

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Максиной Александры Генриховны на диссертационную работу Шабалина Владимира Владимировича «Биофизические механизмы формирования твердофазных структур биологических жидкостей человека», представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Актуальность темы

В биологических жидкостях происходят высокоскоростные изменения молекулярного состава и характера взаимодействия различных компонентов в физиологических, экстремальных и патологических состояниях. Такие изменения являются наиболее информативными при исследовании гомеостаза на молекулярном уровне и могут служить основой для диагностики различных заболеваний на самых ранних стадиях.

Актуальность темы исследования В.В. Шабалина predetermined прежде всего необходимостью обобщения имеющихся и поиска новых экспериментально-теоретических подходов к изучению разнообразных согласованных процессов, происходящих в биологических жидкостях. Эти процессы можно рассматривать как самоорганизующиеся. Одним из видов самоорганизации являются так называемые неравновесные фазовые переходы. Например, формирование структур в жидкости при её переходе в твёрдую фазу при высыхании. Такого рода фазовый переход позволяет, изучая систему на макроскопическом уровне ее самоорганизации, получать информацию относительно поведения системы на молекулярном уровне.

Число работ, посвящённых исследованию структур при высыхании биожидкостей, растёт достаточно быстрыми темпами. Вместе с тем, рост масштабов подобных исследовательских работ в разных областях медицины, биофизики, биологии и других приводят к расширению методических подходов, применяемых для исследования динамики биожидкостей на

разных стадиях фазовых переходов. В представленной работе критически анализируются известные достижения и теоретические положения других авторов по вопросам фазовых переходов различных жидкостей.

Автор показывает, что решение задач широкого применения методов структурного анализа биологических жидкостей в широкой медицинской практике требует создания методик количественной оценки и автоматизированного анализа растровых фрагментов текстур твердой фазы биологических жидкостей с учетом их особенностей и разнообразия.

Таким образом, тема диссертационного исследования весьма актуальна с экспериментально-теоретических и методологических позиций, а также ввиду значимой практической ценности.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность научных положений, выводов и практических рекомендаций не вызывает сомнений, поскольку проведены исследования статистически значимого числа биологических объектов клинического происхождения и их искусственных аналогов, на основании которых сделан сравнительный анализ механизмов их структурной организации в процессе фазового перехода; использованы известные и предложены новые качественные и количественные параметры оценки структур твердой фазы биологических жидкостей и их искусственных аналогов; проведена сравнительная оценка структур твердой фазы биожидкостей, полученных от практически здоровых людей и пациентов с различными видами патологии. Статистическая обработка осуществлялась с использованием современного пакета прикладных программ, что определяет высокую степень достоверности полученных результатов.

Выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам. Практические рекомендации диссертации обоснованы фактическим материалом, логично следуют из полученных результатов, сформулированы

конкретно, понятны и представляют несомненный научный и практический интерес для разных направлений медицины и биологии.

Оценка новизны и достоверности

Многосторонний подход, примененный в ходе исследования текстур твердой фазы биологических жидкостей, позволил автору описать новые маркеры, характерные для определённых заболеваний и тяжести течения патологических процессов, отследить динамику изменения текстур маркеров в ходе лечения. Направление исследований диссертационной работы носит оригинальный и принципиально новый характер. Количественная оценка параметров текстур твердой фазы представляет несомненный практический интерес для стратификации рисков развития патологии у пациентов. Использование параметров текстур изображений может помочь при оптимизации критериев выбора терапии больных с определённой патологией.

Для подтверждения теоретических положений автором проведены экспериментальные исследования, целью которых явилась сравнительная оценка механизмов структуризации биологических жидкостях и искусственных белково-солевых растворов при фазовых переходах. В результате была впервые установлена идентичность этих механизмов, что указывает на общую закономерность процессов смены фазовых состояний жидкостей при клиновидной дегидратации.

Проведено численное моделирование, в результате которого представлен математический аппарат описания процессов формирования твердой фазы биологических жидкостей, с учетом переноса растворенных веществ в различных областях капли, который оказывает заметное влияние на процесс пространственного перераспределения компонентов биологических жидкостей при клиновидной дегидратации, что позволяет точнее представить механизм формирования системообразующих структур твердой фазы.

