

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук
д.х.н., профессор Курочкин И.Н.

«05» _____ июня 2019 г.

ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА

заседания расширенного семинара по биофизике
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук
от 22 мая 2019 г.

Председатель семинара: д.б.н., проф. Пальмина Н.П., главный научный сотрудник лаборатории физико-химических основ регуляции биологических систем отдела кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

Секретарь семинара: д.б.н., ведущий научный сотрудник Дудник Л.Б.

Присутствовали: д.б.н., проф. МГТУ им. Баумана Акопян В.Б., д.б.н., в.н.с. Муранов К.О., д.б.н., проф. Васильева С.В., д.б.н., в.н.с. Зак П.П., н.с. Зеликина Д.В., д.х.н., зав. лаб. Семенова М.Г., н.с. Шелудченко Н.И., к.х.н., с.н.с. Мазалецкая Л.И., д.б.н., в.н.с. Миль Е.М., к.б.н., зав. лаб. Мартиросян Ю.Ц., д.ф.-м.н., гл.н.с. Чернозатонский Л.А., к.ф.-м.н., н.с. Чуков В.Н., к.ф.-м.н., зав. лаб. Левин В.М., к.ф.-м.н., с.н.с. Петронюк Ю.С., к.ф.-м.н., н.с. Мороков Е.С.

Всего: 17 человек.

Повестка заседания: обсуждение диссертационной работы Храмцовой Елены Александровны «Возможности применения методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития лабораторных животных» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Слушали: доклад по диссертационной работе Храмцовой Е.А. «Возможности применения методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития лабораторных животных».

Научный руководитель: Левин Вадим Моисеевич, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Рецензент: Акоюн Валентин Бабкенович, доктор биологических наук, профессор факультета биомедицинской техники, кафедры медико-технических информационных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)».

В обсуждении работы участвовали:

д.б.н. Зак П.П.

д.б.н. Миль Е.М.

д.х.н. Семенова М.Г.

д.б.н. Пальмина Н.П.

к.х.н. Мазалецкая Л.И.

В ходе обсуждения были заданы следующие вопросы:

Зак П.П.: Можно ли оценивать упругость тканей?

Храмцова Е.А.: Спасибо за вопрос. Да, с помощью акустического микроскопа можно оценивать упругость материалов, в том числе биологических тканей. Однако в диссертационной работе оценивалась только скорость звука в разных биологических тканях и их акустический импеданс.

Миль Е.М.: Как сильно влияет различие между акустическими свойствами иммерсионной жидкости и объекта исследования на получаемые изображения?

Храмцова Е.А.: Спасибо. На границе перехода между средами (в данном случае между иммерсионной жидкостью и объектом) в случае большой разницы в акустических свойствах сред потери энергии ультразвукового сигнала могут быть достаточно велики, что скажется на ухудшении качества той части изображения, которая находится после этой границы. Однако мягкие ткани организма имеют сходные с водой акустические свойства и на границе иммерсионная среда-объект потери энергии ультразвукового пучка незначительны и составляют порядка нескольких процентов.

Зак П.П.: Можно ли проводить исследование эмбрионов птиц внутри яйца?

Храмцова Е.А.: Да, такие исследования встречались в литературе. Для этого в скорлупе делают смотровое окно, часть скорлупы удаляется. После ультразвуковых исследований для сохранения эмбриона смотровое окно заклеивают парафином или полиэтиленовой пленкой. Однако если речь идет об исследовании интактных яиц с помощью акустической микроскопии, то это, к сожалению, невозможно ввиду высокой экзогенности скорлупы.

Семенова М.Г.: Чем ограничивается применение ультразвука на биологических объектах?

Храмцова Е.А.: Прежде всего, фокусным расстоянием, которое зависит от радиуса кривизны линзы и ее частоты. В данной работе использовалась 11° линза с рабочей частотой 50 МГц и фокусным расстоянием 13,5 мм в воде.

Выступили:

С положительными отзывами выступили к.ф.-м.н. заведующий лабораторией Левин В.М. и д.б.н. Акоюн В.Б., отметили большой объем выполненных исследований, системный подход к адаптации методики, существенный вклад в развитие биологического направления акустической микроскопии и перспективы применения в космической биологии. Д.б.н. Зак П.П. отметил прикладное значение полученных результатов и разработанных методик для исследования патологии развития глаз, а также высокий уровень самой работы.

