

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.340.06, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 03.04.2025 г. № 6

О присуждении Родимовой Светлане Алексеевне, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» по специальности 1.5.2. — биофизика принята к защите 30.01.2025 г., протокол № 2, диссертационным советом 24.2.340.06, созданным на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, приказ Минобрнауки РФ от 14 октября 2016 года № 1256/нк).

Соискатель, Родимова Светлана Алексеевна, 08.01.1995 года рождения, в 2018 г. окончила с отличием магистратуру ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» по направлению подготовки «06.04.01 – Биология», диплом об образовании № 105204 0026375, регистрационный номер 37-135 выдан 13 июля 2018 года ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского». В 2022 г. окончила аспирантуру ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» по направлению подготовки «06.06.01 – Биологические науки», диплом об образовании № 105204 0050222, регистрационный номер 18/37-09 выдан 10 октября 2022 года ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского». Сдала кандидатские экзамены по специальности 1.5.2. – биофизика (биологические науки). Справка о сдаче кандидатских экзаменов №068/А от 25.10.2024 г. выдана ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского».

В период подготовки диссертации соискатель С.А. Родимова работала в должности младшего научного сотрудника в лаборатории молекулярных биотехнологий Научно-исследовательского Института Экспериментальной Онкологии и Биомедицинских Технологий, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России).

Диссертация Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» выполнена на базе Научно-исследовательского Института Экспериментальной Онкологии и Биомедицинских Технологий, ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет" Минздрава РФ, и была рекомендована к защите на расширенном заседании проблемной комиссии «Биомедицинские науки» ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России 17.12.2024 г.

Научный руководитель – **Загайнова Елена Вадимовна** – доктор медицинских наук, член-корреспондент Российской академии наук, заместитель генерального директора по развитию Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю. М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства (ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА).

Официальные оппоненты:

Генина Элина Алексеевна – доктор физико-математических наук, доцент, профессор кафедры оптики и биофотоники Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»).

Ефименко Анастасия Юрьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией репарации и регенерации тканей Центра регенеративной медицины, Медицинского научно-образовательного института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»).

дали положительные отзывы на диссертацию.

В положительном отзыве официального оппонента д.ф.-м.н., **Гениной Элины Алексеевны**, отмечается, что диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны посвящена выявлению характерных признаков патологии печени и регенераторного потенциала печени с использованием новейших методов многофотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии. В представленной работе впервые предложена методика, основанная на комплексном применении методов многофотонной микроскопии. Автором подобраны оптимальные параметры для анализа свежих образцов печёночной ткани, при которых можно корректно проводить оценку изменений энергетического метаболизма клеток печени. Разработанная методика позволила оценить регенераторный потенциал печени как в норме, так и на различных стадиях сопутствующей патологии (стеатоза и фиброза). Также впервые с применением разработанного подхода были определены характерные особенности структуры ткани печени на разных стадиях стеатоза и фиброза и на разных этапах регенерации в норме и на фоне сопутствующей патологии. Разработанная методика позволит проводить предиктивную оценку восстановления печени интраоперационно перед проведением резекционных вмешательств.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена получением в ходе исследования новых фундаментальных сведений об особенностях состояния печени и метаболического статуса гепатоцитов в норме, при патологии, и при регенерации на фоне патологии. Разработанные подходы к оценке состояния печени и метаболизма гепатоцитов с использованием многофотонной микроскопии в разных режимах, включающих флуоресцентную, ГВГ и FLIM микроскопию, которые потенциально могут применяться в клинической практике для интраоперационной экспресс-оценки печени при планировании резекции. По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, индексируемых Web of Science, Scopus, входящих в перечень ВАК; 33 публикаций в сборниках материалов научных конференций.

Диссертация С.А. Родимовой выполнена в соответствии с классическими требованиями. В обсуждении автор детально анализирует полученные результаты, сопоставляя их с данными мировой литературы, что позволяет сформировать целостное представление о проделанной работе и определить место полученных выводов в контексте современных исследований по данной проблематике.

