еще люди, которые все хорошо расскажут с точки зрения иммунологии, молекулярной биологии, оппоненты уважаемые, но я еще раз хотел подчеркнуть, что, конечно, это диссертация, которая выходит далеко за рамки стандартной докторской диссертации. И она не то что открывает – она вносит очень серьезный вклад в разработку направления, открывающего свет в конце туннеля для лечения вот этих абсолютно несчастных больных. Конечно, эту работу будет продолжать и Александр Габирович, который это начал, и Алексей Анатольевич,

его «научный сын», я думаю, что их «внуки» и «правнуки» научные будут заниматься тем же самым, но наконец, слава Богу, если это все поможет реально больным.

Спасибо Вам большое. Я Вас поздравляю и не сомневаюсь в блестящем завершении всего этого.

**Председательствующий:** Давайте подождем голосования. А пока, Алексей Анатольевич, ответьте на замечания.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Михаил Вениаминович, спасибо большое за столь внимательное рассмотрение моей работы. Я хотел бы ответить на те вопросы, которые Вы поставили. Я тезисно буду напоминать вопрос и давать на него ответ.

Первый вопрос Михаила Вениаминовича по поводу увеличения количества больных рассеянным склерозом. С чем это связано? Все-таки в первую очередь это связывают с улучшением диагностики рассеянного склероза, потому что многие заболевания, в том числе оптический неврит, которые ранее считались некими отдельными и не имеющими отношения к рассеянному склерозу, теперь напрямую с ним связывают и, более того, их считают некоей предтечей рассеянному склерозу, то есть так называемым CIS, то есть это клинически изолированный синдром. Вот это некая первая такая – прерассеянный склероз. Как Михаил Вениаминович Вы упомянули сами, действительно, рассеянный склероз – заболевание молодое, и поэтому со старением населения связать это сложно. Все-таки тридцать лет – уже давно, слава Богу, этот порог пройден, в плане продолжительности жизни.

Второй вопрос по поводу нейродегенерации, то есть вопрос, связанный с тем, что демиелинизация напрямую не ведет к смерти непосредственно нейронов. Это абсолютно, абсолютно верно. Как Вы сказали, «без костюма человек не умирает», но холодно и стыдно. Так же, наверное, и нейрону, потому что, как на этом слайде представлено, который я подготовил, действительно, на первой стадии происходит выброс провоспалительных цитокинов, проникновение антител, цитотоксических лимфоцитов, которые, повреждая олигодендроциты, повреждая эту миелиновую оболочку, безусловно, могут и зацеплять неким образом сами нейроны, в первую очередь аксоны. Ну, и на терминальной стадии, то есть совокупность этих процессов – она, в общем, не приводит, действительно, к смерти, дегенерация аксона к смерти нейрона, но, тем не менее, она приводит к тому, что начинают проявляться клинические признаки рассеянного склероза, а именно резкое замедление проводимости нервного импульса, что, по сути, и приводит к этим параличам, мышечной слабости и зачастую потере зрения. И уже на терминальных стадиях гиперактивация натриевых каналов и кальциевых каналов вкупе с потерей

тропической связи приводит уже к смерти нейронов. Но эти стадии – действительно, они такие уже сильно отдалены от дебюта заболевания.

Вопрос по поводу отсутствия в литературном обзоре четкой схемы, которая бы иллюстрировала проникновение клеток через гематоэнцефалические барьеры, в первую очередь лимфоцитов. Я полностью согласен с тем, что стоило бы этому моменту уделить больше внимания. Вот здесь я представляю слайд, который именно это и иллюстрирует. То есть стадий проникновения через гематоэнцефалический барьер, как минимум, мы сейчас выделяем пять, начиная от так называемого роллинга, когда лимфоцит «катится» по эпителиальному слою, далее взаимодействует с эпителием, в первую очередь благодаря альфа-4 бета-1- интегринам. Здесь представлены молекулы клеточной адгезии, такие как PSGL и P-селектины, и далее через активацию GPCR-белков происходит так называемый «арест» лимфоцита на поверхности эпителия, его закоривание, в том числе с помощью LFA-1 и ICAM-1, и далее так называемый «кроулинг», когда лимфоцит начинает реверсивное движение против потока со скоростью приблизительно несколько микрометров в минуту. Ну, и далее уже последняя стадия, когда, найдя брешь в эпителии клеток, лимфоцит начинает протискиваться уже через гематоэнцефалический барьер. Безусловно, описание этой схемы – оно было бы полезно в литературном обзоре.

Относительно комментариев к разделу «Материалы и методы», первый комментарий – это такое лапидарное описание тех клинических скоров, оценки клинических скоров, которые мы использовали при описании экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. Я согласен с тем, что описание это такое достаточно краткое и эта система рейтингования – она такая от нуля до пяти и, в общем, такое довольно дискретное и включает в себя описание поведения животных – паралича передних, задних конечностей, снижения тонуса хвоста, и, наверное, оно не столь информативное в настоящее время. Но единственное, что я могу сказать в свою защиту – то, что я для интереса после Ваших замечаний взял наугад две статьи в «Nature» восемнадцатого и семнадцатого года, обе они связаны с исследованием экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. И если залезть в «Материалы и методы», то там представлена ровно такая же оценка тяжести протекания ЕАЕ, как и в моей диссертации. Но здесь я с Вами согласен, что, как Вы говорили, наша задача за капиталистами не тянуться, а как-то их обогнать. Поэтому, может, займемся созданием подобной системы. Явно совершенно необходимость в этом есть.

