

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУН Института
прикладной механики
Христиановича СО РАН,
математических наук,
_____ А.Н. Шиплюк
«20» «09» 2021г.

ЗА

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук.

Диссертация «Численное и экспериментальное исследование процессов, протекающих в ротационном биореакторе при выращивании костной ткани» выполнена в лаборатории № 3 «Лазерных технологий» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Цибульская Елена Олеговна работала в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук, в лаборатории № 3 «Лазерных технологий» в должности лаборанта с 2014 по 2015 г., старшего лаборанта с высшим профессиональным образованием с 2015 по 2018 г. В 2018 г. была переведена на должность младшего научного сотрудника в составе лаборатории № 16 «Термогазодинамических технологий» ИТПМ СО РАН, продолжа работать по совместительству в лаборатории № 3.

В 2015 г. окончила магистратуру Физического факультета Новосибирского Государственного Университета по направлению 03.04.02 – «Физика». В 2019 г. окончила аспирантуру Физического факультета Новосибирского Государственного Университета по направлению подготовки 03.06.01 – «Физика и астрономия».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 804 выдана в 2021 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтотом теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук.

Научный руководитель: Маслов Николай Анатольевич, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник в составе лаборатории № 3 «Лазерных технологий» Федерального государственного бюджетного учреждения

науки Института теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

1. Диссертация посвящена численному и экспериментальному исследованию процессов, протекающих в новом ротационном биологическом реакторе при выращивании костного материала на тонкой полимерной пленке.

2. Актуальность темы.

Биореакторы – это медицинские приборы, в которых осуществляется выращивание клеток и биологических тканей в оптимальных для них условиях. В биореакторах клетки выращиваются в жидкой питательной среде при определенной температуре, к ним потоком жидкости подводятся питательные вещества и отводятся продукты жизнедеятельности. В процессе выращивания клетки подвергаются воздействию давления и потоков жидкости со стороны питательного раствора. Поскольку живые клетки чувствительны к изменениям окружающей среды, корректность выбора физических условий и их контроль крайне важны для эффективного нарастания ткани в процессе биологического синтеза. Решение данных задач осуществляется методами механики. Исследование течения жидкости методами механики (определение картин течения питательной среды в полости биореактора, поиск застойных и вихревых зон, определение величины механической нагрузки потока жидкости на клетки) позволяет предсказать поведение клеток в процессе культивирования. Численное моделирование течения питательной среды в реакторах позволяет провести анализ течения и оценить величину механической нагрузки потока жидкости на живые клетки в тех случаях, когда экспериментально этого сделать не возможно. Оптические методы, применяемые при исследовании течения жидкости, также могут быть перспективны при разработке новых методов диагностики качества выращиваемого биоматериала.

В данной работе представлено исследование особенностей и возможностей нового типа биореактора (ротационного биореактора), предложенного для наращивания костной ткани на тонкой полимерной пленке в рамках технологии создания тканеинженерных имплантатов. В соответствии с данной технологией создаются имплантаты, состоящие из биоразлагаемых полимерных каркасов, заселенных клетками пациента, которые затем пересаживаются пациенту. Чужеродные соединения, входящие в состав имплантата, деградируют и постепенно выводятся из организма, постепенно замещаясь собственными тканями. В результате для новой технологии необходимо решать множество отдельных задач: подбор и контроль оптимальных физических условий, анализ перспектив и путей дальнейшего развития. Для решения данных задач интерес представляет комплексный подход, включающий исследование течения методами механики и оптики, что позволяет значительно упростить оптимизацию новой технологии без дорогостоящих медицинских экспериментов.

3. Основные цели работы:

Определение с помощью численного моделирования оптимальных параметров работы нового реактора для эффективного наращивания костного материала на пленке из мезенхимальных стволовых клеток; определение рекомендаций по выбору параметров работы реактора в зависимости от требований; поиск модификаций конструкции ротационного биореактора для дальнейшего развития и оптимизации

процесса создания тканеинженерных имплантатов; развитие метода неинвазивной оптической диагностики нарастания костной ткани на полимерной пленке в процессе работы нового биореактора.

4. Научная новизна работы.

В работе применен комплексный подход к разработке технологии создания тканеинженерных имплантатов с помощью нового биореактора, в частности прорабатывались этапы культивирования биоматериала и анализа выращенных образцов. С использованием результатов численного моделирования течения жидкости был определен оптимальный уровень механической нагрузки потока жидкости на клетки кости и подтверждено, что новую конструкцию реактора можно применять для наращивания костной ткани на полимерной пленке. На основе анализа перспективных модификаций модели ротационного биореактора предложены пути развития технологии. Для диагностики нарастания костной ткани разработан и экспериментально проверен новый неинвазивный метод анализа спектров лазерно-индуцированной флуоресценции оптически тонких образцов на основе метода главных компонент, позволяющий восстанавливать чистые спектры флуоресценции и возбуждения исходных флуоресцирующих веществ. Тестирование метода показало, что в отличие от стандартных алгоритмов восстановления чистых спектров, новый алгоритм с высокой точностью рассчитывает чистые спектры основных флуорофоров в случаях, не удовлетворяющих условиям теорем о разрешимости спектров.

