

Отзыв официального оппонента Дунаева А.В.

на диссертационную работу Макаркина Михаила Андреевича
«Системы проточной цитометрии для поиска и выделения редких объектов:
моделирование и анализ изображений и сигналов»,
представленную на соискание учёной степени кандидата физико-
математических наук по специальности 1.5.2. – Биофизика

Актуальность диссертационной работы

Диссертационное исследование Макаркина М.А. строится вокруг актуальной проблемы создания системы *in vivo* цитометрии, позволяющей регистрировать крайне редкие популяции объектов в крови. К таким объектам могут относиться циркулирующие опухолевые клетки, различные патогены, кроме того, они могут вноситься в кровоток искусственно, например, в виде носителей для адресной доставки лекарств. В своей работе диссертант рассмотрел ряд вопросов, связанных с анализом изображений, получаемых в таких системах и изучением магнитной сепарации объектов из кровотока. Изучение динамики появления циркулирующих опухолевых клеток в кровотоке и изучение поведения в нём носителей для адресной доставки лекарств являются важными задачами в современной биофизике, позволяя создавать новые системы для диагностики и лечения заболеваний. Исследования диссертанта затрагивают две современные междисциплинарные проблемы. Первая из них связана с возможностью реализации задачи деконволюции и устранения искажений изображений с помощью нейросетей. Поскольку оптические схемы светового листа отличаются сложными неоднородными функциями рассеяния точки, классические методы деконволюции изображений для них мало применимы, необходима разработка новых подходов, использующих современные представления в обработке изображений, основанные на глубоком обучении. Вторая актуальная задача связана с использованием в разрабатываемой системе цитометрии и в технологии адресной доставки лекарств с помощью магнитного поля системы выделения магнитных объектов из потока на основе постоянного магнита с концентратором. Интересной и не до конца решённой задачей является ограничение магнитной сепарации — какое максимальное количество магнитных объектов можно остановить на стенке сосуда учитывая их магнитные свойства, конфигурацию магнитного поля, скорость кровотока и размер сосуда. Таким образом, поставленные перед диссертантом задачи являются одними из актуальных проблем в современной биофизике и смежных научных дисциплинах.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы

Работа Макаркина М.А. является законченным диссертационным исследованием на соискание степени кандидата физико-математических наук. Её обоснованность и достоверность подтверждается применением научного

оборудования, сертифицированного в соответствии с международными стандартами обеспечения единства измерений и единообразием средств измерений. Полученные диссертантом результаты представлены в основных международных изданиях, тематика которых лежит в области данной специальности, соискатель представлял работу на международных конференциях. В целом, работа прошла достаточную внешнюю экспертизу. Задачи, поставленные в диссертации Макаркина М.А., предмет исследования, выводы соответствуют специальности 1.5.2. – Биофизика

Основное содержание диссертации

Диссертационная работа Макаркина М.А. состоит из введения, основной части, содержащей 5 глав и включающей в себя выводы, заключения и списка цитируемой литературы из 192 наименований. Полный объём диссертации составляет 126 страниц, диссертация содержит 37 рисунков.

Во **введении** обосновывается актуальность исследований, проводимых в рамках данной работы, формируется цель, осуществляется постановка задач исследования, представлены научная новизна и практическая значимость данного диссертационного исследования.

Первая глава представляет собой обзор литературы по проблеме диссертационного исследования. В данной главе рассматриваются основные проблемы создания систем *in vivo* проточной цитометрии, поиска крайне редких популяций объектов в крови с помощью данного типа приборов, рассматриваются общие проблемы деконволюции изображений, включая традиционные подходы, проблемы решения задач деконволюции с помощью методов глубокого обучения, проблемы анализа изображений с помощью предлагаемых в работе методов и границы применимости данных методов.

Во **второй главе** приведены используемые в работе методы и материалы для создания носителей для адресной доставки лекарств и работы с клеточными культурами. В этой главе описывается технология создания носителей для адресной доставки лекарств, основные оптические схемы применяемых в работе установок, особенности написания программного обеспечения для анализа изображений, в дальнейшем используемого в ходе данного диссертационного исследования.

В **третьей главе** описывается проблема работы с изображениями, содержащими сильные искажения в формате комы. Данный тип искажений связан с использованием диссертантом системы на основе структурированного освещения, в которой сам объект исследования находится в стеклянной кювете, расположенной под углом 45 градусов к оптическим осям системы. При прохождении света в такой системе наблюдается полное внутреннее отражение, которое ограничивает апертуры оптической системы и приводит к появлению сильных искажений в получаемых изображениях. В главе описывается разработанная соискателем техника преобразования изображения с помощью нейросетей. Рассматриваются существующие методы, разработанный диссертантом метод, проводится сравнение их друг с другом.

В **четвёртой главе** описана достаточно простая проблема подсчёта

количества регистрируемых цитометром объектов в том случае, если они становятся оптически неразрешимы. Данная проблема является достаточно типичной, например, в случае сильной агрегации носителей для адресной доставки лекарств в крови. В главе представлен приближённый метод оценки количества объектов в таком агрегате в том случае, если объекты все имеют почти одинаковые размеры.

В пятой главе диссертант переходит к рассмотрению поведения магнитных микрокапсул в потоке жидкости. В главе представлены модели распределения магнитных полей от магнита с концентратором и траектории движения частиц в магнитном поле в потоке жидкости. Также в этой главе приведены результаты эксперимента по удержанию магнитных микрокапсул с несколькими разными размерами и разным количеством слоёв магнитных частиц в потоке жидкости, движущемся с различными скоростями.