Постановили: рекомендовать диссертацию Храмцовой Е.А. к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук
д.х.н., профессор Курочкин И.Н.

«05» _____ июня 2019 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук

Диссертация «Возможности применения методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития лабораторных животных» выполнена в лаборатории акустической микроскопии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

В период подготовки диссертации соискатель Храмцова Елена Александровна работала в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, в международном центре по исследованию современных материалов, затем в лаборатории акустической микроскопии в должности младшего научного сотрудника.

В 2004 году Храмцова Елена Александровна окончила Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «физиология», с 01.10.2004 года по 01.10.2008 года обучалась в очной аспирантуре Российской академии наук по специальности «биофизика».

Удостоверение №140 о сдаче кандидатских экзаменов выдано 09.10.2019 года Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Научный руководитель: Левин Вадим Моисеевич, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Научный руководитель и тема диссертации утверждены на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук от 24 мая 2018 года, протокол №31.

В обсуждении работы участвовали:

д.б.н. Зак П.П.

д.б.н. Миль Е.М.

д.х.н. Семенова М.Г.

д.б.н. Пальмина Н.П.

к.х.н. Мазалецкая Л.И.

В ходе обсуждения работы были заданы следующие вопросы:

д.б.н. *Зак П.П.*: Можно ли оценивать упругость тканей?

д.б.н. *Миль Е.М.*: Как сильно влияет различие между акустическими свойствами иммерсионной жидкости и объекта исследования на получаемые изображения?

д.б.н. *Зак П.П.*: Можно ли проводить исследование эмбрионов птиц внутри яйца?

д.х.н. *Семенова М.Г.*: Чем ограничивается применение ультразвука на биологических объектах?

Выступили:

С положительными отзывами выступили к.ф.-м.н. заведующий лабораторией Левин В.М. и д.б.н. Акопян В.Б., отметили большой объем выполненных исследований, системный подход к адаптации методики, существенный вклад в развитие биологического направления акустической микроскопии и перспективы применения в космической биологии. Д.б.н. Зак П.П. отметил прикладное значение полученных результатов и разработанных методик для исследования патологии развития глаз, а также высокий уровень самой работы.

По итогам обсуждения диссертации Храмцовой Елены Александровны «Возможности применения методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития лабораторных животных» принято следующее заключение:

Актуальность темы

Изучение процессов нормального онтогенеза, его этапов и особенностей является одной из актуальных задач биологии развития. Понимание процессов развития в норме позволяет прогнозировать результаты экспериментальных исследований (например, влияния окружающей среды на онтогенез живого организма) и обеспечивать их правильную интерпретацию. Исследование структуры и морфологии, анализ тканей, органов и всего тела эмбриона в процессе развития являются сложной задачей, которая требует разработки и применения новых эффективных неинвазивных методик для визуализации и анализа микроанатомии. Наиболее привлекательными методами визуализации объемной структуры являются высокочастотные ультразвуковые методы исследования, и в частности акустическая микроскопия. Акустическая микроскопия обеспечивает объемную визуализацию, основанную преимущественно на собственных механизмах контраста объекта и в некоторых случаях не требует предварительной подготовки биологического материала. Акустическая микроскопия является перспективным методом неинвазивного исследования объектов в биологии, в том числе в биологии развития и космической биологии. Однако внедрение данного метода сдерживается недостаточным количеством исследований на эмбриональных объектах и

отсутствием системного подхода к изучению эмбрионов ультразвуковыми методами высокого разрешения.

К числу объектов биологии развития традиционно относятся несколько десятков видов животных и растений, однако в последнее время все большее внимание исследователей привлекает перспектива использования в экспериментах эмбрионов перепела. Это обусловлено, с одной стороны, простотой содержания и разведения перепелов в лабораторных условиях, и с другой стороны, схожестью развития эмбриона перепела с детально изученным развитием куриного эмбриона. При этом эмбриогенез перепелов в среднем на 3 дня короче, чем у кур, а размеры эмбрионов близки к таковым у лабораторных крыс и мышей, что обеспечивает высокую эффективность токсикологических, фармакологических исследований, мониторинга влияния факторов производства и окружающей среды. Данные особенности определили выбор в качестве объектов исследований эмбрионов перепела *Coturnix coturnix japonica dom.*

Научная новизна

1. Разработан новый комплексный подход, позволяющий проводить акустомикроскопические исследования эмбрионов птиц на разных стадиях развития.

