

ОТЗЫВ

официального оппонента д.ф.-м.н., профессора Есипова Игоря Борисовича о диссертационной работе Крохмаль Алисы Александровны на тему «Позиционирование объектов с помощью акустической радиационной силы в задачах биофабрикации», представленной на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.7. Акустика

Исследования, связанные с практическим применением радиационной силы волновых процессов, получили новый импульс после присуждения в 2018 г. Артуру Эшкину нобелевской премии по физике "за новаторские изобретения в области лазерной физики", в частности "за оптические пинцеты и их применение в биологических системах". Настоящая диссертация, ставящая своей целью разработку экспериментальных подходов и инструментов для манипулирования объектами с помощью акустической радиационной силы для целей биофабрикации, является примером творческого развития этого направления в отношении применения радиационной силы ультразвукового поля. Несомненными преимуществами ультразвука в манипулировании частицами является, прежде всего, его безопасность для живых клеток при достаточно умеренных амплитудах. Логичным шагом является использование акустической радиационной силы в задачах конструкции единого и жизнеспособного конгломерата биологической ткани из разрозненных биологических элементов, клеток или, как в данном случае, клеточных сфероидов. Такой подход автор диссертации называет «тканевой инженерией» или «биофабрикацией». Существующие методы, как правило, имеют ограничения, связанные с контактом подложки и клеток, тогда как акустическое воздействие на частицы является бесконтактным и происходит непосредственно в питательном растворе. Таким образом, становится очевидной актуальность данной диссертационной работы, в которой автор приводит результаты своего исследования методик позиционирования частиц с помощью акустической радиационной силы и комбинации акустической и магнитной сил для создания тканевых конгломератов заданной формы, прежде всего цилиндрических трубочек. Искусственно созданная тканевая трубочка из живых клеток может служить эффективной моделью реального сосуда для широкого ряда медицинских приложений.

Результаты работы автора изложены в диссертации, состоящей из введения, четырех глав, заключения и библиографии. Диссертация содержит 121 страницу, включая 36 рисунков, 1 таблицу. Библиография включает 122 наименования.

Во **введении** обсуждается актуальность темы исследования, современное состояние методов позиционирования с помощью акустической радиационной силы в биомедицинских приложениях, обосновывается необходимость решения

проблем, связанных с их развитием, излагаются цели и задачи диссертации, научная новизна, практическая значимость работы, методология исследования, положения, выносимые на защиту, обосновывается достоверность результатов, представляются данные об апробации работы и о публикациях.

Первая глава посвящена вопросам воздействия акустической радиационной силы на тканевые сфероиды и керамические гранулы. Эти частицы имеют малый волновой размер, поэтому допустимо использовать известное приближение для расчета акустической радиационной силы, возникающей при помещении частиц в стоячее или бегущее акустическое поле. Рассмотрены случаи плоского и цилиндрического поля, приведены аналитические выражения для случая, когда частицы будут собираться в узлах либо пучностях стоячего поля, а также приведено описание оригинальной программы для численного моделирования акустического поля пьезоэлектрического преобразователя и соответствующей ему радиационной силы. Приведенные результаты экспериментов подтверждают аналитические расчеты и демонстрируют возможность сборки частиц с помощью акустической радиационной силы в диски в плоском поле и в трубки - в цилиндрическом.

Если в первой главе рассматривались частицы малого волнового размера, то во **второй главе** основное внимание уделяется крупным рассеивателям. Здесь представлен разработанный автором вычислительный сервис, позволяющий рассчитать величину радиационной силы, действующую на сферический рассеиватель по известной голограмме акустического поля. Был выполнен расчет конфигурации акустического поля, позволяющей удерживать крупный рассеиватель в поперечном направлении. Это было подтверждено экспериментально. В поле кольцевой фазированной излучающей решетки было осуществлено удержание сферического рассеивателя, размер которого существенно превышал длину волны.

В **третьей главе** обсуждаются механизм и условия магнитной левитации тканевых сфероидов в поле постоянного магнита. Исследован экспериментально и численно промоделирован процесс их сборки в единый конгломерат. Проанализированы эксперименты по биофабрикации в магнитном поле в земных условиях и в условиях невесомости на станции МКС. Выполненное численное моделирование оказалось способным описать динамику частиц, а соответствующий анализ позволяет определить влияние концентрации парамагнетика и вязкости среды на скорость сборки сфероидов.

Четвертая глава посвящена разработке метода по созданию тканевых конгломератов заданной формы с помощью комбинации акустического и магнитного полей. Основным недостатком существующих методов сборки тканевых конгломератов считается необходимость использовать каркасы, поддерживающие структуру такой сборки. Рассматривается два способа сборки трубчатой

структуры: с помощью постоянных магнитов и электромагнита Биттера. Левитация сфероидов в поле более мощного электромагнита достигалась при более низких концентрациях вводимого в среду парамагнетика, обеспечивающего левитацию. Это положительно сказалось на выживаемости клеток в ходе эксперимента. Также поле большого, мощного электромагнита было более однородное в поперечном направлении, что позволило сконструировать достаточно ровную трубку из сфероидов постоянного диаметра. Частота излучаемой пьезоэлектрическим преобразователем ультразвуковой волны однозначно определяет диаметр конгломерата из сфероидов, а переключение частоты влекло за собой перестройку частиц в конгломерат другого размера – этим демонстрировалась управляемость размерами сборки в ходе эксперимента. В результате собранная таким образом трубка из гладкомышечных клеток не только оказалась жизнеспособной, но и сохранила свою функциональность, и сжалась в ответ на воздействие раздражителя-вазоконстриктора. Таким образом, это показало эффективность и практическую применимость исследованного в диссертации метода сборки тканевых конгломератов трубчатой формы.

