



САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
SAMARA UNIVERSITY

УТВЕРЖДАЮ

федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Самарский национальный исследовательский университет
имени академика С.П. Королева»

Первый проректор – проректор по научно-
исследовательской работе, доктор технических
наук

ул. Московское шоссе, д. 34, г. Самара, 443086
Тел.: +7 (846) 335-18-26, факс: +7 (846) 335-18-36
Сайт: www.ssau.ru, e-mail: ssau@ssau.ru
ОКПО 02068410, ОГРН 1026301168310,
ИНН 6316000632, КПП 631601001

Прокофьев Андрей Брониславович

2022г.

18 НОЯ 2022

№ 252-5699

На № _____ от _____



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу **Николаева Виктора Владимировича** «Анализ структурных изменений коллагена в лимфедематозной коже с использованием двухфотонной микроскопии и машинного обучения», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Актуальность работы

Диссертационная работа Николаева Виктора Владимировича посвящена исследованию пространственной организации коллагена папиллярной дермы при развитии лимфедемы – прогрессирующего заболевания, которое возникает в результате слабого лимфотока, приводящего к хроническим изменениям структуры кожи и подкожно-жировой клетчатки. Традиционные методы диагностики данной патологии связаны с измерением увеличения объема конечности или применением технологически сложных диагностических методов (например, МРТ), что не позволяет выявлять заболевание на ранних стадиях. С этой точки зрения несомненно актуальным является развитие методов двухфотонной микроскопии и методов машинного обучения для оценки дезорганизации коллагена, являющейся одним из признаков лимфедемы. Именно этому и посвящена диссертационная работа, автором проведена модификация метода гистограмм ориентированных градиентов, экспериментально показана работоспособность метода. В рамках данного подхода предложена, создана и валидирована предиктивная модель in-vivo диагностики лимфедемы с выявлением информативных признаков при использовании машины опорных векторов и метода голосования большинства. К несомненным достижениям работы относится предложенный неинвазивный метод диагностики лимфедемы по снимкам папиллярной дермы, полученным с использованием двухфотонной микроскопии и машинного обучения. Следует также отметить оригинальный метод создания модели лимфедемы на мелких лабораторных животных, заключающийся в резекции лимфатических сосудов и последующим двукратным воздействием рентгеновским излучением.

Содержание работы

Диссертационная работа Николаева В.В. состоит из введения, четырех глав, заключения, приложения и списка литературы. Общий объем- 128 страниц, включая 16 таблиц и 53 рисунка, список литературы состоит из 325 наименований.

Диссертация написана ясным, грамотным языком, все основные результаты опубликованы в научных журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных базах данных. Количество публикаций удовлетворяет требованиям для квалификационной работы на звание кандидата физико-математических наук.

Во **введении** автор обосновывает актуальность работы, ставит цель исследования и формулирует задачи для ее достижения, описывает новизну и практическую значимость результатов, формулирует защищаемые положения.

В первой главе автор приводит литературный обзор по теме исследования. В частности, представлена информация о строении и оптических свойствах кожи, включая коллаген и эластин. На основе литературных данных, проведено сравнение кожи человека и мелких лабораторных животных с точки зрения оптических свойств. Проведен сравнительный анализ основных инструментов оптической визуализации, которые могут быть применены для решения поставленных задач. Приведено сравнение и обоснование выбора методов машинного обучения для решения поставленных задач.

Во второй главе представлены результаты разработки протокола экспериментального исследования папиллярной дермы при помощи двухфотонной микроскопии. Дано обоснование применимости метода гистограмм ориентированных градиентов, проведена подгонка параметров вектора признаков метода на модельных данных, имитирующих структуру коллагеновых волокон с разной степенью дезорганизации. По результатам моделирования показано, что в адаптированном под рассматриваемую задачу векторе признаков для полностью дезорганизованной структуры коллагена плотность вероятности пространственной ориентации градиентов яркости имеет вид равномерного распределения, для полностью ориентированной структуры указанная плотность вероятности имеет вид дельта-функции. Дано определение индекса старения кожи (Second harmonic generation to Autofluorescence Aging Index of Dermis, SAAID).

В третьей главе автором представлены результаты экспериментальных исследований структурных изменений папиллярной дермы для здоровых добровольцев и пациентов с лимфедемой с использованием двухфотонной микроскопии. Показано, что значение индекса SAAID для здоровых добровольцев и пациентов с лимфедемой имеет статистически значимые различия. В этой главе также представлены результаты пост-обработки графических данных двухфотонной микроскопии структурных изменений папиллярной дермы для здоровых добровольцев и пациентов с лимфедемой. Предложена и валидирована прогнозная модель предиктивная модель in-vivo диагностики лимфедемы на основе данных сигнала второй гармоники папиллярной дермы, с использованием модифицированного метода гистограмм ориентированных градиентов, машины опорных векторов, голосования большинством. Точность метода на набранной экспериментальной выборке составила 96%. Данный метод положен в основу третьего защищаемого положения.

Четвертая глава посвящена разработке протокола создания модели лимфедемы на мелких животных (на задних конечностях крыс Wistar). Данный протокол включает резекцию под-

коленного и ближайшего пахового лимфатического узлов с последующим облучением рентгеновым излучением оперированной конечности крысы через 1 и 10 месяцев после резекции с дозой поглощения 20 грей в каждом сеансе: облучение 4 раза по 5 минут, интервалом между облучениями - 2 минуты. Основным отличием данной модели от ранее предложенных заключается в повторном облучении конечности рентгеновским излучением через длительный промежуток времени. Процесс развития лимфедемы исследовался методом двухфотонной микроскопии и методом гистологии.

В заключении представлены основные выводы и результаты работы.

По своему содержанию представленная диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, в которой полученные результаты изложены последовательно и логично. Выводы по результатам исследования характеризуются научной новизной и практической значимостью.

Автореферат диссертации В.В. Николаева полностью соответствует содержанию диссертационной работы и должным образом оформлен. Автореферат в полном объеме отражает результаты и сформулированные выводы диссертационной работы.

Степень достоверности и обоснованности полученных результатов

Положения и выводы диссертационной работы В.В. Николаева обладают высокой степенью достоверности, что обеспечено использованием сертифицированных приборов и общепринятых подходов проведения экспериментальной части работ, а также строгостью методов математического анализа, моделирования и машинного обучения с применением методик кросс-валидации. Корректность интерпретации данных двухфотонной микроскопии по исследованию лабораторных животных подтверждается результатами гистологического анализа.

Результаты диссертации были представлены на 8 международных и российских конференций, опубликованы в 3 высокорейтинговых международных рецензируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus (Frontiers in Physics, Biomedical Optics Express, Biochemistry (Moscow)). Всего по теме диссертации опубликовано 11 работ.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы определяется тем, что автором предложено использовать индекс старения дермы (SAID) в качестве показателя состояния папиллярной дермы при лимфедеме и экспериментально доказано, что данный индекс имеет значимые отличия для лимфедематозной и здоровой тканей.

Разработан модифицированный метод гистограммы ориентированных градиентов и на его основе создана предиктивная модель *in-vivo* диагностики лимфедемы с использованием методов двухфотонной микроскопии и машинного обучения. Показано, что данная модель обеспечивает точность диагностики лимфедематозной ткани 96%.

Предложена новая модель создания лимфедемы на мелких животных (крысы Wistar), включающая резекцию лимфоузлов и повторное облучение рентгеновым излучением оперированной конечности через длительный интервал времени.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Теоретическая значимость результатов диссертационной работы заключается в том, что разработанная предиктивная модель *in-vivo* диагностики с использованием методов двухфотонной микроскопии биоткани и машинного обучения может быть использована для исследования различных патологических процессов на клеточном и субклеточном уровне.

Реализованная лабораторная модель развития лимфедемы может быть использована для изучения особенностей развития данного заболевания и его терапии в рамках доклинических исследований. Модифицированный подход гистограмм ориентированных градиентов может быть использован в практике для неинвазивной диагностики заболеваний кожи, сопровождающихся дезорганизацией коллагена, с использованием двухфотонной микроскопии.

Замечания по содержанию диссертации

1. Во введении из раздела **Степень достоверности и апробация работы и публикации** было бы целесообразно убрать информацию о публикациях, поскольку ниже приводится эта же информация в разделе **Список публикаций по теме диссертации**.
2. В работе мало внимания уделено выбору методов классификации. На данный момент в подобных задачах активно применяют не только метод опорных векторов, но и другие методы, например, нейронные сети или метод случайных лесов. Нет объяснения почему в работе рассматривался только один метод?
3. В таблице 11 не использовалось предположение о нормальности распределения так как выбраны статистические параметры: медиана и квартили. В таблице 12 использовалось предположение о нормальности распределения – выбраны статистические параметры: среднее и дисперсия. Обоснования этому в тексте диссертации нет.
4. В главе 3 при анализе структуры коллагена с использованием градиентных методов не приведено обоснование выбранного набора ядер в методе опорных векторов.
5. Из материалов диссертации не понятно, проводилась ли корректировка параметров метода гистограмм ориентированных градиентов и машины опорных векторов на реальных данных или параметры подбирались только согласно модели.
6. При сравнительном исследовании лимфедематозной и здоровой ткани автор наибольшее внимание уделяет деградации, изменениям распределения коллагена и эластина в паталогически трансформированной коже. Известно, что лимфедематозная ткань характеризуется повышенной степенью гидратации, что также приводит к перераспределению объемной плотности коллагена. Однако, зависимость вводимых диагностических показателей от степени гидратации никак не анализируется.

Отмеченные выше замечания не снижают общего положительного впечатления от работы.

Заключение

Актуальность темы исследования, новизна научных результатов, высокий научный уровень работы, ее теоретическая и практическая значимости позволяет сделать вывод, что диссертационная работа Николаева Виктора Владимировича «Анализ структурных изменений коллагена в лимфедематозной коже с использованием двухфотонной микроскопии и машинного обучения» удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук пп. 9–11, 13, 14 действующего «Положения о присуждении ученых

степеней», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Отзыв обсужден и единогласно одобрен на расширенном заседании кафедры лазерных и биотехнических систем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Протокол № 4 от 14 ноября 2022 года).

Сведения о составителе отзыва:

Захаров Валерий Павлович, доктор физико-математических наук (01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики), профессор, Заведующий кафедрой лазерных и биотехнических систем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»,

Электронная почта: zakharov@ssau.ru

Телефон: 9 (846) 267-45-50

Сведения о ведущей организации:

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»

Почтовый адрес: 443086, г. Самара, ул. Московское шоссе, д. 34

Телефон: 8 (846) 335-18-26


Факс: 8 (846) 335-18-36

Электронная почта: ssau@ssau.ru

Веб-сайт: <https://ssau.ru>

Заведующий кафедрой лазерных и биотехнических систем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»

Захаров Валерий Павлович


«14» ноября 2022 г.