



**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА**

**Заключение диссертационного совета МГУ.013.6  
по диссертации на соискание учёной степени доктора наук**

Решение диссертационного совета от 19 октября 2023 года № 9

О присуждении Ширшину Евгению Александровичу, гражданину Российской Федерации, 1986 года рождения, учёной степени доктора физико-математических наук.

Диссертация «Оптика эндогенных флуорофоров: фотофизические процессы и применение для биомедицинской диагностики» по специальности 1.3.6. «Оптика» принята к защите 23 июня 2023 года, протокол № 2, диссертационным советом МГУ.013.6.

Соискатель Ширшин Евгений Александрович в 2008 году окончил физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова с отличием по специальности «Фундаментальная радиофизика и физическая электроника». В 2011 году окончил очную аспирантуру физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Диссертацию на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук на тему «Влияние межмолекулярного взаимодействия на фотофизические характеристики комплексов пирена с гуминовыми веществами и уранила с лигандами-анионами в воде» по специальности 01.04.21 — «Лазерная физика» защитил 17 ноября 2011 года на заседании диссертационного совета Д 501.001.31 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. С 2011 года соискатель работает на физическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова, в настоящее время занимает должность старшего научного сотрудника кафедры квантовой электроники физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Диссертация выполнена на кафедре квантовой электроники физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Научный консультант — Фадеев Виктор Владимирович, доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры квантовой электроники физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой оптики и биофотоники Института физики Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского;

Шкуринов Александр Павлович, доктор физико-математических наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры общей физики и волновых процессов физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова;

Дунаев Андрей Валерьевич, доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Научно-технологического центра биомедицинской фотоники, профессор кафедры приборостроения, метрологии и сертификации Института приборостроения, автоматизации и информационных технологий Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева, —

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 120 опубликованных работ, из них 34 по теме диссертации, из них 33 научных публикации в рецензируемых научных изданиях, удовлетворяющих Положению о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.3.6. «Оптика». Все представленные в работе результаты получены автором лично или при его определяющем участии:

- A1. *Ширшин Е.А., Якимов Б.П., Будылин Г.С., Злобина Н.В., Давыдов Д.А., Армаганов А.Г., Фадеев В.В., Сысоев Н.Н., Камалов А.А.* Биомедицинская фотоника в задачах интраоперационной диагностики: обзор возможностей и клинических применений // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия. – 2022. – № 6. – С. 2–18. **IF = 0,619 (РИНЦ)**
- A2. *Shirshin E.A., Yakimov B.P., Darvin M.E., Omelyanenko N.P., Rodionov S.A., Gurfinkel Y.I., Lademann J., Fadeev V.V., Priezhev A.V.* Label-free multiphoton microscopy: the origin of fluorophores and capabilities for analyzing biochemical processes // Biochemistry (Moscow). – 2019. – V. 84. – Suppl. 1. – P. S69–S88. **IF = 2,824 (WoS)**
- A3. *Tikhonova T.N., Shirshin E.A., Budylin G.S., Fadeev V.V., Petrova G.P.* Assessment of the europium (III) binding sites on albumin using fluorescence spectroscopy // The Journal of Physical Chemistry B. – 2014. – V. 118. – No. 24. – P. 6626-6633. **IF = 3,466 (WoS)**
- A4. *Gayer A.V., Yakimov B.P., Budylin G.S., Shirshin E.A.* Evaluating the number of ligand binding sites on protein from tryptophan fluorescence quenching under typical experimental conditions // Journal of Biomedical Photonics and Engineering. – 2020. – V. 6. – No. 2. – P. 020303. **SJR = 0,195 (Scopus)**
- A5. *Zhdanova N.G., Shirshin E.A., Maksimov E.G., Panchishin I.M., Saletsky A.M., Fadeev V.V.* Tyrosine fluorescence probing of the surfactant-induced conformational changes of albumin // Photochemical and Photobiological Sciences. – 2015. – V. 14. – No. 5. – P. 897-908. **IF = 4,328 (WoS)**
- A6. *Zhdanova N.G., Maksimov E.G., Arutyunyan A.M., Fadeev V.V., Shirshin E.A.* Tyrosine fluorescence probing of conformational changes in tryptophan-lacking domain of albumins // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2017. – V. 174 – P. 223-229. **IF = 4,831 (WoS)**
- A7. *Tikhonova T.N., Rovnyagina N.N., Arnon Z.A., Yakimov B.P., Efremov Y.M., Cohen-Gerassi D., Halperin-Sternfeld M., Kosheleva N.V., Drachev V.P., Svistunov A.A., Timashev P.S., Adler-Abramovich L., Shirshin E.A.* Mechanical enhancement and kinetics regulation of Fmoc-Diphenylalanine hydrogels by thioflavin T // Angewandte Chemie International Edition. – 2021. – V. 60. – No. 48. – P. 25339-25345. **IF = 16,823 (WoS)**
- A8. *Tikhonova T.N., Cohen-Gerassi D., Arnon Z.A., Efremov Y.M., Timashev P.S., Adler-Abramovich L., Shirshin E.A.* Tunable Self-Assembled Peptide Hydrogel Sensor for Pharma Cold Supply Chain // ACS Applied Materials and Interfaces. – 2022. – V. 14. – No. 50. – P. 55392-55401. **IF = 10,383 (WoS)**
- A9. *Arnon Z.A., Kreiser T., Yakimov B., Brown N., Aizen R., Shaham-Niv S., Makam P., Nawaz Qaisrani M., Poli E., Ruggiero A., Slutsky I., Hassanali A., Shirshin E., Levy D., Gazit E.* On-off transition and ultrafast decay of amino acid luminescence driven by modulation of supramolecular packing // iScience. – 2021. – V. 24 – No. 7. – P. 102695. **IF = 6,107 (WoS)**
- A10. *Aizen R., Arnon Z.A., Berger O., Ruggiero A., Zaguri D., Brown N., Shirshin E., Slutsky I., Gazit E.* Intrinsic fluorescence of nucleobase crystals // Nanoscale Advances. – 2023. – V. 5, – No. 2. – P. 344-348. **IF = 5,598 (WoS)**
- A11. *Shaham-Niv S., Arnon Z.A., Sade D., Lichtenstein A., Shirshin E.A., Kolusheva S., Gazit E.* Intrinsic fluorescence of metabolite amyloids allows label-free monitoring of their formation and dynamics in live cells // Angewandte Chemie International Edition. – 2018. – V. 57. – No. 38. – P. 12444-12447. **IF=16,823 (WoS)**
- A12. *Tikhonova, T.N., Rovnyagina N.R., Zhrebker A.Y., Sluchanko N.N., Rubekina A.A., Ore-*

