

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.247.01 ПО ЗАЩИТЕ
ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК, НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВНЫ БИОТЕХНОЛОГИИ» РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК»

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 30 мая 2019 г. № 17 о присуждении Хасбиуллиной
Наиле Рамилевне, гражданство Российская Федерация, ученой степени кандидата
биологических наук

Диссертация «Репертуар антигликановых антител человека в первые месяцы жизни», по специальности 03.01.04 Биохимия принята к защите 28 марта 2019 (протокол № 8) диссертационным советом Д 002.247.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, дом 33.ю строение 2. Совет утвержден Рособрнадзором Министерства образования и науки РФ, приказ « 2249-1602 от 16.11.2007 с учетом изменений в составе Совета в соответствии с приказом Минобрнауки России от 13.02.2013 г. № 74/нк и от 10.02.2014 г. № 55/нк и с учетом переименования Совета от 30.09.2015 г. № 1166/нк и от 13.03.2019 г. № 222/нк.

Соискатель

Хасбиуллиная Наиля Рамилевна (1986 года рождения) в июне 2008 г. окончила дневное отделение Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского» (биологический факультет, кафедра биохимии) по специальности «Биология». В ноябре 2010 г. поступила в аспирантуру ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова», которую окончила в октябре 2013 г.

Научный руководитель

Бовин Николай Владимирович, доктор химических наук, профессор, заведующий Отделом химической биологии гликанов и липидов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» (ИБХ РАН).

Официальные оппоненты:

Филатов Александр Васильевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России).

Мягкова Марина Александровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией иммунохимии физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ Российской академии наук» (ФГБУН ИФАВ РАН).

Выбор официальных оппонентов был обусловлен:

тем, что доктор биологических наук. Филатов Александр Васильевич, является иммунохимиком, специализирующимся на изучении антигенной структуры вирусных белков, дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека и имеющий большой опыт в разработке диагностических наборов для оценки иммунного статуса человека;

тем, что доктор биологических наук, Мягкова Марина Александровна, является специалистом в области биохимии и иммунологии, а том числе, иммунохимии, а также имеет большой опыт в разработке диагностики, основанной на определении уровней специфических иммуноглобулинов.

Квалификация оппонентов подтверждается наличием у них большого числа публикаций в рецензируемых российских и международных журналах.

Оба официальных оппонента дали положительные отзывы на диссертацию Хасбиуллиной Н.Р.

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук» (ФГБУН ИМБ РАН) в своем положительном отзыве, подписанным кандидатом химических наук, старшим научным сотрудником лаборатории биологических микрочипов ФГБУН ИМБ РАН Рубиной Аллой Юрьевной и утвержденным директором ФГБУН ИМБ РАН академиком Макаровым Александром Александровичем, указала, что диссертационная работа Хасбиуллиной Н.Р. является самостоятельной научно-квалификационной работой, которая соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. к кандидатским диссертациям, а ее автор Хасбиуллина Н.Р. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Выбор ведущей организации был обусловлен тем, что ФГБУН ИМБ РАН является признанным отечественным центром проведения фундаментальных и прикладных исследований в области иммунологии, биохимии и молекулярной биологии. В лаборатории биологических микрочипов разрабатываются и используются инновационные методы изучения иммунитета. Сотрудники ФГБУН ИМБ РАН, в том числе и указанной лаборатории, являются высококвалифицированными специалистами, ведущими исследования, непосредственно связанные с тематикой диссертационной работы Хасбиуллиной Н.Р.

В целом, высокая квалификация оппонентов и сотрудников ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность данной диссертационной работы.

Публикации

Основные результаты диссертационной работы Хасбиуллиной Н.Р. изложены в 7 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, что соответствует требованиям п. 11 «Положения о присуждении научных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842:

1. Shilova N., Navakouski M., **Khasbiullina N.**, Blixt O., Bovin N. Printed glycan array: antibodies as probed in undiluted serum and effects of dilution // *Glycoconj J.* 2012. Т. 29. № 2-3. С. 87-91.

2. Shilova N., Huflejt M., Viscovic M., Obukhova P., Navakouski M., **Khasbiullina N.**, Pazynina G., Galanina O., Bazhenov A., Bovin N. Natural antibodies against sialoglycans // *Top Curr Chem.* 2015. Т. 366. С. 169-181.