Материал диссертации оставляет положительное впечатление, однако отмечены некоторые недостатки:

1. В работе автор определил, что при патологии печени появляются зоны со сниженным сигналом флуоресценции НАД(Ф)Н, однако, нет пояснения, с каким физическим механизмом автор связывает появление этих зон.
2. В списке литературы практически отсутствуют статьи, опубликованные позже 2020 г.
3. В диссертации отсутствует список публикаций автора, где изложены основные результаты работы.
4. В диссертационной работе встречаются орфографические и стилистические ошибки.

Высказанные замечания носят рекомендательный характер и ни в коей мере не снижают значимость полученных результатов.

По новизне полученных результатов, их фундаментальной и практической значимости диссертационная работа С.А. Родимовой соответствует требованиям действующей редакции «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 - биофизика.

В положительном отзыве официального оппонента д.б.н., **Ефименко Анастасии Юрьевны**, отмечается, что диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны посвящена актуальной проблеме оценки состояния печени и ее регенераторного потенциала после хирургической резекции. Для этого в исследовании использованы интересные современные методы многофотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии.

В диссертационной работе впервые предложена методика, основанная на комплексном применении методов многофотонной микроскопии. Кроме того, автором подобраны оптимальные параметры для анализа свежих образцов печёночной ткани, при которых можно корректно проводить оценку изменений метаболизма клеток печени с помощью микроскопии. Разработанная методика позволила оценить регенераторный потенциал печени как в норме, так и на различных стадиях патологии (стеатоза и фиброза). Также впервые с применением разработанного подхода были определены характерные особенности структуры ткани печени на разных стадиях стеатоза и фиброза и на разных этапах регенерации в норме и на фоне сопутствующей патологии. Разработанная методика позволит прогнозировать скорость восстановления печени с помощью интраоперационного анализа перед проведением резекционных вмешательств.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена тем, что в ходе исследования были выявлены новые фундаментальные сведения об особенностях состояния печени и метаболического статуса гепатоцитов в норме, при патологии, и при регенерации на фоне патологии. Разработанные подходы к оценке состояния печени и метаболизма гепатоцитов с использованием многофотонной микроскопии в разных режимах, включающих флуоресцентную, ГВГ и FLIM микроскопию, которые потенциально могут применяться в клинической практике для интраоперационной экспресс-оценки состояния печени при планировании резекции. Полученные результаты также могут быть включены в специализированные курсы и лекции по биофизике, биомедицине, биохимии, патофизиологии, гепатологии и применены при разработке новых препаратов, направленных на коррекцию метаболического статуса гепатоцитов и повышения эффективности регенерации.

Существенных замечаний к диссертационной работе Родимовой С.А. нет. Однако, при ознакомлении с диссертацией и авторефератом возникли некоторые вопросы и комментарии.

1. Результаты диссертационного исследования позволяют предлагать принципиально новые методологические подходы к оценке регенераторного потенциала печени, и это одно из важнейших преимуществ работы. Хотя автор упоминает о возможных сферах применения полученных результатах, недостаточно внимания уделено обсуждению конкретных алгоритмов применения новых методов анализа состояния печени для решения тех или иных клинических задач, например, при интраоперационной оценке перед хирургическими вмешательствами. Как именно результаты оценки предлагаемых параметров могут быть интерпретированы для определения дальнейшей тактики принятия клинических решений или для оценки эффективности экспериментальной терапии патологий печени?
2. Основная часть экспериментов выполнена на грызунах. Насколько релевантны полученные данные будут для тканей человека?
3. Предлагаемая автором методика для оценки состояния печени основана на применении *ex vivo* тканевых образцов. Достаточно ли данные образцы отражают состояние всей печени при патологии?
4. Описаны ли другие эндогенные флуорофоры в ткани печени, помимо НАД(Ф)Н, которые обладают схожими спектральными характеристиками и могут вносить вклад в регистрируемые сигналы?
5. Известно, что при хронических заболеваниях печени сроки ее регенерации при повреждениях могут значительно замедляться. С учетом этого было бы логично на моделях стеатоза и фиброза печени оценивать результаты индукции регенерации на сроках более поздних, чем на модели пострезекционной регенерации нормальной печени. С чем был связан выбор временных точек в дизайне экспериментов на животных?
6. В работе основное внимание при оценке состояния печени обоснованно уделено гепатоцитам. Могут ли предлагаемые подходы быть эффективными и для оценки метаболического статуса клеток стромы, что может оказаться особенно полезным при фиброзе? Так, при дифференцировке фибробластов в миофибробласты описано характерное переключение метаболизма этих клеток, которое может отражать интенсивность и локализацию патологического фиброобразования ткани.
7. В диссертационной работе и автореферате встречается небольшое количество орфографических и стилистических ошибок, в отдельных местах нарушена последовательность ссылок на рисунки.