- khov A.S., Nikolaev E.N., Fadeev V.V., Uversky V.N., Shirshin E.A.* Dissection of the deep-blue autofluorescence changes accompanying amyloid fibrillation // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2018. – V. 651. – P. 13-20. **IF = 4,114 (WoS)**
- A13. *Semenov A.N., Yakimov B.P., Rubekina A.A., Gorin D.A., Drachev V.P., Zarubin M.P., Velikanov A.N., Lademann J., Fadeev V.V., Priezzhev A.V., Darvin M.E., Shirshin E.A.* The oxidation-induced autofluorescence hypothesis: red edge excitation and implications for metabolic imaging // Molecules. – 2020. – V. 25 – No. 8. – P. 1863. **IF = 4,927 (WoS)**
- A14. *Voloshina O.V., Shirshin E.A., Lademann J., Fadeev V.V., Darvin M.E.* Fluorescence detection of protein content in house dust: the possible role of keratin // Indoor Air. – 2017. – V. 27 – No. 2. – P. 377-385. **IF = 6,554 (WoS)**
- A15. *Yakimov B.P., Rubekina A.A., Zhrebker A.Y., Budylin, G.S., Kompanets V.O., Chekalin S.V., Vainer Y.G., Hasan A.A., Nikolaev E.N., Fadeev V.V., Perminova I.V., Shirshin E.A.* Oxidation of individual aromatic species gives rise to humic-like optical properties // Environmental Science and Technology Letters. – 2022. – V.9. – No. 5. – P. 452-458. **IF = 7,678 (WoS)**
- A16. *Yakimov B.P., Rubekina A.A., Budylin G.S., Zhrebker A.Y., Kompanets V.O., Chekalin S.V., Vainer Y.G., Fadeev V.V., Gorbunov M.Y., Perminova I.V., Shirshin E.A.* Ultrafast energy transfer determines the formation of fluorescence in DOM and humic substances // Environmental Science and Technology. – 2021. – V. 55 –No. 15. – P.10365-10377. **IF = 11,357 (WoS)**
- A17. *Perminova, I.V., Shirshin E.A., Konstantinov, A.I., Zhrebker, A.Ya., Lebedev V.A., Dubinenkov I.V., Kulikova N.A., Nikolaev E.N., Bulygina E., Holmes R.M.* The structural arrangement and relative abundance of aliphatic units may effect long-wave absorbance of natural organic matter as revealed by 1H NMR spectroscopy // Environmental Science and Technology. – 2018. – V. 52. – No. 21. – P.12526-12537. **IF = 11,357 (WoS)**
- A18. *Shirshin E., Cherkasova O., Tikhonova T, Berlovskaya E., Priezzhev A., Fadeev V.* Native fluorescence spectroscopy of blood plasma of rats with experimental diabetes: identifying fingerprints of glucose-related metabolic pathways // Journal of Biomedical Optics. – 2015. – V. 20 – No. 5. – P. 051033. **IF = 3,758 (WoS)**
- A19. *Gayer A.V., Yakimov B.P., Sluchanko N.N., Shirshin E.A.* Multifarious analytical capabilities of the UV/Vis protein fluorescence in blood plasma // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2022. – V. 286. – P. 122028. **IF = 4,831 (WoS)**
- A20. *Shirshin E.A., Gurfinkel Y.I., Priezzhev A.V., Fadeev V.V., Lademann J., Darvin M.E.* Two-photon autofluorescence lifetime imaging of human skin papillary dermis in vivo: assessment of blood capillaries and structural proteins localization // Scientific reports. – 2017. – V. 7. – No. 1. – P. 1171. **IF = 4,996 (WoS)**
- A21. *Yakimov B.P., Gogoleva, M.A., Semenov A.N., Rodionov S.A., Novoselova M.V., Gayer A.V., Kovalev A.V., Bernakevich A.I., Fadeev V.V., Armaganov A.G., Drachev V.P., Gorin D.A., Darvin M.E., Shcheslavskiy V.I., Budylin G.S., Priezzhev A.V., Shirshin E.A.* Label-free characterization of white blood cells using fluorescence lifetime imaging and flow-cytometry: molecular heterogeneity and erythrophagocytosis // Biomedical Optics Express. – 2019. – V. 10. – No. 8. – P. 4220-4236. **IF = 3,562 (WoS)**
- A22. *Shirshin E.A., Yakimov B.P., Rodionov S.A., Omelyanenko N.P., Priezzhev A.V., Fadeev V.V., Lademann J., Darvin, M.E.* Formation of hemoglobin photoproduct is responsible for two-photon and single photon-excited fluorescence of red blood cells // Laser Physics Letters. – 2018. – V. 15. – No. 7. – P. 075604. **IF = 1,704 (WoS)**
- A23. *Shirshin E.A., Gurfinkel Y.I., Matskeplishvili S.T., Sasonko M.L., Omelyanenko N.P., Yakimov B.P., Landemann J., Darvin M.E.* In vivo optical imaging of the viable epidermis around the nailfold capillaries for the assessment of heart failure severity in humans // Journal of Biophotonics. – 2018. – V. 11. – No. 9. – P. e201800066. **IF = 3,390 (WoS)**
- A24. *Yakimov B.P., Gurfinkel Y.I., Davydov D.A., Allenova A.S., Budylin G.S., Vasiliev V.Y.,*