Еще одно замечание к разделу «Материалы и методы» было то, что к разделу «Иммуногистохимия» достаточно схематично описана сама процедура, а не описаны антитела. С этим я полностью согласен, этому стоило уделить больше внимания. И по



поводу полуколичественного анализа, Михаил Вениаминович имеет в виду вот эти слайды, которые приведены в диссертации. Здесь вот представлены срезы в данном случае спинного мозга, которые нелеченых крыс и крыс, которые получали различные формуляции пептидов, инкапсулированных в липосоме, и глатирамера ацетат, так же известных как копаксон, и можно увидеть, что у нелеченых животных, допустим, окрашивание на интерферон-гамма значительно больше, чем у леченых, и по интерлейкину-2 такая же картина. Вот мы видим окрашивание по интерлейкину-2 и сравниваем его с животными, которые получали терапию. Визуально кажется, что его меньше. И аналогичная история с нейротропным фактором мозга BDNF. У леченых животных визуально кажется, что его количество больше, исходя из этих данных, и, соответственно, меньше у животных, которые терапию не получали. Полностью согласен с замечанием Михаила Вениаминовича, что необходимо было устремиться к количественному анализу, потому что этот анализ можно зачесть в лучшем случае как такой качественный. И, безусловно, мы к этому будем стремиться. Соответственно, из этого мы делаем такой очень общий вывод. Наверное, чего-то более конкретного сказать здесь нельзя.

Замечание по поводу того, что в диссертации указано то, что введение инкапсулированных фрагментов ОБМ в липосомах приводит к выбросу BDNF – оно некорректное, - с этим я совершенно согласен, потому что, действительно, мы видим исключительно увеличение его количества, а с чем это связано, мы утверждать не можем. Следующий вопрос был по поводу диагностики рассеянного склероза. Здесь я должен сказать, что, естественно, вся диагностика проводилась клиницистами, нашими коллабораторами, и проводилась эта диагностика по так называемым «критериям МакДональда», это такие общемировые и известные критерии. Они многопараметрические, и в первую очередь они связаны с МРТ - количеством очагов, их диссеминацией и динамикой увеличения этих очагов со временем. Поэтому нам остается только верить их делу.

Комментарий к разделу «Результаты и обсуждения» по поводу совмещения результатов и обсуждений. Здесь могу только сказать в свою защиту то, что я старался давать достаточно такой подробный кусок обсуждений, некие логический и смысловой, завершенных разделов, как бы подытоживая. Но, безусловно, согласен с Вами, что, возможно, даже не удаление этих разделов, а создание отдельного раздела «Обсуждения», в котором, может, как-то все это стоило объединить, - оно совершенно разумно. В разделе «Заключение», который у меня достаточно объемный, я как-то попытался это сделать, но, возможно, его

стоило расширить – сделать не пять страниц, а пятнадцать, чтобы дать более такой полный срез при обсуждении полученных данных.

И вопрос по поводу того, что мы брали в анализ, в том числе клинический, пациентов с достаточно большим разбросом по возрасту. Я себе позволю вернуться к слайду, который посвящен клиническим испытаниям. Хочу отметить то, что, если мы посмотрим на стандартное отклонение по группе, в общем, оно не такое критическое, то есть это тридцать восемь плюс-минус десять лет. То есть это, будем считать, от двадцати семи до сорок семи лет. То есть все-таки мы не брали рассеянный склероз очень молодых индивидуумов, потому что, как Вы действительно правильно говорите, может быть, это еще не известно, но станет известно в каком-то ближайшем будущем, что у них происходит какое-то особое развитие – Вы называете это моногенным, но к рассеянному склерозу это, наверное, не очень применимо, потому что генетических предрасположенностей в явном виде не выявлено. И, безусловно, пытались оценить, есть ли какая-то корреляция между возрастом и типом течения, но пока она не найдена. Но, тем не менее, мы старались избегать этих экстремально ранних случаев рассеянного склероза в своей работе для того, чтобы сделать выборку максимально гомогенной, насколько это возможно.

И замечания Михаила Вениаминовича к выводам – с ними я полностью согласен – то, что в нескольких выводах можно было бы добавить конкретики. С этим полностью согласен.

**Председательствующий:** Продолжим заслушивание отзывов. Член-корреспондент Лаврик Ольга Ивановна.

**Лаврик Ольга Ивановна, член-корр. РАН, д.х.н., официальный оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).* Уважаемые члены диссертационного совета, дорогие коллеги, что я хочу сказать? Было очень интересно, хотя и довольно сложно оппонировать такой многоплановой диссертации, как диссертация Алексея Анатольевича.

Об актуальности данной работы мне говорить, наверное, уже не нужно после выступления первого оппонента, потому что было сказано по этому поводу достаточно и очень развернуто. Но вот то, что я хотела бы еще отметить (в этом я полностью согласна с первым оппонентом), - что здесь фактически больше, чем одна докторская работа, потому что, когда я закончила ознакомление с фундаментальной частью, первой частью, я уже совершенно четко почувствовала: вот она, докторская работа, уже сделана. И дальше уже следующая часть, «Разработка методов лечения рассеянного склероза», тяжелой такой болезни, на основе первой фундаментальной части. Действительно, это блестящая работа. И члены ученого совета и коллеги, наверное, согласятся, что даже в докторских

диссертациях нечасто бывает соединение этих двух таких, причем хорошо отработанных частей – как фундаментальной, так и практически значимой.

Я не буду, в силу того, что уже долго длится защита, зачитывать полностью отзыв (я думаю, что меня за это извинят) и просто остановлюсь на тех частях, которые мне особенно понравились и которые еще были опущены оппонентом, потому что диссертант очень много трудился над диссертацией и хотелось бы, чтобы все было отмечено.

В частности, я хочу отметить очень прекрасно написанный обзор. У меня очень хорошее мнение об обзоре – может, потому что он мне был действительно очень нужен для ознакомления с этим материалом. Я все-таки человек, работающий немножко в другой области, но обзор написан так хорошо, что действительно это позволило оценивать эту диссертацию уже на основе знания материала. Мне, например, очень понравилась часть обзора, посвященная систематизации способов терапии аутоиммунной нейродегенерации, как уже давно известных, так и разрабатываемых, но часть действительно для меня совершенно незнакома, и поэтому я хочу специально отметить прекрасно написанный обзор - я бы сказала, с любовью написанный обзор.

Также хочется отметить раздел «Материалы и методы», потому что диссертация выполнена с помощью самых современных подходов, причем такой многоплановый материал и разные методы используются, и всеми методами диссертант владеет. Это вызывает просто восхищение.

