

УТВЕРЖДАЮ:  
Проректор по научной работе  
и цифровому развитию  
ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»  
доктор физ.-мат. наук, профессор  
Алексей Александрович Короновский

---

«14» апреля 2023 года

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по диссертации Макаркина Михаила Андреевича «Системы проточной цитометрии для поиска и выделения редких объектов: моделирование и анализ изображений и сигналов» на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. — «Биофизика», выполненной на кафедре инноватики Института физики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского».

Тема диссертационной работы утверждена приказом ректора ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» от 29 декабря 2018 года № 245 — Д, переутверждена приказом ректора ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» от 14 июня 2022 года № 78 — Д.

Макаркин Михаил Андреевич в 2015 году закончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности 010710-Физика открытых нелинейных систем с присвоением квалификации Физик, системный аналитик.

В период подготовки диссертации с 01.10.2018 (приказ о зачислении №851-П от 20.09.2018 г.) по настоящее время соискатель является аспирантом ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по группе научных специальностей 1.3 Физические науки, специальность 1.5.2.- Биофизика

Справка о сданных кандидатских экзаменах № 9-2023 выдана 21.03.2023 г Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель – Браташов Даниил Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры инноватики института физики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», утверждённый приказом ректора СГУ



№129-Д от 23.09.2020 г., представил положительный отзыв о диссертации и соискателе.

Научную экспертизу диссертация проходила на расширенном заседании кафедры инноватики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» с приглашением специалистов по профилю диссертации.

На заседании присутствовали:

1. *Тучин Валерий Викторович*, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой оптики и биофотоники СГУ.
2. *Скрипаль Анатолий Владимирович*, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской физики СГУ.
3. *Якунин Александр Николаевич*, доктор физико-математических наук, профессор, руководитель сектора Института проблем точной механики и управления РАН.
4. *Тихонов Владимир Васильевич*, доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры инноватики СГУ.
5. *Москаленко Ольга Игоревна*, доктор физико-математических наук, доцент, профессор кафедры физики открытых систем, начальник УНД СГУ.
6. *Ревзина Елена Мстиславовна*, кандидат физико-математических наук, доцент, заведующая кафедрой инноватики СГУ.
7. *Акчурин Гариф Газизович*, кандидат физико-математических наук, доцент, доцент кафедры оптики и биофотоники СГУ.
8. *Слепнев Андрей Вячеславович*, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры радиофизики и нелинейной динамики СГУ.
9. *Браташов Даниил Николаевич*, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры инноватики СГУ.

Рецензенты диссертации:

*Скрипаль Анатолий Владимирович*, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской физики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» представил положительный отзыв.

*Якунин Александр Николаевич*, доктор физико-математических наук, профессор, руководитель сектора Института проблем точной механики и управления РАН представил положительный отзыв.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертация Макаркина М.А. посвящена разработке подходов к обработке изображений *in vivo* проточной цитометрии с визуализацией для поиска редких посторонних объектов в кровотоке, таких, как циркулирующие опухолевые клетки и носители для адресной доставки лекарств, а также изучению закономерностей поведения объектов, содержащих наночастицы



магнетита в области сильного градиента магнитного поля при магнитной сепарации объектов из потока.

### **Научная новизна исследования**

В работе впервые применяется чисто вычислительный подход для удаления сильных искажений в системах микроскопии и проточной цитометрии на основе светового листа. Обосновывается и проверяется на практике возможность переформулировать задачу устранения искажений изображения в таких системах в терминах переноса стиля с помощью нейронных сетей. Определен наиболее универсальный метод, требующий малого количества данных для обучения - метод переноса произвольного стиля с мультисканальной самоадаптацией. Разработан метод подсчета объектов в потоке цельной крови в проточной ячейке, шунтирующей артерию и вену лабораторного животного, для новой системы малоинвазивной *in vivo* цитометрии, основанной на микроскопии светового листа. Впервые была практически изучена динамика накопления магнитных микрокапсул на стенке проточной ячейки при магнитной сепарации в зависимости от скорости потока, размера капсул и количества магнитных наночастиц в капсуле.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Практическая значимость работы обусловлена возможностью применения её результатов в рамках проекта разработки системы *in vivo* цитометрии на основе микроскопии светового листа и магнитной сепарации объектов. Данная система в настоящее время используется для изучения поведения носителей для адресной доставки лекарств (полиэлектролитных микрокапсул) в потоке неразбавленной крови и непосредственно в кровотоке лабораторного животного и возможностью их извлечения. Предложенный метод деконволюции позволяет получать чистые изображения для проточного цитометра на основе системы структурированного освещения не прибегая к использованию дополнительных оптических средств. Также, описываемый полностью вычислительный подход значительно облегчает получение изображений при различных условиях эксперимента и не требует дополнительной калибровки оптической схемы. Предложенная архитектура глубокой нейронной сети способна при обучении выделить общие низкоуровневые признаки изображения, отвечающие искажению и отделять их, поэтому достаточно устойчива к стандартным возможным изменениям условий (освещенности, скорости потока, силе искажения). Это позволяет значительно ускорить эксперименты. Совокупно, это упрощает использование комплекса "цитометр - программное обеспечение" и в перспективе обеспечит возможность его эксплуатации медицинскими работниками. Программное обеспечение для анализа динамики циркуляции флуоресцентных объектов в крови обеспечивает надежное детектирование и подсчет их количества с высокой точностью, в том числе при слипании их в крупные агрегаты. Использование оператора Собеля совместно с оценкой средней площади отдельной частицы позволяет находить 93-97 % всех частиц, благодаря чему мы можем говорить о надежной оценке эффективности



магнитного удержания частиц. Всё это позволяет использовать результаты работы для проверки поведения различных искусственных объектов, прежде всего полиэлектролитных капсул в кровотоке, что является важной стадией доклинических исследований всех искусственно вводимых в кровотоки структур.

С точки зрения теоретической значимости, модели для изучения эффективности удержания носителей на стенке проточной ячейки позволяет прогнозировать достижимые дозировки действующих веществ при использовании магнитных носителей при различных условиях доставки через кровотоки и различных параметрах носителей, что является важной стадией верификацией возможности использования данных носителей в клинике.

### **Апробация работы:**

Работы, изложенные в диссертации, осуществлялись в соответствии с программами научно-исследовательских работ, поддержанных следующими грантами:

1. Грант Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) по теме “Фундаментальные основы создания систем ком пьютерного зрения и обработки изображений для проточной цитометрии с визуализацией” (№ 20-31-90030, ”Аспиранты”, 2020-2022 гг. )

2. Грант Российского Научного Фонда (РНФ) ”Детектирование и сортировка объектов в кровотоке с целью фильтрации его от компонент систем адресной доставки лекарств и поиска редких диагностических объектов” (№ 18-19-00354, 2018-2023 гг. ).

Основные результаты и положения работы были представлены, доложены и обсуждены на следующих международных симпозиумах и конференциях:

1. 25-й Международный симпозиум по оптике и биофотонии «Saratov Fall Meeting 2021» (Россия, Саратов, стендовый доклад, 27 сентября -1 октября 2021 г.).

2. 2022 International Conference of Laser Optics (Россия, Санкт-Петербург, 20-24 июня 2022 года).

### **Личный вклад**

В рамках выполнения диссертационного исследования автор принимал непосредственное участие во всех этапах проводимых исследований, от участия в постановке задач и их реализации, до обсуждения результатов и подготовки публикаций и докладов по результатам исследований.

Автором самостоятельно осуществлялись практические проверки двух первоначальных поставленных концепций решения задачи деконволюции - моделирования ядра ФРТ фильтрами, извлеченных из классифицирующей сети и сведения задачи к задаче сегментации. Далее, им была сформулирована и



проверена итоговая концепция решения задачи устранения искажений в системах микроскопии и визуализации на основе светового листа. Диссертантом самостоятельно решена задача анализа динамики флуоресцентных объектов в кровотоке. Автором развивалась модель поведения полиэлектролитных микрокапсул, содержащих наночастицы магнетита в кровотоке. Автор принимал участие в планировании и обработке результатов экспериментов по *in vivo* проточной цитометрии, изложении полученных данных в публикациях, докладах на конференциях и данном диссертационном исследовании.

### **Достоверность результатов исследования**

Подтверждается применением научного оборудования, сертифицированного в соответствии с международными стандартами обеспечения единства измерений, и единообразием средств измерений. Воспроизводимостью результатов на большом объеме исследуемого материала различной природы. Результаты работы прошли оценку независимых рецензентов с последующим опубликованием в высокорейтинговых международных научных журналах (Biomedical Optics Express - импакт-фактор 3.732, Pharmaceutics - импакт-фактор 6.321, Micromachines - импакт-фактор 2.891, Molecules — 4.927).

### **Соответствие диссертации научной специальности**

Диссертация Макаркина Михаила Андреевича «Системы проточной цитометрии для поиска и выделения редких объектов: моделирование и анализ изображений и сигналов», посвященная разработке моделей и методик анализа данных в *in vivo* проточной цитометрии редких объектов в крови и моделировании процессов магнитной сепарации биосовместимых магнитных носителей лекарственных средств из потока крови, соответствует научной специальности 1.5.2. - Биофизика.

### **Полнота изложения материалов диссертации в научных работах, опубликованных соискателем**

Основные положения диссертационного исследования достаточно полно отражены в 6 работах, в том числе 6 публикациях в изданиях, рекомендованных ВАК, и зарубежных изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science.

### **Статьи в журналах и сборниках трудов ВАК, Scopus и Web of Science**

- Lightsheet-based flow cytometer for whole blood with the ability for the magnetic retrieval of objects from the blood flow [Текст] / Roman A. Verkhovskii, Anastasiia A. Kozlova, Olga A. Sindeeva, Ilya O. Kozhevnikov, Ekaterina S. Prikhozhenko, Oksana A. Mayorova, Oleg V. Grishin, **Mikhail A. Makarkin**, Alexey V. Ermakov, Arkady S. Abdurashitov, Valery V. Tuchin, and Daniil N. Bratashov // Biomedical Optics Express. — 2021. — Vol. 12, No. 1. — P. 380—394.



- Makarkin, M. State-of-the-Art Approaches for Image Deconvolution Problems including Modern Deep Learning Architectures [Текст] / **M. Makarkin**, D. Bratashov // *Micromachines*. — 2021. — Vol. 12, No. 12. — P. 1558.
- Effect of Size on Magnetic Polyelectrolyte Microcapsules Behavior: Biodistribution, Circulation Time, Interactions with Blood Cells and Immune System [Текст] / R. Verkhovskii, A. Ermakov, O. Sindeeva, E. Prikhozhdenko, A. Kozlova, O. Grishin, **M. Makarkin**, D. Gorin, D. Bratashov // *Pharmaceutics*. — 2021. — Vol. 12, no. 13. — P. 2147.
- The Influence of Magnetic Composite Capsule Structure and Size on Their Trapping Efficiency in the Flow [Текст] / Verkhovskii R.A., Ermakov A.V., Grishin O.V., **Makarkin M.A.**, Kozhevnikov I.O., Makhortov M.A., Kozlova A.A., Salem S, Tuchin V.V., Bratashov D.N. // *Molecules*. — 2022. — Сент. — Т. 27, № 18. — С. 6073.
- Light Sheet Flow Cytometry: Study of Polyelectrolyte Microcapsules in Whole Blood [Текст] / D. Bratashov, O. Sindeeva, O. Mayorova, R. Verkhovskii, A. Ermakov, O. Grishin, I. Kozhevnikov, **M. Makarkin**, E. Prikhozhdenko // 2022 International Conference Laser Optics (ICLO). — 2022. — С. 01—01.
- Detection of Rare Objects by Flow Cytometry: Imaging, Cell Sorting, and Deep Learning Approaches [Текст] / D.V. Voronin, A.A. Kozlova, R. A. Verkhovskii, A. V. Ermakov, **M.A. Makarkin**, O.A. Inozemtseva, D. N. Bratashov // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020. — Т. 21, № 7 — С. 2323.

### Общая оценка диссертации

Диссертационная работа Макаркина Михаила Андреевича «Системы проточной цитометрии для поиска и выделения редких объектов: моделирование и анализ изображений и сигналов» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи медицинской биофизики, заключающейся в разработке методик анализа данных в *in vivo* проточной цитометрии с магнитной сортировкой объектов. В диссертации решена задача устранения искажений, присущих схемам микроскопии структурированного освещения при наблюдении проточной ячейки под острым углом и ограничении эффективной апертуры объектива такой системы за счёт полного внутреннего отражения от стенок ячейки. Решение основано на технике переноса стиля нейронной сетью с изображений не содержащих искажения на изображения, получаемые по схеме светового листа с сильными искажениями по типу комы. Разработана методика эффективного подсчёта количества наблюдаемых флуоресцентных объектов в потоке неразбавленной крови, проведена верификация работы данного метода на потоках искусственно вводимых в кровь биосовместимых объектов — полиэлектролитных флуоресцентных микрокапсул, суспензионных культурах клеток, непосредственной инъекции полиэлектролитных микрокапсул в кровотоки животного и подсчёт объектов при наблюдении их движения в крови и



оценке эффективности магнитной сепарации. Разработана модель движения отдельной капсулы в магнитном поле и накопления капсул для теоретического осмысления явлений, сопровождающих магнитную сепарацию клеток и композитных микрокапсул для адресной доставки лекарств из потока крови.

Диссертация выполнена на высоком научном уровне с применением современных методов исследований. Основные результаты диссертации опубликованы в научных статьях и материалах конференций.

Диссертация Макаркина Михаила Андреевича «Системы проточной цитометрии для поиска и выделения редких объектов: моделирование и анализ изображений и сигналов» рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2.-Биофизика как удовлетворяющая критериям, установленным пп. 9-11, 13, 14 действующего «Положения о присуждении учёных степеней» для кандидатских диссертаций.

Заключение принято на расширенном заседании кафедры инноватики ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» с приглашением специалистов по профилю диссертации. На заседании присутствовало 9 чел, из них 4 доктора наук и 2 кандидата наук по профилю диссертации. Результаты голосования: «за» - 9 чел., «против» - нет, «воздержались» - нет, протокол №4 от 27 марта 2023 г.

### Председатель заседания

кандидат физико-математических наук,

доцент, заведующая кафедрой инноватики

ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» Ревзина Елена Мстиславовна

Подпись	<i>Е. М. Ревзина</i>
Ученый секретарь	<i>И. А. Давыдов</i>
доцент	<i>И. А. Давыдов</i>
"17"	04