- Soldatova V.Y., Kamalov A.A., Matskeplishvili S.T., Priezzhev A.V., Shirshin E.A.* Pericapillary edema assessment by means of the nailfold capillaroscopy and laser scanning microscopy // *Diagnostics*. – 2020. – V. 10. – No. 12. – P. 1107. **IF = 3,992 (WoS)**
- A25. *Shirshin E.A., Shirmanova M.V., Gayer A.V., Lukina M.M., Nikonova E.E., Yakimov B.P., Budylin G.S., Dudenkova V.V., Ignatova N.I., Komarov D.V., Yakovlev V.V., Becker W., Zagaynova E.V., Shcheslavskiy V.I., Scully M.O.* Label-free sensing of cells with fluorescence lifetime imaging: The quest for metabolic heterogeneity // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2022. – V. 119. – No. 9. – P. e2118241119. **IF = 12,777 (WoS)**
- A26. *Kröger M., Scheffel J., Shirshin E.A., Schleusener J., Meinke M.C., Lademann J., Maurer M., Darvin M.E.* Label-free imaging of M1 and M2 macrophage phenotypes in the human dermis in vivo using two-photon excited FLIM // *eLife*. – 2022. – V.11. – P. e72819. **IF = 8,713 (WoS)**
- A27. *Kröger M., Scheffel J., Nikolaev V.V., Shirshin E.A., Siebenhaar F., Schleusener J., Lademann J., Maurer M., Darvin M.E.* In vivo non-invasive staining-free visualization of dermal mast cells in healthy, allergy and mastocytosis humans using two-photon fluorescence lifetime imaging // *Scientific reports*. – 2020. – V. 10. – No. 1. – P. 14930. **IF = 4,996 (WoS)**
- A28. *Ширшин Е.А., Якимов Б.П., Бudyлин Г.С., Буянкин К.Е., Армаганов А.Г., Фадеев В.В., Камалов А.А.* Методы нелинейной оптики для диагностики меланина: мини-обзор // *Квантовая электроника*. – 2022. – Т. 52. – № 1. – С. 28-35. **IF = 1,563 (РИНЦ)**
- A29. *Yakimov B.P., Shirshin E.A., Schleusener J., Allenova A.S., Fadeev V.V., Darvin M.E.* Melanin distribution from the dermal–epidermal junction to the stratum corneum: non-invasive in vivo assessment by fluorescence and Raman microspectroscopy // *Scientific reports*. – 2020. – V. 10. – No. 1. – P. 14374. **IF = 4,996 (WoS)**
- A30. *Yakimov B.P., Venets A.V., Schleusener J., Fadeev V.V., Lademann J., Shirshin E.A., Darvin M.E.* Blind source separation of molecular components of the human skin in vivo: non-negative matrix factorization of Raman microspectroscopy data // *Analyst*. – 2021. – V. 146. – No. 10. – P. 3185-3196. **IF = 5,227 (WoS)**
- A31. *Ширшин Е.А., Банишев А.А., Фадеев В.В.* Локализованные донорно-акцепторные пары флуорофоров: определение скорости переноса энергии методом нелинейной флуориметрии // *Письма в ЖЭТФ*. – 2009. – Т. 89. – № 10. – С. 567-570. **IF = 1,412 (РИНЦ)**
- A32. *Банишев А.А., Ширшин Е.А., Фадеев В.В.* Определение фотофизических параметров молекул триптофана методами лазерной флуориметрии // *Квантовая электроника*. – 2008. – Т. 38. – № 1. – С. 77-81. **IF = 1,563 (РИНЦ)**
- A33. *Yakimov B., Gayer A., Maksimov E., Mamonov E., Maydykovsky A., Murzina T., Fadeev V., Shirshin E.* Fluorescence saturation imaging microscopy: molecular fingerprinting in living cells using two-photon absorption cross section as a contrast mechanism // *Optics Letters*. – 2022. – V. 47. – No. 17. – P. 4455-4458. **IF = 3,560 (WoS)**

На автореферат диссертации поступило 6 отзывов, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что они являются специалистами в области оптической спектроскопии и микроскопии сложных органических соединений, биофотоники и биомедицинской оптики и имеют публикации по тематике диссертации. Указанные оппоненты не имеют совместных проектов и публикаций с соискателем.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора физико-математических наук является научно-квалификационной работой, в которой выполнено комплексное исследование механизмов формирования оптического отклика эндогенных флуорофоров и разработаны методы биомедицинской диагностики с использованием эндогенного контраста. Исследованные оптические эффекты с

