

### Отзыв

Председателя диссертационного совета о диссертационной работе **Слюсаренко Марии Александровны «Двухфазная полимерная система ПЭГ-декстран и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови»**, представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7 - высокомолекулярные соединения.

Диссертационная работа Марии Александровны Слюсаренко связана с рассмотрением двухфазной полимерной системы на основе декстрана и полиэтиленгликоля (ПЭГ) с точки зрения возможности выделения с ее помощью везикулярных объектов из многокомпонентных биологических жидкостей. Выделение определенных везикулярных объектов из гетерогенных многокомпонентных биологических сред представляет собой технологически сложную, но очень важную задачу. Объектами выделения и анализа возможности формирования их устойчивых контактов с используемыми полимерами в диссертационной работе являются экзосомы, циркулирующие в плазме крови. Интерес к исследованию этих объектов чрезвычайно высок в настоящее время. Предполагается, что экзосомы (микровезикулы размером 40–100 нм), выделяемые в межклеточное пространство клетками, осуществляют межклеточную коммуникацию, и в ряде случаев они могут играть ключевую роль в регуляции иммунных реакций организма, в транспорте патогенных форм белков и малых РНК. Рецепторы на поверхности мембраны экзосом обеспечивают адресную доставку содержимого в определенные клетки. В связи с этим их выделение и анализ представляет интерес для диагностики и мониторинга развития различных заболеваний. Они могут служить также объектами манипулирования при создании лекарственных средств нового поколения. Таким образом, актуальность и практическая значимость темы диссертационного исследования Слюсаренко М.А. несомненна.

Новизна предлагаемого в диссертационной работе подхода заключается в определении условий для применения двухфазной полимерной системы полиэтиленгликоль - декстран для выделения везикул из многокомпонентных биологических сред, в подборе экспериментальных методов для анализа компонентов изучаемой системы. Следует отметить, что сами двухфазные полимерные системы (ДПС), которые представляют собой объединение полимеров с различным сродством к используемому растворителю, уже требуют тщательного подбора соответствующих методик. Их применение для выделения определенных компонентов биологических жидкостей, отличающихся значительной гетерогенностью, представляется весьма сложной и трудновыполнимой задачей. Как уже отмечалось выше, при анализе таких систем ключевую роль играет выбор адекватных экспериментальных методов исследования, обоснованность их применения, возможность использования теоретических основ методов для определения интересующих параметров сложных систем и их компонентов. Набор используемых методов исследования динамическое и статическое (упругое) рассеяние света, вискозиметрия, спектрофотометрия, анализ траекторий наночастиц, рамановское рассеяние, просвечивающая электронная криомикроскопия, атомная силовая микроскопия, проточная цитометрия и ряд других методик) впечатляет. Он включает в себя и гидродинамические методы, которые дают некие средние характеристики изучаемых многокомпонентных систем, и методы прямого наблюдения, Это является несомненным плюсом рассматриваемой диссертационной работы. Приведенные в работе данные показывают, что Слюсаренко М.А. выполнена большая методическая работа по подбору условий экспериментов, приготовлению образцов, обоснованию предлагаемых подходов.

33-06-1043 от 13.10.2022

Диссертационная работа Слюсаренко М.А. состоит из введения, обзора литературы по теме исследования (Глава 1), описания методов исследования (Глава 2), двух глав (Глава 3 и Глава 4), посвященных описанию, анализу и обобщению полученных в работе экспериментальных данных, выводов и списка цитируемой литературы (140 источников). Также приведен список используемых сокращения и список публикаций автора.

Содержание Главы 1 демонстрирует хорошее понимание Слюсаренко М.А. современного состояния науки в данной области исследований. В работе содержится вся необходимая информация об экспериментальных методах, используемых для анализа изучаемых систем. Достоверность полученных в работе данных обоснована согласующимися результатами разных методов и использованием современного оборудования. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, представляются обоснованными. При знакомстве с диссертационной работой возникли некоторые вопросы. Кроме того, следует отметить и ряд замечаний.

