

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГБУН
Института теплофизики
г. С.С. Кутателадзе СО РАН

Дмитрий
Вич

07.12.2021

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу **Цибульской Елены Олеговны** «Численное и экспериментальное исследование процессов, протекающих в ротационном биореакторе при выращивании костной ткани» на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.1.9 – «Механика жидкости, газа и плазмы»

Целью диссертационной работы Цибульской Е.О. являлась разработка технологии лабораторной инженерии костной ткани, заключающейся в выращивании костного материала на тонкой полимерной пленке в новом биореакторе. В работе исследовалась новая конструкция биологического реактора (ротационного типа), позволяющая преобразовывать стволовые клетки в костную ткань воздействуя на них касательным напряжением потока жидкости. В новой конструкции реактора движение жидкости осуществляется вращением каркаса пленки с биоматериалом за счет вязкости среды. В работе решались задачи исследования структуры течения в биореакторе, определения физического окружения клеток костной ткани, поиска вариантов улучшения условий культивирования, практического применения и оценки качества выращенного материала. В диссертационной работе Цибульской Е.О. реализован комплексный подход к решению данных задач с использованием современных оптических методов диагностики и вычислений апробированными математическими моделями механики жидкости и газа. Численное моделирование течения жидкости применялось для определения оптимальных условий культивирования клеточного материала в ротационном биореакторе и исследования перспективных изменений конструкции реактора. Для диагностики качества культивируемой костной ткани применялся оптический метод исследования потоков – метод лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ).

Для эффективного выращивания биоматериала важно перемешивать питательную среду для доставки к клеткам питательных веществ, кислорода и создавать подходящее физическое окружение (температуру, механическую нагрузку со стороны жидкости). Несоответствие параметров характерным физиологическим условиям может не только значительно ухудшить

результативность и качество биологического синтеза, но и привести к гибели биоматериала. Диссертационная работа Цибульской Е.О. представляется весьма **актуальной**, поскольку методы механики помогают определять и контролировать условия максимально приближенные к физиологическим и корректно выращивать биологические ткани *in vitro* в биореакторе.

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав с изложением основных результатов исследования, заключения и списка литературы из 129 наименований. Диссертация изложена на 132 страницах и содержит 47 иллюстраций.

Во введении представлена актуальность темы и методов исследования, сформулированы цели и задачи работы, обозначена новизна, научная и практическая значимость, изложены наиболее важные научные результаты, представлены положения, выносимые на защиту.

В первой главе изложен обзор работ, посвященных особенностям создания костных имплантатов, а также сравнение конструкций биореакторов, применяемых для этих целей, сформулированы задачи и цель работы. Описаны преимущества ротационного реактора, в котором выращивание костной ткани из стволовых клеток на тонкой полимерной пленке происходит за счёт стимуляции потоком питательной среды. В главе обосновано применение методов механики для создания и контроля физических условий, подходящих для стимуляции стволовых клеток в биореакторе. Для определения величины касательного напряжения, действующего на биоматериал, было предложено использовать численное моделирование течения питательной среды в связи со сложной геометрией нового реактора. В качестве альтернативы гистологическому исследованию предложен метод лазерно-индуцированной флуоресценции, который можно применять для исследования костной ткани за счет присутствия в ней тканевых молекул-флуорофоров.

Во второй главе представлено численное исследование течения жидкости в ротационном биореакторе, приведено описание математической модели, верификации и валидации численного решения. Показано, что вблизи рабочей поверхности с биоматериалом, обращённой в сторону стенки реактора, образуются два вихря Тейлора. Из-за вихревого течения распределение касательного напряжения по рабочей поверхности неравномерно. В разделе приведены данные о зависимости механической нагрузки потока, усредненной по поверхности, от частоты вращения каркаса пленки. Показано, что в ротационном биореакторе возможно создание подходящего для стимуляции стволовых клеток касательного напряжения (около 10 мПа). В конце главы продемонстрировано практическое применение результатов моделирования течения в медицинских экспериментах по выращиванию костной ткани, по итогам которых был

определен оптимальный уровень механической нагрузки для стимуляции стволовых клеток.