Кроме того, разработаны уникальные методы, очень остроумные – такие, как количественный анализ пептидов, представленных в продуктах гидролиза основного белка миелина протеасомы с использованием воды, содержащей изотоп кислорода с массовым числом восемнадцать. И часть «Результаты и обсуждения» - как вы понимаете, она состоит из фундаментального раздела с обсуждением, и далее, соответственно, «Новые подходы к терапии рассеянного склероза». Первое направление описывает исследование фундаментального характера. И тут уже очень много говорилось относительно той части, где был исследован спектр аутоантител, возникающих при рассеянном склерозе и аутоиммунной нейродегенерации. В этом разделе удалось создать библиотеку антител, использован эффективный комбинаторный подход и подтверждена гипотеза молекулярной мимикрии, которая тоже уже сегодня обсуждалась очень подробно. Это очень интересный раздел диссертации.

И я хочу отметить, что действительно в работах такого типа не всегда автор работы делает попытку количественной оценки. А здесь, в этом случае, физико-химические закономерности автор пытался отыскать – взаимодействие антигена и антитела, в частности, применил метод плазмонного резонанса для измерения параметров

взаимодействия. Но, конечно, это очень сложные здесь закономерности просматриваются, в силу природы самих взаимодействий, и не все ясно, но сама попытка – она очень похвальна.

Теперь я хочу обратить внимание аудитории, что диссертация все-таки защищается по специальности «Биоорганическая химия». И этот раздел – он очень объемный в работе. И вот я бы хотела остановиться на этом разделе, который очень интересный и наполнен разнообразными идеями. Что мне прежде всего очень понравилось в этом разделе - что здесь просто совершено открытие такое, что основной белок миелина может подвергаться гидролизу протеасомой в отсутствие каких-либо компонентов системы убиквитинилирования. И далее автором подробно изучается, какой механизм управляет этой реакцией гидролиза. Здесь применены мутанты, МВР-разнообразные, причем мне очень нравится эта идея «голова к хвосту», и наоборот, и разные замены. И показано, что не обязательно специфическая последовательность должна управлять этим сигналом для гидролиза протеасомой, а должны быть специфические домены, которые в этом неструктурированном белке легко создаются. Кстати сказать, что это очень интересное наблюдение – интересное наблюдение для химии белков и для химии структуры и функций неупорядоченных белков. Тут уже звучало, что это интересно для таких белков, например, как гистона, но есть неупорядоченные белки... Да, еще Алексей говорил про факторы транскрипции. Белок, с которым я работаю, - мне сразу пришло в голову, что белок такой УВ-1 тоже фактор транскрипции, он неупорядоченный, положительно заряженный, он тоже может подвергаться такому механизму, кстати, совершенно неисследованному. То есть я хочу подчеркнуть, что в этой части работы сделаны такие наблюдения, которые могут иметь общее значение для механизма действия протеасомой и для гидролиза неупорядоченных белков. Это очень важно, мне кажется. Мне кажется это чрезвычайно интересным, тем более что автор даже создал эти дегроны, которые содержат сигналы для такого гидролиза. Это очень интересно.

И следующая очень элегантная часть, она мне тоже как энзимологу очень нравится, - это когда доказывается, каким образом МВР захватывается протеасомой, как идет сигнал, как гидролизуется, доказывается роль REG-альфа-субъединиц протеасомы. Вообще в этой системе, которая привлекает очень большое внимание молекулярных биологов, биохимиков, действительно, это значительное достижение данной работой.

Таким образом, действительно, есть достижения по химии белков, биоорганической химии, то есть диссертация соответствует своей специальности.

И, наконец, та часть, которая посвящена созданию препарата, но об этом уже, действительно, предыдущий оппонент много говорил, поэтому я останавливаться на этой

части длинно не буду. Но, тем не менее, следует отметить, что в своей работе Алексей Анатольевич приводит результаты клинических испытаний, но это очень редко встречается, препарат Xemus, который создан на основе миелиновых пептидов, заключенных в однослойные липосомы. Это очень большое достижение, и, действительно, это говорит о том, что практическая значимость, последующая, этого фундаментального исследования очень высокая.

Я хочу сказать, что диссертация очень хорошо оформлена. Я даже сначала не хотела, чтобы Алексей Анатольевич мне пересылал эту работу, а потом, когда я получила эту книжку, я в нее просто влюбилась. Вот действительно, там такие иллюстрации! В части «Результаты и обсуждения» шестьдесят одна иллюстрация, очень красивые картины, все так сделано хорошо. И теперь эта диссертация у меня лежит в кабинете на таком видно месте, и все диссертанты, которые готовятся к защите, - я им говорю: «Сделайте так, вот только так». Теперь это будет образцом в нашей лаборатории.

Резюмируя, можно сказать, что работа совершенно прекрасная, выполнена на высоком экспериментальном научном уровне. Но положено выражать недостатки. Но найти недостатки, которые присутствуют в работе, - это было сложно. Но все равно в такой многоплановой работе можно найти некоторые недостатки и сделать замечания.

По той части, где автором проведен дательный анализ аффинности миелин-реактивных антител и перекрестной реактивности против панели потенциальных аутоантигенов, я понимаю, что такое исследование проделано впервые и закономерности могут быть очень сложные. Но все равно мне непонятен оказался вывод об устойчивости результирующей аффинности антител. Если Алексей Анатольевич пояснит, будет очень хорошо.

В работе открыт и детально исследован механизм убиквитин-независимой деградации МВР. Вот из обсуждения все-таки не до конца ясно, работает ли этот механизм только при одновременном истощении АТФ и ингибировании химотрипсиновой активности протеасомы или существуют все-таки некоторые пограничные условия, при которых могут работать оба механизма – убиквитин-зависимая и независимая деградация основного белка миелина.

Безусловно, одним из важнейших этапов выполненной работы является выбор определенных пептидов МВР, вошедших в состав препарата Xemus, и вот это подробно объясняется в диссертации по ходу. Но мне показалось, что, когда автор уже переходит непосредственно к препарату, нужно было сделать выводы еще раз концентрированно, почему именно эти пептиды были выбраны. Но это к написанию относится, в основном.

И, наконец, определенный интерес, мне кажется, представляло бы рассмотрение перспектив комбинированного применения для лечения рассеянного склероза пептидами

МВР и ингибиторами протеасомы. Но это такое пожелание просто, необязательно его учитывать.

