

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки "Институт
проблем нефти и газа Российской академии наук"



доктор геолого-минералогических наук,
профессор Абукова Лейла Азретовна

"5" июня 2017 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Гибизовой Виктории Валерьевны "Особенности рассеяния света в растворах глобулярных белков сыворотки крови с металлосодержащими соединениями", представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика.

Диссертационная работа Гибизовой В.В. посвящена экспериментальному исследованию оптическими методами растворов, содержащих основные белки сыворотки крови (альбумин и γ -глобулин) при добавлении металлосодержащих веществ: хлорида железа III, железосодержащего препарата "Мальтофер" и наночастиц золота. Основная часть экспериментальных результатов получена методами динамического и статического рассеяния света.

Актуальность работы связана с перспективностью использования оптических методов для исследования белковых макромолекул. Белки являются жизненно важными составляющими элементами живой природы. Благодаря разнообразию их строения, они выполняют множество функций. Параметры белковых макромолекул могут являться индикаторами паталогических изменений в живом организме. Альбумин является основным белком плазмы крови, он обеспечивает коллоидно-осмотическое давление крови, регулирует вместе с другими белками плазмы рН крови, является переносчиком различных метаболитов и лекарственных препаратов. В настоящее время активно разрабатываются новые способы лечения и диагностики, основанные на металлосодержащих соединениях. Тем не менее, превышение допустимой дозы веществ в организме может привести к нарушению нормального течения физиологических процессов.

Диссертационная работа Гибизовой В.В. изложена на 135 страницах, содержит введение, литературный обзор, 4 главы, заключение и список литературы из 110 наименований, а также включает 54 рисунка и 12 таблиц.

Во **введении** сформулированы цель и задачи исследования, обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы положения, выносимые на защиту. Литературный обзор содержит труды, как отечественных, так и зарубежных авторов, включает статьи, посвященные оптическим методам и исследованиям белковых макромолекул.

В **первой главе** рассмотрены теоретические основы исследования. Описаны основы статического и динамического рассеяния света, представлены методы флуоресцентной и ИК-спектроскопии. **Вторая глава** посвящена экспериментальному оборудованию, приведены

часть работы выполнена на оптической установке "Photocor Complex", в основе которого лежит спектрометр динамического рассеяния света, что позволяет получить коэффициент трансляционной диффузии и молекулярную массу рассеивающих частиц. **Третья глава** включает описание исследуемых веществ, их основные параметры и характеристики.

В **четвертой главе** представлены экспериментальные результаты. В диссертационной работе изучены водные растворы, содержащие белки альбумин и γ -глобулин при добавлении наночастиц золота. Получены зависимости коэффициента трансляционной диффузии от концентрации наночастиц золота при добавлении а) альбумина, б) γ -глобулина. Аналогичные зависимости получены для трех смесей данных белков, соответствующих моделям а) здорового пациента, б) больного пациента и в) зоне риска при добавлении наночастиц золота. Получены концентрационные зависимости параметра рассеяния для разбавленных растворов нативных образцов сыворотки крови больных и здоровых пациентов, как при добавлении наночастиц золота, так и без. Проведен качественный анализ спектра для водных растворов белка альбумина при добавлении наночастиц золота.

Построены концентрационные зависимости коэффициента трансляционной диффузии как для чистых водных растворов белка альбумина, так и при добавлении хлорида железа III для трех концентраций: 1) $c(\text{Fe}^{3+})=0.28$ мг/мл, что соответствует пониженному содержанию железа в крови человека, 2) $c(\text{Fe}^{3+})=1.12$ мг/мл, что соответствует нормальному содержанию железа в крови человека 3) $c(\text{Fe}^{3+})=3.35$ мг/мл, что соответствует повышенному содержанию железа в крови человека.

Были определены коэффициент межмолекулярного взаимодействия для растворов БСА при добавлении хлорида железа III и молекулярная масса рассеивающих частиц методом статического рассеяния света.

Концентрационные зависимости параметра рассеяния и коэффициента трансляционной диффузии получены как для чистых водных растворов белков альбумина и γ -глобулина, так и для их смеси при добавлении препарат "Мальтофер" для нескольких концентраций последнего.

В **заключении** диссертации приводятся выводы, обобщающие результаты проведенных исследований, в соответствии с заявленными целью и задачами работы.

К наиболее интересным результатам работы следует отнести следующие:

1. Было выявлено, что наночастицы золота, стабилизированные ПЭГ в исследуемом диапазоне концентраций не оказывают влияния на белок альбумин, но имеет место уменьшение молекулярной подвижности в случае белка γ -глобулина. Аналогичная ситуация наблюдается и в случае модельных растворов сыворотки крови человека. В случае добавления исследуемых наночастиц золота в разбавленные растворы нативных образцов сыворотки крови больного пациента наблюдается изменение наклона параметра рассеяния, он меняется с отрицательного на положительный.

