

ОТЗЫВ

официального оппонента Иванова Андрея Валентиновича
на диссертационную работу **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».

Металлосодержащие соединения давно используются в биомедицинских исследованиях и практической медицине и сфера их применения ширится. Разработка новых средств и методов медицинской диагностики и лечения социально значимых заболеваний во многом связана с использованием металлосодержащих соединений и наночастиц. На основе наноконплексов лантанидов с порфиринами разрабатываются методы люминесцентной диагностики злокачественных новообразований, предлагаются контрастирующие агенты для магниторезонансной томографии, создаются магнитоактивные препараты для гипертермии и термохимиотерапии, наночастицы металлов для термотерапии на основе плазмонного резонанса и многофункциональные наноконпозиты для тераностики. Необходимым условием их применения является оценка их токсичности, в частности, влияния их на основные белки сыворотки/плазмы крови.

Наиболее распространенным и необходимым металлом в организме человека является железо. Этот элемент принимает участие в процессах кроветворения, дыхания, участвует в биосинтезе ДНК и генерации АТФ в цикле Кребса, входит в состав многих ферментов. Кроме того, ионы железа задействованы в специализированных функциях нейронов и иммунной системы. Нарушение его баланса в организме может приводить к развитию патологических состояний, запускаемых посредством взаимодействия с белками крови. Работа В.В.Гибизовой посвящена актуальной проблеме: исследованию влияния солей железа и наночастиц золота на свойства основных белков сыворотки крови методами рэлеевского рассеяния света.

Диссертация построена по классической схеме и состоит из введения, литературного обзора, 4-х глав, посвященных описанию методов исследования,

использованной аппаратур и материалов исследования, раздела собственных результатов, их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 135 страницах машинописного текста, включая список литературы и иллюстрации, содержит 54 рисунка, 12 таблиц и 110 ссылок на работы отечественных и зарубежных авторов.

Во **Введении** обоснована актуальность выбранной темы диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследований, основные положения, выносимые на защиту, новизна, научная и практическая значимость полученных результатов, представлен объем апробации результатов.

В **Литературном обзоре** приводится описание состояния рассматриваемой проблемы о взаимодействии белков сыворотки крови с ионами металлов. Кратко, но информативно представлены данные о метаболизме железа в организме. Анализируются немногочисленные литературные данные по взаимодействию солей железа и наночастиц золота с сывороточными белками и роль методов рэлеевского рассеяния света в этих исследованиях. Правда, некоторые приведенные количественные параметры плохо коррелируют между собой. Так, не очень стыкуются данные по количеству железа в организме человека 3 – 4 г (с. 15) с указанным на с.18 количеством высвобождающегося в сутки железа за счет распада гемоглобина 21 – 24 г.

Глава 1. В ней рассматриваются теоретические основы методов исследования, в частности, вопросы взаимодействия молекул в растворах белков, содержащих ионы металлов, а также основные положения теорий, на базе которых разработано оборудование, используемое в работе. В диссертационной работе использовались в основном методы динамического и статического рассеяния света, которые позволяют определить такие параметры исследуемых систем, как коэффициент трансляционной диффузии, по которому оценивается гидродинамический радиус рассеивающих частиц, молекулярную массу и второй вириальный коэффициент, который позволяет учесть межмолекулярные взаимодействия. В краткой, но достаточно информативной форме изложены основы теории рассеяния света в растворах, основные понятия и характеристики флуоресцентной спектроскопии и ИК-спектроскопии.

В **Главе 2** описывается научное оборудование, использованное при выполнении исследований. Основные результаты диссертационной работы получены на приборе «Photocor Complex», предназначенном для многоугловых измерений динамического и статического рассеяния света и измерения размеров частиц. Для получения ИК спектров использовался ИК-спектрометр *IFS 66 v/S* немецкой фирмы *Bruker*. спектры пропускания исследовались на спектрофотометре *UNICO SQ-4802*, а флуориметрические измерения проводились на белорусском спектрофлуориметре *СМ 2203*. Используемая в работе современная аппаратура гарантировала высокую точность и надежность проводимых измерений и, соответственно, получаемых результатов.

Глава 3 посвящена описанию объектов исследования. В работе исследовались водные растворы бычьего сывороточного альбумина и γ -глобулина (немецкой фирмы «Sigma»), растворы нативной сыворотки крови человека и металлосодержащие соединения: хлорид железа III, железосодержащий препарат «Мальтофер», наночастицы золота. Приведены характеристики изучаемых объектов, их роль и основные функции в организме, области использования и способы применения.

Глава 4 посвящена непосредственно изложению результатов работы. Следует особо отметить скрупулезность в описании технологии пробоподготовки образцов и проведение калибровочных измерений с помощью стандартных латексов диаметром 100 нм. Правда, уже существуют эталонные частицы 10 нм, 30 нм и 60 нм, размеры, которых лежат в диапазоне размеров исследуемых наноконплексов.