Итак, высказанные замечания нисколько не умаляют больших достоинств выполненной работы. Автореферат соответствует содержанию диссертации. Сама диссертация полностью отражена в научных статьях, которые опубликованы автором в ведущих зарубежных журналах с высоким импакт-фактором и в российских журналах. Результаты работы неоднократно доложены на отечественных и международных конференциях. Вот на международных конференциях я имела удовольствие несколько раз слышать доклады Алексея Анатольевича, и это, конечно, очень всегда было интересно и впечатляюще.

Итак, конечно, безусловно, диссертация соответствует всем требованиям, и призываю диссертационный совет проголосовать за присуждение ученой степени доктора химических наук. Я все сказала по протоколу?

**Председательствующий:** Спасибо, мы учтем Ваш совет, скорее всего. Тем не менее, Алексей, Вам слово для ответа на замечания.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Ольга Ивановна, спасибо большое за внимательное и детальное изучение моей работы. Хотел бы ответить на несколько Ваших замечаний.

Первый вопрос был про анализ комбинаций VH и VL, то есть переменных фрагментов легких и тяжелых цепей. Но я позволю себе дать выдержку из непосредственно диссертационной работы. Ольга Ивановна имеет в виду вот эти данные. Мы получили ряд констант диссоциации. Для этого начну немножко из глубины. В процессе отбора на основной белок миелина с использованием фаг-дисплейной библиотеки переменных фрагментов антител, которые мы создали на основе лимфоцитов из пациентов с рассеянным склерозом, мы использовали несколько методик. Мы использовали гепарин в некоторых случаях для того, чтобы частично нейтрализовать положительный заряд основного белка миелина, экранировать его, так как фаговая оболочка отрицательно заряженная, и вследствие этого мы наблюдали некое неспецифическое взаимодействие. Мы использовали высокую ионную силу, частично фрагментировали основной белок миелина, чтобы разрушить вот эту положительно заряженную сетку. И каждая из методик позволила нам отобрать ряд комбинаций переменных фрагментов легкой и тяжелой цепи, которые взаимодействовали с основным белком миелина. Здесь надо отметить такой момент, что, по сути, так как мы не проводили предварительное запаривание цепей, то эти комбинации – они носят некий случайный характер, и непосредственно в организме может встречаться другая комбинация легкой и тяжелой цепи, которые мы отобрали. Поэтому мы провели некий такой комбинаторный анализ. Мы взяли все легкие цепи, все тяжелые

цепи и заново их перемешали, получили такую как бы минибiblioteca. И вот ее анализ как раз представлен на нижних панелях. Мы измеряли, действительно, константу диссоциации, то есть аффинность этих комбинаций VH-VL, *de novo* смешанных таких комбинаций антител, с аффинностью к основному белку миелина. И вот здесь разными цветами обозначены комбинации антител, несущих одну и ту же тяжелую цепь (на левой панели) либо одну и ту же легкую цепь, к которой мы приставляли разные-разные тяжелые, которые мы отобрали. И вывод, который мы делаем из этих данных, состоит в том, что, если можно так выразиться, вот эти изобары  $K_D$ , то есть линии, на которых константа диссоциации одна и та же, - вот эти разноцветные фигуры, которые составляют антитела, несущие одну и ту же тяжелую цепь, но разные легкие, - они стремятся расположиться параллельно этим изобарам. То есть, другими словами, константа диссоциации вот этих комбинаций – она меняется в достаточно узком диапазоне, в то время как если мы меняем у одного и того же антитела, мы фиксируем легкую цепь, меняем тяжелую, то мы видим, что эти фигуры – они стремятся расположиться перпендикулярно этим кривым. То есть таким образом разброс констант диссоциации для каждой комбинации – он значительно шире, чем в этом случае. И вывод, который мы делаем, - то, что, по сути, аффинность, сродство антитела к основному белку миелина, - она, в первую очередь, определяется тяжелой цепью, нежели легкой, потому что стабильность, как я выразил в своей работе, стабильность аффинности – она существенно выше в этом случае. Но я согласен, наверное, может быть, стоило как-то более четко дать этот вывод. Может быть, в диссертационной работе он немного потерялся. Вот ответ такой.

Следующий вопрос Ольги Ивановны – он касается того, в каких условиях проявляется убиквитин-независимость гидролиза основного белка миелина, в каких физиологических границах он имеет право на существование. Здесь для ответа я хотел бы представить следующий слайд. На нем как вводные даны несколько таких числовых значений. Это известно из литературных данных, то, что олигодендроцит как клетка способен синтезировать до нуля двух фемтомоль белка на одну клетку в сутки и при этом достигается динамическое равновесие порядка одного фемтомоля MBP на один олигодендроцит. Если мы все это поделим на средний объем олигодендроцита, который оценивается в один и семь пиколитра, то мы получим концентрацию порядка шестиста микромоль основного белка миелина на один олигодендроцит. Опять-таки, из литературных данных известно, что не более десяти процентов этого белка находится в свободной форме, это уже обсуждалось сегодня. То есть приблизительно концентрация свободного основного белка миелина составляет приблизительно шестьдесят микромоль.

Безусловно, часть из него ассоциирована с некоторыми белками-партнерами, но это количество приблизительно составляет единицы – как минимум, единицы микромоля. Мы определили то, что константа взаимодействия регуляторных частиц типа REG-альфа с МВР составляет приблизительно ноль два микромоля, что, очевидно, значительно больше той концентрации МВР, которая присутствует в клетке в равновесном состоянии. Из этого мы делаем вывод, что, в основном, основной белок миелина, если мы рассматриваем олигодендроцит, - он процессируется протеасомой по убиквитин-независимому механизму. Более того, мы, в общем, получили некие независимые данные. Вот здесь представлен график скорости основного белка миелина в убиквитин-независимой системе протеасомы. И вот мы видим, что она явно двухфазная и происходит резкое падение после того, как мы проходим концентрацию ноль два микромоля. Поэтому, суммируя все это, основной белок миелина, в основном, подвергается гидролизу убиквитин-независимой. Тем не менее, после определенной концентрации десятых микромоля этот процесс явно идет значительно менее эффективно, и, возможно, в этом случае необходима модификация убиквитином. Но этот вопрос до сих пор открыт, так как Е3 убиквитин-лигазы для основного белка миелина пока не известны. Но, может быть, она будет найдена.

