

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию  
ХОХЛОВОЙ Марии Дмитриевны  
на тему:  
«МЕТОД ОПТИЧЕСКОГО ПИНЦЕТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИЛ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И  
МИКРОМЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК»,  
представленную на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук  
по специальности 01.04.05 – оптика

Диссертационная работа Хохловой М.Д. посвящена экспериментальному изучению агрегационных и вязко-упругих свойств одиночных эритроцитов методом двухлучевого оптического пинцета. Научная проблематика работы связана с весьма актуальной темой – разработкой и использованием методов исследования биофизических локальных свойств одиночных микрообъектов, которая имеет широкое практическое и фундаментальное применение в ряде областей – медицине, биологии, химии. В работе представлены новые экспериментальные методики на основе двухлучевого оптического пинцета для определения силовых характеристик микрообъектов, а именно, для измерения сил агрегации одиночных эритроцитов, для определения микромеханических свойств мембран одиночных эритроцитов, взвешенных в жидкой среде, в диапазоне частот внешнего воздействия на клетки от единиц Гц до 250 кГц.

**Целями** диссертационной работы являются развитие метода двухлучевого оптического пинцета в сочетании с подходами активной и пассивной микрореологии для диагностики вязкоупругих и агрегационных свойств клеток в естественной для них среде на примере эритроцитов, а также применение разработанного подхода для исследования механизмов агрегации эритроцитов.

**Актуальность и научная значимость** тематики диссертационной работы связана, в первую очередь, с фундаментальными аспектами проблемы управления микрообъектами неоднородным лазерным полем и применением оптических ловушек для определения локальных характеристик биологических микрообъектов или сил их взаимодействия путем регистрации их малых смещений в оптических ловушках. С другой стороны, исследования имеют **прикладной интерес** для клеточной биологии и медицины. Например, разработанные методики определения деформационных и агрегационных свойств одиночных эритроцитов могут быть использованы в медицине для создания новых подходов для диагностики заболеваний.

**Диссертационная работа состоит** из введения, четырех глав, заключения и списка цитируемых источников.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цели диссертации и описана ее структура и основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе приведен подробный литературный обзор, необходимые для понимания оригинальных глав диссертационной работы. В обзоре представлено описание принципов работы метода оптического пинцета, обсуждаются различные способы его калибровки и примеры его применения для изучения свойств одиночных микрообъектов, а также освещаются основные подходы для исследования деформационных и агрегационных свойств одиночных эритроцитов, а также современное состояние исследований в этой области.

Во второй главе представлено описание нового подхода для экспериментального исследования механического отклика одиночных эритроцитов в широком диапазоне частот внешнего воздействия. Для этого метод двухлучевого оптического пинцета объединялся с походами, известных в литературе как методы активной и пассивной микрореологии. На частотах до 100 Гц определение эффективных параметров, характеризующих эластичность клеток, реализовывалось с использованием метода пассивной микрореологии в оптическом пинцете, заключающимся в анализе статистических характеристик броуновского движения мембран оптически захваченных в жидкости клеток. Для диагностики более высокочастотных особенностей упругих свойств эритроцитов (вплоть до 250 кГц) использовался метод активной микрореологии в оптическом пинцете, подразумевающий анализ вынужденных колебаний оптически захваченных краев одиночного эритроцита.

Третья глава посвящена разработке оптической методики для экспериментального исследования сил агрегации одиночных эритроцитов в аутологичной плазме, временной динамики и особенностей агрегации эритроцитов для нормы и патологии.

Четвертая глава диссертации посвящена исследованию особенностей и сил агрегации одиночных эритроцитов в растворах основных белков плазмы крови для выявления вклада каждого из них в процесс агрегации эритроцитов. В работе представлены результаты исследования рецепторного механизма агрегации эритроцитов с использованием предложенной оптической методики.

В заключении сформулированы основные результаты и выводы диссертации.

Представленная работа производит хорошее впечатление и подтверждает высокий уровень квалификации соискателя, интерес к актуальным задачам физики. Работа оформлена в соответствии с требованиями, написана грамотно и ясно, представляет собой вполне законченное логически выстроенное исследование.

**Достоверность** полученных в работе экспериментальных результатов подтверждена их согласием с результатами, полученным другими исследователями. Результаты работы апробированы на ведущих международных и всероссийских конференциях, опубликованы в высокорейтинговых реферируемых научных изданиях. Выводы диссертации представляются вполне **обоснованными**.

Представленные результаты являются **новыми**. В работе впервые предложены и развиты оптические методики на основе совмещения метода оптического пинцета и активной и пассивной микрореологии для диагностики микромеханических свойств одиночных эритроцитов, взвешенных в жидкости, в диапазоне частот внешнего воздействия на клетку от 1 Гц до 250 кГц. Впервые методом двухлучевого оптического пинцета напрямую измерены силы сдвиговой агрегации одиночных эритроцитов в плазме крови, и показано различие в силе сдвиговой дезагрегации нормальных и патологически измененных эритроцитов на уровне одиночных клеток.

При оценке диссертационной работы следует отметить некоторые недостатки:

1. В оригинальной части работы не уделяется достаточно внимания сопоставлению полученных экспериментальных результатов с уже имеющимися результатами, полученными другими методами. В частности, для значений сил сдвиговой дезагрегации эритроцитов, измеренных методом оптического пинцета, не приводится сравнение со значениями, полученными с помощью других экспериментальных подходов. В литературном обзоре можно найти соответствующие сведения для сопоставления результатов автора диссертации и результатов, полученных ранее в других исследованиях, однако в оригинальных главах они не приводятся.

2. В части диссертации, посвященной определению механического отклика эритроцита на внешнее периодическое воздействие со стороны оптической ловушки, явным образом не указано, чем определялось ограничение сверху частот вынужденных колебаний края клетки.

Сделанные замечания являются второстепенными и не сказываются на общей положительной оценке диссертации М. Д. Хохловой, которая представляет собой весьма ценное, законченное исследование, имеющее высокую научную значимость и оригинальность.

Автореферат работы Хохловой М. Д. соответствует содержанию диссертации. Результаты в достаточном объеме опубликованы в научных журналах и представлены на научных конференциях. **Личный вклад** автора не вызывает сомнений. Автор диссертации демонстрирует высокую квалификацию как на этапе проведения эксперимента, так и на этапах обработки и интерпретации экспериментальных данных и представления полученных результатов.

Таким образом, из вышеизложенного следует, что представленная к защите диссертационная работа М. Д. Хохловой удовлетворяет требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а М.Д. Хохлова заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика.

Руководитель отдела лазерной  
атомно-молекулярной технологии,  
ИПЛИТ РАН, д.ф.-м.н., профессор,

В.Н. Баграташвили

Подпись В.Н. Баграташвили заверяю  
ученый секретарь ИПЛИТ РАН, д.ф.-м.н.,



Ф.В.Лебедев

Баграташвили Виктор Николаевич, профессор федерального государственного бюджетного учреждения науки – Института проблем лазерных и информационных технологий Российской академии наук (ИПЛИТ РАН), заведующий отделом лазерной атомно-молекулярной технологии. Адрес: 140700 Московская область, г. Шатура, ул. Святоозерская, 1. Тел. 8(495)851-03-42. E-mail: victor.bagratashvili@gmail.com