

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ІМЕНІ П. Л. ШУПІКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДУДІН ОЛЕКСАНДР ЄВГЕНОВИЧ

УДК: 004.048:004.8:005:519.6:616.5-006.81-07

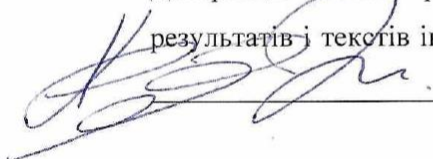
ДИСЕРТАЦІЯ
«ОПТИМІЗАЦІЯ ЗАСТОСУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЙ ЦИФРОВІЗАЦІЇ
ДАНИХ ОБСТЕЖЕНЬ В ПАТОЛОГІЇ»

091 «Біологія»

09 – Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



О. Є. Дудін

Науковий керівник: Мінцер Озар Петрович, доктор медичних наук
професор

Київ – 2026

АНОТАЦІЯ

Дудін О.Є. Оптимізація застосування технологій цифровізації даних обстежень в патології. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 – Біологія). – Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, МОЗ України, Київ, 2026.

Дисертаційна робота присвячена теоретичному узагальненню та вирішенню актуального науково-практичного завдання біології, пов'язаного з підвищенням ефективності технологій цифровізації даних обстежень та розробленню на цій основі прогностичних моделей для прийняття рішень у патології на прикладі меланому шкіри.

Розроблено нові підходи та систематизовано методи аналізу структурних і функціональних змін в організмі людини з точки зору ефективнішого використання технологій цифровізації даних за допомогою алгоритмів штучного інтелекту, перш за все, на основі методів машинного навчання, що допомагає в опрацюванні великих масивів даних, підвищенні точності діагностики та прогнозуванні результатів лікування. Даний підхід дозволив побудувати прогностичні моделі для обґрунтування прийняття рішень при менеджменті пацієнтів із меланомою шкіри за допомогою методів багатofакторної логістичної регресії та нейромережевого моделювання.

Дослідження представлено п'ятьма послідовними розділами, кожен із яких не лише вирішував певне завдання, але й був основою для наступних його етапів та узагальнення отриманих результатів.

Широке застосування та подальший розвиток цифрової патології не тільки суттєво впливає на покращення клінічної практики, але й являється запорукою нових технологічних підходів у лабораторно-діагностичному середовищі та наукових дослідженнях. Цифрова патологія стала зручним інструментом діагностики, логіки інтеграції даних, можливістю надання віддаленого доступу до слайдів та управління цифровими зображеннями, здійснення міждисциплінарної та трансдисциплінарної взаємодії спеціалістів,

нових горизонтів для їхнього безперервного професійного розвитку. Застосування цифрових технологій, пов'язано також із новими перспективами персоналізації діагностики та лікування, зокрема онкологічних захворювань.

Конвергенція цифрової патології та штучного інтелекту обумовила докорінну зміну існуючих парадигм у патології. Визначено, що завдяки цифровізації даних, біологи та лікарі отримують розширені можливості для підвищення точності, ефективності та узгодженості діагностики. Доступ до цифрових даних обстежень полегшує первинну діагностичну роботу, покращує аналіз зображень, проведення телеконсультацій, підвищує ефективність і збалансованість робочого навантаження, інноваційних досліджень. Показано, що виявлення субвізуальних морфометричних особливостей та інтеграція даних мультиоміки є передумовами покращення прогностичної і предиктивної інформації для персоналізації лікування онкологічних пацієнтів, зокрема з меланомою шкіри, що надає нове уявлення про людину в екосистемі та відкриває нові перспективи прецизійної медицини, побудованої на індивідуальних особливостях людини – генетиці, способі життя та навколишньому середовищі.

Високий рівень рецидивів і резистентність до лікування у пацієнтів із меланомою шкіри довели існування нагальної потреби у визначенні надійних онкомаркерів і розробленні нових методів діагностики та лікування для персоналізованих утручань, а постійне зміння умов існування людини потребує моніторингу ефективності інтегральних оцінок прогнозування. Тому ключовим елементом подальшого прогресу в діагностиці меланоми шкіри стає інтеграція мультимодальних онкологічних даних за допомогою штучного інтелекту та інших передових обчислювальних методів, а визначення ключових генетичних альтерацій, зокрема мутації у гені BRAF, є передумовою для персоналізації лікування пацієнтів із поширеними формами меланоми шкіри.

Розроблення прогностичних моделей для прийняття рішень у пацієнтів із меланою шкіри здійснювалось за трьома етапами: 1) аналіз змінних, асоційованих із наявністю та типом мутації у гені BRAF при меланомі шкіри задля визначення ключових факторів асоційованих із молекулярними характеристиками пухлини; 2) створення предиктивної моделі появи мутації у гені BRAF при меланомі шкіри, що є ключовим фактором при призначенні таргетної терапії; 3) обґрунтування моделі прогнозування динаміки патологічного процесу в пацієнтів; визначення груп високого та низького ризику розвитку рецидиву меланоми шкіри.

Виконано процедури клінічної та математичної селекції даних. При первинному екстрагуванні даних було відібрано 1268 випадків, із них 24 характеризувалися наявністю увеальної меланоми, 32 випадки меланоми слизових оболонок, 727 випадків із обмеженою кількістю доступних демографічних, клінічних і патологоанатомічних даних. Для реалізації мети дослідження залишили 485 випадків, серед яких у 299 випадках спостерігалася первина меланома шкіри та в 186 випадках – метастази. Загальна вибірка дослідження включала 299 пацієнтів із меланою шкіри.

Проведено аналіз частоти та структури мутації у гені BRAF при меланомі шкіри (МШ) в українській популяції. Визначено патогістологічні характеристики та клініко-демографічні дані, асоційовані з виявленою та не виявленою при меланомі шкіри мутації у гені BRAF. За допомогою математичного аналізу виявлено, що українська популяція демонструє високий рівень мутації у гені BRAF при МШ, пов'язаний із молодшим віком і локалізацією на шкірі. Виявлено також гендерні відмінності в анатомічному розподілі МШ та поширеності підтипу мутації у гені BRAF.

Уперше встановлено 6 ключових показників (вік, первинна локалізація пухлини, гістологічний тип, наявність виразки, лімфоваскулярна інвазія та асоціація з невусом), що асоційовані з наявністю мутації у гені BRAF, та на їх основі вперше розроблено нейромережеву предикативну модель, що дозволяє

оцінити вірогідність молекулярних порушень у гені BRAF. Чутливість нейромережевої моделі склала 89,4 % (95 % ДІ 84,5–93,1 %); специфічність – 50,7 % (95 % ДІ 42,2 %–59,1 %); прогностична значущість позитивної величини – 73, % (95 % ДІ 69,6 %–76,3 %); прогностична значущість негативної величини – 76,0 % (95 % ДІ 67,6 %–82,8 %). Площа під кривою операційних характеристик моделі AUC_{MLP} становить 0,79 (95 % ДІ 0,74–0,84), що свідчить про гарну узгодженість моделі прогнозування ризику наявності мутації у гені BRAF на основі 6 відібраних предиктивних показників.

Уперше виконано оцінювання прогностичної значущості клініко-демографічних, патогістологічних і молекулярно-генетичних факторів, що впливають на результат перебігу меланоми шкіри. Мультифакторний класифікатор, заснований на алгоритмах машинного навчання для прогнозування наявності мутації у гені BRAF у первинних і метастатичних меланомах шкіри, продемонстрував більш високу ефективність при об'єднанні клінічних, гістологічних та епігенетичних даних. Визначено, що найбільший вплив на прогноз розвитку рецидиву меланоми шкіри мають 5 ознак: стадія, кількість мітозів, наявність лімфоваскулярної та периневральної інвазії, регресія. На основі цих 5 факторних ознак побудовано багатофакторну модель ($\chi^2 = 42,9$, при 5 ступенях свободи, $p < 0,01$): площа під кривою операційних характеристик $AUC = 0,88$ (95 % ДІ 0,81–0,93), що свідчить про сильний зв'язок ризику появи рецидиву меланоми шкіри. При виборі оптимального порогу моделі $Y_{crit} > 0,52$ її чутливість склала 86,1 % (95 % ДІ 78,4 %–91,8 %), специфічність 72,7 % (95 % ДІ 49,8 %–89,3 %), прогностична значущість позитивної величини $PPV = 94,3$ % (95 % ДІ 89,3 %–97,0 %). Розроблена багатофакторна модель дозволяє визначити групу високого ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу, а також оптимізувати процес прийняття рішень у пацієнтів із меланою шкіри.

Застосування однофакторного та багатфакторного регресійного аналізів дозволило визначити незалежні змінні асоційовані з несприятливим прогнозом і підвищенням ризику виникнення рецидиву меланоми шкіри. Методом генетичного відбору визначено мінімальний набір змінних, пов'язаних із мутацією у гені BRAF, що включав вік, розташування пухлини, гістологічний тип, виразку, лімфоваскулярну інвазію та зв'язок із невусом. Для виявлення нелінійних зв'язків використовували нелінійне моделювання нейронної мережі. Доведено, що впровадження моніторингу та дотримання стандартних протоколів лікування може допомогти пом'якшити наслідки потенційного рецидиву.

Ключові слова: інформаційні технології, дані, цифрова патологія, оброблення зображень, машинне навчання, штучний інтелект, нейронні мережі, кластеризація, морфологія, меланома шкіри, моделювання, мутації у гені BRAF, пухлина, прогностична модель.

ANNOTATION

Dudin O.Ye. Optimization of Data Digitalization Technologies in Pathology.
– Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 "Biology" (09 – Biology). – Shupyk National University Healthcare of Ukraine, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2026.

The dissertation provides to the theoretical generalization and solution of a relevant scientific and practical problem in biology, related to increasing the efficiency of digitalization technologies to examination data and developing on this basis prognostic models for decision-making in pathology using the example of cutaneous melanoma.

New approaches have been developed and methods for analyzing structural and functional changes in the human body have been systematized from the point of view of more effective use of data digitization technologies using artificial

intelligence algorithms, primarily based on machine learning methods, which helps in processing large data sets, increasing the accuracy of diagnostics and predicting treatment outcomes. This approach allowed us to build prognostic models to substantiate decision-making in the management of patients with cutaneous melanoma using multifactor logistic regression and neural network modeling methods.

The research consists of five interrelated sections, each addressing a specific task and serving as the foundation for subsequent stages of analysis and the synthesis of the obtained results.

The widespread use and further development of digital pathology not only significantly affects the improvement of clinical practice, but also is a guarantee of new technological approaches in the laboratory diagnostic environment and scientific research. The use of digital technologies is also associated with new prospects for personalizing diagnostics and treatment, in particular, cancer.

The convergence of digital pathology and artificial intelligence is causing a fundamental change the paradigms of pathology. It has been determined that through the digitalization of data, biologists and physicians gain enhanced capabilities to improve the accuracy, efficiency, and consistency of diagnostics. It has been shown that the detection of subvisual morphometric features and the integration of multiomics data are prerequisites for improving prognostic and predictive information for personalizing the treatment of oncological patients, in particular with cutaneous melanoma, which provides a new understanding of the person in the ecosystem and opens up new prospects for precision medicine.

The high recurrence rate and resistance to treatment in patients with cutaneous melanoma have demonstrated the urgent need to identify reliable tumor markers and develop new diagnostic and treatment methods for personalized interventions, and the constant change in human conditions requires monitoring the effectiveness of integrated prognostic assessments. Therefore, the integration of multimodal oncological data using artificial intelligence and other advanced

computational methods is a key element for further progress in the diagnosis of cutaneous melanoma, and the identification of key genetic alterations, in particular BRAF gene mutations, is a prerequisite for personalizing the treatment of patients with advanced forms of cutaneous melanoma.

Clinical and mathematical data selection was carried out. Initially, 1268 cases were extracted; among them, 24 were uveal melanomas, 32 mucosal melanomas, and 727 cases had limited demographic, clinical, and pathological data. Ultimately, 485 cases were included: 299 with primary cutaneous melanoma and 186 with metastases. Thus, the final sample for the research comprised 299 patients with cutaneous melanoma.

An analysis of the frequency and structure of BRAF mutation in cutaneous melanoma (CMM) in the Ukrainian population was conducted. Using mathematical analysis, it was found that the Ukrainian population demonstrates a high level of BRAF mutation in MS, associated with younger age and localization on the skin.

For the first time, 6 key indicators (age, primary tumor location, histological type, presence of ulcer, lymphovascular invasion, and association with nevus) associated with the presence of BRAF mutation were identified, and based on them, a neural network predictive model was developed for the first time, allowing to assess the probability of molecular disorders in BRAF genes. The sensitivity of the model was 89.4 % (95 % CI 84.5–93.1 %); specificity – 50.7 % (95 % CI 42.2–59.1 %). The area under the ROC curve (AUCMLP) was 0.79 (95 % CI 0.74–0.84), indicating good consistency of the model in predicting the presence of BRAF mutations based on the six selected predictive variables.

For the first time, the prognostic significance of clinico-demographic, pathohistological, and molecular-genetic factors influencing melanoma outcomes was evaluated. Stage, mitotic count, lymphovascular and perineural invasion, and regression signs had the greatest impact on recurrence risk. Based on these five factors, a multivariate model ($\chi^2=42.9$, $df=5$, $p<0.01$) was built, demonstrating an AUC of 0.88 (95 % CI 0.81–0.93), confirming a strong correlation between

recurrence risk and the five prognostic factors. The developed multifactorial model allows us to identify a group at high risk of developing a recurrence of the malignant process, as well as optimize the decision-making process in patients with cutaneous melanoma.

Univariate and multivariate regression analyses identified independent variables associated with an unfavorable prognosis and increased risk of melanoma recurrence. Nonlinear neural network modeling was used to identify nonlinear relationships. It was proven that systematic monitoring and adherence to standardized treatment protocols can mitigate potential recurrence consequences.

Keywords: information technology, data, digital pathology, image processing, machine learning, artificial intelligence, neural networks, clustering, morphology, cutaneous melanoma, modeling, BRAF gene mutations, tumor, prognostic model.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobyliak N, Kozakov D, Livshun S, et al. Defining the high-risk category of patients with cutaneous melanoma: a practical tool based on prognostic modeling. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2025; 12. DOI:10.3389/fmolb.2025.1543148. *(Здобувачем виконано концептуалізацію, аналіз та оброблення даних, формування висновків, написання статті).*

2. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobyliak N, Kaminskyi D, Matvieieva A, et al. Predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma using neural network analysis. *Journal of Skin Cancer*. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1155/jskc/3690228>. *(Здобувачем розроблено концепцію та дизайн дослідження, проведено оброблення даних, підготовано текст статті).*

3. Dudin O, Sulaieva O, Koshyk O, Panko M, Kobylak N. Digital pathology implementation in cancer diagnostics: towards informed decision-making. Front Digit Health. 2024;6:1358305. DOI: 10.3389/fdgth.2024.1358305. *(Здобувачем проведено збір та оброблення даних, формування висновків, підготовано текст статті).*

4. Dudin O, Mintser O, Kobylak N, Kaminskyi D, Shabalkov R, Matvieieva A, et al. Incidence of BRAF mutations in cutaneous melanoma: histopathological and molecular analysis of a Ukrainian population. Melanoma Manag. 2023;10(1):MMT64. DOI: 10.2217/mmt-2023-0005. *(Здобувачем визначено дизайн дослідження, проведено аналіз та оброблення даних, сформульовано висновки, підготовано текст статті).*

5. Dudin O, Mintser O, Sulaieva O. Artificial intelligence and next generation pathology: towards personalized medicine. Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci. 2021;65(2). DOI: 10.25040/ntsh2021.02.07. *(Здобувачем проведено збір та аналіз даних, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*

6. Дудін ОЄ, Мінцер ОП, Сулаєва О. Цифрова патологія в роботі медичної лабораторії. Аналітичний огляд. Медична інформатика та інженерія. 2020;3: 41-50. DOI: 10.11603/mie.1996-1960.2020.3.11608. *(Здобувачем проведено аналіз та оброблення даних, підготовано текст статті).*

7. Дудін ОЄ. Цифрова патологія при меланомі: досягнення, бар'єри та перспективи. Медична інформатика та інженерія. 2022;4:9-20. DOI: <https://doi.org/10.11603/mie.1996-1960.2022.4.13411>.

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Дудін ОЄ. Оптимізація застосування цифровізації даних обстежень в патології. В: «YOUNG SCIENCE 6.0 – Конференція молодих вчених в медицині». Матеріали наук.-практ. конф.; 2025 трав. 15; Київ. К.: НУОЗ України імені П. Л. Шупика; 2025. С. 161-5. Доступно: https://www.nuozu.edu.ua/images/Nauka/16_07_25-1.pdf.

9. Dudin O, Mintser O, Sulaieva O. Uncovering factors predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma. American Journal of Clinical Pathology. Volume 162, Issue Supp. 1, 2024, P. S136. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aaqae129.302>. *(Здобувачем проведено аналіз та оброблення матеріалу, участь у формуванні висновків, підготовано тези до друку).*

10. Dudin O, Sulaieva O. The role of medical laboratories in transdisciplinary research projects on biomaterials. Joint International Conference Functional Materials and Nanotechnologies and Nanotechnology and Innovation in the Baltic Sea Region. 2022 липня 3-6; Рига, Латвія. Riga: University of Latvia, 2022. P. 96. ISBN 978-9934-23-645-7. Доступно: https://www.cfi.lu.lv/fileadmin/user_upload/lu_portal/projekti/cfi/Konferences/FM_NT/2022_FMNT_NIBS/FMNT-NIBS_2022_Book_of_abstracts_compressed.pdf. *(Здобувачем проведено збір і аналіз матеріалу, участь у формуванні висновків, підготовано текст).*

Наукові праці, що додатково відображають наукові результати дисертації:

11. Dudin O, Sulaieva O, Artamonova O, Semikov R, Urakov D, Zakharash Yu, et al. Ethical navigation of biobanking establishment in Ukraine: learning from the experience of developing countries Journal of Medical Ethics, 2023, p. jme-2023;109129. DOI: <https://doi.org/10.1136/jme-2023-109129>. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, підготовано текст статті до друку).*

12. Sulaieva O, Dudin O, Botsun P, Pischanska S, Karpachova V, Omelianenko I, et. al. The detrimental consequences of two consecutive disasters impacting cytopathology in Ukraine: COVID followed by the war. Cytopathology. 2023 Sep;34(5):442-9. DOI: 10.1111/cyt.13236. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, підготовано текст статті до друку).*

13. Dudin O, Sulaieva O, Falalyeyeva T, Kobylia N, Pellicano R. Precision oncology: ethical challenges and justification. Minerva Med. 2022;113(4):603-5.

DOI: 10.23736/S0026-4806.22.08063-6. *(Здобувачем проведено збір та аналіз даних, участь у формуванні висновків).*

14. Sulaieva O, Shcherbakova A, Dudin O. Adjusting Laboratory Practices to the Challenges of Wartime. *Narrat Inq Bioeth.* 2023;13(3):155-8. DOI: 10.1353/nib.2023.a924178. *(Здобувачем проведено узагальнення та формування списку літератури, збір і аналіз даних).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	15
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1. ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ЦИФРОВОЇ ПАТОЛОГІЇ	25
1.1. Сучасні принципи цифрової патології	25
1.2. Трансформації у структурі патології, обумовлені застосуванням інформаційних технологій	36
1.3. Застосування штучного інтелекту в цифровій патології	40
1.4. Сучасний стан цифрової патології у діагностиці меланоми	43
1.5. Просторові -omics та цифрова патологія при меланомі шкіри	47
Висновки до розділу	52
РОЗДІЛ 2. ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ	53
2.1. Системно біологічні уявлення в проведенні дослідження	54
2.2. Етичний імператив прозорості використання інструментів захисту та шляхи подолання бар'єрів у впровадженні цифрової патології	56
2.3. Методологія розроблення предиктивної моделі для оцінювання вірогідності мутації у гені BRAF при меланомі шкіри. Особливості дизайну	63
2.4. Кількісна складова експериментальної частини дослідження	66
2.5. Методи оброблення результатів дослідження	71
2.5.1. Використання методів логістичної регресії	73
2.5.2. Використання ROC-аналізу	73
Висновки до розділу	75
РОЗДІЛ 3. КОНЦЕПТУАЛІЗАЦІЯ ПОНЯТЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЦИФРОВІЗАЦІЇ ДАНИХ НА ПРИКЛАДІ МЕЛАНОМИ ШКІРИ	76
3.1. Обґрунтування необхідності цифровізації даних у діагностиці захворювань	76

3.2.	Оцінювання частоти та спектру мутації у гені BRAF в українській популяції	80
3.3.	Дослідження частоти та спектру мутації у гені BRAF у зв'язку з перебігом меланоми шкіри	90
3.3.1.	Зв'язок між мутацією у гені BRAF і анатомічним розташуванням меланоми	90
3.3.2.	Зв'язок між статусом BRAF і гістологічними особливостями первинної меланоми шкіри	91
	Висновки до розділу	93
	РОЗДІЛ 4. РОЗРОБЛЕННЯ ПРОГНОСТИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ПРИ МЕЛАНОМІ ШКІРИ	94
4.1.	Побудова предиктивної моделі прогнозування мутації у гені BRAF	94
4.2.	Прогностичне значення клініко-інструментальних ознак для прогнозування мутації у гені BRAF	95
4.3.	Використання логістичної регресії та нейронної мережі для прогнозування мутації у гені BRAF	102
	Висновки до розділу	106
	РОЗДІЛ 5. ЗАСТОСУВАННЯ ПРОГНОСТИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ СТРАТИФІКАЦІЇ РИЗИКУ РОЗВИТКУ РЕЦИДИВУ МЕЛАНОМІ ШКІРИ	108
5.1.	Характеристики груп ризику розвитку рецидиву меланоми шкіри	108
5.2.	Аналіз прогностичної значущості факторів ризику розвитку рецидиву меланоми шкіри	111
	Висновки до розділу	118
	ВИСНОВКИ	120
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	123
	ДОДАТКИ	148

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГН	глибоке навчання (Deep Learning)
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота (Deoxyribonucleic Acid)
ВЦС	візуалізація цілісного слайда (WSI – Whole Slide Imaging)
ІГХ	імуногістохімія
ІТ	інформаційні технології
ЛВІ	лімфоваскулярна інвазія (LVI – Lymphovascular Invasion)
МН	машинне навчання (Machine Learning)
МШ	меланоми шкіри (Cutaneous Melanoma)
ЦП	цифрова патологія (Digital Pathology)
ШІ	штучний інтелект (Artificial Intelligence)
AIC	інформаційний критерій Акаїке
AUC	площа під кривою (Area Under the Curve)
AUROC	площа під кривою робочої характеристики приймача (Area Under the Receiver Operating Characteristic curve)
BRAF	протоонкоген B-Raf (Proto-oncogene B-Raf)
CAP	Американський коледж патологів (College of American Pathologists)
CNN	згортова нейронна мережа (Convolutional Neural Networks)
CPATH	комп'ютерна патологія (Computational pathology)
CSNA	крос-національний аналіз (Cross-National Analysis)
CTLA-4	імуnoreгуляторні цілі (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4)
CUP	рак невідомого первинного осередку (Cancer of Unknown Primary)
DAS	прямо підключене зберігання даних (Direct Attached Storage)
FMs	фундаментальні моделі (Foundation Models)
GAN	енеративно-змагальні мережі (Generative adversarial network)
GNN	графова нейронна мережа (Graph Neural Network)
LRF	функція логістичної регресії (Logistic regression fusion)

LSTM	довга короткочасна пам'ять (Long short-term memory)
LVI	лімфоваскулярна інвазія (lymphovascular invasion)
MIA	інгібітор активності меланоми (Melanoma Inhibitory Activity)
MLP	багатошаровий перцептрон (Multilayer Perceptron)
MuL	мультимодальне навчання (Multimodal learning)
NAS	пошук архітектури нейронних мереж (Neural Architecture Search)
NOC	не класифіковано іншим чином (Not Otherwise Classified)
NOS	локалізація не специфікована іншим чином (Not Otherwise Specified)
PCA	метод головних компонент (Principal component analysis)
Pd	ральний розподіл даних (Real Data Distribution)
PD-1	імунорегуляторні цілі (Programmed Cell Death Protein 1)
PG	розподіл ймовірностей генератора (Generator Probability Distribution)
PLS	частково найменші квадрати (Partially least squares)
PPV	позитивна прогностична цінність (Positive Predictive Value)
NPV	негативна прогностична цінність (Negative Predictive Value)
QCA	порівняльний аналіз (Qualitative Comparative Analysis)
RNN	рекурентні нейромережі (Recurrent Neural Network)
ROI	регіон інтересу (Region of Interest)
SAE	розріджений автокодер (Sparse Autoencoder)
SKCM	меланома шкірного покриву (Skin Cutaneous Melanoma)
SN	рецидивуючий меланоцитарний невус (Spitz Nevus)
SSAE	складені розріджені автокодери (Stacked Sparse Autoencoders)
SSM	меланома з поверхневим поширенням (Superficial Spreading Melanoma)
SVM	опорно-векторна машина (Support Vector Machine).
TCGA	атлас геному раку (The Cancer Genome Atlas)
VAE	варіаційний автокодер (Variational Autoencoder)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Впровадження цифрових інструментів є одним із пріоритетів розвитку сучасної патоморфологічної лабораторії. Штучний інтелект розкриває широкий спектр можливостей для поліпшення й прискорення патоморфологічної діагностики. Окрім оптимізації робочих процесів і підтримки в навчанні, алгоритми на основі штучного інтелекту в комплексі сприяють підвищенню точності патоморфологічної діагностики та розширення аналізу прогностичних і предиктивних біомаркерів. Але залишається ще багато викликів до ефективної організації співпраці штучного інтелекту (ШІ) та спеціаліста патолога особливо для персоналізації менеджменту пацієнтів із меланою шкіри.

В сучасній практиці патоморфологічна діагностика меланоми шкіри ґрунтується на оцінюванні морфологічних параметрів відповідно до протоколів Американського коледжу патологів (CAP), що передбачають визначення не тільки гістологічного типу первинної пухлини, але й глибини інвазії за класифікацією Бреслоу та Кларк [13] і низки численних прогностичних факторів [23]. При прийнятті клінічних рішень суттєвим фактором при меланомі шкіри виступає визначення генетичних порушень, оцінювання яких проводиться із застосуванням дороговартісних молекулярно-генетичних методів, доступність яких обмежена через економічні та інфраструктурні чинники. Визначення ключових генетичних альтерацій, зокрема мутацій у гені BRAF, що визначаються у 58 % пацієнтів із меланою шкіри, являється передумовою персоналізації лікування пацієнтів із поширеними формами меланоми шкіри [130].

Отже, можна визначити ключові вектори розроблення та впровадження алгоритмів машинного навчання для оптимізації патоморфологічної діагностики та спрямованої підтримки у прийнятті клінічних рішень:

- 1) розроблення алгоритмів діагностики меланоми шкіри, визначення «зон інтересу» для патолога та оцінювання відповідно до протоколів CAP, зокрема кількісних та якісних параметрів, що впливають на стадіювання та прогноз;
- 2) розроблення алгоритмів оцінювання вартових лімфатичних вузлів на основі детекції імунопозитивних клітин – дозволяє зменшити навантаження на патолога, об'єктивізувати та прискорити оцінювання препаратів;
- 3) предикція генетичних альтерацій на основі аналізу зображень та субвізуальних ознак, асоційованих із найбільш частими молекулярними змінами в клітинах меланоми, що є визначальним у скороченні часу діагностики до моменту призначення лікування та фінансового навантаження на систему охорони здоров'я.

Серед ключових елементів впровадження інформаційних технологій у стратегії цифрової патології виокремлюють:

1. Підвищення точності діагностики (впровадження цифрової патології та системи оброблення цифрових зображень у поєднанні з застосуванням математичного моделювання підвищує точність і мінімізує ризики помилок при діагностиці меланоми).

2. Отримання та використання незалежного оцінювання у формалізації патологічної картини (на відміну від традиційної патології, застосування цифрової патології дозволяє провести незалежне оцінювання зображень гістологічних препаратів онлайн у режимі реального часу або десинхронізовано. Це визначає можливість перехресного аналізу та контролю якості діагностики, а також отримання другої думки у складних випадках).

3. Предикція молекулярно-генетичних порушень при меланомі шкіри (визначення вірогідності наявності тих чи інших варіантів генетичних порушень та аналізу предиктивної значущості різних чинників дозволить оптимізувати менеджмент і економічні витрати, поліпшити алгоритми прийняття рішень стосовно молекулярно-генетичного тестування та

персоналізації лікування пацієнтів відповідно до виявлених генетичних порушень).

4. Прогнозування перебігу меланоми шкіри (застосування математичного моделювання дозволяє оптимізувати комплексний аналіз клінічних, демографічних, патологічних і молекулярно-генетичних даних, та визначити ключові прогностичні чинники, що впливають на результат перебігу меланоми шкіри).

5. Інтеграція з передовими технологіями (отримані результати можуть стати основою інтеграції з інструментами обчислювальної патології спрямованої на підтримку патології при діагностиці, прогнозуванні та субвізуальній предикції молекулярного профілю пухлини).

Зазначене обумовило актуальність даного дослідження, визначило його мету, завдання, структуру та дизайн.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у рамках науково-дослідних робіт кафедри природничих наук, інформаційних технологій та філософії Національного університету охорони здоров'я (НУОЗ) України імені П. Л. Шупика: «Теоретичне обґрунтування засад створення систем отримання, оброблення та передавання медичних знань за допомогою інформаційно-комунікативних та інформаційно-когнітивних технологій» (номер державної реєстрації 0117U007598) та «Обґрунтування концептуальних та інформаційних принципів теорії трансферу знань. Створення Універсуму медико-біологічних знань» (номер державної реєстрації 0123U103474).

Мета та завдання дослідження. Мета дослідження – підвищення ефективності технологій цифровізації даних обстежень та розроблення на цій основі прогностичних моделей для прийняття рішень у патології (на прикладі меланоми шкіри).

Для досягнення поставленої в дослідженні мети передбачалось вирішити такі завдання:

1. Визначити сучасний стан цифрової патології та проаналізувати її трансформації на основі інформаційних технологій.
2. Обґрунтувати логіку прийняття рішень при обробленні результатів досліджень на основі трансдисциплінарного підходу.
3. Дослідити частоту та спектр мутації у гені BRAF при меланомі шкіри в українській популяції.
4. Встановити прогностичні фактори, що впливають на результат меланоми шкіри при діагностиці.
5. На основі нейромережевого аналізу розробити модель застосування багатошарового перцептронну для прогнозування мутації у гені BRAF та оцінювання доцільності проведення молекулярно-генетичного дослідження.
6. Дослідити фактори ризику виникнення рецидиву меланоми шкіри, що відображають її біологічну поведінку.
7. Побудувати багатофакторну модель для стратифікації ризику розвитку рецидиву меланоми шкіри.

Об'єкт дослідження: процеси цифровізації даних, використання прогностичних і предиктивних математичних моделей для оптимізації прийняття рішень у патології.

Предмет дослідження: біомаркери, частота та спектр мутації у гені BRAF, методи нейромережевого моделювання, прогностичні чинники, фактори ризику рецидиву.

Методи дослідження. Математико-статистичні методи (варіаційної та альтернативної статистики, факторний аналіз), математичне моделювання (однофакторний аналіз, багатофакторні моделі логістичної регресії, метод покрокового включення/виключення, аналіз кривої операційних характеристик із прорахунком площі під ROC кривою (AUROC)) та прогнозування, методи класифікації.

Для дослідження частоти та спектру мутації у гені BRAF та виявлення прогностичних факторів перебігу меланоми шкіри використовували демографічні та клініко-лабораторні дані, а також результати патоморфологічних досліджень меланоми шкіри, молекулярно-генетичних досліджень. Для побудови прогностичних моделей застосовували нейромережевий аналіз (багатошаровий персептрон (MLP), нелінійні нейромережеві моделі, метод генетичного алгоритму відбору тощо).

Дослідження виконано на базі кафедри природничих наук, інформаційних технологій та філософії НУОЗ України імені П. Л. Шупика та клініко-діагностичної лабораторії товариства з обмеженою відповідальністю «СІ ЕС ДІ ХЕЛС КЕА» (CSD) протягом 2021-2024 рр. База деперсоналізованих даних була екстрагована та опрацьована з біобанку CSD BIO (наказ від 02.01.2019 № 3-ОД). Дозволи лабораторії та біобанку на оброблення дослідником даних отримано.

Статистичний аналіз проводили із застосуванням MedCalc® Statistical Software version 22.016 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023) і програмного забезпечення GraphPad Prism (GraphPad Prism Version 10.0.3 (217) GraphPad Software, www.graphpad.com). Частину оброблення даних здійснювали із застосуванням сучасних пакетів прикладних програм: Statistica 10 (ліцензія № STA999K347156-W), Microsoft Excel 2016, Statgraphics for Windows.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у тому, що з використанням нових інформаційних технологій уперше в Україні:

1. На основі проведеного аналізу частоти та структури мутації у гені BRAF при меланомі шкіри в українській популяції шляхом повної цифровізації досліджень визначено незалежні змінні асоційовані з несприятливим прогнозом і підвищенням ризику рецидиву меланоми шкіри.

2. Розроблено нейромережеву предикативну модель, що дозволяє оцінити вірогідність молекулярних порушень у гені BRAF.

3. Оцінено прогностичну значущість демографічних, патогістологічних і молекулярно-генетичних факторів, що впливають на результат перебігу меланоми шкіри. Визначено, що кількість метозів, а також ознаки регресії мають найбільший вплив на прогноз розвитку рецидиву меланоми шкіри.

4. Встановлено шість ключових показників (вік, первинна локалізація пухлини, гістологічний тип, наявність виразкування, лімфоваскулярна інвазія та асоціація з невусом), що асоційовані з наявністю мутації у гені BRAF, на основі яких уточнено розроблену нейромережеву предикативну модель, що дозволяє оцінити вірогідність молекулярних порушень у гені BRAF.

5. На основі визначених п'яти факторних ознак побудовано багатофакторну модель розрахунку ризику рецидиву меланоми шкіри ($\chi^2=42,9$, при 5 ступенях свободи, $p<0,01$), що дозволяє визначити групу високого ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу, а також оптимізувати процес прийняття рішень у пацієнтів із меланомою шкіри.

Практичне значення отриманих результатів. Зроблено суттєві кроки в персоналізації прийняття рішення стосовно лікування меланоми шкіри на основі визначення групи високого ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу.

Використовуючи методи цифровізації даних і технології штучного інтелекту при біолого-генетичному відборі, було визначено мінімальний набір змінних, пов'язаних із мутацією у гені BRAF (вік, первинне розташування пухлини, гістологічний тип, виразка, LVI та зв'язок із невусом), що дозволяє зменшити час на обстеження пацієнта з приводу мутації у гені BRAF. Рекомендовано для нелінійних зв'язків між показниками стану пацієнта застосовувати моделювання методом нейронних мереж.

Для пом'якшення наслідків потенційного рецидиву меланоми шкіри запропоновано впровадження моніторингу стану пацієнта та дотримання стандартних протоколів лікування.

Оскільки доведено, що українська популяція демонструє високий рівень мутації у гені BRAF при меланомі шкіри, пов'язаний із молодшим віком і локалізацією на шкірі (що не піддається впливу сонця), рекомендовано приділяти підвищену увагу цим контингентам осіб.

Результати дисертаційного дослідження впроваджено в діяльність КНП «Обласний клінічний онкологічний центр Кіровоградської обласної ради», КП «Рівненський обласний протипухлинний центр Рівненської обласної ради». Основні положення роботи використано в освітньому процесі кафедри природничих наук, інформаційних технологій та філософії і кафедри клінічної патології та судової медицини НУОЗ України імені П. Л. Шупика; кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Розробки та впровадження підтверджено відповідними актами.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто отримано всі положення, що виносяться на захист. Обґрунтовано вибір теми дослідження, проведено пошук і аналіз джерел інформації, сформульовано мету та завдання дослідження, визначено дизайн дослідження: розроблено програму дослідження, проведено збір первинного матеріалу й обрано методи дослідження, сформовано досліджувані групи. Шляхом повної цифровізації досліджень визначено незалежні змінні асоційовані з несприятливим прогнозом і підвищенням ризику рецидиву меланоми шкіри. Розроблено нейромережеву предикативну модель. Побудовано багатофакторну модель розрахунку ризику рецидиву меланоми шкіри. Також проведено математико-статистичне оброблення та узагальнено отримані результати, обґрунтовано наукові положення, сформульовано висновки та практичні рекомендації, а також написано всі розділи дисертаційної роботи.

У роботах, виконаних у співавторстві, внесок автора є визначальним і полягає у формуванні інформаційної бази даних, мети та завдань, визначенні

дизайну досліджень, аналізі результатів, їх інтерпретації, підготовці публікацій до друку. Ідеї співавторів не використовувалися.

Апробація матеріалів дисертації. Основні теоретичні положення та практичні результати дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на конференціях і форумах: міжнародній конференції «80th International Scientific Conference of the University of Latvia» (Рига, Латвія, 10-12 лютого 2022 р.); міжнародній науковій конференції «Joint International Conference Functional Materials and Nanotechnologies and Nanotechnology and Innovation in the Baltic Sea Region» (м. Рига, Латвія, 3-6 липня 2022 р.); міжнародній науковій конференції «Штучний інтелект в науці та освіті» (м. Київ, 1-2 березня 2024 р.); міжнародній конференції Американського товариства клінічної патології (ASCP 2024) (м. Чикаго, США, 15 жовтня 2024 р.); науково-практичній конференції «Young science 6.0 – Конференція молодих вчених в медицині» (м. Київ, 15 травня 2025 р.).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 14 наукових праць, серед яких: 3 статті у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (зокрема, 1 – одноосібна, 1 – Scopus, Q3), 4 статті в закордонних періодичних наукометричних виданнях Scopus та Web of Science (зокрема, 3 – Q1, Q3), 3 тези доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, 4 праці в інших виданнях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів із висвітленням результатів власних досліджень і висновків, списку використаних джерел, 4 додатків. Дисертаційна робота викладена на 160 сторінках (основний текст подано на 116 сторінках), містить 8 рисунків, 10 таблиць. Список використаних джерел включає 207 найменувань, зокрема 202 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ЦИФРОВОЇ ПАТОЛОГІЇ

Прогрес у розробленні алгоритмів діагностики та прогнозування патологічних процесів, широке впровадження обчислювальних потужностей та управління великими наборами даних активно увійшли у різні сфери життя, зокрема в біологію та охорону здоров'я [6, 34, 50, 111, 140]. Машинне, глибоке та федеративне навчання застосовується в багатьох сферах біомедицини та є невід'ємним елементом і передумовою розвитку цифрової патології [111, 150]. Підкреслимо, що остання досить швидко пройшла шлях від перших досліджень присвячених використанню комп'ютеризованого аналізу зображень клітин і хромосом до одного з основних та ефективних інструментів вирішення низки не тільки консультаційних, освітніх, а й клінічних завдань [139].

1.1. Сучасні принципи цифрової патології

У реаліях «великих даних» провідним обмеженням діагностики забарвлених препаратів залишається людський фактор. Гістологічний висновок історично формувався завдяки візуальному розпізнаванню та напівкількісному опису сукупності морфологічних ознак у контексті основного патологічного процесу. Для підвищення точності та забезпечення об'єктивної узгодженості між спостерігачами, більшість біологів і лікарів користуються спрощеними алгоритмічними «деревами рішень», що допомагають установити гістологічний діагноз і стратифікувати пацієнтів на відтворювані категорії за типом пухлини та її агресивністю [50, 111]. Втім, навіть за наявності таких бінарно орієнтованих підходів і чітко окреслених характеристик розбіжності між експертами різних спеціальностей і

субспеціальностей не зникають, що спричиняє діагностичні розходження й потенційно неоптимальні клінічні рішення.

Систематичне навчання та застосування стандартизованих настанов справді гармонізують аналітичний процес і поліпшують точність, однак патогістологічний аналіз за своєю природою лишається суб'єктивним: на результат впливають індивідуальні відмінності у зоровому сприйнятті, інтеграції даних і професійному судженні незалежних патологів. Протягом останніх п'яти десятиліть запропоновано низку бальних систем, що дозволяють оцінювати пухлини за їхнім морфологічним виглядом, зокрема шкалу Глісона для раку передміхурової залози та Ноттінгемську систему для раку молочної залози [91]. Такі інструменти інформативні для відображення гетерогенності захворювань і надають важливі орієнтири для прогнозу та вибору лікувальної тактики, проте більшість із них, що передбачає деталізований кількісний підрахунок, є надто трудомісткими для рутинної клінічної практики.

Парадоксально, проте навіть методики молекулярного аналізу, що загалом вважають об'єктивнішими, нерідко не дають змоги беззастережно встановити діагноз або достатньо охарактеризувати біологічні чинники перебігу захворювання для прогностичного оцінювання [177, 179]. Ці труднощі посилюються варіативністю супутніх діагностичних досліджень і біомаркерів та часто зумовлені браком стандартизації, а також просторовою та/або часовою біологічною неоднорідністю зразків [17, 50]. Водночас більшість біологічних показників, що залучаються до аналізу, мають безперервну природу, тоді як для клінічних рішень їх зазвичай доводиться переводити в категоріальні чи дискретні шкали. На практиці ж визначення окремих біомаркерів часто відбувається в одновимірній, якісній площині й не відображає складних сигнальних мереж і взаємодій між пухлинними клітинами та їхнім мікрооточенням. Тож навіть у «молекулярну епоху» лікар-патолог значною мірою спирається на прості дерева рішень, що

фактично використовують лише невелику частку доступних знань з геноміки, транскриптоміки та протеоміки. Потужним рушієм розвитку цифрової патології стало широке впровадження сканерів, що забезпечили оцифровування гістологічних препаратів. Це різко розширило можливості для дистанційних консультацій і отримання «другої думки» у складних випадках, а також для роботи мультидисциплінарних консилиумів [50]. Крім того, цифрова патологія дала змогу системно розв'язати питання архівування скелець, мінімізувавши ризики їх пошкодження та відкрити шлях до формування хмарних сховищ цифрових препаратів. У результаті тисячі слайдів із відповідними молекулярно-генетичними результатами стали доступними для широкого використання в навчанні та дослідженнях, що своєю чергою стимулювало створення інструментів аналізу цифрових зображень.

Перше великомасштабне багатоцентрове дослідження за участю патологів, що безпосередньо порівнювало діагностичні показники цифрової патології та світлової мікроскопії, продемонструвало, що якість первинної діагностики за оцифрованими цілими слайдами не поступається результатам традиційного мікроскопічного дослідження [125, 144]. Поява сканерів дала змогу розвинути підходи до кількісної гістоморфометрії на стандартних Н&Е-препаратах, із детальним просторовим аналізом усього морфологічного ландшафту пухлини – від орієнтації ядер до оцінювання гетерогенності їхньої текстури, форми й архітектури [10]. Водночас передумовою такого аналізу є надійне виявлення й сегментація базових гістологічних елементів (наприклад, ядер або залоз), що залишається складним завданням і потребує ретельних досліджень. Так, Irshad H. зі співавт. узагальнили велику кількість робіт із сегментації ядер у гістології за останні два десятиліття [93]; Ху J. та колеги запропонували використання активних контурів для сегментації окремих залоз на зображеннях раку простати [196]; Skrede O. зі співавторами описали стохастичну модель залозистих структур як багатокутників із випадною

кількістю вершин, що відповідають приблизному розташуванню ядер епітелію, й успішно застосували її для виділення залоз на зображеннях нормальної тканини товстої кишки [166]. Попри суттєвий прогрес, остаточного, універсального розв'язання проблеми сегментації досі не досягнуто.

Системи автоматизованої діагностики відіграють ключову роль в аналізі гістологічних зображень і постановці діагнозу. Для цього застосовують широкий спектр методів оброблення зображень і комп'ютерного зору: від сегментації гістологічних елементів (залоз, ядер) та розпізнавання типів клітин до класифікації тканин, обчислення кількісних характеристик, автоматизованого оцінювання зображень і визначення наявності та/або відсутності патології [200, 205]. Класичний конвеєр машинного навчання включає кілька послідовних етапів.

Перший етап – попереднє оброблення зображень. Він охоплює, зокрема, нормалізацію кольору та забарвлення, що дозволяє згладити варіабельність, пов'язану з особливостями препарування та фарбування матеріалу. Для коректного візуального порівняння позицій різноколірних маркерів машина також вирівнює суміжні зрізи тканини, адаптуючи їх до відтворення з точними кольорами на гістологічних зображеннях [123, 129].

Другий етап – розпізнавання та сегментація структур. Через виражену гетерогенність і мінливість морфологічних елементів як у межах однієї тканини, так і між органами, завдання сегментації подібне до проблеми кластеризації та є нетривіальним. Тому конкретні прикладні домени мають використовувати спеціалізовані алгоритми сегментації – або з опертям на вбудовані функції та відомі методи, або шляхом навчання на великих масивах даних [50, 106, 109]. Для багатьох патологій, насамперед злоякісних новоутворень, характерні зміни гістоархітекτονіки й ядерної морфології. Саме ядра, як носії генетичної інформації та найбільш чутливі до патологічних впливів, є центральним об'єктом аналізу. Окрім розміру й

форми, важливим стає аналіз текстури, зумовленої зернистістю хроматину. Запропоновано низку підходів до оцінювання ядерної текстури: аналіз діаграм Евклідового діапазону, модифікації перетворення Хафа (для виділення круглих зерен за значних обчислювальних витрат), фільтри Лапласіан Гаусса, радіальна симетрія. Додатково застосовують градієнтні ознаки в полярних і графових поданнях та методи регуляризації [50, 111]. Порівнянні труднощі виникають і під час сегментації залоз, адже вони істотно варіюють за формою, розміром і ступенем елонгації та зазнають значних змін із втратою диференціювання пухлин [50, 164]. Більшість алгоритмів аналізу залоз базуються на виявленні ядер і просвіту (lumen) залозистих структур.

Наступним етапом автоматизованого опрацювання є екстракція характерних ознак або біомаркерів. Розвиток патологічних процесів супроводжується змінами структур, тож їх атрибути мають високу діагностичну цінність. Наприклад, для карциноми типові аномальне зростання, підвищена щільність ядер, варіабельність їхніх розмірів і структури, а також велика кількість мітозів на обмеженій ділянці – все це може бути виявлено автоматизованими методами. Початковий перелік ознак формують на основі дескрипторів, що визначають спеціалісти за відповідними напрямками патології [149]. Такі ознаки разом із біомаркерами становлять фундамент інструментарію патогістологічної діагностики. До класичних прикладів біомаркерів належать рецептори естрогену та прогестерону, Ki67 і HER2/neu, що визначають молекулярний підтип раку молочної залози; їх експресія допомагає коректно підібрати терапію та прогнозувати результат лікування. За два останні десятиліття для окремих нозологій і мікрооточення пухлин (наприклад, пухлинні клітини, асоційовані імунні клітини тощо) ідентифіковано ще багато клітинних, субклітинних і молекулярних маркерів [50, 98, 165]. Ідентифікація біомаркерів за допомогою штучного інтелекту передбачає опрацювання великих масивів даних – розлогих колекцій клінічної інформації та цифрових зображень [123].

Модель ІІІ навчається самостійно відшукувати оптимальні ознаки, що найточніше розмежовують цільові категорії, без попередніх гіпотез. Результатом роботи класифікатора стають дані про клінічну значущість, очікуваний перебіг та ймовірну відповідь на лікування [29, 50].

Важливо, що алгоритми ІІІ здатні вилучати приховану від людського зору інформацію та використовувати її для прогнозування. Такі підходи дають змогу не лише підвищити точність діагностики, а й передбачати чутливість до терапії, наявність соматичних мутацій [39] і навіть оцінювати виживаність пацієнтів [169, 193].

Ключовим напрямом цифрової патології є створення алгоритмів і прикладних схем для автоматизованої класифікації тканин і морфологічних утворень. Точність класифікації підвищують завдяки коректному вибору ділянок інтересу, що визначається завданнями патогістологічної діагностики: встановлення розміру пухлини, її гістологічного типу та підтипу, характерних ознак, ступеня диференціювання, а також наявності лімфоваскулярної інвазії або метастатичного ураження лімфовузлів [50, 191]. Додатково враховують статус країв резекції та лімфоцитарну інфільтрацію як прогностично вагомі чинники [34]. Узгоджений облік множини таких показників відкриває можливість багатофакторного аналізу, що безпосередньо поліпшує точність результатів [29].

Роботи з кількісного моделювання та класифікації у цифровій патології умовно поділяють на дві групи: імперативні моделі з ручним визначенням ознак і декларативні/неконтрольовані підходи з автоматичним підбором ознак [74, 164]. Рукотворні ознаки безпосередньо пов'язані з вимірюваними атрибутами зображення та мають кращу інтерпретованість, тоді як підходи глибинного навчання менш інтуїтивні, спираються на відповіді фільтрів і потребують великих навчальних вибірок для побудови уявлень про вигляд зображення [111]. Функції ручної роботи є більш прозорими та інтуїтивно зрозумілими для патолога або онколога.

В обох категоріях (ручних і неконтрольованих підходів) є сильні та слабкі сторони. Рукотворні функції зазвичай забезпечують більшу прозорість, отже, можуть бути більш інтуїтивно-обґрунтованими для кінцевого користувача – патолога або клініциста. З іншого боку, функції, неконтрольовано визначені доменом, можуть здаватися складнішими для розуміння, оскільки вони включають більш фундаментальні, проте не завжди видимі ознаки, пов'язані з природою захворювання та його морфологічними проявами у тканинах [109].

Використання методів глибокого навчання на основі генерування функцій означає, що їх можна швидко та ефективно застосовувати до будь-якої сфери або проблеми. На сьогодні докладено багато зусиль, щоб знайти способи пов'язати трансформовані параметри об'єктів (такі, які можна отримати за допомогою глибинного навчання) з атрибутами ручної роботи [69, 207]. Пошук шляхів синергії двох груп підходів до моделювання ознак може надати ідеальне поєднання узагальнення й інтерпретабельності для характеристики та моделювання захворювань при цифровій патології.

Сучасні досягнення ЦП дозволяють вирішувати широкий спектр завдань, важливих для патологів і клініцистів: оцінювання діагностичних ознак; визначення ймовірності захворювання; грейдинг; розмежування гістологічних типів; виявлення нових характеристик/ознак; прогнозування результатів; передбачення рецидиву; предикція статусу генних мутацій [50].

Окремо слід підкреслити роль глибокого навчання – класу моделей, що зумовив безпрецедентний прорив в аналізі зображень. Уже нині алгоритми глибокого навчання досягають рівня експертів при виявленні метастазів раку молочної залози в лімфатичних вузлах і колоректальних карцином, а також демонструють високу точність під час скринінгу раку простати та оцінюванні патології молочної залози, сечового міхура, шлунка, щитоподібної залози тощо [17, 28]. Методи глибокого навчання ґрунтуються на різновидах нейронних мереж (рис. 1.1).



Рис. 1.1. Варіанти моделей та архітектури нейронних мереж, що використовуються для вирішення різних завдань цифрової патології [50]

Сьогодні найуживанішим інструментом глибокого навчання (ГН) у цифровій патології є згорткові нейронні мережі (CNN), що спрямовані на ефективне розпізнавання образів. Такі моделі спроектовано для опрацювання «сирих» багатовимірних масивів даних, приміром кольорових зображень; їхня архітектура натхненна організацією зорової кори головного мозку [109]. Для завдань класифікації («пухлина / не пухлина») або ідентифікації об'єктів CNN навчають на наборах даних із заздалегідь відомою відповіддю [143].

Ефективне навчання потребує великих масивів прикладів для тренування, валідації та тестування [124], а в разі контрольованого навчання – коректного маркування відповідно до цільових класів. Більшість CNN, що стали стандартом у ГН, первісно було створено для завдань виявлення об'єктів і класифікації у рамках ImageNet [109] – анотованої бази з понад мільйоном немедичних зображень; саме там відпрацьовано дедалі результативніші архітектури для розпізнавання. Аналогічні мережі нині активно переносять на завдання цифрової патології та для створення нових алгоритмів [18, 50].

Перевагою застосування CNN у нових завданнях є трансферне навчання: частину шарів попередньо навченої мережі зберігають, а адаптації

потребують лише окремі рівні, що дозволяє досягати прийнятної якості на відносно невеликих наборах. Доступність великих колекцій оцифрованих гістологічних зображень у поєднанні з клінічними та молекулярними даними (наприклад, TCGA, GTEx) зумовила сплеск досліджень продуктивності CNN на WSI. Їм ставили різні завдання – від прогнозування клінічного результату й відповіді на лікування до виявлення молекулярних особливостей – і вони демонстрували обнадійливі результати [18]. Хоча всі CNN мають спільні принципи, вони істотно відрізняються архітектурою: глибиною, порядком і кількістю шарів/фільтрів, кількістю параметрів і типами зв'язків між рівнями [169].

Відповідно, обчислювальна вартість і точність також помітно різняться між архітектурами [18]. У ранніх роботах часто застосовували відносно неглибокі мережі (2–8 шарів) для аналізу гістологічних елементів (пошук ядер, локалізація/класифікація клітин) – передусім LeNet і AlexNet із мінімальними змінами у конфігурації передостаннього шару. Обидві архітектури неглибокі: LeNet має два згорткові шари, AlexNet – п'ять; на ранніх рівнях вони використовують великі рецептивні поля, а ближче до виходу – менші ядра [50].

Ключова різниця AlexNet – застосування випрямлених лінійних одиниць (ReLU) замість гіперболічного тангенса як функції активації. Водночас більшість сучасних рішень для прогнозування та класифікації онкопатології спираються на значно глибші мережі (8–150 шарів) – адаптації VGG16, Inception, ResNet із малими фіксованими ядрами на кожному рівні та елементами, що підвищують ефективність навчання і скорочують число параметрів; це забезпечує багаторівневе вилучення ознак [185] і поліпшує діагностичну результативність.

Інший клас – рекурентні нейронні мережі (recurrent neural network, RNN), що моделюють послідовності зі змінною довжиною на вході/виході. У практиці цифрової патології найчастіше використовують керовані

рекурентні моделі та мережі довгої короткочасної пам'яті (LSTM), що мають «ворота» для накопичення/забування інформації упродовж тривалих інтервалів [178]. На відміну від класичних керованих RNN, LSTM містять внутрішні петлі, пов'язані з поточним контекстом; їх запроваджено, щоб полегшити навчання довгих залежностей і зменшити зникання градієнта під час проходження багатьох часових кроків. Історично RNN/LSTM застосовували насамперед для завдань сегментації [34, 150]. Нині рекурентні компоненти часто інтегрують до CNN, отримуючи репрезентативні ознаки зображень; навчання здійснюють зворотним поширенням похибки з оптимізацією за рахунок перехресного зменшення ентропії.

Ще один клас моделей – некеровані моделі. У патології вони трапляються рідше: використовують автоенкодери (AE) та генеративно-змагальні мережі (GAN) у неконтрольованих сценаріях [50, 109]. Автоенкодери – це мережі прямого зв'язку (повнозв'язані або згорткові) з нелінійними активаціями, що забезпечують звуження вхідних даних для представлення їх у прихованому просторі, а за цим відновлюють їх, прагнучи отримати відгук, максимально подібний до вхідного сигналу [111]. Розріджений (Sparse) автоенкодер (SAE) – різновид AE, що реагує на унікальні характеристики набору даних, на яких він навчався. Після навчання SAE можна отримати модель, що може узагальнити діагностично корисні особливості (ознаки). Додатковий штраф у функції утрат на активність прихованого шару спонукає до розріджених подань [207].

Складені розріджені автоенкодери (SSAE) утворюють шляхом «нашарування» AE для формування глибших мереж [50], у цифровій патології їх використовують для отримання уявлення про ознаки при одночасному використанні наборів даних за некерованих умов (тобто без анотацій). Нещодавно інший варіант AE (варіаційний автокодер (VAE)), був використаний для генерації монохромних гістологічних зображень. VAE представляє ймовірнісну модель, що використовується як генеративна

модель, спрямована на вивчення розподілу вірогідності відповідно до заданого набору навчальних даних. Для цього VAE використовує нижню межу логарифмічної вірогідності даних, такі моделі принципово відрізняються від звичайних AE [50].

Ще один різновид генеративних моделей, що використовуються в цифровій патології – це генеративно-змагальні мережі (GAN). Їхня мета полягає у вивченні розподілу генератора PG (X), що відповідає реальному розподілу даних Pd (X). Мережі GAN складаються з оптимізуючої та максималізуючої гри між генератором G і дискримінаторною мережею D. Типово обидві мережі реалізовано як CNN і використовуються вони при некерованому і трансферному навчанні для сегментації, детекції та класифікації елементів [50, 164].

Отже, сучасне розмаїття нейромережних архітектур забезпечує структурований аналіз гістологічних зображень. На практиці їх активне впровадження переводить цифрову патологію з переважно освітньо-консультаційної сфери в площину рутинної діагностики із застосуванням інструментів ШІ. Йдеться не про заміну патолога, а про інтеграцію методів машинного навчання в робочі процеси лабораторії для пришвидшення та підвищення якості трудомістких етапів, поліпшення діагностичної ефективності й глибшої інтеграції клініко-морфологічних даних із молекулярною інформацією – як підґрунтя персоналізованої медичної допомоги. Сьогодні мова не йде й про повністю автоматичну діагностику без участі патолога.

Тим не менш, розроблено широкий спектр стратегій ГН, що активно застосовуються в ЦП і мають перспективи на отримання відмінних показників діагностичної точності. Основний принцип, що лежить в основі цих підходів ШІ, полягає у вилученні патчів зображень (фрагментів WSI), які можна використовувати для навчання алгоритмів. Відповідно, ШІ допоміг у створенні методів морфометричного аналізу, що можуть полегшити підходи

до кількісного аналізу гістоморфометрії, для детального просторового опитування всього гістологічного ландшафту пухлини зі стандартного препарату. Цифрові технології докорінно змінюють традиційну мікроскопічну практику та роблять можливою телепатологію [171].

Автоматизований аналіз множинних візуальних і субвізуальних морфологічних ознак інтегрований із радіологічними, геномними та протеомічними параметрами є передумовою більш об'єктивного, багатовимірного та функціонально відповідного діагностичного результату. Окрім діагностичних рішень, інтеграція штучного інтелекту в практику клініко-діагностичної (патоморфологічної) лабораторії надає нові інструменти стосовно оцінювання прогнозу та предикції чутливості до різних варіантів лікування. В межах сучасної парадигми поєднання штучного інтелекту та цифрової патології є ключовим інструментом підвищення точності діагностики, прогнозування та реалізації концепції персоналізованої біомедицини.

За допомогою штучного інтелекту цифрова патологія отримала величезний потенціал у патологічній практиці. Однак, як і будь-яка технологія, вона має свої обмеження [171]. Так, підходам ГН із некерованим формуванням ознак бракує інтерпретованості, хоча їх можна швидко й безперешкодно застосувати до будь-якої області чи проблеми. Загальною умовою успішної роботи алгоритмів ШІ є наявність великих, якісних і різноманітних навчальних наборів, інакше вони зможуть продукувати упереджені чи неточні результати, особливо в декларативних моделях.

1.2. Трансформації у структурі патології, обумовлені застосуванням інформаційних технологій

На меланому припадає 1,7 % у глобальній структурі злоякісних новоутворень [146]. Це онкологічне захворювання, джерелом якого є пігмент-

продукуючі клітини шкіри (меланоцити), є однією з основних причин смерті від злоякісних новоутворень [59, 163]. Незважаючи на досягнення в молекулярному профілюванні, визначенні та валідації нових біомаркерів та підходів до таргетної терапії, захворюваність на меланому і смертність продовжують зростати в усьому світі [3].

Важливу роль у діагностиці меланоми та оцінюванні прогнозу відіграє патологічна анатомія, і лікарі-патологоанатоми. Невпинний рух онкології у напрямку персоналізації вимагає відповідних змін і в сфері патологічної анатомії [50]. Патологія, як дисципліна, первинно сфокусована на оцінюванні морфології тканин, стала свідком трьох основних революцій, пов'язаних із впровадженням імуногістохімії (ІГХ) у 80-х роках; розвитком молекулярної патології, та особливо секвенування наступного покоління; а також розробленням інструментів штучного інтелекту, що допомагають патологу оцінювати та інтерпретувати структурні особливості [147]. У той час як інструменти перших двох революцій сьогодні повністю інтегровані в рутинну роботу та сприяють розвитку персоналізованої медицини, третя революція, пов'язана з цифровою патологією, все ще чекає на свій прорив. По суті, сьогодні ми є свідками трансформації у патології в результаті широкого впровадження технології візуалізації цільних слайдів (ВЦС) замість традиційних світлових мікроскопів [50, 120]. Розроблена технологія вплинула не тільки на підвищення якості патологічного дослідження, але й суттєво вплинула на консультаційну роботу. Якщо в минулому витрачалось багато часу на доставку блоків і скелець консультанту, то за умов упровадження в лабораторії цифрової патології первинне оброблення інформації, прийняття рішень та передавання даних займає кілька хвилин. Складні та рідкісні випадки стало набагато легше аналізувати через дистанційну доступність кваліфікованих спеціалістів, зокрема й міжнародно визнаних експертів.

Зауважимо, що використання технології ВЦС, комп'ютерного зору та штучного інтелекту надали додаткові можливості для обчислювальної

патології, включаючи алгоритми глибокого навчання та розпізнавання зображень [71, 105, 145]. Штучні нейронні мережі досягли величезного прогресу в основному в результаті розвитку глибокого навчання. Різноманітні глибокі архітектури були навчені великими наборами даних зображень, наприклад, TCGA або ImageNet, щоб зробити нові відкриття в області біомедичної інформатики та виконати вражаючі завдання з розпізнавання об'єктів [105, 120, 157].

Наразі гістопатологічна діагностика меланоми базується на мікроскопічному оцінюванні гістологічних препаратів пухлини, забарвлених гематоксиліном і еозином. Історично роль дерматопатолога в менеджменті пацієнтів із меланою стосувалася головним чином трьох аспектів: визначити правильний гістопатологічний діагноз пігментованих уражень; оцінити патологічну стадію первинної злоякісної меланоми на основі товщини ураження за Бреслоу; надати інформацію про інші прогностичні параметри, такі як регресія, запальна інфільтрація, мікросателіти тощо [61, 194, 195]. Для останніх двох одноманітних завдань патологоанатом може отримати ефективну допомогу з боку цифрової патології, де ці параметри можуть бути кількісно визначені комп'ютером на оцифрованих зображеннях цільного слайду, залишаючи лікарю більше часу для процесу діагностики [147, 194]. Проте, патогістологічна діагностика меланоми та диференційний діагноз із доброякісними меланоцитарними ураженнями шкіри є одним із найскладніших завдань патології [84, 160].

Хоча діагностичні алгоритми ґрунтуються на певних критеріях, варто визнати, що мікроскопічне оцінювання патологів носить суб'єктивний характер, тож його успішність багато в чому залежить від кваліфікації патолога, та доступу до консультації експертом дерматопатологом [7, 120, 186]. Про складність і неоднозначність діагностики свідчить і факт високого ступеня розбіжностей, результатів оцінювання одних і тих самих уражень різними патологами [61, 160]. Недавні спостереження виявили діагностичні

розбіжності між патологами стосовно диференційної діагностики певних форм неvusів (що відносяться до категорії доброякісних меланоцитарних новоутворень шкіри) і злоякісних меланом шкіри [59, 84].

Незважаючи на те, що серед більш досвідчених лікарів-патологоанатомів все ще існує розбіжність, досвід і спеціальна підготовка в дерматопатології дійсно покращують діагностику складних випадків при меланомі шкіри. Відсутність доступу до дерматопатологічної експертизи в цьому контексті може сповільнити час діагностики, що призводить до затримок результатів патогістологічного дослідження та потенційних негативних наслідків для клінічних рішень [60]. У цьому сценарії ЦП надає інструменти, що дозволяють зменшити варіабельність між спостерігачами та отримати точну інтерпретацію патологічних змін.

Одним із варіантів застосування інструментів цифрової патології є віртуальний обмін слайдами між лікарнями та експертними центрами, що полегшує процес отримання другої думки та експертний висновок [59, 99]. По суті, цифрова патологія допомагає досягти більш стандартизованого рівня діагностичної точності, забезпечуючи пацієнтам доступ до найнадійніших оцінок експертів.

Впровадження WSI-технології у систему дистанційного навчання, а також мобільної медицини уможлиблює відпрацювання навиків визначення ключових критеріїв діагностики, виявлення областей діагностичної значущості на всьому слайді за допомогою комп'ютера та вебсередовища без фізичної прив'язки до навчальної кімнати, мікроскопу та архіву гістологічних препаратів, що з часом псується. Розроблення нових інтерфейсів із використанням більш природних сенсорних технологій дозволяє покращити роботу з оцифрованими слайдами. Значна кількість ініціатив стосовно онлайн-аналізу, оцінювання компетенцій і діагностичних рішень на основі використання віртуальної реальності дозволить у майбутньому не тільки

забезпечити професійний розвиток, але й цифровізувати процеси атестації та сертифікації лікарів-патологів [136].

Останні дослідження в сфері цифрової патології присвячені вивченню механізмів прийняття патоморфологічних рішень на основі інтелектуальних алгоритмів, що поєднують логіку віртуальної мікроскопії та сучасних пристроїв стеження за очима [6, 7].

1.3. Застосування штучного інтелекту в цифровій патології

Біомедицина, навіть із перших днів досліджень штучного інтелекту, була однією з найбільш перспективних хоча одночасно однією з найскладніших областей для ефективного впровадження. Більш того, спостерігалось певне небажання делегувати прийняття рішень машинному інтелекту у випадках, коли на карту поставлена безпека пацієнтів [15]. Однак, із розвитком технологій сканування все більше і більше гістологічних препаратів переглядають та зберігають оцифрованими. З'являються великі сховища безцінних даних, що допомагають у навчанні штучного інтелекту та створенні алгоритмів діагностики.

Застосування штучного інтелекту до масиву діагностичних завдань із використанням цілісних зображень слайдів швидко поширилось в останні роки. Успішне застосування ШІ в цифровій патології для багатьох типів захворювань, зокрема для діагностики меланоми шкіри підкреслювалося багатьма авторами [22, 61, 96, 116, 117, 181, 206]. Цікаві дослідження представлено в [190], де автори навчили ШІ передбачати нахождение пухлин невідомої первинної форми.

Інтеграція цифрової патології із методами машинного навчання (МН) сприяла активному впровадженню штучного інтелекту для аналізу гістологічних зразків із метою діагностики, прогнозування та передбачення результатів, а також для підвищення ефективності процесів патогістологічної

діагностики (рис. 1.2). Автоматизоване виділення численних візуальних і субвізуальних морфометричних характеристик на звичайних препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, стикається з проблемами відбору зразків і неоднорідності пухлин, однак це може допомогти мінімізувати суб'єктивність візуального оцінювання та забезпечити інтеграцію численних вимірів для аналізу складності організації тканин. Ці гістопатологічні риси можуть бути використані разом із іншими даними, такими як радіологічні, геномні та протеомічні показники, для досягнення більш об'єктивних, багатовимірних і функціонально відповідних діагностичних результатів.



Рис. 1.2. Послідовність процедур при застосуванні цифрової патології для вирішення клінічних завдань [50]

Для підвищення об'єктивності патогістологічних досліджень сьогодні створено безліч ресурсів цифрової патології та сертифікованих рішень на основі ШІ. Класичними прикладами таких програм є моделі, що забезпечують інтеграцію основних діагностичних характеристик патологічних процесів і захворювань, а також здатність виявляти нові ознаки, які розширюють розуміння хвороб. Важливим фактором прогресу в цій області стало впровадження технологій секвенування наступного покоління та можливість доступу до даних відповідних баз, таких як «The Cancer Genome Atlas» (TCGA) та «The Gene Expression Omnibus» (GEO). Це розширило дослідницькі

можливості в геноміці, транскриптоміці та інших «omics», а також допомогло створити потужні моделі для більш точного прогнозування розвитку раку. Штучний інтелект все частіше застосовується в патологічній практиці для широкого спектру завдань аналізу зображень і сегментації, включаючи не тільки тривіальні завдання, такі як розпізнавання об'єктів клітин тощо, а також для більш складних дій, таких як використання розпізнавання образів зображень для прогнозування діагнозу захворювання, прогнозу протікання патологічного процесу та терапії [154, 201]. Однак швидке зростання обсягу нових даних і розвиток новітніх технологій ШІ вимагає подальшої організації та систематизації інформації про існуючі методи аналізу зображень та інструменти машинного навчання, розроблені для цифрових зображень у патології. Спочатку термін «цифрова патологія» застосовувався для опису процесу оцифрування гістологічних слайдів із використанням сучасних методів сканування, що дозволяв отримати зображення цілісного слайду. З часом цифрова патологія набула більш глибокого значення, включаючи підходи на основі штучного інтелекту для виявлення, сегментації, діагностики та аналізу оцифрованих зображень. Підходи машинного навчання вимагають створення спеціалізованих баз даних для реалізації діагностичного процесу та формування прогнозів.

Особливе значення для вирішення цього завдання має технологія «глибокого навчання» (ГН), що з'явилася в 1980-х роках. Дана технологія була розроблена завдяки вдосконаленню штучних нейронних мереж, як модель людської нейронної архітектури. ГН зазвичай складається з кількох рівнів штучних нейронних мереж, зокрема вхідного та вихідного рівнів, а також кількох прихованих шарів, що використовуються для створення нових зображень. З достатньою кількістю навчальних даних ці мережі можуть використовуватись для класифікації зображень, що найкраще відображають категорії інтересу. У більш широкому огляді застосування ШІ для аналізу WSI, проведеному Rodriguez et al., було виявлено значну різницю в способах

оцінювання ефективності результатів [63, 117]. Проте у цьому дослідженні не розглядалися інші аспекти аналізу, крім того не був проведений метааналіз.

Незважаючи на численні дослідження ефективності застосування ШІ в патології, приклади його рутинного клінічного використання залишаються рідкими, й існують занепокоєння стосовно якості доказів і ризику упередженості для медиків. Тобто, важливо підкреслити, що користь ШІ для пацієнтів може бути забезпечена, якщо ШІ буде успішно використаний у процедурах діагностики та прогнозування, а також при обробленні даних лабораторій патології, оскільки в клінічних дослідженнях мають місце досить складні робочі процеси та довгі списки очікування черги.

Нарешті, штучний інтелект відіграватиме домінуючу роль в інтеграції різних типів даних. ШІ точніше, ніж патологи рахує кількість мітозів, товщину ураження за Бреслоу та виявляє метастази у лімфатичних вузлах [9, 100, 159, 194]. Проте найпотужніша здатність штучного інтелекту, зокрема глибокого навчання, полягає у виявленні невідомих моделей або особливостей, які є надто складними для патологоанатомів, щоб просто оцінити їх візуальним оглядом, але які можуть мати важливе діагностичне та прогностичне значення [84, 136]. Це особливо стосується морфометричних ознак. У випадку з одноклітинними мультиомічними даними з просторовою роздільною здатністю характеристики ознак набагато складніші, а кількість прихованих асоціацій, що можна використовувати як біомаркери, практично нескінченна [73]. Однак для застосування в клінічній практиці ці складні ознаки потрібно спочатку трансформувати в більш прості біомаркери або створити спеціальні алгоритми для ідентифікації специфічних ознак.

1.4. Сучасний стан цифрової патології у діагностиці меланоми

Впровадження штучного інтелекту в системи аналізу зображень на основі виділення ознак продемонструвало достатньо високу ефективність

у визначенні меланоцитарних уражень [60, 99]. Алгоритм штучного інтелекту для розпізнавання меланоми шкіри може бути корисним діагностичним інструментом для підтримки дерматопатологів у діагностичних цілях [44, 84]. Нещодавно був розроблений алгоритм машинного навчання для оцінювання ступеня однорідності та симетрії меланоцитарних гнізд як першого кроку до диференціювання доброякісних і злоякісних уражень [58]. Хоча вірогідність того, що ШІ і цифрова патологія замінять патологоанатома найближчим часом мала, особливо при діагностиці меланоцитарних уражень, використання глибокого навчання дозволяє визначати складні морфометричні ознаки, які виходять за межі простої візуальної ідентифікації [35, 58]. І це активно застосовується вже сьогодні у форматі доповненої реальності, а не автономно працюючого ШІ. Доповнена реальність дозволяє привернути увагу патологоанатома до особливостей, що допомагаючи йому розрізнити тривіальний випадок від більш складного з неоднозначними ознаками, прискорює дослідження [153]. Такі інструменти являються цінною допомогою в роботі загальних патологів, які мають обмежений досвід роботи з меланоцитарними ураженнями, особливо у випадках, коли обмежені можливості отримання консультації дерматопатолога.

Варто зауважити, що з моменту свого розвитку в середині двадцятого століття, дослідження з використанням ШІ зазнали значної трансформації під впливом неспинної критики. Використовуючи велику кількість даних і складні комп'ютерні алгоритми, ШІ може ідентифікувати складні моделі в реальному світі, генеруючи міркування, висновки, екстраполяції, асоціації та прогнози, що можуть бути співставними або навіть перевищувати людські можливості [105, 120, 192]. Аналіз гістопатологічних зображень загалом і меланоми зокрема є природним застосуванням за цим напрямом. Зауважимо, що на сьогодні застосування глибокого навчання в рамках цифрової патології є непростим завданням, що пов'язане з такими викликами:

- 1) в більшості випадків дослідники стикаються з обмеженим доступом до маркованого/анотованого набору даних [10, 105, 120, 147, 157];
- 2) при меланомі спостерігаються досить великі морфологічні зміни – гетерогенність і патогістологічна мінливість ускладнюють навчання моделей та створюють прецеденти хибних результатів;
- 3) великі розміри зображень, процедури зберігання, анотування та оброблення потребують наявності потужних серверів. При цьому для оброблення зображень гістологічних препаратів як правило використовують алгоритми глибокого навчання і, зокрема, конволюційні нейронні мережі;
- 4) ще одна проблема пов'язана зі складністю реалізації моделей CNN за рахунок великої кількості параметрів налаштування.

CNN – це глибокі нейронні мережі, навчені виконувати завдання візуального розпізнавання безпосередньо з піксельних зображень із мінімальною попередньою обробкою [10]. CNN потребують значної кількості даних для навчання і валідації, а точність класифікаторів CNN в основному залежить від якості та розміру набору даних зображення [67, 81]. З цієї причини архітектуру CNN можна побудувати з попередньо підготовлених моделей (підхід до навчання з перенесенням), що дозволяє скоротити набір даних навчальної вибірки [81]. На сьогодні відомо про розроблення кількох типів попередньо підготовлених архітектур CNN, включаючи AlexNet, SqueezeNet, NASNet-Large, Inception-v3, ResNet-50, Vgg19 і Inception-ResNet-v2 [100, 104]. Проте незважаючи на прогрес у аналізі зображень патології шкіри, потенціал CNN за цим напрямом поки що повністю не досліджений, і їх продуктивність може бути значно покращена.

Останніми роками виконано кілька досліджень, зосереджених на використанні алгоритмів глибокого навчання для автоматизації аналізу повнослайдових зображень уражень шкіри при меланомі [135, 195]. Оскільки розміри ВЦС надто великі, щоб використовувати їх як прямі вхідні дані для CNN, типовим підходом є використання для навчання, перевірка та

тестування CNN на патчах (невеликих анотованих патологом ділянках ВЦС) з низькою роздільною здатністю [46]. При цьому з одного ВЦС можна отримати від десятків до тисяч патчів. Попередні роботи запропонували використання CNN для диференціювання гістологічних зображень меланоми та доброякісних уражень шкіри [46]. У іншому дослідженні використовували CNN попередньо навчені за допомогою ResNet50 і значними масивами патчів для навчання та валідації моделі [187]. При цьому загальна точність склала 81 %, що близько до золотого стандарту (тобто результату сертифікованих патологів). Наступним кроком, стала CNN, що автоматично виявляла меланому в ВЦС та виділяла область ураження на ВЦС у вигляді ймовірнісної карти, яка формувалася за допомогою CNN, попередньо навченої за допомогою VGG16, навчена та провалідована на відповідних сетах даних [187]. Це дозволило досягти на незалежному наборі даних точності, чутливості та специфічності 91,4 %, 91,0 % та 92,8 % відповідно. Також показано, що застосування CNN для діагностики меланом VS невуси показало кращі результати стосовно розбіжностей, ніж результати стандартного оцінювання препаратів 11 патологами ($p = 0,016$), що дає надію на можливість застосування алгоритмів глибокого навчання для підтримки патологів у діагностиці меланоми шкіри [84].

Сучасні технології удосконалення функціонування штучного інтелекту в патології пов'язані з впровадженням так званого пояснювального ШІ (Explainable AI). Ці підходи створили область досліджень, що здатні пояснювати свої рішення та дії зрозумілим для людини способом, долаючи проблему «чорної скриньки» в сучасних моделях машинного навчання. Вони прагнуть забезпечити прозорість, підзвітність та довіру до результатів ШІ за рахунок надання чітких пояснень, чому модель ухвалила те чи інше рішення, що критично важливо для біомедицини. Пояснювальний штучний інтелект відповідає зростаючій потребі в прозорості та інтерпретованості систем ШІ у процесах прийняття рішень. Нова технологія поєднує фундаментальні

концепції із передовими методологіями, розглядаючи інтерпретованість традиційних моделей: дерева рішень, лінійну регресію та метод опорних векторів, а також складності пояснення архітектури глибокого навчання, таких як нейронні мережі (CNN), рекурентні нейронні мережі (RNN) і великі мовні моделі (LLM), включаючи BERT, GPT і T5.

Роль пояснювального штучного інтелекту в біомедицині підкреслюється демонстрацією його впливу на справедливість та підтримку прийняття рішень. Важливими є також метрики оцінювання якості пояснення, огляд передових інструментів і фреймворків пояснювального ШІ, а також нові напрями досліджень, такі як інтерпретованість при навчанні та етичні аспекти ШІ.

Незважаючи на те, що патологія наступного покоління поступово стає все більш помітною та кваліфікується як необхідність у дослідженнях, дуже мало з раніше обговорюваних розробок залучено до клінічного використання. Існує ще багато перешкод і проблем, що необхідно подолати, перш ніж цифрова патологія буде реалізована в повній мірі в клінічній практиці.

1.5. Просторові -omics та цифрова патологія при меланомі шкіри

Зміна ландшафту лікування злоякісної меланоми шкіри призвело до збільшення попиту на точні предиктивні оцінки [35, 145]. При метастатичній меланомі використання терапії інгібіторами контрольних точок кардинально змінило результат лікування. Але при цьому частота об'єктивної відповіді становить 33,7-45,0 % [145]. На жаль, у решти випадків, лікування не дало очікуваного результату [45]. Для уникнення біологічних, етичних та економічних витрат, пов'язаних із застосуванням неефективних методів діагностики та лікування пацієнтів, важливо знайти надійні прогностичні біомаркери, що допоможуть клініцистам приймати обґрунтовані рішення.

Оцінювання предиктивних маркерів при меланомі шкіри являється передумовою персоналізованого лікування [46]. Але спочатку необхідно ідентифікувати інформативні біомаркери для визначення вірогідності відповіді на різні типи лікування. Традиційна імуногістохімія (ІГХ) ґрунтується на оцінюванні одного маркера, що не дає достатньої інформації про біологічну поведінку кожної окремої клітини. ІГХ не може забезпечити мультипараметричну поглиблену характеристику тканини. Для подолання обмеження традиційної ІГХ, було випробувано кілька підходів, що ґрунтуються на мульти-оміці та просторовому аналізі [71, 80].

Серед доступних методів просторової -оміки виділяють просторову протеоміку, транскриптоміку та геноміку [7, 46, 90]. Більшість методів просторової протеоміки є методами, заснованими на застосуванні антитіл, як при класичній ІГХ. Наразі ці методи стають більш складними за рахунок мультиспектральної візуалізації та/або ітеративної візуалізації послідовних циклів фарбування антитіл у поєднанні з відбілюванням, інактивацією або розщепленням флуорофора або видаленням антитіл [110, 145]. Так само просторова транскриптоміка дозволяє візуалізувати локальні транскрипти РНК у тканині шляхом вимірювання заздалегідь визначених цілей або навіть глобальних даних про експресію [121].

Деякі зі згаданих технологій застосовано до меланоми шкіри в спробі покращити прогностичну та прогнозну ефективність потенційних біомаркерів або як інструмент відкриття для розгадки механістичних ідей у вивченні імунного мікрооточення пухлини, що передбачає проведення просторового аналізу численних і різноманітних імунних клітин у межах пухлини [121, 182, 185]. Перший приклад передбачає використання віртуального мультиплексування, що вертикально вирівнює цифрові зображення з серійних зрізів. Приклади віртуального мультиплексування – комерційно доступні рішення VisioPharm та HistogGeneX. Модуль аналізу Tissuealign™ був валідований для використання в діагностиці *in vitro* (CE-IVD) у Європі [88,

186]. Тим не менш, вертикальна реєстрація поки що не дозволяє детально визначити фенотип окремих клітин, що вимагає розуміння ко-експресії різних маркерів в одній і тій самій клітині [33, 145]. Для ідентифікації усіх субпопуляцій імунних клітин, що присутні в гістологічному зразку, іноді необхідне оцінювання більше ніж 20 маркерів, в ідеалі на тому самому зрізі тканини [35, 121].

Більшість досліджень ставили завдання відобразити імунне мікрооточення меланоми (The tumor immune microenvironment-TIME). TIME – складна та динамічна екосистема, що складається з пухлинних клітин, імунних клітин, стромальних клітин і позаклітинного матриксу, відіграє вирішальну роль у прогресуванні пухлини, метастазуванні та відповіді на терапію. Розуміння складу та взаємодій у межах TIME є життєво важливим для розроблення ефективних методів лікування меланоми. Більшість із них додали важливу інформацію для розуміння імунної відповіді проти меланоми та специфіки відповіді на імунотерапію [33, 45, 80]. Мультиплексна ІГХ дозволяє отримати уявлення про просторову організацію та взаємодію компонентів [35, 182]. Дійсно, просторовий вимір (тобто розуміння точного положення кожного типу клітин у тканині) можна розглядати як сам біомаркер [33]. Доступні методи аналізу тепер можуть генерувати показники щільності клітин для певних ділянок тканини, оцінювати відстань між різними типами клітин та багато іншого [185]. Такі знання вищого порядку дають можливість вийти за межі простого цитометричного аналізу тканини (тобто загального клітинного складу тканини) і дослідити «клітинну соціологію», щоб зробити припущення про їхню взаємодію в окремих нішах [45, 71, 170]. Більше того, вже на початку розвитку геноміки окремих клітин було зрозуміло, що успіх різних одноклітинних технологій частково залежатиме від того, наскільки дослідники можуть зберегти цілісність клітин і вихідний склад тканини [73, 90, 110].

Більшість методів просторових -omics обмежені їх здатністю досліджувати лише один тип аналіту (білок або нуклеїнові кислоти). Наступним кроком, що наближає до повного розуміння імунного мікрооточення меланоми та ключових детермінант відповіді на імунотерапію є інтеграції інформації, отриманої із кількох підходів -omics, кожен із яких надає додаткову інформацію [170]. Інтеграція інформації з різних технологій -omics і особливо тих, що інтегрують дані з одного розділу на рівні однієї клітини, зберігаючи просторовий контекст, є кінцевою метою для патології наступного покоління [45, 185]. Незважаючи на значний прогрес у розробленні методологій, що одночасно витягують різні ознаки з однієї клітини, справжній, просторово інтегрований мультиомічний підхід, щоб б дозволяв одночасний аналіз протеома, транскриптома, геному та епігенома в просторових координатах, все ще є не доступним. Поки триває розроблення таких комбінованих технологій, оцінюються інші підходи, включаючи обчислювальну інтеграцію аналізів із просторовою роздільною здатністю (що, зазвичай, спираються на заздалегідь визначений, але обмежений набір функцій) і неупереджений метод, такий як одно- клітинне РНК-секвенування (scRNAseq) [73, 110].

Інший спрощений підхід полягає у виконанні різноманітних аналізів-оміки з просторовою роздільною здатністю на серійних зрізах та об'єднанні результатів у комплексну структуру [121]. Крім того, об'єднання кількох -omics на серійних зрізах можна інтегрувати на рівні тканини за допомогою вертикальної реєстрації [187]. Наприклад, цифрове накладання класичної ІГХ melan-A на одному зрізі та РНКоскопічне зондування hTERT на сусідній ділянці дозволило продемонструвати вищу експресію мРНК hTERT у меланомі шкіри порівняно з доброякісними невусами [65]. Ще один підхід полягає в застосуванні лазерної мікродиссекції ділянок тканини для аналізу експресії генів, керуючись класичним ІГХ фарбуванням на сусідній ділянці.

Такий підхід використовувався для порівняння профілів експресії ІГХ-позитивних і ІГХ-негативних ділянок, таким чином покращуючи чистоту клітинного типу в різних зразках порівняно з класичними транскриптомними даними. Це стало можливим завдяки розробленню транскриптоміки з просторовою роздільною здатністю через прикріплення епітопів (SvEA) [65, 121]. У цьому підході транскриптомні дані, отримані за допомогою ДІ TE-seq, можуть бути зіставлені з просторово розділеними даними CODEX mIHC, зберігаючи при цьому просторову роздільну здатність однієї клітини шляхом використання вимірювань тих самих антигенів в обох методах [71].

Нещодавно комерційно доступною стала платформа GeoMx® DSP (Digital Spatial Profiling) [68]. Вона дозволяє кількісно визначати білок або РНК у визначених користувачем регіонах інтересу (ROI) з можливістю вибору досліджуваної ділянки з роздільною здатністю однієї клітини (УФ-лазер може бути сфокусований у вузькій області діаметра 10 мкм). Цей вибір ROI досягається шляхом поєднання звичайної імунофлюоресценції з низьким плексом разом із десятками первинних антитіл або зондів гібридизації мРНК, кожен із яких ковалентно приєднаний до індексуєчих олігонуклеотидів, які можна зібрати для кількісного визначення за допомогою лінкера, що розщеплюється на УФ-фото [121]. Використовуючи цей метод, було проведено аналіз транскрипційного профілю регіонів із високою та низькою експресією бета-катеніну в меланомі, що продемонструвало значну кореляцію з кількома імунорегуляторними цілями, включаючи CTLA-4 та PD-1 [185]. Подібним чином метод використовувався для демонстрації специфічного профілю експресії у фіброзних ділянках із високою інфільтрацією макрофагами і Т-клітинами у ВАР-1 негативній увеальній меланомі [33, 187]. Ці дані свідчили про виснаження Т-клітин, а також механізми імунного виключення, та були підтверджені клінічними спостереженнями неефективності імунотерапії в цій підгрупі, що стимулює до розроблення специфічних підходів до діагностики та лікування [55, 155].

Висновки до розділу:

1. Конвергенція цифрової патології та штучного інтелекту обумовлює докорінну зміну існуючих парадигм у практиці патології. Завдяки цифровій патології біологи та лікарі отримують розширені можливості для підвищення точності, ефективності та узгодженості діагностики. Доступ до цифрових слайдів полегшує дистанційну первинну діагностичну роботу, телеконсультації, ефективність і балансування робочого навантаження, співпрацю, централізований огляд клінічних випробувань, аналіз зображень, віртуальну освіту та інноваційні дослідження.

2. Виявлення субвізуальних морфометричних особливостей та інтеграція даних мульти-оміки є передумовами покращення прогностичної та предиктивної інформації для персоналізації лікування пацієнтів із меланомою шкіри, що відкриває нові перспективи прецизійної медицини.

3. Інтеграція мультимодальних онкологічних даних за допомогою штучного інтелекту та інших передових обчислювальних методів є ключовим прогресом у сфері ЦП та СРАТН. Синергічно поєднуючи клінічні, радіологічні, патологічні та молекулярні дані, дослідники та клініцисти можуть отримати безпрецедентне розуміння складної динаміки раку, що веде до більш ефективних і персоналізованих терапевтичних стратегій. Цифрова патологія стоїть на порозі нової ери, де міждисциплінарна та трансдисциплінарна співпраця стає основою принципово нової логіки мультимодальної інтеграції даних, що матиме вирішальне значення для відкриття нових шляхів діагностики та лікування онкологічних захворювань.

4. Упровадження цифрової патології потребує вирішення низки важливих проблем, пов'язаних із алгоритмами діагностики та персоналізованого лікування.

Результати першого розділу дисертаційного дослідження представлено в [1, 3, 50, 55, 56, 171].

РОЗДІЛ 2

ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ

Сучасним лабораторіям важливо мати системи, що можуть автоматизувати процеси збирання та оброблення інформації певним чином, хоча це потребує додаткових витрат. Проте саме автоматизація набуває великого значення для процесів, пов'язаних із кібербезпекою, що також вимагає постійного оновлення відповідно до останніх технологічних розробок.

Для отримання валідної статистики даних у роботі використано технологію субнаціональних досліджень, що у порівняльній статистиці неухильно зростає останні два десятиліття. Вона пропонує нову типологію багаторівневих дослідницьких проєктів, що фокусується зокрема на крос-національному аналізі (CSNA, Cybersecurity Social Network Analyser).

У дослідженні застосовано як класичні методи оброблення інформації, так і принципи якісного порівняльного аналізу (QCA, Qualitative Comparative Analysis). Якісний порівняльний аналіз – методологія аналізу даних на стику якісних і кількісних підходів, що використовує теорію множин для вивчення складних взаємозв'язків між умовами та наслідками (результатом), особливо ефективний для «проміжних» наборів даних (10-50 випадків), тобто де класична статистика не підходить. QCA описує взаємозв'язок у термінах необхідних і достатніх умов [141]. Метод розроблено Ч. Рагіним у 1987 [142] для вивчення наборів даних, що занадто малі для лінійного регресійного аналізу, але великі для перехресного аналізу. Контекстний аналіз необхідний у порівняльних дослідженнях, оскільки він досліджує важливість контекстних умов причинно-наслідкових зв'язків. Останніми роками використання методів теорії ймовірності разом із QCA дозволило отримати відмінні результати, що дало можливість його використання в різних областях, зокрема в біомедицині [19]. Застосований нами підхід заснований на логіці

якісного відбору випадків для досягнення розумного компромісу між внутрішньою та зовнішньою валідністю.

З метою досягнення поставлених мети та завдань для проведення дослідження визначено три етапи.

Перший етап спрямовано на аналіз змінних, асоційованих із наявністю та типом мутацій у гені BRAF при меланомі шкіри задля визначення ключових факторів, асоційованих із молекулярними характеристиками пухлини.

Другий етап дослідження присвячено розробленню предиктивної моделі наявності мутації у гені BRAF при меланомі шкіри, що є ключовим фактором для призначення таргетної терапії.

Третій етап дослідження направлено на розроблення прогностичної моделі для оцінювання появи меланоми шкіри та визначення груп ризику (високого та низького) стосовно розвитку рецидиву меланоми шкіри.

2.1. Системно біологічні уявлення в проведенні дослідження

З системних позицій біомедицини існування складних багатоклітинних організмів можливе переважно завдяки координації біохімічних процесів у клітинах та органах. Білок B-Raf – член сімейства сигнальних протеїнкіназ Raf. Білок відіграє роль у регуляції MAPK/ERK сигнальних шляхів, що впливають на клітинний поділ, диференціювання та секрецію. Передавання сигналу (сигнальна трансдукція, трансдукція, сигналінг) – у молекулярній біології термін «Передача сигналу» відноситься до будь-якого процесу, за допомогою якого клітина перетворює один тип сигналу або стимулу на інший. Основою координації слугує міжклітинна комунікація та передавання сигналу. Водночас це дає можливість одній клітині контролювати поведінку інших [4].

У більшості випадків передавання сигналу є ланцюгом послідовних біохімічних реакцій, здійснюваних ферментами, частина з яких активується вторинними посередниками. Такі процеси зазвичай є швидкими: їхня тривалість – порядку мілісекунд у разі іонних каналів і хвилин – у разі активації протеїнкіназ та ліпід-опосередкованих кіназ. Однак у деяких випадках від отримання клітиною сигналу до відповіді на нього можуть проходити години та навіть доба (у разі експресії генів). Шляхи передавання сигналу або сигнальні шляхи часто бувають організовані як сигнальні каскади: кількість молекул білків та інших речовин, що у передаванні сигналу зростає при кожному наступному етапі в міру віддалення від початкового стимулу. Отже, навіть відносно слабкий стимул може викликати значну відповідь (ампліфікацію сигналу).

Порушення в системі передавання сигналів можуть призвести до розвитку раку, аутоімунних захворювань та інших патологічних процесів. Відповідно, розуміння механізмів передавання сигналу всередині клітини може призвести до розроблення принципово нових методів лікування цих захворювань [127].

У людини виявлено понад 30 різних мутацій генів, пов'язаних із розвитком злоякісних пухлин. Частота народження мутації у гені BRAF сильно різниться в залежності від типу пухлини: від понад 80 % при меланомі шкіри до 1-3 % при легеневій карциномі [43, 126]. У 90 % випадків, коли рак пов'язаний із мутацією у гені BRAF, мутація викликана заміною тиміну на аденін у нуклеотиді 1799 гена. Це призводить до заміни валіну на глютамінову кислоту в кодоні 600 (т. зв. V600E) регіону, що активує [176, 202].

Дослідження BRAF-мутації має фундаментальне значення для визначення методу лікування меланоми шкіри. Виділяють кілька видів мутації цього гену, що позначаються комбінацією літер і цифр. Якщо вчасно встановити наявність прогресуючої мутації у гені BRAF, можна підвищити ефективність лікування меланоми шкіри [94]. Сьогодні таргетна терапія

онкозахворювань суттєво збільшує відсоток виживання важких онкохворих. Тому точний діагноз, заснований на лабораторних дослідженнях, стане запорукою результативного лікування та повного одужання у майбутньому.

2.2. Етичний імператив прозорості використання інструментів захисту та шляхи подолання бар'єрів у впровадженні цифрової патології

Для ефективнішого застосування технологій цифровізації даних обстежень у патології з метою підвищення точності діагностики та прогнозування результатів лікування, а також у подальшому побудови прогностичних моделей для обґрунтування прийняття рішень при менеджменті пацієнтів на прикладі меланоми шкіри нами використано алгоритми штучного інтелекту.

Слід звернути увагу, що сьогодні при використанні в патології рішень на основі штучного інтелекту важливе значення має прозорість у прийнятті рішень. Більшість упереджень стосовно штучного інтелекту пов'язано з низьким рівнем комп'ютерної грамотності та необґрунтованими побоюваннями, тому прозорість може сприяти зміцненню довіри, визначати відповідальне та доцільне використання інновацій. Довіра до нових технологій залежить від кваліфікації та зростає з досвідом [87, 171]. Ще у 2017 році деякі дослідження показали, що понад 90 % патологів приймають зображення цільного слайду для вирішення діагностичних завдань. Більше того, перехід до віртуальної діяльності, сприяв мережевому навчанню та консультаціям патологів із використанням і обміном WSI. Це визначило прийняття віртуальних зустрічей і слайдів як заміну скляних зразків для звичайної практики. Аналогічно, перша реалізація обчислювальних інструментів патології на основі ШІ для аналізу зображень ґрунтувалася на зрозумілості та причинно-наслідковому підході. Алгоритми машинного навчання перевершили стандартну клінічну модель оцінювання ризику

розвитку раку молочної залози протягом 5 років, що підкреслює роль ІІІ в лікуванні раку [16].

Гарантія того, що рішення на основі ІІІ прозорі, неупереджені та етично виправдані, має першорядне значення для підтримки довіри різних заінтересованих сторін. Глибина прозорості, принаймні частково, залежить від типу методів машинного навчання (контрольоване, неконтрольоване або навчання з підкріпленням) [143]. Вибір серед широкого спектра алгоритмів у межах різних платформ машинного навчання залежить від мети і завдань, типу, кількості аналізованих даних і розміру набору даних, підходу до навчання, рівня точності, необхідності кластеризації, ієрархічного виведення або швидкості оцінювання даних тощо. Проблеми з довірою, що перешкоджали широкому впровадженню інструментів обчислювальної патології у діагностичних умовах, призвели до появи підходу пояснювального ІІІ [30, 40]. Хоча реальне його застосування залежить від різноманітності та розміру навчального набору, глибини даних, включених в аналіз, технічних параметрів (сканер, оброблення, фарбування), якості анотацій первинних даних тощо [7]. Наявність впливу таких технічних факторів, як розмиття, складки тканин, розриви або колірні варіації, визначило розроблення алгоритмів формалізацій, нормалізації та колірного розширення, а також створення спеціальних тестів на відтворення «кризи відтворюваності» в цифровій патології та створення відповідних шкал оцінювання ненадійних рішень на основі штучного інтелекту [200].

Одночасно нами вивчено питання етичної навігації створення біобанкіну в Україні. З'ясовано, що відсутність правового та етичного регулювання в поєднанні з обмеженою обізнаністю про біобанкінг та недовірою суспільства є основними загрозами для створення біобанків [52]. Відповідно національні керівні принципи повинні відповідати міжнародним етичним рекомендаціям стосовно захисту прав, добробуту та конфіденційності учасників. Крім того, зусилля з навчання та залучення

лікарів і пацієнтських спільнот є важливими для досягнення цілей біобанкінгу та користі для точної біомедицини і майбутнього пацієнтів.

Підкреслимо, що прогрес точної біомедицини залежить від використання високопродуктивних технологій та інтегрованого аналізу даних для виявлення, вимірювання та оцінювання широкого спектру біомедичних даних, включаючи інформацію про пацієнтів: генетичну, геномну, метаболічну, протеомічну, гістопатологічну, поведінкову та екологічну. Відкриття нових біомаркерів залежить від наявності відповідних типів біологічних зразків (кров, рідини, зразки тканин, клітин або нуклеїнових кислот тощо) та пов'язаних із ними даних від репрезентативних груп пацієнтів.

Слід зазначити, що більшість українських біобанків працюють за моделлю декількох місць збору зразків, співпрацюючи з численними закладами та дослідниками, що визначає як переваги моделі, так і недоліки [75]. Основними перевагами моделі взаємного співробітництва є масштабність збору зразків і географічна різноманітність, відкритість для кожного суб'єкта, який бажає взяти участь у проєктах біобанкінгу [25]. Для зменшення операційних витрат та оптимізації якості зразків деякі українські біобанки функціонують як контрактні науково-дослідні організації, залучаючи третіх осіб для надання таких необхідних послуг, як забір зразків, оброблення тканин, їхнє збереження, хостинг та зберігання баз даних. Слід зауважити, що нормативно-правове забезпечення функціонування біобанкінгу в країні почало позитивно змінюватись на виконання Закону України від 05 червня 2014 р. № 1315-VII «Про стандартизацію» та розпорядження Кабінету Міністрів України від 26.11.2014 № 1163 «Про визначення державного підприємства, яке виконує функції національного органу стандартизації». Був прийнятий наказ Державного підприємства «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» від 28.12.2022 № 285 «Про пакетне прийняття європейських нормативних документів CEN/CENELEC», яким уведено в дію

ДСТУ EN ISO 20387:2022 Біотехнологія. Біотаніка. Загальні вимоги до біобанкінгу (EN ISO 20387:2020, IDT; ISO 20387:2018, IDT).

Проте головним викликом для українського біобанкінгу залишається питання відсутність належним чином підготовлених кадрів, майбутнім українським лікарям і біологам необхідні знання про діяльність біобанкінгу та прецизійну медицину.

Наступний важливий аспект дослідження та один із ключових принципів дослідницької етики в дослідженнях за участю людей – інформована згода [5]. Через унікальний контекст досліджень біобанків інформована згода повинна включати типи даних, що будуть зібрані, потенційне використання зразків у випадку вторинних досліджень, регулювання доступу до даних і зразків або обміну ними, а також механізми нагляду для захисту приватності. Донори повинні мати право відкликати свою згоду, і повинно бути роз'яснено, що станеться з біозразками і даними в разі припинення участі. Нарешті, документи про інформовану згоду повинні надаватися простою мовою із чітким роз'ясненням [41].

Питання, пов'язані з цифровими зображеннями та даними про пацієнтів, підпадають під дію регламенту про захист даних і конфіденційність в Європейському Союзі та Європейській економічній зоні стосовно захисту фізичних осіб, оброблення персональних даних і вільний рух таких даних (Загальний регламент захисту даних, GDPR) [11]. Стосовно цифрової патології він містить кілька основних принципів, яким мають відповідати цифрові слайди, що містять зразки людини. До них належать: визначення мети, наявність чинної правової основи для збору даних, включаючи мету, з якою дані збираються; анонімізація або псевдоанонімізація [11]. Дані вважаються анонімними лише тоді, коли неможливо відстежити фізичних осіб, у той час як псевдоанонімні дані потребують додаткової інформації, щоб віднести їх до фізичних осіб. Зібрані дані повинні бути обмежені тим, що є суворо необхідним для обсягу дослідження. З іншого боку має бути

дотриманий принцип прозорості з реєстрацією дослідження та наданням відповідної інформації суб'єкту дослідження [136]. Зібрані дані слід зберігати лише стільки, скільки необхідно, крім того, збережені дані повинні оброблятися та зберігатися таким чином, щоб уникнути або обмежити можливість для незаконного оброблення, випадкової втрати, знищення або пошкодження. Це включає такі технічні заходи, як контроль доступу за допомогою бейджів і паролів, докладні журнали моніторингу кожного поточного процесу в системі, шифрування даних тощо [102].

Безсумнівно, цифрова патологія має значний потенціал, зокрема для революції у дерматопатології. Однак, щоб досягти його впровадження, потрібно також подолати численні виклики, пов'язані з культурними перешкодами, що передбачають валідацію, доступну інфраструктуру, регуляторні та професійні аспекти [38, 136].

По-перше, незважаючи на переваги цифрової патології, патологоанатоми все ще висловлюють деякі застереження стосовно використання цифрових слайдів для діагностики [62, 102]. Ці застереження в першу чергу стосуються часу, необхідного для оцінювання цільних цифрових слайдів під час рутинної роботи [50]. Багато експертів патологоанатомів визнають переваги цифрової патології для цифрового формату навчання, отримання другої думки та поширення цікавих кейсів [134].

По-друге, відповідна валідація нових інструментів цифрової патології залишається абсолютною вимогою перед впровадженням у практику для діагностичних цілей [7, 135]. Така перевірка відбувається не лише на рівні компанії, що намагається продати розроблений діагностичний інструмент, але також може здійснюватися локально – безпосередньо у відділенні патології, що бажає запровадити нову технологію у свій робочий процес [115, 134]. Сама валідація в основному вимагатиме паралельного порівняння слайдів тканини, інтерпретованих вручну та за допомогою цифрових інструментів [135].

Перевірка також необхідна для алгоритмів глибокого навчання, що теоретично можуть ґрунтуватися на хибних або некоректно анотованих даних із навчальних наборів [50, 110]. Зокрема, з одного боку, алгоритми мають бути суворо специфічними для захворювання та виключати будь-яке інше захворювання, що може бути виявлено під час аналізу (наприклад, алгоритми, розроблені для аналізу меланоми шкіри, повинні розпізнавати та скасовувати аналіз будь-якої іншої пухлини шкіри) [7]. З іншого боку, оскільки вони надзвичайно залежні від свого навчання, важливо проводити корекцію при оновленні класифікацій або критеріїв діагностики [64].

Крім зазначених викликів, існують також важливі інфраструктурні проблеми, що можуть перешкоджати впровадженню цифровізації у лабораторії [90, 136]. Стандартне мікроскопічне предметне скло, таке як те, що використовується в патології, зазвичай має довжину 75 мм, ширину 26 мм і товщину приблизно 1 мм. Оскільки роздільна здатність і глибина кольору цифрових детекторів покращуються, розмір зображень, що фіксують ці слайди, продовжує збільшуватися. Найсучасніший інструмент збору даних має роздільну здатність 0,44 мікрометрів/пікселя (20X) і глибину кольору 16 біт (~65 тис. рівнів сірого). Отже, при скануванні двовимірних слайдів зі стандартними розмірами, окремі зображення досягають розміру ~20 Гігабайтів. Залежно від розміру сканованої області та типу стиснення зображення цільні зображення слайдів можуть мати розмір від 0,5 до 4 Гб [45, 136]. Це означає сотні терабайт на рік (або навіть петабайт, якщо розглядати велику лікарню), що потрібно належним чином отримати для зберігання, оброблення та передавання зображень [158]. Розроблення та впровадження належної інфраструктури для цифрової патології, що має справу з усіма цими завданнями, не є тривіальним завданням і відіграє ключове значення для успішного переходу до цифрової патології [115].

Стосовно отримання зображень, це легко вирішувана проблема, оскільки протягом 20 років із моменту впровадження сканерів гістологічних

препаратів є комерційно доступними й адаптовані для клінічного використання в Європейському Союзі та США [136]. Натомість зберігання та передавання зображень – критично важливі кроки, що можуть вимагати значних інвестицій із боку закладу. Існують різні типи рішень для зберігання зображень, починаючи від локальних, таких як Direct Attached Storage (DAS), мережевих рішень, таких як Network Attached Storage (NAS), хмарних рішень (таких як сховище Amazon S3 Glacier), або зовнішні служби (регіональні суперкомп'ютерні центри) [136]. Останні два приклади вимагають надсилання даних третім сторонам, що можуть мати проблеми з захистом персональних даних [11]. У більшості випадків для архівування даних потрібно одночасно впроваджувати кілька таких рішень залежно від різних факторів, включаючи частоту доступу (гаряче/інтерактивне чи холодне/архівне зберігання) або цільове використання. Для передавання зображень, рішень, де дані зберігаються віддалено та/або зображення віддалено аналізуються, швидкість передавання даних (пропускна здатність мережі) стає критичним фактором [158]. Якщо ж розглядати зображення розміром 10 Гб і стандартну локальну мережу з пропускну здатністю 100 Мбіт/с, то передавання файлу займає ~15 хвилин [147]. Тому важливо гарантувати середовище з достатньою пропускну здатністю перед тим, як зробити крок до цифрової патології. Нарешті, більшість алгоритмів аналізу цифрових зображень, що зараз використовуються в клінічній практиці, обмежуються традиційним аналізом зображень і можуть використовуватися на звичайних комп'ютерах із центральними процесорами [105].

Алгоритми глибокого навчання, з іншого боку, значною мірою залежать від блоків прискорення оброблення, таких як графічні процесори. Графічні процесори високого класу дуже дорого вартісні, тому центри, що впроваджують глибоке навчання в цифровій патології, можуть обрати спеціальну робочу станцію/сервер або навіть навчати/запускати свої алгоритми в хмарі чи зовнішніх суперкомп'ютерних центрах. Останнім часом

розроблення блоків оброблення тензорів (TPU) дозволяє тренувати глибокі нейронні мережі в 15-30 разів швидше та в 30-80 разів енергоефективніше, ніж сучасні процесори або графічні процесори [115]. Додаткові інфраструктурні питання, що розглядаються для впровадження глибокого навчання в цифровій патології, включають: кількість користувачів виділених комп'ютерів; гнучкість системи для впровадження нових алгоритмів або змінного навантаження; вартість впровадження/експлуатації об'єкта; кібербезпеку; управління даними тощо [136].

Потреба прямого впровадження штучного інтелекту також надає значні дослідницькі можливості для розроблення нових теоретичних підходів і практичного застосування машинного прийняття рішень у біомедицині. Розуміння структури системи прогнозування та обґрунтоване кількісне оцінювання невизначеності є можливими, що значно покращить як дослідження, так і практичне застосування штучного інтелекту [15].

2.3. Методологія розроблення предиктивної моделі для оцінювання вірогідності мутації у гені BRAF при меланомі шкіри. Особливості дизайну

Патогістологічне дослідження меланоми шкіри проведено кваліфікованим патологоанатомами на операційному матеріалі в клініко-діагностичній лабораторії CSD. На першому етапі після фіксацій зразків пухлини в 10 % нейтральному забуференому формаліні, матеріал проходив процедуру автоматизованого процесінгу відповідно до стандартних операційних процедур та інструкції, за тим матеріал заливали у парапласт. Виготовлені парафінові блоки різали на мікротомі з формуванням зрізів 4-5 мкм у товщину для виготовлення гістологічних препаратів. За цим зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином із застосуванням автоматизованого стейнера (DAKO coverstainer, USA).

Патогістологічне заключення формувалося відповідно до протоколів CAP, та включало визначення статусу та аналіз таких демографічних і патогістологічних характеристик: стать пацієнта; вік на момент первинного діагнозу; анатомічна зона локалізації первинної меланоми; гістологічний тип меланоми відповідно до класифікації BOOЗ; стадія за даними патогістологічного дослідження; розмір пухлини (pT); статус лімфатичних вузлів (pN); ознаки виразкування меланоми; ознаки регресії пухлини; глибина інвазії за максимальною товщиною пухлини за Бреслоу (в мм); глибина інвазії за анатомічним ураженням шарів шкіри за Clark рівнем; кількість мітозів (на 1 mm²); лімфоваскулярна інвазія; нейротропізм (периневральна інвазія); асоціація з невусом; щільність інфільтрації лімфоцитами; ознаки регресії пухлини на етапі первинної діагностики. Всі ці параметри представляють інтерес як прогностичні фактори.

Оцінювання лімфоцитів, що інфільтрують пухлину (TILs), виконувалось із застосуванням простого дихотомічного підходу як TIL_{low} або TIL_{high} відповідно до результатів патогістологічного висновку.

Крім того, для аналізу було застосовано результати молекулярно-генетичного дослідження, спрямованого на визначення мутації у гені BRAF у кодоні 600 та тип мутації.

Молекулярне тестування для визначення мутацій у кодоні 600 гену BRAF проводили на зразках пухлини використовуючи парафінові блоки зразків пухлини після попередньої фіксації у формаліні. Всі зразки проходили попереднє оцінювання стосовно відсотку пухлинних клітин (не менше 30 % пухлинних клітин) та прийнятності матеріалу до молекулярного дослідження (> 20 % пухлинних клітин, не менше 200 клітин меланоми у зразку, < 20 % ділянок некрозу). З кожного блоку виготовляли десять зрізів товщиною 10 mm із репрезентативними ділянками пухлини. Екстрагування ДНК проводили з використання наборів ZYTOVISION VisionArray FFPE DNA Extraction Kit відповідно до інструкцій виробника. Детекцію BRAF-мутацій codon 600

проводили використовуючи систему Easy PGX qPCR: Easy PGX ready BRAF (Italy) методом полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу (RT-PCR). Застосування вказаної тест-системи дозволяло визначити 5 типів BRAF мутацій у кодоні 600: V600E (1799T>A), V600E (1799_1800TG>AA), V600K (1798_1799GT>AA), V600D (1799_1800TG>AT), V600R (1798_1799GT>AG).

Завдання другого етапу дослідження полягало в розробленні математичної моделі предикції наявності мутацій у гені BRAF при меланомі шкіри на основі аналізу клінічних, демографічних та патогістологічних даних. Дизайн даного етапу дослідження – когортне дослідження. В якості кінцевої точки дослідження використовували BRAF статус, за яким меланому шкіри оцінювали як BRAF-мутовану (BRAFm) або BRAF дикого типу (BRAFWt).

Дизайн третього етапу дослідження – випадок-контроль. Для даної фази дослідження були відібрані лише ті випадки, що включали динамічне спостереження та гістологічне підтверджений результат (ремісія або рецидив) за 3 роки після постановки первинного діагнозу меланоми шкіри. Враховуючи особливості прогнозу меланоми шкіри різних стадій, до даної фази дослідження було включено лише випадки, що відносилися до I-III стадій і виключено всі кейси з дистантними метастазами. Всі пацієнти мали повний набір клінічних і патогістологічних даних, а також були протестовані на наявність мутації у кодоні 600 гену BRAF.

Критерії включення відповідно до діагностованої первинної пухлини:

- гістологічно підтверджений діагноз меланоми шкіри;
- стадії I-III;
- відсутність повного набору гістологічних даних відповідно до протоколу CAP;
- наявність дистантних метастазів на етапі первинної діагностики;
- невідомий статус BRAF;

- відсутність гістологічного підтвердження результату перебігу меланому за 3 роки від первинного діагнозу;
- негативні краї хірургічної резекції після ексцизії для виключення прямого впливу позитивних країв на вірогідність локального рецидиву меланому шкіри;
- відомий гістологічний тип меланому шкіри;
- наявні дані про гістологічних прогностичні чинники, як то ознаки інвазії, виразкування, мітози, інфільтрація лімфоцитами, мікросателітоз;
- відомий статус мутації гену BRAF у кодоні 600;
- наявність результату перебігу меланому шкіри протягом 3 років після первинного діагнозу.

Критерії виключення:

- інцизійна біопсія меланому шкіри;
- позитивні краї резекції.

Для отримання достанької кількості статистичних даних використовували біологічні зразки з біобанку CSD BIO, створеного у 2022 році (наказ від 02.01.2019 № 3-ОД).

2.4. Кількісна складова експериментальної частини дослідження

Виконання завдань дисертаційного дослідження було пов'язане з аналізом двох вибірок. Перша вибірка створена для виявлення частоти мутації у гені BRAF в українській популяції, а також прогнозування мутації у гені BRAF. Друга вибірка призначалась для створення моделі прогнозування рецидиву меланому шкіри.

Аналіз взаємозв'язку між клініко-демографічними, патогістологічними характеристиками меланому шкіри та мутації у гені BRAF в українській популяції для визначення ключових змінних, що асоційовані з BRAF-позитивними та BRAF-негативними меланомами шкіри проведено

шляхом теоретичного дослідження у форматі систематичного метаогляду. Проаналізовано 117 літературних джерел.

Для практичної складової дослідження використовували дані біобанкінгу. При первинному екстрагуванні даних було відібрано 1268 випадків, із них 24 характеризувалися наявністю увеальної меланоми і 32 випадки меланоми слизових оболонок, 727 випадків з обмеженою кількістю доступних демографічних, клінічних і патологоанатомічних даних. Після їх вилучення залишилося 485 випадків. Серед яких 299 випадків первинної меланоми шкіри та 186 метастазів.

Загальна вибірка етапу дослідження із визначення частоти мутації у гені BRAF в українській популяції, а також прогнозування мутації у гені BRAF включала 299 даних пацієнтів із меланомою шкіри. Для цієї фази дослідження використовували такі демографічні та клінічні дані: вік і стать пацієнтів, клінічний діагноз, клінічна стадія, патогістологічний діагноз, локалізація первинної пухлини, розмір первинної пухлини, ураження лімфатичних вузлів тощо. Кінцеві точки дослідження включали наявність і тип мутації у гені BRAF або дикий тип меланоми шкіри.

Для оцінювання прогностичних факторів та розроблення моделі відібрано 202 випадки меланоми шкіри із застосуванням дизайну випадок-контроль. Усі випадки, що залучені до даного дослідження, мали історію спостереження в період з 2020 по 2023 роки та гістологічно підтверджений результат (рецидив або ремісія). Серед усіх даних пацієнтів, залучених у дослідження на даному етапі: 103 (50,9 %) чоловіки та 99 (49,1 %) жінки. Вік пацієнтів чоловічої статі у даній вибірці становив $52,6 \pm 1,51$ (95 % ДІ 49,6-55,6) роки і порівнювався з такими даними для жінок $52,0 \pm 1,46$ (95 % ДІ 49,2-54,9).

Кількісна складова за конкретними напрямками досліджень представлена в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Кількісна складова експериментальної частини дослідження

Напрямок дослідження	Завдання дослідження	Методи дослідження	Кількість спостережень
1	2	3	4
Аналіз взаємозв'язку між клініко-демографічними, патогістологічними характеристиками меланоми шкіри та мутації у гені BRAF в українській популяції	Визначити ключові змінні, асоційовані з BRAF-позитивними та BRAF-негативними меланомами шкіри	Описова статистика. Показники варіаційної статистики (математичне сподівання (M), середньоквадратичне відхилення, 95 % довірчий інтервал (ДІ), рівень значущості). Для визначення набору ознак із найвищим впливом на результат перебігу меланоми шкіри – покроковий метод та визначення оптимальної моделі мультиваріабельної логістичної регресії	Теоретичне дослідження, 117 літературних джерел

Продовж. табл.2.1

1	2	3	4
Дослідження частоти і спектру мутації у гені BRAF, їх зв'язок із перебігом меланом шкіри	Визначення рівня мутації у гені BRAF в українській когорті	Описова статистика, математичне очікування з довірчими інтервалами, оцінка частотних показників, непараметричний критерій для порівняння незалежних вибірок, оцінка взаємозв'язків між категоріальними змінними за допомогою метода χ^2 -Пірсона з поправками на правдоводібність	299 випадків первинної меланом шкіри (152 (50,8 %) жінки, 147 (49,2 %) чоловіки). Серед включених випадків було 169 зразків BRAF-мutowаної МШ (56,5 %), тоді як у решти 130 випадків мутації у гені BRAF не було виявлено
Розроблення значущої моделі для прогнозування мутації у гені BRAF	Оцінювання факторів, що передбачають статус меланом шкіри. Побудова прогностичної моделі ризику розвитку	Метод генетичного відбору. Застосування моделі бінарної логістичної регресії, моделі класифікації та регресійного аналізу та моделі випадкового лісу, аналіз нейронної мережі. Розрахунок і оцінювання відношення шансів моделі, OR (95 % ДІ)	Оцінено зразки 2041 пацієнта з МШ. Серед них 1235 – МШ із мутаціями у гені BRAF (60,5 %). Середній вік пацієнтів становив $54,2 \pm 0,31$ років. У досліджуваній когорті дані 991 чоловіка та 1050 жінок.

Продовж. табл.2.1

1	2	3	4
	рецидиву меланоми шкіри	Метод побудови нелінійних нейромережових моделей	
Розроблення прогностичної моделі для оцінювання ризиків рецидиву у пацієнтів із меланою шкіри	Виявлення зв'язку ризиків прогресування захворювання у пацієнтів із меланою шкіри	Показники варіаційної статистики (математичне сподівання (М), похибка середнє арифметичної, 95 % довірчий інтервал). Метод логістичної регресії. Аналіз відношення шансів. Однофакторний аналіз	Аналіз проводився за даними 202 пацієнтів, у якості факторів ризику аналіз проводився для 17 показників. Група високого ризику включала дані 172 пацієнтів віком $52,2 \pm 1,1$ роки. Група низького ризику включала дані 30 пацієнтів зі стабільною ремісією, вік пацієнтів становив $52,9 \pm 2,76$ роки.

2.5. Методи оброблення результатів дослідження

Після попереднього збору та очищення вхідної інформації проводився статистичний аналіз отриманих даних, що включав традиційні та спеціальні підходи в залежності від вирішуваних завдань і отриманих для аналізу даних. Для статистичного оброблення використовували комплекс методів варіаційної та альтернативної статистики, факторний аналіз, методи математичного моделювання, прогнозування, методи класифікації, логістичної регресії та ROC – аналізу.

При варіаційному аналізі обчислювалися: математичне сподівання за формулою (2.1), дисперсія за формулою (2.2), середнє квадратичне відхилення за формулою (2.3), ймовірність помилки Р.

$$M(x) = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n} \quad (2.1),$$

$$D(x) = \sum_{i=1}^n \frac{(\bar{x} - x_i)^2}{n} \quad (2.2),$$

$$\sigma_x = \sqrt{D(x)} \quad (2.3).$$

Серед непараметричних підходів оцінювання статистичних розбіжностей кількох виборок використовували критерій Серій, а також критерії Уайта та Колмогорова–Смірнова. На першій фазі дослідження використовували описову статистику.

Значущість частотних розбіжностей досліджуваних ознак була оціненена за допомогою кутового перетворення Фішера. Для порівняння та оцінювання достовірності різниці серед даних, що були представлені якісними характеристиками використовували критерій χ^2 (Пірсона) для якісних даних.

Для зниження впливу випадковості, що могла мати суттєвий вплив на досліджувані дані, використовували алгоритми вирівнювання статистичних рядів, зокрема лінійне наближення, що може бути ефективним для багатьох завдань:

$$y = b_0 + b_1x + \dots \quad (2.4),$$

де

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^N x_i * \sum_{i=1}^N y_i - N * \sum_{i=1}^N x_i y_i}{\left[\sum_{i=1}^N x_i \right]^2 - N * \sum_{i=1}^N x_i^2} ;$$

$$b_0 = \frac{1}{N} * \left[\sum_{i=1}^N y_i - b_i * \sum_{i=1}^N x_i \right].$$

Також лінійне наближення функції використовувалося для оцінювання значущості прогностичних показників бінарної логістичної регресії.

Для оцінювання впливу досліджуваних факторів на результат (розвиток рецидиву меланоми шкіри) використовували відношення шансів (OR) з 95 % розрахунком довірчого інтервалу:

$$OR = \frac{A \cdot D}{B \cdot C} \quad (2.5),$$

де А – кількість випадків, у яких спостерігався фактор ризику і захворювання; В – кількість випадків, у яких присутній фактор ризику, але не було захворювання; С – кількість випадків, що не мали фактору ризику, але мали захворювання; Д – кількість випадків, що не мали ні фактору ризику, ні захворювання.

Дані всіх лабораторних досліджень зберігалися в електронному вигляді. Для всіх критеріїв відмінності вважали статистично значущими на рівні значущості $p < 0,05$.

Статистичний аналіз проводили із застосуванням MedCalc® Statistical Software version 22.016 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023) і програмного забезпечення GraphPad Prism (GraphPad Prism Version 10.0.3 (217) GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). Частина досліджень обробляли із застосуванням сучасних пакетів прикладних програм: Statistica 10 (ліцензія № STA999K347156-W), Microsoft Excel 2016, Statgraphics for Windows.

2.5.1. Використання методів логістичної регресії

Для оцінювання впливу різних ознак на ризик виникнення рецидиву меланому шкіри використовували аналіз методом логістичної регресії. Для визначення набору ознак із найвищим впливом на результат перебігу меланому шкіри використовували покроковий метод і визначення оптимальної моделі мультиваріабельної логістичної регресії [168].

Для розрахунку прогностичної частини моделі логістичної регресії користувалися формулою логістичного перетворення:

$$p = \frac{1}{1+e^{-y}} \quad (2.6),$$

де $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n$ – лінійна функція.

Для визначення ефективності побудованої моделі логістичної регресії використовували ROC-аналіз. При цьому розраховували площу під ROC-кривою та 95 % ДІ для неї.

Для вибору найкращої у заданому напрямку моделі з кількох статистичних моделей використовували інформаційний критерій Акаїке (AIC). Він був розроблений як «an information criterion» Хіроцугу Акаїке [78]. Основою його застосування стало завдання оцінювання якості передбачень моделі на іспитовій вибірці за відомої якості та на навчальній вибірці за умови, що модель налаштовували за методом максимальної правдоподібності. Тобто виконувалося завдання оцінювання перенавчання моделі.

У загальному випадку:

$$AIC = 2k - 2\ln(L) \quad (2.7),$$

де k – кількість параметрів у статистичній моделі, L – значення функції максимальної правдоподібності моделі.

2.5.2. Використання ROC-аналізу

ROC-аналіз сьогодні досить популярний метод оцінювання ефективності бінарних класифікаторів, моделей, об'єктів, що відносять до

двох категорій і розраховують співвідношення між чутливістю та специфічністю вирішального правила для різних порогів класифікацій. ROC-аналіз дозволяє оцінити загальну здатність моделі розрізняти класи, а також обрати оптимальний поріг для конкретного завдання. В біомедицині для оцінювання точності діагностичних тестів і прогностичних моделей ROC-аналіз – цінний інструмент, що допомагає оцінити, наскільки добре тест розрізняє дані пацієнтів із захворюванням і без нього, будуючи графік залежності чутливості тесту від класифікації (1 мінус специфічність) (також відомої як частота хибно-позитивних результатів) при різних порогових значеннях. Також протягом останніх чотирьох десятиліть ROC-аналіз став популярним методом оцінювання точності медичних діагностичних систем. Найкращою властивістю ROC-аналізу є те, що показники точності, отримані за допомогою цієї методики, не спотворюються коливаннями, спричиненими використанням довільно обраних критеріїв прийняття рішення або граничних значень. Іншими словами, на показники точності не впливає критерій прийняття рішення (тобто схильність спостерігача обирати певний поріг для роздільної змінної) та/або враховувати апріорну ймовірність «сигналу» [172].

У нашому завданні цей метод був задіяний як у питаннях прогнозування мутації у гені BRAF, так і предикції розвитку меланоми шкіри. Зауважимо, що при відсутності математичних методів рішення патоморфологів, як правило, неодноголосні. Так, при прийнятті рішень стосовно мутації у гені BRAF лише половина (47,0 %) діагнозів лікарів були одноголосними. Загалом, розбіжність становила 13,5 %. Дев'ять уражень були класифіковані по-різному трьома або більше патологоанатомами. Два були класифіковані по-різному на основі більшості.

Площа під кривою (AUC) підсумовує розташування ROC-кривої. Вона являє собою ефективний і комбінований показник чутливості та специфічності, що описує притаманну діагностичним тестам валідність. Достатньо часто ROC-криві використовуються для порівняння точності двох

або більше різних діагностичних систем, причому AUC, як одновимірний показник, підсумовує «загальне» розташування всієї ROC-кривої. Вона представляє великий інтерес, оскільки має змістовну інтерпретацію. AUC можна інтерпретувати як ймовірність того, що випадково обраний суб'єкт оцінюється або ранжується як більш схильний до захворювання показник. Також розглядається використання часткової площі та інших статистичних показників, що можна оцінювати як параметрично, так і непараметрично [82].

Висновки до розділу:

1. Для отримання валідної статистики даних запропоновано вдосконалену технологію субнаціональних досліджень.
2. Обґрунтовано дизайн дослідження з використанням методів багатовимірної статистики.

Результати другого розділу дисертаційного дослідження представлено в [1, 52-54, 56, 171].

РОЗДІЛ 3

КОНЦЕПТУАЛІЗАЦІЯ ПОНЯТЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЦИФРОВІЗАЦІЇ ДАНИХ НА ПРИКЛАДІ МЕЛАНОМИ ШКІРИ

3.1. Обґрунтування необхідності цифровізації даних у діагностиці захворювань

Відомо, що ключовим завданням патології є прижиттєва діагностика патологічних процесів шляхом макро- і мікроскопічного дослідження біопсійного або операційного матеріалу. Зрізи товщиною 4-5 мкм монтуються на предметні скельця, забарвлюються гематоксиліном та еозином або додатковими гістохімічними чи імуногістохімічними методами й вкриваються покривними скельцями. Мікроскопічне вивчення таких предметних скелець лежить в основі діагностики різноманітних патологічних процесів, доброякісних чи злоякісних пухлин із визначенням їхнього гістологічного підтипу, оцінюванням ступеня диференціювання, поширення. Від патогістологічного заключення здебільшого залежить кінцевий діагноз і вибір терапії, що й визначає ключову роль патології у клінічній практиці [1].

Нами уже зазначалось, що сьогодні у більшості лабораторій діагностика покладається майже виключно на роботу з предметними скельцями, що аналізуються лікарем-патологом. Це визначає два основних обмеження: час очікування, коли предметне скло або зразок будуть доставлені фізично до відповідного патолога, професійний рівень патолога та необхідність звернутися за консультацією (отримати другу думку) в складних і спірних випадках, що по факту призводить до подовження періоду дослідження та відтермінування призначення лікування [77, 136].

Відповідно впровадження цифрових інструментів візуалізації, зокрема технології візуалізації цілісних слайдів (WSI), дозволяє отримати, зберігати та обмінюватися цифровими зображеннями у патології [26].

Технологія WSI дозволяє сканувати весь гістологічний препарат із дотриманням найвищої якості, результатом чого є формування віртуального слайду, що фактично є оцифрованою репродукцією гістологічного або цитологічного препарату з високим рівнем здатності [129]. Незважаючи на деякі технічні, фінансові перешкоди та спротив, прогрес технології WSI протягом останніх десятиліть призвів до її поширеного використання у багатьох центрах навчання лікарів-патологів, у наукових дослідженнях, при аналізі зображень, контролі якості, консультуванні й, головне, з метою первинної діагностики [77, 137].

Передумовами залучення цифрових інструментів у патології є відповідне матеріально-технічне забезпечення, що передбачає наявність сканеру, відповідного програмного забезпечення, хмарних сховищ для зберігання віртуальних слайдів і можливість доступу до них [30, 129]. До того ж для ефективної цифровізації у лабораторії має працювати надійна синхронізація між сканером, лабораторною інформаційною системою та системою управління зображеннями.

Найважливішим фактором успіху впровадження цифровізації являється інтеграція цифрових інструментів із лабораторно-інформаційною системою. Основні аспекти роботи лабораторно-інформаційної системи: відображення всіх робочих процесів; можливість штрих-кодування контейнерів, касет і скелець; ідентифікація матеріалу на кожному етапі; автоматизований трекінг біологічного матеріалу в межах лабораторії; зберігання та екстракція даних; збір аналітичних даних і відображення їх для оцінювання.

Створення робочих панелей (дашбордів) із відображенням інформації про кількість скелець у роботі, строки або етап готовності імуногістохімії у режимі реального часу – це не тільки важливі метрики напруженості роботи

лабораторії, а й можливість оптимізувати управління робочими процесами, зменшити ручну роботу, обмежити кількість потенційних помилок та підвищити якість роботи лабораторії. Інтеграція у робочі процеси цифрової патології додає екстра можливості, що було підтверджено нашим досвідом впровадження цифрової патології у роботу клініко-діагностичної лабораторії. Після сканування та завантаження цифрових слайдів у кейс-центр патолог має доступ до віртуального препарату з будь-якого місця, оснащеного комп'ютером. Це не тільки дозволяє працювати дистанційно, а й суттєво зберігає час, оскільки зменшує втрати на пошук, переміщення та складання скелець – невід'ємні атрибути рутинної роботи патоморфолога при мікроскопії. Використовуючи цифрові інструменти патоморфолог може сортувати та аналізувати скановані випадки відповідно до локалізації, нозологічної форми, стадії, рівня складності, відбирати рідкісні патології та кейси, що вимагають консультації або представляють інтерес для навчання.

Безперечною перевагою цифровізації роботи патолога є можливість маркування ділянок, важливих для діагнозу або використання морфометричних інструментів, що дозволяють точно виміряти відстань від пухлинних клітин до краю резекції або підрахувати кількість імунопозитивних клітин. Інтеграція віртуальних слайдів із клінічними даними, даними комп'ютерної томографії або магнітно-резонансної томографії підвищує точність діагностики і надає можливості візуалізації при проведенні мультидисциплінарних консилиумів.

Оцінюючи вплив нової технології на якість діагностики та відтворюваність результатів, а також точність діагнозу, встановленого на підставі аналізу цифрового зображення, звертаємо увагу на таке. Порівняльний аналіз патогістологічних заключень при аналізі звичайних гістологічних препаратів та цифрових сканів показав, що на конкордантність результатів діагностики при використанні цифрових інструментів впливає низка факторів: попередній досвід роботи патолога, досвід роботи

з цифровими сканами, вид патології та ступінь обізнаності патологів у даній сфері, якість звичайного гістологічного препарату, якість цифрового зображення [83, 137]. Проте загалом накопичений досвід свідчить про високий рівень відповідності діагнозів при використанні патологами цифрових сканів порівняно з дослідженням класичних гістологічних скелець [8, 83].

Важливо підкреслити, що цифровізація роботи патолога суттєво вплинула й на консультаційну роботу, оскільки передавання даних займає кілька хвилин. Складні та рідкісні випадки стало набагато легше діагностувати через дистанційну доступність кваліфікованих спеціалістів, зокрема й міжнародно визнаних експертів. Впровадження цифрових інструментів в патоморфологічну діагностику, наприклад, у країнах Північної Америки та Західної Європи вирішило проблему відсутності кваліфікованого патоморфолога або експерта з вузької спеціалізації у патології в штаті невеликих лікарень при проведенні інтраопераційних досліджень, а також покращило роботу віддалених лікарень, де знайти кваліфікованого патоморфолога майже неможливо [77, 83, 89].

Трансплантаційна патологія, що потребує наявності вузькоспеціалізованих експертів, також виграла від впровадження сканерів завдяки можливості залучення іноземних експертів [70]. Міжнародна співпраця через інструменти цифрової патології уможливила прийняття рішень за лічені хвилини в режимі онлайн. Для забезпечення ефективної консультативної роботи зазвичай користуються системою управління зображенням, що дає змогу працювати з великими об'ємами даних, зберегти та редагувати зображення, сортувати відповідно до певних категорій, підключати патоморфологів із своєї команди або зовнішніх консультантів. Так, дослідження 2012 року показало, що в Італії понад 3000 біопсій трансплантантів було також переглянуто у вигляді оцифрованих слайдів спеціалістами з лабораторій США [180].

Отже, на сьогодні цифрова патологія являється одним із найбільш перспективних напрямів у сфері прижиттєвої патоморфологічної діагностики. Її активне застосування дозволяє знизити вартість і водночас прискорити та покращити діагностику і прогнозування перебігу різних захворювань. Це зручний та ефективний інструмент, що дозволяє перейти від перегляду необхідної кількості полів зору в мікроскопі до візуалізації усього препарату цілком у надвисокій здатності під час патогістологічної та цитологічної діагностики [89, 118].

3.2. Оцінювання частоти та спектру мутації у гені BRAF в українській популяції

З метою визначення факторів, що асоційовані з наявністю мутацій у гені BRAF екстраговано ретроспективні дані про результати патогістологічних і молекулярних досліджень, виконаних у лабораторії CSD у період з 2020 по 2022 рік. Проведено кроссекційне дослідження спрямоване на узагальнений аналіз частоти та спектру мутацій у гені BRAF при меланомі шкіри. Екстрагування даних проводилося за допомогою пошуку в інформаційній системі біобанкінгу за ключовими словами: BRAF, мутації у гені BRAF, V600E BRAF, V600K BRAF, V600D/R BRAF, а також меланома, меланома шкіри відповідно до критеріїв включення та виключення (табл. 3.1)

Таблиця 3.1

Умови проведення пошуку в інформаційній системі за ключовими словами

Критерії включення	Критерії виключення
1	2
Меланома шкіри	Увеальна меланома
Вік пацієнтів від 20 до 85	Меланома інших локалізацій
Відомий статус BRAF	Невідомий статус

Продовж. табл. 3.1

1	2
Відома стадія захворювання	Наявність інших злоякісних новоутворень
Відомий клінічний і патогістологічний діагноз	Відсутні дані про стадії та діагнози
	Вік пацієнтів до 20 років або старше 85

При первинному екстрагуванні даних було відібрано 1268 випадків, із них 24 характеризувалися наявністю увеальної меланоми, 32 випадки меланоми слизових оболонок, 727 випадків із обмеженою кількістю доступних демографічних, клінічних і патологоанатомічних даних. У кінцевому рахунку залишилося 485 випадків, серед яких у 299 випадків спостерігалася первина меланома шкіри та в 186 випадках – метастази.

Характеристики вибірки пацієнтів із меланомою шкіри, залучених у 1 фазу дослідження, спрямованого на оцінювання частоти та спектру мутації у гені BRAF в українській популяції представлені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Загальні характеристики вибірки пацієнтів із меланомою шкіри

Параметри	Кількість	
	абс.	%
1	2	3
Жінки	152	50,8
Чоловіки	147	49,2
Стадія раку		
I	16	5,4
II	175	58,5
III	81	27,1
IV	27	9,0

Продовж. табл. 3.2

1	2	3
Локалізація первинної пухлини		
Обличчя	11	3,7
Шия	6	2,0
Волосиста частина голови	12	4,0
Тулуб	79	26,4
Верхні кінцівки	29	9,7
Нижні кінцівки	53	17,7
Меланома шкіри не специфікованої локалізації	109	36,5

Як бачимо з табл. 3.2 і нами вже зазначено, загалом було досліджено 299 випадків первинної меланоми шкіри, серед яких 152 (50,8 %) жінки і 147 (49,2 %) чоловіки. Серед включених випадків було 169 зразків BRAF-матованої меланоми шкіри (56,5 %), тоді як у решти 130 випадків мутацій у гені BRAF не було виявлено. Більшість випадків із відомими первинними вогнищами МШ спостерігалися на шкірі тулуба 79 (26,4 %) та кінцівок: 29 (9,7 %) – верхніх, 53 (17,7 %) – нижніх кінцівок. Первинні ураження меланомою реєструвалися на шкірі волосистої частини голови у 12 (4,0 %) пацієнтів, обличчя у 11 (3,7 %) пацієнтів та шиї у 2 пацієнтів (2,0 %). Без уточнення локалізації меланоми шкіри були отримані 109 (36,5 %) зареєстрованих випадків.

Відмінності у частоті мутації у гені BRAF між чоловічою та жіночою групами пацієнтів не спостерігалися $p=0,82$ (табл. 3.3).

Проаналізовано за допомогою метода χ^2 Пірсона взаємозв'язок між анатомічними ділянками злоякісного ураження та статусом мутації гену BRAF у відповідних зразках пухлин (табл. 3.3).

Серед досліджених локалізацій первинної пухлини, переважно в ділянках шиї та тулуба, було виявлено мутацію 600-го кодону BRAF.

Одночасно з цим, мутації у гені BRAF на відкритих для сонця ділянках шкіри (включаючи кінцівки та обличчя) спостерігалися зі значно меншою частотою ($p < 0,01$).

Загальний середній вік у спостережуваних випадках становив $55,4 \pm 0,5$ років (95 % ДІ: 53,8-56,9). BRAF-мутована меланома шкіри продемонструвала зв'язок із молодшим віком початку захворювання ($52,6 \pm 1,0$; 95 % ДІ: 50,6-54,6 проти $57,7 \pm 0,99$; 95 % ДІ: 55,7-59,7 в осіб із BRAF-меланомою дикого типу; $p < 0,01$).

Таблиця 3.3

Зв'язок між анатомічним місцем первинної меланоми та статусом мутації у гені BRAF

Характеристики	Усього випадків	BRAF статус		% мутованих	P
		WT	з мутацією		
1	2	3	4	5	6
Стать	299	130	169	56,5	0,82
Чоловіки	147	65	82	55,8	
Жінки	152	65	87	57,2	
Стадія					
I	16	11	5	31,3	0,22
II	175	74	101	57,7	
III	81	34	47	58,0	
IV	27	11	16	59,3	
Пігментація					
Наявна	970	402	568	59,0	0,92
Відсутня	195	85	110	56,0	
Вік		57,7± 0,99	52,6± 1,01		<0,05

Продовж. табл. 3.3

1	2	3	4	5	6
Локалізація первинної пухлини					
Обличчя	11	9	2	18,2	<0,01
Шия	6	0	6	100	
Волосиста частина голови	12	9	3	25,0	
Тулуб	79	19	60	75,9	
Верхні кінцівки	29	17	12	41,4	
Нижні кінцівки	53	29	24	45,3	
Меланома шкіри не специфікованої локалізації	109	47	62	56,9	

У спостережуваній когорті 16 випадків (5,4 %) були ідентифіковані як меланома шкіри I стадії, 175 випадків (58,5 %) – як меланома шкіри II стадії, 81 (27,1 %) – як меланома шкіри III стадії за системою стадіювання пухлин AJCC та 27 (9,0 %) – як меланома шкіри з віддаленими метастазами (IV стадія).

Лише 5 із 16 (31,3 %) МШ I стадії мали мутацію гену BRAF, тоді як МШ II-IV стадій демонстрували вищу частоту змін гену BRAF (57,7 %; 58,0 % і 59,3 % відповідно), однак статистично значущої різниці між частотою мутації гену BRAF між випадками ранньої та поширеної меланоми шкіри не спостерігалось (55,7 % проти 58,3 %; $p=0,716$).

Серед 299 спостережуваних випадків переважаючим гістологічним підтипом була поверхнево поширена меланома шкіри (табл. 3.4). Поверхнево поширена меланома шкіри становила 110 із 299 випадків (36,8 %). Меланому, що не класифікували (NOC) було знайдено у 98 (32,8 %) випадках, вузлову меланому мали 68 (29,7 %) пацієнтів.

Таблиця 3.4

**Гістопатологічні особливості меланому шкіри відносно
BRAF-статусу**

Характеристики	Загальна кількість	BRAF статус		% муто- ваних	P
		WT	з мута- цією		
1	2	3	4	5	6
Гістологічний тип:					
Десмопластична меланома	3	2	1	33,3	0,022
Акральна меланома	10	7	3	30,0	
Меланома, що виникає в синьому невусі	2	2	0	0,0	
Меланома, що виникає в гігантському вродже- ному невусі	1	1	0	0	
Меланома Шпіца	5	3	2	40,0	
Невоїдна меланома	2	0	2	100,0	
Вузлова меланома	68	30	38	55,8	
Меланома, не класифікована в інших рубриках	98	50	48	48,9	
Меланома з поверхневим розповсюдженням	110	35	75	68,2	
Товщина пухлини за Бреслоу (мм)		3,73± 0,26	4,70± 0,32		0,028
Рівні інвазії меланому за Кларком	299	130	169	58,7	0,742
- I	1	1	0	0	
- II	15	8	7	46,7	

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5	6
- III	61	26	35	57,4	
- IV	198	85	113	57,1	
- V	24	10	14	58,3	
Частота мітозів (на 1 мм ²)		7,72± 0,67	9,96± 0,67		0,015
Лімфоцити, що інфільтрують пухлину	299	130	169	56,5	0,117
Низький рівень	164	78	86	52,4	
Високий рівень	135	52	83	61,5	

Як бачимо з табл. 3.4 акральна меланома була представлена 10 (3,3 %) випадками, меланому Шпіца знайдено у 5 (1,7 %) випадках, десмопластична меланома у 3 (1,0 %) випадках, невульозна у 2 (0,7 %), меланома, що виникає з блакитного невуса теж у 2 (0,7 %) випадках і меланома, що виникає з гігантського вродженого невуса 1 (0,3 %) випадок.

Виявлено сильний зв'язок між гістологічним типом меланоми шкіри та BRAF-статусом ($p = 0,022$). Найвища частота мутацій кодону 600 у гені BRAF була виявлена при поверхнево поширеній меланомі (68 % випадків). Крім того, два досліджених випадки невульгарної меланоми були BRAF-позитивними. Вузлова меланома мала зміни BRAF у 56 % випадків, тоді як понад 2/3 акральної та десмопластичної меланоми були ідентифіковані як BRAF-негативні.

Оцінювання первинних ділянок меланоми продемонструвало наявність мутації у гені BRAF у 56,5 % первинних ділянок меланоми шкіри, 83 (49,1 %) з яких BRAF-позитивних, продемонстрували виражену інфільтрацію TILs, тоді як решта генів BRAF, що мутували в МШ 86 (51,9 %) мали «холодний» імунітет. З іншого боку, «дикий тип» МШ продемонстрував меншу поширеність високого статусу TILs (52 з 130, 40,0 %).

Не було виявлено достовірного зв'язку між статусом мутації кодону 600 гену BRAF та TILs ($p = 0,117$). Не було виявлено взаємозв'язку між статусом мутації у гені BRAF у первинній пухлині МШ та рівнем Кларка, однак товщина за Бреслоу була загалом вищою у BRAF-мутованих пухлинах ($3,73 \pm 0,26$ проти $4,70 \pm 0,32$ мм у меланомі WT; $p = 0,028$). У той же час було показано, що частота мітозів вища в BRAF-позитивних ураженнях порівняно з BRAF-негативними ($9,96 \pm 0,67$ проти $7,72 \pm 0,67$; $p = 0,0145$) (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Частота варіантів мутацій гену BRAF при меланомі шкіри
різних гістологічних підтипів**

Гістологічні підтипи	V600E %	V600K %	V600D/R %
Десмопластична меланома	100	0	0
Акральна меланома Acral	100	0	0
Невоїдна меланома Nevoid	100	0	0
Вузлова меланома Nodular	79	18	3
Меланома Шпіца	100	0	0
SSM	91	8	1
NOC-меланома	94	4	2

Далі оцінювали зв'язок між підтипами мутації у гені BRAF і гістологією меланоми шкіри. Виявлено, що акральна, десмопластична, невузлова та меланома Шпіца мали виключно мутацію у гені BRAF V600E (табл. 3.5, рис. 3.1).

Природно, що цей тип мутації переважав при нодулярній (79 %), поверхнево поширеній (91 %) і НОК-меланомі (94 %). Однак у випадках вузлової меланоми також зустрічалися мутації V600K (18 %) і V600D/R (3 %), хоча частота мутацій V600K і V600D/R була нижчою в меланомах SSM (8 % і 1 %) та NOC (4 % і 2 %).

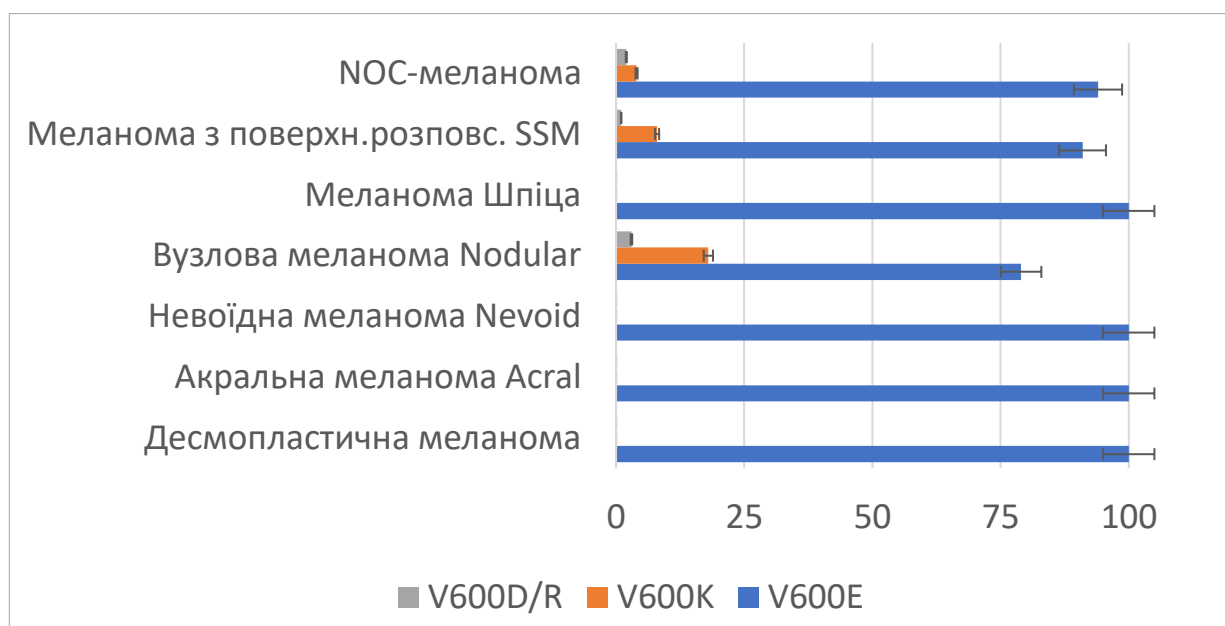


Рис. 3.1. Відносна частота варіантів мутацій у гені BRAF при меланомі шкіри різних гістологічних підтипів

Існують лише поодинокі дані про захворюваність на меланому шкіри та молекулярні особливості в Україні [103, 156], що демонструють зростання захворюваності та нижчу виживаність порівняно з країнами Європейського Союзу [103]. Незважаючи на екстенсивний розвиток молекулярного тестування в онкології протягом останніх років, до цього часу немає опублікованих даних стосовно частоти мутації у гені BRAF при меланомі шкіри в українській популяції.

Частота мутації у гені BRAF у пацієнтів із меланою шкіри коливається від 20 % до 80 % [42, 63, 167], але в більшості досліджень цей діапазон обмежений 50 %. Наприклад, в азіатській популяції частота BRAF-мутантної меланоми становить 20-40 %. У японському дослідженні частота BRAF-мутацій становила 41,8 % [199], тоді як у корейській та китайській когортах BRAF-мутації були виявлені у 26 % [92] та 24-25,5 % [162] випадках меланоми шкіри відповідно.

В європейських країнах частота BRAF-мutowаної меланоми також значно варіює і становить 40,1 % у німецькому дослідженні [86], 38,6 %

у французькому дослідженні [85]. Лише у латвійському дослідженні частота досягає 56,8 % [204]. Вважається, що варіації частоти мутації у гені BRAF обумовлені різними вихідними характеристиками пацієнтів, зразками тканин (первинна або метастатична меланома), методами і тест-системами, що використовуються для виявлення мутацій [114].

Наше дослідження виявило високу частоту мутації у гені BRAF в українській когорті, що склала 56,5 % від загальної кількості випадків захворювання на меланому шкіри. Отже, виявлено відносно високий рівень мутації у гені BRAF в українських пацієнтів із МШ порівняно з іншими популяціями.

Мутації у гені BRAF були пов'язані з молодшим віком і розташуванням на захищеній від сонця шкірі. Хоча багато авторів раніше продемонстрували відмінності в частоті мутації у гені BRAF між чоловіками та жінками, нами не знайдено зв'язок між цією генетичною зміною та статтю [183]. Водночас в українській когорті спостерігалися статеві відмінності захворюваності на V600K (12,8 % проти 7,2 %) та V600D/R (2,2 % проти 0,9 %), що була майже вдвічі вищою як у чоловіків, так і у жінок ($p < 0,01$). Ці дані відповідають даним Van der Kooij та його колег, які в загальнонаціональному когортному дослідженні 38985 пацієнтів із меланомою шкіри продемонстрували більший відсоток мутацій V600K у чоловіків (8,8 %), ніж у жінок (4,2 %) [183]. У той же час деякі інші дослідження не виявили статевих відмінностей у різних підтипах мутацій у гені BRAF, але вони проводилися на значно менших вибірках [37, 113].

Результати нашого дослідження також корелюють із наявними даними стосовно частоти різних генетичних варіантів 600-го кодону BRAF. Генетична мутація у гені BRAF V600E була виявлена у 89,3 % української когорти із меланомою шкіри. Це добре узгоджується зі світовою статистикою, що коливається від 80 % до 90 % варіантів V600E серед усього спостережуваного спектру мутацій у гені BRAF [42]. Інформація про тип

варіанту BRAF є важливою для прогнозування відповіді на таргетне лікування у пацієнтів із метастатичною формою меланоми шкіри, оскільки, як було показано, вона варіює між різними варіантами 600-го кодону BRAF. Наявні дані клінічних досліджень підкреслюють дещо нижчу відповідь на таргетне лікування у пацієнтів із метастатичною меланою шкіри з варіантом BRAF V600K порівняно з пацієнтами з BRAF V600E.

3.3. Дослідження частоти та спектру мутації у гені BRAF у зв'язку з перебігом меланоми шкіри

3.3.1. Зв'язок між мутацією у гені BRAF і анатомічним розташуванням меланоми

В нашому дослідженні позитивний статус мутації у гені BRAF у пухлинах меланоми шкіри асоціюється з певними клініко-патологічними особливостями, такими як локалізація пухлини (тулуб і шия), а також більш ранній вік початку захворювання. В інших дослідженнях також підкреслюється зв'язок між мутацією у гені BRAF і молодшим віком при встановленні діагнозу та локалізацією первинної меланоми на тулубі [42]. Невідповідність між цими ознаками, по суті, підкреслює контраст між шляхами ймовірного розвитку меланоми на ділянках шкіри, що піддаються і не піддаються впливу сонця.

Хронічна «сонячна меланома» характеризується відносно нечастою мутацією у гені BRAF V600E, підвищеною частотою BRAF V600K і мутаціями в інших генах (NF1, TP53), а також високим мутаційним навантаженням [148]. З іншого боку, меланома, що виникає на ділянках із переривчастим сонячним опроміненням, швидше за все, пов'язана з BRAF-мутаціями, що свідчить про глибоку роль молекулярного каскаду MAPK/ERK у розвитку та прогресуванні пігментних злоякісних утворень [2, 42].

Ще одним результатом нашого дослідження стало виявлення більшої швидкості мітозу в BRAF-мutowаній меланомі. Показано, що активаційні мутації BRAF, що сприяють конститутивній активації сигналізації MAPK/ERK, посилюють проліферацію та виживання клітин меланоми. Проте ступінь розбіжності між ознаками, що відображають поведінку пухлини у BRAF -позитивних і -негативних випадках меланоми шкіри, ще належить з'ясувати [42].

3.3.2. Зв'язок між статусом BRAF і гістологічними особливостями первинної меланоми шкіри

Нами досліджено зв'язок між BRAF-статусом і певними гістопатологічними підтипами. Підтип поверхнево поширеної меланоми продемонстрував вищий рівень мутації у гені BRAF (68,0 %) порівняно з середньою частотою (56,5 %), вузловою меланомою (56,0 %) і меланомою, не класифікованою іншим чином (49,0 %).

Слід зазначити, що Lattanzi M et al. не виявили значних відмінностей і відносно низьку частоту мутації у гені BRAF при SSM та NM (44 % і 43 %), але виявили більш високу частоту мутації NRAS при вузловій меланомі. Ці розбіжності можуть бути пов'язані з різним розміром вибірки та стадіями пухлин, включених у дослідження. Відмінності в частоті мутації у гені BRAF у різних гістологічних підтипах МШ можуть відображати внесок цієї генетичної зміни в прогресування меланоми [108].

Наступним важливим питанням, що нами досліджено, був взаємозв'язок між BRAF-статусом та імуногенністю меланоми шкіри. Показано, що пацієнти з BRAF-позитивною та «диким типом» меланоми демонструють різну відповідь на лікування імунотерапією [152]. Так, Larkin et al. повідомили, що 5-річна загальна виживаність була вищою у пацієнтів із BRAF-мутацією порівняно з пацієнтами з BRAF-негативними пухлинами

меланоми шкіри (60 % проти 48 %) [107]. Однак причини цих відмінностей у відповіді на терапію все ще залишаються дискусійними.

Виявлення імунного мікрооточення пухлини в меланомі, що не отримувала лікування, стосовно статусу BRAF показало, що BRAF-мутантна меланома демонструє унікальний імунний контекст із меншою інфільтрацією CD8⁺ Т-клітин, але більшою поширеністю В-клітин, природних клітин-кілерів і NKT-клітин [188].

У дослідженні нами не виявлено істотних зв'язків між статусом BRAF і TIL. Для того, щоб отримати краще розуміння взаємозв'язку між генетичними змінами та імунною відповіддю у визначенні взаємодії пухлини та імунної системи, а також потенційних переваг як від блокади імунних контрольних точок, так і від таргетної терапії для пацієнтів із меланомою шкіри потрібні подальші дослідження.

Отже, виявлено відносно високий рівень мутації кодону 600 гену BRAF в українській популяції. Мутації у гені BRAF були переважно пов'язані з меланомою, що вражала шкіру з низьким сонячним опроміненням (тулуб, шия) з гістологією поверхневого поширення, більшою глибиною інвазії та вищим рівнем мітозу. В нашому дослідженні 56,5 % випадків первинної меланоми шкіри містили мутації у гені BRAF. Серед спостережуваних випадків мутація V600E (89,3 %) була переважаючим типом змін BRAF, тоді як мутації V600K і V600D/R склали 8,9 % і 1,8 % відповідно. МШ із мутацією у гені BRAF продемонструвала зв'язок із молодшим віком початку захворювання, розташуванням на шиї та тулубі. Існує сильний зв'язок між статусом BRAF та гістологічним підтипом меланоми шкіри з поширеністю BRAF мутації поверхневої, невоїдної та вузлової меланоми.

BRAF-позитивна меланома шкіри мала вищу швидкість мітозу та товщину за Бреслоу порівняно з меланомою «дикого типу». Не було знайдено статистично значущого зв'язку між статусом BRAF та лімфоцитами, що інфільтрують пухлину.

Висновки до розділу:

1. Доведено відносно високий рівень мутації у гені BRAF в українській популяції з переважанням V600E (88,8 %) і менш поширеними мутаціями V600K (8,8 %) і V600D/R (2,4 %).

2. Мутації у гені BRAF були здебільшого пов'язані з меланомою, що вражала шкіру з низьким сонячним опромінням (тулуб, шия) з гістологією поверхневого поширення та вищою швидкістю мітозу.

3. Отримані дані корелюють з наявними показниками частот різних генетичних кодонів BRAF 600. Генетичну мутацію BRAF V600E виявлено у 89,3 % української когорти меланоми шкіри, що відповідає світовій статистиці.

4. Доведена більш висока швидкість мітозу в меланомі шкіри з мутацією у гені BRAF. Показано, що мутації, які сприяють конститутивній активації передавання сигналів MAPK/ERK, посилюють проліферацію і виживання клітин меланоми.

5. Отримані дані слугують обґрунтуванню моделей для прогнозування статусу мутації у гені BRAF, що має важливе значення для оптимізації персоналізованого лікування пацієнтів та його результатів.

Результати третього розділу дисертаційного дослідження представлено в [2, 49, 51].

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБЛЕННЯ ПРОГНОСТИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ПРИ МЕЛАНОМІ ШКІРИ

4.1. Побудова предиктивної моделі прогнозування мутації у гені BRAF

Відомо, що ведення пацієнтів із меланомою шкіри залежить від оцінювання молекулярних біомаркерів, які дозволяють персоналізувати лікування пацієнта. Генетичний ландшафт меланоми складний і варіабельний залежно від гістологічного підтипу, локалізації та індивідуальних особливостей, що впливає на гетерогенні результати лікування [27, 200]. Мутації у гені BRAF у кодоні 600, включаючи c.1799_1800delinsAA (p.Val600Glu-V600E), c.1798_1799delinsAA (p.Val600Lys – V600K), c.1799_1800delinsAC (p.Val600Asp – V600D) та c.1798_1799delinsAG (p.Val600Arg – V600R), вважаються найпоширенішою генетичною зміною при меланомі шкіри [113], поширеність якої сягає 58 % в українській популяції [49]. Крім того, інші зміни BRAF, не пов'язані з V600, були виявлені при меланомі шкіри, хоча їх частота надзвичайно низька.

Раніше нами було показано, що мутації у гені BRAF пов'язані з молодшим віком і розташуванням меланоми на ділянках шкіри, захищених від сонця. Однак цих факторів недостатньо для прогнозування ймовірності мутації у гені BRAF у кожного пацієнта з прогностичною метою та для визначення групи пацієнтів, які можуть отримати користь від цільової терапії [32, 101, 198]. Виявлення мутації у гені BRAF здебільшого ґрунтується на ПЛР, хоча й інші методи (включаючи імуногістохімію та NGS) також корисні для виявлення різноманітних генетичних змін для подальших клінічних рішень.

Крім того, застосування методів машинного навчання може бути використано для прогнозування статусу мутації у гені BRAF при меланомі шкіри з використанням клінічних і патологічних даних [66, 174]. Дійсно, роль

III у патології прогресивно зростає та базується на методах машинного навчання. Фігероа-Сільва та ін. використовували підхід на основі МН і визначили сім змінних, включаючи вік, товщину за Бреслоу, щільність за Бреслоу, гіперпластику епідермального контуру, гнізда, метастази та швидкість мітозу, для прогнозування статусу BRAF. Розроблений інструмент продемонстрував $AUC=0,88$ та вважався корисним [66]. Однак деякі змінні цієї моделі знаходяться за межами стандартних протоколів звітності МШ, і їхнє оцінювання потребує додаткових зусиль, ускладнюючи роботу патологів [131, 132, 173].

Мета цієї частини дослідження полягала в розробленні інструменту для прогнозування мутації у гені BRAF за допомогою рутинних клінічних і гістологічних характеристик.

Протокол дослідження схвалено інституційною наглядовою радою (IRB of Medical Laboratory CSD, протокол від 16.10.2020 № 4/2020) і дотримувався принципів, викладених у Гельсінській декларації для всіх експериментальних досліджень за участю людей або тварин. Загалом із бази даних лабораторії CSD, зібраної з 2017 по 2023 рік, було отримано 2041 випадок меланоми шкіри. У цьому перехресному дослідженні брали участь лише дані пацієнтів із меланою шкіри первинних пухлин [47].

4.2. Прогностичне значення клініко-інструментальних ознак для прогнозування мутації у гені BRAF

Після визначення частоти мутації у гені BRAF та її зв'язку з основними клініко-демографічними даними за допомогою статистичного аналізу нами оцінено фактори, що передбачають статус.

Зібрані клініко-демографічні дані включали стать пацієнта, вік на момент діагностики МШ та анатомічне розташування первинного ураження меланою. Релевантні гістологічні характеристики відповідно до протоколів

САР для меланому шкіри, включаючи її місце розташування, гістологічний тип відповідно до класифікації BOO3. Патологічна стадія, товщина за Бреслоу та рівень Кларка розглядалися в комплексі з іншими гістологічними даними, включаючи виразку ураження, кількість мітозів і щільність пухлинно-асоційованих лімфоцитів (TIL). Всі пацієнти були перевірені на мутації у гені BRAF кодону 600. Молекулярне тестування проводилося на фіксованих формаліном парафінових блоках із верифікованим вмістом пухлини відповідно до алгоритмів, описаних раніше [27].

Десять зрізів товщиною 10 мкм були вирізані з кожного закріпленого у формаліні парафінового блоку, що містив репрезентативну область пухлини ($> 20\%$ пухлинних клітин або > 200 клітин у зразку з площею некрозу менше 20%). ДНК екстрагували за допомогою набору ZYTOVISION VisionArray FFPE DNA Extraction kit відповідно до інструкцій виробника. Виявлення мутації у гені BRAF проводили за допомогою системи кПЛР «Easy PGX ready BRAF» (Італія) на основі полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Аналіз виявив 5 типів мутацій у гені BRAF у кодоні 600: V600E (1799T $>$ A), V600E (1799_1800TG $>$ AA), V600K (1798_1799GT $>$ AA), V600D (1799_1800TG $>$ AT) і V600R (1798_1799GT $>$ AG).

З початку використовувалися 15 змінних, включаючи стать, вік, анатомічне розташування первинного ураження, стадію, гістологічний тип, виразку, рівень Кларка, товщину за Бреслоу, кількість мітозів, інфільтрацію лімфоцитами, лімфоваскулярну інвазію (LVI), периневральну інвазію (PNI), особливості регресії, мікросателіти та асоціація з невусами. На наступному кроці були відібрані найбільш інформативні ознаки для побудови прогнозної моделі. Діагностичну ефективність моделей оцінювали за допомогою аналізу ROC-кривої. Розраховували площу під кривою AUROC та її 95 % довірчий інтервал. Всі тести вважали значущими на рівні значущості $p < 0,05$.

Для оцінювання впливу змінних на результат було застосовано методи розроблення та аналізу нейронних мереж. Показником результату був статус

BRAF (змінна Y): у випадку меланому дикого типу BRAF $Y = 0$. Коли була виявлена мутація у гені BRAF, $Y = 1$, вказував на негативний результат.

Вирішальне правило будувалось за двома стратегіями: застосування логістичної регресії, шляхом побудови та аналізу нейронної мережі.

Далі дані про всіх пацієнтів були випадковим чином (за допомогою генератора випадкових чисел) розділені на 3 виборки: навчальну (що використовувалась для побудови моделі та розрахунку вагових коефіцієнтів логістичної регресії чи нейронної мережі), тестову (що необхідна для оцінювання необхідності перенавчання математичної моделі) та іспитової (верифікаційної), що використовувалася для перевірки передбачуваної здатності математичної моделі на нових даних.

Загалом статус BRAF оцінювали на зразках 2041 пацієнта з МШ. Серед них 1235 (60,5 %) пацієнтів мали МШ з мутаціями у гені BRAF. Середній вік пацієнтів становив $54,2 \pm 0,3$ роки (95 % ДІ: 53,6–54,8).

Серед досліджуваної когорти було 991 чоловік і 1050 жінок. Чоловіча стать була пов'язана з молодшим віком ($52,6 \pm 10,4$ проти $54,6 \pm 14,3$ років для чоловіків і жінок відповідно; $p < 0,01$), але не з частотою мутації у гені BRAF ($p = 0,171$).

Існував значний зв'язок між мутаціями у гені BRAF та розташуванням МШ у місцях, що захищені від сонця ($p < 0,01$), з найвищою поширеністю мутацій в ураженнях тулуба та шиї.

Серед підтипів мутації у гені BRAF варіант V600E переважав у 1094 (88,6 %) випадках із BRAFm. Крім того, мутація V600K була виявлена у 122 (9,9 %) випадках, а варіант V600D/R – у 19 (1,5 %) випадках. Незважаючи на відсутність відмінностей у частоті мутацій у гені BRAF між чоловіками та жінками в українській популяції, нами виявлено специфічні статеві відмінності в поширеності підтипів мутацій у гені BRAF. Захворюваність V600K і V600D/R була майже вдвічі вищою у МШ чоловіків, ніж у жінок ($p < 0,01$).

Хоча не було статистично значущого зв'язку між підтипом мутації у гені BRAF та локалізацією меланоми шкіри ($p = 0,06$), варіант V600K мав більшу краніальну поширеність (на обличчі, шкірі голови та ший), ніж варіант тулуба, але рідко зустрічався в кінцівках. Підтип BRAF V600D/R мав найвищу поширеність у пацієнтів із меланомою шкіри голови (3,8 % проти 1,5 % у середньому), що відображає більший зв'язок із шкірою, що вкрита волоссям.

Отже, українська популяція знову продемонструвала високий рівень мутації у гені BRAF у МШ. Це дослідження також виявило статеві відмінності в анатомічному розподілі МШ і частоті підтипу мутації у гені BRAF.

Хоча аналіз клініко-демографічних даних виявив зв'язок між статусом мутації у гені BRAF, віком і розташуванням пухлини, цих даних було недостатньо для прогнозування МШ, що містить мутації у гені BRAF. За допомогою методу генетичного відбору нами було визначено мінімальний набір змінних, пов'язаних із мутаціями у гені BRAF, що включав шість змінних: вік, розташування первинної пухлини, гістологічний тип, виразка, LVI та асоціація з невусами (табл. 4.1).

Характеристики моделі MLP порівняно з характеристиками моделі логістичної регресії показали такі результати: різниця між областями $\Delta = 0,11$ (95 % ДІ: 0,04–0,17, $p = 0,001$), чутливість моделі MLP становила 89,4 % (95 % ДІ: 84,5 %–93,1 %), специфічність — 50,7 % (95 % ДІ: 42,2 %–59,1 %), позитивна прогностична цінність (PPV) — 73,1 % (95 % ДІ: 69,6 %–76,3 %), негативна прогностична цінність (NPV) – 76,0 % (95 % ДІ: 67,6 %–82,8 %). Критичний поріг для цієї моделі обрано на основі оптимізації хибнопозитивних і хибнонегативних прогнозів [2].

Метод логістичної регресії для прогнозування мутації у гені BRAF у зразках меланоми шкіри виявив відносно слабкий зв'язок ($AUROC_{\log 15} = 0,69$; 95 % ДІ: 0,63–0,75) між статусом BRAF та 15 змінними, хоча модель була значущою ($\chi^2 = 35,5$ при 20 ступенях свободи, $p < 0,01$).

Таблиця 4.1

**Коефіцієнти 6-ти факторної моделі логістичної регресії
прогнозування ризику наявності мутацій у гені BRAF**

Фактори		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	p	Показник відношення шансів моделі, OR (95 % ДІ)
Вік		-0,015±0,009	0,086	0,98 (0,97–1,00)
Локалізація первинної пухлини	Тулуб	Референтний		
	Обличчя	-1,58±0,80	0,047	0,21(0,04 – 0,98)
	Кінцівки	-0,84 ± 0,33	0,010	0,43 (0,23 – 0,82)
	Ніс	-0,60 ± 0,32	0,059	—
	Волосиста частина голови	-1,26 ± 0,59	0,034	
Гістологіч- ний тип	NOS			
	NM	0,59 ± 0,45	0,19	
	SN	-0,45 ± 0,69	0,511	
	SSM	0,62 ± 0,28	0,02	
Виразкування		0,20 ± 0,26	0,43	
Лімфоваскулярна інвазія		0,25 ± 0,33	0,597	
Асоційований із меланомою невис		0,33 ± 0,43	0,45	

Ці змінні були використані для побудови 6-факторної логістичної регресійної моделі, що була не тільки адекватною ($\chi^2 = 25,1$ при 11 ступенях

свободи, $p = 0,009$), але й продемонструвала певну прогностичну силу з $AUROC_{\log 6} = 0,66$ (95 % ДІ: 0,60–0,71) (рис. 4.1).

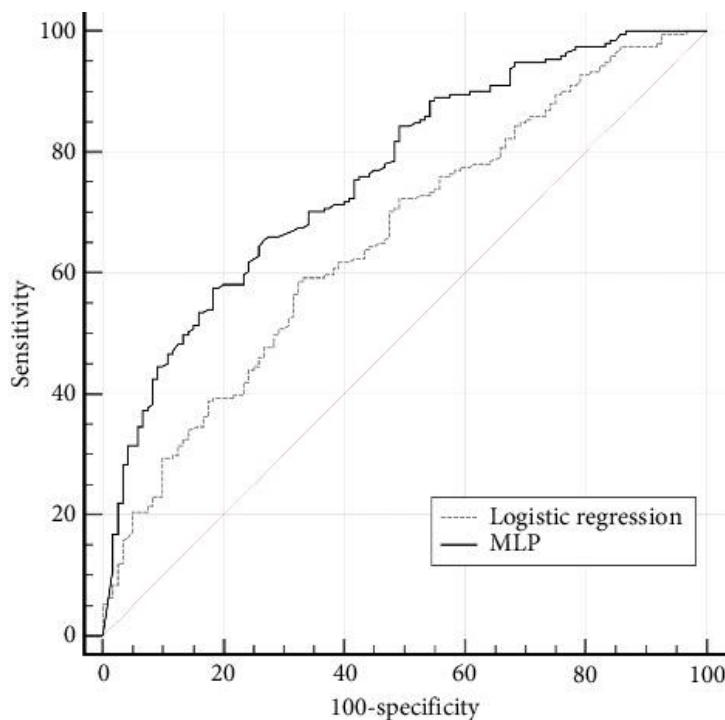


Рис. 4.1. ROC-крива 6-ти факторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику наявності мутації у гені BRAF

Як бачимо з рис. 4.1 отримана ROC-крива ближче до параметричного типу, що також називають бінарним методом. За цим методом крива оцінюється з використанням показника максимальної правдоподібності, коли дві незалежні групи з різними середніми значеннями та стандартними відхиленнями відповідають нормальному розподілу або задовольняють припущенню про нормальність розподілу. Якщо два нормальні розподіли, отримані з двох груп, значно перекриваються, ROC-крива буде близька до діагоналі 45° . Якщо ж перекриваються лише невеликі ділянки двох нормальних розподілів, то ROC-крива буде розташована набагато далі від діагоналі 45° . Саме це бачимо на рис. 4.1. Зрозуміло, що при використанні подібного моделювання при розширенні кількості показників отримаємо некоректну ROC-криву, оскільки не завжди можемо мати нормальний розподіл або схожість внутрішньогрупових варіацій.

Для виявлення нелінійних зв'язків, що неможливо врахувати в мультиплікативних (адитивних) моделях, нами застосовано метод побудови нелінійних нейромережових моделей. Для цього використовувався багатошаровий перцептрон (MLP) з одним прихованим шаром. Архітектура прихованого шару включала 4 нейрони з функцією логістичної активації.

AUROC_{MLP6} моделі становив 0,79 (95 % ДІ: 0,74–0,84), що відображає хорошу узгодженість моделі прогнозування ризику мутації у гені BRAF із використанням 6 змінних (рис. 4.1).

Ефективність моделі нейронної мережі також відображає значні нелінійні характеристики статусу BRAF і може бути використана для прогнозування мутацій у гені BRAF при МШ.

Для практичного застосування в якості алгоритму прийняття рішень модель нейронної мережі реалізовано в таблиці Excel. Розроблена модель MLP дозволяє прогнозувати мутаційний статус BRAF при МШ, що полегшує прийняття рішень для подальшого ведення пацієнтів [51].

Мутація V600K була пов'язана з більшою активацією шляху PIK3CA та більш агресивною поведінкою МШ і спостерігалася майже у 10 % випадків із МШ з мутацією у гені BRAF в Україні, що узгоджується зі світовою статистикою [12].

Незважаючи на тісний зв'язок між мутаціями у гені BRAF і тулубовою локалізацією первинних пухлин, виявлених у нашому дослідженні, мутація V600K мала черепну поширеність, що становить 23,8 % усіх BRAF - мутованих МШ на обличчі та 19,2 % випадків мутації у гені BRAF на шії. Подібні дані повідомили Menzies et al. [119]. Підтип BRAF V600D/R мав найвищу поширеність у пацієнтів із меланою шкіри голови (3,8 % проти 1,5 %), що відображає більший зв'язок із волосистою частиною голови [119]. Знання частоти мутацій V600K і V600D/R є важливим для планування імунотерапії та розроблення альтернативних варіантів лікування МШ.

4.3. Використання логістичної регресії та нейронної мережі для прогнозування мутації у гені BRAF

Останіми роками активно розробляються ідеї математичного моделювання появи мутації у гені BRAF у пацієнтів із меланою шкіри. Так, у роботі Figueroa-Silva та ін. представлено результати ретроспективного обсерваційного дослідження, заснованого на аналізі 106 випадків інвазивної меланоми клінічних і гістологічних змінних [66]. Використано підхід машинного навчання – SHapley Additive ExPlanations (SHAP) для визначення евристичної моделі для оцінювання ймовірності мутації у гені BRAF. Вік, товщина Бреслоу та щільність Бреслоу були визначені як найбільш значущі змінні для прогнозування ймовірності мутації у гені BRAF [66]. В іншій роботі Eigentler та ін. для прогнозування ймовірності мутації у гені BRAF були отримані три різні моделі (модель бінарної логістичної регресії, модель класифікації та регресійного аналізу, модель випадкового лісу). Усі три моделі продемонстрували значущість віку, гістологічного типу та розташування первинної пухлини, що також були підтверджені в поточному дослідженні [57]. Нарешті, Schneider та ін. використовували мультимодальний класифікатор, що спирався на алгоритми машинного навчання для прогнозування присутності мутації у гені BRAF у первинних і метастатичних меланомах, і продемонстрував вищу ефективність при поєднанні клінічних, гістологічних і епігенетичних даних [151].

Перелічені моделі виявилися вельми корисними. Проте деякі змінні, що використовувалися в нашому дослідженні знаходяться поза стандартними протоколами для звітності про меланому шкіри, і їхнє оцінювання вимагає додаткового часу та процедур, що сильно ускладнює роботу патологоанатомів [173].

Для прогнозування мутацій у гені BRAF нами запропонована модель, що заснована на використанні логістичної регресії та нейронної мережі. Для

прогнозування використано шість основних факторів, що нелінійно пов'язані з мутацією у гені BRAF. Змінні включали вік, розташування первинної пухлини, гістологічний тип, виразку, LVI та асоціацію з невусом. Процедура предикції здійснювалась незалежно від підтипу мутації у гені BRAF.

Дослідження виявило прогностичну цінність віку та локалізації первинної пухлини тулуба, що узгоджується з раніше зареєстрованим зв'язком BRAF-мutowаної МШ з молодшим віком і розташуванням на ділянці з незначним або помірним пошкодженням, викликаним сонцем, у тому числі тулуба [14, 49, 79, 183, 184]. Ранній початок, анатомічна локалізація та відсутність зв'язку з УФ-пошкодженням у BRAF-мutowаних МШ відображають різні патогенні шляхи малігнізації меланоцитів, що відрізняються від шляхів меланоми дикого типу [14], а також можуть визначити коріння знайдених прогностичних ознак значення асоційованого невуса на ймовірність утримання мутацій у гені BRAF при МШ.

Дійсно, було припущено, що поява мутації у гені BRAF є початковою подією меланоцитарної неоплазії, включаючи як невуси, так і меланому [175]. Наприклад, у дослідженні Takata мутації у гені BRAF виявлено не лише при МШ, але й у суміжних невусах, тому зроблено припущення, що онкогенні мутації у гені BRAF можуть сприяти доброякісній проліферації меланоцитів із подальшим переходом до інвазивної меланоми [138]. Фактично, BRAF контролює багато аспектів поетапного меланомогенезу і може бути ранньою подією в еволюції МШ, провокуючи геномну нестабільність і придбання широкого спектру нових генетичних змін [95, 203]. З іншого боку, мутації у гені BRAF виявляються приблизно при 80 % невусів, що може підірвати роль змін BRAF у розвитку та прогресуванні меланоми. Цей парадокс було виявлено в дослідженнях *in vitro*, які демонструють, що надмірна експресія шляху RAS–RAF–мітоген-активованої протеїнкінази (MAPK) у меланоцитних ураженнях із мутацією у гені BRAF сприяє не тільки підвищеній проліферації меланоцитів, але й швидкому їх старінню [122]. Цей

ефект є захисним механізмом, відомим як індуковане онкогеном старіння [112] і пов'язане зі збереженням пухлинних супресорів, включаючи TP53 і PTEN, що призводить до старіння меланоцитів і зупинки клітинного циклу шляхом активації p15 INK4b, p16 INK4a, p19 і кислій β -галактозидази [32]. Хоча зміни TP53 рідко зустрічаються при МШ, зниження регуляції PTEN у поєднанні з активацією сигнального шляху PI3K/Akt є досить поширеним у невусах. Цей механізм вважається відповідальним за скасування старіння та забезпечення подальшого прогресування до дисплазії та трансформації до меланоми [161, 189]. Викладене дає основу для підтвердження припущення, що поява мутації у гені BRAF є початковою подією меланоцитарної неоплазії, включаючи як невуси, так і меланому особливо у пацієнтів із меланою шкіри, розташованою на тулубі (шкіра, яка менше піддається впливу сонця). Отже, шести факторна нейромережева модель може бути використана для прогнозування ризику наявності мутації у гені BRAF.

Для практичного застосування алгоритму прийняття рішень на основі використання нейромережевої моделі у додатку Excel була реалізована модель системи для прогнозу наявності мутацій у гені BRAF. На рис. 4.2 наведено структурну логіку системи прогнозування наявності мутації у гені BRAF.

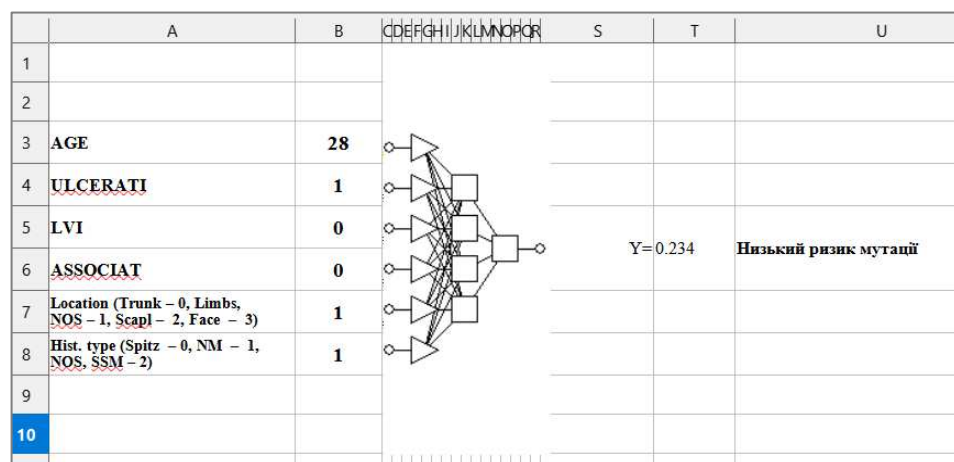


Рис. 4.2. Структурна логіка системи прогнозування наявності мутації у гені BRAF у пацієнтів із меланою шкіри

Розглянемо деякі приклади застосування розробленої нами моделі прогнозування.

Приклад 1. Пацієнт 33 роки, мав меланому, що поверхнево розповсюджується, без виразкування, на волосистій частині голови, не асоційовану з невусом, не має гістологічних ознак лімфоваскулярної інвазії.

Відповідно до стратифікації факторів ризику, в поля моделі введено значення параметрів: вік – 33; виразкування – 0; LVI – 0; локалізація (scalp) – 2; гістологічний тип (SSM) – 2. За результатами використання моделі $Y = 0,332$, що відповідає низькому ризику мутації. При проведенні молекулярно-генетичного дослідження методом ПЛР мутації у гені BRAF не виявлено.

Приклад 2. У пацієнтки 42 років знайдено на спині меланому шкіри, що поверхнево розповсюджувалася без виразкування. Вона була не асоційована з невусом, мала гістологічні ознаки лімфоваскулярної інвазії. Відповідно до стратифікації факторів ризику, в поля моделі були введені: вік – 42 роки, виразкування – 0; LVI – 1; локалізація (trunk) – 0; гістологічний тип (SSM) – 2. За результатами розрахунку моделі $Y = 1,0$. Констатовано високий ризик мутації. При проведенні молекулярно-генетичного дослідження методом ПЛР виявлено V600E мутацію в гені BRAF.

Наявність гістології поверхневого поширення також було показано для прогнозування мутацій у гені BRAF при МШ. Цей факт узгоджується з відомим зв'язком мутації у гені BRAF із певними формами МШ, і приблизно 80 % меланом із мутацією у гені BRAF є поверхневими або вузовими [76] меланомами. Тим не менш, у нашій моделі була виявлена сильна здатність передбачати статус BRAF для меланоми, що поширюється поверхнево, хоча зв'язок із виразкою також був значним. Важливо, що модель також показала, що LVI пов'язаний із ймовірністю мутації у гені BRAF.

Онкогенний каскад BRAF включає багато сигнальних шляхів у меланоцитах, зокрема сигнальний шлях MITF. Мутований ген BRAF здійснює чудовий контроль над MITF, що регулює експресію ключових

фасилітаторів клітинного циклу, таких як CDK2 і CDK4, стимулюючи проліферацію клітин меланоми, виживання та перемикання фенотипу з проліферативного та інвазивного станів [32]. Крім того, активація шляху MAPK у BRAF-мутованих МШІ також може бути пов'язана зі збільшенням продукції VEGF, провокуючи LVI.

Висновки до розділу:

1. Обумовлене припущення, що поява мутації у гені BRAF є початковою подією меланоцитарної неоплазії, включаючи як невуси, так і меланому особливо у пацієнтів із меланою шкіри, розташованою на тулубі (шкіра, що менш піддається впливу сонця).

2. Оцінено фактори ризику появи мутації у гені BRAF при меланомі шкіри. Показано прогностичну значущість товщини меланоми за Бреслоу, виразкування, мітозного індексу, анатомічного розташування первинної меланоми, гістологічного підтипу меланоми шкіри. Ці факторні ознаки за суттю відбивають біологічну поведінку та визначають прогресування пухлинного росту.

3. Для виявлення нелінійних зв'язків, що неможливо врахувати в мультиплікативних (адитивних) моделях, застосовано метод побудови нелінійних нейромережових моделей. Для цього використовувався багатошаровий перцептрон із одним прихованим шаром. Архітектура прихованого шару включала 4 нейрони з функцією логістичної активації. Подібний підхід виявився важливим для застосування на практиці: $AUROC_{MLP6} = 0,79$ (95 % ДІ: 0,74–0,84).

4. Доведено прогностичну значущість гістології поверхневого поширення для прогнозування мутацій у гені BRAF у пацієнтів із меланою шкіри. Це відкриття узгоджується з відомим зв'язком мутації у гені BRAF із певними формами меланоми шкіри. Приблизно 80 % меланом із мутацією

у гені BRAF є поверхневими або вузовими меланомами. Тим не менш, у нашій моделі була виявлена сильна здатність передбачати статус BRAF для меланоми шкіри, що поширюється поверхнево, хоча зв'язок із виразкою також був значним.

5. Розроблена та підтверджена шести факторна нейромережева модель для прогнозування появи мутації у гені BRAF. Критичним порогом для прийняття рішень у нашій моделі обрано оптимізацію хибнопозитивних та хибнонегативних прогнозів.

Результати четвертого розділу дисертаційного дослідження представлено в [2, 47, 49, 51].

РОЗДІЛ 5

ЗАСТОСУВАННЯ ПРОГНОСТИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ СТРАТИФІКАЦІЇ
РИЗИКУ РОЗВИТКУ РЕЦИДИВУ МЕЛАНОМИ ШКІРИ

5.1. Характеристики груп ризику розвитку рецидиву меланоми шкіри

Для оцінювання прогностичних факторів і розроблення наступної прогностичної моделі нами відібрано 202 випадки меланоми шкіри із застосуванням дизайну випадок-контроль.

Група високого ризику включала 172 пацієнти віком $52,2 \pm 1,1$ роки (95 % ДІ 49,9-54,5). За три роки після встановлення первинного діагнозу у пацієнтів високого ризику було визначено розвиток як локо-регіональних, так і дистантних метастазів. Група низького ризику включала 30 пацієнтів із стабільною ремісією, вік пацієнтів становив $52,9 \pm 2,8$ роки (95 % ДІ 47,3-58,5).

Між групами високого та низького ризику не було виявлено суттєвих вікових і гендерних розбіжностей (табл. 5.1). Серед 202 залучених кейсів було зареєстровано 19 випадків (9,4 %) у стадії I, 133 (65,8 %) – у стадії II і 50 (28,4 %) – у стадії III меланоми шкіри. Всі випадки з ураженими лімфатичними вузлами (стадія III) відносилися до групи високого ризику з підтвердженим фактом рецидиву.

В межах групи високого ризику 13 (7,6%) випадків відносилися до стадії I, 109 (63,4%) випадків відносилися до стадії II, і решта 50 (29%) випадків відносилися до стадії III меланоми шкіри відповідно до системи стадіювання AJCC. На відміну від цього групи низького ризику більшість випадків – 24 (80%) мали стадію II, і решта 6 (20%) випадків були віднесені до стадії I. В цій підгрупі не було пацієнтів з ураженими лімфатичними вузлами на етапі первинної діагностики.

Стосовно анатомічної локалізації первинної пухлини більшість випадків меланоми шкіри були виявлені в області тулуба – 75 (37,1 %).

Лише 56 (26,7 %) випадків меланоми були локалізовані на шкірі верхніх або нижніх кінцівок, у 17 (8,4 %) випадках, меланома була діагностована на шкірі обличчя або волосистої частини голови і 54 (26,7 %) випадках локалізація первинної меланоми шкіри не була специфікована. Важливо, що між групами високого та низького ризику не було виявлено статистично значущих розбіжностей стосовно локалізації первинної пухлини ($P = 0,65$).

Також між цими групами не було статистичне значуще підтверджено розбіжності стосовно гістологічного підтипу ($P = 0,52$) та у частоті мутацій у кодоні BRAF 600 ($P > 0,99$). Дані порівняння представлені в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Характеристики даних пацієнтів дослідження

Ознака	Усього		Група високого ризику (рецидив)		Група низького ризику (ремісія)		P
	n	%	n	%	n	%	
1	2	3	4	5	6	7	8
Кількість пацієнтів	202	100	172	85,1	30	14,9	
Стать							
Чоловіки	103	51,0	84	48,9	19	63,3	0,62
Жінки	99	49,0	88	51,1	11	36,7	
Вік	52,3±1,1		52,2±1,1		52,9±2,8		0,82
Стадія на момент діагнозу							
I	19	9,4	13	7,6	6	20	<0,01
II	133	65,8	109	63,4	24	80	
III	50	24,8	50	29,0	0	0	
Анатомічна локалізація первинної пухлини							
Обличчя та шкіра голови	17	8,4	16	9,3	1	3,3	0,65

Продовж. табл. 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8
Кінцівки	56	26,7	47	27,3	9	30	
Тіло	75	37,1	62	36,1	13	43,3	
NOS	54	26,7	47	27,3	7	23,4	
Гістологічний тип							
SSM	93	46	77	44,8	16	53,3	0,52
NM	56	27,7	47	27,3	9	30	
SN + Desmoplastic	7	3,5	7	4,1	0	0	
NOS	46	22,8	41	23,8	5	16,7	
Мутації в кодоні 600 BRAF							
BRAF-мутовані	124	61,4	106	61,6	18	60	>0,99
BRAF-дикий тип	78	39,6	66	39,4	12	40	

У межах досліджуваної виборки не було встановлено статистично значущих розбіжностей між частотою виразкування у пацієнтів із високим і низьким ризиком розвитку рецидиву меланому ($P = 0,24$).

Проте дослідження показників глибини інвазії виявили суттєві розбіжності між випадками з високим і низьким ризиком розвитку рецидиву. Також було визначено вищі показники товщини первинної меланому за Бреслоу ($P = 0,01$) в групі високого ризику порівняно з пацієнтами, які мали стійку ремісію протягом трьох років після первинної діагностики меланому шкіри.

У той же час пухлини з високим ризиком рецидиву характеризувалися значно вищою частотою розвитку лімфоваскулярної ($P < 0,01$) та периневральної інвазії ($P < 0,01$), що відбиває агресивну біологічну поведінку та закономірний вплив на прогноз у пацієнтів із меланомою шкіри. Група з високим ризиком розвитку рецидиву також часто мала ознаки регресії ($P < 0,01$) особливо в межах I-II стадії (рис. 5.1).

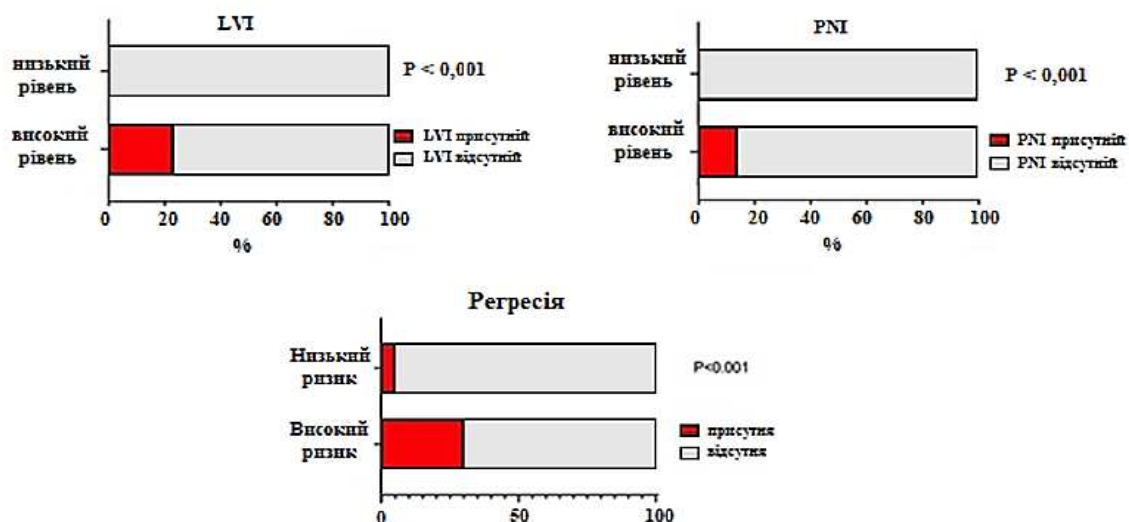


Рис. 5.1. Розподіл предиктивних показників за даними пацієнтів із високим і низьким ризиком розвитку рецидиву меланоми шкіри

Отже, серед усіх доступних у рутинній роботі чинників тільки первинний перелік ознак мав статистично значущі відмінності між групами високого та низького ризику стосовно впливу на прогноз у пацієнтів із меланою шкіри стосовно розвитку рецидиву. До цих факторів відносяться статус лімфатичних вузлів (стадія), частота мітозів, лімфоваскулярна та периневральна інвазія, кількість мітозів та ознаки регресії пухлини.

5.2. Аналіз прогностичної значущості факторів ризику розвитку рецидиву меланоми шкіри

Для виявлення зв'язку ризику прогресування захворювання у пацієнтів із меланою шкіри використано метод логістичної регресії. Аналіз проводився за даними 202 пацієнтів.

Аналіз оцінювання факторів ризику включав 17 показників: стать, вік, анатомічне розташування первинного ураження, стадію, гістологічний тип, виразку, рівень Кларка, товщину за Бреслоу, кількість мітозів, наявність BRAF-мутацій, тип мутації, інфільтрацію лімфоцитами, лімфоваскулярну

інвазію периневральна інвазія, особливості регресії пухлини, мікросателіти та асоційований із меланомою невус.

Серед використаних даних пацієнтів для цього розділу дослідження було 124 (61,4 %) BRAF-позитивних випадків переважно з BRAF V600E мутацією. Частота мутацій у гені BRAF не відрізнялася між випадками високого та низького ризику стосовно рецидиву меланоми шкіри. Так, у випадках із рецидивом частота мутацій у 600 кодоні гена BRAF становила 106 (61,6 %) усіх кейсів, натомість у групі низького ризику даний показник складав 17 випадків (60 %).

Статистична значущість різниці склала $P > 0,99$. У табл. 5.2 представлено результати однофакторного аналізу впливу клінічних і гістопатологічних особливостей на ризик рецидиву МШ I-III стадії.

Таблиця 5.2

**Коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії
прогнозування ризику рецидиву**

Факторна ознака		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значущості коефіцієнту p	Відношення шансів моделі, OR (95 % ДІ)	Площа під кривою операційних характеристик, AUC (95 % ДІ)
1		2	3	4	5
Стать	Ж	Референтний			—
	Ч	-0,59+0,41	0,15	—	
Вік		-0,003+0,013	0,52	—	—

Продовж. табл. 5.2

1		2	3	4	5
Локалізація первинної пухлини	Голова	Референтний			—
	Кінцівки	-1,12±1,09	0,31	—	
	NOS	-0,87 ± 1,11	0,43	—	
	Тіло	-1,21 ± 1,07	0,26	—	
BRAF wt Vs. мутація		0,07 ± 0,40	0,87	—	—
Тип мутації	WT	Референтний			—
	V600K	0,78 ± 1,09	0,47	—	
	V600E	0,01 ± 0,41	0,99	—	
Позитивний нодальний статус (Стадія III)		1,49 ± 0,41	<0,01	4,41 (1,98 – 9,87)	0,69 (0,62 – 0,75)
Гістологіч- ний тип	NOS	Референтний			0,60 (0,53 – 0,66)
	NM	-0,73 ± 0,59	0,216	—	
	SN	18,1	0,764	—	
	SSN	-0,86 ± 0,54	0,120	—	
Виразкування		0,32 ± 0,45	0,482	—	—
Мітозний індекс		0,099 ± 0,045	0,028	1,10 (1,01 – 1,21)	0,66 (0,57 – 0,73)

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5
Рівень інвазії за Кларком	$0,50 \pm 0,27$	0,063	—	—
Товщина пухлини за Бреслоу	$0,29 \pm 0,11$	0,007	1,33 (1,08 – 1,64)	0,71 (0,63 – 0,79)
Інфільтрація лімфоцитами	$-0,15 \pm 0,21$	0,478	—	—
Лімфоваскулярна інвазія	21,1	0,031	22,2 (1,32 – 373)	0,64 (0,56 – 0,72)
Периневральна інвазія	19,9	0,138	—	—
Регресія	$2,25 \pm 1,04$	0,031	9,51 (1,23 – 73,3)	0,63 (0,54 – 0,71)
Мікросателіати	$1,16 \pm 1,06$	0,274	—	—
Асоціація з невусом	$1,33 \pm 1,06$	0,207	—	—

Аналіз відношення шансів усіх первинних факторів показав відсутність статистично значущого впливу обраних показників.

Однофакторний аналіз дозволив виділити значущі ознаки. Останні стали основою побудови багатфакторної моделі. Застосування цієї моделі дозволило виявити середнього ступеня вираженості зв'язок (площа під кривою операційних характеристик $AUC = 0,6-0,7$) ризику прогресії меланоми шкіри.

При цьому ризик рецидиву меланоми шкіри суттєво збільшувався ($p < 0,01$) при зростанні стадій ($OR = 4,41$; 95 % ДІ 1,99– 9,87), у кілька разів на кожне підвищення стадії меланоми шкіри.

Також виявлено статистично значущий вплив мітозного індексу та показників інвазивності пухлини на зростання ризику рецидиву меланоми

шкіри при зростанні показників частоти мітозів, товщини інвазії меланоми за Бреслоу, при наявності лімфоваскулярної чи периневральної інвазії, та ознак регресії (табл. 5.2).

Для виділення мінімального набору ознак, пов'язаних із ризиком рецидиву меланоми шкіри у багатофакторній моделі логістичної регресії методом покрокового включення/виключення (поріг включення $p < 0,05$, поріг виключення $p > 0,1$) було виділено 5 (достовірно значущих на рівні значущості 0,05) факторних ознак: стадія процесу, мітоз, LVI, PNI, ступінь регресії пухлини.

У табл. 5.3 представлено коефіцієнти багатофакторної (5-ти факторної) моделі логістичної регресії.

Таблиця 5.3

Коефіцієнти 5-ти факторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику рецидиву меланоми шкіри

Факторна ознака		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значущості коефіцієнту	Показник відношення шансів моделі OR (95 % ДІ)	Площа під кривою операційних характеристик AUC (95 % ДІ)
1		2	3	4	5
Стадія	I-II	Референтний			0,881 (0,81-0,93)
	III-IV	21,8	У всіх пацієнтів виявлено рецидив		
Мітозний індекс	≤ 5	Референтний			
	> 5	$1,0 \pm 0,58$	0,08	4,6 (1,26 – 16,6)	

Продовж. табл. 5.3

1		2	3	4	5
Лімфовас- кулярна інвазія (LVI)	0	Референтний			
	1	22,1	У всіх пацієнтів виявлено рецидив		
Перинев- ральна інвазія (PNI)	0	Референтний			
	1	21,6	У всіх пацієнтів виявлено рецидив		
Регресія пухлини		2,5 ± 1,1	0,02	12,0 (1,5 – 97,9)	

Модель, побудована на виділених ознаках, є значущою ($\chi^2 = 42,9$, при 5 ступенях свободи, $p < 0,01$). Представлена такою формулою:

$$\ln \frac{Y}{1-Y} = 21,6 \cdot X_1 + 1,02 \cdot X_2 + 22,1 \cdot X_3 + 21,6 \cdot X_4 + 2,5 \cdot X_5 + 0,1 \quad (5.1),$$

де Y – ризик рецидиву МШ; $X_1 = 0$ для стадій I–II та $X_1 = 1$ для стадії III; $X_2 = 0$ для кількості мітозів ≤ 5 та $X_2 = 1$ для кількості мітозів > 5 ; $X_3 =$ лімфоваскулярна інвазія (0 / 1); X_4 – периневральна інвазія (0 / 1); X_5 = ознаки регресії (0 / 1).

Отже, встановлено, що ризик рецидиву пов'язаний із такими ознаками: стадія, мітозний індекс, лімфоваскулярна інвазія, периневральна інвазія, регресія. Ризик зростає зі збільшенням стадії, кількості мітозів (більше 5 на 1 мм²), при наявності ознак LVI, PNI та регресії. На рис. 5.2 представлено криву операційних характеристик розробленої нами п'ятифакторної моделі.

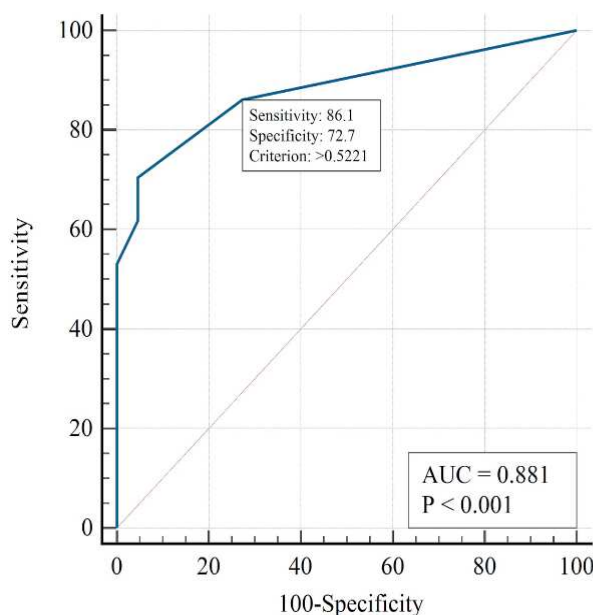


Рис. 5.2. ROC-крива п'ятифакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику

Площа під кривою операційних характеристик $AUC = 0,88$ (95 % ДІ 0,81–0,93), що свідчить про сильний зв'язок ризику рецидиву меланоми шкіри з показниками стадії, мітозів, LVI, PNI, регресії.

При виборі оптимального порогу моделі $Y_{crit} > 0,522$ чутливість моделі склала 86,1 % (95 % ДІ 78,4 % – 91,8 %), специфічність 72,7 % (95 % ДІ 49,8 % – 89,3 %), прогностична значущість позитивної величини $PPV = 94,3$ % (95 % ДІ 89,3 % – 97,0 %), прогностична значущість негативної величини $NPV = 50$ % (95 % ДІ 37,2 % – 2,8 %).

Для оцінювання сили різних моделей прогнозування знову використали критерій Акаїке [78]. Він засвідчив більшу значущість багатофакторної моделі для оцінювання ризику рецидиву меланоми шкіри. Застосування моделі може бути корисним для розроблення персоналізованих стратегій лікування.

Для практичного застосування 5-ти факторної моделі запропонована уніфікована програма. На рис. 5.3 наведено схематичний приклад функціонування системи оцінювання ризику прогресування процесу.

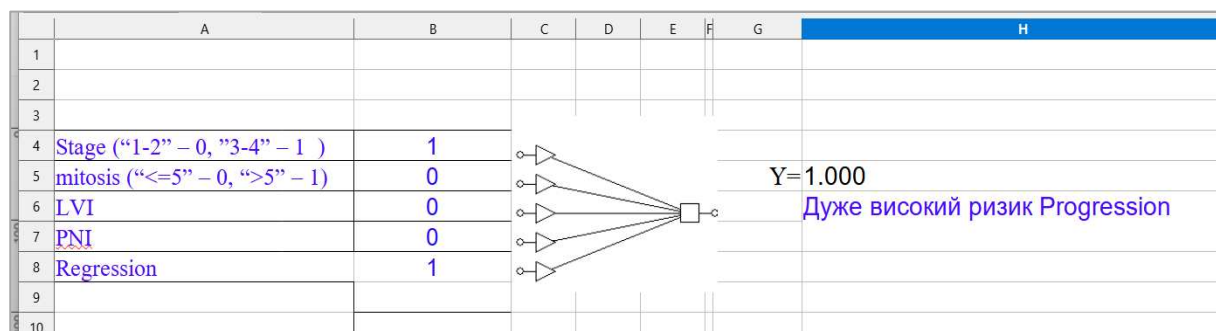


Рис. 5.3. Структурна логіка функціонування системи оцінювання ризику прогресування процесу

Отже, за результатами проведеного дослідження показно, що застосування методів математичного аналізу та багатофакторних регресійних моделей дозволяє прогнозувати перебіг меланоми шкіри. В результаті проведеного статистичного аналізу визначено значущі факторні ознаки, що впливають на прогноз, до них відносяться: статус лімфатичних вузлів (стадія), ознаки лімфоваскулярної та периневральної інвазії, мітотична активність, ознаки регресії. Застосування логістичної регресії дозволило розробити багатофакторну модель для оцінювання ризику рецидиву меланоми шкіри. Її застосування може бути корисним для складання персоналізованих стратегій лікування.

Наше дослідження представляє ретроспективний аналіз даних пацієнтів за трирічний період спостереження, проте для валідації моделі необхідні подальші проспективні дослідження.

Висновки до розділу:

1. Між групами високого та низького ризику не було виявлено статистично значущих розбіжностей стосовно локалізації первинної пухлини ($P = 0,645$). Також між цими групами не було статистично значуще підтверджено розбіжності стосовно гістологічного підтипу ($P = 0,518$) та у частоті мутації у кодоні гену BRAF 600 ($P > 0,999$).

2. Розроблена 5-факторна модель може використовуватися в клінічній практиці для визначення пацієнтів високого ризику стосовно розвитку рецидиву меланоми шкіри та може бути корисною при обґрунтуванні персоналізованих стратегій лікування.

3. Виявлено статистично значущий вплив мітозного індексу та показників інвазивності пухлини, зростання ризику рецидиву меланоми шкіри при зростанні показників частоти мітозів, товщини інвазії меланоми за Бреслоу, при наявності лімфоваскулярної або периневральної інвазії, та ознак регресії.

4. Застосування багатфакторної моделі дозволило на основі незалежних параметрів визначити групу пацієнтів високого ризику. Чутливість та специфічність розробленої моделі становлять відповідно 86,1 % і 72,7 %, позитивна предиктивна значущість 94,3 %, негативна предиктивна значущість 50,0 %.

5. Застосування критерію Акаїке для оцінювання сили різних моделей прогнозування засвідчило більшу значущість багатфакторної моделі для оцінювання ризику рецидиву меланоми шкіри.

Результати п'ятого розділу дисертаційного дослідження представлено в [2, 48, 51].

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та вирішення актуального науково-практичного завдання біології – підвищення ефективності технологій цифровізації даних обстежень та розроблення на цій основі прогностичних моделей для прийняття рішень у патології на прикладі меланому шкіри.

1. Конвергенція цифрової патології та штучного інтелекту обумовлює докорінну зміну існуючих парадигм у практиці патології. Завдяки цифровій патології, біологи та лікарі отримують розширені можливості для підвищення точності, ефективності та узгодженості діагностики. Доступ до цифрових слайдів полегшує діагностичну роботу, аналіз зображень, проведення телеконсультацій, підвищує ефективність, оптимізує робоче навантаження, централізований огляд клінічних випробувань, віртуальну освіту та інноваційні дослідження.

2. На основі математичного аналізу доведено відносно високий рівень мутації у гені BRAF в українській популяції із переважанням V600E (88,8 %), що корелює з наявними показниками частот різних генетичних кодонів гену BRAF 600 та відповідає світовій статистиці. Отримані дані стали основою для обґрунтування моделей прогнозування статусу мутації у гені BRAF, що має важливе значення для оптимізації та персоналізації лікування меланому шкіри.

3. Для прогнозування мутації у гені BRAF побудовано шестифакторну MLP модель, що заснована на використанні логістичної регресії та нейронної мережі. Модель не тільки може прогнозувати статус мутації у гені BRAF у пацієнтів із меланомою шкіри, що полегшує прийняття рішень для подальшого ведення пацієнтів, але й дозволяє оцінити вірогідність молекулярних порушень у гені BRAF.

Характеристики моделі: чутливість – 89,4 % (95 % ДІ 84,5–93,1 %); специфічність – 50,7 % (95 % ДІ 42,2 %–59,1 %); прогностична значущість позитивної величини – 73, % (95 % ДІ 69,6 %–76,3 %); прогностична значущість негативної величини – 76,0 % (95 % ДІ 67,6 %–82,8 %). Площа під кривою операційних характеристик моделі AUC_{MLP} становить 0,79 (95 % ДІ 0,74–0,84), що свідчить про гарну узгодженість моделі прогнозування ризику наявності мутації у гені BRAF.

4. Оцінено фактори ризику виникнення рецидиву меланоми шкіри. Доведено прогностичну значущість товщини меланоми за Бреслоу, виразки, кількості мітозів, анатомічного розташування меланоми, гістологічного підтипу меланоми шкіри, що відображає біологічну поведінку та визначає прогресування зростання пухлини.

5. Встановлено прогностичні фактори, що впливають на результат меланоми шкіри при діагностиці. Для прогнозування ймовірності мутації у гені BRAF при меланомі шкіри використовували моделі бінарної логістичної регресії, модель класифікації та регресійного аналізу, а також модель випадкового лісу. В усіх моделях інваріантно значущими були вік, гістологічний тип і локалізація первинної пухлини, що виявилось важливим для подальших кроків моделювання патологічного процесу.

6. Мультифакторний класифікатор, заснований на алгоритмах машинного навчання, для прогнозування наявності мутації у гені BRAF у первинних і метастатичних меланомах шкіри продемонстрував більш високу ефективність при об'єднанні клінічних, гістологічних та епігенетичних даних. Побудовано багатфакторну модель ($\chi^2 = 42,9$, при 5 ступенях свободи, $p < 0,01$) з такими характеристиками: площа під кривою операційних характеристик $AUC = 0,88$ (95 % ДІ 0,81–0,93), що свідчить про сильний зв'язок ризику появи рецидиву меланоми шкіри із застосованими 5 прогностичними чинниками. При виборі оптимального порогу моделі $Y_{crit} > 0,52$ її чутливість склала 86,1 % (95 % ДІ 78,4 %–91,8 %), специфічність

72,7 % (95 % ДІ 49,8 %–89,3 %), прогностична значущість позитивної величини PPV = 94,3 % (95 % ДІ 89,3 %–97,0 %).

Розроблена багатофакторна модель дозволяє визначити групу високого ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу, а також оптимізувати процес прийняття рішень у пацієнтів із меланомою шкіри.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Дудін ОЄ, Мінцер ОП, Сулаєва О. Цифрова патологія в роботі медичної лабораторії. Аналітичний огляд. Медична інформатика та інженерія. 2020;3: 41-50. DOI:10.11603/mie.1996-1960.2020.3.11608.
2. Дудін ОЄ. Оптимізація застосування цифровізації даних обстежень в патології. В: YOUNG SCIENCE 6.0 – Конференція молодих вчених в медицині. Матеріали наук.-практ. конф.; 2025 Трав. 15; Київ. Київ: НУОЗУ імені П. Л. Шупика; 2025:161-165.
3. Дудін ОЄ. Цифрова патологія при меланомі: досягнення, бар'єри та перспективи. Медична інформатика та інженерія. 2022;4:9-20. DOI:10.11603/mie.1996-1960.2022.4.13411.
4. Мінцер ОП, Заліський ВМ. Системна біомедицина (у двох томах) Т.1 Концептуалізація – К.: НМАПО імені П.Л. Шупика, 2020. 490 с.
5. Abdelhafiz AS, Ahram M, Ibrahim ME, et al. Biobanks in the low- and middle-income countries of the Arab Middle East region: challenges, ethical issues, and governance arrangements-a qualitative study involving biobank managers. BMC Med Ethics. 2022 Aug 14;23(1):83. DOI: 10.1186/s12910-022-00822-8.
6. Acs B, Rantalainen M, Hartman J. Artificial intelligence as the next step towards precision pathology. J Intern Med. 2020;288(1):62-81. DOI: 10.1111/joim.13030.
7. Acs B, Rimm DL. Not just digital pathology, intelligent digital pathology. JAMA Oncol. 2018;4(3):403-404. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.5449.
8. Aeffer F, Zarella MD, Buchbinder N, Bui MM, Goodman MR, Hartman DJ, et al. Introduction to Digital Image Analysis in Whole-slide Imaging: A White Paper from the Digital Pathology Association. J Pathol Inform. 2019 Mar 8;10:9. DOI: 10.4103/jpi.jpi_82_18.
9. Alheejawi S, Xu H, Berendt R, Jha N, Mandal M. Novel lymph node segmentation and proliferation index measurement for skin melanoma biopsy

images. *Comput Med Imaging Graph.* 2019;73:19-29. DOI:10.1016/j.compmedimag. 2019.01.006.

10. Anwar SM, Majid M, Qayyum A, Awais M, Alnowami M, Khan MK. Medical image analysis using convolutional neural networks: a review. *J Med Syst.* 2018;42:1–13. DOI:10.1007/s10916-018-1088-1

11. Art. 89 GDPR – Safeguards and derogations relating to processing for archiving purposes in the public interest, scientific or historical research purposes or statistical purposes. General Data Protection Regulation (GDPR). Available at: <https://gdpr-info.eu/art-89-gdpr/>.

12. Ascierto PA, Kirkwood JM, Grob JJ, Ester S, Grimaldi AM, Maio M, Palmieri G, Testori A, Marincola FM, Mozzillo N. Te Role of BRAF V600 Mutation in Melanoma, *Journal of Translational Medicine.* 2012; 10(1): 85. DOI: 10.1186/1479-5876-10-85.

