

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и инновационной  
деятельности Национального исследовательского  
Томского государственного университета,  
доктор физико-математических наук, профессор



Ворожцов Александр Борисович

« 9 » сентября 2022 г.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного автономного образовательного учреждения  
высшего образования  
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Диссертация «Анализ структурных изменений коллагена в лимфедематозной коже с использованием двухфотонной микроскопии и машинного обучения» по специальности 1.5.2. Биофизика выполнена на кафедре оптики и спектроскопии физического факультета, в лаборатории лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения и в лаборатории биофотоники научного управления федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Соискатель Николаев Виктор Владимирович, 1990 года рождения, в 2013 году окончил федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» по направлению подготовки 011200 Физика; в 2020 году окончил федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» по направлению подготовки 03.06.01 Физика и астрономия с выдачей диплома об окончании аспирантуры.

С 01 сентября 2016 г. по 31 августа 2020 г. очно обучался в аспирантуре федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Основное место работы соискателя – федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», лаборатория лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения, младший научный сотрудник.

Справка об обучении (о периоде обучения) № 116 выдана 03.06.2022 федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» подтверждает сдачу кандидатских экзаменов по истории и философии науки, по иностранному языку.

Справка о сданных кандидатских экзаменах № 61-2022 выдана 07.09.2022 федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» подтверждает сдачу экзамена по специальности «Биофизика».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

### **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертация В. В. Николаева является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи определения состояния ткани методами двухфотонной микроскопии и машинного обучения, имеющей значение для развития биофизики.

### **Актуальность темы и направленность исследования**

На сегодняшний день лимфедема является распространенным заболеванием от которого в основном страдают люди трудоспособного возраста. Вероятность успешного консервативного лечения зависит от стадии, на которой данное заболевание было обнаружено. На текущий момент общепринятыми являются методы диагностики, связанные с измерением объема конечности, что не позволяет определять заболевание на ранних стадиях. Оптические методы диагностики являются перспективными так как не требуют инвазивного вмешательства и позволяют оценивать ткань практически в реальном времени.

Диссертация выполнена в рамках направления исследований кафедры оптики и спектроскопии физического факультета, лаборатории лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения, а также лаборатории биофотоники научного управления Национального исследовательского Томского государственного университета, связанных с применением методов биофотоники для анализа состояния папиллярной дермы.

Результаты исследования получены в том числе при выполнении следующих научных проектов:

*в рамках программы международного сотрудничества российских вузов и научных организаций с учеными мирового уровня и ведущими зарубежными научно-образовательными центрами в сферах науки:*

– проект № 075-15-2021-615 «Разработка методов скрининговой неинвазивной диагностики вирусных и бактериальных респираторных инфекций с использованием лазерной спектроскопии и методов искусственного» (2021-2023гг., руководитель – Ю. В. Кистенев, в числе соисполнителей – В. В. Николаев);

*в рамках программы поддержки фундаментальных научных исследований, актуальных для решения практических задач, стоящих перед Субъектами РФ; привлечение талантливых молодых ученых к проведению самостоятельных исследований по важнейшим проблемам естественных, гуманитарных и общественных наук, закрепление молодых научных кадров в организациях Субъектов РФ:*

– проект № 18-42-703012 р\_мол\_а «Исследование ранних стадий развития лимфедемы с использованием методов биофотоники для поиска подходов к неинвазивной диагностике данного заболевания» (2018-2019гг., руководитель – Е. А. Сандыкова, в числе соисполнителей – В. В. Николаев);

*в рамках программы государственной поддержки ведущих университетов Российской Федерации в целях повышения их конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров (проект 5-100):*

– госконтракт 8.1.43.2017 «Разработка физических основ оптической медицинской визуализации и диагностики с использованием лазерных технологий» (2017г., руководитель – В. В. Тучин, в числе соисполнителей – В. В. Николаев);

– госконтракт 8.1.38.2018 «Разработка метода in-vivo анализа дезорганизации коллагена в коже с использованием метода многофотонной лазерной микроскопии» (2018 г., руководитель – Н. А. Кривова, в числе соисполнителей – В. В. Николаев);

– госконтракт № 8.1.43.2018 «Содержательный анализ данных молекулярного имиджинга на основе оптических технологий и развитие прогностических моделей для медицинской диагностики социально-значимых заболеваний с использованием алгоритмов искусственного интеллекта» (2018–2020 гг., руководитель – В. В. Тучин, в числе соисполнителей – В. В. Николаев);