Следующий вопрос Ольги Ивановны касается отбора пептидов, которые вошли в состав Хемус, и стоило бы более подробно описать, почему конкретно эти пептиды попали в эту композицию. Я совершенно согласен с этим замечанием. Дело в том, что сам непосредственно анализ вот этой эпитопной библиотеки и описание препарата – они разделены в пространстве диссертации, то есть между ними, наверное, страниц тридцать-сорок текста, и поэтому не совсем понятно, откуда они взялись. Стоило бы начать этот раздел с более такого явного объяснения, почему именно эти пептиды.

И последнее, скорее, как Ольга Ивановна выразилась, предложение состояло в том, чтобы использовать сочетанную терапию специфических ингибиторов иммунопротеасомы и инкапсулированных фрагментов основного белка миелина. Предложение очень правильное и, более того, реалистичное. Более того, хочу сказать то, что в случае бортезомиба или его коммерческого названия «Великейд» уже такая терапия применяется. Известно, что использование бротозамиба совместно, например, с доксирубицином позволяет достичь значительно более эффективного подавления множественной миеломы, при которой как раз этот препарат используется. И поэтому в нашем случае введение специфического ингибитора иммунопротеасомы будет защищать именно олигодендроцит от цитотоксического ответа, не затрагивая иммунную систему. Мы будем их таким образом маскировать от CTL. А введение иммунодоминантных фрагментов



основного белка миелина в составе липосом будет наоборот действовать с другой стороны, а именно индуцировать толерантность иммунной системы к миелиновым антигенам. Таким образом, мы можем зайти с двух сторон. И предложение это очень разумное и правильное. Вроде все.

**Председательствующий:** Спасибо. Теперь очередь дошла до члена-корреспондента Кочеткова Сергея Николаевича. Официальный оппонент.

**Кочетков Сергей Николаевич, член-корр. РАН, д.х.н., официальный оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).* Уважаемый Вадим Тихонович, уважаемые коллеги, я уверен, что все уже очень устали после таких длительных выступлений оппонентов и таких длительных ответов на вопросы. И уже вроде как все обсуждено и особо обсуждать нечего. Поэтому я позволю себе поделиться соображениями и эмоциями, которые я получил во время чтения этой диссертации.

Во-первых, я хочу сказать, что мне было ужасно приятно читать эту диссертацию прежде всего потому, что я знаю диссертанта очень давно. И, в общем, этот диссертант, как говорится, вырос на моих глазах, потому что еще он совсем был маленький и делал какие-то первые шаги, и как-то мы всегда все держались вместе. Это было очень приятно посмотреть, как из такого молодого и неопытного сотрудника он превратился в действительно настоящего ученого, который сам ставит задачи, несмотря на большую помощь и руководство Александра Габибовича. Он, конечно, сейчас совершенно самостоятелен, продвинулся очень далеко, в том числе по сравнению со своей кандидатской диссертацией. Кстати, я сегодня послушал и вспомнил про кандидатскую диссертацию, и у меня возник некий вопрос, который я потом задам, потому что действительно интересна связь между кандидатской Лешинной диссертацией и докторской. И, конечно, я говорю еще раз, я не хочу перечислять ничего: мы все все это слышали.

Мне хотелось бы отметить некоторые моменты, которые, говоря высоким стилем, отличают Лешин творческий метод. Вот берется какой-то факт. Иногда это факт, открытый Алексеем непосредственно, как с неубиквитинилированием. Иногда это, в общем, литературный факт, но, в общем, какое-то замечание, как было известно, что вирус Эпштейн-Барр имеет какое-то отношение к рассеянному склерозу, есть какая-то связь. Какая – в общем, было непонятно. И вот Алексей Анатольевич, в общем-то, стартуя с таких каких-то позиций, еще раз подчеркиваю, иногда литературных, иногда обнаруженных им самим в процессе экспериментальной работы, так сказать, раздраконивает эту ситуацию полностью, то есть, соответственно, всеми возможными методами, начиная от методов классической биоорганической химии, которой, конечно,

достаточно мало в этой работе, но, тем не менее, она присутствует, и она использована самым правильным и самым верным образом, и кончая методами, которые, скажем, иммунологические, которые, честно сказать, я не могу, наверное, оценить на должном профессиональном уровне. Но, во всяком случае, мы видели несколько таких направлений, когда от какого-то факта была получена полная и замечательная картина. И, в общем, конечно, я не хочу сказать, что все уже, здесь все ясно и дальше работать уже не надо, но, во всяком случае, информация, которая была получена в результате этих работ, и обобщение этой информации, конечно, дала очень много, в том числе и для будущей, наверное, медицины, хотя, опять-таки, правильно сказал совершенно Михаил Вениаминович, что мы не будем говорить, что завтра все вылечатся, используя те подходы, которые Алексей Анатольевич использовал. И, более того, тоже было правильно сказано Алексеем Анатольевичем в ответе на вопросы, что, например, пептиды – это был один из пептидов, а могут быть и другие пептиды, и так далее, и так далее. Такого рода заболевания, если мы их условно назовем, действительно, полигенными или как-то так, - там никогда не будет какого-то одного – так же, как с раком, никогда не будет чего-то такого, что принесет универсальные методы лечения: это слишком сложные системы, и они никогда не будут поддаваться подходу такому генеральному. Но, тем не менее, все это означает, что такого рода исследования – они являются необходимым этапом в нашем понимании, вообще говоря, живой природы и связанных с этой живой природой патологий. Куда нас это понимание приведет – мы сказать не можем. И, действительно, «научные правнуки» будут этим заниматься (тоже не могу не процитировать). Но, тем не менее, это очень большой этап. И я хочу прямо заранее Алексея поздравить, потому что мне это очень приятно. Я помню, какой он был такой мальчик совсем, а теперь это уже действительно такой человек, который не только сделал блестящую работу, но и прекрасно ее изложил. И мы все сами видели, насколько он владеет материалом. В отличие от оппонентов, он им владеет полностью.