Высказанные комментарии и замечания имеют рекомендательный характер и не умаляют высокой значимости и достоинств представляемой к защите диссертационной работы.

Таким образом, диссертационная работа С.А. Родимовой «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации», выполненная под научным руководством Загайновой Елены Вадимовны, доктора медицинских наук, член-корреспондента РАН, является оригинальным законченным научно-квалификационным исследованием, выполненным на высоком теоретическом и методическом уровне. По новизне полученных результатов, их фундаментальной и практической значимости диссертационная работа С.А. Родимовой соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года №335, от 2 августа 2016 года №748 и от 25 января 2024 года №62), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 — биофизика.

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), в своем положительном отзыве, подписанном

д.х.н., профессором, научным руководителем Научно-технологического парка биомедицины, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Тимашевым Петром Сергеевичем, указывает, что диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» посвящена выявлению характерных признаков патологии печени и ее регенераторного потенциала с использованием новейших методов многофотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, генерации второй оптической гармоники (ГВГ) и FLIM микроскопии (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy). В диссертационной работе впервые была разработана методика на основе многофотонной микроскопии, включающей флуоресцентную микроскопию, ГВГ микроскопию и FLIM микроскопию, а также подобраны оптимальные условия для проведения исследования свежих образцов ткани печени и энергетического метаболизма гепатоцитов при различных состояниях. Практическое значение результатов проведенного исследования обусловлено тем, что получены новые фундаментальные знания об особенностях состояния печени, а также об особенностях метаболического статуса гепатоцитов в норме, при регенерации и на фоне сопутствующей печеночной патологии. Полученные в исследовании результаты могут быть включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций по биофизике, биомедицине, биохимии, патофизиологии, гепатологии, а также могут быть использованы при разработке новых препаратов, корректирующих метаболический статус гепатоцитов и качество регенерации. Полученные в диссертации Родимовой С.А. результаты и выводы могут быть использованы в научно-исследовательских и клинических учреждениях, занимающихся изучением патологий печени, регенеративных процессов и разработкой методов интраоперационной диагностики; в образовательном процессе для разработки и преподавания учебных курсов по биофизике, биомедицине, гепатологии и хирургии, в частности, для студентов медицинских вузов (Приволжский исследовательский медицинский университет, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова и др.), а также для повышения квалификации врачей-гепатологов и хирургов.

Замечания и пожелания по диссертации присутствуют в отзыве: в ходе ознакомления с работой возникло замечание об отсутствии анализа корреляции предложенного метода с другими неинвазивными методами. Проведение такого анализа и оценка сравнительных результатов могли бы значительно расширить области применения разработанного подхода и повысить его практическую ценность для клинической практики. Однако, данное замечание носит рекомендательный характер и не затрагивает основных положений диссертационной работы и не снижают ее научную и практическую ценность.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, адекватности методических подходов, объему выполненных исследований и достоверности полученных результатов диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны полностью соответствует требованиям действующего «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в актуальной редакции), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

Диссертация и отзыв обсуждены и утверждены на заседании Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), протокол заседания №2 от 13 февраля 2025 г.

Соискатель имеет 44 опубликованные научные работы по теме диссертации: 11 печатных работ (в том числе 8 в журналах Q1, индексируемых аналитическими базами Web of Science и Scopus) и 33 публикаций в сборниках материалов научных конференций. Опубликованные работы посвящены выявлению характерных признаков патологии печени и регенераторного потенциала печени с использованием новейших методов многофотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации С.А. Родимовой отсутствуют.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации.