– госконтракт № 8.1.11.2019 «Разработка методов выделения внеклеточного матрикса тканей организма» (2019 г., руководитель – Н. А. Кривова, в числе соисполнителей – В. В. Николаев);

*в рамках государственного задания Минобрнауки России:*

– проект № №20.9968.2017/ДААД «Исследование особенностей 2PM/FLIM имиджинга различных слоев кожи в ее различных состояниях» (2017–2018 гг. руководитель – В. В. Николаев);

#### **Утверждение темы диссертации, назначение научного руководителя**

Тема утверждена решением ученого совета физического факультета Национального исследовательского Томского государственного университета от 27 октября 2016 г., протокол № 460; изменена решением ученого совета физического факультета Томского государственного университета от 07 апреля 2022 г., протокол № 518.

Научный руководитель – Кистенев Юрий Владимирович, доктор физико-математических наук, профессор, основное место работы: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», заместитель проректора по научной и инновационной деятельности; по совместительству: кафедра общей и экспериментальной физики, профессор; лаборатория лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения, заведующий лабораторией; лаборатория биофотоники, заведующий лабораторией; утвержден приказом ректора от 26 октября 2016 г. № 4956/с.

#### **Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации**

Определение общего направления исследования, постановка задач, выбор методов постановки и методики проведения теоретических и экспериментальных исследований осуществлены совместно с научным руководителем. Основные результаты диссертационной работы получены соискателем лично либо при его прямом участии: самостоятельно разработан протокол измерений, построены численные модели, проведены экспериментальные измерения, обработаны и проанализированы полученные результаты.

#### **Степень достоверности результатов проведенного исследования**

Достоверность основных результатов диссертационной работы обеспечивается численным моделированием, проведенным в данной работе, а также подтверждением литературными данными по данной тематике. Эксперименты осуществлены с использованием современного поверенного откалиброванного оборудования с соблюдением всех необходимых методик измерения.

#### **Новизна результатов проведенного исследования**

В диссертации впервые использован индекс SAAD для диагностики лимфедематозной ткани. Данный индекс вычисляется по формуле  $(S-A)/(S+A)$ , где S – сигнал генерации второй гармоники биоткани, A – сигнал автофлуоресценции биоткани. Показаны значимые отличия данного индекса для здоровой и лимфедематозной тканей.

Впервые модифицирован и использован метод гистограмм ориентированных градиентов для оценки степени дезорганизации коллагена на основе данных двухфотонной микроскопии.

Разработана предиктивная модель диагностики лимфедемы, основанная на регистрации сигнала второй гармоники методом двухфотонной микроскопии, выявлении информативных признаков модифицированным методом гистограмм ориентированных градиентов, классификации информативных признаков обученной машины опорных векторов с радиальным базисным ядром и метода голосования большинством. Данная модель обеспечила точность диагностики лимфедематозной ткани 96 % на использованной экспериментальной выборке.

Предложена и исследована лабораторная модель лимфедемы на задних конечностях мелких животных.

### **Теоретическая и практическая значимость диссертации и использование полученных результатов**

Исследование вносит вклад в развитие методов оптической неинвазивной диагностики кожных заболеваний. Модифицированный подход гистограмм ориентированных градиентов позволяет методом двухфотонной микроскопии проводить неинвазивную диагностику заболеваний кожи, сопровождающихся дезорганизацией коллагена.

Разработанная предиктивная модель *in vivo* диагностики лимфедемы имеет практическую значимость, поскольку способствует развитию диагностических методик данного заболевания.

Результаты данной работы могут быть использованы в клинической практике для диагностики заболевания на ранних стадиях. Предложенная и реализованная лабораторная модель развития лимфедемы на мелких животных может быть использована для изучения особенностей протекания лимфедемы на стадии доклинических исследований биологами и специалистами смежных областей.

### **Ценность научных работ соискателя, полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах**

По теме диссертации В. В. Николаевым опубликовано 11 работ, в том числе 5 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (из них 2 статьи в зарубежных научных журналах, 3 статьи в российских научных журналах, переводные версии которых входят в Scopus), 5 статей в сборниках материалов конференций, представленных в изданиях, входящих в Scopus), 1 статья в прочем научном журнале. Общий объем публикаций – 6,96 а.л., личный вклад автора – 1,33 а.л. В опубликованных работах достаточно полно изложены материалы диссертации.

*Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук:*

1. Кистенев Ю. В. Исследование пространственной структуры коллагена с применением методов многофотонной микроскопии и машинного обучения / Ю. В. Кистенев, Д. А. Вражнов, **В. В. Николаев**, Е. А. Сандыкова, Н. А. Кривова // Успехи биологической химии. – 2019. – № 59. – С. 219–252. – 1,5 / 0,3 а.л.