Не хочу я приводить никаких особых замечаний. Но есть там, конечно, есть недостатки. Например, вывод два, где я не понимаю, почему написано совершенно в общих чертах, хотя это прекрасная работа, где доказана связь с вирусом Эпштейн-Барр. Вот тут он очень скромно написал вообще совершенно неопределенные, они какие-то непонятные вещи. Чтобы понять, что имеется в виду, надо прочитать всю диссертацию, тогда этот вывод становится понятным. Так пока он непонятен. Ну, и еще там что-то есть.

У меня заключение, которое действительно занимает много места. Опять-таки, если бы я был специалист по рассеянному склерозу, я, наверное, бы сказал, что все, это замечательное заключение. Но, например, рисунки там такие, они прекрасно выполнены,

замечательно совершенно, но, чтобы в них понять, что там имеется в виду, это надо действительно быть уже крупным специалистом в роли Алексея Анатольевича.

На самом деле, все это, конечно, ерунда. Я хочу сказать, что я хочу поздравить и Алексея Анатольевича, и Александра Габибовича с блестяще выполненной работой, которая, конечно, не кончается и которая еще будет долго, наверное, продолжаться. Глядишь, может быть, это что-нибудь даст и для медицины, мы все на это будем надеяться, потому что, конечно, рассеянный склероз – у меня была соседка, которую поразил рассеянный склероз уже в достаточно пожилом возрасте, но я это помню на всю жизнь. И, конечно, если что-то... А сейчас есть у нас с Александром Габибовичем одна общая знакомая – молодая совсем девушка, которой двадцать с чем-то лет. Вот то же самое – пока вроде ничего, но что потом будет – никто не знает. Поэтому, конечно, эта работа – она, помимо удивительно исключительного экспериментального своего содержания, она еще и благородна по своим задачам, потому что действительно облегчение страданий людей – это, собственно говоря, одна из тех немногих вещей, которую может сделать наука, – вот облегчить страдания людям. Если хоть немного, это уже большое дело и стоит тех денег, которые на это затрачены. Так что я еще раз поздравляю, Леша, и, соответственно, всех-всех благ. Спасибо.

**Председательствующий:** Спасибо. Я подозреваю, что в письменном отзыве больше замечаний, чем было сказано в выступлении устном.

**Кочетков Сергей Николаевич, член-корр. РАН, д.х.н., официальный оппонент:** Там есть, есть.

**Председательствующий:** И Алексей Анатольевич может ответить не только на устные, но и на письменные замечания тоже. Прошу.

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Я в любом случае должен выйти, чтобы сказать большое спасибо за рассмотрение диссертации и замечания. Вот они носили, наверное, больше такой редакционный характер.

Из того, что могу привести, Сергей Николаевич отметил, что обозначение аденозинтрифосфата АТФ не соответствует принятым в настоящее время нормам. Здесь вот знал бы я это месяца четыре назад – в общем, сэкономил бы довольно много времени.

**Кочетков Сергей Николаевич, член-корр. РАН, д.х.н., официальный оппонент:** Я ж забыл совсем, какой вопрос-то я хотел задать в связи с диссертацией. Можно я сразу? Извините ради Бога.

**Председательствующий:** Ну, давайте вклинимся.

**Кочетков Сергей Николаевич, член-корр. РАН, д.х.н., официальный оппонент:** Основным содержанием кандидатской диссертации Алексея Анатольевича был гидролиз каталитическими антителами основного белка миелина. Когда мы слушали докторскую, о каталитических антителах мы не слышали уже ничего. Вот мог бы Алексей Анатольевич нам разъяснить, грубо говоря, что произошло?

**Соискатель (Белогуров А.А.):**

Если честно, то «Каталитические антитела» – это была наша стартовая такая работа. И после этого, как я упоминал в начале диссертации, мы озадачились тем, каким еще образом основной белок миелина может быть процессирован. И отсюда возникли как бы и протеазы, ассоциированные с рассеянным склерозом, и протеасомы, которые являются основным внутриклеточным механизмом разрушения белков.

**Кочетков Сергей Николаевич, член-корр. РАН, д.х.н., официальный оппонент:** То есть каталитические антитела – это некий побочный эффект, грубо говоря?

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Это немного отдельная история, Сергей Николаевич. То есть это не побочный. Безусловно, они несут некую патогенную функцию. Вопрос, насколько она большая, – он до сих пор дебатруется. Но это некий отдельный процесс, это часть В-клеточного ответа при рассеянном склерозе. Но, так как это тематика более узкая, именно поэтому она и была предметом диссертационной работы, кандидатской, а уже такое рассмотрение основного белка миелина и его процессинга всеми возможными способами – оно и было выбрано как тема докторской.

**Председательствующий:** У Вас все, да? Что же, отлично. Мы успешно продвигаемся по процедуре. Дальше по процедуре у нас общая дискуссия. То есть могут выступать все, и даже научный консультант, по-моему, если есть желание, конечно. Кто хотел бы поделиться впечатлениями? Прошу, начнем с Вас.

**Деев Сергей Михайлович, чл.-корр. РАН, д.б.н., профессор, член совета:** Дорогие коллеги, я начну совсем с другого (потом поймете, какая связь с диссертацией). Мы с Сергеем Анатольевичем— мы сидим с ним на президиуме в ВАК, и должен сказать, что в последнее время стала очень большая проблема – появилось очень много апелляций на защиту диссертаций, особенно докторских. Я бы сказал, что доминирует сейчас некое сутяжничество в науке. Мне пришлось последние три заседания очень резко выступать по поводу двух докторских диссертаций, защищенных в Институте биоорганической химии, родственном нашем институте, прекрасном институте Владивостока. Были написаны бумаги по отзыву их и по лишению председателя академика Стоника поста председателя диссертационного совета. Я говорю это для того, чтобы многие это учли, кто будет дальше защищаться. Что заставляют люди делать? Включают систему «Антиплагиат» и находят

фразы, которые перед этим были защищены в кандидатских диссертациях этого человека, который руководил, писал эти статьи и помогал своим ученикам стать кандидатами наук. И, с одной стороны, это общие данные, они опубликованы в общих статьях. Но, если уж они вошли в кандидатские диссертации, то на основании того, что вот эта система «Антиплагиат», пишут апелляции. Бывает очень сложно защитить и очень сложно разобраться. Это первый момент, это с одной стороны.