1. Родимова С. А., Кузнецова Д. С., Бобров Н. В., Вдовина Н. В., Загайнов В. Е., Загайнова Е. В. Современные методы оценки восстановительного потенциала печени после ее резекции (обзор) // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т. 11. – №. 4. – С. – 175-190.
2. Kuznetsova D. S., Rodimova S. A., Gulin A., Reunov D., Bobrov N., Polozova A. V., Vasin A., Shcheslavskiy V.V., Vdovina N.V., Zagainov V.E., Zagaynova E. V. Metabolic imaging and secondary ion mass spectrometry to define the structure and function of liver with acute and chronic pathology. Journal of biomedical optics. – 2019. – Т. 25. С. – 014508.
3. Rodimova S., Kuznetsova D., Bobrov N., Elagin V., Shcheslavskiy V., Zagainov V., Zagaynova E. Mapping metabolism of liver tissue using two-photon FLIM. Biomedical Optics Express. – 2020. – Т. 11. – №. 1. – С. – 4458-4470.
4. Родимова С. А., Кузнецова Д. С., Бобров Н. В., Гулин А. А., Васин А. А., Губина М. В., Щеславский В.И., Елагин В.В., Карабут М.М., Загайнов В.Е., Загайнова Е. В. Мультифотонная микроскопия и масс-спектрометрия в прижизненном выявлении метаболической гетерогенности гепатоцитов. Современные технологии в медицине. – 2021. – Т. 13. – №. 2. – С. – 18-31.
5. Rodimova S. A., Kuznetsova D. S., Bobrov N. V., Gulin A. A., Reunov D. G., Karabut M. M., Shcheslavskiy V.V., Vdovina N.V., Zagainov V.E., Zagaynova E. V. Interrogation of the Liver During Regeneration by Fluorescence Lifetime Imaging and Mass Spectrometry. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. – 2021. – Т. 27. – №. 4. – С. – 1-11.
6. Rodimova S., Elagin V., Karabut M., Koryakina I., Timin A., Zagainov V., Zyuzin M., Zagaynova E., Kuznetsova D. Toxicological Analysis of Hepatocytes Using FLIM Technique: In Vitro versus Ex Vivo Models. Cells. 2021. – Т. 10. – №. 11. – С. – 2894.
7. Rodimova S., Bobrov N., Mozherov A., Elagin V., Karabut M., Shchechkin I., Kozlov D., Krylov D., Gavrina A., Zagainov V., Zagaynova E., Kuznetsova D. Optical Biomedical Imaging Reveals Criteria for Violated Liver Regenerative Potential. Cells. – 2023. – Т. 12. – №. 3. – С. – 479.
8. Rodimova S., Mozherov A., Elagin V., Karabut M., Shchechkin I., Kozlov D., Krylov D., Gavrina A., Bobrov N., Zagainov V., Zagaynova E., Kuznetsova D. Label-Free Imaging Techniques to Evaluate Metabolic Changes Caused by Toxic Liver Injury in PCLS. International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 11. – С. – 9195.
9. Rodimova S., Mozherov A., Elagin V., Karabut M., Shchechkin I., Kozlov D., Krylov D., Gavrina A., Bobrov N., Zagainov V., Zagaynova E., Kuznetsova D. Effect of Hepatic Pathology on Liver Regeneration: The Main Metabolic Mechanisms Causing Impaired Hepatic Regeneration. International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 11. – С. – 9112.
10. Rodimova S., Bobrov N., Mozherov A., Elagin V., Karabut M., Ermakova P., Shchechkin I., Kozlov D., Krylov D., Gavrina A., Kashina A., Zagainov V., Zagaynova E., Kuznetsova D. The Effect of Diabetes Mellitus Type 1 on the Energy Metabolism of

Hepatocytes: Multiphoton Microscopy and Fluorescence Lifetime Imaging. International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 23. – С. – 17016.