*в переводной версии журнала, входящей в Scopus:*

Kistenev Yu. V. Analysis of Collagen Spatial Structure Using Multiphoton Microscopy and Machine Learning Methods / Yu. V. Kistenev, D. A. Vrazhnov, **V. V. Nikolaev**, E. A. Sandykova, N. A. Krivova // Biochemistry (Moscow). – 2019. – Vol. 84, is. 1. – P. 108–123. – DOI: 10.1134/S0006297919140074.

2. Князькова А. И. Возможности двухфотонной микроскопии для анализа флуоресцентных свойств эластиновых волокон крыс *in vivo* / А. И. Князькова,

А. А. Самаринова, **В. В. Николаев**, Ю. В. Кистенев, А. В. Борисов // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2021. – Т. 64, № (11). – С. 128–133. – DOI: 10.17223/00213411/64/11/128. – 0,43 / 0,09 а.л.

*в переводной версии журнала, входящей в Scopus:*

Knyazkova A. I. Two-Photon Excitation Fluorescence Microscopy of Rat Elastin Fiber In Vivo / A. I. Knyaz'kova, A. A. Samarina, **V. V. Nikolaev**, Y. V. Kistenev, A. V. Borisov // Russian Physics Journal. – 2022. – Vol. 64, is. 10. – P. 2123–2128. – DOI: 10.1007/s11182-022-02565-w.

3. Кистенев Ю. В. Микроскопия с многофотонным возбуждением для идентификации и оперативного контроля компонентов внеклеточного матрикса тканей организма / Ю. В. Кистенев, **В. В. Николаев**, А. В. Борисов, О. Б. Заева, А. И. Князькова, Н. А. Кривова // Оптика и спектроскопия. – 2020. – Т. 128, вып. 6. – С. 790–794. – 0,37 / 0,06 а.л.

*в переводной версии журнала, входящей в Scopus:*

Kistenev Y. V. Multiphoton Excitation Microscopy for Identification and Operational Control of Extracellular Matrix Components of Body Tissues / Y. V. Kistenev, **V. V. Nikolaev**, A. V. Borisov, O. B. Zaeva, A. I. Knyazkova, N. A. Krivova // Optics and Spectroscopy. – 2020. – Vol. 128, is. 6. – P. 794–798. – DOI: 10.1134/S0030400X20060107.

4. Kistenev Y. V. Application of multiphoton imaging and machine learning to lymphedema tissue analysis / Y. V. Kistenev, **V. V. Nikolaev**, O. S. Kurochkina, A. V. Borisov, D. A. Vrazhnov, E. A. Sandykova // Biomedical Optic Express. – 2019. – Vol. 10, № 7. – P. 3353–3368. – URL: <http://europemc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC6706037&blobtype=pdf> (access date: 07.09.2022). – DOI: 10.1364/BOE.10.003353. – 1,08 / 0,36 а.л. (*Scopus*).

5. Mazumder N. Label-Free Non-linear Multimodal Optical Microscopy – Basics, Development, and Applications / N. Mazumder, N. K. Balla, G.-Y. Zhuo, Yu. V. Kistenev, R. Kumar, F.-J. Kao, S. Brasselet, **V. V. Nikolaev**, N. A. Krivova // Frontiers in Physics. – 2019. – Vol. 7. – DOI: 10.3389/fphy.2019.00170. – 1,38 / 0,15 а.л. (*Scopus*).

*Статьи в сборниках материалов конференций, представленных в изданиях, входящих в Scopus:*

6. Kistenev Yu. V. Kal man filtering in the problem of noise reduction in the absorption spectra of exhaled air / Y. V. Kistenev, A. V. Shapovalov, D. A. Vrazhnov, **V. V. Nikolaev** // Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering. – 2016. – Vol. 10035 : 22nd International Symposium on Atmospheric and Ocean Optics: Atmospheric Physics. Tomsk, Russia, June 30 – July 03, 2016. – Article number 100350A. – 6 p. – URL: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/10035/100350A/Kalman-filtering-in-the-problem-of-noise-reduction-in-the/10.1117/12.2249139.short?SSO=1> (access date: 07.09.2022). – DOI: 10.1117/12.2249139. – 0,28 / 0,07 а.л.