5. Достоверность результатов обеспечена использованием общепринятых и надежных методов исследования потоков жидкости и подходов оптики. Результаты численного моделирования верифицированы путем сравнения с известными аналитическими решениями и результатами экспериментов. Точность численного моделирования подтверждена сходимостью результатов при расчетах, проведенных на различных расчетных сетках. Точность расчета чистых спектров новым алгоритмом анализа спектров и сходимость расчетов подтверждалась тестированием на случайно сгенерированных спектральных данных и реальных спектрах смесей флуоресцентных красителей. Достоверность результатов анализа спектральных данных подтверждается сравнением со стандартными биохимическими методами.

6. Научная и практическая значимость работы заключается в том, что благодаря полученным результатам численного моделирования новая конструкция биологического реактора была впервые успешно использована на практике в медицинских экспериментах по выращиванию костной ткани. Результаты моделирования модифицированных конструкций ротационного биологического реактора помогут при дальнейшей оптимизации технологии создания тканеинженерных костных имплантатов. Новый алгоритм обработки спектральных данных на основе метода главных компонент перспективен при исследовании состава многокомпонентных оптически тонких образцов с неизвестным составом, благодаря тому, что в нем не используется априорная информация о спектрах исходных флуорофоров. Новый алгоритм анализа спектров показал свою эффективность при восстановлении спектров исходных флуорофоров в костной ткани, что позволяет рассчитывать на применение нового метода неинвазивной диагностики нарастания костной ткани в процессе культивирования и дальнейшее улучшение данной технологии.

7. Личный вклад автора.

Работа по численному моделированию течения жидкости в новом биореакторе и оптической диагностике выращенного костного материала была выполнена в ФГБУН «Институт теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича» СО РАН. Автор лично проводил численное моделирование течения жидкости в новом биореакторе и экспериментальное исследование течения в рабочем образце реактора. Автор разрабатывал метод оптической диагностики костной ткани, в том числе лично проводил измерения спектров лазерно-индуцированной флуоресценции выращенной в биореакторе костной ткани, участвовал в разработке алгоритма анализа спектров, самостоятельно обрабатывал спектральные данные и интерпретировал результаты.

8. Положения, выносимые на защиту:

1. В ротационном биологическом реакторе при вращении каркаса пленки и неподвижном корпусе на рабочей поверхности возможно создание касательного напряжения потока жидкости, которое подходит для стимуляции дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в клетки кости. Для используемой геометрии реактора при частоте вращения от 0,083 до 0,233 Гц на внешней поверхности каркаса создается среднее касательное напряжение в диапазоне от 4 до 17 мПа.

2. Изменение исходной конструкции ротационного биологического реактора путем вращения корпуса при неподвижном каркасе пленки приводит к равномерному механическому воздействию потока жидкости на выращиваемый клеточный материал за счет отсутствия вихревого течения в рабочей зоне. Для используемой геометрии реактора средние касательные напряжения на внешней поверхности каркаса составляют от 5 до 20 мПа при частотах вращения от 0,083 до 0,233 Гц. Параллельный сдвиг оси вращения каркаса относительно оси поверхности корпуса приводит к циклическому воздействию потока жидкости на культивируемый клеточный материал. При вращении корпуса в диапазоне частот вращения 0,05–0,233 Гц размах колебаний касательного напряжения составляет от 127 до 147 %.

3. Для матриц возбуждения-эмиссии лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ) оптически тонких образцов с неизвестным составом возможно вычислять чистые спектры отдельных флуоресцирующих компонент модифицированным алгоритмом на основе тензорного метода главных компонент, включающего ограничение числа используемых компонент и их уточнение методом последовательных приближений.

4. Спектры ЛИФ костной ткани, выращенной в ротационном биореакторе на тонкой полимерной пленке, содержат четыре компонента с максимумами флуоресценции на длинах волн 305, 325, 350, 435 нм, которые соответствуют флуорофорам тирозину, триптофану, коллагену и поликапролактону. В образцах, культивируемых в ротационном биореакторе, увеличивается интенсивность флуоресценции коллагена относительно интенсивности поликапролактона по сравнению с образцами, выращенными статически, что свидетельствует о нарастании костной ткани.

9. Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы докладывались на многочисленных российских и международных научных конференциях и семинарах: МНСК (Новосибирск, 2015, 2016, 2017 г.), Теория и численные методы решения обратных и некорректных задач (Новосибирск, 2016 г.), Высокоэнергетические

процессы в механике сплошной среды (Новосибирск, 2017, 2019 г.), ISMAR-2018 (Новосибирск, 2018 г.), Проблемы механики: Теория, эксперимент и новые технологии (Новосибирск-Шерегеш, 2018, 2020, 2021 г.), XVI Всероссийский семинар «Динамика Многофазных Сред» (Новосибирск, 2019 г.)

