

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.228.03
(Д 003.075.04), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КРАСНОЯРСКИЙ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН),
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 27.09.2022 № 3

О присуждении Ястребовой Екатерине Сергеевне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Характеризация морфо-функциональных свойств эритроцитов с использованием молекулярно-кинетических моделей стимулированного гемолиза и сканирующей проточной цитометрии» по специальности 1.5.2. Биофизика, принята к защите 26.04.2022 (протокол заседания № 2) диссертационным советом 24.1.228.03 (Д 003.075.04), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, д. 50, создан приказом Минобрнауки № 21/нк от 24.01.2017.

Соискатель Ястребова Екатерина Сергеевна 30.11.1993 года рождения, в 2014 году соискатель окончила с отличием бакалавриат Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего

образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирский государственный университет, НГУ), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, по направлению подготовки «Физика»; в 2014 окончила с отличием очную магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирский государственный университет, НГУ), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, по направлению подготовки 03.04.02 Физика, присуждена квалификация Магистр; в 2020 году окончила очную аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирский государственный университет, НГУ), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, по направлению подготовки 03.06.01 Физика и астрономия, присуждена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь».

Работает младшим научным сотрудником в лаборатории цитометрии и биокинетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Диссертация выполнена в лаборатории цитометрии и биокинетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Научный руководитель – доктор физико-математических наук, профессор, Мальцев Валерий Павлович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической кинетики и горения им.

В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, лаборатория цитометрии и биокинетики, заведующий лабораторией.

Официальные оппоненты:

Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва» (МГУ им. Н.П. Огарёва), факультет биотехнологии и биологии, декан факультета, кафедра биотехнологии и биохимии, заведующий кафедрой;

Зырянов Виктор Яковлевич, доктор физико-математических наук, профессор, Институт физики им. Л.В. Киренского Сибирского отделения Российской академии наук (ИФ СО РАН) – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория молекулярной спектроскопии, руководитель научного направления, заведующий лабораторией

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН), г. Санкт-Петербург, в своем положительном отзыве, подписанном главным научным сотрудником, заведующим лабораторией, указала, что решаемая соискателем научная задача актуальна для разработки методов обнаружения гипоксии, связанной с нарушением газотранспортных характеристик эритроцитов и по объему, степени достоверности результатов исследования, теоретической значимости, новизне полученных данных, примененным методам их статистической обработки и анализа, представленная диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание

ученой степени кандидата наук согласно «Положению о присуждении ученых степеней», утвержденному Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями и дополнениями).

Соискатель имеет 27 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликованы 23 работы, из них 9 в рецензируемых научных изданиях, входящих в базы цитирований Scopus/Web of Science, а также 14 публикаций в сборниках докладов научных конференций. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, объем научных изданий (статей) составляет 86 стр., авторский вклад – 85%.

Наиболее значимые публикации:

1. Gilev K.V., Yurkin M.A., Chernyshova E.S., et al. Mature red blood cells: from optical model to inverse light-scattering problem, *Biomed. Opt. Express* 7, 1305–1310 (2016). 10.1364/BOE.7.001305. [IF = 3.337 Q1 (JCR 2016)].

2. Chernyshova E.S., et al. Influence of magnesium sulfate on HCO_3/Cl transmembrane exchange rate in human erythrocytes, *J. Theor. Biol.* 393, 194–202 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.12.023>. [IF = 2.113 Q1 (JCR 2016)].

3. Gilev K.V., Yastrebova E.S., et al. Advanced consumable-free morphological analysis of intact red blood cells by a compact scanning flow cytometer, *Cytometry A* 91, 867–873 (2017). DOI: 10.1002/cyto.a.23141. [IF = 3.222 Q2 (JCR 2016)].

4. Romanov A.V., Konokhova A.I., Yastrebova E.S., et al. Spectral solution of the inverse Mie problem. *J Quant Spectrosc Radiat Transfer* 200:280–294 (2017). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jqsrt.2017.04.034>. [IF = 2.42 (JCR 2017)].

5. Konokhova A.I., Yastrebova E.S., et al. Ultimate peculiarity in angular spectrum enhances the parametric solution of the inverse Mie problem // *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 235, 204-208 (2019) DOI: 10.1016/j.jqsrt.2019.06.034 [IF - 2.955 Q1 (JCR 2018)].

6. Yastrebova E.S., et al. Proposed Dynamics of CDB3 Activation in Human Erythrocytes by Nifedipine Studied with Scanning Flow Cytometry // *Cytometry*

Part A, 2019, V 95, pp. 1275-1284, DOI: 10.1002/cyto.a.23918 [IF - 3.43 Q2 (JCR 2018)].