3. **Khasbiullina N.**, Bovin N. Hypotheses of the origin of natural antibodies: a glycobiologist's opinion // *Biochemistry (Mosc).* 2015. Т. 80. № 7. С. 820-835.

4. Bello-Gil D., **Khasbiullina N.**, Shilova N., Bovin N., Manez R. Repertoire of BALB/c mice natural anti-carbohydrate antibodies: mice vs. humans difference, and otherness of individual animals // *Front Imm.* 2015. Т. 6. № 8. С. 1449.

5. Зиганшина М.М., Шилова Н.В., **Хасбиуллина Н.Р.**, Новаковский М.Е., Николаева М.А., Кан Н.Е., Вавина О.В., Николаева А.В., Тютюнник Н.В., Сергунина О.А., Бот И., Тютюнник В.Л., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. Аутоантитела к антителам эндотелия при преэклампсии // *Акушерство и гинекология.* 2016. № 3. С. 24-31.

6. **Хасбиуллина Н.Р.**, Шилова Н.В., Полякова С.М., Ракитько А.С., Нокель А.Ю., Бовин Н.В. Естественные антитела в диагностике и прогнозировании патологий беременности // *Журнал акушерства и женских болезней.* 2017. Т. 66. № 5. С. 85-86.

7. **Khasbiullina N.**, Shilova N., Navakouski M., Nokel A., Knirel Y., Blixt O., Bovin N. Repertoire of Abs primed by bacteria in gnotobiotic mice // *Innate Immun.* 2018. Т. 3. С. 180-187.

Результаты работы также были опубликованы в материалах 10 конференций и представлены на всероссийских и международных конференциях.

1. **Хасбиуллина Н.Р.**, Новаковский М.Е., Тимофеева Л.А., Шилова Н.В., Бовин Н.В. Антиуглеводные антитела в сыворотке крови новорожденных, сборник тезисов IV Всероссийской школы-конференции «Химия и биохимия углеводов», 2011, с. 42-43.

2. **Хасбиуллина Н.Р.**, Новаковский М.Е., Тимофеева Л.А., Шилова Н.В., Бовин Н.В. Формирование репертуара антиуглеводных антител человека, сборник тезисов XXIV Зимней молодежной научной школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии», 2012, с. 67.

3. **Хасбиуллина Н.Р.**, Бликст О., Новаковский М.Е., Шилова Н.В., Бовин Н.В. Генезис антигликановых естественных антител человека, сборник тезисов «I Всероссийской конференции «Фундаментальная Гликобиология», 2012, с. 104.

4. **Khasbiullina N.**, Shilova N., Navakouski M., Timofeeva L., Kumar S., Schwartz-Albiez R., Sorensen R., Inostroza J., Bovin N., Blixt O. Formation of natural anti-carbohydrate antibody repertoire, 5th Baltic Meeting on Microbial Carbohydrates, 2012, с. 26.

5. **Khasbiullina N.**, Shilova N., Navakouski M., Timofeeva L., Kumar S., Schwartz-Albiez R., Sorensen R., Inostroza J., Bovin N., Blixt O. The origin of natural anti-glycan antibodies: first 12 months of life, Eurocarb №17, 2013, с. 36.

6. **Хасбиуллина Н.Р.**, Шилова Н.В., Новаковский М.Е., Кумар С., Шварц-Альдайтц Р., Соренсен Р.У., Иностроза Ж., Бовин Н.В., Книрель Ю.А., Бликст О. Формирование репертуара антиуглеводных антител человека в первые месяцы жизни, сборник тезисов XXVI Зимней молодежной научной школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии», 2014, с. 23.

7. **Хасбиуллина Н.Р.**, Новаковский М.Е., Шилова Н.В., Бликст О., Книрель Ю.А., Бовин Н.В. Антиуглеводные антитела мышей-гнотобиотов как результат колонизации различными видами бактерий, сборник тезисов VII Всероссийской школы-конференции «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой: углеводные детерминанты в межорганизменных взаимодействиях», 2014, с. 59.

8. **Khasbiullina N.**, Shilova N., Navakouski M., Kumar S., Schwartz-Albiez R., Sorensen R., Inostroza J., Knirel Y., Blixt O., Bovin N. The repertoire of natural anti-glycan antibodies during first year of life, 3rd International Conference and Exhibition on Probiotics, Functional and Baby Foods, 2014, с. 99.

