

ОТЗЫВ

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

В настоящее время активно развивается использование ультразвуковых технологий в различных биомедицинских приложениях. В частности, оказалось, что акустическая волна является эффективным инструментом для перемещения и удержания микроскопических объектов, таких как клетки или конгломераты клеток. Использование акустической радиационной силы уже нашло применение в таких задачах, как сортировка клеток разных типов в циркулирующей жидкости для определения биомаркеров онкологии, а также в области тканевой инженерии. Например, с помощью стоячей ультразвуковой волны оказалось возможным структурирование клеток и сборка функционирующих органоидов простейших форм. Такие жизнеспособные тканевые конгломераты оказываются полезным инструментом для тестирования новых медикаментов, а также могут использоваться в регенеративной медицине для восстановления функции различных органов.

Акустическое манипулирование является перспективным способом создания жизнеспособных структур из клеток ввиду безопасности низкоинтенсивного ультразвука для живых тканей и возможности бесконтактного удержания частиц. Дополнительным достоинством ультразвука является то, что с помощью сложной структуры поля можно собирать структуры желаемой формы и размера. Одной из наиболее часто встречающихся геометрий в организме является трубка. Так, тубулярную форму имеют кровеносные сосуды, различные протоки. Поэтому важной задачей тканевой инженерии является создание полых протяженных органоидов.

Большинство существующих методов имеет существенные ограничения, связанные с использованием каркасов для придания формы тканеинженерной конструкции. Такие подходы препятствуют питанию клеток, а также могут вызывать нежелательные реакции при контакте с клетками. Структурирование с помощью ультразвукового поля оказывается более выгодным, так как позволяет собирать тканевые сфероиды бесконтактно и непосредственно в питательном растворе. Таким образом, очевидной становится актуальность диссертационной работы Крохмаль А.А., в которой автор развивает методы биофабрикации с помощью комбинированных воздействий на основе акустической радиационной силы и показывает возможность создания жизнеспособных и функциональных тканевых конгломератов тубулярной формы.

Автор представил результаты исследования диссертации, состоящей из введения, четырех глав, заключения и библиографии. Диссертация содержит 121 страницу, включая 36 рисунков, 1 таблицу и 122 библиографические ссылки.

Во **введении** обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, представлены положения, выносимые на защиту, обоснована научная новизна и практическая ценность полученных результатов. Приводится также подробный литературный обзор существующих подходов по использованию акустических технологий для позиционирования биологических объектов.

Первая глава посвящена вопросам воздействия акустической радиационной силы на биологические частицы малых размеров в приближении Горькова. Рассматривались вопросы направленности действия акустической радиационной силы в плоском и цилиндрическом стоячем ультразвуковом поле, показаны условия для удержания частиц в узлах или пучностях. Показаны возможности численного моделирования методом конечных элементов для более точного расчета акустической радиационной силы в поле цилиндрического пьезоэлектрического преобразователя. Также были проведены эксперименты, демонстрирующие как возможность левитирования частиц в плоском акустическом поле, так и удержание частиц в узлах стоячего поля, создаваемого полым цилиндрическим преобразователем. Продемонстрирована методика по созданию полых трубки из тканевых сфероидов в вертикально ориентированном цилиндрическом поле с помощью специальной подложки из агарозы.

Во **второй главе** автор решает вопросы расчета акустической радиационной силы, действующей со стороны произвольного пучка на сферическую частицу большого волнового размера, когда к ней не применимо приближение Горькова. Используемый метод углового спектра и решение полной задачи рассеяния плоских компонент падающей волны для расчета акустической радиационной силы был реализован в качестве программного комплекса с графическим интерфейсом и выложен в открытый доступ. Такой вычислительный сервис удобен для пользователя и не имеет аналогов среди существующих ПО и вычислительных пакетов. С помощью данного комплекса была предварительно рассчитана и экспериментально продемонстрирована возможность удержания крупного рассеивателя диаметра 3 мм в поле многоэлементного кольцевого преобразователя, излучающего на частоте 2 МГц.

В **третьей главе** были рассмотрены вопросы биофабрикации в поле сборки из кольцевых постоянных магнитов. Методы магнитной биофабрикации важны для последующей главы, в которой акустическое и магнитное поле используются совместно. Рассмотрен феномен магнитной левитации, который возникает за счет действия пондеромоторной силы в магнитном поле особой конфигурации. Описаны проведенные автором эксперименты по сборке керамических гранул и тканевых сфероидов в единый конгломерат, когда раствор с частицами помещался в поле сборки из кольцевых постоянных магнитов с областью магнитной левитации, а в раствор добавлялись соли парамагнетика гадолиния для усиления пондеромоторной силы. Исследована зависимость скорости сборки частиц от концентрации парамагнетика, которая соответствует результатам численного моделирования.

