



ФЕДЕРАЛЬНОЕ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ  
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2  
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32  
www.fbras.ru, info@fbras.ru

17.05.2018

№ 123 07-2171-455

На № \_\_\_\_\_

от \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ

Директор федерального  
государственного  
учреждения «Федеральный  
исследовательский центр  
«Фундаментальные основы  
биотехнологии» Российской  
академии наук» (ФИЦ  
Биотехнологии РАН),  
д.х.н., профессор,  
член-корреспондент РАН  
В.О. Попов



\_\_\_\_\_ 2018 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**на диссертационную работу Белогурова Алексея Анатольевича «Биохимические основы аутоиммунной нейродегенерации», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия**

Актуальность темы обусловлена комплексной природой аутоиммунных заболеваний, в частности аутоиммунной нейродегенерации, которая активно исследуется во многих лабораториях мира. К сожалению, приходится констатировать, что к настоящему моменту так и не удалось составить полноценную картину этиологии и патогенеза аутоиммунных заболеваний, которые ежегодно уносят жизни миллионов человек. Согласно неутешительным прогнозам к 2020 году пациентов с аутоиммунными патологиями по всему миру будет более ста миллионов, причем среди них наиболее представлена

возрастная категория от 20 до 40 лет – наиболее физически и ментально развитых лиц, перманентно утрачивающих трудоспособность. Лечение пациентов с подобными патологиями значительным бременем ложится на бюджеты развитых стран. Так, только прямые потери Российской Федерации от наиболее распространенного нейродегенеративного заболевания аутоиммунной природы – рассеянного склероза – составляют десятки миллиардов рублей в год. В настоящее время множество терапевтических стратегий лечения аутоиммунных заболеваний заключаются в неспецифическом подавлении иммунитета, к примеру в использовании глюкокортикостероидов, что в значительной степени снижает тонус иммунной системы, приводя впоследствии к системным нарушениям гомеостаза. Это обуславливает острую необходимость перехода к более избирательной терапии, которая будет в значительной степени эффективней и будет способствовать радикальному снижению нежелательных побочных явлений. Решение этой задачи имеет свои фундаментальные трудности, связанные с отсутствием понимания триггерных механизмов индукции аутоиммунных заболеваний и особенностей их развития.

В связи с этим следует признать актуальной тему диссертационной работы Белогурова А.А., посвященной исследованию фундаментальных основ этиологии и патогенеза хронического нейродегенеративного заболевания аутоиммунной природы – рассеянного склероза, а также созданию новых подходов к его направленной терапии.

**Степень обоснованности, достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Для достижения цели исследования были поставлены адекватные задачи, которые удалось решить с использованием широкого набора классических и современных биоорганических, молекулярно-биологических и биохимических методов исследований, а именно электрофоретического разделения белков, иммуноблоттинга, генетической инженерии, различных видов хроматографии,

иммуноферментного анализа, масс-спектрометрии, широкомасштабного секвенирования, микрочипового транскриптомного анализа, а также поверхностного плазмонного резонанса. Достоверность представленных результатов подтверждается обширным экспериментальным материалом и статистической обработкой данных.

Результаты диссертационной работы являются приоритетными. Научно-практическая значимость рукописи не вызывает сомнений. С точки зрения развития фундаментальной науки в ходе выполнения диссертационной работы Белогуров А.А. в значительной степени расширил современное представление о молекулярных основах протекания аутоиммунной нейродегенерации. Автором было детально исследовано развитие аутоиммунной реакции адаптивного иммунитета в части его гуморального звена. Выявлены наиболее иммунодоминантные участки основного белка миелина. 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. Рациональное перемешивание тяжелых и легких цепей моноклональных миелин-реактивных антител позволило сформулировать гипотезу о главенствующей роли тяжелой цепи в связывании антигена. Эти данные вошли в цикл работ, опубликованных в виде научных статей, в том числе в таких высокорейтинговых журналах как *FASEB J* и *Frontiers in Immunology*. Большая часть работы посвящена исследованию внутриклеточной деградации основного белка миелина. Автору удалось обнаружить и детально изучить убиквитин-независимую деградацию основного белка миелина протеасомой. Несмотря на известные науке факты убиквитин-

независимого гидролиза белков протеасомой, впервые обнаружен факт разрушения физиологически важного аутоантигена по подобному механизму. Можно утверждать, что наряду со специфической аминокислотной последовательностью и ацетилированием открыт третий тип убиквитин-независимых деградонов – заряд-опосредованных.

Как было упомянуто выше, 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, слитных с панелью бактериальных токсинов и константного фрагмента иммуноглобулина. Автору удалось продемонстрировать селективное удаление популяции аутореактивных В-лимфоцитов созданными бифункциональными агентами *in vivo*. Отдельного упоминания заслуживает терапия аутоиммунной нейродегенерации высокоспецифическим ингибитором каталитической субъединицы  $\beta 1i$  протеасомы. Как и в первом случае, Белогуров А.А. провел полноценное *in vivo* исследование по этому вопросу. Полноценный цикл работ посвящен созданию, доклиническому изучению, а также клиническим испытаниям оригинального препарата Xemus, который представляет собой иммунодоминантные фрагменты основного белка миелина, инкапсулированные в малоразмерные маннозилированные липосомы. Скрупулезно изучен молекулярный механизм его терапевтического действия. За довольно короткий срок в 10 лет автор прошёл путь от идеи до практической реализации препарата. Есть все основания полагать, что вскоре для Xemus будет одобрена решающая финальная стадия клинических испытаний.

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, основаны на фундаментальных научных положениях, общепринятых теоретических закономерностях, опираются на экспериментальные данные и являются их логическим следствием. В работе нет взаимно противоречивых выводов.

**Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.** Основные результаты работы получены либо лично автором и персонально руководимыми им аспирантами и студентами, либо при его непосредственном участии, включая планирование и проведение экспериментов. Личный вклад соискателя состоит также в обработке, интерпретации, анализе и апробации экспериментальных данных и подготовке публикаций по выполненной работе.

**Полнота изложения основных результатов диссертации в публикациях автора.** Представленные результаты прошли широкую апробацию в виде докладов, в том числе пленарных, на 27 международных и всероссийских научных конференциях, симпозиумах и съездах. Основные результаты диссертационной работы отражены в 31 публикации в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК, и 1 монографии. Имеется четыре патента, два из которых международные.

**Рекомендации по использованию результатов исследования.** Результаты диссертационной работы могут способствовать появлению в клинической практике оригинальных отечественных препаратов нового поколения для лечения рассеянного склероза. Кроме того, материалы диссертации могут быть использованы в учебном процессе при чтении лекций спецкурсов по молекулярной иммунологии и биоорганической химии в Учебно-научном центре ИБХ РАН и кафедрах Химического факультета и Факультета

фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова и ряде других учебных и научных центров России, а также в ходе выполнения выпускных квалификационных работ студентами этих кафедр.

#### **Замечания по диссертационной работе.**

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 MBR 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 «β5i» 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 «TNFα» (например, рисунок 4.56В, таблица 11).

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

**Заключение.** Диссертационная работа А.А. Белогурова является самостоятельным и законченным исследованием, в котором сформулирован ряд научных положений, являющихся новыми по своей постановке и предлагаемым направлениям решения.

Диссертация Белогурова А.А. «Биохимические основы аутоиммунной нейродегенерации» полностью отвечает требованиям "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ: от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор Белогуров Алексей Анатольевич заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

Отзыв рассмотрен и одобрен на совместном семинаре лабораторий структурной биохимии белка, инженерной энзимологии, физической биохимии и молекулярной генетики (протокол № 1 от 17 мая 2018 года).

Заведующий лабораторией структурной биохимии белка  
федерального государственного учреждения  
«Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы  
биотехнологии» Российской академии наук»  
(ФИЦ Биотехнологии РАН),  
доктор биологических наук, профессор



Д.И. Левицкий

Почтовый адрес: 119071 г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2  
Тел.: +7 (495) 952-13-84  
E-mail: [levitsky@inbi.ras.ru](mailto:levitsky@inbi.ras.ru).