9. **Хасбиуллина Н.Р.**, Новаковский М.Е., Шилова Н.В., Бликст О., Книрель Ю.А., Бовин Н.В. Генезис антигликановых антител, в сборнике тезисов III Всероссийской конференции «Фундаментальная Гликобиология», 2016, с.39.

10. **Khasbiullina N.**, Bello-Gil D., Dobrochaeva K., Obukhova P., Shilova N., Knirel Y., Manez R., Bovin N.V. Natural antibodies in mice. Whether the mouse to replace the human? 19th European Carbohydrate Symposium, 2017, с. 713.

В перечисленных публикациях адекватно отражены результаты экспериментальной работы, проведенных в рамках выполнения диссертации.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента, доктора биологических наук, Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России), заведующего лабораторией иммунохимии Филатова А.В. (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

- Большой интерес представляют полученные данные о передаче от матери к ребенку антител класса IgG. Н.Р. Хасбиуллиной было отмечено только частичное совпадение репертуаров антител матери и ребенка. Были определены специфичности антител, которые в высоком титре присутствуют у матери, но соответствующие

иммуноглобулины совсем не детектируются у детей (таблица 6). Логично было завершить сделанное наблюдение и констатировать, что у детей не обнаруживались антитела, которые отсутствовали у матери.

- Не совсем четко описана химия иммобилизации лигандов на гликочипе. В частности, описывая усовершенствованный метод печати, автор констатирует, что «ковалентная связь (сложноэфирная) образуется между первичными гидроксильными группами полимера». При этом не указывается с какими группами реагируют гидроксильные группы полимера.

- Хасбиулина Н.Р. справедливо замечает, что у больных раком молочной железы достоверно снижены антитела против дисахарида Le^c , однако формулировка, что «эти иммуноглобулины ассоциированы с раком молочной железы» плохо подходит для описания этого явления. В разделе Выводы дается полностью корректная формулировка, что «для антител к Le^c предполагается функция надзора за появлением опухолевых клеток».

Отзыв официального оппонента, доктора биологических наук, Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ Российской академии наук» (ФГБУН ИФАВ РАН), заведующей лабораторией иммунохимии физиологически активных веществ Мягковой М.А. (положительный). В отзыве отсутствуют принципиальные замечания на диссертационную работу Хасбиуллиной Н.Р., однако указывается на несколько недочетов и опечаток: «Таблицу №4 в разделе "Материалы и методы", в которой перечислены использованные в работе реактивы, было бы целесообразно представить в виде текста с более подробным описанием. Например, использованных лектинов, с расшифровкой их сокращенных названий. Также, при описании источников сыворотки крови животных и людей выбран слишком мелкий шрифт, и данные представлены в виде сносок к основному тексту, что затрудняет чтение. В тексте имеются неточности в формулировках и опечатки.

Отзыв ведущей организации – Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук» (ФГБУН ИМБ РАН) (положительный). Отзыв содержит ряд вопросов и замечаний:

- из текста диссертации не ясно, какая часть работы проводилась на пластиковых чипах;

- недостаточно подробно описано, по какому принципу производился отбор пластиковых материалов. На странице 52 приведен перечень большого количества пластиков, которые далее в работе не обсуждаются;

- отсутствует подробное описание печати и химии иммобилизации гликанов с полиакриламидным спейсером;

- в списке использованных в работе сокращений отсутствуют некоторые аббревиатуры;

- в тексте обнаруживаются опечатки и незначительные неточности в формулировке некоторых понятий.

На автореферат поступили положительные отзывы от:

Антиповой Надежды Викторовны, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории мембранных и биоэнергетических систем ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, замечаний нет.

Морозова Алексея Владимировича, кандидата биологических наук, научного сотрудника лаборатории регуляции внутриклеточного протеолиза ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, замечаний нет.

Сенникова Сергея Витальевича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», замечаний нет.

Еремина Сергея Александровича, доктора химических наук, профессора, ведущего научного сотрудника кафедры химической энзимологии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», замечаний нет.

Лахтина Владимира Михайловича, доктора биологических наук, главного научного сотрудника отдела ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора РФ, замечаний нет.