11. Rodimova S., Kozlov D., Krylov D., Mikhailova L., Kozlova V., Gavrina A., Mozherov A., Elagin V., Kuznetsova D. Nanoparticles for Creating a Strategy to Stimulate Liver Regeneration. Современные технологии в медицине. – 2024. – Т. 20246. – №. 3. – С. – 5-16.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов, все положительные. В отзывах указывается, что представляемая работа характеризуется высоким теоретическим и экспериментальным уровнем, по своей новизне и актуальности имеет большое научное и практическое значение, соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. Отзывы получены из:

1. Федерального государственного бюджетного учреждения науки, Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, от д.б.н., заведующей лабораторией клеточной биологии, **Воротеляк Екатерины Андреевны**. Незначительные замечания к работе касаются оформления реферата. На Рисунке 5 единицы измерения «пикосекунды» подписаны рядом с числовыми границами цветовой шкалы (с правой стороны), в то время как в аналогичных изображениях в других рисунках единицы измерения стоят рядом с обозначением параметра. На Рисунке 9 А и Б отсутствует пробел перед открывающей скобкой в подписи к оси ОУ. Эти незначительные замечания не снижают научной ценности работы, проделанной Родимовой С.А. Диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

2. Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», от д.х.н., профессора Центра фотоники и фотонных технологий, **Горина Дмитрия Александровича**. В отзыве высказаны формальные замечания: встречаются орфографические и стилистические ошибки, отсутствует пробел перед скобкой, в подписи к оси ОУ на Рисунке 9. Эти незначительные замечания не снижают научной ценности работы, проделанной Родимовой С.А. Таким образом, диссертационная работа С.А. Родимовой «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

3. Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова», от к.б.н., ведущего научного сотрудника НИЛ клеточного репрограммирования НИИ трансляционной медицины, **Дашинимаева Эрдэма Баировича**. Критических замечаний к автореферату не имеется. В отзыве отмечено, что диссертационная работа С.А. Родимовой «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

4. Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»,

от д.т.н., профессора кафедры приборостроения, автоматизации и информационных технологий, ведущего научного сотрудника научно-технического центра биомедицинской фотоники, **Дунаева Андрея Валерьевича**. По автореферату имеется несколько незначительных замечаний по оформлению. На Рисунке 5 единицы измерения расположены рядом с числовыми пределами цветовой шкалы, в других FLIM изображениях они находятся рядом с обозначением параметра. В подписи к оси ОУ на Рисунке 9 А и Б отсутствует пробел перед открывающей скобкой. Данные замечания никак не снижают научной ценности работы, сделанной С.А. Родимовой. Диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

5. Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», от д.м.н., доцента, заведующего лабораторией роста и развития НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, **Ельчанинова Андрея Владимировича**. Замечаний к содержанию автореферата нет. Диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

6. Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», от к.б.н., доцента кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета, **Липиной Татьяны Владимировны**. Существенных критических замечаний к работе не возникло, однако выражено следующее замечание стилистического характера: выводы содержат достаточно много деталей, которые уместны при изложении результатов, но не в выводах, за счет чего выводы перегружены. Более краткое изложение выводов облегчает их восприятие для читателя, и делает концовку реферата более четким. Данное замечание ни в коей мере не снижает научной ценности выполненной Родимовой С.А. работы. Таким образом, диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

7. Института цитологии РАН, от к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории регуляции экспрессии генов, **Толкуновой Елены Николаевны**. Замечаний и вопросов к работе не возникло. В отзыве отмечается, что диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации» является законченной научно-квалифицированной работой, соответствует требованиям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ, № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — биофизика.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям требований, изложенных в пп. 22 и 24 «Положения о

присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842: являются компетентными по заявленной в диссертации соискателя специальности, имеют профильные публикации по проблеме диссертационного исследования и способны объективно оценивать актуальность темы диссертации, а также достоверность, теоретическую значимость и научно-практическую ценность полученных в работе результатов (сведения о них размещены на официальном сайте ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»: <https://diss.unn.ru/1521>).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методика оценки состояния печени, а также метаболического статуса гепатоцитов с использованием многофотонной микроскопии, включающей флуоресцентную микроскопию, ГВГ микроскопию и FLIM микроскопию;

предложен подход к оценке регенераторного потенциала печени на основе ex vivo образцов ткани печени, которые позволяют получить достоверную информацию о состоянии всего органа;