В процессе выполнения работы был получен ряд новых интересных результатов. Впервые показано, что при добавлении хлорида железа III в раствор альбумина имеет место процесс ионной адсорбции, что значительно увеличивает среднюю массу рассеивающих частиц при почти неизменном их гидродинамическом радиусе. В то же время не выявлено взаимодействия γ -глобулина с хлоридом железа III.

Показано, что при увеличении концентрации препарата «Мальтофер» подвижность молекул альбумина уменьшается с ростом концентрации препарата в растворе, что свидетельствует о взаимодействии препарата с молекулами альбумина. Данный эффект выражен значительно слабее в случае

растворов γ -глобулина, что вполне коррелирует с данными по взаимодействию «чистых» ионов железа III с белками.

Обнаружено новое неожиданное явление: в случае разбавленных растворов нативных образцов сыворотки крови условно здоровых добровольцев с добавлением наночастиц золота знак коэффициента межмолекулярного взаимодействия не меняется, а в образцах крови онкологических больных меняется на противоположный. Происходит как бы «нормализация» параметров сыворотки. Это явление ещё требует своего объяснения, но важен сам факт его обнаружения.

Выводы адекватно отражают результаты работы и обобщают результаты проведенных исследований, в полном соответствии с заявленными целью и задачами работы.

Защищаемые научные положения и выводы диссертации базируются на проведенном автором анализе научной литературы по механизмам взаимодействия белков с ионами металлов в растворах и методам их исследования, а также на большом экспериментальном материале, полученном диссертанткой самостоятельно в систематических исследованиях, выполненных на высоком научно-методическом уровне.

Основные результаты диссертационной работы В.В. Гибизовой опубликованы в рецензируемых научных журналах, 6 из которых в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, в профильных сборниках научных трудов и неоднократно докладывались на национальных и международных конференциях различного уровня, всего 25 публикаций.

Новизна полученных результатов подтверждается анализом работ других авторов по данной тематике, а также публикацией результатов диссертации в рецензируемых журналах.

Достоверность результатов диссертации определяется использованием В.В.Гибизовой современной сертифицированной аппаратуры, проведением экспериментов на большом количестве образцов с многократным повторением, тщательной отработкой методики измерений, использованием современных

методов обработки данных. Успешная апробация результатов работы на научных форумах и в рецензируемых журналах не вызывает сомнения в их достоверности.

Автореферат адекватно отражает основное содержание диссертации. Содержание диссертации соответствует специальности 01.04.05 – «оптика».

Замечаний принципиального характера работа не имеет. Однако:

1. Используется не очень удачное словосочетание (с. 9): « образцов сыворотки крови здоровых и больных пациентов». Нет «здоровых пациентов», есть, как говорят врачи, «недообследованные»! Правильнее было бы «... условно здоровых волонтеров и больных пациентов».

2. В Табл. 6 (с. 78) помимо количественного (весового) соотношения «альбумин-глобулин» было бы полезно указать их рабочие концентрации.

3. В разделе 4.1.4 (с.87-88) из анализа ИК-спектров пропускания получено подтверждение об отсутствии взаимодействия наночастиц золота с альбумином. Однако, почему-то нет подобного исследования с γ -глобулином, который по данным светорассеяния взаимодействует с наночастицами золота.

4. В библиографии часть ссылок приведена не в полном виде; отсутствуют либо указание вида издания, либо страниц (53, 68, 69, 80, 110

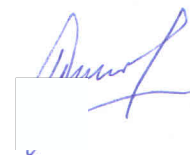
5. Приходится отметить недостаточную «вычитанность» работы, встречаются досадные грамматические опечатки.

Отмеченные недостатки в основном редакционно-корректорского плана несколько сглаживают положительное впечатление от диссертации, но не являются определяющими при общей высокой оценке уровня работы в целом и не снижают научной и практической ценности работы.

Диссертационная работа Гибизовой Виктории Валерьевны выполнена на высоком научно-методическом и экспериментальном уровне и представляет собой самостоятельную законченную научную квалификационную работу в области спектрально-оптических методов исследования биологических макромолекул, содержащую оригинальные результаты, совокупность которых вносит вклад в создание научно-методической базы оптических технологий в биомедицинских исследованиях.

Таким образом, по объёму выполненных исследований, актуальности, научно-практической значимости и новизне полученных результатов диссертационная работа «**Особенности рассеяния света в растворах глобулярных белков сыворотки крови с металлосодержащими соединениями**» полностью соответствует требованиям п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (ред. от 30.07.2014), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – **Гибизова Виктория Валерьевна** – заслуживает присуждения искомой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – «оптика».

Официальный оппонент
ведущий научный сотрудник
лаборатории экспериментальной
диагностики и биотерапии опухолей
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина»
Минздрава России
доктор физико-математических наук,



31.05.2014

Иванов Андрей Валентинович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

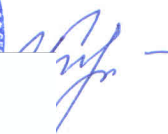
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., д. 24.
Тел./факс +7(499) 3249294, E-mail: ivavi@yandex.ru

Подпись ведущего научного сотрудника доктора физико-математических наук Иванова А.В. заверяю

Учёный секретарь
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина»

Минздрава России

кандидат медицинских наук



И.Ю. Кубасова