



УТВЕРЖДАЮ:

директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Федеральный исследовательский центр  
«Институт общей физики им. А.М. Прохорова  
Российской академии наук» (ИОФ РАН)  
член-корреспондент РАН,  
доктор физико-математических наук  
Гарнов Сергей Владимирович  
«30» октября 2023 г.

**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**  
**на диссертацию Трифановой Екатерины Максимовны**  
**«Спектральное преобразование лазерного излучения биосовместимыми**  
**матричными структурами» на соискание ученой степени кандидата наук**  
**по специальности**  
**2.2.2. – «Электронная компонентная база микро- и нанoeлектроники,**  
**квантовых устройств»**

Диссертационная работа Е.М. Трифановой была доложена на семинаре Центра биофотоники Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН).

Диссертационная работа Е.М. Трифановой посвящена исследованию процессов спектрального преобразования лазерного излучения нанoфосфорами, в том числе при взаимодействии их с полимерами и живыми системами. В работе получен ряд нанoфосфоров разного химического состава, как оболочечных, так и безоболочечных. Исследованы их размеры, морфология и оптические характеристики. Разработаны методы изготовления с помощью электроспиннинга, антисольвентной и экструзионной 3D-печати полимерных матриц, в том числе содержащих в своем составе разные концентрации нанoфосфоров. Исследованы оптические свойства таких матриц. Предпринята попытка исследовать влияние полученных композитных материалов на живые системы *in vitro* и *in vivo*.

Последнее десятилетие наблюдается бурное развитие биофотоники. Биофотоника является научным направлением, созданным на стыке физики и наук о живом. Биофотоника в том числе исследует возможности использования света для решения задач медицинской диагностики. Для этого необходимо создать принципиально новые биосовместимые фотоактивные материалы для эффективного преобразования оптического излучения из одного диапазона длин волн в другой. Научиться включать такие материалы в основы для будущих матриц на основе которых будут выращиваться органы. Исследовать

свойства таких материалов при разных сценариях взаимодействия с биомолекулами. Для регенерационной медицины необходимо также с помощью фотоактивных материалов оценивать резорбцию матриц и их укрывную способность. Данная диссертационная работа направлена на развитие метода изготовления композитных материалов с апконвертирующими биосовместимыми наночастицами-маркерами для медицины будущего. Данная задача является актуальной не только для физики и квантовой электроники, но и для медицины, ветеринарии и других смежных областей.

Представленная к защите диссертационная работа Е.М. Трифановой оформлена аккуратно, но имеет не традиционную структуру. Каждая глава диссертации содержит короткую секцию введение, материалы и методы, результаты и выводы. Список цитируемой литературы для всей диссертации единый, содержит 196 источников литературы. Из них 2023 года – 5 источников, 2022 года – 9 источников, 2021 г. – 10 источников, 2020 года – 19 источников. Доля источников за последние 3 года порядка 20%, что является довольно важным.

Во введении Е.М. Трифанова обосновала актуальность данного исследования, сформулировала цель и, логично вытекающие из цели, основные задачи. Новизна исследования не вызывает сомнений, поскольку впервые: Изучены оптические характеристики нанофосфоров с химическим составом  $\beta$ - $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$  в полярных и неполярных растворителях. Исследована зависимость оптических свойств нанофосфоров в зависимости от диаметра, химического состава, оболочек. Разработаны методы получения матриц на основе коллагена, гиалуроновой кислоты и алифатических полиэфиров содержащих и не содержащих нанофосфоры. Исследованы спектры фотолюминесценции разработанных матриц на основе коллагена, гиалуроновой кислоты и алифатических полиэфиров, содержащих нанофосфоры. Разработан метод обработки матрикса из коллагена, препятствующий его растворению в водных растворах. Предпринята попытка визуализации матриц в живых объектах.

Литературный обзор изложен на десятке страниц в разных главах. В самых общих чертах проведен обзор типов люминесцентных наномаркеров, к которым диссертант причисляет и наночастицы золота. Чуть более подробно охарактеризованы типы апконвертирующих нанофосфоров и т.д. Как написал А.П. Чехов: "Краткость - сестра таланта", однако в данном случае есть потенциальная возможность говорить о "братоубийстве". Резюмируя выше сказанное, к такой мультидисциплинарной диссертации не помешал бы более тщательный и детальный литературный обзор, наглядно демонстрирующий необходимость решения задач, поставленных в диссертации.

Выбранные в работе, объекты и методики соответствует современному уровню научных физических исследований и адекватны поставленным задачам. Полученные автором экспериментальные результаты и прочий иллюстративный материал представлен на 52 рисунках и 7 таблицах. Достоверность полученных результатов не вызывает сильных сомнений, хотя статистический анализ проводился не всегда. Основные научные положения диссертации и выводы

обоснованы и логично вытекают из полученных результатов. Существенных замечаний по цели диссертации, задачам, выводам, положениям, выносимым на защиту, нет. В качестве общих замечаний и комментариев дискуссионного характера можно отметить следующее:

А. Диссертация состоит из нескольких глав, местами напоминающих коллаж из статей. Главы не связаны литературным обзором, каждая глава является законченным исследованием со своими задачами и выводами. При необходимости, на защите нужно, попросить диссертанта более подробно пояснить взаимосвязь глав диссертации друг с другом.

