

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Слатинской Ольги Вадимовны  
Исследование конформации и распределения гемоглобина при функционировании  
эритроцита»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
специальность 1.5.2. — Биофизика (биол. науки)

Диссертационная работа Слатинской О.В. посвящена актуальной проблеме современной биофизики — исследованию физико-химических параметров эритроцита, связанные с реологическими свойствами крови, играющими важную роль в осуществлении кислород-транспортной функции крови: конформации и распределения гемоглобина при изменении парциального давления кислорода (от 118 до 2 мм рт. ст.)  $pO_2$ , температуры (20–42 °С),  $\zeta$ -потенциала плазматической мембраны клетки, объема и гомеостаза ионов Na и K в клетке.

В обзоре литературы рассмотрены современные представления об изменении конформации гема и глобина при осуществлении кислород-транспортной функции эритроцита, обращая большее внимание на анализ данных и гипотезе о перераспределении  $Gb_{цп}$  внутри эритроцита, в том числе на исследование роли изменения объема и  $\zeta$ -потенциала эритроцита в регуляции конформации гема и глобина и распределения молекул Гб в эритроците. В ходе проведения обзорной работы делается предположение о вероятности перераспределения плотности (или содержания)  $Gb_{цп}$  в эритроците в зависимости от формирования специфических взаимодействий между молекулами Гб в условиях «молекулярного краудинга» и отмечается, что факторы молекулярного краудинга — системы «толпящихся» молекул практически не исследованы.

В диссертационной работе Слатинской О.В. были поставлены экспериментальные задачи исследования конформации гема и глобина Гб в эритроците при изменении парциального давления кислорода, температуры, поверхностного заряда плазматической мембраны клетки, внутриклеточной концентрации  $Na^+$  и при патологии на примере идиопатической легочной гипертензии (ИЛГ). Следует отметить, что поставленные задачи были решены с применением большого количества методов и аппаратов: 1) КР-спектрометра NTEGRA-SPECTRA (NT-MTD, Россия) для оценки конформационных изменений гема и плотности упаковки глобина  $Gb_{цп}$  и  $Gb_{мс}$ ; 2) КР-спектрометра WITec alpha 300 с поляризатором (ThorLabs) для выявления упорядоченности молекул  $Gb_{цп}$ ; 3) лазерного интерференционного микроскопа на базе микроинтерферометра Линника МИИ-4 (ЛОМО, Россия) для оценки изменения геометрических оптических свойств объектов (морфологии клетки, концентрации внутриклеточного вещества и т.д.); 4) экспериментальной установки, разработанной во ВНИИОФИ — дифференциального микротомографа для анализа динамики изменения цитоплазмы клетки; 5) прибора Zetasizer NanoZS (Malvern, Великобритания) для измерения  $\zeta$ -потенциала эритроцитов и гидродинамического радиуса молекул, выделенного Гб (динамическое рассеяние света); 6) 16-канального коррелированного по времени спектрографа с однофотонным счетом (PML-SPEC, Becker & Hickl GmbH, Германия) для диагностики конформационного состояния глобина; 7) атомно-абсорбционного спектрометра Квант-2М (КОРТЭК, Россия) для определения содержания  $[Na^+]_{in}$  и  $[K^+]_{in}$  в эритроците; 8) спектрофотометра V560 (JASCO, Япония) для определения содержания белка методом Бредфорд. Кроме того, были

использованы программа OriginPro2020 для обработки КР-спектров, метод электрофореза белков в полиакриламидном геле по Лэмбли для оценки влияния  $[Ca^{2+}]_{out}$  на олигомеризацию молекул Гб и степени его связывания с мембраной при изменении  $\zeta$ -потенциала мембраны, метод статистического анализа с использованием теста Манна-Уитни или дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса. Таким образом, диссертантом была проведена очень объемная работа и освоено огромное количество методов исследования физико-химических параметров эритроцитов, что заслуживает отдельного внимания.

Автором впервые были получены следующие важные результаты: при физиологических условиях (изменение  $pO_2$ , температуры (20–42 °С), увеличение  $\zeta$ -потенциала), возрастает вероятность нахождения гема Гб в «куполообразной» конформации и снижается плотность упаковки глобина Гб, а также происходит перераспределение молекул Гб из центральной области дискоцита клетки ближе к внутренней поверхности плазматической мембраны; доказано, что на способность Гб связывать и переносить кислород в цитоплазме эритроцита оказывают существенное влияние изменения конформации гема и плотность упаковки молекулы глобина, а также, гетерогенность распределения Гб в цитоплазме клетки..

Таким образом, автором диссертации успешно решены поставленные в рамках диссертационной работы задачи, результаты решения которых, а именно выявленные механизмы изменения конформации глобиновой и гемовой частей молекулы Гб, могут быть использованы не только для формирования новых методов диагностики при патологии (ИЛГ), но и других видов заболеваний, т.к. в данное время существуют проблемы интерпретации выявленных взаимосвязей морфологии, электрических свойств эритроцитов и возникновения и развития различных видов заболеваний, в том числе и онкологических. Результаты диссертации представлены в виде 7 статей в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI (РИНЦ), 1 патента, 13 тезисов в сборниках докладов международных и российских научных конференций. На основании вышеизложенного, считаю, что автореферат диссертации удовлетворяет требованиям о порядке присуждения ученых степеней, и его автор Слатинская Ольга Вадимовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — Биофизика (биол. науки).

Мамаева Саргылана Николаевна  
Заведующий кафедрой общей и экспериментальной физики Физико-технического  
института,

Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова

Кандидат физико-математических наук, доцент  
677000 РС(Я) г. Якутск, ул. Кулаковского, 48, каб. 318

+7 (4112) 49-68-32

*Мамаева*

Подпись Мамаевой Саргыланы Николаевны заверяю

