

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

диссертационного совета Д212.243.05 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 20 декабря 2016 г. №191

О присуждении Тимошиной Полине Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертационная работа Тимошиной П.А. «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных» в виде рукописи по специальности 03.01.02 – биофизика, принята к защите 10 октября 2016, протокол №187, диссертационным советом Д212.243.05 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83. Срок полномочий совета Д212.243.05 приказом Рособрнадзора от 11.09.2009 г. №1925-1840 продлен на период действия Номенклатуры специальностей научных работников, утвержденной приказом Минобрнауки России от 25.02.2009 г. №59. Приказом №105/нк от 11 апреля 2012 года совет признан соответствующим «Положению о совете по защите диссертаций на соискания ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», утвержденному приказом Минобрнауки РФ от 12 декабря 2011 года №2817. Приказами Минобрнауки №350/нк от 29.07.2013 г., №393/нк от 05.04.2016 г. и 1252/нк от 14.10.2016 г. в состав совета внесены изменения.

Соискатель Тимошина Полина Александровна, 1990 года рождения, в 2012 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «Медицинская физика».

Справка об обучении № 80-2016 выдана 8 июля 2016 года Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего

образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» Минобрнауки РФ.

Диссертация «Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных» выполнена на кафедре оптики и биофотоники физического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Научный руководитель - Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, Заслуженный деятель науки РФ, профессор, зав. кафедрой оптики и биофотоники Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Официальные оппоненты дали **положительные отзывы** на диссертацию,

Мареев Глеб Олегович - доктор медицинских наук, доцент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского». **Замечания:** «1) Имеются незначительные погрешности 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 изображены кривые в виде, затрудняющем визуальное восприятие подобных иллюстраций и сравнение предоставленных на них данных».

Приезжев Александр Васильевич - кандидат физико-математических наук, доцент кафедры общей физики и волновых процессов ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». **Замечания:** «1) Автору следовало бы провести более детальные исследования связи измеряемого спекл-контраста со скоростью движения крови в сосудах, не на единичном, как это сделано автором, а на многих фантомах,

отражающих особенности строения биологических тканей, их оптических характеристик и сосудистой системы; 2) Имеется ряд погрешностей в пунктуации и некоторые стилистические неточности; 3) На странице 69 автором, видимо, допущена опечатка в описании результатов, представленных на рисунке 20(б). Автор пишет про увеличение приведенной скорости кровотока, хотя на изображении показано ее снижение. Далее по тексту и в выводах к главе автор пишет правильно про снижение кровотока».

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» в своем **положительном заключении** подписанном доктором физико-математических наук, профессором Беликовым Андреем Вячеславовичем, доктором технических наук, заведующим кафедрой лазерных технологий и систем Вейко Вадимом Павловичем, утвержденном проректором по научной работе, доктором технических наук, профессором Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» указала, что 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 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 ВНИЦ РАН и других организациях. **Замечания:** «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 агента; 3)Имеется ряд погрешностей в пунктуации и некоторые стилистические неточности.».

Соискатель имеет 16 статей в российских и зарубежных журналах, в том числе 10 – в научных журналах, индексируемых библиографическими базами данных «Web of Science» и/или «Scopus» и журналах из списка ВАК.

1. Агафонов Д.Н., Тимошина П.А., Виленский М.А., Федосов И.В., Тучин В.В. Исследование параметров микроциркуляции крови в области ногтевого ложа с использованием метода лазерной спекл визуализации // Известия Саратовского Университета. Новая Серия. Серия: Физика. - 2011. - Т. 11. № 2. - С. 14-19. (ISSN: 1817-3020)
2. Vilensky M.A., Agafonov D.N., Timoshina P.A., Shipovskaya O.V., Novikov P.A., Zimnyakov D.A., Tuchin V.V. Full-field speckle correlation technique as applied to blood flow monitoring // Proc. SPIE. – 2011. - Vol. 7898. (ISBN: 9780819484352)
3. Vilensky M.A., Semyachkina-Glushkovskaya O.V., Timoshina P.A., Kuznetsova Ya.V., Semyachkin-Glushkovsky I.A., Agafonov D.N., Tuchin V.V. Laser speckle-imaging of blood microcirculation in the brain cortex of laboratory rats in stress // Quantum Electronics. – 2012. - Vol. 42(6). - P. 489-494. (ISSN 1063-7818)
4. Vilensky M.A. Semyachkina-Glushkovskaya O.V., Timoshina P.A., Berdnikova V.A., Kuznetsova Y.A., Agafonov D.N., Tuchin V.V. Monitoring of the microhemodynamic in an aggressive clinical behavior of cerebral hemorrhage using dynamic light scattering techniques // SPIE Proceedings. – 2012. - Vol. 8427. (ISSN 1605-7422, ISBN 9780819491190)
5. Александров Д.А., Тимошина П.А., Тучин В.В., Маслякова Г.Н., Палатова Т.В., Скороход А.А., Лукашевич К.А., Яровой А.С. Динамика показателей лазерной спекл-визуализации кровотока и морфологических изменений в тканях при полной временной локальной ишемии поджелудочной железы // Саратовский Научно-Медицинский Журнал. - 2014. - Т. 10. № 4. - С. 596-600. (ISSN: 1995-0039)
6. Kurochkin M.A., Timoshina P.A., Fedosov I.V., Tuchin V.V. Advanced digital image processing for in vivo analysis of blood flow in capillary network // Asia Communications and Photonics Conference, ACPC. – 2014.
7. Rui Shi, Min Chen, Ruilin Wang, Cong Ma, Junbo Jin, Yuhua Lu, Polina Timoshina, Valery V. Tuchin, Dan Zhu, Optical clearing method for monitoring cutaneous microcirculation response to vasoactive drugs with high sensitivity // SPIE Proceedings. – 2014. - Vol. 8951. (ISBN: 9780819498649)
8. Kurochkin M.A., Timoshina P.A., Fedosov I.V., Tuchin V.V., «Advanced digital methods for blood flow flux analysis using μ PV approach // SPIE Proceedings. – 2015. - Vol. 9448. (ISBN: 9781628415643)

9. Polina A. Timoshina, Rui Shi, Yang Zhang, Dan Zhu, Oxana V. Semyachkina-Glushkovskaya, Valery V. Tuchin, Qingming Luo Comparison of cerebral microcirculation of alloxan diabetes and healthy mice using laser speckle contrast imaging // SPIE Proceedings. – 2015. - Vol. 9448. (ISBN: 9781628415643)
10. Tuchina D.K., Bashkatov A.N., Timoshina P.A., Genina E.A., Tuchin V.V. Study of the Optical Clearing Kinetics of Skin Using Aqueous 40%-glucose Solution // AIP Conf. Proc. – 2015. - Vol. 1688. (ISBN 978-0-7354-1335-1)

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов (прилагаются). **Все отзывы положительные.** В них отмечается высокий уровень работы, научная новизна полученных результатов, их теоретическая и практическая значимость. Отзывы поступили от:

- Заведующего кафедрой медицинской и биологической физики ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», д.ф.-м.н. **Салмина В.В.** (г. Красноярск). **Замечания:** «1) Почему автор ограничился в обзоре литературы анализом только оптических методов оценки микроциркуляции? 2) Насколько отлична используемая методика визуализации микроциркуляции от других методик EasyLDI – полнопольная лазерная доплеровская визуализация процессов микроциркуляции в масштабе реального времени? Например представленная на рынке Aimago. 3) Чем определился выбор лазерного излучения Гелий-неонового лазера ГН-5П?»
- Заведующего кафедрой лазерных и биотехнических систем ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский государственный университет имени академика С.П. Королева», д.ф.-м.н., профессора **Захарова В.П.** (г. Самара). **Замечание:** «При изложении метода калибровки спекл-контрастной визуализации с помощью фантома не приведены погрешности измерения скоростей (тарировочная кривая на рисунке 3) и их влияние на количественные характеристики при дальнейших экспериментах с лабораторными животными».
- Заведующей лабораторией биофизики ФГБУН Института лазерной физики СО РАН, д.б.н. **Черкасовой О.П.** (г. Новосибирск). **Замечание:** «По тексту автореферата часто встречается выражение “свободная глюкоза”. Обычно такое словосочетание используют для веществ, которые могут находиться в крови в свободном или связанном с белками состоянии. По отношению к глюкозе такой термин обычно не применим; выражение “Аллоксановый диабет

прививался” не совсем удачное. Обычно пишут “аллоксановый диабет вызывали”; на мой взгляд, вывод 3 должен следовать перед выводом 2».