выявлена корреляционная связь между всеми исследуемыми параметрами здоровой печени до индукции регенерации и на разных этапах регенерации;

доказано, что критерием успешной регенерации являются высокие значения вклада НАДФН в печени, до индукции регенерации, а критерием снижения регенераторного потенциала печени на поздних стадиях печеночной патологии является отсутствие высоких значений вклада НАДФН и увеличения вклада времени жизни флуоресценции связанной формы НАДН и НАДФН на 3 день регенерации.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

проведено комплексное исследование качественных и количественных изменений параметров в ткани печени в норме, при регенерации и при регенерации на фоне сопутствующей патологии, полученных с использованием разных режимов многофотонной микроскопии;

использован комплекс стандартных методов, включающих гистологический и морфометрический анализа ткани печени, биохимический анализ крови и анализ изменения веса печени для стандартной верификации результатов, полученных с применением флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии.

доказана необходимость использования трехэкспоненциальной модели аппроксимации кривой затухания флуоресценции НАДН для корректного анализа данных FLIM микроскопии в цитоплазме гепатоцитов в ex vivo образцах ткани печени;

изложены теоретические обоснования всех выявленных микроскопических признаков патологии печени и ее регенераторного потенциала в разных режимах многофотонной микроскопии;

раскрыта взаимосвязь между характерными изменениями параметров FLIM микроскопии и изменениями интенсивности процессов окислительного фосфорилирования и биосинтетических процессов в гепатоцитах в норме, при регенерации и при регенерации на фоне сопутствующей патологии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработана методика оценки состояния печени и метаболического статуса гепатоцитов на основе многофотонной микроскопии, включающей флуоресцентную, ГВГ и FLIM микроскопию, которые могут быть транслированы в клиническую практику для проведения интраоперационной экспресс-оценки состояния печени при планировании резекции;

представлены новые фундаментальные знания об особенностях состояния печени, а также об особенностях метаболического статуса гепатоцитов в норме, при регенерации и на фоне сопутствующей печеночной патологии;

определены комплексные микроскопические признаки патологии печени и ее регенераторного потенциала с использованием многофотонной микроскопии, включающей флуоресцентную микроскопию, ГВГ микроскопию и FLIM микроскопию;

представлены результаты, которые вносят существенный вклад в понимание механизмов, лежащих в основе снижения регенераторного потенциала печени при наличии печеночной патологии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ использовано современное сертифицированное оборудование, обеспечивающее надежность полученных данных; проведено большое количество экспериментов, позволяющее оценить воспроизводимость результатов исследований, использованы стандартные методы статистического анализа, позволяющие оценить достоверность полученных результатов;

теория построена на известных данных о механизмах, лежащих в основе процесса регенерации печени и патогенеза стеатоза и фиброза печени, а также метаболических изменениях в клетках при различных состояниях;

идея базируется на существующих гипотезах о ключевой роли изменений метаболического статуса гепатоцитов в патогенезе различных заболеваний печени и нарушении процесса регенерации;

использованы как современные методы многофотонной микроскопии, с возможностью флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии, так и стандартные методы, включая гистологический и морфометрический анализ ткани печени, биохимический анализ крови и анализ изменения веса печени для стандартной верификации результатов;

установлено, что результаты работы согласуются с современными данными в области биофизики, не противоречат результатам исследований других авторов, расширяют и дополняют их, а также что полученные результаты были апробированы при обсуждении на всероссийских и международных научно-практических конференциях, объем исследований достаточен для получения достоверных и подробных данных, необходимых для обоснования положений и выводов.

Личный вклад соискателя состоит в участии в проведении работы на всех этапах её выполнения, включая изучение научной литературы по теме исследования, проведение исследований, сбор, обработку, интерпретацию полученных результатов, их анализ, обсуждение и графическое отображение, а также подготовку научных статей и представление результатов на конференциях.

Диссертация является целостным, законченным научным исследованием, охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается четкой логикой и соответствующей содержанию работы структурой исследования, формулировками цели работы и выводов на основании полученных результатов. Диссертация соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. В работе исследовались изменения значений FLIM параметров: a_1 , a_2 и a_3 . Какой биологический смысл у изменений всех трех параметров?
2. В ходе работы была разработана методика для интраоперационной оценки регенераторного потенциала печени, которая может быть в будущем транслирована в клинику. Как именно результаты оценки предлагаемых параметром могут быть интерпретированы для определения дальнейшей тактики принятия клинических решений?