10. Публикации.

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 6 в научных изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Цибульская Е. О., Маслов Н.А., Ларионов П.М., Ганимедов В. Л. Технология регенерации костной ткани в ротационном биореакторе: моделирование течения жидкости и лазерная флюоресцентная диагностика //Прикладная механика и техническая физика. – 2020. – Т. 61. – №. 5. – С. 109-121.

2. Ларионов П. М., Ганимедов В. Л., Маслов Н.А., Цибульская Е. О. Течение жидкости в замкнутой полости ротационного биологического реактора для регенерации костной ткани //Теплофизика и аэромеханика. – 2019. – Т. 26. – №. 6. – С. 953-962.

3. Ганимедов В. Л., Цибульская Е.О., Маслов Н.А., Ларионов П.М. Моделирование течения жидкости в биологическом реакторе ротационного типа //Теплофизика и аэромеханика. – 2018. – Т. 25. – №. 2. – С. 219-226.

4. Маслов Н. А., Папаева Е. О. Статистический анализ матриц возбуждения-эмиссии для метода лазерно-индуцированной флуоресценции //Письма в Журнал технической физики. – 2016. – Т. 42. – №. 14. – С. 7-13.

5. Tsibulskaya E., Maslov N. Decomposition of multi-component fluorescence spectra by narrow peak method based on principal component analysis //Journal of Chemometrics. – 2021. – Т. 35. – №. 6. – С. e3343.

6. Tsibulskaya E., Lipovka A., Chupakhin A., Dubovoy A., Parshin D., Maslov N. The Relationship between the Strength Characteristics of Cerebral Aneurysm Walls with Their Status and Laser-Induced Fluorescence Data //Biomedicines. – 2021. – Т. 9. – №. 5. – С. 537.

Дополнительные публикации в других изданиях и научных сборниках:

7. Ражев А. М., Искаков И. А., Чуркин Д. С., Оришич А. М., Маслов Н. А., Цибульская Е. О., Ломзов А. А., Ермакова О. В., Трунов А. Н., Черных В. В. Воздействие лазерного УФ излучения на склеральную ткань глаза больных открытоугольной глаукомой //Квантовая электроника. – 2018. – Т. 48. – №. 5. – С. 481-486.

8. Ларионов П. М., Маслов Н. А., Папаева Е. О., Юношев А. С., Самохин А. Г., Терещенко В. П., Павлов В. В., Титов А. Т. Анализ перфузионных свойств скаффолда //Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2017. – Т. 6. – № 3. – С. 64-70.

9. Ларионов П. М., Маслов Н. А., Ганимедов В. Л., Папаева Е. О., Терещенко В. П., Богачев С. С., Проскура А. С., Титов А. Т., Филипенко М. Л., Павлов В. В., Кудров Г. А. Модель механотрансдукции адгезированной на скаффолде клеточной культуры в условиях вихревого биореактора //Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2017. – №. 1. – С. 107.

Учитывая вышеизложенное, постановили:

Диссертация Цибульской Елены Олеговны «Численное и экспериментальное исследование процессов, протекающих в ротационном биореакторе при выращивании костной ткани» удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук. Диссертация является законченной научной работой, содержащей новые результаты по актуальной теме. Опубликованные по теме диссертации научные работы отражают ее содержание.

Диссертация Цибульской Елены Олеговны «Численное и экспериментальное исследование процессов, протекающих в ротационном биореакторе при выращивании костной ткани» рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.1.9 – Механика жидкости, газа и плазмы.


Заключение принято на заседании семинара «Теоретическая и прикладная механика» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук.

На заседании присутствовали: академик РАН Фомин В.М., чл.-корр. РАН Шиплюк А.Н., д.ф.-м.н. Анискин В.М., д.м.н. Ларионов П.М. (НГУ), д.ф.-м.н. Бойко В.М., к.т.н. Маликов А.Г., д.ф.-м.н. Оришич А.М., д.ф.-м.н. Козлов В.В., д.т.н. Лебига В.А, д.ф.-м.н. Гапонов С.А., к.ф.-м.н. Голышев А.А., д.ф.-м.н. Ковалев О.Б., д.ф.-м.н. Маслов Н.А., д.ф.-м.н. Жаркова Г.М., д.ф.-м.н. Черепанов А.Н., д.т.н. Третьяков П.К., д.ф.-м.н. Хмель Т.А., к.ф.-м.н. Казанин И.В., к.ф.-м.н. Бузюркин А.Е., к.ф.-м.н. Кратова Ю.В., к.ф.-м.н. Бедарев И.А., к.ф.-м.н. Ядренкин М.А. и другие. Всего присутствовало 23 сотрудника с ученой степенью. Результаты голосования: «за» – 23 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 75 от 18.06.2021г.

Председатель сем

Академик РАН

Секретарь семинара
к.ф.-м.н.


В.М. Фомин

Е.И. Головнёва