- Профессором, заведующим кафедрой «Биомедицинская техника» ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный технический университет», д.т.н. **Фроловым С.В.** (г. Тамбов). **Замечание:** «Недостаточное внимание автор уделяет обработке данных и фильтрации шумов спекл-изображений».
- Профессором кафедры общей и экспериментальной физики ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», д.ф.-м.н. **Кистеневым Ю.В.** (г. Томск). **Замечание:** «В работе получены результаты по регистрации особенностей увеличения диаметра сосудов под действием двух моносахаридов: глюкозы и фруктозы. Было бы целесообразно рассмотреть влияние галактозы на данный процесс, чтобы сделать системные выводы о его особенностях».
- Доцент кафедры лазерных и биотехнических систем ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский государственный университет имени академика С.П. Королева», к.ф.-м.н. **Тимченко Е.В.** (г. Саратов). **Замечания:** «1) Приведенная скорость кровотока оценивается по спекл-картине, но непонятно, не вызывает ли увеличение диаметра сосуда в экспериментах изменение контраста K ? 2) На рис. 7а не приведена погрешность. 3) Непонятно почему погрешности приведенной скорости кровотока так сильно меняются, когда в основе лежит одна формула, а диапазон значений схожи (рис. 5г и рис. 6)».
- Доцента ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» (ИТМО), к.ф.-м.н. **Смолянковой О.А.** (г. Санкт-Петербург). **Замечание:** «Среди замечаний необходимо отметить некоторые грамматические неточности».
- Научный сотрудник Международного учебно-научного лазерного центра Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, к. ф.-м.н. **Луговцова А.Е.** (г. Москва). **Замечание:** «В качестве замечания, следует отнести тот факт, что в главе «Оптические методы исследования динамики кровотока» не рассматриваются методы лазерной агрегометрии и деформометрии, позволяющие оценивать микрореологические параметры *in vitro*. Сравнение

параметров, полученных данными методами, с результатами, представленными в диссертационной работе, могли бы стать дополнительным обоснованием и подтверждением использования спекл-контрастной визуализации».

- Заведующего кафедрой медицинской и биологической физики ФГБОУ ВО «Саратовский медицинский государственный университет имени В.И. Разумовского», к.ф.-м.н. **Дубровского В.А.** (г. Саратов).
Замечания: «1) В работе не указано на каком основании результаты моделирования на одном фантоме могут быть соотнесены с дальнейшими экспериментами проводившимися на разных тканях лабораторных животных и кроме того, в условиях воздействия просветляющих агентов. 2) В работе не указано, почему используется именно такая структура фантома. 3) Стр. 8 2-е предложение. Не ясно, по каким именно каналам пускалась рассеивающая взвесь частиц (по верхним, нижним или и тем и другим одновременно). 4) Рисунок 1 и подпись к нему. Не обозначено, в какой плоскости фантома делался срез, фотография которого представлена на рисунке 1б. 5) Стр. 9. Автор ссылается, что для получения теоретической кривой $K(\nu)$ использовались формулы 2 и 3. Путём подстановки легко получить выражение $K(\nu) = \sqrt{\lambda/(2\pi T\nu)}$ (*) Подстановка значений указанных автором ($\lambda=632,8 \text{ нм}=0,0006328 \text{ мм}$, $T=10 \text{ мс}=0,01\text{с}$) в формулу (*) даёт теоретическую кривую $K(\nu)$, сильно отличающуюся от аналогичной кривой, приведённой автором на рисунке 3. Возможно автором использовались какие-либо дополнительные операции для получения кривой зависимости $K(\nu)$ на основании формул 2 и 3, о которых следовало бы указать в работе. В то же время, несмотря на отмеченное значительное отличие результата автора и расчета по формуле (*), характер зависимости сохраняется. 6) Стр 15. «Сравнение полученных результатов с известными публикациями...» Не указано, с какими именно публикациями проводилось сравнение. 7) Обращает на себя внимание некоторая небрежность в оформлении работы: большие интервалы между словами, величинами и их размерностями (например, стр.10 3-й абзац), отсутствие вертикальных интервалов между названиями разделов и основным текстом».

Со многими замечаниями соискатель согласился, а на ряд замечаний им были даны развернутые содержательные ответы.

Выбор официальных оппонентов обоснован их авторитетом и профессионализмом в области биофизики и в области исследований по

тематике диссертации. Выбор ведущей организации обоснован тем, что Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» является известной научной организацией, имеет большой опыт теоретических и экспериментальных работ в области биофизики, и способен оценить научную и практическую ценность диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

1. 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 преинсультных изменений церебральной микроциркуляции методом спекл-контрастной визуализации.
2. При создании временной неполной (50% кровотока) локальной ишемии путем компрессии магистральных сосудов поджелудочной железы в течение 5 мин с помощью спекл-контрастной визуализации была выявлена реактивная гиперемия и обратимые клинические и морфологические изменения. Реактивная гиперемия отсутствовала при неполной компрессии в течение 20 мин, что клинически и морфологически соответствовало развитию панкреатита, не достигающего степени панкреонекроза.
3. Метод спекл-контрастной визуализации позволяет оценивать в режиме реального времени влияние иммерсионных жидкостей на микроциркуляцию крови в сосудах внутренних органов лабораторных животных; при воздействии раствора фруктозы (фруктоза, вода и 96% этиловый спирт, 5:2:3) скорость кровотока снижается без последующего восстановления в течение 20 мин наблюдения.
4. Мониторинг изменения микроциркуляции крови в условиях развития аллоксанового диабета показал, что скорость кровотока в сосудах поджелудочной железы диабетической группы животных выше скорости кровотока в сосудах здоровых животных. Рентгеноконтрастный раствор «Омнипак-300» (активное вещество йогексол) и разбавленный водный раствор «Омнипак-300» (7:3) не влияют на микроциркуляцию крови в сосудах внутренних органов здоровых животных, при этом вызывают увеличение скорости кровотока у

диабетической группы животных в течение первых минут аппликации с последующим восстановлением прежней скорости.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что в диссертационной работе:

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 от заданных значений скорости, что позволяет перейти от качественного анализа изменений микроциркуляции крови к количественному, а именно к приведенной скорости в фантоме. Предлагаемая методика позволяет количественно оценить изменения микроциркуляции крови во внутренних органах лабораторных животных на ранних стадиях развития патологий.

Впервые было изучено влияние иммерсионных жидкостей, а именно многокомпонентного раствора состоящего из фруктозы, воды и 96% этилового спирта (5:2:3) в режиме реального времени на микроциркуляцию крови в сосудах внутренних органов лабораторных животных, а также влияние раствора Омнипак-300 (рентген-контрастное вещество Йогексол) и разбавленного водного раствора «Омнипак-300» (7:3) 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 ишемии-реперфузии в экспериментальной модели.

Метод спекл-контрастной визуализации продемонстрировал эффективность диагностики прединсультных изменений церебральной микроциркуляции в условиях развития стресс-индуцированного инсульта.

Значение для науки и практики полученных результатов

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 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 спекл-контрастной визуализации может быть применим для контактной оценки состояния микроциркуляции внутренних органов в трансоперационной и экстренной хирургии.

Одним из возможных применений метода спекл-контрастной визуализации 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

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современных методов исследования и достаточностью экспериментальных результатов. Достоверность подтверждается также соответствием полученных экспериментальных результатов с данными, полученными другими авторами.

Рекомендации об использовании результатов исследования

Результаты диссертационной работы Тимошиной П.А. могут быть рекомендованы к использованию в учебном процессе при разработке соответствующих спецкурсов и лабораторных практикумов биофизической направленности в ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского». Также могут быть рекомендованы для использования в таких научных организациях, как ФГБОУ ВО «СГМУ имени В.И. Разумовского», Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова», Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН, Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики и других организациях.

Личный вклад соискателя состоит в том, что автор лично участвовал в проведении всех экспериментальных исследований, обработке полученных и изложенных в диссертации результатов, их анализе и обсуждении, а также совместно с соавторами участвовал в написании научных статей и апробации результатов исследований на семинарах, конференциях и симпозиумах.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертационная работа Тимошиной Полины Александровны представляет собой законченную научно-квалифицированную работу и удовлетворяет требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям, представляемым на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, а ее автор Тимошина Полина Александровна заслуживает присуждения ученой степени

кандидата физико-математических наук по специальности 03.00.02 – биофизика.

На заседании 20 декабря 2016 диссертационный совет принял решение присудить Тимошиной Полине Александровне ученую степень кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02-биофизика. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 7 докторов наук, участвующих в заседании, из 27 человек проголосовали: за - 23, против - нет, недействительных бюллетеней-нет.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
д.ф.-м.н., профессор

Владимир Леонардович Дербов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.ф.-м.н., доцент

Георгий Валентинович Симоненко

20.12.2016