Б. В рукописи по ходу изложения нанофосфоры изменяют свой состав. В главе 2 состав нанофосфоров  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}$ , в главе 3,5 состав  $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/(\text{NaYF}_4)$ , в главе 4 состав  $\alpha\text{-NaYbF}_4:\text{Er}_{0.02}\text{Ce}_{0.02}\text{Zn}_{0.1}$ . Как возможно сравнивать результаты из разных глав, если ключевой объект во всех главах отличается, при чем иногда довольно существенно?

Частные комментарии:

1. Название диссертации содержит словосочетание "матричными структурами". Обычно, под матрицей понимают непрерывную пространственную фазу, ответственную за сохранение пространственной конфигурации материала или изделия. Очевидно, что материалы, полученные диссертантом, таких свойств не имеют. В связи с этим на защите диссертации нужно обсудить, что конкретно подразумевает диссертант под словосочетанием "матричные структуры".

2. Диссертант справедливо считает, что "на сегодняшний день однозначных количественных данных об изменениях фотолюминесцентных свойств НАФ как при их внедрении в биосовместимые матричные структуры" не достаточно. Это по мнению диссертанта связано, с тем, что "для дальнейшего развития современной биомедицины, в частности таких ее направлений, как терапевтическое воздействие лазерного излучения на различные биоткани и оптическая диагностика происходящих в них процессов в реальном масштабе времени". Полимерные импланты используют в медицине довольно широко, при этом нам не известны реальные случаи применения лазерного воздействия на полимерные импланты внутри организма. На защите диссертации нужно узнать мнение диссертанта о возможных схемах и случаях применения полимерных имплантов с нанофосфорами. На наш взгляд это больше относится к медицине будущего, когда технология выращивания искусственных органов будет разработана.

3. Работы по исследованию интенсивности фотолюминесценции нанофосфоров проводили в неполярном гексане и в полярном 1,1,1,3,3,3-гексафторизопропанол. Казалось бы, оба растворителя очень далеки от применения в биологических системах, для которых и старается получить новые материалы и технологии диссертант. Почему в качестве не полярного растворителя не использовали любые простые углеводорода, а в качестве полярного растворителя вода? Почему не использовали триэтиленгликоль, который появляется в работе в следующих главах? Интенсивность

фотолюминесценции в принципе зависит от растворителя. Как думает диссертант, водные коллоиды улучшат или ухудшат интенсивности фотолюминесценции нанофосфоров?

4. Выводы к главе 2. Вывод 1. "Путем изменения структуры и размеров можно подобрать апконвертирующие наночастицы под конкретные задачи". Выводы к главе 4. Вывод 1. "Различные задачи визуализации требуют индивидуального решения". Вывод 2. "При увеличении толщины слоя воды происходит сильное поглощение излучения на длине волны 1530 нм. Поэтому визуализацию можно проводить через среду с высоким содержанием воды на длине волны менее 1200 нм [123]." Последний из выводов даже подтвержден ссылкой за прошлый век. В чем нетривиальность данных утверждений?

5. Подход к реализации одной из подзадач диссертационного исследования в Главе 3 (Фантомы биологических тканей) вызывает недоумение. Молоко действительно является рассеивателем света, однако, как рассеиватель имеет мало общего с тканями млекопитающих. Напомню, что в молоке содержится два типа рассеивателей - это агрегаты белка казеин с размером около 100-200 нм и капли жира со средним размером порядка 0,5-1,0 мкм. Какие структуры клеток млекопитающих имитируют объекты такого размера? Какой ткани и какой толщине этой ткани соответствует, например, слой 5% молока толщиной 1 мм?

6. Имитацию какого реального биологического объекта представляет коллоид меланина с концентрацией 1 мг/мл? Вопрос связан с тем, что даже у альбиносов концентрация меланина в волосах более 1,5 мг/г, а там она обычно выше, чем в коже. (Ito, Wakamatsu // Pigment Cell Res., 2003 16, 523).

7. В рукописи не всегда понятно с какими концентрация нанофосфоров работает автор диссертационного исследования. Иногда концентрации в явном виде не указаны иногда указаны в виде %, масс.%, мол.% и моль%. Что подразумевается под единицами измерения концентрации моль% или мол.% не совсем понятно. Также не понятно, как единицы измерения моль и молекула можно применять к наночастицам.

8. При механических испытаниях материалов использовались прямоугольные образцы размером  $5 \times 20$  мм<sup>2</sup> (видимо имеется в виду мера расстояния – мм), при этом толщина образцов и процент наполненности в диссертации не приводятся. Наверное, автор должна привести данную информацию на защите диссертации.