С другой стороны, требования ВАК – они довольно низкие для кандидатских, для докторских. И в нашем институте они, я бы сказал, на порядок, а то и на полтора порядка выше. И вот то, что сегодня мы услышали, - это, по-моему, для большинства людей в стране недостижимый уровень докторской диссертации. И мне очень приятно, что мы все работаем в таком прекрасном институте, где делаются такие прекрасные работы, как сегодня докладывал Алексей Анатольевич. Перед этим была прекрасная работа из той же лаборатории, Иван Витальевич Смирнов докладывал. И вот это тот ориентир, который задает наш институт, и то, к чему надо стремиться. Поэтому работа – так много сказано – работа очень многоплановая. Она, конечно, намного превосходит то, что приходится слушать и видеть на ВАКе, уровень защищаемых работ. Она крайне интересная по науке, крайне полезная по содержанию. И я должен сказать, что Алексею Анатольевичу повезло, что он попал в такой коллектив, где есть такой круг единомышленников, такое прекрасное оборудование. А для того, чтобы выполнить такую сложную интересную многоплановую работу, нужно иметь прекрасное оборудование, прекрасную структуру и очень большие и очень важные контакты со специалистами как в институте, так и во всем мире. Но обычный человек не смог бы использовать все эти прекрасные возможности. Такие возможности мог использовать только человек незаурядный, исключительно талантливый, которым и является Алексей Анатольевич.

Я поздравляю с этой работой и, конечно, призываю всех голосовать «за»: это наш общий праздник. Спасибо!

**Председательствующий:** Спасибо. Есть ли желание? Виктор Ионович, прошу.

**Цетлин Виктор Ионович, чл.-корр. РАН, д.б.н., профессор, член совета:** Я фактически скажу то же самое, что Сергей. Но немножко с другим оттенком. Я эту диссертацию слышу в несколько измененном виде второй раз. Я слышал ее на предзащите. И там я выступал, и сейчас фактически повторяю то же самое. В выступлении Сергея это уже звучало. Я хочу призвать к тому, чтобы люди помнили, что есть не только завтрашний и сегодняшний день. Все кричат: «Завтра, завтра! Только молодые, только сегодня!» А давайте не забывать, что вчерашний день, не очень давний, - он тоже есть. И то, что было сказано, - что должна была быть такая лаборатория, что должен быть такой институт, куда

можно прийти, где все есть, где есть контакты, – да, и туда приходят и незаурядные люди, и просто хорошие яркие молодые люди. Я про то, чтобы в дальнейшем, когда развивается наша политика, мы отдаем предпочтение тому или иному, мы помнили о том, что такое сочетание должно быть и надо очень аккуратно относиться к тому, что есть. И, конечно, мой призыв абсолютно тот же самый, слегка в другом контексте: замечательная работа, и я с удовольствием проголосую «за», и не сомневаюсь, что все слушавшие, имеющие право голосовать, сделают то же самое. Спасибо.

**Председательствующий:** Спасибо. Все ли сказано, или еще нужно добавить? Да, прошу.

**Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета:** Моя миссия несколько легче, потому что, Вадим Тихонович, я не являюсь научным консультантом. Я неоднократно говорил, что это мое правило – я не консультирую докторские диссертации.

**Председательствующий:** Тем более. Значит, имеете полное право выступать.

**Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета:** Да. Значит, я начну свое краткое выступление с глубокой благодарности оппонентам – Михаилу Вениаминовичу, Сергею Николаевичу и Оле – за то, что они взялись за изучение столь сложной и многоплановой работы. Это я говорю очень искренне. Это действительно был большой труд. И спасибо вам большое – и за выступления, и за замечания, и мы с вами уже их обсуждали. Спасибо. Всем было трудно – с одной стороны, Михаилу Вениаминовичу как больше физиологу, вам как химикам, молекулярным биологам.

Я хочу сказать следующее. Не могу оценивать работу, потому что я автор большинства статей и мне это делать неудобно. Я считаю, что Алексей действительно очень талантливый человек. Он пришел в лабораторию – еще в молекулярную биологию или уже сюда – в возрасте девятнадцати лет, попросила моя подруга, его мама, - не знаю, расстроена она этим фактом или нет - не папа, а именно мама. Я очень хорошо помню это. Мне было очень приятно, не знаю, как Леше. Маме, по-моему, тоже ничего.

Я должен сказать, что действительно Алексей является тем положительным примером, как и Вы, Сергей Николаевич, - от диплома до докторской. Помните, Вам Евгений Сергеевич ушедший всегда говорил: «Вот у Вас такое счастье – Вы от диплома до докторской». Другие меняли свои темы. Это и плохо, и хорошо. Хорошо потому, что человек в одной теме и может все оценить. А плохо – люди могут сказать, что надо менять тематики. На самом деле, это очень сложная работа. И, действительно, Алексей смог рассмотреть целый ряд аспектов. Никто не сомневался, что вылечить рассеянный склероз с помощью докторской, как нам сказал сегодня Дмитрий Чудаков, невозможно, но есть некие продвижения. И очень приятно - я обещал, что я не буду оценивать сделанное, но

мне кажется, что очень много еще не сделано. Я знаю планы Алексея. Они, скорее всего, будут уже осуществляться в собственной лаборатории без моего непосредственного участия. А вы видите, что, конечно, нужно бы показать в дальнейшем взаимодействие, действительно, с помощью методов, которые пришли сегодня, - это криоэлектронной микроскопии, показать взаимодействие МВР с субъединицей REG.

На вопрос Романа Гербертовича я еще раз подчеркну, что это специфический белок, это naturally unfolded-протеин, поэтому на нем было произведено такое – я бы сказал, это был полигон для вот таких исследований. И из литературы, которая вам известна, работать с naturally unfolded-протеинами очень сложно.