1. К сожалению, наблюдается небрежность в оформлении работы. Например, встречаются полные повторы на одной и той же (рис.5) или на соседних страницах (стр. 6 и 7) значительных кусков текста, присутствуют пунктуационные ошибки. Название первой главы «Литературный обзор» не представляется вполне удачным.
2. На стр. 12 в формуле допущена ошибка
3. Термин «гидродинамическая плотность» (стр. 9), используемый в работе, требует пояснения.
4. Не указана область градиентов, при которых выполнялось определение вязкости исследуемых растворов, что не дает уверенности в отсутствии необходимости изучения градиентной зависимости вязкости.
5. Вообще говоря, в качестве причины упругого рассеяния в растворах полимеров рассматривается излучение диполей-сегментов, а не появление наведенного диполя молекулярного клубка в целом (стр. 32).
6. В работе отмечается, что корреляционные функции интенсивности рассеянного света исследуемых систем, в том числе гетерогенных, изучали при разных углах рассеяния. Не менялись ли функции распределения по размерам частиц в методе ДРС при изменении угла рассеяния в случае использования многокомпонентных систем? Если менялись, тогда каким образом осуществлялся выбор пиков для последующего анализа?
7. С какими белками плазмы крови связывается ПЭГ, а с какими нет взаимодействия? Чем это подтверждается?
8. В чем суть использования «термодинамически несовместимых» полимеров в данной работе? Полимеры ДПС не взаимодействуют с ВНВ. Полимеры изучаются в одном растворителе, формируя молекулярные растворы (на стр. 47 указано, что «рассматриваемая ДПС в водной среде состоит из полимеров, находящихся в конформации гибкого статистического клубка»). Конечно, сродство полимер-растворитель у них различается, как и избирательность при связывании с белками плазмы крови. Но в многокомпонентных системах при разделении оба полимера находятся в верхней фракции, тогда как не взаимодействующие с полимерами везикулы концентрируются в нижней фракции. Какую роль играет термодинамическая несовместимость полимеров, которая лежит в основе предлагаемого метода?

9. Наблюдалось ли изменение положения пика плазмонного резонанса золотых наночастиц при связывании с аптамерами и при последующем освобождении от них при переходе аптамеров на везикулы, которое обычно проявляется при формировании контактов наночастиц с различными агентами? Присутствовали ли свободные аптамеры в растворе?
10. Как проверяли одинаковый состав систем, исследуемых методом спектрофотометрии, до и после химиотерапии? Сколько раз проводили анализ, была ли повторяемость спектров (рис. 4.1.1, 4.3.2) при новом приготовлении систем (новом заборе плазмы крови)? Из спектров следует, что изменяется только интенсивность анализируемых полос поглощения, но в этой спектральной области вклад в оптическую плотность вносит также рассеяние наночастиц золота (см. 4.1.1). Как исключали вклад рассеяния от других компонентов сложной системы?
11. Степень гетерогенности смеси наночастиц, выделенных из плазмы крови с помощью ДПС, определяли методом атомной силовой микроскопии. Учитывали ли при анализе возможное изменение формы и размеров частиц при высаживании гидрофобных везикул на гидрофильную поверхность слюды, как исключали формирование ассоциатов?
12. Название диссертационной работы указывает, что ее основная задача - изучение механизмов взаимодействия полимерной системы ПЭГ-декстран с везикулярными компонентами плазмы крови. Однако при разделении смеси полимеры и везикулы находятся в разных фракциях и никак не взаимодействуют. Возможно, в этой связи название диссертационной работы следовало бы привести в соответствие с полученными результатами.

Высказанные замечания не снижают общего положительного впечатления от рассматриваемой диссертационной работы.

Диссертационная работа Слюсаренко Марии Александровны является законченным исследованием, которое предлагает и анализирует результат использования полимерных систем для выделения везикул из плазмы крови человека. Полученные в диссертации результаты имеют важное значение для развития новых подходов в выделении везикул для дальнейшего анализа в медицинской диагностике и для развития новых подходов в терапии различных заболеваний.

Диссертация Слюсаренко Марии Александровны на тему: «Двухфазная полимерная система ПЭГ-декстран и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Слюсаренко Мария Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не обнаружены.

Председатель диссертационного совета,  
д.ф.-м.н., профессор кафедры молекулярной  
биофизики и физики полимеров,  
профессор



Касьяненко Нина Анатольевна

11.10.2022