

Отзыв официального оппонента

о диссертации Александра Ефимовича Москаленского

«Исследование оптических свойств тромбоцитов в нативном и активированном состоянии, а также их агрегатов, с помощью сканирующей проточной цитометрии», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика

Диссертационная работа посвящена применению сканирующей проточной цитометрии (СПЦ) для исследования светорассеяния клеток крови. Это направление исследований очевидным образом имеет перспективу для разработки диагностики заболеваний крови и его **актуальность** высока. Рассматриваемое направление исследований разрабатывается в течение многих лет в Лаборатории Цитометрии и биокинетики Института химической кинетики и горения СО РАН, где и был собственно разработан сам метод сканирующего проточного цитометра. Работы этого направления содержат как элементы электродинамики сплошных сред, так и элементы цитологии. Поэтому выбор специальности "**биофизика**" для диссертации является не только правильным, но и единственно возможным.

Обзор литературы диссертации содержит сведения о структуре и функции тромбоцитов с точки зрения клеточной биологии. Сравнивая эти сведения со сведениями, которые обычно приводятся в диссертационных обзорах по биологии, считаю, что рассматриваемая проблема освещена в этой диссертации не хуже. Представлена также информация об исследованиях светорассеяния тромбоцитов и приближениях, которые требуются, чтобы рассчитать индикатрису рассеяния этих клеток.

Диссертанту были сформулированы несколько задач, которые включали: увеличение частоты измерений, научиться рассчитывать индикатрису рассеяния тромбоцитов (а также решать и обратную задачу светорассеяния) и их агрегатов и исследовать действие некоторых веществ на кинетику изменения морфологии этих клеток. Для решения первой задачи автором было модернизировано программное обеспечение СПЦ, которое позволило анализировать 150-400 частиц в секунду (было 20 частиц в секунду), что является существенным улучшением. Решение обратной задачи светорассеяния для определенного типа клеток не является простым и для ее решения используется сравнение семейства рассчитанных модельных индикатрис с индикатрисами, получаемыми в эксперименте. Автору удалось решить эту задачу, более

того, наряду с распределением клеток по объёму, его метод позволяет получить распределение тромбоцитов по форме, что тоже является **актуальной** задачей.

Задача о стимуляции тромбоцитов аденозиндифосфатом, коллагеном и этилендиаминтетрауксусной кислотой являются типичными задачами клеточной биологии и могли бы решаться с помощью методов микроскопии. Замечу, однако, что предложенный в диссертации подход существенно более точен, чем методы клеточной биологии вследствие большого количества изучаемых клеток. Поэтому это исследование может быть рассмотрено как важный вклад в рассматриваемую область знаний. Также важно, отметить, что на качественном уровне полученные результаты хорошо совпадают с описанными в литературе. Это говорит о **хорошем качестве** проведенных исследований.

При использовании СПЦ важно дифференцировать отдельные клетки от слипшихся клеточных агрегатов. Поэтому автором были приложены большие усилия по решению этой задачи для тромбоцитов. Общего решения задачи в этом случае найти не удалось, однако автор нашел подходы, на которых, вероятно, задача может быть решена.

В диссертации имеется экспериментальный раздел аналогичный разделу Материалы и Методы для диссертаций по биологии. Также имеются небольшие экспериментальные фрагменты, непосредственно не связанные с СПЦ. Качество этих фрагментов исследования хорошее и полученные результаты не вызывают вопросов.

Единственное существенное замечание по диссертации заключается в следующем. Результаты диссертации показали, что дифференциация мономеров и димеров тромбоцитов – дело будущего. Это означает, что исследование тромбоцитов необходимо проводить при низких концентрациях этих клеток. Однако в этих условиях задача об увеличении частоты детектирования тромбоцитов на СПЦ, поставленная в работе, становится малоактуальной. Поэтому, в процессе защиты диссертации, автору предлагается высказать аргументированную точку зрения о том, в какой степени проведенная им модернизация ПО СПЦ приводит к реальному улучшению точности измерения морфологических параметров тромбоцитов.

