

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Лебедева Василия Тимофеевича на диссертацию Слюсаренко Марии Александровны на тему «Двухфазная полимерная система ПЭГ-декстран и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Квалификационная работа, выполненная по указанной специальности, относится к актуальному направлению полимерной науки и обладает качествами междисциплинарных исследований. В то же время, диссертация имеет прямое отношение к медицине, внедрению полимеров в задачи диагностики и терапии, для чего потребовалось детально изучить взаимодействие двухфазных полимерных систем с многокомпонентными биологическими жидкостями. Соискатель выбрал сложную тему исследований и успешно справился с решением поставленных задач.

Направление исследований, бесспорно, является весьма актуальным как в фундаментальных, так и в прикладных аспектах. Экспериментальный и теоретический анализ мало изученных закономерностей поведения двухфазных систем термодинамически несовместимых полимеров потребовал от соискателя высокого уровня знаний в области физики и химии полимеров.

Управление тонкими процессами концентрирования выделяемого вещества в той или иной фазе и на границе фаз связано с учетом множества факторов, решением многопараметрической задачи, поиском оптимальных характеристик компонент и двухфазной полимерной системы в целом. Представленная диссертация – свидетельство достигнутого соискателем успеха в указанной области физики полимеров, что подтверждает квалификацию соискателя по заявленной специальности.

Выбранная система, полиэтиленгликоль-декстран, из биосовместимых, нетоксичных и коммерчески доступных полимеров и ранее привлекала внимание исследователей в задачах разделения биологических молекулярных объектов. Однако, известные подходы и результаты трудно считать надежными и хорошо воспроизводимыми ввиду недостатка данных о природе и механизмах фазового разделения несовместимых полимеров, тем более, при наличии множества различных биологических объектов, взаимодействующих с полимерами.

Полученный значительный объем новых научных и методических результатов, обобщенных автором в диссертации, позволил обоснованно выбрать физико-химические параметры двухфазной системы, условия её применения в биомедицинских целях с

предсказуемым заданным результатом. Из содержания диссертации и опубликованных автором работ очевидна новизна и значимость работы, которая уже фактически уже применена для аналитических целей в медицине.

Значимость работы усилена тем, что она направлена на изучение механизмов взаимодействия двухфазной системы полиэтиленгликоль-декстран с плазмой крови человека - многокомпонентной биологической жидкостью, содержащей протеины, нуклеиновые кислоты, внеклеточные везикулы, липиды, витамины и др. составляющие.

Среди перечисленных компонент особое значение имеют служащие для межклеточного обмена везикулы в виде мембран с белками на поверхности и внутренним наполнением белками, липидами и нуклеиновыми кислотами. Везикулы рассматривают как ключевые объекты диагностики в онкологии, но для её проведения нужны надежные методы выделения и анализа везикул, что еще не было развито в достаточной степени.

Данная работа посвящена решению этих проблем, опираясь физические принципы - анализ гидродинамических свойств компонентов системы декстран-полиэтиленгликоль, изучение их взаимодействия с биологическими молекулами, чтобы выработать критерии выбора параметров системы для эффективного экстрагирования внеклеточных везикул плазмы крови.

Для достижения этой цели привлечен большой комплекс физико-химических и биологических методов: статическое и динамическое рассеяние света в растворах, спектрофотометрия и рамановская спектроскопия, криоэлектронная микроскопия, денситометрия, вискозиметрия, проточная цитометрия и др.

Экспериментально доказано и детально изучено образование комплексов биологических молекул плазмы крови с полимерами, опираясь на анализ распределений размеров частиц, спектральные данные, характеризующие их взаимодействия в растворах.

Автором выполнена крупная законченная работа. Решен комплекс научных физико-химических и прикладных биомедицинских задач. Разработан новый продуктивный подход экстрагирования везикул взамен традиционных сложных и дорогостоящих способов (многостадийное центрифугирование и хроматография).

В ходе большого цикла исследований были найдены молекулярные массы, гидродинамические и конформационные характеристики декстрана и полиэтиленгликоля в фосфатно-солевом буфере, определены оптимальные условия выделения везикул из плазмы крови, измерены распределения частиц по размерам при фракционировании плазмы с помощью двухфазных полимерных систем с различной молекулярной массой и концентрацией.

В итоге установлены механизмы взаимодействия полимеров с компонентами плазмы крови, разработаны критерии выбора параметров полимеров для выделения везикул и других биообъектов, оценен диагностический потенциал везикул посредством тестовых наночастиц золота, модифицированных аптамером для обнаружения везикул.

Результаты диссертации обладают существенной новизной, научной и практической значимостью. К достижениям диссертации следует отнести разработанные количественные критерии выбора двухфазной системы по молекулярным характеристикам для эффективного экстрагирования везикул из плазмы крови, подтвержденного тестами с применением частиц золота с привитыми аптамерами.

Результаты защищены патентом на способ выделения экзосом из плазмы крови и приоритетной справкой по новому методу анализа белковых маркеров везикул в плазме крови для мониторинга эффективности лечения лимфомы Ходжкина.

В научно-образовательном плане материалы диссертации полезны для включения в программы университетов по специальности «Высокомолекулярные соединения» и курсы по медицинским полимерам.

Общие итоги работы ясно изложены в положениях, выносимых на защиту. Они обоснованы экспериментально и аналитически в 4 главах диссертации.

В обзоре (Гл.1) автор подробно анализирует мировой уровень исследований по выбранной тематике, привлекая данные 140 цитируемых работ. Вторая глава посвящена разнообразным методам, которые далее использует автор. Результаты проведенных экспериментов изложены в Гл.3, где анализируются механизмы взаимодействия двухфазной системы полиэтиленгликоль-декстран с компонентами плазмы крови. Заключительная Гл. 4 раскрывает аспекты практического применения выделенных везикул. Выводы в полной мере отражают главное содержание диссертации и основные научные достижения.