7. **Nikolaev V. V.** Research on lymphedema by method of high-resolution multiphoton microscopy / V. V. Nikolaev, O. S. Kurochkina, D. A. Vrazhnov, E. A. Sandykova, Y. V. Kistenev // Journal of Physics: Conference Series. – 2019. – Vol. 1145 : XV International Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Tomsk, Russia, April 24–27, 2017. – Article number 012043. – 6 p. – URL: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1145/1/012043/pdf> (access date: 07.09.2022). – DOI: 10.1088/1742-6596/1145/1/012043. – 0,28 / 0,07 а.л.

8. Kistenev Yu. V. Lymphedema tissue analysis using optical imaging and gradient processing / Y. V. Kistenev, A. V. Borisov, **V. V. Nikolaev**, D. A. Vrazhnov, A. I. Knyazkova,

N. A. Krivova, E. A. Sandykova // Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE. – 2019. – Vol. 11073 : Clinical and Preclinical Optical Diagnostics II. Munich, Germany, June 23–25, 2017. – Article number 110731Z. – 7 p. – URL: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11073/2526530/Lymphedema-tissue-analysis-using-optical-imaging-and-gradient-processing/10.1117/12.2526530.full?SSO=1> (access date: 07.09.2022). – DOI: 10.1117/12.2526530. – 0,27 / 0,04 а.л.

9. **Nikolaev V. V.** Estimation of the collagen and elastin condition at lymphedema using multiphoton microscopy / V. V. Nikolaev, E. Sandykova, O. O. Kurochkina, D. A. Vrazhnov, N. A. Krivova, Y. V. Kistenev, E. S. Sim // Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering. – 2019. – Vol. 11208 : 25th International Symposium on Atmospheric and Ocean Optics: Atmospheric Physics 2019. Novosibirsk, Russia, June 30 – July 05, 2019. – Article number 112080E. – 5 p. – URL: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11208/112080E/Estimation-of-the-collagen-and-elastin-condition-at-lymphedema-using/10.1117/12.2540604.short> (access date: 07.09.2022). – DOI: 10.1117/12.2540604. – 0,27 / 0,04 а.л.

10. **Nikolaev V. V.** Measurement and estimation of the structure of lymphedematous tissue on animal model / V. V. Nikolaev, O. O. Zakharova, O. O. Kurochkina, E. Sandykova, A. A. Taletskiy, N. A. Krivova // Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering. – 2020. – Vol. 11582 : 4th International Conference on Terahertz and Microwave Radiation: Generation, Detection, and Applications 2020. Tomsk, Russia, August 24–26, 2017. – Article number 115821I. – 7 p. – URL: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11582/115821I/Measurement-and-estimation-of-the-structure-of-lymphedematous-tissue-on/10.1117/12.2581564.short> (access date: 07.09.2022). – DOI: 10.1117/12.2581564. – 0,3 / 0,05 а.л.

*Статья в прочем научном журнале:*

11. Байтингер В. Ф. Морфологические изменения в коже и подкожной клетчатке при создании экспериментальной модели лимфедемы на задней конечности белой крысы / В. Ф. Байтингер, И. В. Суходоло, О. С. Курочкина, М. Е. Павлова, Ю. В. Кистенев, Н. А. Кривова, А. В. Талецкий, **В. В. Николаев** // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2022. – Т. 25, № 1. – С. 40–52. – 0,8 / 0,1 а.л.

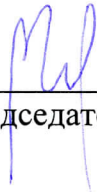
#### **Соответствие содержания диссертации избранной специальности**

Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (физико-математические науки) по направлениям исследования «Молекулярная биофизика: физика белка. Медицинская биофизика» (п. 1 паспорта специальности), «Теоретическое и экспериментальное исследование физических процессов, протекающих в биологических системах разного уровня организации, в том числе исследование воздействия различных видов излучений и других физических факторов на биологические системы» (п. 4 паспорта специальности).


Диссертация «Анализ структурных изменений коллагена в лимфедематозной коже с использованием двухфотонной микроскопии и машинного обучения» Николаева Виктора Владимировича, рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Заключение принято на совместном расширенном заседании кафедры оптики и спектроскопии физического факультета, в лаборатории лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения и лаборатории биофотоники научного управления федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Присутствовало на заседании – 13 чел., с правом решающего голоса – 6 чел.  
Результаты голосования: «за» – 6 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол  
№ 8/22 от 08 сентября 2022 г.

  
\_\_\_\_\_  
Председатель

Черепанов Виктор Николаевич,  
доктор физико-математических наук, доцент,  
кафедра оптики и спектроскопии,  
заведующий кафедрой

  
\_\_\_\_\_  
Секретарь

Борисов Алексей Владимирович,  
кандидат физико-математических наук, доцент,  
кафедра общей и экспериментальной физики,  
доцент