По результатам диссертации имеются 4 публикации в зарубежных журналах с достаточно высоким фактором. Такой уровень публикаций является достаточным для кандидатской диссертации. Публикации в высокорейтинговых международных научных журналах с достаточной **полнотой** отражают содержание диссертационной работы и позволяют оценить новизну работы, подтвердить ее практическую и научную значимость. Объем диссертации составляет 97 машинописных страниц, включая 43 рисунка и 5 таблиц. Список литературы содержит 117 ссылок.

В работе диссертант грамотно использует математический и статистический аппарат. Для оценки погрешностей определения параметров используется Байесовский подход, спроецированный на особенности решаемой задачи. Полагаю, что только в рассматриваемой группе исследователей наработана столь высокая культура решения статистических задач такого рода.

Практические рекомендации (а они очень существенны и подходят близко к реальному использованию в медицине), сформулированные в диссертации, полностью обоснованы. Проведенные исследования являются новыми и их достоверность не вызывает сомнений. В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями по специальности биофизика. Основные результаты диссертации опубликованы в 4 печатных работах, они обсуждались на 7 различных конференциях и симпозиумах и получили одобрение ведущих специалистов.

Теоретическая значимость работы для науки связана с разработкой метода решения обратной задачи светорассеяния для тромбоцитов. На этой модели были "обкатаны" подходы, которые в дальнейшем приведут к прогрессу метода СПЦ. Однако этот метод предназначен для решения только определенного круга задач клеточной биологии и медицины. По результатам видно, что есть задачи, которые не могут быть решены в рамках этого подхода. Важность проведенного исследования еще и в том, что стали ограничения метода стали более ясными.

Практическая ценность диссертации, как и всего направления, высока. Очевидно, что гематологический анализ может проводиться с помощью СПЦ. Очевидно, что точность диагностики при этом существенно возрастет. Т.о. научная часть пути в отношении применения метода уже решена. Практическое применение в этом случае затруднено исключительно высокой стоимостью такого оборудования.

Личный вклад диссертанта в работу высок.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

В работе есть элементы (ПО для быстрого анализа частиц, статистические методы анализа баз данных, прояснение вопроса о том, что рассеяние света агрегатами является однократным), которые пригодны для решения более широкого круга задач. Однако самое главное состоит в том, что подход СПЦ очевидным образом стал пригоден для решения медицинских задач. По результатам диссертации констатирую пригодность СПЦ для проведения гематологического анализа.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность

Первая глава представляет собой общий литературный обзор, в котором рассмотрена морфология тромбоцитов и ее изменения при активации, методы моделирования и

существующие подходы к решению обратной задачи светорассеяния, а также особенности рассеяния света агрегатами частиц. Вторая глава посвящена модернизации программного обеспечения СПЦ для измерения быстропротекающих процессов. Третья глава посвящена развитию методов решения прямой и обратной задач светорассеяния для одиночных тромбоцитов и их агрегатов. В четвёртой главе представлены результаты проведенных экспериментальных исследований. В заключении сформулированы основные результаты работы. Они опубликованы в 4 статьях и 10 тезисах конференций, включённых в прилагаемый перечень. Таким образом, определено диссертация носит **законченный** характер.

Заключение

Диссертация является **законченным** научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. В работе приведены научные результаты, совокупность которых указывает на возможность практического применения СПЦ в медицине. Полученные автором результаты **достоверны**, выводы и заключения **обоснованы**. Материалы диссертации **полно** отражены в публикациях автора, автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Работа **удовлетворяет** всем требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Александр Ефимович Москаленский, несомненно, **заслуживает** присвоения ему искомой ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика.

Омельянчук Леонид Владимирович
Д.б.н., зав. Лабораторией Генетики
Клеточного цикла Института молекулярной
и клеточной биологии СО РАН,
Новосибирск 630090, Лаврентьева 8/2
ome@mcb.nsc.ru

« » июль 2015 г.