В заключении приведены основные результаты работы

Новизна и практическая значимость диссертационной работы

В работе Макаркина М.А. рассматривается ряд новых техник для работы с изображениями, которые можно применять при разработке систем *in vivo* проточной цитометрии и систем биомедицинской визуализации на основе структурированного освещения. Представлена несколько нестандартная попытка удаления искажений на изображении с помощью относительно простого преобразования одного изображения в другое на основе нейросетей, похожее на методы переноса стиля изображений. Данный метод, несмотря на несколько спорную универсальность и применимость к более сложным, чем рассматриваемые диссертантом объекты, представляет интерес поскольку требует относительно малого количества изображений для обучения и имеет низкую вычислительную сложность – теоретически можно попробовать применять его в режиме реального времени. Достаточно нетривиальным результатом простого метода подсчёта объектов в кадре является то, что данный метод даёт относительно низкую погрешность измерения относительно честного подсчёта при разделении таких объектов в классической системе проточной цитометрии и в целом даёт достаточно адекватную оценку, применимую в дальнейших *in vivo* исследованиях – подсчёте числа регистрируемых в кровотоке лабораторного животного полиэлектролитных микрокапсул. Моделирование поведения полиэлектролитных микрокапсул в потоке жидкости в градиенте магнитного поля развивает дальнейшие исследования научной группы, в которую входит диссертант, и приносит некоторое количество новых результатов – в частности, интерес представляет возможное ограничение накопления микрокапсул, которое задаёт максимальное количество действующего вещества, которое мы можем собрать в кровеносном сосуде с помощью метода удержания этих микрокапсул постоянным магнитом с концентратором магнитного поля.

Заключение

Диссертационное исследование Макаркина Михаила Андреевича

представляет собой самостоятельную законченную научно-квалификационную работу, посвящённую актуальной проблеме. Результаты исследования в достаточной мере апробированы – представлены в основных изданиях по тематикам данной специальности и на международных научных конференциях. Достоверность результатов подтверждается в достаточной мере сравнением компьютерных моделей и физических измерений. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ (одна из статей является коррекцией предыдущей работы), из которых 6 входят в издания в списке ВАК и 5 вышли в периодических научных изданиях, индексируемых системами WoS и Scopus. Автореферат отражает основное содержание диссертационного исследования. В то же время работа не лишена недостатков. К основным вопросам и замечаниям по данной работе можно отнести следующие:

1. Не до конца понятно, почему в оптической конструкции цитометра не используются иммерсионные элементы (например, как это было сделано в исходной конструкции системы SPIM-Fluid). При их использовании математическая обработка, описанная в соответствующей главе диссертации, сильно упрощается и результаты работы такой системы как цитометра с визуализацией должны стать более надёжными.
2. Не полностью обосновано применение метода переноса стиля для решения задачи деконволюции – получаемые при этом изображения не в полной мере соответствуют определению данной операции, к ним скорее всего нельзя будет применить теорему о свёртке. На ряде изображений видно несоответствие масштабов восстановленных объектов, по видимому связанное с дискретизацией изображений – их пиксельными размерами.
3. В главе 4 диссертации детально описывается алгоритм подсчёта количества частиц, но недостаточно подробно описан эксперимент по сравнению количества детектируемых частиц в разрабатываемом *in vivo* цитометре и цитометре с визуализацией, который использовался в данном эксперименте.
4. Из текста диссертации не совсем понятно, как связаны рассчитанные траектории частиц в главе 5 диссертации и накопление материала на стенках капилляра, наблюдаемое в эксперименте, как проводилось сравнение расчётных и экспериментальных данных.
5. Из текста главы 4 не до конца понятно, как проводилось измерение количества частиц для получения данных, показанных на рисунке 4.8, этот процесс требует более детального описания.
6. Также можно отметить заметную небрежность в оформлении работы – некоторые изображения содержат подписи на английском языке, работа содержит большое количество опечаток, местами формулировки являются прямым переводом с английского языка, стиль изложения делает отдельные места работы достаточно сложными для понимания.

Указанные замечания носят рекомендательный характер и не влияют на общую оценку данной исследовательской работы. Результаты, представленные в данной работе, представляют практический интерес с точки зрения проверки

поведения носителей для адресной доставки лекарств на основе полиэлектролитных микрокапсул в потоке крови, разработки систем *in vivo* цитометрии и биомедицинской визуализации для работы с лабораторными животными.

С учётом вышеизложенного можно считать, что диссертационное исследование Макаркина М.А. является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком уровне, соответствующей требованиям научной новизны, практической значимости и достоверности, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук в соответствии с пунктами 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а её автор, Макаркин Михаил Андреевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. – Биофизика.

Доктор технических наук по специальности 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения, доцент, ведущий научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники, профессор кафедры приборостроения, метрологии и сертификации института приборостроения, автоматизации и информационных технологий федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»

Дунаев Андрей
Валерьевич

Дата: «29» ноября 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева».

Служебный адрес: 302026, Орловская область, г. Орел, ул. Комсомольская 95.

E-mail: dunaev@bmecenter.ru

Телефон: +7 (4862) 41-98-06

Подпись Дунаева А.В. заверяю:

Проректор по научно-технологической деятельности и аттестации научных кадров



Радченко
Сергей Юрьевич