9. "Спектры пропускания полученных пленок измеряли на спектрофотометре Cary 50 (Varian, США)". Конфигурация оптической схемы прибора не позволяет для образцов пленок разделить рассеяние от поглощения.

10. Оценку тканевой реакции на матриксы проводили с помощью подкожной имплантации. В качестве объекта использовались мыши линии BALB/c массой 40 г, самки. Вес в 40 г мыши набирают к 15-20 неделе жизни, это уже не слишком молодые мыши. Почему использовались мыши такого возраста?

11. Рисунок 5.5. Вычисленный модуль Юнга численно меньше или равен пределу прочности материала. Модуль Юнга является угловым коэффициентом в диаграмме растяжения материала, связывает относительные деформации с напряжениями и вычисляется в упругой стадии. Простыми словами модуль Юнга численно в порядки, реже в разы больше, чем предел прочности материала. Как диссертант может объяснить полученные им результаты?

12. У резины есть вполне монотонная связь между максимальным растяжением и количеством сшивок между цепями. Чем больше сшивок, тем меньше максимальное растяжение. Из рис. 5.5 следует, что максимальное растяжение не зависит от количества сшивок между цепями? Или что количество сшивок не зависит от концентрации диглицидилового эфира 1,4-бутанодиола?

13. Диссертант пишет: "Оптимизированный процесс химической стабилизации позволил увеличить механическую прочность коллагеновых матриц". Исходя из графиков 5.5 и 5.6 предел прочности не меняется. Более того, в данных экспериментах нет контроля (полимера, не контактировавшего с диглицидиловым эфиром 1,4-бутанодиола). Почему диссертант не представляет данные для контрольного материала?

14. Во время испытаний материалов с помощью культуры клеток кожи (фибробластов) *in vitro*, совершенно не понятно, какой образец является контролем? Из графиков видно, что все материалы влияют на жизнеспособность клеток одинаково. Что служит контролем? Отображение на оси ординат рис. 5.18 параметра IC50 не имеет смысла, так как данный параметр имеет размерность концентрации, дозы, силы воздействия, но не жизнеспособности... На графике написано, что клетки инкубировали в экстракте, тогда возникает вопрос. Какой процент клеток контактировал с исследуемыми материалами и как долго?

15. Диссертант пишет: "Яркое окрашивание Calcein AM подтвердило высокую жизнеспособность клеток." К сожалению, яркость не является величиной, по которой можно оценить жизнеспособность. Вероятно, диссертант имел в виду что-то другое? Диссертант пишет: "..характер колонизации различался в зависимости от материала, использованного для создания матриц". Характер колонизации оценивается с помощью следующих характеристик: размер клеток, степени их расплывания и занятой поверхности. Приведенные флуоресцентные изображения не позволяют делать однозначные выводы о характере колонизации.

16. Нужно отметить, что в диссертации попадались интересные фразы. Например: "хорошо разработан" (стр.15), "фотосенсибилизатор рибофлавин" - рибофлавин – это витамин B<sub>2</sub>, неотъемлемый компонент биохимических цепочек млекопитающих (стр. 20), давлении 15 Мпа (стр. 64), "воспалительными клетками" (стр. 96).

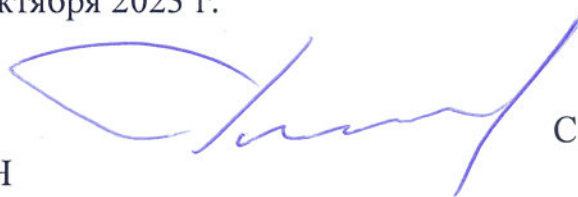
Следует отметить, что данные замечания имеют дискуссионный характер и не влияют на ценность работы.

В целом диссертационная работа Е.М. Трифановой характеризуется современным методическим уровнем, иногда используют гораздо более наукоемкие и трудозатратные методы, чем следует. Полученные ей результаты отличаются новизной и имеют важное практическое значение. Выводы диссертации вполне обоснованы. Материалы диссертации отражены в публикациях, апробированы на научных конференциях и симпозиумах различного уровня. Список публикации состоит из 21 работы, из которых 8 статей опубликованных в изданиях рекомендованных ВАК РФ и 13 тезисов докладов. Представленный автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы.

Диссертационная работа Е.М. Трифановой по актуальности темы, объему выполненной работы, новизне, уровню разработанных положений, надежности результатов и выводов соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 2.2.2. – «Электронная компонентная база микро- и нанoeлектроники, квантовых устройств»

Отзыв заслушан и одобрен на заседании научного семинара Центра биофотоники ИОФ РАН от «26» октября 2023 г.

Руководитель  
Центра биофотоники ИОФ РАН  
доктор биологических наук  
(спец. 1.5.2 – биофизика)  
профессор (спец. 1.5.2 – биофизика)  
проф. РАН



С.В. Гудков