2. По данным акустической микроскопии впервые составлены таблицы нормального развития эмбрионов японского перепела.

3. Определены функциональные изменения упругих свойств ряда тканей и органов в процессе онтогенеза и проведено сравнение с гистологическими данными.

4. Впервые получены данные акустических исследований эмбрионов, находившихся в процессе эмбриогенеза в состоянии невесомости и развивавшихся в измененных газовых средах.

Личное участие автора

Все результаты, представленные в диссертационной работе получены при личном участии автора. Автор принимала активное участие в постановке задач исследования, самостоятельно проводила анализ данных, представленных в литературе, обеспечивала подготовку образцов и постановку эксперимента, а также осуществляла подготовку результатов к публикации и представлению результатов работы на международных и российских конференциях. Препараты скелета японского перепела, полученные по методу Доусона, живые эмбрионы, а также эмбрионы, полученные в результате космических исследований, предоставлены Институтом медико-биологических проблем РАН и лично Гурьевой Т.С. и Дадашевой О.А. Исследование эмбрионов оптическими методами, а также получение гистологических препаратов проводилось автором на кафедре эмбриологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова под руководством Никерясовой Е.Н., Неклюдовой И.В., Слепцовой Л.А.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов

Для выполнения поставленных задач использовались общепринятые современные методы исследования биологических объектов: оптическая микроскопия тотальных препаратов, изготовление препаратов с окраской по Маллори, просветление тканей по методу Доусона. Кроме того, применялся метод ультразвуковой визуализации внутренней структуры биологических образцов, применяемый в биологических и медицинских

исследованиях. Достоверность результатов обеспечивалась статистической оценкой погрешности экспериментов.

Научные положения, выводы и практические рекомендации полностью обоснованы, достоверны, вытекают из полученных экспериментальных результатов и получили признание в научных журналах и на профильных конференциях.

Практическая значимость работы

Полученные данные могут служить базой как для прикладных исследований – внедрение метода ультразвуковой визуализации внутренней структуры биологических образцов и анализа упругих характеристик тканей, так и для фундаментальных исследований, связанных с использованием измененных газовых сред, пребыванием живых организмов в условиях космического полета, а также для анализа процессов роста и регенерации биологических тканей. Созданные в рамках работы подходы к проведению акустомикроскопических исследований, связанные с выбором подложек, методов закрепления образцов, влияния гистологических фиксаторов и некрозов на формирование ультразвуковых изображений, послужат базой для применения данного метода в регенеративной медицине, эмбриологии, биофизике.

Ценность научных работ соискателя, соответствие содержания диссертации специальности, полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Работа соответствует специальности 03.01.02 – биофизика на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Материалы и основные результаты диссертации достаточно полно изложены в 11 рецензируемых научных российских и иностранных журналах из списка ВАК РФ и в 12 тезисах докладов конференций.

Статьи в рецензируемых научных журналах и главы в сборниках

1. Денисова, Л.А. Применение метода акустической микроскопии для исследования тканей глаза / Л.А. Денисова, А.Ф. Денисов, А.Н. Богаченков, В.М. Левин, Ю.С. Петронюк, Е.В. Снеткова, **Е.А. Храмова** // Морфология. – 2005. – № 2. – С. 72-75.
2. Денисова, Л.А. Использование методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития японского перепела / Л.А. Денисова, Р.Г. Маев, **Е.А. Храмова**, О.А. Дадашева, Т.С. Гурьева, А.Ф. Денисов, Е.В. Снеткова // Технологии живых систем. – 2006. – Т. 3 (1). – С. 56-63.
3. Denisova, L. A. Application of an acoustic microscope for the investigation of embryonic development in quails Coturnix coturnix / L. A. Denisova, R. Gr. Maev, **E. A. Khramtsova**, T.S. Gurieva, O.A. Dadasheva, A.F. Denisov, E.V. Snetkova // Acoustical Imaging. – 2007. – Vol. 28. – P. 49-56.
4. Maeva, A. R. Ultrasonic characterization of the biological objects of spherical or cylindrical shape using an acoustic microscope / A. R. Maeva, E. Yu. Bakulin, N. Bajic, L.A. Denisova, F.M. Severin, R.Gr. Maev, **E.A. Khramtsova** / Acoustical Imaging. – 2007. – Vol. 28. – P. 57-64.
5. Khramtsova, E. A. Ultrasound – a new approach for non-woven scaffolds investigation / **E.A. Khramtsova**, E.S. Morokov, Y.S. Petronyuk, V.M. Levin, K.I. Lukanina, T.E. Grigoriev Chvalun // AIP Conference Proceedings. – 2016. – P. 020094.

6. **Khramtsova, E.** Impulse acoustic microscopy: a new approach for investigation of polymer and natural scaffolds / E. Khramtsova, E. Morokov, Y. Petronyuk, V. Levin, K. Lukanina, T. Grigoriev, A. Shepelev, S. Chvalun, E. Gubareva, E. Kuevda // *Polymer Engineering and Science*. – 2017. – Vol. 57 (7). – P. 709-715.
7. **Храмцова, Е.А.** Импульсная ультразвуковая микроскопия материалов и объектов тканевой инженерии / Е.А. Храмцова, Е.С. Мороков, Т.Е. Григорьев, Е.А. Губарева, А.С. Сотниченко, Е.В. Куевда, В.М. Левин, Ю.С. Петронюк // *Ученые записки физического факультета Московского университета*. – 2017. – № 5. – С. 1750710.
8. Субочев, П.В. Ультразвуковые технологии высокого разрешения для исследования биологических объектов / П.В. Субочев, А.Г. Орлова, И.В. Турчин, Ю.С. Петронюк, **Е.А. Храмцова**, В.М. Левин // *Известия Российской академии наук. Серия физическая*. – 2018. – Т. 82 (5). – С. 572-577. Переводная: Subochev, P.V. High-Resolution Ultrasound Technologies for Studying Biological Objects / P.V. Subochev, A.G. Orlova, I.V. Turchin, Y.S. Petronyuk, E.A. Khramtsova, V.M. Levin // *Bull. Russ. Acad. Sci.: Phys.* – 2018. – Vol. 82 (5). – P. 502-506.
9. Petronyuk, Y. Studying bone substitute biodegradable polymer materials by means of acoustic microscopy / Y. Petronyuk, V. Levin, V. Gorshenev, **E. Khramtsova**, E. Morokov, A. Olkhov, A. Muraev // *AIP Conference Proceedings*. – 2018. – P. 020113.
10. Morokov, E.S. Structural and mechanical properties of PLA-hydroxyapatite composites studied by the scanning impulse acoustic microscopy / E.S. Morokov, **E.A. Khramtsova**, A.K. Zykova, Y.S. Petronyuk, V.M. Levin, V.A. Demina, N.G. Sedush, T.E. Grigoriev, S.N. Chvalun // *AIP Conference Proceedings*. – 2018. – P. 020138.
11. Morokov, E. Noninvasive ultrasound imaging for assessment of intact microstructure of extracellular matrix in tissue engineering / E. Morokov, **E. Khramtsova**, E. Kuevda, E. Gubareva, T. Grigoriev, K. Lukanina, V. Levin // *Artificial Organs*. – 2019. – Vol. 43 (11). – P. 1104-1110.

Апробация работы (тезисы докладов):

1. Денисова, Л.А. Получение визуальных изображений мягких тканей человека и животных с помощью акустического микроскопа / Л.А. Денисова, Е.В. Снеткова, **Е.А. Храмцова**, Н.С. Реук, Т.С. Гурьева, О.А. Дадашева, Е.Ю. Маева // *I Троицкая конференция по медицинской физике (19-21 мая, 2004, Троицк, Московская область)*. – Тезисы докладов. – 2004. – С. 45.
2. **Храмцова, Е.А.** Исследование морфофункциональных характеристик кожи эмбрионов перепелки японской / Е.А. Храмцова, Е.В. Снеткова // *Труды IV Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН – ВУЗы (25-26 ноября, 2004, Москва, Россия)*. – В сборнике: Биохимическая физика. – 2004. – С. 8.
3. Снеткова, Е.В. Применение акустического микроскопа для исследования эмбрионального развития животных / Е.В. Снеткова, **Е.А. Храмцова** // *Труды IV Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН – ВУЗы (25-26 ноября, 2004, Москва, Россия)*. – В сборнике: Биохимическая физика. – 2004. – С. 15-16.
4. **Храмцова, Е.А.** Микроанатомический анализ эмбрионов японского перепела при исследовании в акустическом микроскопе в различных режимах сканирования / Е.А. Храмцова // *Труды V Ежегодной молодежной конференции с международным*