В **заключении** приведены основные результаты диссертации и выводы. Полученные результаты имеют существенную практическую значимость в биомедицинских приложениях. Разработанные методики являются оригинальными и реализованы автором впервые.

Достоинством диссертации является то, что в ней систематизированы известные и оригинальные результаты, позволяющие реализовать управляемую сборку тканевых конгломератов заданной формы с помощью акустической радиационной силы. Здесь гармонично использовались различные методы исследования: аналитический анализ и численное моделирование позволили спланировать успешное проведение оригинальных экспериментов по акустическому манипулированию частицами, том числе на уникальной установке – мощный электромагнит Биттера в университете Неймегена (Нидерланды). Здесь автором впервые в мире была осуществлена полностью бесконтактная магнито-акустическая сборка тканевых сфероидов в живой тканевый конгломерат в форме трубки. Также впервые были предложены методы акустической сборки частиц с помощью цилиндрического стоячего ультразвукового поля на подложке из агарозы. Все это говорит о **новизне** полученных результатов.

Еще одним достоинством работы является нацеленность на практическую применимость разрабатываемых методов. В ходе экспериментов производился анализ собранных биологических конгломератов, оценивалась жизнеспособность и функциональность клеток после акустического и магнитного воздействия, использовалась низкая интенсивность ультразвукового поля для того, чтобы обеспечить максимальную выживаемость клеток в процессе биофабрикации. Такой подход позволяет создавать тканевые конгломераты, которые воз-

можно применять в биомедицинских приложениях. Эти результаты свидетельствуют об **актуальности** выполненных исследований.

Сочетание теоретического анализа и результатов компьютерного моделирования, выполненных на основе развитых автором методов, определяет **достоверность** выводов работы. Выводы, сделанные автором, согласуются с общими научными принципами, а методы исследования являются апробированными и современными.

При этом необходимо отметить, что диссертационная работа не лишена недостатков.

Автор обоснованно рассматривает во введении конкуренцию двух нелинейных акустических процессов одного порядка, оказывающих воздействие на частицы в жидкости: акустическое давление и акустическое течение. Однако, при обсуждении результатов выполненных автором экспериментов роль акустического течения не обсуждается. Представляется, что обсуждение возможного вклада акустического течения в полученные результаты позволило бы точнее определить границы применимости развитых в диссертации методов.

Далее, в названии диссертации и в ее содержании широко используется термин «биофабрикация». Специалисты под биофабрикацией понимают отрасль биотехнологии, специализирующейся на исследованиях и разработке процессов для производства биологически функциональных продуктов. Ясно, что технологии и производство неотделимы от стандартов, которые должны при этом выполняться. Качество сборки в диссертации ограничивается оценкой жизнеспособности клеток после акустического и магнитного воздействия. При этом толщина стенок собранных конгломератов трубчатой формы может отличаться в 2-3 раза, что делает не очевидным заключение о биологической функциональности такого продукта. Приведенные в диссертации результаты можно считать первым шагом в создании технологии биофабрикации стандартных тканевых конгломератов заданной формы.

Отмеченные недостатки не снижают общей оценки проведенных А.А. Крохмаль исследований. Автор представил в диссертации обширный материал, обосновывающий возможность управляемой сборки тканевых конгломератов заданной формы с помощью акустической радиационной силы. Развитые в диссертации методы и численные алгоритмы расчета являются оригинальными, а полученные в ходе исследований результаты имеют как научное, так и практическое значение. Основные результаты, лежащие в основе диссертации, опубликованы в рецензируемых научных журналах и докладывались на Российских и международных научных конференциях.

Автореферат соответствует тексту диссертационной работы.

Оценивая работу в целом, можно заключить, что представленная диссертация «Позиционирование объектов с помощью акустической радиационной

силы в задачах биофабрикации» представляет собой законченное научное исследование. Диссертация соответствует специальности 1.3.7. Акустика и требованиям «Положения о присуждении учёных степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор — Крохмаль Алиса Александровна — заслуживает присуждения искомой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.7. Акустика.

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук, профессор,
профессор кафедры физики факультета разработки нефтяных и газовых месторождений Российского государственного университета нефти и газа (национального исследовательского университета) имени И.М. Губкина

Есипов Игорь Борисович
05.12.2022

119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 65, к. 1
Телефон: +7 (499) 507-86-81
e-mail: kafedra_physics@mail.ru

Подпись профессора И.Б. Есипова заверяю: