

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
**«Федеральный исследовательский центр
«Пушинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук»**
(ФИЦ ПНЦБИ РАН)

142290, г. Пушкино Московской обл., проспект Науки, д.3.
Тел. (495)632-78-68, тел/факс: (4967)73-26-36, e-mail: info@pncbi.ru
http://www.psn.ru
ОКПО 02699688, ОГРН 1025007768983, ИНН/КПП 5039002841/503901001

18.03.2020 № 191-01-215/99

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушинский
научный центр биологических
исследований Российской академии
наук»



д.ф.-м.н.

П.Я. Грабарник

« 18 » марта 2020г

ОТЗЫВ

ведущей организации по диссертации Храмовой Елены Александровны
«Возможности применения методов акустической микроскопии для
исследования эмбрионального развития лабораторных животных»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.02 – «Биофизика»

Актуальность. Методы ультразвуковой визуализации высокого разрешения остаются востребованными во многих практических областях, от контроля качества в материаловедении, до диагностики в медицине и решения фундаментальных вопросов взаимодействия акустической волны с живыми биологическими тканями. Несмотря на столь широкое применение, развитие и совершенствование ультразвуковых технологий, как правило, связано с постановкой и решением новых задач в биомедицинских областях.

Создание быстрых и эффективных методик, позволяющих проводить неинвазивную оценку объемной микроструктуры с разрешением в десятки микрон, остается актуальной задачей. Кроме того, исследование новых объектов сопряжено с необходимостью разработки комплекса вспомогательных методик, позволяющих получить качественные изображения и количественные данные.

Диссертационная работа Храмцовой Е.А. посвящена разработке методов и подходов импульсной акустической микроскопии для визуализации высокого разрешения микроанатомического строения целых эмбрионов и отдельных органов. В рамках работы изучаются особенности формирования ультразвуковых изображений эмбрионов по мере их роста, усложнения строения и появления специализированных тканей в процессе дифференцировки клеток. При изучении ультразвуковых характеристик тканей показано, что изменение этих параметров зависит от состояния самого объекта. Также описаны механизмы влияния вспомогательных материалов (подложек, сред сканирования, методов закрепления) на качество получаемых изображений. В качестве основных объектов экспериментального исследования были выбраны эмбрионы японского перепела с 1 по 11 сутки развития.

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения с ультразвуковыми изображениями.

Во **введении** обосновывается актуальность работы, поставлена цель и задачи, обозначены научная и практическая значимость результатов.

Первая глава содержит обзор литературы, в котором описываются методы исследования биологических объектов. Основной интерес направлен на неинвазивные методы анализа и методы объемной визуализации. Как перспективный метод указана ультразвуковая микроскопия и представлен накопленный в литературе материал, посвященный результатам применения ультразвуковых методов к биологическим объектам разного уровня организации: от отдельных клеток до многоклеточных организмов. Перечислены ограничения метода по отношению к этим объектам и их особенности с точки зрения ультразвуковой визуализации.

Во **второй главе** представлено описание сканирующего акустического микроскопа, разработанного в ИБХФ РАН и принцип его работы, описаны форматы представления полученных данных. Обоснован выбор японского

перепела как основного объекта исследования. В роли вспомогательных методов автором выбраны классические гистологические методики.

В **третьей главе** представлены результаты экспериментального исследования методом ультразвуковой микроскопии, как целых эмбрионов, так и отдельных органов на более поздних стадиях развития. Для получения качественных акустических изображений и проведения измерений на таком сложном с точки зрения строения и акустически нелинейном объекте, как эмбрион, автором был разработан целый комплекс вспомогательных методик, обеспечивающих позиционирование объекта, выравнивание плоскостей сканирования, а также позволяющих избежать появления паразитных эхо-сигналов от подложек. В результате применения этих методик составлены таблицы нормального развития по данным акустической микроскопии, и представлены количественные данные о диагностически важных системах органов. Так, например, неинвазивно определена степень окостенения конечностей и измерены объем глазного яблока и хрусталика. Полученные сведения по данным акустической микроскопии о процессе нормального развития легли в основу сравнительного анализа для эмбрионов, развивавшихся с патологиями в результате изменений условий внешней среды. Показано, что акустическая микроскопия позволяет неинвазивными методами выявлять не только грубые нарушения развития органов и комплексное отставание в развитии, но и нарушения, например, кальциевого обмена в условиях космического полета.

В **четвертой главе** автор обсуждает механизмы формирования акустических изображений сложных биологических систем, вклад отдельных структурных элементов при картировании упругих свойств органов, влиянии многослойности и объемной нелинейности структуры эмбрионов.

Выводы автора логичны, обоснованы и вытекают из поставленных в начале работы задач.

Приложение содержит последовательный ряд ультразвуковых изображений эмбрионов на всех стадиях развития с 1 по 11 сутки и гармонично дополняет основное содержание работы.

При общей высокой оценке диссертационной работы следует сделать ряд замечаний:

1. Стр.5. Некорректное использование термина «физико-механические свойства». Достаточно сказать «механические свойства»

2. Стр. 10. Сказано «..определены границы метода...». По крайней мере, нужно сказать, какие границы определены из всех возможных.

3. Стр. 10. 7 строка снизу. Некорректный термин «сравнение изображениями...»

4. Стр. 43. В качестве акустических параметров приведены такие параметры, как плотность, упругость, вязкость, твердость. Корректнее называть их механическими параметрами.

5. Стр. 53. В таблице при переводе данных по плотности в систему СИ допущена ошибка, которая привела и к ошибке в расчете импедансов. Так, для воды приведена плотность $1 \cdot 10^6$ кг/м³. Должно быть $1 \cdot 10^3$ кг/м³. Соответственно и импеданс должен быть равен $1.5 \cdot 10^6$ кг/(м² с), с учетом скорости 1500 м/с, а не $1.5 \cdot 10^9$ кг/(м² с), как приведено в таблице.

6. Стр.93. Ошибка в подписи к рисунку 3.31. Дважды повтор А, и нет Б.

7. Стр. 100. Обсуждение уменьшения скорости звука в образцах при некрозе тканей не рассматривается с точки зрения того, что эта скорость определяется молекулярным составом тканей. При рассмотрении с этой точки зрения можно выйти на изменения в составе компонентов ткани, которые дают вклад в увеличение или уменьшение скорости. Это можно рассматривать как пожелание к будущим исследованиям.

Приведенные замечания носят рекомендательный характер и не затрагивают сути работы, ее основных выводов и результатов. Упомянутые выше замечания не снижают общей положительной оценки работы.

Диссертационная работа Е.А. Храмцовой является законченной научно-квалификационной работой, в которой изложены **новые методические подходы и экспериментальные данные**, имеющие существенное **практическое значение** для развития методов акустической микроскопии и адаптации ее для нужд широкого круга специалистов биомедицинской направленности.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне и значимости полученных результатов отвечает всем требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор Храмцова Е.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Доклад Храмцовой Е.А. заслушан на научном семинаре лаборатории Биологических эффектов неионизирующих излучений Института биофизики клетки РАН – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» и утвержден на заседании семинара 3 марта, протокол №1. Отзыв подготовлен доктором биологических наук, заведующим лабораторией биологических эффектов неионизирующих излучений Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН Пашовкиным Тимофеем Николаевичем.

д.б.н.,
заведующий лабораторией
ИБК РАН – обособленного
подразделения
ФИЦ ПНЦБИ РАН



Пашовкин Тимофей Николаевич

Тел. 89055654595
e-mail: pashovkin@mail.ru

ФИЦ ПНЦБИ РАН 142290, г. Пушкино,
Московской обл., пр. Науки, д. 3
+7(495)-632-78-68; +7(4967)73-26-36
info@pncbi.ru

Подпись Пашовкина Т.Н. заверяю.

Начальник отдела кадров
ФИЦ ПНЦБИ РАН



Левченко Г.Н.