

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе  
Университета ИТМО,  
технических наук,



доктор  
профессор

В.О. Никифоров

*Никифоров* 2016 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики на диссертационную работу Тимошиной Полины Александровны «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Представленная на отзыв диссертационная работа посвящена исследованию динамики кровотока *in vivo* в сосудах внутренних органов лабораторных животных методом спекл-контрастной визуализации в условиях развития модельных патологий.

#### Актуальность темы диссертационной работы

Исследование динамики кровотока (мониторинг состояния микроциркуляции) является одной из важных проблем современной медицинской диагностики. Это связано с тем, что многие заболевания, такие как заболевания сердечно-сосудистой системы, атеросклероз, сахарный диабет, хроническая венозная недостаточность и другие, вызывают функциональные и морфологические изменения в микроциркуляторном русле.

Существующие методы измерения динамики кровотока имеют ряд существенных ограничений, например, недостаточно высокое пространственное и временное разрешение, ограниченность информации о потоке частиц, особенно при сканировании по глубине биоткани, некоторая инвазивность измерений и др. Совмещение методов динамического рассеяния света (ДРС) и микроскопии позволяет получить высокоэффективный инструмент для определения параметров микроциркуляции.

В настоящее время широко применяются методы статистического и корреляционного анализа динамических спеклов. Формируемые при многократном рассеянии лазерного

излучения спекл-поля обладают высокой чувствительностью к изменениям конфигурации рассеивающих центров в зондируемой области, обусловленным нестационарной особенностью исследуемой среды. Несмотря на значительный успех, в этой области исследование эффективности применения метода лазерной спекл-контрастной визуализации для анализа динамики кровотока *in vivo* при решении ряда практических задач в медицине положенное в основу настоящей диссертационной работы является весьма актуальным.

#### Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и списка литературы. Объем диссертации составляет 102 страницы, включая список литературы, 28 рисунков. Список цитированной литературы содержит 155 наименований, включая публикации автора по теме диссертации.

Во **введении** обоснована актуальность темы диссертации, четко определена ее цель и решаемые задачи, сформулирован перечень положений, выносимых автором на защиту, отражена научная новизна и практическая значимость.

**Первая глава** диссертационной работы носит обзорно-аналитический характер, в главе проводится краткий анализ существующих оптических методов диагностики параметров микроциркуляции крови. Даны описания различных методов, таких как лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), лазерная спекл и флуоресцентная визуализация, оптическая когерентная ангиография, доплеровская оптическая когерентная томография, интравитальная микроскопия, интравитальная флуоресцентная цифровая микроскопия. Обсуждены пределы применимости отдельных методов. Более подробно автор описывает метод спекл-контрастной визуализации и различные его модификации.

Во **второй главе** детально описана экспериментальная установка и принцип ее работы, методика измерений и обработки экспериментальных данных, экспериментальные биологические модели (стресс-индуцированного инсульта головного мозга, диабета и панкреонекроза). Помимо этого, данная глава содержит раздел с описанием проведения калибровки экспериментальной установки с помощью фантома, моделирующего микроциркуляцию крови в биоткани с оптическими свойствами, близкими к реальным тканям.

**Третья глава** посвящена исследованию церебральной микроциркуляции крови в условиях развития стресс-индуцированного инсульта головного мозга у лабораторных животных. В данной главе описаны методика и результаты исследования изменений церебрального кровотока лабораторных крыс в условиях развития инсульта, вызванного стрессом, и при введении сосудорасширяющих и сосудосуживающих агентов. Показана эффективность разработанного устройства и алгоритма получения и обработки данных

методом спекл-контрастной визуализации полного поля для мониторинга состояния церебральной микроциркуляции крови в коре головного мозга, обусловленного патологическими изменениями или воздействием различных препаратов. Важным результатом данных исследований является демонстрация способности метода спекл-контраста определять изменения в микроциркуляторных показателях на ранних стадиях развития стресс-индуцированного инсульта.

**В четвертой главе** описаны методика и результаты исследования микроциркуляции крови в сосудах поджелудочной железы в условиях моделирования ишемии – реперфузии в тканях поджелудочной железы лабораторных животных. Моделирование панкреатической ишемии-реперфузии показало, что ишемия и реперфузия приводят к нарушениям микроциркуляции, возникновению отека тканей и к гистоморфологическим изменениям, схожим с теми, что наблюдаются при остром панкреатите. Применяемая в качестве диагностики методика спекл-контрастной визуализации показала высокую чувствительность к изменениям микроциркуляции крови в режиме реального времени при разной степени сокращения кровотока на различных интервалах времени.

**Пятая глава** посвящена оценке влияния оптических просветляющих агентов (ОПА) на микроциркуляцию крови в тканях внутренних органов лабораторных животных, где описаны методика измерения и полученные результаты исследования. Было рассмотрено влияние двух агентов, таких как осмотический 40%-раствор глюкозы и многокомпонентный раствор фруктозы. Результаты применения обоих растворов показали увеличение диаметров исследуемых сосудов и снижение скорости кровотока в них.

**В шестой главе** представлены методика проведения и результаты оценки изменений микроциркуляции крови в поджелудочной железе в условиях развития аллоксанового диабета методом спекл-контрастной визуализации и дополнительной оценки проницаемости сосудов под воздействием 100% раствора «Омнипак-300» и 70% водного раствора «Омнипак-300». В результате соискателем было выявлено, что развитие аллоксанового диабета влияет на изменение микроциркуляции крови по сравнению со здоровой группой животных, уровень скорости кровотока у диабетической группы животных выше, чем у контрольной. Также развитие аллоксанового диабета могло вызвать нарушение эндотелиальной проницаемости сосудов, что подтвердилось различным откликом изменения микроциркуляции крови на воздействие водного 70%-раствора «Омнипак-300» и 100% раствора «Омнипак-300». Скорость кровотока увеличилась в диабетической группе животных при воздействии водного 70%-раствора «Омнипак-300» и 100% раствора «Омнипак-300», при этом в контрольной группе кровотоков не изменился.

**В заключении** сформулированы основные результаты работы.

**Научная новизна диссертационной работы** состоит в том, что впервые показано, что калибровка метода спекл-контрастной визуализации с помощью фантома моделирующего микроциркуляцию крови в биоткани с оптическими свойствами, близкими к реальным тканям, позволяет рассчитать пространственное распределение контраста и оценить зависимость контраста спекл - изображения относительно заданных значений скоростей, что позволяет перейти от качественного анализа изменений микроциркуляции крови к количественному, а именно к приведенной скорости в фантоме. Впервые изучено влияние иммерсионных жидкостей, а именно многокомпонентного раствора фруктозы (фруктоза, вода и спирт, 50:20:30 %) на микроциркуляцию крови в сосудах внутренних органов лабораторных животных, а также влияние 100% раствора Омнипак-300 и водного 70% раствора Омнипак-300 на микроциркуляцию крови в сосудах поджелудочной железы лабораторных животных в условиях развития аллоксанового диабета.

Впервые методика спекл-контрастной визуализации была применена к исследованию микроциркуляции крови в сосудах поджелудочной железы в условиях развития экспериментальной модели ишемии-реперфузии. Продемонстрировано, что при создании временной неполной (50% кровотока) локальной ишемии путем компрессии магистральных сосудов поджелудочной железы в течение 5 мин с помощью спекл-контрастной визуализации может быть выявлена реактивная гиперемия и обратимые клинические и морфологические изменения. Мониторинг состояния микроциркуляции крови в коре головного мозга, обусловленного патологическими изменениями в коре при развитии стресс-индуцированного инсульта или при воздействии медицинских препаратов, продемонстрировал эффективность диагностики предынсультных изменений церебральной микроциркуляции методом спекл-контрастной визуализации.

**Практическая значимость работы** заключается том, что метод спекл-контрастной визуализации применим для измерения скорости кровотока в режиме реального времени и является перспективным методом для использования в исследованиях влияния оптических иммерсионных просветляющих агентов на микроциркуляцию крови поверхностных слоев биологических тканей. Метод может быть применим для экспресс контактной оценки состояния микроциркуляции внутренних органов. Одним из возможных применений метода является мониторинг мозгового кровообращения мелких животных или новорожденных без трепанации черепа при использовании метода оптического просветления кожи и твердых тканей головы с помощью просветляющих агентов.

**Достоверность и обоснованность** результатов диссертационной работы подтверждается адекватностью методов исследования, воспроизводимостью результатов проведенных экспериментов, и их согласованностью с результатами работ других авторов.

## Замечания и недостатки

Работа производит в целом благоприятное впечатление, но, конечно, имеет недостатки.

1. Диссертация перегружена большим количеством моделей различных патологий.
2. В главе 5 «Оценка влияния оптических просветляющих агентов на микроциркуляцию крови в тканях лабораторных животных», представлено сравнительное исследование только двух агентов, хотелось бы иметь данные для более широкого набора агентов с соответствующим анализом и подбором оптимального.
3. Имеется ряд погрешностей в пунктуации и некоторые стилистические неточности.
4. Присутствуют опечатки в допустимом количестве.

## Заключение

Диссертационная работа Тимошиной П.А. «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных» является законченной научно-квалификационной работой. Полученные автором результаты широко апробированы на конференциях и семинарах в России, международных конференциях и симпозиумах.

Автореферат правильно отражает содержание диссертации.

Научная новизна и оригинальность результатов диссертационного исследования подтверждена публикациями в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ. По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 3 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК РФ, 7 в систему цитирования SCOPUS. Публикации по теме диссертации в полной мере освещают ее основные положения.

Перечисленные замечания не снижают общей высокой оценки работы.

Полученные результаты представляют существенное значение для биофизики. Основные выводы и результаты работы могут быть использованы в учебном процессе при разработке соответствующих спецкурсов биофизической направленности в ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», также могут быть использованы в ФГБОУ ВО «СГМУ имени В.И. Разумовского», ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова», Институте биомедицинских исследований ВНЦ РАН и других организациях.

Диссертационная работа Тимошиной Полины Александровны «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных» удовлетворяет требованиям ВАК РФ, согласно Положению о присуждении ученых степеней 2013г., с изменениями от 21.04.2016г., а ее автор заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Диссертационная работа Тимошиной П.А. была заслушана и обсуждена на семинаре кафедры ЛТиС Университета ИТМО «25» октября 2016 года, протокол №3

Заведующий кафедрой ЛТиС,  
Университета ИТМО, д.т.н.

Вейко В.П.

Профессор кафедры ЛТиС,  
Университета ИТМО, д.ф.-м.н.

Беликов А.В.

Подпись *Вейко В.П.*  
Удостоверяю  
Специалист ОК  
Университета ИТМО

*Тимошиной П.А.*  
*Вейко В.П.*  
*25.10.2016.*