

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Слатинской Ольги Вадимовны  
на тему: «Исследование конформации и распределения гемоглобина при  
функционировании эритроцита»  
по специальности 1.5.2. биофизика (биологические науки)**

**Актуальность темы:**

Диссертационная работа Слатинской Ольги Вадимовны на тему: «Исследование конформации и распределения гемоглобина при функционировании эритроцита» посвящена исследованию актуальных вопросов биофизики клетки — изучению конформационных изменений и формирования упорядоченных структур гемоглобина в условиях модификации «молекулярного краудинга» цитоплазмы эритроцита. Особенный интерес представляет обнаруженная автором взаимосвязь между конформационными изменениями гемоглобина (гема и глобина) и его распределения в цитоплазме при изменении поверхностного ( $\zeta$ -потенциала) и мембранного потенциала плазматической мембраны, а также парциального давления кислорода и температуры экстраклеточной среды. Таким образом, впервые проведено систематическое исследование молекулярных механизмов регуляции транспорта кислорода в эритроцитах, сопровождающейся не только изменением конформации гемоглобина, но и формированием олигомерных комплексов этих молекул, что может служить основой для понимания нового механизма переноса кислорода и создания технологии диагностики ряда сердечно-сосудистых заболеваний.

**Структура и объем диссертации:**

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из частей «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Работа изложена на 253 страницах, содержит 13 таблиц, 87 рисунков,

иллюстрирующих полученные автором результаты. Список процитированной литературы содержит 400 источников.

«Обзор литературы» затрагивает широкий круг вопросов, непосредственно относящихся к теме диссертации: отдельный раздел посвящен описанию конформационных изменений гема при внешних воздействиях. Диссертант представил подробный анализ имеющейся в современной литературе информации касательно возможности образования олигомерных комплексов из молекул гемоглобина в цитоплазме при различных состояниях эритроцита. Литературный обзор написан логично, хорошо структурирован, все затрагиваемые вопросы имеют непосредственное отношение к теме диссертации. Качество литературного обзора, эрудиция автора, владение в деталях специальными разделами литературы по теме диссертации указывают на серьезную теоретическую подготовку автора в ходе реализации цели и задач диссертации.

В своей работе Слатинская О.В. использовала большое количество современных биофизических и микроскопических методов (соответствует специальности 1.5.2. биофизика (биологические науки)). В Главе «Материалы и методы» дается подробное описание теории и практического выполнения экспериментов для каждого используемого метода. Для выбранных автором биофизических методов указаны параметры измерения и настройки прибора, приведены таблицы расшифровок характерных полос спектров комбинационного рассеяния и инфракрасной спектроскопии. На мой взгляд, важной особенностью методической части данной диссертации является то, что большинство используемых Слатинской О.В. методов не требуют сложной пробоподготовки и сохраняют нативность образца. Сказанное позволяет воспроизводить полученные диссертантом результаты при дальнейшем развитии данной тематики.

#### **Новизна и научная значимость.**

Диссертантом впервые проведен сравнительный анализ конформационных изменений состояния гемоглобина в растворе и в цитоплазме клетки, а выявленные различия позволили сформировать новые представления о механизме взаимосвязи простетической гемовой группы и глобина в нативной клетке. Диссертант с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния, лазерной интерференционной микроскопии и фазово-контрастной микроскопии показал перераспределение молекул гемоглобина в цитоплазме эритроцита при изменении как поверхностного  $\zeta$ -потенциала мембраны, так и объема, и соотношения концентраций ионов натрия и калия в эритроците. Важно, что выявлены особенности взаимодействия между гемом и глобином при изменении межмолекулярного расстояния между гемоглобином в условиях «молекулярного краудинга».

#### **Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций.**

Достоверность научных результатов сомнений не вызывает. Экспериментальная часть выполнена с использованием современной научной аппаратуры, методов и подходов. «Выводы» диссертации согласуются с известными теоретическими моделями, практическими знаниями и экспериментальным опытом.