В дискуссии принимали участие: Бовин Н.В., Крицкий М.С., Тупицын Н.Н., Капрельянц А.С.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены следующие **основные результаты**:

1. Близкий к полноценному репертуар антигликановых иммуноглобулинов формируется у мышей, которым однократно интестинально вводили широкий набор антигенов микробиоты. В группе инбредных BALB/c SPF-мышей, несмотря на их близкое генетическое родство и сходные условия содержания, наблюдаются вариации в репертуаре антигликановых иммуноглобулинов. Полученные данные хорошо согласуются с гипотезой о ключевой роли микробиоты в премировании В1-клеток и последующей продукции ими естественных антител.

2. В возрасте 3 и 6 месяцев антигликановые антитела класса IgM у детей практически не обнаруживаются, а к 12 месяцам их репертуар сопоставим со взрослым человеком, однако в нем отсутствуют иммуноглобулины специфичные к дисахариду Le^C, которые выявляются в высоком титре практически у всех взрослых людей. Так как для антител к Le^C предполагается функция надзора за появлением опухолевых клеток, то антиген Le^C можно отнести к онкоэмбриональным. Максимальное разнообразие IgG наблюдается в 3 месяца; в 6 и 12 месяцев разнообразие и титры иммуноглобулинов этого класса уменьшаются.

3. Максимальное разнообразие антигликановых IgM наблюдалось в группе детей, питавшихся смесью, изготовленной на основе частично гидролизованного белка, в то время как минимальное – в группе детей, питавшихся материнским молоком, которое, по-видимому, гармонизирует процесс формирования естественных иммуноглобулинов. Питание напрямую или опосредованно (через микрофлору) влияет на репертуар антигликановых иммуноглобулинов.

4. Репертуары антигликановых иммуноглобулинов при нормальной и патологически протекающей беременности достоверно отличаются, что стало основой разработки молекулярной диагностики отклонений при беременности.

5. Гликочип как инструмент исследования репертуаров антигликановых иммуноглобулинов, существенно улучшен за счет использования пластика в качестве материала для подложки, а также нового подхода к химии иммобилизации лигандов.

Теоретическая значимость исследования заключается в том, что:

в данной работе было проведено исследование репертуаров антигликановых антител человека (АГАТ) с момента рождения до двенадцатого месяца жизни; были найдены диагностически значимые АГАТ у пациенток, страдающих патологиями беременности. С помощью исследований, проведенных на модельных животных, было показано, что репертуар антигликановых иммуноглобулинов формируется в результате активации В-клеток, а не иммунизации в классическом представлении. Обнаружена необычная динамика материнских IgG в крови детей в первые месяцы их жизни. Обнаружена избирательность передачи IgG от матери к ребенку. Предложена новая методология иммобилизации гликанов на чипе.

Практическая значимость исследования заключается в том, что:

Полученные данные по диагностически значимым иммуноглобулинам востребованы клиницистами в области акушерства и гинекологии; на основе этих данных предпринимаются практические шаги по валидации тест-систем для выявления преэклампсии и синдрома задержки развития плода. Усовершенствование методики печати гликочипов позволяет уменьшить расход гликанов и упростить контроль их качества.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- использованные методики исследования и проведенные расчеты корректны;
- достоверность полученных данных не вызывает сомнений;

- выводы диссертационной работы четко сформулированы и отражают наиболее значимые результаты работы.

Личный вклад соискателя состоит:

- в получении результатов работы лично автором, либо при его непосредственном участии, включая планирование и проведение экспериментов;
- в обработке, интерпретации и анализе экспериментальных данных;
- в подготовке публикаций по выполненной работе.

Заключение

Диссертация Хасбиуллиной Н.Р. является законченной научно-квалификационной работой, что подтверждается наличием логичного плана исследования, использованием современных методов, взаимосвязанностью выводов и результатов, а также публикациями в рецензируемых журналах (7 статей). Таким образом, из представленных материалов следует, что данная работа выполнена на высоком методическом уровне и содержит решение научной задачи, имеющее важное значение для биохимии иммуноглобулинов, и соответствует требованиям, предъявленным к кандидатским диссертациям, и автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.01.04 – Биохимия.

На заседании 30 мая 2019 года диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 12 докторов биологических наук, 5 докторов химических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета Д 002.247.01, постановил:

«За» присуждение ученой степени - 18,

«Против» - нет,

Недействительных бюллетеней - нет,

Заместитель председателя диссертационного совета

ФИЦ биотехнологии РАН

Доктор биологических наук, профессор


М.С. Крицкий

Ученый секретарь диссертационного совета

ФИЦ биотехнологии РАН

Кандидат биологических наук

«30» мая 2019 г.




А.Ф. Орловский