- участием ИБХФ РАН – ВУЗы (4-5 ноября, 2005, Москва, Россия). – В сборнике: Биохимическая физика. – 2005. – С. 113-115.
5. Maeva, A. High-frequency ultrasound investigation of human finger-nail condition / A. Maeva, **E. Khramtsova**, N. Komeilizade, E. Bakulin // Труды V Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН – ВУЗы (4-5 ноября, 2005, Москва, Россия). – В сборнике: Биохимическая физика. – 2005. – С. 182-187.
 6. Maeva, A. Human nail study using acoustic microscopy / A. Maeva, **E. Khramtsova**, L. Denisova, R. Maev, D. Shum // 36th Annual Meeting of the European Society of Dermatology Research (September 6-7, 2006, Paris, France). – Journal of Investigative Dermatology. – 2006. – Vol. 126 (3). – P. 115.
 7. **Храмцова, Е.А.** Использование методов акустической микроскопии для исследования скелета японского перепела *Coturnix coturnix japonica* / Е.А. Храмцова // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных Ломоносов-2014 секция Биология (7-11 апреля, 2014, Москва, Россия). – Сборник тезисов. – 2014. – С. 75.
 8. **Храмцова, Е.А.** Использование методов акустической микроскопии для исследования биологических объектов на примере скелета японского перепела / Е.А. Храмцова // Всероссийская с международным участием конференция и школа для молодых ученых Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты (4-9 октября, 2015, Московская область). – Сборник тезисов. – 2015. – С. 122.
 9. **Khramtsova, E.** Ultrasound— A New Approach for Small Biological Objects / E. Khramtsova, T. Grigoriev // AIS-2016 Atmosphere, Ionosphere, Safety V International conference (19-25 июня, 2016, Калининград, Россия) . – Сборник трудов конференции. – 2016. – С. 549.
 10. **Khramtsova, E.** Investigation of Early Stage of laboratory Animals Embryo Ontogenesis by Acoustic Microscopy / E. Khramtsova, E. Morokov, T. Grigoriev // AIS-2018 Atmosphere, Ionosphere, Safety VI International conference (3-9 июня, 2018, Калининград, Россия) . – Сборник трудов конференции. – 2018. – С. 252-255.
 11. Мороков, Е.С. In situ визуализация и характеристика деградации полилактида методами импульсной акустической микроскопии / Е.С. Мороков, **Е.А. Храмцова**, В.М. Левин, В.А. Демина, Н.Г. Седуш // Труды XVII Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН-ВУЗы. Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (14-15 ноября, 2018, Россия, Москва). – В сборнике: Биохимическая физика. – 2018. – С. 190-192.
 12. **Храмцова, Е.А.** Принципы ультразвуковой визуализации элементов внутренней микроструктуры образцов нативной и децеллюляризированной кожи / Е.А. Храмцова, Е.С. Мороков, Е.А. Губарева, Е.В. Куевда, И.С. Гуменюк, Ю.С. Петронюк, В.М. Левин, Т.Е. Григорьев // Труды XVII Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН – ВУЗы (14-15 ноября, 2018, Москва, Россия). – В сборнике: Биохимическая физика. – 2018. – С. 229-232.

Диссертационная работа Храмцовой Елены Александровны на тему ««Возможности применения методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития лабораторных животных» является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям п.9 и п.14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России (утверждено Постановлением

Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335 в редакции Постановления Правительства РФ от 2 августа 2016 г. № 748), и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Заключение принято на заседании расширенного семинара по биофизике ИБХФ РАН 22 мая 2019 года.

На заседании присутствовали 17 человек из них 7 докторов биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Результаты голосования:

«за» - 17 человек;

«против» - нет;

«воздержались» - нет.

Председатель семинара
д.б.н., профессор

Н.П. Пальмина

Секретарь семинара
д.б.н.

Л.Б. Дудник