#### **Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати.**

По материалам диссертации опубликовано 7 статей в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК, основные результаты представлены в форме устных и стендовых докладов на международных и всероссийских конференциях. Высокая публикационная активность несомненно отражает актуальность исследований. Наличие 1 патента по результатам работы демонстрирует перспективу внедрения в практику полученных результатов.

#### **Оценка содержания диссертации в целом, замечания и вопросы по содержанию диссертации.**



Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Полученные автором результаты не вызывают сомнений, выводы обоснованы и подкреплены экспериментальными данными. В «Заключении» диссертант, анализируя полученные результаты и данные литературы, предлагает новый механизм конформационных изменений гемоглобина и его перераспределения при формировании олигомерных структур в цитоплазме клетки.

**Диссертация имеет ряд замечаний:**

1. С одной стороны, идея интересная, методы разнообразные и современные, получено достаточное количество экспериментального материала. С другой стороны, название диссертации, на мой взгляд, неудачное. Функционирование эритроцита как таковое не изучали, если не считать регистрацию отдельных показателей при изменении  $pO_2$ . «Распределения гемоглобина» - где, в каком пространстве, объеме?

2. Положение 1- давно известный факт (в дезоксигемоглобине железо гема находится вне плоскости гема). «При фиксированном  $pO_2$  обнаружены существенные различия в разностных КР-спектрах (в диапазоне  $1355-1580$  и  $2800-3000$   $cm^{-1}$ ) для СЭ и выделенного Гб, что, вероятно, свидетельствует о различном связывании гемом  $O_2$ ». Может быть, дело не в различном связывании кислорода свободным и внутриэритроцитарным гемоглобином из-за разной конформации молекул гембелка, а в доступности кислорода в растворе и в клетке? Каково время экспозиции образцов при данном  $pO_2$  до регистрации КР-спектров? Успевало ли установиться равновесие?

3. Отметим, что в цельной крови глобин Гбцп пациентов с ИЛГ характеризуется более плотной упаковкой молекулы ( $I_{2880}/I_{2930}$ ) по сравнению с контролем, что, вероятно, свидетельствует о влиянии компонентов плазмы

(например, d-димер, содержание которого в плазме ИЛГ повышено». Может, дело в том, что у больных ИЛГ в условиях гемической гипоксии в крови накапливается дезоксигемоглобин, для которого характерна более компактная конформация? Влияние белков плазмы как-то сомнительно.

### **Заключение:**

Вышеизложенные вопросы носят дискуссионный характер и не влияют на общую оценку работы. Диссертационная работа Слатинской О.В. является качественным и законченным исследованием, как в научном плане, так и в плане оформления. Автореферат соответствует тексту диссертации и дает полное представление о содержании диссертации, методах и основных полученных результатах. В тексте автореферата и рукописи диссертации соблюдены все формальные требования, предъявляемые к диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. биофизика (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Слатинская Ольга Вадимовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. биофизика (биологические науки).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,  
Заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии Воронежского  
государственного университета  
«Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Воронежский государственный университет»

Профессор, Заслуженный деятель науки РФ

АРТЮХОВ Валерий Григорьевич



30.06.23г.



федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»)
Подпись: <u>В.Г. Артюхова</u>
Специальность: <u>Биофизика</u>
Дата: <u>30.06.2023</u>
подпись, расшифровка подписи

Контактные данные:

тел.: +7 (4732) 208-586, 208-852, e-mail: artyukhov@bio.vsu.ru.

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защищена диссертация:

03.01.04– Биохимия

Адрес места работы:

394006, (Россия) г. Воронеж, Университетская пл.1.,  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Воронежский государственный университет»,  
кафедра биофизики и биотехнологии

Тел.: +7 (4732) 208-586, 208-852; e-mail: artyukhov@bio.vsu.ru