участием эндогенных флуорофоров могут найти применение для создания систем интраоперационной навигации, устройств для неинвазивной диагностики физиологических параметров, диагностики состояния клеток и тканей на молекулярном уровне. Фундаментальный интерес представляют приведенные автором результаты изучения механизмов формирования оптических свойств гетерогенных систем эндогенных флуорофоров, механизмов формирования оптического отклика живых систем в красной и ближней ИК областях спектра. Проведенные исследования вносят существенный вклад в развитие оптики эндогенных флуорофоров и биофотоники.

Результаты диссертации могут быть использованы в МГУ имени М.В. Ломоносова и других высших учебных заведениях в основных образовательных программах при создании новых и обновлении имеющихся материалов учебных курсов, а также в научно-исследовательских институтах для ознакомления с результатами и методами исследований по соответствующей тематике.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Взаимодействие экзогенных флуоресцентных меток, обладающих высокой константой комплексообразования ( $>10^7 \text{ M}^{-1}$ ) со структурами, образующимися в процессе агрегации белков и пептидов, влияет на кинетику образования агрегатов и их морфологию.
2. Гетерогенные системы флуорофоров, образующиеся в результате процесса окисления белков и пептидов, обладают спектром возбуждения флуоресценции в диапазоне 300-700 нм и квантовым выходом флуоресценции  $\sim 0.01$ , за счет чего их вклад в эндогенный сигнал флуоресценции клеток и тканей в видимой области спектра сравним с НАДН и флавинами, а в красной и ближней ИК области спектра может быть доминирующим.
3. Поведение спектральных свойств и параметров релаксации флуоресценции на масштабе времени от 100 фс до 10 нс для гетерогенных систем флуорофоров, полученных методом снизу вверх, путем окисления монокомпонентных растворов органических молекул, и сверху вниз, в частности, природного органического вещества, определяется единообразием фотофизических механизмов в них – статистическим усреднением свойств входящих в их состав молекулярных флуорофоров.
4. Эндогенная флуоресценция белков плазмы крови в диапазоне длин волн возбуждения 280-450 нм может быть использована для диагностики онкологических заболеваний, при этом флуоресценция при возбуждении  $>350$  нм связана с наличием гетерогенных систем флуорофоров, образующихся за счет химических модификаций белковых макромолекул.
5. При двухфотонном возбуждении в ближнем ИК диапазоне спектра сосуда и эритроциты могут быть селективно визуализированы, в том числе, *in vivo*, по сверхбыстрой ( $<100$  пс) релаксации флуоресценции, связанной с образованием фотопродуктов гемоглобина.
6. В случае, если средние времена затухания флуоресценции эндогенных флуорофоров отличаются не менее, чем на  $\sim 200$  пс, возможна селективная визуализация содержащих их структур в биотканях, в частности, иммунных клеток в коже человека *in vivo*.

7. Сечение двухфотонного поглощения меланина как гетерогенной системы флуорофоров в ближней ИК области по порядку составляет ~100 ГМ и свидетельствует о нерезонансном двухфотонном возбуждении меланина в данном спектральном диапазоне.
8. Микроскопия насыщения флуоресценции позволяет определять абсолютные значения сечения двухфотонного поглощения флуорофоров в диапазоне 1-100 ГМ и визуализировать распределение эндогенных флуорофоров в клетках и тканях в случае, если их разделение по параметрам релаксации флуоресценции невозможно.

На заседании 19 октября 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Ширшину Евгению Александровичу учёную степень доктора физико-математических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **15** человек, из них **8** докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из **22** человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» — **15**, «против» — **нет**, недействительных бюллетеней — **нет**.

Председатель  
диссертационного совета МГУ 013.6  
доктор физико-математических наук,  
профессор

Салецкий Александр Михайлович

Учёный секретарь  
диссертационного совета МГУ 013.6  
доктор физико-математических наук,  
доцент

Косарева Ольга Григорьевна

Дата оформления заключения: 19 октября 2023 года.