

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.392.06, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУ-
ДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО», ПО ДИССЕРТА-
ЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

Аттестационное дело _____

Решение диссертационного совета от 17.11.2022 № 71/22

О присуждении Братченко Ивану Алексеевичу, гражданину РФ, ученой степени доктора физико-математических наук.

Диссертация «Мультимодальный флуоресцентный и Рамановский спектральный анализ тканей кожи человека и методы машинного обучения для диагностики новообразований кожи и патологий почек» по специальности 1.5.2. – Биофизика принята к защите 30 июня 2022 года (протокол заседания 64/22) диссертационным советом 24.2.392.06, созданным на базе ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83. Совет 24.2.392.06 создан приказом Минобрнауки России № 362/нк от 19.03.2020.

Соискатель Братченко Иван Алексеевич, 22.06.1985 года рождения, диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук «Анализ многократно рассеивающих сред с учетом их микроскопического строения, эффектов флуоресценции и комбинационного рассеяния» защитил в 2013 году в диссертационном совете 24.2.379.01, созданном на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Самарский университет) по адресу 443080, г. Самара, Московское шоссе 34.

Соискатель работает доцентом кафедры лазерных и биотехнических систем в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Самарский университет).

Диссертация выполнена на кафедре лазерных и биотехнических систем в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Самарский университет).

Научный консультант – доктор физ.-мат. наук, профессор Захаров Валерий Павлович, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Самарский университет), кафедра лазерных и биотехнических систем, заведующий кафедрой.

Официальные оппоненты:

- Кистенев Юрий Владимирович, доктор физ.-мат. наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, заместитель проректора по научной и инновационной деятельности, заведующий лабораторией лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения;

- Дунаев Андрей Валерьевич, доктор технических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел; ведущий научный сотрудник, научно-технологический центр биомедицинской фотоники, профессор, кафедра приборостроения, метрологии и сертификации;

- Горин Дмитрий Александрович, доктор химических наук, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», г. Москва, профессор, центр фотоники.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук (ФИАН), г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Рябовым Владимиром Алексеевичем, доктором физико-математических наук, профессором, заместителем директора по научной работе ФИАН, указала, что диссертация Братченко Ивана Алексеевича удовлетворяет требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор, Братченко Иван Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.5.2. - Биофизика.

Соискатель имеет 85 опубликованных научных работ по теме диссертации, в том числе 25 научных статей, включённых в перечень рекомендованных ВАК, и входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования WoS и Scopus, 48 статей в сборниках трудов конференций, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования WoS и Scopus, и 3 главы в коллективных монографиях.

Наиболее значимые публикации автора, сгруппированные по темам:

1 Захаров В.П., **Братченко И.А.**, с соавт. Диагностика кожных патологий на основе спектрального анализа обратного и комбинационного рассеяния // Оптика и спектроскопия. – 2013. – Т. 115. – №. 2. – С. 182-186. (5стр.).

2 Zakharov V.P., **Bratchenko I.A.**, et al. Raman spectroscopy diagnosis of skin tumor // Physics of wave processes and radio systems. – 2013. – Т. 16. – №. 3. – С. 73-78. (7стр.).

3 Захаров В.П., **Братченко И.А.**, Мякинин О.О. с соавт. Мультимодальная диагностика и визуализация онкологических патологий// Квантовая электроника 2014. — Vol. 44. Issue 8. — P. 726-731. (7 стр.).

4 **Братченко И.А.**, Захаров В.П., Артемьев Д.Н. и др. Возможности спектроскопии комбинационного рассеяния для дифференциальной диагностики новообразований кожи // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2015. — № Т. 17, № 2(3). — С. 542-547. (7 стр.).

Автор исследует спектральные свойства тканей кожи человека для создания высокоэффективных методов диагностики новообразований с применением различных оптических методик. Автором показано, что использование лазерного излучения с центральной длиной волны 785 нм при возбуждении рамановского сигнала позволяет с высокой эффективностью получать информацию об относительном содержании основных компонентов кожи. Такая информация может использоваться для создания неинвазивных методов диагностики (методов оптической биопсии), использующих данные рамановской спектроскопии.

5 Shatskaya A.A., Artemyev D.N., Bratchenko I.A. Modeling of Fiber Optic Probes for Selective Fluorescence Sensing of Multilayered Biological Tissues // Journal of Applied Spectroscopy 2020. — Vol. 87. Issue 1. — P. 112-120. (10 стр.).

В работе анализируется возможность использования оптических зондов для эффективной регистрации спектров флуоресценции биологических тканей. На примере тканей кожи человека продемонстрировано, что портативные спектральные системы с волоконными зондами могут быть использованы для регистрации флуорофоров кожи (таких как порфирины и флавины). Возбуждение сигнала флуорофоров возможно в видимой области спектра, а интенсивности регистрируемого сигнала достаточно для регистрации флуоресцентного отклика биоткани портативными спектральными приборами.

6 **Bratchenko I.A.**, Khristoforova Y.A., Bratchenko L.A. et al. Optical biopsy of amelanotic melanoma with Raman and autofluorescence spectra stimulated by 785 nm laser excitation // Journal of Biomedical Photonics and Engineering 2021. — Vol. 7. Issue 2. (9 стр.).

Автором исследуется возможность использования мультимодального метода анализа новообразований кожи применительно к диагностике редких заболеваний. Исследованы спектральные особенности беспиgmentных меланом при возбуждении флуоресцентного и рамановского сигнала лазером с длиной волны 785 нм. Показана возможность дифференцировать беспиgmentные и пигментные меланомы от доброкачественных новообразований с применением мультимодального метода оптической биопсии. Показано статистически значимое увеличение точности диагностики при использовании нескольких критериев анализа в мультимодальном подходе.

7 Al-Sammarräie S. Z., L.A. Bratchenko, E.N. Tyrikova, P.A. Lebedev, V.P. Zakharov, **I.A. Bratchenko**. Silver Nanoparticles-Based Substrate for Blood Serum Analysis under 785 nm Laser Excitation // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2022. – С. 010301. (11 стр.).

В работе анализируются спектры крови человека при возбуждении рамановского сигнала лазером с длиной волны 785 нм. В работе показан вклад основных компонентов крови в регистрируемый рамановский спектр. Состав регистрируемого сигнала позволяет определить спектральные области, в которые вносят вклад компоненты, содержащиеся в крови. В работе количественно исследовано среднеквадратичное отклонение регистрируемого рамановского сигнала компонент крови.

8 Zakharov V.P., Bratchenko I.A., Artemyev D.N. et al. Comparative analysis of combined spectral and optical tomography methods for detection of skin and lung cancers // *Journal of Biomedical Optics* 2015. — Vol. 20. Issue 2. 025003. 027005. (8 стр.).

9 Bratchenko I.A., Artemyev D.N., Myakinin O.O. et al. Combined Raman and autofluorescence ex vivo diagnostics of skin cancer in near-infrared and visible regions // *Journal of Biomedical Optics* 2017. — Vol. 22. Issue 2. (10 стр.).

В работах экспериментально исследованы спектральные характеристики кожи человека. Показано, что возбуждение оптического сигнала лазеров с длиной волны 785 нм позволяет уверенно регистрировать рамановские полосы в ближней ИК области спектра, а также позволяет регистрировать вклад таких флуорофоров как меланин. Возбуждение флуоресцентного сигнала с длиной волны 457 нм позволяет регистрировать в видимой области спектра вклад таких компонентов как порфирины, липиды и флавины. Показано, что возможна регистрация мультимодального сигнала оптической биопсии без повреждения исследуемых тканей кожи.

10 **Bratchenko I.A.**, Artemyev D.N., Khristoforova Y.A. et al. Use of Raman spectroscopy to screen diabetes mellitus with machine learning tools: Comment // *Biomedical Optics Express* 2019. — Vol. 10. Issue 9. — P. 4489-4491 (2 стр.).

11 Khristoforova Y.A., **Bratchenko I.A.**, Myakinin O.O. et al. Portable spectroscopic system for in vivo skin neoplasms diagnostics by Raman and autofluorescence analysis // *Journal of Biophotonics* 2019. — Vol. 12. Issue 4. (12 стр.).

12 Borisova E.G., **Bratchenko I.A.**, Khristoforova Y.A. et al. Near-infrared autofluorescence spectroscopy of pigmented benign and malignant skin lesions // *Optical Engineering* 2020. — Vol. 59. Issue 6. (11 стр.).

В работах обсуждается и показывается возможность использования портативных спектральных систем, обеспечивающих получение надежных данных при низком соотношении сигнал-шум регистрируемых сигналов рамановского рассеяния и флуоресценции для проведения оптической биопсии кожи человека. Показано, что несмотря на низкое соотношение сигнал-шум в регистрируемых спектральных данных, такие спектры можно использовать в задачах клинической диагностики. Важной при этом оказывается корректная валидация предлагаемых моделей классификации спектральных данных.

13 **Bratchenko I.A.**, Bratchenko L.A., Moryatov A.A. et al. In vivo diagnosis of skin cancer with a portable Raman spectroscopic device // *Experimental Dermatology* 2021. — Vol. 30. Issue 5. — P. 652-663. (13 стр.)

14 Bratchenko L.A., Khristoforova Y.A., Moryatov A.A. **Bratchenko I.A.** Raman spectroscopy based diagnosis of dermatofibrosarcoma protuberans: Case report // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy 2021. — Vol. 35. (3 стр.).

Предложен метод оптической биопсии новообразований кожи. В клинических условиях показана возможность диагностики злокачественных и доброкачественных новообразований кожи, обеспечивающей площадь под ROC-кривой на уровне 0.75 (0.71–0.79; 95% ДИ), а также позволяющей выявлять редкие злокачественные новообразования. Показано, что регистрация данных оптической биопсии в течение 1 минуты оказывается достаточной для обеспечения необходимой информативности регистрируемого спектрального сигнала, содержащего информацию о рамановском рассеянии и флуоресценции.

15 Bratchenko L.A., **Bratchenko I.A.**, Khristoforova Y.A. et al. Raman spectroscopy of human skin for kidney failure detection // Journal of Biophotonics 2021. — Vol. 14. Issue 2. (8 стр.).

Предложен метод неинвазивного определения патологий почек человека при анализе данных оптической биопсии, регистрируемых при возбуждении тканей кожи лазером с длиной волны 785 нм. Эффективность предложенного метода показана в клинических условиях. Выявлены специфические области спектра, содержащие информацию об изменении метаболизма человека в ходе старения и в ходе развития заболеваний почек. Показана точность 96% (94% чувствительность и 99% специфичность) при выявлении заболеваний почек с помощью оптической биопсии.

16 **Bratchenko I.A.**, Bratchenko L.A., Khristoforova Y.A., Moryatov A.A., Kozlov S.V., et al. Classification of skin cancer using convolutional neural networks analysis of Raman spectra. Computer Methods and Programs in Biomedicine. -2022. -106755. (5 стр.).

В работе предложен метод анализа данных оптической биопсии новообразований кожи с применением сверточных нейронных сетей. Показано, что комбинация слоев, включающая в себя сверточные, рекуррентные и полносвязные слои позволяет с высокой эффективностью (площадь под ROC-кривой 0,96 (0,94 - 0,97; 95% ДИ)) дифференцировать доброкачественные и злокачественные новообразования. При этом автором предложен алгоритм интерпретации работы модели классификации на основе сверточной нейронной сети. Данный алгоритм включает исследование важности переменных в модели при перестановке спектральных данных. Устойчивость работы предложенного классификатора доказана в ходе проведения кросс-валидации.

17 **Bratchenko I. A.**, Bratchenko L. A. Comment on “Combining derivative Raman with autofluorescence to improve the diagnosis performance of echinococcosis” // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2021. – Т. 252. – С. 119514. (5 стр.).

18 **Bratchenko I. A.**, Bratchenko L. A. Comment on “Finding reduced Raman spectroscopy fingerprint of skin samples for melanoma diagnosis through machine learning” // Artificial Intelligence in Medicine. – 2022. – Т. 125. – 102252. (2 стр.).

Автором показано, что переобучение моделей классификации спектральных данных приводит к существенному искажению в точности диагностики заболеваний. При переобучении моделей классификации спектральных данных высокая точность диагностики оказывается мнимой, а сама модель использует шумовые компоненты при проведении анализа спектральных данных. Устранение переобучения моделей классификации возможно за счет анализа важности переменных в проекции при исследовании информативного вклада отдельных спектральных участков в итоговую точность модели. Показано, что итоговая точность классификации заболеваний должна быть показана в ходе проведения перекрестной проверки данных получаемой модели классификации.

19 Zakharov V.P., **Bratchenko I.A.** et al. Multimodal Optical Biopsy and Imaging of Skin Cancer // Neurophotonics and Biomedical Spectroscopy, Edited by R. Alfano – Elsevier, 2019. – С. 449-476. (27 стр.).

20 Pozhar V.E., Machikhin A.S., **Bratchenko I.A.** et al. Application of Acousto-Optical Hyperspectral Imaging for Skin Cancer Diagnostics // Multimodal Optical Diagnostics of Cancer, Edited by V. Tuchin, J. Popp, V. Zakharov – Cham: Springer nature, 2020. – 32 p. (32 стр.).

21 **Bratchenko I.A.**, Artemev D.N., Khristoforova Yu.A. et al. Raman Spectroscopy Techniques for Skin Cancer Detection and Diagnosis // Multimodal Optical Diagnostics of Cancer, Edited by V. Tuchin, J. Popp, V. Zakharov – Cham: Springer Nature, 2020. – 35 p. (35 стр.).

Главы в коллективных монографиях являются обзорными и суммируют результаты касающиеся возможности применения оптической биопсии в диагностике новообразований кожи человека.

Содержащиеся в диссертации сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах достоверны.

На автореферат диссертации поступило 9 отзывов от

1. Прохорова Алексея Валерьевича, доктора физико-математических наук, профессора кафедры физики и прикладной математики ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых».

2. Конопацковой Ольги Михайловны, доктора медицинских наук, профессора кафедры факультетской хирургии и онкологии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

3. Командина Геннадия Анатольевича, доктора физико-математических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории широкополосной диэлектрической спектроскопии отдела субмиллиметровой спектроскопии ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН).

4. Ширшина Евгения Александровича, кандидата физико-математических наук, старшего научного сотрудника кафедры квантовой электроники отделения радиопизики физического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

5. Самусева Ильи Геннадьевича, кандидата физико-математических наук, директора департамента научно-исследовательских работ, директора НОЦ «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника» НТП «Фабрика» ОНК «Институт высоких технологий» ФГАБУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта».

6. Кукушкина Игоря Владимировича, доктора физико-математических наук, профессора, академика РАН, заведующего лабораторией неравновесных электронных процессов ФГБУН «Институт физики твердого тела имени Ю.А. Осипьяна» Российской академии наук (ИФТТ РАН).

7. Мачихина Александра Сергеевича, доктора технических наук, доцента, ведущего сотрудника ФГБУН «Научно-технологический центр уникального приборостроения Российской академии наук» (НТЦ УП РАН).

8. Каганова Олега Игоревича, доктора медицинских наук, доцента, заместителя главного врача по научной работе Самарского областного клинического онкологического диспансера (ГБУЗ СОКОД).

9. Пожара Витольда Эдуардовича, доктора физико-математических наук, профессора кафедры РЛ-2 ФГБОУ ВО «Московского государственного технического университета имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)».

Все отзывы положительные. В отзывах отмечается актуальность темы исследования, новизна полученных результатов и их значимость для науки и практики.

В отзывах на диссертацию и автореферат содержатся следующие замечания:

Замечания из отзыва ведущей организации:

1. Статистическая обработка зарегистрированных спектров проводилась автором с использованием метода главных компонент (РСА) без достаточного обоснования выбора данного метода. Автору следовало бы провести сравнительный анализ нескольких методов уменьшения размерности данных.

2. В третьей главе автором описывается предварительная обработка зарегистрированных спектров новообразований, заключающаяся в удалении базовой линии, сглаживании по методу Савицкого-Голея, нормализации и центрировании данных. Автору следовало бы проанализировать влияние различных методов предварительной обработки спектров и провести оценку их влияния на вид спектров и соотношение сигнал-шум.

3. Анализ спектров рамановского рассеяния при решении задачи классификации по различным новообразованиям реализован методами дискриминантного анализа с проекцией на латентные структуры (PLS-DA) и нейронных сетей. Автору следовало провести сравнительный анализ иных методов машинного обучения и оценить результаты обработки рамановских спектров этими методами (support vector machine, decision tree и другие) и оценить результаты обработки спектров этими методами.

4. В качестве основной длины волны для *in vivo* исследований тканей кожи автор выбрал длину волны 785 нм. Однако в главе 3 не приведено подробных объяснений выбора данной длины волны. В обзоре (глава 1) автор указал, что используются различные длины волн возбуждения для диагностики новообразований, поэтому следует пояснить, почему в клинической апробации автор использовал именно длину волны возбуждения 785 нм.

Замечания из отзыва официального оппонента Кистенева Юрия Владимировича

1. В тексте диссертации указывается, что предлагаемый классификатор на основе нейронной сети показывает более высокую точность разделения групп по сравнению с использованием проекции на латентные структуры. Также указывается, что данная разница является статистически значимой. При этом для других сравнений точности предлагаемых подходов отсутствует указание того, являются ли наблюдаемые различия статистически значимыми или нет.

2. Примеры экспериментально регистрируемых спектров, приведенных в главе 2, не содержат информации о разбросе параметров спектров (например, СКО). При этом в других главах (3-5) спектры новообразований приведены как среднее и СКО. С чем связано отсутствие данных по статистическому разбросу спектральных характеристик во второй главе?

3. Известно, что с возрастом в коже человека накапливаются не только конечные продукты гликирования, а также ряд других веществ, связанных с генетическими, гормональными и внутренними метаболическими реакциями. Поэтому возникает вопрос, как учитывался возраст испытуемых при построении моделей классификации?

Замечания из отзыва официального оппонента Дунаева Андрея Валерьевича

1. В диссертационной работе автором описывается предварительная обработка зарегистрированных спектров новообразований (удаление базовой линии, сглаживание фильтром Савицкого-Голея, нормализации и центрировании данных), однако не приведено обоснования использования данных методов и оценки их влияния на результаты дальнейшего анализа.

2. При описании экспериментального стенда регистрации рамановского рассеяния, представленного во второй главе, наряду с общей оценкой шумов следовало указать степень влияния на уровень шума в регистрируемых спектрах квантовой эффективности ПЗС-детектора, спектральной ширины линии генерации лазера, оптической плотности встроенных фильтров.

3. Анализ возможности выявления беспигментных меланом приведен лишь для 9 образцов тканей. Поэтому возникает вопрос, насколько статистически достоверны приводимые данные для возможности выявления беспигментных меланом.

4. В работе при сравнении результатов точности различных моделей классификации в главе 3 и главе 6 приводятся значения статистической значимости, при этом в главе 4 данные для статистической значимости отсутствуют.

5. Для демонстрации высокой точности оптической биопсии при выявлении социально значимых заболеваний автор выбрал такие заболевания как рак кожи и почечная недостаточность. Следует пояснить выбор именно этих заболеваний для демонстрации возможностей оптической биопсии, сочетающей рамановский и автофлуоресцентный анализ.

Замечания из отзыва официального оппонента Горина Дмитрия Александровича

1. Чем обусловлен выбор длин волн возбуждения 457 и 785 нм в качестве зондирующего излучения?

2. Во второй главе описана лабораторная установка, использованная для регистрации спектральных характеристик тканей кожи *ex vivo*. Не до конца понятен выбор составляющих установки (детектора, системы охлаждения, характеристик лазерных модулей).

3. Чем отличаются пункты «Основные результаты:» (стр. 11) от пункта «Основные результаты работы:» (стр. 12).

4. В тексте везде, где упоминается «низкое соотношение сигнал-шум» - это значения, превышающие 3? (стр. 5 Автореферата, п. 2 Основных научных положений)?

5. Диссертация, стр. 71, формулы 3.1 и 3.2: почему использовалось разное написание строчными и заглавными буквами «snr» и «SNR»?

6. Хотелось бы уточнить, что подразумевается под «точностью»: precision или accuracy? По тексту диссертации точность дается одним числовым значением, однако на стр. 75 можно встретить пояснение «точность (чувствительность и специфичность)».

7. Данный вопрос актуален, если «точность» = accuracy. Значение Accuracy зависит от сбалансированности классов. Рассматриваемые в работе выборки примерно сбалансированы, т.е. взяты примерно равные количества больных и здоровых. Однако справедливо ли будет такое соотношение (и, следовательно, значение accuracy) при реальном применении в клинике на потоке пациентов. А в случае редких заболеваний?

8. Там, где значение точности = 100%, а ROCAUC = 1, не было ли еще дополнительных факторов, приведших к такому исключительному качеству? Возможно, были критерии, по которым осуществлялся отбор спектров для построения модели.

9. На рис. 3 Автореферата, какова воспроизводимость измеренных спектров? Есть ли эти же данные с обозначением доверительных интервалов в каждой точке?

10. Можно ли оценивать соотношение амплитуд сигнала спектров комбинационного рассеяния и автофлуоресценции? Происходит ли измерение одновременно? Укладываются ли измеренные значения в динамический диапазон и чувствительность детектора(-ов)?

11. В главе 5, чем обусловлен выбор именно таких пар для попарных сравнений? Действительно ли именно эти пары имеют смысл и плохо различимы без предлагаемого метода?

12. Правильно ли я понимаю, что в работе нейросеть была обучена на достаточно малом количестве образцов? В то время как в общем считается, что обычно для обучения нейросети нужны по крайней мере тысячи примеров (но, естественно, могут быть и исключения). Однако, если данные просто различить, то обоснованно ли здесь использование именно такой сложной архитектуры, как нейросеть? Или же, почему удалось добиться такого хорошего качества нейросети на малом количестве образцов?

13. Глава 4, почему у испытуемых из контрольных групп взято по 2 спектра на человека, а у больных – 1?

Вопросы и замечания из отзывов на автореферат

Замечания и вопросы из отзыва Командина Геннадия Анатольевича на автореферат

Текст автореферата содержит ряд опечаток. Также представляется избыточным приведение некоторых деталей диссертационной работы в тексте автореферата, в частности, связанных с оценкой уровня шумов в использованных экспериментальных установках.

Замечания и вопросы из отзыва Ширшина Евгения Александровича на автореферат

1. По тексту автореферата несколько раз встречается термин «оптическая биопсия», при этом в русскоязычных источниках понятие «оптическая биопсия» чаще используется как синоним эндомикроскопии, в связи с чем применение автором термина требует комментариев.

2. На стр. 24 упоминается «Стабильность полученных классификационных моделей PLS-DA проверялась 10-кратной перекрестной валидацией», однако автором не указано, что являлось критерием стабильности/нестабильности.

Замечания и вопросы из отзыва Кукушкина Игоря Владимировича на автореферат

1. Возможно ли оценить погрешности при построении моделей, связанные с нестабильностью мощности лазерного излучения и спектрального положения исследуемых рамановских линий?

2. Периодичность VIP – компонент связана только с природой сигнала или в том числе и с аппаратной функцией детектора и наличием интерференционных фильтров в схеме спектрометра?

Замечания и вопросы из отзыва Мачихина Александра Сергеевича на автореферат

1. Не приведено обоснование оптимальности выбора используемой архитектуры сверточной нейронной сети для классификации спектральных данных.

2. Отсутствуют сведения об источниках систематических и случайных погрешностей проводимых спектральных измерений; их влиянии на вероятность корректного обнаружения патологий; аппаратных, методических и программных методах учета этих погрешностей; статистической оценки точности полученных результатов обработки с учетом используемой аппаратуры. Не ясно, будут ли справедливы полученные результаты и будут ли столь же эффективны предложенные алгоритмы при применении регистрирующей аппаратуры, отличной от использованной автором.

3. Из подписи и описания к рисунку 13 не ясно, в чем состоит отличие между различными группами дерматологов (экспертами-дерматологами, сертифицированными дерматологами и пр.).

Замечания и вопросы из отзыва Каганова Олега Игоревича на автореферат

1. На странице 10 приведено описание экспериментальной установки, но не указано, насколько успешно такие установки могут использоваться для *in vivo* анализа тканей? Может ли фактор использования нескольких лазеров повлиять на результаты эксперимента?

2. На рисунке 4 не подписаны оси координат и единицы измерения.

Замечания и вопросы из отзыва Пожара Витольда Эдуардовича на автореферат

1. Разработанные в работе методы диагностики используют данные, получаемые методом комбинационного рассеяния света, основанного на сдвиге частоты фотонов. При этом предложенные в качестве критериев параметры используют длину волны света (формулы 1-2). Аппроксимации функциональных зависимостей по частоте и по ее обратной величине (длине волны) не являются эквивалентными, и использование частоты в данном случае физически обоснованно и в общем случае должно давать большую точность.

2. Методы предварительной обработки спектров комбинационного рассеяния в автореферате описаны весьма кратко, что затрудняет понимание их физического

смысла. Полученные в работе и используемые для диагностики статистические корреляции спектральных особенностей, ассоциированных с наличием биологически активных веществ, нуждаются в биомедицинской интерпретации.

На замечания соискателем даны исчерпывающие ответы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается значительным опытом выполнения ими научно-исследовательских работ по тематике диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

предложен мультимодальный метод оптического зондирования тканей кожи человека, позволяющий выявлять компонентный состав продуктов метаболизма и их относительную концентрацию;

предложен метод оптической биопсии тканей кожи человека, позволяющий производить дифференциацию новообразований и выявлять наличие патологий почек, **показана** его эффективность в клинических исследованиях;

предложена архитектура нейросетевого классификатора, позволяющего с высокой эффективностью производить дифференциацию данных оптической биопсии;

предложены подходы, позволяющие верифицировать надежность моделей классификации спектральных данных;

доказано

- значимое отличие в форме и интенсивности спектров рамановского рассеяния и автофлуоресценции доброкачественных и злокачественных новообразований кожи;
- значимое отличие в форме и интенсивности спектров рамановского рассеяния и автофлуоресценции тканей кожи у больных с почечной недостаточностью и здоровых людей;
- возможно использовать анализ распределения важности спектральных полос для выделения информативной части данных оптической биопсии;
- возможно использовать перекрестную проверку для определения устойчивости моделей классификации спектральных данных;
- увеличение точности диагностики типа ткани кожи при использовании нейросетевых классификаторов по сравнению с применением метода проекции на латентные структуры;
- возможно выделение рамановской компоненты сигнала при одновременной регистрации рамановской и автофлуоресцентной составляющих при возбуждении тканей кожи лазерным излучением с длиной волны 785 нм;

введен способ расчета оптических коэффициентов, позволяющий определять относительную концентрацию флуорофоров в коже человека.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

в работе **изложены** новые фундаментальные знания о возможности использования данных автофлуоресцентного отклика и рамановского рассеяния тканей кожи человека при диагностике таких социально значимых заболеваний как рак кожи и патологии почек. Получены новые данные о возможности мультимодального анализа тканей кожи с применением данных оптической биопсии с использованием длины волны возбуждения 785 нм, которые позволяют установить относительную концентрацию химических компонентов в исследуемой ткани. **Доказано**, что разработанная методика классификации тканей кожи человека, использующая информацию об автофлуоресцентном и рамановском сигналах, возбужденных лазерным излучением с длиной волны 785 нм, позволяет расширить границы применимости полученных результатов и достичь точности более 93% (ROC AUC 0.96) при разделении злокачественных и доброкачественных тканей кожи.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что совокупность результатов, полученных в ходе проведенных исследований, можно охарактеризовать как решение актуальной научной проблемы, заключающейся в **разработке** универсального метода неинвазивного анализа тканей кожи человека, который может использоваться для диагностики рака и патологий почек. Полученные результаты способствовали развитию нового научного направления, состоящего в использовании оптической биопсии тканей кожи для повышения эффективности диагностики неинфекционных социально значимых заболеваний.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что достоверность представленных результатов обеспечена тщательной разработкой методик проведения эксперимента и анализа экспериментальных данных, применением современных экспериментальных методов измерений и сравнением, там, где это возможно, полученных результатов с данными стандартных исследований (гистологический анализ, биохимический анализ), а также с результатами имеющихся теоретических и экспериментальных исследований других авторов. Результаты получены на сертифицированном оборудовании, **показана** воспроизводимость результатов исследований. **Установлено** качественное и количественное согласие полученных данных с известными результатами теоретических и экспериментальных исследований в пересекающихся областях.

Личный вклад соискателя состоит в постановке задач, планировании экспериментов и интерпретации результатов и участии в создании экспериментальных установок и проведении исследований. В публикациях, где соискатель указан первым автором (18 работ) и последним автором (4 работы), он выполнял ведущую роль в постановке задач и их решении. В остальных работах автор принимал непосредственное участие в постановке задач, в создании математических моделей, экспериментальных работах, обсуждении и интерпретации результатов.

В ходе защиты диссертации были заданы следующие вопросы:

1. Насколько машинная обработка в процентном соотношении улучшает ваш метод? На сколько возрастает точность вашего метода?
2. Какой из методов, автофлуоресценция или рамановское рассеяние, наиболее эффективен и наиболее информативен? Почему?
3. Хорошо известно, что рамановские спектры кожи очень вариабельны в зависимости от возраста и состояния измеряемого пациента, поэтому очень важен выбор места, откуда регистрируются спектральные данные. Как проводился отбор субъектов и места для регистрации спектров? Каков разброс спектральных особенностей анализируемой ткани?
4. Поясните, в чем заключается физический смысл VIP-распределения? В термине «проекция на латентные структуры», поясните, что проецируется и на какие скрытые структуры.
5. Какие продукты метаболизма организма вы определяете? Все продукты метаболизма или начиная с определенной концентрации? Как определялась концентрация веществ: в определенном диапазоне, с пределом обнаружения, выше какой-то концентрации?
6. Почему для обозначения спектрального диапазона флуоресценции использовались обратные сантиметры? В каком диапазоне возбуждались спектры флуоресценции меланина?