3. Работа выполнена с использованием лабораторных животных. Насколько релевантны полученные данные будут для человека?

Соискатель С.А. Родимова ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию, указав, что:

1. FLIM параметр a1 – это вклад времени жизни флуоресценции свободной формы НАДН, которая локализована в цитоплазме гепатоцитов и принимает участие в реакциях гликолиза. Увеличение значений данного параметра может указывать на присутствие гипоксии в ткани. FLIM параметр a2 – это вклад времени жизни флуоресценции связанной формы НАДН, который локализован в митохондриях и принимает участие в реакциях окислительного фосфорилирования. Снижение значений данного параметра указывает на снижение в интенсивности окислительного фосфорилирования, которое может возникать при развитии митохондриальной дисфункции в клетке или окислительном стрессе. FLIM параметр a3 – это вклад времени жизни флуоресценции НАДФН, который принимает участие в реакциях биосинтетических процессов, а также в антиоксидантной защите. НАДФН принимает участие в пентозофосфатном пути, липогенезе и глутатионовом цикле.

2. Соискатель предоставляет предполагаемый алгоритм принятия решений при определении патологии печени. Сначала определяется наличие или отсутствие зон со сниженным сигналом НАД(Ф)Н - из чего определяется наличие или отсутствие патологии. Далее в режиме ГВГ определяется характер сигнала от фибрилл коллагена в ткани, из чего можно судить о типе и стадии патологии. Далее, соискатель предоставляет предполагаемый алгоритм принятия решений при проведении одноэтапных или двухэтапных резекций печени. При одноэтапных резекциях сначала в режимах флуоресцентной и ГВГ микроскопии определяется тип и стадия патологии. Далее, в режиме FLIM микроскопии можно оценить изменения энергетического метаболизма гепатоцитов на основе значений параметров a2 и a3. При проведении двухэтапных резекций появляется возможность провести анализ на промежуточном этапе регенерации. В режиме FLIM микроскопии можно определить наличие или отсутствие выраженного увеличения значений параметров a2 и a3 на промежуточном этапе регенерации и выявить возможное критическое снижение регенераторного потенциала печени. На основе всех полученных данных хирург может принять решение об объеме резекции.

3. Основным отличием процесса регенерации печени у человека – это другие сроки мониторинга. У крыс фаза наибольшей активности гепатоцитов происходит на до 3 дня, а у человека до 7 дня, для крыс завершение процесса регенерации происходит к 7 дню, а у человека к 14 дню. Но не смотря на это, во множестве работ показано, что базовые механизмы аналогичны у человека и у крыс, включая задействованные цитокины и ростовые факторы. Уже сейчас нашей научной группой ведутся эксперименты, посвященные оценке метаболического статуса гепатоцитов для ex vivo образцов ткани печени забираемых из резецируемого материала пациентов, которые проходят процедуру двухэтапной резекции, и уже сейчас можно говорить, что критерии и динамика изменений параметров многофотонной микроскопии у человека схожие. Так, было показано, что на промежуточном этапе регенерации у человека без сопутствующей печеночной патологии также происходит увеличение значений вкладов связанной формы НАДН (a2) и НАДФН (a3). А на двух пациентах с сопутствующим стеатозом было выявлено отсутствие такого увеличения параметров a2 и a3. Однако необходимы дальнейшие исследования и набор статистически значимой выборки.

На заседании 03 апреля 2025 года диссертационный совет принял решение за исследование печени при патологии и регенерации с использованием разработанного подхода на основе флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии, имеющее значение для развития биофизической науки присудить Родимовой Светлане Алексеевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.2 – биофизика, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета; дополнительно введены на разовую защиту 0 человек; проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель
диссертационного совета



Воденеев Владимир Анатольевич

Ученый секретарь
диссертационного совета

Черкасова Елена Игоревна

03 апреля 2025 года