Диссертация в русском и идентичном английском варианте логично построена, хорошо иллюстрирована и оформлена, включает необходимую информацию о публикациях автора, апробации результатов, использованных методических и аналитических подходах.

За короткий срок аспирантуры автор достиг необходимого квалификационного уровня, что подтверждает список из 10 публикаций, из них 2 статьи в высокорейтинговых журналах. Результаты прошли хорошую апробацию на 8 российских и международных конференциях.

Диссертация изложена профессиональным научным языком, положения и выводы надежно аргументированы. По содержанию и стилю работы видно, что автор прекрасно

владеет материалом. Не вызывает сомнений ведущее и преобладающее участие автора в исследованиях на всех этапах работы.

В ходе выполнения работы автором проведен огромный объем опытов с двухфазными системами при варьировании долей и характеристик полимеров. Это позволило прийти к выводам и обосновать критерии выбора двухфазной системы для экстрагирования везикул из плазмы крови.

Доказано, что главное значение имеют даже не молекулярные массы и концентрации полимеров, но в первую очередь - отношение гидродинамических объемов их макромолекул.

Автором раскрыты и детально изучены сложные механизмы взаимодействия полимеров с плазмой, отвечающие за эффективность выделения везикул. Установлено, что один из полимеров (декстран) меняет вязкость среды, а другой (полиэтиленгликоль) преимущественно создает комплексы с белками плазмы, формируя вместе с декстраном верхнюю фазу системы, тогда как везикулы остаются в нижней фазе.

В итоге, для двухфазной системы удалось найти оптимальные соотношения долей полимеров и их гидродинамических объемов. Это позволило концентрировать везикулы в нижней фазе. Автором успешно решена эта важнейшая задача, поставленная в диссертации.

На финальном этапе работы получен и испытан в серии опытов сенсор на основе наночастиц золота, модифицированных аптамером специфичным к поверхностным белкам везикул, что служит целям их дальнейшего анализа.

Таким образом, получены и обоснованы новые значимые для полимерной науки физические и биофизические результаты, отработаны методы их непосредственного аналитического применения в медицине. Следует заключить, что цель работы в полной мере достигнута.

Оригинальные результаты диссертации - существенный вклад в физические знания о природе фазового разделения многокомпонентных полимерных систем с биологическими молекулами, разработки методов выделения и анализа компонент плазмы крови человека для решения актуальных задач медицинской диагностики.

Выполненная крупная экспериментальная и аналитическая работа, безусловно, успешная и результативная, в то же время, имеет некоторые недостатки:

1. Не до конца прояснен вопрос, насколько частичное сшивание цепей декстрана сказывается на его функциональных свойствах, и каковы ограничения по этому параметру. Он влияет на гидродинамический объем макромолекулы декстрана,

что прямо касается выработанного критерия применимости двухфазных систем для экстрагирования везикул.

2. Недостаточное внимание уделено вопросу о влиянии степени дисперсности полимеров в двухфазной системе на процессы разделения фаз и эффективность выделения везикул.
3. Утверждается, что декстран и полиэтиленгликоль не взаимодействуют с везикулами (Вывод 3), но показано, что второй полимер образует комплексы с белками плазмы. На поверхности везикул (Рис.3.1.1) также имеются белки, т.е. не исключено связывание полиэтиленгликоля с ними. Как это скажется на процессах фазового разделения и экстрагирования везикул?

Вопросы по рисункам и интерпретации:

С.68. «в полученных растворах БСА и декстран находятся в неизменном состоянии, а регистрируемый пик со средним размером 4 нм является особенностью решения задачи по аппроксимации автокорреляционной функции» Не совсем ясное утверждение, требуются пояснить спектральную картину.

С.70. «Рисунок 3.4.2. Нормированные распределения частиц по размерам в растворах»

Какие данные приведены? Объемные доли частиц?

Там же «В пересчете на доли частиц, дающих вклад в рассеяние, можно прийти к выводу о незначительности доли крупных частиц (менее 1%).» Какие доли частиц имеются ввиду?

Численные или объемные?

Неточности по стилю и опечатки:

С.5. Через несколько строк повторяется фраза «Именно такой системой является ДПС полиэтиленгликоль-декстран (ПЭГ-декстран), состоящая из биосовместимых, нетоксичных и коммерчески доступных полимеров».

Опечатка. С. 17 « ...размера. Что...»

Опечатка. С. 19 «древесины, погруженную в воду»

С.27. Формула 2.3.1. Пропущен знак « - «

С.34. Неточность в формуле 2.8.5 (перепутан знак)

С.46. Таблица 3.1.2. Опечатка, 3-я строка сверху, отношение радиусов должно быть 1.4.

С.62. Опечатка «Однако, что существует»

С.63. Опечатка «Механизмы взаимодействия ДПС с компонентами плазмы был исследован»

Отмеченные недостатки не имеют принципиального значения, не влияют на общий высокий научный уровень диссертации, её результаты и выводы.

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.

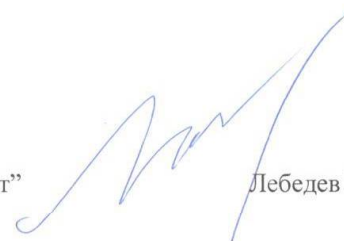
Член диссертационного совета

Доктор физ-мат. наук, заведующий лабораторией

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики

им. Б.П. Константинова НИЦ “Курчатовский институт”

14 сентября 2022 г.



Лебедев В.Т.

Подпись руки Лебедева В.Т.  
**ЗАВЕРЯЮ**  
начальник отдела кадров Зинovieва А.Н.