Есть еще несколько аспектов. Я думаю, Алексей сможет прекрасно опубликовать работы, начатые им с Чехановером. Вы поняли, что «JBC», который здесь цитировался, статья его с Аароном Чехановером, – это вносило сложности в выполнение диссертации, потому что Чехановер, человек, получивший Нобелевскую премию за убиквитин-зависимую деградацию белков, конечно, очень внимательно, под лупой рассматривал все эти результаты, и то, что он согласился быть соавтором первой работы, - это, я считаю, большое достижение Алексея: он сумел его убедить, работал у него в лаборатории.

Я желаю, чтобы Алексей не останавливался на этом. Я думаю, что его не удовлетворит эта позиция, не удовлетворит то, чего он добился, - не в политическом и карьерном плане, а именно в научном. Он действительно очень ищущий человек, и, как правильно отметил Сергей Николаевич, у него такое мышление – знаете, таких очень изощренных мелких узелков, которые вдруг выстреливают (я с ним долго общаюсь) во что-то интересное. В диссертации, можно сказать, что таких два открытия: это кросс-реактивность, отмеченная здесь, и убиквитин-независимый путь. Вот если все диссертации будут иметь какие-то хотя бы миниоткрытия в нашем институте, то это будет здорово. Спасибо большое. И я не могу призвать голосовать «за», но я буду голосовать «за». Спасибо.

**Председательствующий:** Ну что, это было заключительное выступление в дискуссии или нет? Я не вижу больше желающих. Я обязан дать слово диссертанту для заключительного слова. Прошу. Перед тем, как выбирать счетную комиссию.

**Соискатель (Белогуров А.А.):** Я, как и Александр Габибович, в первую очередь, хотел бы поблагодарить своих оппонентов за тот труд, который они на себя взвалили, за их очень ценные замечания и пожелания. То же самое я хотел бы сказать в адрес ведущей организации, потому что мы там проводили семинары, было большое обсуждение и для меня тоже это было очень важно. Я хотел бы поблагодарить диссертационный совет за то, что согласился рассмотреть мою диссертацию на соискание докторской степени.

И хотел бы коротко поблагодарить моих коллег, которые принимали участие в данной работе. Безусловно, это весь коллектив лаборатории биокатализа. Отдельно я хотел бы отметить Анну Кудряеву, Екатерину Кузину, Алексея Степанова и Якова Ломакина. Это те люди, которые под моим руководством защитили кандидатские диссертации, и благодаря им эта докторская работа стала возможной. Отдельно Ивана Смирнова, который, как и Сергей Николаевич, присутствовал от первого и до сегодняшнего дня рядом. Моих руководителей, Александра Габибовича, который не является моим научным консультантом, и, конечно, безвременно ушедшую от нас Наталью Александровну, которая тоже очень много вложила и сделала для меня ценного.

Хотел бы поблагодарить ряд сотрудников нашего родного института - это лабораторию Вадима Марковича Говоруна, Сергея Михайловича, Елену Сурину, Георгия Борисовича Телегина за его неоценимую помощь в работе с животными; лабораторию Аарона Чехановера: лабораторию Александра Тоневицкого, Елену Черноловскую, Марию Зенкову и Марсея Кабилова из Новосибирского – из Института химической биологии и фундаментальной медицины; лабораторию Натальи Петровны Шаровой, Евгения Николаевича Николаева, Михаила Владимировича Дубины; Анну Бачеву из Московского государственного университета за ее неоценимую помощь в работе с протеасомой; и представителей компании «Фармсинтез» Круглякова Петра и Дмитрия Генкина за их неоценимый вклад в проведение клинических испытаний.

Ну и, безусловно, может быть, в заключение, но не в последнюю очередь я хотел бы поблагодарить мою семью за их поддержку и моих близких друзей, которые тоже сегодня здесь, за то, что они меня сопровождали на этом пути.

Ну, и последнее – хотел бы выразить свою благодарность институту и его отцам-основателям за вот эти прекрасные пятнадцать лет научного творчества, которые я здесь провел. Спасибо большое.

**Председательствующий:** Спасибо. Мы прошли всю официальную часть нашей защиты, за исключением голосования. Мы будем сейчас голосовать. У меня есть подготовленный состав счетной комиссии, я так понимаю, согласованный. Без имен, отчеств и регалий: Завриев, Лебедев и Олейников. Обычно мы легко принимаем предлагаемый с микрофона состав. Есть ли иные соображения, изменения, отводы, самоотводы, может быть? Не вижу. Возражений нет. Я считаю, что мы выбрали счетную комиссию. Я хочу сейчас объявить перерыв на голосование, но прошу не расходиться. У нас есть еще один вопрос, который мы обсудим, пока будет идти подсчет голосов. Прошу голосовать.

*(Проводится тайное голосование).*



**Председательствующий:** У меня такое ощущение, что счетная комиссия провела эту нехитрую работу. Слушаем внимательно.

**Ученый секретарь:** скажем так, считать было очень приятно. Результаты заседания и результаты подсчетов по диссертации Белогурова Алексея Анатольевича: присутствовало на заседании двадцать пять членов совета, роздано бюллетеней двадцать пять, оказалось в урне двадцать пять. Результаты: «за» - двадцать пять, «против» - нет, недействительных - нет.

**Председательствующий:** Давайте утвердим сначала. Нет возражений против утверждения? Утвердить? Утвердили. Вот теперь поздравляем с блестящей защитой. Да, и еще требуется... Я еще не сказал, что мы расходимся, тем более, что это, похоже, последняя защита, последнее заседание. Полагается выставить свои замечания по поводу проекта заключения? Есть ли таковые?

**Завриев Сергей Кириакович, член-корр. РАН, д.б.н., профессор, член совета:** Нет.

*(Проходит голосование по проекту заключения совета. Принято единогласно)*

**Председательствующий:** Дорогие коллеги, это была последняя защита перед летним перерывом. Спасибо большое за прошедший успешный год работы. Следующее заседание, я так понимаю, уже осенью – скорее всего, в октябре. Хороших вам отпусков!

Председатель диссертационного совета  
академик РАН



*(Handwritten signature)* Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор физ.-мат.наук

*(Handwritten signature)* Олейников В.А.