7. Romanov A.V., Konokhova A.I., Yastrebova E.S., et al. Sensitive detection and estimation of particle non-sphericity from the complex Fourier spectrum of its light-scattering profile // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer. 2019. V. 235. P. 317–331. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2019.07.001. [IF=2.955. Q1].

8. Yastrebova E.S., et al. Spectral approach to recognize spherical particles among non-spherical ones by angle-resolved light scattering. Optics and Laser Technology 135, 106700 (2021) DOI: 10.1016/j.optlastec.2020.106700 [IF= 3.233 Q1 (JCR 2019)].

9. Yastrebova E.S., et al. Dual-wavelength angle-resolved light scattering in analysis of particles by scanning flow cytometry. Journal of Optics (2021) DOI: 10.1088/2040-8986/ac1b7b [IF= 2.516 Q2 (JCR 2020)].

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва. Все отзывы положительные. Отзывы: кандидата физико-математических наук Марьясова А.Г., старшего научного сотрудника отдела физической органической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН); доктора физико-математических наук Красноперова Л.Н., ведущего научного сотрудника лаборатории лазерной фотохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), профессора технологического института Нью Джерси, США; заслуженного деятеля науки РФ, доктора физико-математических наук, профессора, Хлебцова Н.Г., заведующего лабораторией нанобиотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр

Российской академии наук» (ИБФРМ РАН); кандидата физико-математических наук Москаленского А.Е., заведующего лабораторией оптики и динамики биологических систем Физического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью и высокой квалификацией специалистов в области анализа клеток крови, оптики и биофотоники, а также соответствием основных направлений исследований задачам диссертационной работы Ястребовой Е.С. Исследовательский коллектив лаборатории «Клеточные механизмы гомеостаза крови» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН) занимается исследованием внутриклеточной и межклеточной сигнализации клеток крови и фармакологическим тестированием новых препаратов на клеточных моделях эритроцитов, имеет высокую квалификацию по теме диссертации, что подтверждается публикациями и выполняемыми проектами. Зырянов В.Я. (г. Красноярск) является специалистом в области исследования мультислойных фотонных структур с управляемыми оптическими характеристиками, в частности решения обратных задач светорассеяния, тем самым область его компетенции существенно перекликается со 2 и 3 главами диссертации Ястребовой Е.С. Ревин В.В. (г. Саранск, Республика Мордовия) является деканом факультета биотехнологии и биологии и заведующим кафедры биотехнологии и биохимии. Его публикации охватывают широкий спектр биотехнологических тем, включающих исследование поведения газотранспортной функции эритроцитов при патологиях, изменения структуры и свойств эритроцитов, что так же существенно перекликается с тематикой диссертации Ястребовой Е.С.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан новый научный подход, обогащающий научную концепцию и позволяющий выявить качественно новые закономерности анионного обмена эритроцитов в присутствии сульфата магния и нифедипина;

разработаны молекулярно-кинетические модели воздействия сульфата магния и нифедипина на скорость анионного обмена эритроцитов;

предложена оригинальная научная гипотеза о связи между нарушением морфо-функциональных свойств эритроцитов с риском дестабилизации атеромы у пациентов с атеросклерозом брахиоцефальных артерий;

доказано, что ионы Mg^{2+} активируют АЕ1 эритроцитов за счет связывания с внутренней стороны клеточной мембраны; активация АЕ1 эритроцитов в присутствии нифедипина обусловлена более выраженным ингибированием Ca^{2+} насосов, по сравнению с Ca^{2+} каналами клеточных мембран, что сопровождается повышением концентрации внутриклеточного кальция, активирующего АЕ1;

введены новые параметры, характеризующие анионный обмен эритроцитов: эффективность активации анионного обмена и константа активации белка полосы 3 сульфатом магния и нифедипином.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана активация анионного обмена эритроцитов в присутствии сульфата магния и нифедипина;

применительно к проблематике диссертации результативно использован метод сканирующей проточной цитометрии, обеспечивающий высокую точность определения морфологических и структурных параметров клеток крови;

изложены молекулярно-кинетические модели реакции белка полосы 3 эритроцитов с сульфатом магния и нифедипином, а также гипотеза о связи нарушений морфо-функциональных свойств эритроцитов с риском дестабилизации атером;

раскрыты ранее неизвестные механизмы реакции анионного обмена эритроцитов на активацию исследуемыми препаратами;
изучены морфо-функциональные параметры эритроцитов у условно здоровых доноров и пациентов с атеросклерозом брахиоцефальных артерий;
проведена модернизация сканирующего проточного цитометра для возможности измерения сигналов светорассеяния частиц одновременно на двух длинах волн.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и успешно апробирован подход измерения двухволновой индикатрисы светорассеяния на сканирующем проточном цитометре;