2. Для водных растворов γ -глобулина было получено, что коэффициент трансляционной диффузии не изменяется при добавлении хлорида железа III, а в случае альбумина показано, что масса рассеивающих частиц увеличивается при незначительном увеличении гидродинамического радиуса.

3. При изучении медицинского препарата "Мальтофер" было обнаружено, что подвижность молекул альбумина уменьшается с ростом концентрации ионов железа в растворе, при этом также растет масса рассеивающих частиц. Данный эффект выражен слабее в случае γ -глобулина.

К сожалению, представленная работа не свободна от недостатков:

1. Вызывает сомнение интерпретация наличия второго пика в распределении частиц по размерам (рис.40, рис.42). Объяснение появления этого пика негауссовостью статистики рассеяния за счет малой концентрации частиц в рассеивающем объеме кажется маловероятным, простые оценки показывают, что это не так. Более естественным представляется наличие больших частиц в растворе за счет агрегации части молекул белка. Это вполне можно было проверить, профильтровав исследуемый раствор через фильтр с подходящим размером пор. Далее можно было бы работать с более чистым образцом.

2. В диссертации отсутствует объяснение, почему часть результатов, полученных методом динамического рассеяния света, представляются в величинах радиуса наночастиц белка, а другая часть - в величинах коэффициента диффузии. В случае сильно разбавленных растворов, которые исследовались в данной работе, эти две величины жестко связаны и непонятно почему для всех графиков не выбрана единая более наглядная величина размера частиц.

3. К сожалению, в работе отсутствует суммарный график, представляющий интересные результаты, полученные автором и относящиеся к ранней диагностике онкориска. Было исследовано порядка 30 человек с онкологическими заболеваниями и около 60 здоровых людей. Кажется крайне важным продемонстрировать эффективность и надежность предлагаемого диагностического параметра.

4. Можно отметить некоторые терминологические и оформительские погрешности диссертации. В разных разделах работы автор использует синонимы названия метода - *Динамическое рассеяние света (ДРС)* и *Фотонная корреляционная спектроскопия*, хотя было бы логичнее использовать единый термин во всем тексте работы. Кажется также излишним подробное описание в тексте работы всех используемых для проведения исследований приборов.

Указанные замечания не снижают общей высокой оценки представленной диссертационной работы. Полученные экспериментальные результаты не вызывают сомнений. Выводы являются обоснованными и достоверными. Полученные в работе результаты позволяют продвинуться в понимании процессов, происходящих в живом организме. Это подтверждает актуальность практическую значимость проведенных исследований. Можно надеяться, что методы рассеяния света, успешно использованные в работе Гибизовой В.В., могут стать стандартными диагностическими методами для медицины, в том числе, например, и для объективной ранней диагностики онкориска.

Данные, полученные в диссертационной работе, вносят существенный вклад в оптические исследования белковых молекул, и представляют интерес для ряда научных коллективов, работающих над смежными проблемами в ИОФАН им. А.М. Прохорова, Российском химико-технологическом университете им. Д.И. Менделеева, Физическом институте им. П.Н. Лебедева, на Химическом факультете МГУ, ИХФ им Н.Н. Семенова РАН, Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН, ИФАВ РАН, Институте спектроскопии РАН, РОНЦ им. Н.Н. Блохина и других организациях.


Основные результаты диссертационной работы апробированы на четырнадцати международных и всероссийских конференциях и опубликованы в виде 6 статей в рецензируемых журналах, а также пять статей в сборниках и трудах конференций.

Автореферат диссертации объективно и полно отражает ее содержание, а положения, выносимые на защиту, соответствуют основным результатам работы.

Диссертация Гибизовой Виктории Валерьевны "Особенности рассеяния света в растворах глобулярных белков сыворотки крови с металлосодержащими соединениями" удовлетворяет всем требованиям Положения "О порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 - оптика.

Диссертационная работа Гибизовой В.В. доложена и обсуждена на заседании лаборатории фазовых переходов и критических явлений 29 мая 2017 г.

Руководитель лаборатории
фазовых переходов и критических явлений,
кандидат физико-математических наук



Поднек Виталий Эдуардович

Отзыв подготовил:
ведущий научный сотрудник лаборатории
фазовых переходов и критических явлений,
кандидат технических наук



Юдин Игорь Кронидович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт проблем нефти и газа Российской академии наук» института проблем нефти и газа Российской академии наук

119333 Москва, ул. Губкина, д.3,
Институт проблем нефти и газа РАН,
телефон: 8(910)4565698
e-mail: ikyudin@gmail.com