7. При использовании нейронной сети какие данные были использованы в качестве обучающих, и как она обучалась?
8. Как анализировалось соответствие между данными машинного обучения и биохимическими процессами в исследуемых тканях? Как влияет, например, употребление пищи на регистрируемые спектры кожи?
9. Если сравнить ваш подход с точностью исследования спектров крови, то анализ крови более информативен. Почему выбрано именно исследование тканей кожи?

Соискатель Братченко И.А. ответил на заданные вопросы и привел собственную аргументацию:

1. Нейросетевой классификатор улучшает точность классификации примерно на 15%.
2. Из данных по диагностике патологий почек видно, что автофлуоресцентный анализ проигрывает рамановской спектроскопии в точности. Это связано с тем, что рамановский спектр содержит большее количество информативных полос.
3. Для минимизации внутригрупповой вариабельности регистрация спектральных характеристик производилась на тыльной стороне предплечья. Так как это место наименее подвержено воздействию внешних факторов, таких как ультрафиолетовое излучение. Исследование проводилось для людей с II фототипом кожи, в моделях классификации учитывался возраст пациентов. Например, это показано в случае диагностики патологий почек. Для одного участка исследуемой кожи, например, предплечья, разброс интенсивности рамановских полос не превышал 9%.
4. VIP-распределение или variable importance in projection (в русском «важность переменных в проекции») показывает информативность спектральных полос для решения задачи классификации. Чем выше значение VIP в конкретной спектральной полосе, тем более весомый вклад данная полоса вносит в итоговую классификацию. Термин «проекции на латентные структуры» является устоявшимся и давно используемым. В работе данный метод использовался для декомпозиции спектральных данных в новые пространства признаков, заранее неизвестные, но обеспечивающие классификацию целевых групп.
5. В работе рассматривались относительные концентрации веществ. Анализировались основные патолого-ассоциированные метаболиты, например, при развитии патологии почек, продукты конечного гликирования.
6. Это происходит потому, что для лазера 785 нм, спектры автофлуоресценции и рамановского рассеяния регистрируются и анализируются одновременно. Автофлуоресценция меланина регистрировалась в области примерно 800- 850 нм.
7. Данные для всех классификаторов делились на обучающую и тестовую выборки. На обучающей выборке классификаторы, в том числе нейросеть, обучались, а на тестовой выборке проверялась корректность обучения и устанавливалась точность работы классификатора.
8. Интерпретация результатов машинного обучения проводилась по данными работ других научных групп, для установления соответствия между спектральными особенностями ткани и ее биохимическим составом.
9. Анализ кожи – это полностью неинвазивное исследование, кроме того, на состав крови могут влиять различные факторы, например, употребление пищи.

В ходе защиты диссертации не были высказаны критические замечания.
В диссертации отсутствует заимствованный материал без ссылки на автора или источник заимствования, результаты научных работ, выполненные соискателем учёной степени в соавторстве, без ссылок на соавторов.

На заседании 17.11.2022 диссертационный совет принял решение: за решение крупной научной проблемы, заключающейся в разработке неинвазивных методов мультимодальной оптической биопсии на основе комбинации рамановской (комбинационного рассеяния) и автофлуоресцентной спектроскопии для диагностики новообразований кожи и патологий почек человека и создание математических методов интерпретации данных оптической биопсии, присудить Братченко Ивану Алексеевичу ученую степень доктора физико-математических наук по специальности 1.5.2.-Биофизика.

При проведении тайного электронного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, включая 4 дистанционных участников, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.2. - Биофизика, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали:

За – 15, против - нет, воздержались – нет.

Заключение составил

д.ф.-м.н., проф.

Берзин Кирилл Валентинович

Председатель диссертационного совета

д.ф.-м.н., проф., чл.-корр. РАН



Тучин Валерий Викторович

Учёный секретарь диссертационного совета

д.ф.-м.н., доцент

Геница Элина Алексеевна

17.11.2022 г.