Содержание работы

Диссертационная работа изложена на 375 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка цитированной литературы. Библиографический список включает 163 источников отечественных и 206 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 107 рисунками и 16 таблицами.

Введение

Во введении излагается актуальность проблемы, определяется цель работы и задачи, поставленные для достижения цели. Автор дает характеристику научной новизне, теоретической и практической значимости результатов работы, отмечает, что методологической основой данной диссертационной работы явился комплексный подход в изучении естественного и смоделированного процесса перехода биологических жидкостей в твердую фазу.

В обзоре литературы рассмотрены работы, посвященные физико-химическим и биофизическим основам процессов самоорганизации биологических жидкостей. Сложность структурного состояния биологических жидкостей (кровь, ротовая жидкость, слизевой секрет полости носа) рассмотрена в рамках поведения высокодисперсных систем, в которых белки плазмы крови, соли и некоторые органические соединения находятся в сложном взаимодействии между собой. Из обзора литературы следует, что подавляющее большинство работ соотносит поведение биологических жидкостей с особенностью высокодисперсных систем - наличием высокоразвитой поверхности раздела фаз. Подчеркивается, что биологические жидкости могут находиться в равновесном и неравновесном

состояниях, при которых протекает совокупность физико-химических процессов, а переход биологической жидкости из гидратированного в дегидратированное состояние приводит их структуру в интегрированный, устойчиво упорядоченный вид.

Рассмотрены работы по изучению этапов получения «цифровых» изображений биологических жидкостей, отображающих наблюдаемую микроскопическую картину. Особое внимание уделено работам по обоснованию необходимости применения алгоритмов подготовки изображения к распознаванию. В целом, проведенный анализ профильных публикаций подводит автора к целевым установкам и задачам собственных исследований.

Во второй главе автор даёт развёрнутое представление о методологии проведенных исследований. В данном разделе диссертации последовательно определён порядок микроскопии биологических препаратов, приводятся способы и этапы приготовления препаратов, особенности методик анализа, рассмотрены факторы, влияющие на качество наблюдаемой микроскопической картины и адекватность результатов исследования. Показаны методы обработки и распознавания изображений, рассматриваются алгоритмы сегментации изображений, наиболее актуальные при выделении объектов в изображениях оптической микроскопии. Следует отметить, что методологический подход к исследованиям характеризуется новизной, оригинальностью и опирается на современные требования к организации научных исследований.

В третьей главе разработана модель, описывающая динамику фазового фронта золь–гель и эволюцию формы многокомпонентного раствора, высыхающего в виде капли, лежащей на горизонтальной плоскости. Модель обеспечивает возможность исследования гидродинамики течений внутри капли, в том числе процессов адсорбции и разделения макрокомпонент раствора при осаждении, формирования пленки геля и

динамику основных параметров капли (объем, масса, контактный угол, скорость движения фазового фронта). Исследование таких параметров представляет собой новый подход к оценке патофизиологических изменений организма, отражающихся в структурных параметрах биологических жидкостей.

В четвертой главе представлены результаты исследования процессов в простых по составу упрощённых искусственных аналогов биологических жидкостей, состоящих не более чем из двух или трех компонентов. Анализ формирования структур твердой фазы в бинарных растворах (альбумин-соль) показал, что кристаллизация и образование осадка одного компонента идет на фоне структур, сформировавшихся в полях градиентов другого компонента. В зависимости от вида соли и величины молекулярного сродства между белком и солью, картина распределения твердой фазы может иметь различный характер. Вещества типа поваренной соли начинают кристаллизоваться на затравочных структурах, порождая отдельные точечные группы кристаллов.

Было выяснено, что пространственные масштабы структуры твердой фазы биологических жидкостей могут служить признаками процессов, являющихся доминантными показателями либо в данной области высыхающей капли, или на определенной стадии ее эволюции.