определены эффективность активации ($\sim 30\%$), скорости активации ($\sim 0,3$ мин⁻¹) и деактивации ($\sim 10^{-3}$ мин⁻¹) АЕ1 в эритроцитах и удельная рефракция гемоглобина – $0,0023 \pm 0,00005$ дл/г (на длине волны 660 нм и при температуре 22°C);

создана гипотетическая модель, в рамках которой статистически достоверно обнаружены ранее неизвестные маркеры дестабилизации атером, такие как устойчивость к индуцированному гемолизу и количество активно работающих анионных обменников;

представлены впервые установленные референсные интервалы для морфо-функциональных параметров эритроцитов, полученные с помощью сканирующей проточной цитометрии образцов крови условно здоровых доноров.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ использованы: сканирующий проточный цитометр и современные гематологические анализаторы. Достоверность полученных данных подтверждается их воспроизводимостью в серии экспериментов и статистической обработкой;

теория построена на известных, проверяемых данных и согласуется с опубликованными результатами по теме диссертации и в смежных областях;

идея базируется на анализе практики оценки оптических свойств клеток крови и обобщении передового мирового опыта аналогичных исследований;
использованы сравнения авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике;

установлено качественное и количественное совпадение результатов автора с результатами, представленными в независимых источниках научной информации по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение являлось возможным и обоснованным;

использованы: современные методики сбора и обработки исходной информации с помощью сканирующей проточной цитометрии и др.; представительны выборочные совокупности добровольцев с обоснованием подбора объектов (единиц) наблюдения и измерения.

Личный вклад соискателя состоит в: участии в формулировании цели и задач исследования, планировании и проведении экспериментов, выборе объекта исследования, изучении способов работы с исследуемыми препаратами, модернизации сканирующего проточного цитометра, отработке этапов пробоподготовки, обработке и интерпретации полученных экспериментальных данных, апробации результатов исследования на научных конференциях и подготовке публикаций.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний, относящихся к сути диссертации, однако был задан ряд вопросов: чем обуславливается выбор длины волны 660 нм; сколько длилась сама процедура эксперимента, каким образом вы проверяете, что в процессе пробоподготовки эритроциты сохраняют свои нативные свойства; в работе происходит измерение индикатрис одновременно на двух длинах волн или на одной длине волны; чем определяется точность параметров молекулярно-кинетических моделей, как можно улучшить точность получаемых параметров модели; как вы измеряли инкремент показателя преломления, насколько полученные данные соответствуют реальной ситуации внутри организма человека; измеряете ли вы уровень глюкозы в крови при

исследовании свойств мембраны эритроцитов; что за размерность и чем определяется удельное гемолитическое сопротивление; вы предполагаете, что на белке имеется определенный сайт связывания для ионов кальция или нет.

Соискатель Ястребова Е.С. согласился с замечаниями и ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы, в частности: длина волны обуславливается максимумом чувствительности к компонентам эритроцитарной мембраны; верификация состояния эритроцитов происходила за счет неоднократного измерения клеток на протяжении некоторого времени; для получения максимальной чувствительности показателя преломления и демонстрации возможностей сканирующего проточного цитометра проводились измерения одновременно на двух длинах волн, в то время как для определения активности анионного обмена это не требовалось; точность определения параметров модели определяется результатами обработки экспериментальных данных согласно предложенным в работе моделями и погрешностями тех литературных данных, которые известны; точность определения параметров можно повысить за счет измерения большего числа точек на кинетических кривых; значение инкремента совпало с литературными данными, полученными на широком диапазоне измерений; уровень глюкозы измерялся наравне с другими биохимическими показателями при работе с условно здоровыми донорами и пациентами; удельное гемолитическое сопротивление обуславливается отношением числа активно работающих анионных обменников к предельной растяжимости мембраны и коррелирует со временем, которое необходимо эритроциту для перехода из сферического состояния в состояния разрыва мембраны; в рамках нашей модели предполагается опосредованная активация белка полосы 3 за счет взаимодействия между ионами кальция, фосфотирозинфосфотазой и тирозинкиназой.

На заседании **27 сентября 2022 года** диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний, новые научно-обоснованные технические и технологические решения и разработки, имеющие существенное значение для развития лабораторной диагностики присудить **Ястребовой Е.С.** ученую степень кандидата физико-математических наук.

При проведении тайного голосования с использованием информационно-коммуникационных технологий диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 7 докторов наук по специальности 1.5.2. Биофизика отрасли физико-математические науки, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – **17**, против – **0**.

Заместитель председателя

диссертационного совета,

д.ф-м.н.



Барцев Сергей Игоревич

Ученый секретарь

диссертационного совета,

к.б.н.

Дементьев Дмитрий Владимирович

29.09.2022