

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ЦФ РАН
академик РАН М.В. Алфимов



23 мая 2013 года

О Т З Ы В

ведущей организации - Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Центр фотохимии Российской академии наук (ЦФ РАН) на диссертационную работу

Амитоновой Любови Владимировны

«Световодные системы для нейрофотоники»,

представленную на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук по специальности

01.04.21 – «Лазерная физика»

Актуальность работы и практическая значимость. В настоящее время актуальные и перспективные направления исследований совмещают методики из различных областей науки и знаний. Яркими примерами таких направлений являются исследования, проводимые оптическими методами по бесконтактной диагностике онкологических заболеваний кожи и исследования функциональной работы мозга животных в процессе их активной жизнедеятельности (in-vivo). Такие исследования основаны на регистрации оптических, нелинейно-оптических и люминесцентных характеристик клеток живых организмов и вводимых в организм биологических маркеров. Очевидно, что традиционные оптические волокна и получившие в последнее время широкое распространение микро-структурированные волокна играют важную роль в таких исследованиях, как удобные устройства для прямой и обратной транспортировки оптических сигналов в биологические клетки и маркеры. Использование обычных оптических волокон позволяет проводить такие исследования с высоким пространственным разрешением. Однако, обычные волокна далеко не всегда обладают требуемыми характеристиками для транспортировки импульсного излучения, без которого невозможно использование нелинейно-оптических методик и методики регистрации двух- фотонно- возбуждаемой люминесценции. А именно эти методики, как показали исследования последних лет, позволяют решать многие важные задачи оптической диагностики в медицине и биологии. Микроструктурированные волокна могут не только являться эффективными устройствами для передачи ультракоротких

оптических импульсов, но и осуществлять спектральную фильтрацию сигналов возбуждения и оптического отклика, увеличивая чувствительность системы регистрации. Эти важные свойства микроструктурированных волокон можно рассчитывать и прогнозировать конструируя правильным образом их архитектуру, дисперсию материала и структуру фотонно-запрещенных зон. Автор диссертации сумел выделить проблемную область и уделил основное внимание в своей работе исследованию световодных систем для нейрофотоники, и применил результаты исследований к конкретным актуальным биологическим задачам.

Актуальность диссертационной работы Амионовой Л.В., посвященной исследованию линейных и нелинейных оптических явлений в контексте задач оптической визуализации в биологии и разработке световодных систем для оптического зондирования тканей мозга живых бодрствующих животных, не вызывает сомнения.

Постановка задач в диссертации, изложение результатов проделанной работы и выводы написаны очень логично, добросовестно и подробно, что делает работу легко и интересно читаемой. Экспериментальные исследования, представленные в диссертационной работе, отличаются большим набором самых современных методик. В диссертации приводится подробное изложение используемых методик и экспериментов, описание экспериментального оборудования и измеряемых параметров и характеристик исследуемых образцов. Научные выводы, приводимые в диссертации, являются логичными, обоснованными и убедительными. Достоверность результатов, приведенных в диссертации Амионовой Л.В., не вызывает сомнения.

Основные научные результаты. Автор выносит на защиту пять основных результатов и положений:

1. На основе созданной световодной платформы, состоящей из МС-световодов для генерации широкополосного излучения (суперконтинуума) и полых МС-световодов для спектральной фильтрации засветки, обеспечивается комплексная многочастотная оптическая регистрация активности нейронов головного мозга с использованием нелинейно-оптических взаимодействий и флуоресценции маркерных белков.
2. Микроструктурированные световоды с малым (несколько микрон) размером сердцевинки обеспечивают существенное увеличение локальности волоконно-оптического зондирования, обеспечивая возможность регистрации оптического отклика отдельных нейронов головного мозга. Использование микроструктурированных световодов с радиусом сердцевинки 1 мкм и числовой апертурой 0.38 позволяет ограничить область сбора сигнала объемом менее 50 мкм³.

3. Созданный волоконно-оптический нейроинтерфейс позволяет осуществлять регистрацию отклика флуоресцентных маркерных белков в глубоких слоях мозга живых животных при их свободном поведении с минимальной степенью инвазивности в течение длительного времени (до одного месяца), а также проводить одновременные измерения уровня флуоресценции из нескольких пространственно разнесенных областей мозга живого животного.

4. Микросветоводные зондирующие системы, состоящие из пучков оптических волокон, интегрированных с гальваносканирующими зеркалами, обеспечивают одновременную визуализацию пространственного распределения нескольких флуоресцентных маркеров в мозге живого свободноподвижного животного с субклеточным пространственным разрешением, а также позволяют строить изображения микрообъектов на основе регистрации комбинационного рассеяния света в режиме эндоскопии с высоким пространственным разрешением.

5. Антирезонансные волоконно-оптические световоды с полый сердцевинной обеспечивают эффективное подавление фонового сигнала комбинационного рассеяния из волокна, что приводит к эффективному (более чем на порядок) повышению чувствительности волоконно-оптической регистрации спонтанного комбинационного рассеяния по сравнению со стандартными волоконными световодами.