В третьей главе представлено исследование структуры течения и распределения механической нагрузки по рабочей поверхности в трех перспективных модификациях конструкции ротационного биореактора. Первая модель предполагает размещение биоматериала на поверхность, обращенную в полость внутреннего каркаса, что позволяет избежать расположения вихрей вблизи биоматериала. Модификация во второй модели заключается в смене вращения каркаса пленки на вращение корпуса реактора. Так как данный тип течения устойчив, то вблизи рабочей поверхности, обращенной к стенке, вихри не образуются. Таким образом, данные модификации позволяют избавиться от вихрей вблизи рабочей поверхности, в результате чего условия культивирования костной ткани могут быть улучшены по сравнению с исходным устройством. В третьей модели благодаря несимметричной конструкции можно создавать циклическую нагрузку потока на биоматериал.

В четвертой главе описано применение ЛИФ спектроскопии для анализа образцов костной ткани, выращенной в ротационном биореакторе. Для анализа оптически тонких образцов был разработан новый алгоритм последовательных приближений на основе метода главных компонент, который восстанавливал спектры флуоресценции, возбуждения и весовые коэффициенты чистых флуорофоров без использования первоначальной информации о них. Новый алгоритм тестировался на трехкомпонентных спектрах оптически прозрачных растворов и модельных спектрах, которые генерировались случайно с определенными условиями пересечения. Показано, что новый алгоритм рассчитывает чистые спектры флуорофоров в случаях, которые невозможно восстановить стандартными алгоритмами восстановления чистых спектров. Исследование спектров костных тканей новым алгоритмом показало, что в них вносят вклады четыре компонента. По форме спектров они соотнесены со спектрами распространенных биологических флуорофоров. Продемонстрировано, что информацию о вкладах компонент можно использовать для того, чтобы различать образцы костной ткани, которые выращивались в культуральной планшете и ротационном биореакторе.

В заключении сформулированы основные результаты работы.

Научная новизна представленных результатов заключается в следующем:

- Впервые с помощью построенной Цибульской Е.О. математической модели течения жидкости в ротационном биореакторе было показано, что данное устройство и исследуемые в работе режимы подходят для стимуляции стволовых клеток и их преобразования в костную ткань.

- Перспективные модификации ротационного реактора позволили определить пути развития и оптимизации технологии создания костных имплантатов на основе тонких полимерных пленок.

- Новый алгоритм анализа спектров ЛИФ оптически тонких образцов позволяет восстановить чистые спектры в случаях, которые невозможно восстановить стандартными алгоритмами восстановления чистых спектров.

Достоверность полученных в диссертации Цибульской Е.О. результатов обосновывается применением общепринятых и надежных методов механики по исследованию течений. Результаты численного моделирования в работе верифицировались сопоставлением с известными аналитическими решениями. Валидация численного расчета осуществлялась сравнением с оптической визуализацией течения в реакторе. Результаты спектрального анализа подтверждались гистологическим исследованием образцов костных тканей.

Научная и практическая значимость работы заключается в том, что данные численного моделирования течения питательной среды в новом биореакторе впервые использовались в экспериментах по выращиванию биоматериала для костных имплантатов.

Результаты, относящиеся к перспективным модификациям ротационного биореактора, могут быть применимы на практике для дальнейшего развития технологии создания имплантатов из тонких пленок и выращивания биоматериала при более однородных условиях.

Новый алгоритм анализа спектров ЛИФ перспективен для исследования образцов с неизвестным составом, содержащих несколько флуорофоров. На практике алгоритм восстановил спектры четырех чистых флуоресцирующих компонент, содержащихся в костных тканях.

Апробация работы и публикации. Результаты диссертационной работы докладывались на российских и международных научных конференциях и семинарах. Всего по теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 6 в научных изданиях, входящих в перечень ВАК.

По работе можно отметить следующие **замечания:**

1. В разделе 2.4 приведены результаты о неравномерном распределении касательного напряжения по поверхности с биоматериалом из-за вихрей Тейлора вблизи данной области. В следующем разделе описаны эксперименты по выращиванию костной ткани, однако нет данных о пространственном распределении клеток по поверхности полимерной пленки после культивирования. Нет объяснения того, как неравномерность

распределения касательного напряжения может повлиять на рост клеток кости.

2. В разделе 3.3 приведено исследование модели асимметричного реактора, но нет четко сформулированной цели данного исследования. В обзоре литературы данному вопросу также не уделено достаточно внимания.

3. Новый алгоритм анализа спектров флуоресценции, описанный в Главе 4, отработывался на спектрах двух- и трехкомпонентных водных растворов флуоресцентных красителей. Всего в данных экспериментах использовалось четыре красителя, однако тестирование алгоритма на четырехкомпонентных растворах не было проведено.

Однако указанные выше замечания не влияют на общую положительную оценку работы и ее результатов.

Диссертационная работа написана четким и ясным языком, результаты хорошо проиллюстрированы и подробно обсуждены. Автореферат корректно отражает основное содержание работы. Тема и содержание диссертации соответствуют заявляемой научной специальности 1.1.9 – «Механика жидкости, газа и плазмы». Диссертация является законченной научно-исследовательской работой по актуальной тематике, в которой в полной мере решены поставленные задачи разработки технологии выращивания биоматериала в новом реакторе. Полученные результаты носят прикладной характер и могут быть применимы в биотехнологических процессах.

Диссертационная работа Цибульской Елены Олеговны «Численное и экспериментальное исследование процессов, протекающих в ротационном биореакторе при выращивании костной ткани» полностью удовлетворяет требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а Цибульская Елена Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.1.9 – «Механика жидкости, газа и плазмы».

Доклад по материалам диссертационной работы Цибульской Е.О. обсужден и одобрен на общеинститутском семинаре ИТ СО РАН 01.07.2021, протокол №76/3-2021.

Руководитель семинара
академик РАН
директор ИТ СО РАН
Заведующий лабораторией 1.1
«Лаборатория процессов переноса
в многофазных системах»
Тел.: 8-(383)-330-90-40
E-mail: director@itp.nsc.ru

иркович Дмитрий
иркович

Секретарь семинара
д. ф.-м. н.
С.н.с. лаборатории 6.3
Тел.: +7-913-204-57-97
E-mail: rustammul@gmail.com

Мулляджанов Рустам
Илхамович

Подписи Марковича Д.М. и
Мулляджанова Р.И. удостоверяю
Ученый секретарь
к.ф.-м.н.
Тел.: 8-(383)-330-60
E-mail: sci_it@itp.n

Макаров Максим
Сергеевич

Наименование учреждения науки | зальное государственное бюджетное
учреждение науки | ки им. С. С. Кутателадзе Сибирского
отделения Российской академии наук (ИТ СО РАН)

Почтовый адрес: пр-кт Академика Лаврентьева, д. 1, Новосибирская
область, г. Новосибирск, 630090, Россия

Веб-сайт: <http://www.itp.nsc.ru>

Тел.: 8-(383)-330-90-40

E-mail: director@itp.nsc.ru

Сведения о ведущей организации по диссертации

Цибульской Елены Олеговны

"Численное и экспериментальное исследование процессов, протекающих в ротационном биореакторе при выращивании костной ткани" по специальности

1.1.9 — Механика жидкости, газа и плазмы

на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук.

Полное наименование организации в соответствии с уставом:	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теплофизики им. С. С. Кутателадзе Сибирского отделения Российской академии наук
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом:	ИТ СО РАН
Ведомственная принадлежность организации	Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Полное наименование структурного подразделения, составляющего отзыв:	Лаборатория процессов переноса в многофазных системах
Почтовый адрес организации:	пр-кт Академика Лаврентьева, д. 1, Новосибирская область, г. Новосибирск, 630090, Россия
Веб-сайт	http://www.itp.nsc.ru
Телефон	8-383-330-9040
Адрес электронной почты	director@itp.nsc.ru

Список основных публикаций работников структурного подразделения, составляющего отзыв, в рецензируемых научных изданиях за последние пять лет по теме диссертации (не более 15 публикаций).

№	Авторы	Название	Издательство, журнал, год, №, страницы	Вид, год
1	Bobrov M., Hrebtov M., Ivashchenko V., Mullyadzhanov R., Seredkin A., Tokarev M., Zaripov D., Dulin V., Markovich D.	Pressure evaluation from Lagrangian particle tracking data using a grid-free least-squares method	Measurement Science and Technology. – 2021. – Т. 32. – №. 8. – С. 084014.	Статья, 2021
2	Sharaborin D. K., Savitskii A. G., Bakharev G. Y., Lobasov A. S., Chikishev L. M., Dulin V. M.	PIV/PLIF investigation of unsteady turbulent flow and mixing behind a model gas turbine combustor	Experiments in Fluids. – 2021. – Т. 62. – №. 5. – С. 1-19.	Статья, 2021
3	Cherdantsev A. V., Isaenkov S. V., Cherdantsev M. V., Markovich D. M.	The effect of high-frequency oscillations on the disturbance waves in annular flow	International Journal of Multiphase Flow. – 2021. – Т. 143. – С. 103754.	Статья, 2021

4	Cherdantsev M. V., Isaenkov S. V., Cherdantsev A. V., Markovich D. M.	Development and interaction of disturbance waves in downward annular gas-liquid flow	International Journal of Multiphase Flow. – 2021. – Т. 138. – С. 103614.	Статья, 2021
5	Бобылев А. В., Гузанов В. В., Квон А. З., Харламов С. М., Маркович Д. М.	Экспериментальное исследование процесса образования трехмерных волн из уединенной двумерной волны на вертикально стекающих пленках жидкости	Прикладная механика и техническая физика. – 2020. – Т. 61. – №. 3. – С. 5-10.	Статья, 2020
6	Трифонов Ю. Я.	Расчет линейной и нелинейной устойчивости двухслойного течения Куэтта	Прикладная математика и механика. – 2020. – Т. 84. – №. 6. – С. 694-708.	Статья, 2020
7	Lobasov A. S., Alekseenko S. V., Markovich D. M., Dulin V. M.	Mass and momentum transport in the near field of swirling turbulent jets. Effect of swirl rate	International Journal of Heat and Fluid Flow. – 2020. – Т. 83. – С. 108539.	Статья, 2020
8	Бильский А. В., Гобызов О. А., Маркович Д. М.	История и тенденции развития метода анемометрии по изображениям частиц для аэродинамического эксперимента (обзор)	Теплофизика и аэромеханика. – 2020. – Т. 27. – №. 1. – С. 1-24.	Обзорная статья, 2020
9	Черданцев А. В., Маркович Д. М.	Эволюция представлений о волновой структуре пленки жидкости в дисперсно-кольцевом газожидкостном течении	Прикладная механика и техническая физика. – 2020. – Т. 61. – №. 3. – С. 19-33.	Статья, 2020
10	Бобылев А. В., Харламов С. М., Гузанов В. В., Квон А. З., Маркович Д. М.	Волновая структура пленок жидкости при переходе к турбулентному режиму течения	Письма в Журнал технической физики. – 2019. – Т. 45. – №. 15. – С. 10-13.	Статья, 2019
11	Isaenkov S. V., Cherdantsev A. V., Vozhakov I. S., Cherdantsev M. V., Arkhipov D. G., Markovich D. M.	Study of primary instability of thick liquid films under strong gas shear	International Journal of Multiphase Flow. – 2019. – Т. 111. – С. 62-81.	Статья, 2019

12	Alekseenko S. V., Abdurakipov S. S., Hrebtov M. Y., Tokarev M. P., Dulin V. M., Markovich D. M.	Coherent structures in the near-field of swirling turbulent jets: A tomographic PIV study	International Journal of Heat and Fluid Flow. – 2018. – Т. 70. – С. 363-379.	Статья, 2018
13	Nebuchinov A. S., Lozhkin Y. A., Bilsky A. V., Markovich D. M.	Combination of PIV and PLIF methods to study convective heat transfer in an impinging jet	Experimental Thermal and Fluid Science. – 2017. – Т. 80. – С. 139-146.	Статья, 2017
14	Квон А. З., Бобылев А. В., Гузанов В. В., Харламов С. М., Маркович Д. М.	Структура течения в трехмерных волнах на вертикально стекающей пленке жидкости	Письма в Журнал технической физики. – 2017. – Т. 43. – №. 18. – С. 3-10.	Статья, 2017

Ученый секретарь ИТ СО РАН
к. ф.-м. н.



Макаров М. С.

11.10.2021 г.