13. Balch CM, Murad TM, Soong SJ, Ingalls AL, Halpern NB, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma: prognostic histopathological features comparing Clark's and Breslow's staging methods. *Ann Surg.* 1978 Dec;188(6):732-42. DOI: 10.1097/00000658-197812000-00004.

14. Bauer J, Büttner P, Murali R, Okamoto I, Kolaitis NA, Landi MT, Scolyer RA, Bastian BC. BRAF mutations in cutaneous melanoma are independently associated with age, anatomic site of the primary tumor, and the degree of solar elastosis at the primary tumor site. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011;24(2):345-51. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2011.00837.x.

15. Begoli E, Bhattacharya T, Kusnezov D. The need for uncertainty quantification in machine-assisted medical decision making. *Nat Mach Intell.* 2019;1:20–23. DOI: 10.1038/s42256-018-0004-1.

16. Bejnordi BE, et al. Diagnostic assessment of deep learning algorithms for detection of lymph node metastases in women with breast cancer. *JAMA.* 2017;318(22):2199–210. DOI: 10.1001/jama.2017.14585.

17. Bera K, Schalper KA, Rimm DL, Velcheti V, Madabhushi A. Artificial intelligence in digital pathology — new tools for diagnosis and precision oncology. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019; 16(11):703-715. DOI: 10.1038/s41571-019-0252-y.
18. Bizzego A, Bussola N, Chierici M, Maggio V, Francescato M, Cima L, Cristoforetti M, Jurman G, Furlanello C. Evaluating reproducibility of AI algorithms in digital pathology with DAPPER. *PLoS Comput Biol*. 2019; 15(3):e1006269. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006269.
19. Blackman T. Exploring Explanations for Local Reductions in Teenage Pregnancy Rates in England: An Approach Using Qualitative Comparative Analysis. *Social Policy and Society*. 2013;12(1):61-72. DOI: 10.1017/S1474746412000358.
20. Bobos M. Histopathologic classification and prognostic factors of melanoma: a 2021 update. *Ital J Dermatol Venerol*. 2021;156(3):300-321. DOI: 10.23736/S2784-8671.21.06958-3.
21. Boryslav S, Kostiv SY, Venher IK, Selskyi PR. Predicting the risk of surgical complications based on multiparametric neural network clustering at revascularization of main arteries of the lower limbs *Ceur Workshop Proceedings* Open source preview. 2022; 3309: 33-44.
22. Brancaccio G, Balato A, Malveyh J, Puig S, Argenziano G, Kittler H. Artificial Intelligence in Skin Cancer Diagnosis: A Reality Check. *J Invest Dermatol*. 2024 Mar;144(3):492-499. DOI: 10.1016/j.jid.2023.10.004.
23. Brinker TJ, Schlager G, French LE, Jutzi T, Kittler H. Computer-assisted skin cancer diagnosis : Is it time for artificial intelligence in clinical practice? *Hautarzt*. 2020 Sep;71(9):669-676. German. DOI: 10.1007/s00105-020-04662-8.
24. Brodetskyi IS, Malanchuk VA, Sorokin BV, Myroshnychenko MS, Beketova YI, Dyadyk OO, Kapustnyk NV, Krotevych MS, Brodetskyi SB. Tumors and tumor-like lesions of the salivary glands: morphological characteristics of the surgical material. *Wiad Lek*. 2021;74(4):929-933.

25. Bromley RL. Financial stability in biobanking: unique challenges for disease-focused foundations and patient advocacy organizations. *Biopreserv Biobank*. 2014 Oct;12(5):294-9. DOI: 10.1089/bio.2014.0053.
26. Browning L, Colling R, Rakha E, Rajpoot N, Rittscher J, James JA et al. Digital pathology and artificial intelligence will be key to supporting clinical and academic cellular pathology through COVID-19 and future crises: the PathLAKE consortium perspective. *J Clin Pathol*. 2021;74(7):443-447. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206854.
27. Buckelew H., Crowe C. Social Media and Pathology: A Powerful Intersection for Visibility, *American Journal of Clinical Pathology*. 2024; 162(1): 136-137. DOI: 10.1093/AJCP/AQAE129.303.
28. Bychkov D, Linder N, Turkki R, Nordling S, Kovanen PE, Verrill C, et al. Deep learning based tissue analysis predicts outcome in colorectal cancer. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 3395. DOI: 10.1038/s41598-018-21758-3.
29. Calderaro J, Kather JN. Artificial intelligence-based pathology for gastrointestinal and hepatobiliary cancers. *Gut*. 2021;70(6):1183-1193. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322880.
30. Campanella G, Hanna MG, Geneslaw L, Miraflor A, Werneck Krauss Silva V, Busam KJ, et al. Clinical-grade computational pathology using weakly supervised deep learning on whole slide images. *Nat Med*. 2019;25(8):1301-1309. DOI: 10.1038/s41591-019-0508-1.
31. Cancer Statistics Review, 1975-2015 - SEER Statistics. Available at https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2015/index.html.
32. Castellani G, Buccarelli M, Arasi MB, Rossi S, Pisanu ME, Bellenghi M, et al. BRAF Mutations in Melanoma: Biological Aspects, Therapeutic Implications, and Circulating Biomarkers. *Cancers (Basel)*. 2023;15(16):4026. DOI: 10.3390/cancers15164026.
33. Cereceda K, Bravo N, Jorquera R, González-Stegmaier R, Villarroel-Espíndola F. Simultaneous and Spatially-Resolved Analysis of T-Lymphocytes,

Macrophages and PD-L1 Immune Checkpoint in Rare Cancers. *Cancers (Basel)*. 2022;14(11):2815. DOI: 10.3390/cancers14112815.

34. Chen PC, Liu Y, Peng L. How to develop machine learning models for healthcare. *Nat Mater*. 2019; 18(5):410-414. DOI: 10.1038/s41563-019-0345-0.

35. Chou M, Illa-Bochaca I, Minxi B, Darvishian F, Johannet P, Moran U, et al. Optimization of an automated tumor-infiltrating lymphocyte algorithm for improved prognostication in primary melanoma. *Mod Pathol*. 2021;34(3):562–71. DOI: 10.1038/s41379-020-00686-6.

36. Clarke, E.L., Wade, R.G., Magee, D. et al. Image analysis of cutaneous melanoma histology: a systematic review and meta-analysis. 2023. *Sci Rep* 13, 4774. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31526-7>.

37. Colombino M, Rozzo C, Paliogiannis P, Casula M, Manca A, Doneddu V, et al. Comparison of BRAF Mutation Screening Strategies in a Large Real-Life Series of Advanced Melanoma Patients. *J Clin Med*. 2020;9(8):2430. DOI: 10.3390/jcm9082430.

38. Combalia M, Codella N, Rotemberg V, Carrera C, Dusza S, Gutman D, et al. Validation of artificial intelligence prediction models for skin cancer diagnosis using dermoscopy images: the 2019 International Skin Imaging Collaboration Grand Challenge. *Lancet Digit Health*. 2022 May;4(5):e330-e339. DOI: 10.1016/S2589-7500(22)00021-8.

39. Coudray N, Ocampo PS, Sakellaropoulos T, Narula N, Snuderl M, Fenyö D, et al. Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology images using deep learning. *Nat Med*. 2018; 24(10): 1559-1567. DOI: 10.1038/s41591-018-0177-5.

40. Cui M, Zhang DY. Artificial intelligence and computational pathology. *Lab Invest*. 2021; 101(4): 412–422. DOI: 10.1038/s41374-020-00514-0.

41. D'Abramo F. Biobank research, informed consent and society. Towards a new alliance? *J Epidemiol Community Health*. 2015;69(11):1125-8. DOI: 10.1136/jech-2014-205215.

42. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949-54. DOI: 10.1038/nature00766.
43. Davis EJ, Johnson DB, Sosman JA, Chandra S. Melanoma: What do all the mutations mean? *Cancer*. 2018 Sep 1;124(17):3490-3499. DOI: 10.1002/cncr.31345.
44. De Logu F, Ugolini F, Maio V, Simi S, Cossu A, Massi D et al. Recognition of Cutaneous Melanoma on Digitized Histopathological Slides via Artificial Intelligence Algorithm. *Front Oncol*. 2020;10:1559. DOI: 10.3389/fonc.2020.01559.
45. De Smet F, Antoranz Martinez A, Bosisio FM. Next-Generation Pathology by Multiplexed Immunohistochemistry. *Trends Biochem Sci*. 2021;46(1):80-82. DOI: 10.1016/j.tibs.2020.09.009.
46. Dimitriou N, Arandjelović O, Caie PD. Deep Learning for Whole Slide Image Analysis: An Overview. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:264. DOI: 10.3389/fmed.2019.00264.
47. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobyliak N, Kaminskyi D, Matvieieva A. et al. Predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma using neural network analysis. *Journal of Skin Cancer*. 2024. DOI: <https://DOI.org/10.1155/jskc/3690228>.
48. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobyliak N, Kozakov D, Livshun S et al. Defining the high-risk category of patients with cutaneous melanoma: a practical tool based on prognostic modeling. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2025; 12. DOI: <https://DOI.org/10.3389/fmolb.2025.1543148>.
49. Dudin O, Mintser O, Kobyliak N, Kaminskyi D, Shabalkov R, Matvieieva A. et al. Incidence of BRAF mutations in cutaneous melanoma: histopathological and molecular analysis of a Ukrainian population. *Melanoma Manag*. 2023;10(1):MMT64. DOI: 10.2217/mmt-2023-0005.

50. Дудін О, Мінцер О, Сулаєва О. Штучний інтелект та патологія наступного покоління: шлях до персоналізованої медицини. *Праці НТШ Медичні науки*. 2021;65(2):68-87. DOI: 10.25040/ntsh2021.02.07.

51. Dudin O, Mintser O, Sulaieva O. Uncovering factors predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma. *American Journal of Clinical Pathology*. 2024; 162(1):S136. DOI: 10.1093/ajcp/aqae129.302.

52. Dudin O, Sulaieva O, Artamonova O, Semikov R, Urakov D, Zakharash Yu et al. Ethical navigation of biobanking establishment in Ukraine: learning from the experience of developing countries *J of Med Eth*. 2023; jme-2023-109129. DOI: 10.1136/jme-2023-109129.

53. Dudin O, Sulaieva O, Botsun P, Koshyk O, Omelianenko I, Burkatska M et al. The impact of war on cytopathological practice in Ukraine. 2023; 4. DOI: 10.48188/so.4.1.

54. Dudin O, Sulaieva O, Botsun P, Pischanska S, Karpachova V, Omelianenko I, et al. The detrimental consequences of two consecutive disasters impacting cytopathology in Ukraine: COVID followed by the war. *Cytopathology*. 2023;34(5):442-449. DOI: 10.1111/cyt.13236.

55. Dudin O, Sulaieva O, Falalyeyeva T, Kobyliak N, Pellicano R. Precision oncology: ethical challenges and justification. *Minerva Med*. 2022;113(4):603-605. DOI: 10.23736/S0026-4806.22.08063-6.

56. Dudin O., Sulaieva O, Shcherbakova A, Adjusting Laboratory Practices to the Challenges of Wartime. *Narrat Inq Bioeth*. 2023;13(3):155-158. DOI: 10.1353/nib.2023.a924178.

57. Eigentler T, Assi Z, Hassel JC, Heinzerling L, Starz H, Berneburg M, et al. Which melanoma patient carries a BRAF-mutation? A comparison of predictive models. *Oncotarget*. 2016;7(24):36130-36137. DOI: 10.18632/oncotarget.9143.

58. Elder DE, Piepkorn MW, Barnhill RL, Longton GM, Nelson HD, Knezevich SR, et al. Pathologist characteristics associated with accuracy and

reproducibility of melanocytic skin lesion interpretation. *J Am Acad Dermatol*. 2018;79(1):52-59.e5.

59. Elmore JG, Barnhill RL, Elder DE, Longton GM, Pepe MS, Reisch LM, et al. Pathologists' diagnosis of invasive melanoma and melanocytic proliferations: Observer accuracy and reproducibility study. *BMJ*. 2017 Jun 28;357:j2813. DOI: 10.1136/bmj.j2813.

60. Enk AH, Hekler A, Utikal JS, Solass W, Schmitt M, Klode J, et al. Deep learning outperformed 11 pathologists in the classification of histopathological melanoma images. *Eur J Cancer*. 2019; 118: 91-96. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.06.012.

61. Esteva A, Kuprel B, Novoa RA, Ko J, Swetter SM, Blau HM, et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature*. 2017;542:115-118. DOI: 10.1038/nature21056.

62. Esteva A, Topol E. Can skin cancer diagnosis be transformed by AI? *Lancet* 2019; 394(10211):1795. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32726-6.

63. Estrozi B, Machado J, Rodriguez R, Bacchi CE. Clinicopathologic findings and BRAF mutation in cutaneous melanoma in young adults. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2014;22(1):57-64. DOI: 10.1097/pdm.0b013e318298c1d9.

64. Evans AJ, Bauer TW, Bui MM, Cornish TC, Duncan H, Glassy EF, et al. US Food and Drug Administration Approval of Whole Slide Imaging for Primary Diagnosis: A Key Milestone Is Reached and New Questions Are Raised. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1383-7. DOI: 10.5858/arpa.2017-0496-CP.

65. Farmer ER, Gonin R, Hanna MP. Discordance in the histopathologic diagnosis of melanoma and melanocytic nevi between expert pathologists. *Hum Pathol*. 1996;27(6):528-31. DOI: 10.1016/s0046-8177(96)90157-4.

66. Figueroa-Silva O, Pastur Romay LA, Viruez Roca RD, Rojas MDSY, Suárez-Peñaranda JM. Machine Learning Techniques in Predicting BRAF Mutation Status in Cutaneous Melanoma From Clinical and Histopathologic Features. *Appl*

Immunohistochem Mol Morphol. 2022;30(10):674-680.
DOI: 10.1097/PAI.0000000000001075.

67. Gao J, Jiang Q, Zhou B, Chen D. Convolutional neural networks for computer-aided detection or diagnosis in medical image analysis: an overview. *Math Biosci Eng.* 2019;16:6536-61. DOI: 10.3934/mbe.2019326.

68. GeoMx Digital Spatial Profiling | NanoString Technologies. Available at: <https://www.nanostring.com/products/geomx-digital-spatial-profiler/geomx-dsp>.

69. Ginsburg SB, Lee G, Ali S, Madabhushi A. Feature importance in nonlinear embeddings (FINE): applications in digital pathology. *IEEE Trans Med Imaging.* 2016; 35: 76-88. DOI: 10.1109/TMI.2015.2456188.

70. Girolami I, Parwani A, Barresi V, Marletta S, Ammendola S, Stefanizzi L, et al. The Landscape of Digital Pathology in Transplantation: From the Beginning to the Virtual E-Slide. *J Pathol Inform.* 2019;10:21. DOI: 10.4103/jpi.jpi_27_19.

71. Goltsev Y, Samusik N, Kennedy-Darling J, Bhate S, Hale M, Vazquez G, et al. Deep Profiling of Mouse Splenic Architecture with CODEX Multiplexed Imaging. *Cell.* 2018;174(4):968-981.e15. DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.010.

72. Gonzalez D, Fearfield L, Nathan P, Tanière P, Wallace A, Brown E, et al. BRAF mutation testing algorithm for vemurafenib treatment in melanoma: recommendations from an expert panel. *Br J Dermatol.* 2013 Apr;168(4):700-7. DOI: 10.1111/bjd.12248.

73. Govek KW, Troisi EC, Miao Z, Aubin RG, Woodhouse S, Camara PG. Single-cell transcriptomic analysis of mIHC images via antigen mapping. *Sci Adv.* 2021 Mar 5;7(10):eabc5464. DOI: 10.1126/sciadv.abc5464.

74. Goyal M, Knackstedt T, Yan S, Hassanpour S. Artificial intelligence-based image classification methods for diagnosis of skin cancer: Challenges and opportunities. *Comput Biol Med.* 2020 Dec;127:104065. DOI: 10.1016/j.combiomed.2020.

75. Gramatiuk SM, Bagmut IY, Sheremet MI, Sargsyan K, Yushko AM, Filipchenko SM, et al. Pediatric biobanks and parents of disabled children associations opinions on establishing children repositories in developing countries. *J Med Life*. 2021;14(1):50-55. DOI: 10.25122/jml-2020-0106.
76. Greenwald HS, Friedman EB, Osman I. Superficial Spreading and Nodular Melanoma Are Distinct Biological Entities: A Challenge to the Linear Progression Model, *Melanoma Research*. 2012;22:1-8. DOI: 10.1097/CMR.0B013E32834E6AA0.
77. Griffin J, Treanor D. Digital pathology in clinical use: where are we now and what is holding us back? *Histopathology*. 2017;70(1):134-145. DOI: 10.1111/his.12993.
78. H. Akaike. A new look at the statistical model identification // *IEEE Trans. Auto. Control*. 1974; 716-723.
79. Hajdarevic S, Schmitt-Egenolf M, Brulin C, Sundbom E, Hörnsten A. Malignant melanoma: gender patterns in care seeking for suspect marks. *J Clin Nurs*. 2011;20(17-18):2676-84. DOI: 10.1111/j.1365-2702.2011.03788.x.
80. Halse H, Colebatch AJ, Petrone P, Henderson MA, Mills JK, Snow H, et al. Multiplex immunohistochemistry accurately defines the immune context of metastatic melanoma. *Sci Rep*. 2018 Jul 24;8(1):11158. DOI: 10.1038/s41598-018-28944-3.
81. Han T, Liu C, Yang W, Jiang D. Learning transferable features in deep convolutional neural networks for diagnosing unseen machine conditions. *ISA Trans*. 2019;93:341-353. DOI: 10.1016/j.isatra.2019.03.017.
82. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*. 1982;143:29-36. DOI: 10.1148/radiology.143.1.7063747.
83. Hanna MG, Reuter VE, Ardon O, Kim D, Sirintrapun SJ, Schöffler PJ, et al. Validation of a digital pathology system including remote review during the

COVID-19 pandemic. *Mod Pathol*. 2020;33(11):2115-2127. DOI: 10.1038/s41379-020-0601-5.

84. Hekler A, Utikal JS, Enk AH, Berking C, Klode J, Schadendorf D. et al. Pathologist-level classification of histopathological melanoma images with deep neural networks. *Eur J Cancer*. 2019;115:79-83. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.04.021.

85. Hélias-Rodzewicz Z, Funck-Brentano E, Baudoux L, Jung CK, Zimmermann U, Marin C, et al. Variations of BRAF mutant allele percentage in melanomas. *BMC Cancer*. 2015;15:497. DOI: 10.1186/s12885-015-1515-3.

86. Heppt MV, Siepmann T, Engel J, Schubert-Fritschle G, Eckel R, Mirlach L, et al. Prognostic significance of BRAF and NRAS mutations in melanoma: a German study from routine care. *BMC Cancer*. 2017;17(1):536. DOI: 10.1186/s12885-017-3529-5.

87. Herington J, Connelly K, Illes J. Ethical Imperatives for Working With Diverse Populations in Digital Research. *J Med Internet Res*. 2023;25:e47884. DOI: 10.2196/47884.

88. HistoGeneX. Histo Highlights (2016). – Режим доступа: <https://www.histogenex.com/images/PDFs/Histo-Highlights-July-2016-HistoGeneX-Newsletter.pdf>.

89. House JC, Henderson-Jackson EB, Johnson JO, Lloyd MC, Dhillon J, Ahmad N, et al. Diagnostic digital cytopathology: Are we ready yet? *J Pathol Inform*. 2013;4:28. DOI: 10.4103/2153-3539.120727.

90. Ianni JD, Soans RE, Sankarapandian S, Chamarthi RV, Ayyagari D, Olsen TG, et al. Tailored for Real-World: A Whole Slide Image Classification System Validated on Uncurated Multi-Site Data Emulating the Prospective Pathology Workload. *Sci Rep*. 2020;10(1):3217. DOI: 10.1038/s41598-020-59985-2.

91. Ibrahim A, Gamble P, Jaroensri R, Abdelsamea MM, Mermel CH, Chen PC, Rakha EA. Techniques and applications. *Breast*. 2020; 49: 267-273. DOI: 10.1016/j.breast.2019.12.007.

92. in SA, Chun SM, Choi YD et al. BRAF mutations and KIT aberrations and their clinicopathological correlation in 202 Korean melanomas. *J. Invest. Dermatol.* 2013;133:579-582.
93. Irshad H, Veillard A, Roux L, Racoceanu D. Methods for nuclei detection, segmentation, and classification in digital histopathology: a review—current status and future potential. *IEEE Rev Biomed Eng.* 2014;7:97-114. DOI: 10.1109/RBME.2013.2295804.
94. Ito T, Tanaka Y, Murata M, Kaku-Ito Y, Furue K, Furue M. BRAF Heterogeneity in Melanoma. *Curr Treat Options Oncol.* 2021 Feb 8;22(3):20. DOI: 10.1007/s11864-021-00818-3.
95. Jackett LA, Scolyer RA, A Review of Key Biological and Molecular Events Underpinning Transformation of Melanocytes to Primary and Metastatic Melanoma, *Cancers* 2019;11(12): 2041, DOI: 10.3390/CANCERS11122041.
96. Kalidindi S. The Role of Artificial Intelligence in the Diagnosis of Melanoma. *Cureus.* 2024;16(9):e69818. DOI: 10.7759/cureus.69818.
97. Kanavati F, Toyokawa G, Momosaki S, Takeoka H, Okamoto M, Yamazaki K, et al. A deep learning model for the classification of indeterminate lung carcinoma in biopsy whole slide images. *Sci Rep.* 2021; 11(1):8110. DOI: 10.1038/s41598-021-87644-7.
98. Kather JN, Krisam J, Charoentong P, Luedde T, Herpel E, Weis CA, et al. Predicting survival from colorectal cancer histology slides using deep learning: A retrospective multicenter study. *PLoS Med.* 2019;16:e1002730. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002730.
99. Kent MN, Olsen TG, Feeser TA, Tesno KC, Moad JC, Conroy MP, et al. Diagnostic Accuracy of Virtual Pathology vs Traditional Microscopy in a Large Dermatopathology Study. *JAMA Dermatol.* 2017;153(12):1285-91. DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.3284.
100. Khosravi P, Kazemi E, Imielinski M, Elemento O, Hajirasouliha I. Deep Convolutional Neural Networks Enable Discrimination of Heterogeneous

Digital Pathology Images. EBioMedicine. 2018;27:317-328. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017. 12.026.

101. Kim SY, Kim SN, Hahn HJ, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. Metaanalysis of BRAF mutations and clinicopathologic characteristics in primary melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(6):1036-46.e2. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.02.1113.

102. Komura D, Ishikawa S. Machine learning approaches for pathologic diagnosis. *Virchows Arch*. 2019;475(2):131-138. DOI: 10.1007/s00428-019-02594-w.

103. Korovin S, Fedorenko Z, Michailovich Y, Kukushkina M, Sekerija M, Ryzhov A. Burden of malignant melanoma in Ukraine in 2002-2013: incidence, mortality and survival. *Exp Oncol*. 2020;42(4):324-329. DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-4.15334.

104. Kucharski D, Kleczek P, Jaworek-Korjakowska J, Dyduch G, Gorgon M. Semi-Supervised Nests of Melanocytes Segmentation Method Using Convolutional Autoencoders. *Sensors (Basel)*. 2020;20(6):1546. DOI: 10.3390/s20061546.

105. Kulkarni S, Seneviratne N, Baig MS, Khan AHA. Artificial intelligence in medicine: where are we now? *Acad Radiol*. 2020;27:62-70.

106. Lancellotti C, Cancian P, Savevski V, et al. Artificial Intelligence & Tissue Biomarkers: Advantages, Risks and Perspectives for Pathology. *Cells*. 2021; 10(4):787. DOI: 10.3390/cells10040787.

107. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez RR, Grob J-J, Rutkowski P, et al. Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(16), 1535-1546. DOI: 10.1056/NEJMoa1910836.

108. Lattanzi M, Lee Y, Simpson D, Moran U, Darvishian F, Kim RH, et al. Primary Melanoma Histologic Subtype: Impact on Survival and Response to Therapy. *J Natl Cancer Inst*. 2019;111(2):180-188. DOI: 10.1093/jnci/djy086.

109. LeCun Y, Bengio Y, Hinton G. Deep learning. *Nature*. 2015; 521(7553):436-444. DOI: 10.1038/nature14539.
110. Lee JH, Daugharthy ER, Scheiman J, Kalhor R, Yang JL, Ferrante TC, et al. Highly multiplexed subcellular RNA sequencing in situ. *Science*. 2014;343(6177):1360-3. DOI: 10.1126/science.1250212.
111. Levine AB, Schlosser C, Grewal J, Coope R, Jones SJM, Yip S. Rise of the Machines: Advances in Deep Learning for Cancer Diagnosis. *Trends Cancer*. 2019;5(3):157-169. DOI: 10.1016/j.trecan.2019.02.002.
112. Liebig JK, Kuphal S, Bosserhof AK. HuRdlin Senescence: HuR Breaks BRAF-Induced Senescence in Melanocytes and Supports Melanoma Growth, *Cancers* 2020;12(5):1299. DOI: 10.3390/CANCERS12051299.
113. Lokhandwala PM, Tseng LH, Rodriguez E, Zheng G, Pallavajjalla A, Gocke CD, et al. Clinical mutational profiling and categorization of BRAF mutations in melanomas using next generation sequencing. *BMC Cancer*. 2019;19(1):665. DOI: 10.1186/s12885-019-5864-1.
114. Lopez-Martin JA, Arance Fernández A, Ríos-Martín JJ, Hernández-Losa J, Alós Hernández L, Cerezuela Fuentes P, et al. Frequency and Clinicopathological Profile Associated with Braf Mutations in Patients with Advanced Melanoma in Spain. *Transl Oncol*. 2020;13(6):100750. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100750.
115. Madabhushi A, Lee G. Image analysis and machine learning in digital pathology: challenges and opportunities. *Med Image Anal*. 2016;33:170-5. DOI: 10.1016/j.media.2016.06.037.
116. Marchetti MA, Cowen EA, Kurtansky NR, Weber J, Dauscher M, DeFazio J, et al. Prospective validation of dermoscopy-based open-source artificial intelligence for melanoma diagnosis (PROVE-AI study). *NPJ Digit Med*. 2023;6(1):127. DOI: 10.1038/s41746-023-00872-1.
117. Maron RC, Haggenmüller S, Hekler A, Utikal JS, Barata C, Barnhill RL, et al. Skin cancer classification via convolutional neural networks: systematic

review of studies involving human experts. *Eur J Cancer*. 2021;156:202-216. DOI: 10.1016/j.ejca.2021.06.049.

118. Meijering E. A bird's-eye view of deep learning in bioimage analysis. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:2312-2325. DOI: 10.1016/j.csbj.2020.08.003.

119. Menzies AM, Haydu LE, Visintin L, Carlino MS, Howle JR, Thompson JF, et al. Distinguishing clinicopathologic features of patients with V600E and V600K BRAF-mutant metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3242-9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0052.

120. Meroueh C, Chen ZE. Artificial intelligence in anatomical pathology: building a strong foundation for precision medicine. *Hum Pathol*. 2023;132:31-38. DOI:10.1016/j.humpath.2022.07.008.

121. Merritt CR, Ong GT, Church SE, Barker K, Danaher P, Geiss G, et al. Multiplex digital spatial profiling of proteins and RNA in fixed tissue. *Nat Biotechnol*. 2020;38(5):586-99. DOI: 10.1038/s41587-020-0472-9.

122. Michaloglou C, Vredeveld LC, Soengas MS, Denoyelle C, Kuilman T, van der Horst CM, et al. BRAFE600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature*. 2005;436(7051):720-4. DOI:10.1038/nature03890.

123. Mills AM, Gradecki SE, Horton BJ, Blackwell R, Moskaluk CA, Mandell JW, et al. Diagnostic Efficiency in Digital Pathology: A Comparison of Optical Versus Digital Assessment in 510 Surgical Pathology Cases. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(1):53-59. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000930.

124. Mobadersany P, Yousefi S, Amgad M, Gutman DA, Barnholtz-Sloan JS, Velázquez Vega JE, et al. Predicting cancer outcomes from histology and genomics using convolutional networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018;115:e2970-e2979. DOI: 10.1073/pnas.1717139115.

125. Mukhopadhyay S, Feldman MD, Abels E, Ashfaq R, Beltaifa S, Cacciabeve NG, et al. Whole Slide Imaging Versus Microscopy for Primary Diagnosis in Surgical Pathology: A Multicenter Blinded Randomized

Noninferiority Study of 1992 Cases (Pivotal Study). *Am J Surg Pathol*. 2018;42(1): 39-52. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000948.

126. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, et al. Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(9):4393-7. DOI: 10.1210/jc.2003-030305.

127. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, 2004. 1100 p.

128. Nepote A, Avallone G, Ribero S, Cavallo F, Roccuzzo G, Mastorino L, et al. Current Controversies and Challenges on BRAF V600K-Mutant Cutaneous Melanoma. *J Clin Med*. 2022;11(3):828. DOI: 10.3390/jcm11030828.

129. Niazi MKK, Parwani AV, Gurcan MN. Digital pathology and artificial intelligence. *Lancet Oncol*. 2019;20(5):e253-e261. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30154-8.

130. Niu Y, Liu X, Shi A, Tang D, Yao X, Lu Y. Bioinformatics-based prognostic value and in vitro functional validation of PTK6 in cutaneous melanoma. *Front Oncol*. 2025;15:1555302. DOI: 10.3389/fonc.2025.1555302.

131. Nurdjaja V, Yozu M, Mathy JA. Essential Components of Melanoma Histopathological Reporting: The Surgical Oncologist's Perspective. *J Skin Cancer*. 2018;2018:9838410. DOI: 10.1155/2018/9838410.

132. Oda Y, Hornick JL, Webster F, Dei Tos AP, Hemmings C, Miettinen M, et al. Dataset for reporting of gastrointestinal stromal tumours: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Histopathology*. 2023 Feb;82(3):376-384. DOI: 10.1111/his.14791.

133. Oláh J, Gyulai R, Korom I, Varga E, Dobozy A. Tumour regression predicts higher risk of sentinel node involvement in thin cutaneous melanomas. *Br J Dermatol*. 2003;149(3):662-3. DOI: 10.1046/j.1365-2133.2003.05502.x.

134. Onega T, Barnhill RL, Piepkorn MW, Longton GM, Elder DE, Weinstock MA, et al. Accuracy of Digital Pathologic Analysis vs Traditional

Microscopy in the Interpretation of Melanocytic Lesions. *JAMA Dermatol.* 2018;154(10):1159-66. DOI: 10.1001/jamadermatol.2018.2388.

135. Onega T, Reisch LM, Frederick PD, Geller BM, Nelson HD, Lott JP, et al. Use of Digital Whole Slide Imaging in Dermatopathology. *J Digit Imaging.* 2016;29(2):243-53. DOI: 10.1007/s10278-015-9836-y.

136. Pantanowitz L, Sharma A, Carter AB, Kurc T, Sussman A, Saltz J. Twenty Years of Digital Pathology: An Overview of the Road Travelled, What is on the Horizon, and the Emergence of Vendor-Neutral Archives. *J Pathol Inform.* 2018;9:40. DOI: 10.4103/jpi.jpi_69_18.

137. Pantanowitz L, Wiley CA, Demetris A, Lesniak A, Ahmed I, Cable W, et al. Experience with multimodality telepathology at the University of Pittsburgh Medical Center. *J Pathol Inform.* 2012;3:45. DOI: 10.4103/2153-3539.104907.

138. Poynter JN, Elder JT, Fullen DR, Nair RP, Soengas MS, Johnson TM, et al. BRAF and NRAS mutations in melanoma and melanocytic nevi. *Melanoma Res.* 2006;16(4):267-73. DOI: 10.1097/01.cmr.0000222600.73179.f3.

139. Prewitt JMS. *Picture Processing and Psychopictorics*. Academic Press; New York: Object enhancement and extraction. 1970:5-149.

140. Purushotham S, Meng C, Che Z, Liu Y. Benchmarking deep learning models on large healthcare datasets. *J Biomed Inform.* 2018;83:112-134. DOI: 10.1016/j.jbi.2018.04.007.

141. Ragin CC. *The comparative method: moving beyond qualitative and quantitative strategies:with a new introduction*. Oakland, California. 2014. ISBN 978-0-520-95735-0. OCLC 881322765.

142. Ragin, Charles C. *The Comparative Method: Moving Beyond Qualitative and Quantitative Strategies*. University of California Press. 1987. ISBN 9780520058347.

143. Rashidi HH, Tran NK, Betts EV, Howell LP, Green R. *Artificial Intelligence and Machine Learning in Pathology: The Present Landscape of*

Supervised Methods. Acad Pathol. 2019 Sep 3;6:2374289519873088. DOI: 10.1177/2374289519873088.

144. Retamero JA, Aneiros-Fernandez J, Del Moral RG. Complete Digital Pathology for Routine Histopathology Diagnosis in a Multicenter Hospital Network. Arch Pathol Lab Med. 2020; 144(2): 221-228. DOI: 10.5858/arpa.2018-0541-OA.

145. Robinson E, Kulkarni PM, Pradhan JS, Gartrell RD, Yang C, Rizk EM, et al. Prediction of distant melanoma recurrence from primary tumor digital H&E images using deep learning. J Clin Oncol. 2019;37(15_suppl):9577-7. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.9577

146. Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of Melanoma. Med Sci (Basel). 2021;9(4):63. DOI: 10.3390/medsci9040063.

147. Salto-Tellez M, Maxwell P, Hamilton P. Artificial intelligence-the third revolution in pathology. Histopathology. 2019 Feb;74(3):372-376. DOI: 10.1111/his.13760.

148. Sanna A, Harbst K, Johansson I, Christensen G, Lauss M, Mitra S, et al. Tumor genetic heterogeneity analysis of chronic sun-damaged melanoma. Pigment Cell Melanoma Res. 2020;33(3):480-489. DOI: 10.1111/pcmr.12851.

149. Santo BA, Rosenberg AZ, Sarder P. Artificial intelligence driven next-generation renal histomorphometry. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2020;29(3): 265-272. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000598.

150. Schmitt M, Maron RC, Hekler A, Stenzinger A, Hauschild A, Weichenthal M, et al. Hidden Variables in Deep Learning Digital Pathology and Their Potential to Cause Batch Effects: Prediction Model Study. J Med Internet Res. 2021;23(2):e23436. DOI: 10.2196/23436.

151. Schneider L, Wies C, Krieghoff-Henning EI, Bucher TC, Utikal JS, Schadendorf D, et al. Multimodal integration of image, epigenetic and clinical data to predict BRAF mutation status in melanoma. Eur J Cancer. 2023;183:131-138. DOI: 10.1016/j.ejca.2023.01.021.

152. Schummer P, Schilling B, Gesierich A. Long-Term Outcomes in BRAF-Mutated Melanoma Treated with Combined Targeted Therapy or Immune Checkpoint Blockade: Are We Approaching a True Cure? *Am J Clin Dermatol*. 2020;21(4):493-504. DOI: 10.1007/s40257-020-00509-z.
153. Serag A, Ion-Margineanu A, Qureshi H, McMillan R, Saint Martin MJ, Diamond J, et al. Translational AI and Deep Learning in Diagnostic Pathology. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:185. DOI: 10.3389/fmed.2019.00185.
154. Shafi S, Parwani AV. Artificial intelligence in diagnostic pathology. *Diagn Pathol*. 2023 Oct 3;18(1):109. DOI: 10.1186/s13000-023-01375-z.
155. Shah SFH, Arecco D, Draper H, Tiribelli S, Harriss E, Matin RN. Ethical implications of artificial intelligence in skin cancer diagnostics: use-case analyses. *Br J Dermatol*. 2025 Feb 18;192(3):520-529. DOI: 10.1093/bjd/ljae434.
156. Shapochka D, Shapochka T, Seleznyov O, Matveeva A, Dudin V. Use of circulating tumor DNA for detection of BRAF V600E mutation and treatment monitoring in melanoma patients. *Georgian Med. News* 2018;276:76-81.
157. Sharma G, Carter A. Artificial Intelligence and the Pathologist: Future Frenemies? *Arch Pathol Lab Med*. 2017 May;141(5):622-623. DOI: 10.5858/arpa.2016-0593-ED.
158. Shen D, Wu G, Suk HI. Deep Learning in Medical Image Analysis. *Annu Rev Biomed Eng*. 2017;19:221-248. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071516-044442.
159. Shevchenko A, Slyusar V, Kondratenko Yu, Yeroshenko T. Some Aspects of Artificial Intelligence Development Strategy for Mobile Technologies. *JMM* [Internet]. 2024 May 6;20(03):525-54. DOI: <https://doi.org/10.13052/jmm1550-4646.2031>.
160. Shoo BA, Sagebiel RW, Kashani-Sabet M. Discordance in the histopathologic diagnosis of melanoma at a melanoma referral center. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(5):751-6. DOI: 10.1016/j.jaad.2009.09.043.

161. Shreberk-Hassidim R, Ostrowski SM, Fisher DE, The Complex Interplay Between Nevi and Melanoma: Risk Factors and Precursors. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(4): 3541. DOI: 10.3390/IJMS24043541.
162. Si L, Kong Y, Xu X, Flaherty KT, Sheng X, Cui C, et al. Prevalence of BRAF V600E mutation in Chinese melanoma patients: large scale analysis of BRAF and NRAS mutations in a 432-case cohort. *Eur J Cancer.* 2012 Jan;48(1):94-100. DOI: 10.1016/j.ejca.2011.06.056.
163. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022 Jan;72(1):7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.
164. Simonyan K, Zisserman A. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition. *arXiv.* 2014;1409.1556;
165. Sirinukunwattana K, Domingo E, Richman SD. et al. Image-based consensus molecular subtype (imCMS) classification of colorectal cancer using deep learning. *Gut.* 2021; 70(3): 544-554. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319866.
166. Skrede OJ, De Raedt S, Kleppe A, Hveem TS, Liestøl K, Maddison J, et al. Deep learning for prediction of colorectal cancer outcome: A discovery and validation study. *Lancet.* 2020; 395: 350-360. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32998-8.
167. Spathis A, Katoulis AC, Damaskou V, Liakou AI, Kottaridi C, Leventakou D, et al. BRAF Mutation Status in Primary, Recurrent, and Metastatic Malignant Melanoma and Its Relation to Histopathological Parameters. *Dermatol Pract Concept.* 2019;9(1):54-62. DOI: 10.5826/dpc.0901a13.
168. Sperandei S. Understanding logistic regression analysis. *Biochem Med (Zagreb).* 2014;24(1):12-8. DOI: 10.11613/BM.2014.003.
169. Srinidhi CL, Ciga O, Martel AL. Deep neural network models for computational histopathology: A survey. *Med Image Anal.* 2021; 67:101813. DOI: 10.1016/j.media.2020.101813.
170. Stoeckius M, Hafemeister C, Stephenson W, Houck-Loomis B, Chattopadhyay PK, Swerdlow H, et al. Simultaneous epitope and transcriptome

measurement in single cells. *Nat Methods*. 2017;14(9):865-8. DOI: 10.1038/nmeth.4380

171. Sulaieva O, Dudin O, Koshyk O, Panko M, Kobyliak N. Digital pathology implementation in cancer diagnostics: towards informed decision-making. *Front Digit Health*. 2024;6:1358305. DOI: 10.3389/fdgh.2024.1358305.

172. Swets JA. Indices of discrimination or diagnostic accuracy: their ROCs and implied models. *Psychol Bull*. 1986;99:100-17.

173. Tabatabai MA, Bahri N, Matthews-Juarez P, Alcendor D, Cooper R, Juarez P, et al. The role of histological subtypes in the survival of patients diagnosed with cutaneous or mucosal melanoma in the United States of America. *PLoS One*. 2023 Jun 5;18(6):e0286538. DOI: 10.1371/journal.pone.0286538.

174. Tabatabai M, Wilus D, Chen CK, Singh KP, Wallace TL. Tab Binary, Multinomial, and Ordinal Regression Models: New Machine Learning Methods for Classification. *Bioengineering (Basel)*. 2024 Dec 24;12(1):2. DOI: 10.3390/bioengineering12010002.

175. Takata M, Murata H, Saida T. Molecular pathogenesis of malignant melanoma: a different perspective from the studies of melanocytic nevus and acral melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2010;23(1):64-71. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2009.00645.x.

176. Tan YH, Liu Y, Eu KW, Ang PW, Li WQ, Salto-Tellez M, et al. Detection of BRAF V600E mutation by pyrosequencing. *Pathology*. 2008;40(3):295-8. DOI: 10.1080/00313020801911512.

177. Teixido C, Castillo P, Martinez-Vila C, Arance A, Alos L. Molecular Markers and Targets in Melanoma. *Cells*. 2021 Sep 5;10(9):2320. DOI: 10.3390/cells10092320.

178. Terranova N, Venkatakrishnan K, Benincosa LJ. Application of Machine Learning in Translational Medicine: Current Status and Future Opportunities. *AAPS J*. 2021;23(4):74. DOI: 10.1208/s12248-021-00593-x.

179. Tímar J, Ladanyi A. Molecular Pathology of Skin Melanoma: Epidemiology, Differential Diagnostics, Prognosis and Therapy Prediction. *Int J Mol Sci.* 2022 May 11;23(10):5384. DOI: 10.3390/ijms23105384.

180. Tizhoosh HR, Pantanowitz L. Artificial Intelligence and Digital Pathology: Challenges and Opportunities. *J Pathol Inform.* 2018 Nov 14;9:38. DOI: 10.4103/jpi.jpi_53_18.

181. Tschandl P, Rosendahl C, Akay BN, Argenziano G, Blum A, Braun RP, et al. Expert-Level Diagnosis of Nonpigmented Skin Cancer by Combined Convolutional Neural Networks. *JAMA Dermatol.* 2019;155(1):58-65. DOI: 10.1001/jamadermatol.2018.4378.

182. Ugolini F, Pasqualini E, Simi S, Baroni G, Massi D. Bright-Field Multiplex Immunohistochemistry Assay for Tumor Microenvironment Evaluation in Melanoma Tissues. *Cancers (Basel).* 2022 Jul 28;14(15):3682. DOI: 10.3390/cancers14153682.

183. van der Kooij MK, Dekkers OM, Aarts MJB, van den Berkmortel FWPJ, Boers-Sonderen MJ, de Groot JWB, et al. Sex-Based Differences in Treatment with Immune Checkpoint Inhibition and Targeted Therapy for Advanced Melanoma: A Nationwide Cohort Study. *Cancers (Basel).* 2021;13(18):4639. DOI: 10.3390/cancers13184639.

184. van der Kooij MK, Wetzels MJAL, Aarts MJB, van den Berkmortel FWPJ, Blank CU, Boers-Sonderen MJ, et al., Age Does Matter in Adolescents and Young Adults versus Older Adults with Advanced Melanoma; A National Cohort Study Comparing Tumor Characteristics, Treatment Pattern, Toxicity and Response. *Cancers (Basel).* 2020 ;12(8):2072. DOI: 10.3390/cancers12082072.

185. Van Herck Y, Antoranz A, Andhari MD, Milli G, Bechter O, De Smet F, et al. Multiplexed Immunohistochemistry and Digital Pathology as the Foundation for Next-Generation Pathology in Melanoma: Methodological Comparison and Future Clinical Applications. *Front Oncol.* 2021 Mar 29;11:636681. DOI: 10.3389/fonc.2021.636681.

186. Visiopharm. High-quality alignment of serial sections. 2020. Available at: <https://visiopharm.com/visiopharm-digital-image-analysis-software-features/tissuealign/>.
187. Wang L, Ding L, Liu Z, Sun L, Chen L, Jia R, et al. Automated identification of malignancy in whole-slide pathological images: Identification of eyelid malignant melanoma in gigapixel pathological slides using deep learning. *Br J Ophthalmol*. 2020;104:318–23. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2018-313706.
188. Wang M, Zadeh S, Pizzolla A, Thia K, Gyorki DE, McArthur GA, et al. Characterization of the treatment-naïve immune microenvironment in melanoma with BRAF mutation. *J Immunother Cancer*. 2022;10(4):e004095. DOI: 10.1136/jitc-2021-004095.
189. Wiggins J, Polsky D. Melanoma Origins: Data From Early-Stage Tumours Supports De Novo and NaevusAssociated Melanomas as Distinct Subtypes, *British Journal of Dermatology*.2021;185(1): 9-10. DOI: 10.1111/BJD.20396.
190. Winkler JK, Blum A, Kommos K, Enk A, Toberer F, Rosenberger A, et al. Assessment of Diagnostic Performance of Dermatologists Cooperating With a Convolutional Neural Network in a Prospective Clinical Study: Human With Machine. *JAMA Dermatol*. 2023;159(6):621-627. DOI: 10.1001/jamadermatol.2023.0905.
191. Woerl AC, Eckstein M, Geiger J, Wagner DC, Daher T, Stenzel P, et al. Deep Learning Predicts Molecular Subtype of Muscle-invasive Bladder Cancer from Conventional Histopathological Slides. *Eur Urol*. 2020;78(2):256-264. DOI: 10.1016/j.eururo.2020.04.023.
192. Wong STC. Is pathology prepared for the adoption of artificial intelligence? *Cancer Cytopathol*. 2018;126(6):373-375. DOI: 10.1002/cncy.21994.
193. Wulczyn E, Steiner DF, Xu Z, Sadhwani A, Wang H, Flament-Auvigne I, et al. Deep learning-based survival prediction for multiple cancer types

using histopathology images. PLoS ONE. 2020;15:e0233678. DOI: 10.1371/journal.pone.0233678

194. Xu H, Berendt R, Jha N, Mandal M. Automatic measurement of melanoma depth of invasion in skin histopathological images. *Micron*. 2017;97:56-67. DOI: 10.1016/j.micron.2017.03.004.

195. Xu H, Lu C, Berendt R, Jha N, Mandal M. Automated analysis and classification of melanocytic tumor on skin whole slide images. *Comput Med Imaging Graph*. 2018;66:124-134. DOI: 10.1016/j.compmedimag.2018.01.008.

196. Xu J, Janowczyk A, Chandran S, Madabhushi A. A high-throughput active contour scheme for segmentation of histopathological imagery. *Med Image Anal*. 2011; 15: 851-862. DOI: 10.1016/j.media.2011.04.002.

197. Yakovenko O, Soloviov S, Smetiukh M, Khanin O, Khodosh E, Dziublyk Y, Surtaieva N. Development and Approval of a Multidimensional Model of the Clinical Effectiveness of Treatment Technologies for Patients With a Mild COVID-19 Associated With Comorbidities. *Innov Biosyst Bioeng* [Internet]. 2024Feb.26;8(1):19-36. DOI: 10.20535/ibb.2024.8.1.299055

198. Yaman B, Akalin T, Kandiloğlu G. Clinicopathological characteristics and mutation profiling in primary cutaneous melanoma. *Am J Dermatopathol*. 2015 May;37(5):389-97. DOI: 10.1097/DAD.0000000000000241.

199. Yamazaki N, Tanaka R, Tsutsumida A, Namikawa K, Eguchi H, Omata W, et al. BRAF V600 mutations and pathological features in Japanese melanoma patients. *Melanoma Res*. 2015;25(1):9-14. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000091.

200. Yang TT, Yu S, Ke CK, Cheng ST. The Genomic Landscape of Melanoma and Its Therapeutic Implications. *Genes (Basel)*. 2023 Apr 29;14(5):1021. DOI: 10.3390/genes14051021.

201. Yao K, Singh A, Sridhar K, Blau JL, Ohgami RS. Artificial Intelligence in Pathology: A Simple and Practical Guide. *Adv Anat Pathol*. 2020 Nov;27(6):385-393. DOI: 10.1097/PAP.0000000000000277.

202. Yeh I, Jorgenson E, Shen L, Xu M, North JP, Shain AH, et al. Targeted Genomic Profiling of Acral Melanoma. *J Natl Cancer Inst.* 2019 Oct 1;111(10):1068-1077. DOI: 10.1093/jnci/djz005.
203. Yeh I, von Deimling A, Bastian BC, Clonal BRAF Mutations in Melanocytic Nevi and Initiating Role of BRAF in Melanocytic Neoplasia, *Journal of the National Cancer Institute.* 2013: 105(12): 917-919. DOI: 10.1093/JNCI/DJT119.
204. Zablocka T, Kreismane M, Pjanova D, Isajevs S. Effects of BRAF V600E and NRAS mutational status on the progression-free survival and clinicopathological characteristics of patients with melanoma. *Oncol Lett.* 2022;25(1):27. DOI: 10.3892/ol.2022.13613.
205. Zarella MD, Bowman D, Aeff ner F et al. A Practical Guide to Whole Slide Imaging: A White Paper From the Digital Pathology Association. *Arch Pathol Lab Med.* 2019;143(2): 222-234. DOI: 10.5858/arpa.2018-0343-RA.
206. Zhang C, Lu Y. Study on Artificial Intelligence: The State of the Art and Future Prospects. *Journal of Industrial Information Integration.* 2021;23: 100224.
207. Zhu W, Xie L, Han J, Guo X. The Application of Deep Learning in Cancer Prognosis Prediction. *Cancers (Basel).* 2020: 12(3): 603. DOI: 10.3390/cancers12030603.

ОСНОВНІ ВИЗНАЧЕННЯ

Глибоке навчання (ГН) – Deep Learning)	Частина машинного навчання (ML), відноситься до моделей, розроблених із використанням кількох рівнів штучних нейронних мереж. Глибинні нейронні мережі зосереджуються на композиційному навчанні з використанням кількох шарів уявлень, де кожен шар побудований за допомогою кількох штучних нейронів. Розроблено різні типи моделей ГН, у тому числі згорткові нейронні мережі (CNN), рекурентні нейронні мережі (RNN), графові нейронні мережі (GNN), трансформатори та багато інших
Згорткові нейронні мережі – CNN (Convolutional Neural Networks)	Спеціалізовані ГН-моделі для аналізу даних зображення або ГРІД-даних. CNN використовують операції згортки та можуть вивчати просторові кореляції, особливості та зв'язки з вхідних даних
Комп'ютерна патологія – СРАТН (Computational pathology)	Підрозділ ГН, що передбачає обчислювальний аналіз цифрових слайдів. СРАТН має на меті аналізувати зразки пацієнтів, витягуючи інформацію з оцифрованих зображень патології в поєднанні з їх пов'язаними метаданими, як правило, використовуючи методи штучного інтелекту, щоб отримати цінну інформацію про процеси захворювання
Фундаментальні моделі – FMs (Foundation Models)	Фундаментальні моделі – новий клас ГН-моделей, що характеризується великим

	масштабом і здатністю адаптуватися до нових завдань. Вони навчаються на великих наборах даних, що дозволяє їм розвинути широке розуміння різних тем. Основні характеристики FM включають масштабованість у навчанні з різноманітних джерел даних, мультимодальному навчанні, композиційно з точки зору узагальнення та появи неявного навчання. Трансферне навчання, адаптація, навчання в контексті та тонке налаштування роблять FM винятково корисними в багатьох галузях, включаючи медичну сферу
Дифузія зображень за допомогою керованої мови для створення та редагування – GLIDE (Guided Language Image Diffusion for Generation and Editing)	Одна з нових генеративних моделей, що за продуктивністю перевершує попередні. За своєю структурою являє собою дифузійну модель
Мітоген-активована протеїнкіназа – MAPK (Mitogen-activated protein kinase)	Протеїнкінази, що активуються мітогеном, регулюють різноманітні клітинні програми шляхом передачі позаклітинних сигналів внутрішньоклітинним відповідям
Машинне навчання – ML (Machine learning)	Підмножина штучного інтелекту, що програмує комп'ютери для оброблення природних даних і вирішення проблеми оптимізації. Це інженерна дисципліна, що тісно пов'язана з математичною статистикою для побудови моделей навчання

Мультимодальне навчання – MuL (Multimodal learning)	Підхід у машинному навчанні, що використовує дані з різних джерел або модальностей, таких як текст, зображення, аудіо та відео. Мета мультимодального навчання полягає в тому, щоб об'єднати інформацію з різних джерел для покращення розуміння та виконання завдань, що веде до більш ефективних та точних моделей [3].
Частково найменші квадрати – PLS (Partially least squares)	Регресія часткових найменших квадратів — статистичний метод, що має інше відношення до регресії головних компонентів і являє собою регресію зниженого рангу
Випадкові ліси – RF (Random Forest)	Алгоритм машинного навчання, що поєднує результати використання кількох дерев рішень для досягнення єдиного результату. Його простота використання та гнучкість сприяли його прийняттю, оскільки він обробляє як проблеми класифікації, так і регресії
Рекурентні нейромережі – RNN (Recurrent Neural Network)	Сімейство моделей ГН, що використовуються для обробки послідовних даних, таких як мова, текст або дані часових рядів (наприклад, показники життєдіяльності пацієнта, записані протягом певного часу). Вони використовуються для моделювання часових/просторових зв'язків між послідовності вхідних даних і вивчати шаблони на основі порядку (в часі або просторі). Підкатегорії RNN, що називаються мережею довготривалої короткочасної пам'яті

	(LSTM) і стробованою рекурентною одиницею (GRU) моделі краще вивчають довгострокові залежності, що важливо для випадків реального використання, наприклад, прогнозування медичних подій і виявлення аномалій у даних часових рядів.
Опорно-векторна машина – SVM (Support Vector Machine)	Метод опорних векторних машин є контрольованими моделями максимального запасу з відповідними алгоритмами навчання, які аналізують дані для класифікації та регресійного аналізу. SVM є однією з найбільш вивчених моделей. На додаток до виконання лінійної класифікації SVM можуть ефективно виконувати нелінійну класифікацію, представляючи дані тільки через набір попарних порівнянь подібності між вихідними точками даних та використовуючи функцію ядра, яка перетворює їх на координати в багатовимірному просторі ознак
Меланома шкіри (МШ) – Меланома шкірного покриву – SKCM (Skin cutaneous melanoma)	Злоякісна та одна з найбільш агресивних форм злоякісних новоутворень шкіри пухлина, що утворюється з пігментних клітин, які називаються меланоцитами
ImageNet	База даних анотованих зображень, що є фундаментальним ресурсом для навчання глибоких нейронних мереж у завданнях комп'ютерного зору. Містить понад 14 мільйонів розмічених вручну зображень

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobylak N, Kozakov D, Livshun S, et al. Defining the high-risk category of patients with cutaneous melanoma: a practical tool based on prognostic modeling. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2025; 12. DOI:10.3389/fmolb.2025.1543148. *(Здобувачем виконано концептуалізацію, аналіз та оброблення даних, формування висновків, написання статті).*

2. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobylak N, Kaminskyi D, Matvieieva A, et al. Predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma using neural network analysis. *Journal of Skin Cancer*. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1155/jskc/3690228>. *(Здобувачем розроблено концепцію та дизайн дослідження, проведено оброблення даних, підготовано текст статті).*

3. Dudin O, Sulaieva O, Koshyk O, Panko M, Kobylak N. Digital pathology implementation in cancer diagnostics: towards informed decision-making. *Front Digit Health*. 2024;6:1358305. DOI: 10.3389/fdgth.2024.1358305. *(Здобувачем проведено збір та оброблення даних, формування висновків, підготовано текст статті).*

4. Dudin O, Mintser O, Kobylak N, Kaminskyi D, Shabalkov R, Matvieieva A, et al. Incidence of BRAF mutations in cutaneous melanoma: histopathological and molecular analysis of a Ukrainian population. *Melanoma Manag*. 2023;10(1):MMT64. DOI: 10.2217/mmt-2023-0005. *(Здобувачем визначено дизайн дослідження, проведено аналіз та оброблення даних, сформульовано висновки, підготовано текст статті).*

5. Dudin O, Mintser O, Sulaieva O. Artificial intelligence and next generation pathology: towards personalized medicine. *Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci*.

2021;65(2). DOI: 10.25040/ntsh2021.02.07. *(Здобувачем проведено збір та аналіз даних, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*

6. Дудін ОЄ, Мінцер ОП, Сулаєва О. Цифрова патологія в роботі медичної лабораторії. Аналітичний огляд. Медична інформатика та інженерія. 2020;3: 41-50. DOI: 10.11603/mie.1996-1960.2020.3.11608. *(Здобувачем проведено аналіз та оброблення даних, підготовано текст статті).*

7. Дудін ОЄ. Цифрова патологія при меланомі: досягнення, бар'єри та перспективи. Медична інформатика та інженерія. 2022;4:9-20. DOI: <https://doi.org/10.11603/mie.1996-1960.2022.4.13411>.

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Дудін ОЄ. Оптимізація застосування цифровізації даних обстежень в патології. В: «YOUNG SCIENCE 6.0 – Конференція молодих вчених в медицині». Матеріали наук.-практ. конф.; 2025 трав. 15; Київ. К.: НУОЗ України імені П. Л. Шупика; 2025. С. 161-5. Доступно: https://www.nuozu.edu.ua/images/Nauka/16_07_25-1.pdf.

9. Dudin O, Mintser O, Sulaieva O. Uncovering factors predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma. American Journal of Clinical Pathology. Volume 162, Issue Supp. 1, 2024, P. S136. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aae129.302>. *(Здобувачем проведено аналіз та оброблення матеріалу, участь у формуванні висновків, підготовано тези до друку).*

10. Dudin O, Sulaieva O. The role of medical laboratories in transdisciplinary research projects on biomaterials. Joint International Conference Functional Materials and Nanotechnologies and Nanotechnology and Innovation in the Baltic Sea Region. 2022 липня 3-6; Рига, Латвія. Riga: University of Latvia, 2022. P. 96. ISBN 978-9934-23-645-7. Доступно: https://www.cfi.lu.lv/fileadmin/user_upload/lu_portal/projekti/cfi/Konferences/FM_NT/2022_FMNT_NIBS/FMNT-NIBS_2022_Book_of_abstracts_compressed.pdf.

Наукові праці, що додатково відображають наукові результати дисертації:

11. Dudin O, Sulaieva O, Artamonova O, Semikov R, Urakov D, Zakharash Yu, et al. Ethical navigation of biobanking establishment in Ukraine: learning from the experience of developing countries Journal of Medical Ethics, 2023, p. jme-2023;109129. DOI: <https://doi.org/10.1136/jme-2023-109129>. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, підготовано текст статті до друку).*

12. Sulaieva O, Dudin O, Botsun P, Pischanska S, Karpachova V, Omelianenko I, et. al. The detrimental consequences of two consecutive disasters impacting cytopathology in Ukraine: COVID followed by the war. Cytopathology. 2023 Sep;34(5):442-9. DOI: 10.1111/cyt.13236. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, підготовано текст статті до друку).*

13. Dudin O, Sulaieva O, Falalyeyeva T, Kobylak N, Pellicano R. Precision oncology: ethical challenges and justification. Minerva Med. 2022;113(4):603-5. DOI: 10.23736/S0026-4806.22.08063-6. *(Здобувачем проведено збір та аналіз даних, участь у формуванні висновків).*

14. Sulaieva O, Shcherbakova A, Dudin O. Adjusting Laboratory Practices to the Challenges of Wartime. Narrat In Bioeth. 2023;13(3):155-8. DOI: 10.1353/nib.2023.a924178. *(Здобувачем проведено узагальнення та формування списку літератури, збір і аналіз даних).*

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 80-а Міжнародна конференція «80th International Scientific Conference of the University of Latvia» (м. Рига, Латвія, 10-12 лютого 2022 р.) *(Співдоповідь)*.
2. Міжнародна наукова конференція «Joint International Conference Functional Materials and Nanotechnologies and Nanotechnology and Innovation in the Baltic Sea Region» (м. Рига, Латвія, 3-6 липня 2022 р.) *(Співдоповідь, тези)*.
3. Міжнародна наукова конференція «Штучний інтелект у науці та освіті» (AISE 2024) (м. Київ, 1-2 березня 2024 р.) *(Доповідь)*.
4. Міжнародна конференція Американського товариства клінічної патології (ASCP 2024) (м. Чикаго, США, 15 жовтня 2024 р.) *(Доповідь)*.
5. Конференція молодих вчених в медицині «YOUNG SCIENCE 6.0» (м. Київ, 15 травня 2025 р.) *(Доповідь, тези)*.

АКТИ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої
освіти з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я
України, д. мед. н., професор

Іван КЛІЩ
2025 р.



АКТ про впровадження

1. **Назва пропозиції для впровадження:** застосування мультифакторного класифікатору, заснованого на алгоритмах машинного навчання для прогнозування наявності мутації BRAF.
2. **Ким запропоновано, адреса:** кафедра фундаментальних дисциплін та інформатики Національного університету охорони здоров'я (НУОЗ) України імені П. Л. Шупика; адреса: вул. Дорогожицька, 9, 04112, м. Київ.
3. **Виконавці:** Дудін Олександр Євгенович.
4. **Джерела інформації:** 1. Dudin O, Mintser O, Sulaieva O. Uncovering factors predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma. American Journal of Clinical Pathology. 2024; 162(1):S136. doi:10.1093/ajcp/aae129.302. 2. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobylak N, Kozakov D, Livshun S et al. Defining the high-risk category of patients with cutaneous melanoma: a practical tool based on prognostic modeling. Frontiers in Molecular Biosciences. 2025; 12. doi: <https://DOI.org/10.3389/fmolb.2025.1543148>.
5. **Ким впроваджено:** кафедра патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
6. **Строки впровадження:** грудень 2024 – червень 2025 року.
7. **Результати впровадження та ефективність впровадження:** мультифакторна модель дозволяє визначити групу високого ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу, а також оптимізувати процес прийняття рішень у пацієнтів із меланою шкіри, персоналізувати лікування.
8. **Зауваження, пропозиції:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження у закладах вищої освіти та наукових установах для забезпечення прийняття рішень з метою індивідуалізації ведення пацієнтів.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії
з секційним курсом та судовою медициною,
д. мед. н., професор
"25" червня 2025 р.

Петро СЕЛЬСЬКИЙ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Генеральний директор

КНП "Обласний клінічний

онкологічний центр

Кіровоградської обласної ради"

Ігор МАКАРУК

червень 2025 р.



АКТ

про впровадження

1. **Назва пропозиції для впровадження:** застосування багатфакторної моделі визначення груп ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу у пацієнтів із меланою шкіри.
2. **Ким запропоновано, адреса:** кафедра фундаментальних дисциплін та інформатики Національного університету охорони здоров'я (НУОЗ) України імені П. Л. Шупика; адреса: вул. Дорогожицька, 9, 04112, м. Київ.
3. **Виконавець:** Дудін Олександр Євгенович.
4. **Джерела інформації:** 1. Dudin O, Sulaieva O, Koshyk O, Panko M, Kobylak N. Digital pathology implementation in cancer diagnostics: towards informed decision-making. Front Digit Health. 2024;6:1358305. doi: 10.3389/fdgth.2024.1358305. 2. Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobylak N, Kozakov D, Livshun S et al. Defining the high-risk category of patients with cutaneous melanoma: a practical tool based on prognostic modeling. Frontiers in Molecular Biosciences. 2025; 12. doi:10.3389/fmolb.2025.1543148.
5. **Ким впроваджено:** клініко-діагностичною лабораторією КНП "Обласний клінічний онкологічний центр Кіровоградської обласної ради".
6. **Строки впровадження:** вересень 2024 р. – червень 2025 р.
7. **Результати впровадження та ефективність впровадження:** багатфакторна модель допомагає більш точно, з меншими витратами часу визначити групи ризику розвитку рецидиву злоякісного процесу у пацієнтів із меланою шкіри. На цій основі індивідуалізувати лікування.
8. **Зауваження, пропозиції:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження у закладах охорони здоров'я, особливо онкологічного профілю. Доцільно включити застосування моделі до протоколів діагностики та лікування пацієнтів із меланою шкіри, а також використовувати її при навчанні та підвищенні кваліфікації лікарів і біологів сфери охорони здоров'я.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач клініко-діагностичної
лабораторії

(підпис)

Непоменко Галина

ЗАТВЕРДЖУЮ
проректор з науково-педагогічної
роботи НУОЗ України імені П.Л.
Шупика член-кореспондент НАМН
України, професор
Олександр ТОЛСТАНОВ



«21» січня 2025р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Модель прогнозування мутації в онкогені BRAF.
2. Ким запропоновано, адреса виконавця: 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, НУОЗ України імені П. Л. Шупика.

Автор: Дудін О.Є.

3. Джерела інформації:

1) Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobylak N, Kaminskyi D, Matvieieva A. et al. Predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma using neural network analysis. Journal of Skin Cancer. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1155/jskc/3690228>.

2) Dudin O, Mintser O, Kobylak N, Kaminskyi D, Shabalkov R, Matvieieva A, et al. Incidence of BRAF mutations in cutaneous melanoma: histopathological and molecular analysis of a Ukrainian population. Melanoma Manag. 2023;10(1):MMT64. doi: 10.2217/mmt-2023-0005.

4. Строки впровадження: травень 2024 року – грудень 2024 року.

5. Результати та ефективність використання методу у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації

Ведення пацієнтів з меланою шкіри залежить від оцінки молекулярних біомаркерів, які дозволяють персоналізувати лікування пацієнта. Генетичний ландшафт меланоми складний і варіабельний залежно від гістологічного підтипу, локалізації та індивідуальних особливостей, що впливає на гетерогенні результати лікування. Розроблена нейронна модель MLP₆, яка дозволяє передбачати мутацію в онкогені BRAF у меланомі шкіри, полегшуючи рішення щодо персоналізованого ведення пацієнтів із раком меланоми шкіри. В модель увійшли шість достовірно значущих (на рівні значущості 0,05) коефіцієнтів: вік, розташування первинної пухлини, гістологічний тип, виразка, лімфоваскулярна інвазія та асоціація з невусами. Матеріали впроваджено в навчальний процес на кафедрі фундаментальних дисциплін та інформатики в рамках курсів тематичного удосконалення «Інформаційні аспекти передавання знань при БПР лікарів та провізорів» та «Сучасні аспекти навчання з використанням інформаційних технологій».

6. Пропозиції:

Розповсюдження отриманих позитивних результатів впровадження шляхом застосування представленої моделі нейронної мережі для передбачення мутації в онкогені BRAF у навчальному процесі вищих навчальних закладах України медичного профілю та закладах медичної післядипломної освіти.

Відповідальний за впровадження:
відповідальний за навчально-методичну
роботу на кафедрі ФДІ
доцент
«21» січня 2025р

Суханова О.О.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КП "Рівненський
обласний протипухлинний центр
Рівненської обласної ради"Віталій БОЙКО
17 червня 2025 р.**АКТ
про впровадження**

1. **Назва пропозиції для впровадження:** застосування предикативної моделі для визначення статусу мутації у гені BRAF для оптимізації лікування меланоми шкіри.
2. **Ким запропоновано, адреса:** кафедра фундаментальних дисциплін та інформатики Національного університету охорони здоров'я (НУОЗ) України імені П. Л. Шупика; адреса: вул. Дорогожицька, 9, 04112, м. Київ.
3. **Виконавець:** Дудін Олександр Євгенович.
4. **Джерела інформації:** 1. Dudin O., Mintser O., Kobyliak N. et al. Incidence of BRAF mutations in cutaneous melanoma: histopathological and molecular analysis of a Ukrainian population. *Melanoma Manag.* 2023;10(1):MMT64. doi: 10.2217/mmt-2023-0005. 2. Dudin O., Mintser O., Gurianov V., Kobyliak N., Kaminskyi D., Matvieieva A. et al. Predicting BRAF mutation in cutaneous melanoma using neural network analysis. *Journal of Skin Cancer.* 2024. doi: <https://doi.org/10.1155/jskc/3690228>.
5. **Ким впроваджено:** відділення централізованої цитологічної та клініко-лабораторної діагностики КП "Рівненський обласний протипухлинний центр Рівненської обласної ради".
6. **Строки впровадження:** березень – грудень 2024 року.
7. **Результати впровадження та ефективність впровадження:** предикативна модель використовується при прийнятті клінічних рішень для покращення ведення пацієнтів із меланою шкіри за рахунок підвищення точності прогностичних показників, індивідуалізації та ефективності діагностики та лікування.
8. **Зауваження, пропозиції:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження у закладах охорони здоров'я, особливо онкологічного профілю. Доцільно включити застосування моделі до протоколів діагностики та лікування пацієнтів із меланою шкіри, а також використовувати її при навчанні та підвищенні кваліфікації лікарів і біологів сфери охорони здоров'я.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач відділенням централізованої
цитологічної та клініко-лабораторної
діагностики


(підпис) Михайловська Оксана

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної
роботи
Національного університету
охорони здоров'я України
імені П.Л. Шупика
член-кореспондент НАМН
України, професор
Олександр ТОЛСТАНОВ



«04» *березня* 2025р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: використання прогностичної моделі для оцінки ризику рецидиву у пацієнтів з меланою шкіри, що дозволить оперативне приймати подальші клінічні рішення для пацієнтів з високим ризиком рецидиву на основі прогнозу.

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра природничих наук, інформаційних технологій та філософії НУОЗ України імені П. Л. Шупика, аспірант кафедри Дудін О.Є

3. Джерела інформації: Dudin O, Mintser O, Gurianov V, Kobyliak N, Kozakov D, Livshun S et al. Defining the high-risk category of patients with cutaneous melanoma: a practical tool based on prognostic modeling. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2025; 12. DOI:10.3389/fmolb.2025.1543148.

4. Де і коли впроваджено: Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра клінічної патології та судової медицини, червень-жовтень 2025 р.

5. Результат впровадження: Запропоновано використання прогностичної моделі, яка спирається на гістологічні ознаки пухлини, дозволяє ідентифікувати осіб з високим ризиком рецидиву раку меланоми шкіри для індивідуалізації їх подальшого лікування. Для оцінки ризику рецидиву меланоми була впроваджена 5-факторна логістична регресійна модель, яка включає найбільш значущі незалежні змінні (вузловий статус, високу швидкість мітозів, товщину за Бреслоу, лімфовузлову інвазію, перинеуральну інвазію та регресійні ознаки). Чутливість і специфічність моделі склали 86,1% і 72,7% відповідно.

6. Ефективність впровадження: матеріали, що подані до впровадження, мають теоретичне і практичне значення для лікарів-патологоанатомів, лікарів дитячих патологоанатомів, лікарів-інтернів, аспірантів з питань оцінки ризику рецидиву у пацієнтів з меланою шкіри.

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.
Пропозиція обговорена та затверджена на навчально-методичній нараді кафедри клінічної патології та судової медицини НУОЗ України імені П.Л. Шупика (протокол № 2 від 03 жовтня 2025 р.).

Відповідальний за впровадження:
в.о.завідувача кафедри клінічної патології
та судової медицини
д.мед.н., професор

Олена ДЯДИК