Научная новизна работы в целом и результатов, выносимых автором на защиту не вызывает сомнений. Автором впервые проведены комплексные исследования световодных систем для регистрации активности нейронов головного мозга, а созданный волоконно-оптический нейроинтерфейс позволяет осуществлять регистрацию отклика флуоресцентных маркерных белков в глубоких слоях мозга живых животных при их свободном поведении с минимальной степенью инвазивности в течение длительного времени. Особый интерес, в свете современных технологий, вызывают проведенные автором исследования по оптимизации оптических систем регистрации сигналов головного мозга на основе микроструктурированных волокон и стандартных световодов.

Значимость для науки и современных технологий. Результаты, изложенные в диссертационной работе Амионовой Л.В., существенно расширяют наши знания о возможности и методах регистрации биологических процессов. Продемонстрирована возможность наблюдения в мозге живого свободноподвижного животного пространственного распределения нескольких флуоресцентных маркеров с субклеточным пространственным разрешением, с одновременным построением изображения микрообъектов на основе регистрации комбинационного рассеяния света в режиме эндоскопии с высоким пространственным разрешением. Одновременный контроль двух и

более параметров распределенных биологических объектов с высоким пространственным разрешением режиме (in-vivo), продемонстрированный в диссертационной работе, существенно расширяет возможности биологических исследований и может найти применение в фармакологии и медицине.

Диссертация написана ясным научным и технически грамотным языком. Основные результаты достаточно аргументированы, выводы корректны, достоверность экспериментальных результатов подтверждается многократной повторяемостью, комплексом высокоточных современных методов исследования биологических, физико-химических свойств и оптических свойств биологических структур.

Основные результаты диссертации достаточно полно отражены в опубликованных журнальных статьях, в том числе двенадцати статьях из списка, рекомендованного ВАК РФ для защиты кандидатских диссертаций. Автореферат диссертации полностью отражает материал, представленный в диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Результаты диссертационной работы рекомендуется использовать научно-исследовательскими организациями, занимающимися проблемами физиологии, биологии и медицины биотканей, организмов и нейросистем, а также в организациях и на предприятиях решающих задачи создания новых материалов для систем фотоники и оптоэлектроники и нанотехнологий. Полученный материал может быть использован студентами биологических, биохимических и физических специальностей при изучении курсов «Биофизика» и «Нанофотоника».

Общие замечания работе.

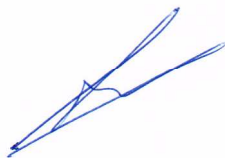
- 1) При оптимизации оптических компонент для задач нейровизуализации в главе 3 не учитывается влияние поглощения биотканей на длинах волн возбуждения и излучения люминесценции биомаркерами, которое может влиять на архитектуру оптимальных оптических компонент для нейрофотоники. Было бы полезным привести в диссертации анализ возможного влияния процессов поглощения.
- 2) В разделе 3.2. «Многокомпонентная визуализация нервных тканей с высоким пространственным и временным разрешением» дан подробный анализ пространственного разрешения, но не обсуждаются влияние временного разрешения, связанного с оптическим откликом и «биологическим временем». Очевидно, что в проводимых экспериментах важны две временных шкалы. Одна связана со сверхбыстрыми временами фемтосекундных импульсов возбуждения люминесценции

и временами жизни люминесценции биомаркеров и влияет на чувствительность оптических световодных систем для нейрофотоники. Вторая временная шкала связана с временем проведения эксперимента, ограниченным функциональным временем исследуемых биотканей. Обе шкалы имеют важное значение в представленных экспериментах и хотелось бы, чтобы в разделе 3.2. был приведен анализ или обсуждение влияния имеющегося экспериментального временного разрешения на экспериментальные результаты.

Заключение. Диссертация представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу, на новую и очень актуальную тему. Отмеченные недостатки никак не влияют на актуальность, полноту и достоверность полученных данных, выводов и рекомендаций. Новые научные результаты, полученные диссертантом, имеют большое значение для фундаментальной науки и современных биофизических и технологических приложений. Работа отвечает требованиям Положения о порядке присуждения научным и научно-педагогическим работникам ученых степеней, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Амитонова Любовь Владимировна, несомненно, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 “Лазерная физика”.

Доклад Амитоновой Л.В. с изложением основных результатов диссертации заслушан и обсужден на семинаре ЦФ РАН 22 мая 2013 г. Работа получила положительную оценку. Отмечено, что результаты работы, в части оптимизации систем регистрации с высоким пространственным разрешением слабых оптических откликов, могут быть использованы при исследовании молекулярных агрегатов и наноструктур, проводимых в ЦФ РАН

Старший научный сотрудник
ЦФ РАН, к.ф.-м.н



А. А. Иванов

Ученый секретарь ЦФ РАН,
кандидат химических наук



А. В. Чебунькова