Четвертая глава посвящена вопросам создания трубчатых структур из тканевых сфероидов в условиях комбинированных внешних акустических и магнитных воздействий. В качестве источника акустического поля использовался полный цилиндрический преобразователь, а в качестве источника магнитного поля сначала использовалась сборка из постоянных магнитов, затем – мощный электромагнит Биттера. Магниты обеспечивали левитацию тканевых сфероидов, а акустическая волна формировала из них трубку. Такой комбинированный метод сборки на основе акустической и магнитной левитации имел преимущество перед другими способами биофабрикации в том, что все клетки находились непосредственно в питательном растворе и не были подвержены контакту с подложками и подпорками, которые ограничивают поступление питательных веществ. В ходе исследования выявлена зависимость диаметра собираемой трубки от частоты ультразвуковой волны, показана возможность регулирования размера конгломерата с помощью изменения частоты. Произведена оценка жизнеспособности и функциональности трубки диаметра 1.5 мм, слитой из отдельных сфероидов в единую ткань с помощью комбинированного воздействия акустического и магнитного поля. Результаты показали хорошую выживаемость гладкомышечных клеток, а также сохранение функции – возможности к сжатию в ответ на раздражитель. Это делает созданный тканевый конгломерат полноценным органоидом, способным выполнять функции живой ткани.

В **заключении** приведены основные результаты диссертации, список работ автора по материалам диссертации и список цитируемой литературы. В результате выполненных исследований автором был сделан ряд ценных выводов, которые легли в основу выдвигаемых научных положений. В ходе выполнения работы задачи были успешно решены, а цель работы достигнута.

Полученные в работе результаты представляют ценность для практических задач тканевой инженерии, так как определяют практические подходы по созданию жизнеспособных и функциональных тканевых органоидов заданной формы и размера. Основные научные результаты диссертации и выводы, сделанные на их основе, являются новыми, а разработанные методики – оригинальными.

Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, что подтверждается публикациями в высокорейтинговых журналах и докладами на профильных конференциях. Также хотелось бы отметить основные **достоинства работы Крохмаль А.А.**:

Прежде всего, это мультидисциплинарность исследования, в основе которого лежит акустика, дополненная магнетизмом, биоинженерией, физикой полимеров, математическим моделированием как на основе коммерческих пакетов, так и с использованием программы собственной разработки.

Автором выполнен большой объем экспериментальных исследований на самостоятельно разработанных установках в различных организациях, в том числе, на МКС. Проведенные исследования демонстрируют эффективность представленных методик по биофабрикации тканевых конгломератов с использованием комби-

нированного воздействия акустической и магнитной левитации частиц, их структурирование в стоячем поле, возможность манипулирования формой и размером, а также удержание достаточно крупных объектов с помощью многоэлементного излучателя. Все это расширяет представления о практических приложениях акустической радиационной силы в задачах медицины и тканевой инженерии.

Еще одним достоинством работы является разработанная автором программа по расчету акустической радиационной силы. Программа наглядна и проста в использовании, имеет открытую лицензию, удобна для применения, что было продемонстрировано в работе, а ее точности достаточно для практического использования.

Результаты диссертации обладают **новизной**. Автором впервые был реализован программный комплекс с графическим интерфейсом, позволяющий методом углового спектра рассчитать акустическую радиационную силу, действующую на сферический рассеиватель со стороны произвольного пучка по его голограмме. Также впервые экспериментально была реализована биофабрикация тканевой трубки из гладкомышечных клеток посредством магнитно-акустического воздействия.

Полученные в диссертации результаты являются **достоверными**, а выводы обоснованными, что обеспечивается комплексным использованием современных теоретических и экспериментальных методов исследования, использованием апробированных методов математического моделирования, а также согласием экспериментальных данных с результатами теоретических и численных расчетов.

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

1. В работе представлено много новых оригинальных экспериментов, получены новые зависимости, детально рассмотрена динамика различных объектов при комбинированном воздействии акустического и магнитного поля, однако, в основные результаты вынесено всего три пункта.
2. На рис. 3.3а, он же рис. 6а автореферата представлена неверная схема из двух кольцевых магнитов, разделённых немагнитной вставкой. На этом же рисунке, только литера б, цветовой индикацией показано значение индукции, а не индуктивности, магнитного поля.
3. Для описания магнитного воздействия на немагнитные объекты в магнитной среде в неоднородном магнитном поле автор в 3 главе диссертации использует понятие магнитнофоретической силы, более верным для описания подобной системы было бы введение пондеромоторной силы.
4. В 3 и 4 главах работы не освещен вопрос по повторяемости экспериментов по биофабрикации и сборки объектов при комбинированных воздействиях.

Данные замечания не снижают общей высокой оценки работы, которая, как уже было отмечено, является мультидисциплинарной, автор является специали-

стом в акустике, при этом рассматриваются и магнитные воздействия. Этим, конечно, объясняется большинство неточностей и опечаток.

Аннотация соответствует тексту диссертационной работы.

Считаю, что диссертация «Позиционирование объектов с помощью акустической радиационной силы в задачах биофабрикации» 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, доцент,
декан естественно-научного факультета
Юго-Западного государственного университета

Ряполов Пётр Алексеевич

«6» декабря 2022 года

305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, д. 94.

Телефон: +7 (4712) 22-25-53, e-mail: ryapolovpa@swsu.ru

Подпись профессора П.А. Ряполова заверяю: