

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию 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.

Актуальность рассматриваемой работы связана с тем, что разработка методов мониторинга состояния микроциркуляции является одним из важнейших направлений современной диагностической и экспериментальной медицины. Заболевания сердечно-сосудистой системы, атеросклероз, сахарный диабет, хроническая венозная недостаточность и многие другие вызывают как морфологические, так и функциональные изменения в микроциркуляторном русле. В настоящее время к наиболее эффективным диагностическим методам определения основных параметров микроциркуляции относятся методы, основанные на динамическом рассеянии света (методы лазерной доплеровской флоуметрии, интравитальная микроскопия, диффузионно-волновая спектроскопия, спекл-визуализация и другие), а также методы, основанные на принципах оптической когерентной томографии.

П.А. Тимошина посвятила работу исследованию динамики кровотока *in vivo* в сосудах внутренних органов лабораторных животных методом спекл-контрастной визуализации в условиях моделирования развития различных экспериментальных моделей патологий – стресс-индуцированный инсульт, модель ишемии-реперфузии, аллоксановый диабет. Ввиду широчайшей распространенности указанных заболеваний в человеческой популяции поставленные перед работой задачи весьма актуальны. Мониторинг динамики кровотока оптическими методами, в данном случае методом спекл-контрастной визуализации, является перспективным методом контроля состояния

микроциркуляционного русла, помимо этого является актуальным вопрос о расширении спектра применимости данной методики для решения задач в практической медицине.

Целью диссертационной работы П.А. Тимошиной является исследование эффективности применения метода лазерной спекл-контрастной визуализации для анализа динамики кровотока *in vivo* при решении ряда практических задач в медицине.

Научная новизна работы. Автором впервые получен ряд результатов, представляющих интерес для дальнейшего использования в практической и экспериментальной медицине. Впервые представленная в работе калибровка метода спекл-контрастной визуализации с помощью фантома моделирующего микроциркуляцию крови в биоткани, позволила рассчитать пространственное распределение контраста и оценить зависимость контраста спекл - изображения относительно заданных значений скоростей, что дает возможность перейти от качественного анализа изменений микроциркуляции крови к количественному, а именно к приведенной скорости в фантоме.

Впервые автором было изучено влияние иммерсионных жидкостей, а именно многокомпонентного раствора фруктозы (фруктоза, вода и спирт, 50:20:30 %) в режиме реального времени на микроциркуляцию крови в сосудах внутренних органов лабораторных животных, а также влияние рентгеноконтрастного раствора Омнипак-300 (активное вещество Йогексол) и его водного 70% раствора на микроциркуляцию крови в сосудах поджелудочной железы лабораторных животных в условиях развития диабета. Впервые данная методика была применена к исследованию микроциркуляции крови в сосудах поджелудочной железы в условиях развития экспериментальной модели ишемии-реперфузии. Также впервые показано, что метод спекл-контрастной визуализации продемонстрировал эффективность диагностики

прединсультных изменений церебральной микроциркуляции в условиях развития стресс-индуцированного инсульта.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и заключений, сформулированных в диссертации, как и достоверность полученных результатов исследования, подтверждается методологическими подходами. Для реализации поставленной цели автор проделал большой экспериментальный объем работы. Диссертантом использованы современные измерительные методики. Статистическая обработка данных проведена на современном уровне и подтверждает достоверность полученных данных. Из диссертации логично вытекают 4 положения, выносимые на защиту, которые находят свое убедительное доказательство в тексте диссертационной работы. Личный вклад автора в исследование является несомненным.

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. Диссертация написана в оригинальном ключе, содержит значительное число разделов, что обосновано различием рассматриваемых патологических состояний, таким образом выводы диссертации автором выделены в конце каждого раздела и посвящены соответствующей патологии или моделируемому экспериментально состоянию. Учитывая разность рассматриваемых в работе явлений, характер их моделирования, разность методик эксперимента в каждом конкретном случае, указанная особенность изложения материала представляется в данном случае обоснованной.

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 является обзорной и посвящена краткому анализу существующих оптических методов диагностики параметров микроциркуляции крови. Обсуждаются различные методы, такие как лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), лазерная спекл- и флуоресцентная визуализация, оптическая когерентная ангиография, доплеровская оптическая когерентная томография, интравитальная микроскопия, интравитальная флуоресцентная цифровая микроскопия. Также более подробно описан метод спекл-контрастной визуализации и различные модификации данного метода.

Вторая глава включает детальное описание экспериментальной установки и принцип ее работы, методики измерений и обработки экспериментальных данных, экспериментальных биологических моделей (стресс-индуцированный инсульт головного мозга, диабет, панкреонекроз), проведения калибровки экспериментальной установки с помощью фантома моделирующего микроциркуляцию крови в биоткани с оптическими свойствами, близкими к реальным тканям.

В третьей главе посвящена описанию мониторинга церебральной микроциркуляции крови в условиях развития стресс-индуцированного инсульта головного мозга у лабораторных животных методом спекл-контрастной визуализации. 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. Результаты исследований показали, что приведенная скорость кровотока у здоровых животных (3-я группа) на 23 % выше 1 группы животных (через сутки после стрессового воздействия) и на 12 % второй группы (прединсультная группа). 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.

Четвертая глава описывает исследования микроциркуляции крови в сосудах поджелудочной железы методом спекл-контрастной визуализации 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. Было выявлено, что при полном временном пережатии кровотока с длительной ишемией (20 мин) половина животных погибает на 3–4-е сутки эксперимента. Среди выживших животных, наряду с нарушениями кровообращения, гистологически отмечался лейкостаз с лейко-диапедезом в строму, развитие распространенных очагов некроза, что говорит о развитии панкреонекроза. После 5 мин. сокращения кровотока в тканях поджелудочной железы на 50%, возникает реактивная гиперемия, клинические и морфологические изменения носят обратимый характер. После 20 мин. неполного сокращения кровотока на половину, реактивной гиперемии нет, клинически и морфологически развивается панкреатит, не достигающий степени панкреонекроза.

Пятая глава включает в себя описание оценки влияния оптических просветляющих агентов (ОПА) на микроциркуляцию крови в тканях внутренних органов лабораторных животных, где описаны методика измерения и полученные результаты исследования. Результаты применения осмотического раствора глюкозы показывают, что 40%-раствор глюкозы обеспечивает немедленное расширение кровеносных сосудов на 9% и уменьшение скорости кровотока примерно на 40%. Результаты применения многокомпонентного раствора фруктозы показывают, что диаметр сосудов увеличивается примерно на 15%, а скорость кровотока снижается на 25% и в течение 20 мин параметры не восстанавливаются.

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». При мониторинге микроциркуляции крови в сосудах поджелудочной железы в условиях развития аллоксанового диабета методом спекл-контрастной визуализации было выявлено, что развитие аллоксанового диабета влияет на изменение микроциркуляции крови по сравнению со здоровой группой животных, скорость кровотока у диабетической группы животных увеличивается на 40%. Метод спекл-контрастной визуализации позволяет контролировать изменения кровотока в сосудах поджелудочной железы при внешнем воздействии на сосуды не только здоровых животных, но и в условиях развития диабета, а именно нанесение водного 70%-раствора «Омнипак-300» и 100% раствора «Омнипак-300». Продемонстрировано увеличение скорости кровотока почти на 50% в диабетической группе животных при воздействии водного 70%-раствора «Омнипак-300» и на 65% при воздействии 100% раствора «Омнипак-300», но к 10-ой мин скорость кровотока полностью восстанавливается, в контрольной группе кровотоков не изменился.

В заключении автором обсуждаются основные выводы, полученные в результате проведенных исследований и изложенные ранее в соответствующих разделах.

Практическая значимость. Полученные результаты диссертационной работы развивают и дополняют теоретические и экспериментальные данные по эффективности применения спекл-контрастной визуализации полного поля для мониторинга динамики кровотока в исследованиях *in vivo*. Метод 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. 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.

Апробация работы. Результаты работы опубликованы автором в печати – 16 работ, из них 3 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК, 7 – в систему цитирования SCOPUS. Основные результаты диссертационной работы были представлены на российских и международных научных конференциях.

Автореферат отражает основное содержание диссертации. Следует отметить, что в структуре автореферата присутствует раздел «Выводы», содержащий обобщенную информацию из соответствующих подразделов всех глав диссертации, посвященных исследовательской работе. Выводы, представленные в автореферате, соответствуют целям и задачам исследования и полностью вытекают из полученных результатов, обоснованы и доказаны.

Имеются некоторые замечания к оформлению диссертационной работы:

1. Имеются незначительные погрешности в пунктуации и некоторые стилистические неточности.
2. Рисунок 4 и рисунок 8 практически идентичны, стоило использовать одну схему экспериментальной установки (с указанием ее вариаций) для иллюстрации различных исследований.
3. В главе 2.5 своеобразно дано описание сахарного диабета у человека и нарушений мозгового кровообращения (без учета современных классификаций и подходов), что, впрочем, допустимо для диссертации на экспериментально-физическую тему.
4. На рисунках 27 и 28 на графиках изображены кривые в виде, затрудняющем визуальное восприятие подобных иллюстраций и сравнение представленных на них данных.

Кроме этого, есть ряд не выправленных опечаток в тексте, а также в ряде случаев в тексте использованы громоздкие словесные обороты и конструкции на что указано автору работы. Отсутствие общих выводов в тексте диссертации

уже указывалось ранее и можно считать обоснованным, ввиду различия рассматриваемых автором экспериментальных тем. Заключение также написано автором очень сжато, по причине того, что сравнение собственных результатов с результатами других авторов проведено в соответствующих главах.

Отмеченные недостатки и замечания не имеют принципиального характера и не могут умалить ценность полученных автором диссертации новых, достоверных и имеющих большую практическую значимость результатов.

Диссертационная работа соответствует заявленной специальности 03.01.02 – биофизика, так как содержит в себе экспериментально-математическое обоснование фундаментальных физических взаимодействий, лежащих в основе процессов жизнедеятельности; преобладание физических и математических исследований делает возможным соискание ученой степени по отрасли наук «физико-математические науки».

Заключение. Диссертационная работа Тимошиной П. А. «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора физико-математических наук, профессора Тучина Валерия Викторовича. Указанная работа имеет существенное значение для биофизики, так как создает существенно расширяет границы применения метода лазерной спекл-контрастной визуализации для анализа динамики кровотока *in vivo* при решении ряда практических задач в экспериментальной и практической медицине.

Считаю, что диссертационная работа Тимошиной Полины Александровны «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на

животных» по актуальности, новизне, научному уровню и практической значимости соответствует требованиям п.9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842 "О порядке присуждения ученых степеней" в редакции, утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Официальный оппонент:

доцент кафедры оториноларингологии
ФГБОУ ВО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доцент, доктор медицинских наук



Г.О. Мареев

410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112
(845-2)-27-33-70, (845-2)-51-15-32
e-mail: dr-mareev@mail.ru

Подпись д.м.н. Мареева Глеба Олеговича заверяю:

Ученый секретарь ГБОУ ВПО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук



Т.Е. Липатова

14 ноября 2016 г.