Проведенные лабораторно-модельные исследования процессов высыхания капли показали, что они приводят к возникновению структур, наблюдаемых и в деградированных образцах растворов многокомпонентных жидкостей. Прослежены основные этапы эволюции от стадии жидкой среды до твердой фазы, когда структура фазы приобретает конечную форму, которая позволяет судить об интегральных физико-химических взаимодействиях в жидкой фазе. При этом количество наблюдений, объем исследований, методы статистической обработки данных достаточны для получения достоверных результатов.

В пятой главе показаны возможности управления процессами структуризации фации при клиновидной дегидратации путём изменения формы капли. Это имеет значение для поиска структур биологических жидкостей, которые не выявляются при стандартных условиях клиновидной дегидратации.

Разработанные автором, а также модифицированные им алгоритмы обработки цифровых изображений, позволили создать методику автоматизированного анализа текстур твердой фазы биологических жидкостей. Это позволило объективизировать проведенные исследования и дало возможность использовать не только качественные, но и количественные оценки структурных изменений фаций биологических жидкостей. Глава написана четко, понятно, для улучшения восприятия наглядно проиллюстрирована.

Выводы, сделанные диссертантом, обоснованы и достоверны, они опираются на существующую теоретико-методологическую базу и результаты анализа обширного, статистически достоверного объёма исследований.

Основные положения диссертации нашли отражение в 47 публикациях, в том числе в пяти патентах и одной монографии, они неоднократно обсуждались на различных конференциях и симпозиумах, и получили одобрение ведущих специалистов.

Автореферат даёт точное, достаточно полное представление о проведенных исследованиях, полностью отражает их суть и полученные результаты.

В то же время считаю необходимым сделать замечания, которые возникают в связи с недостаточным обоснованием некоторых частных положений.

1. В разделе «научная новизна» автор указывает, что им разработан алгоритм обработки текстур растровых изображений фаций

биологических жидкостей. Однако, не вполне ясно, в чем конкретно заключается новизна.

2. В работе уделяется большое внимание структурам фаций биологических жидкостей, являющихся маркерами патологических состояний организма человека, и явно недостаточно анализируются структуры, свидетельствующие о физиологическом статусе, которые также имеют значительную диагностическую ценность.
3. В положениях, выносимых на защиту, говорится о гармоничном порядке трещин в фациях сыворотки крови, по-видимому, термин «регулярный порядок» будет более точно отражать радиальную симметрию трещин фации.

Однако отмеченные недостатки не снижают качество проведенных исследований и не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Шабалина Владимира Владимировича на тему: «Биофизические механизмы формирования твердофазных структур биологических жидкостей человека» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок содержится новое решение крупной научной проблемы, связанной с раскрытием биофизических механизмов фазового перехода биологических жидкостей при клиновидной дегидратации, что имеет важное научно-практическое значение для биофизики.

Новые научные результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение для науки и практики в области биологии и медицины. Работа базируется на достаточном числе исходных данных, примеров и расчетов. Исследования выполнены на высоком научном уровне, с применением компьютерного анализа и математических методов.

Диссертационный материал изложен понятно, грамотно и аккуратно оформлен. Выводы и практические рекомендации обоснованы. Работа полностью соответствует специальности 03.01.02 – биофизика. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 .09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г.), а ее автор Владимир Владимирович Шабалин заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02 - биофизика.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук,
(03.01.02 – биофизика)

Профессор,

Зав. кафедрой физики и математики

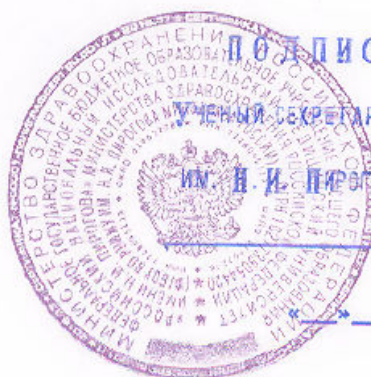
педиатрического факультета, ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

E-mail: rsmu@rsmu.ru

Максина Александра Генриховна

« 24 » февраля 2018 г.



ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ ФГБОУ ВО РНИМУ
ИМ. Н. И. ПИРОГОВА МИНЗДРАВА РОССИИ

20 г.