

Тема работы

Характеризация эритроцитов человека по светорассеянию с помощью сканирующей проточной цитометрии

Состав коллектива

Гилев Константин Викторович, м.н.с. ИХКГ (асс. преподавателя в НГУ), к.ф.-м.н., kgilev@gmail.com уч. запись: kvgilev

Научное содержание работы

1. Постановка задачи

Подсчёт количества эритроцитов и измерение таких характеристик, как объём, площадь, форма, концентрация гемоглобина позволяют оценить состояние крови и выявить сердечно-сосудистые, наследственные и другие заболевания, оценить функциональные свойства эритроцитов. Однако в настоящий момент не существует доступного для клинической диагностики метода, позволяющего определить морфологические характеристики эритроцитов (диаметр, толщина, объём, площадь, форма, содержание гемоглобина) с высокой точностью и скоростью.

2. Современное состояние проблемы

Световой микроскоп и интерференционные методы являются сложными для использования в ежедневной диагностической практике. Кондуктометрический метод, активно используемый в лабораторной диагностике, не позволяет оценить форму эритроцита и содержание гемоглобина в эритроцитах. Методом проточной цитометрии по анализу светорассеяния в передние и боковые углы возможно измерение объёма сферизованных эритроцитов, но не формы и концентрации гемоглобина нативных эритроцитов.

Сканирующая проточная цитометрия (СПЦ) является перспективным подходом для полной и быстрой характеристики эритроцитов. Данный подход основывается на измерении рассеяния лазерного излучения от каждой клетки пробы с высокой скоростью (около 10^2 клеток в секунду). В связи с тем, что пространственное распределение света, рассеянного клеткой (индикатриса светорассеяния), чувствительно к морфологии (форме, размеру, показателю преломления и внутренней структуре), существует возможность восстановить характеристики измеряемых объектов по индикатрисам светорассеяния. Существенной частью метода характеристики является решение обратной задачи светорассеяния, используя параметрическую модель измеряемых клеток.

Так как обратная задача светорассеяния для одиночной частицы не имеет ни аналитического, ни явного численного решения даже для сферических частиц, требуется разработать численный метод, основанный на приближённом обращении прямой задачи. При этом прямая задача должна решаться много (тысячи) раз, каждый раз требуя значительных вычислительных ресурсов, в связи с тем, что клетки крови значительно больше длины волны видимого света и имеют сложную морфологию. Поэтому выбор методов моделирования светорассеяния клеток крови с учётом точности, вычислительной сложности и требованиям к размеру оперативной памяти также является актуальной проблемой.

3. Подробное описание работы, включая используемые алгоритмы.

Реализовано численное решение обратной задачи светорассеяния для эритроцитов, основанное на интерполяции по предварительно рассчитанной базе данных и методе оценки погрешности решения обратной задачи. Модель эритроцита описана пятью параметрами: диаметр d , минимальная толщина h_1 , максимальная толщина h_2 , показатель преломления n , угол ориентации относительно падающего излучения Ψ , из которых три первых параметра определяют форму частицы, показатель преломления – внутреннее содержание, а угол ориентации не представляет биологической ценности, но необходим для решения обратной задачи светорассеяния. Выбор диапазонов параметров модели основан на литературных данных. База данных рассчитана в диапазоне параметров, показанном в Таблице 1, и содержит 605000 записей. Расчёт осуществлён с использованием метода дискретных диполей в параллельной реализации на кластере Новосибирского Государственного Университета.

Параметр	Минимальное значение	Максимальное значение
Диаметр d , мкм	4.0	10.01
Минимальная толщина h_1 , мкм	0.01	7.0
Максимальная толщина h_2 , мкм	1.3	7.0
Показатель преломления n	1.385	1.43
Угол ориентации Ψ , градусы	70	90

Таблица 1 Диапазоны параметров для построения базы данных индикатрис

Исследована зависимость погрешности решения обратной задачи от размера базы данных.

Для каждой частицы решением обратной задачи могут быть определены 5 характеристик, заданные в базе данных (d , h_1 , h_2 , n , Ψ), а также производные параметры (объём V , площадь S , индекс сферичности SI , спонтанная кривизна c_0 , безразмерная спонтанная кривизна c_d , концентрация гемоглобина CHC , содержание гемоглобина в эритроците HC), однозначно вычисляемые из первичных характеристик. Кроме того, могут быть вычислены погрешности определения характеристик, полученные из регрессионного анализа, а также соответствующие формы эритроцитов. Приведены результаты характеризации эритроцитов человека. Описаны процедуры пробоподготовки и измерения индикатрис эритроцитов. Обработано 22 условно-здоровых донора, для каждого из которых было измерено ≈ 1000 индикатрис. Для каждой индикатрисы была решена обратная задача интерполяцией по базе данных, определены характеристики эритроцитов и погрешности определения характеристик (см. иллюстрации).

4. Полученные результаты.

- Разработана оптическая модель и численный метод расчёта формы эритроцита человека на основе принципов минимизации функционала энергии для замкнутых оболочек;
- Разработан численный метод решения параметрической обратной задачи интерполяцией по предварительно рассчитанной базе данных, обладающий заданной точностью решения;
- Произведено систематическое исследование и выбор наилучшего численного метода для моделирования светорассеяния эритроцитами с точки зрения точности и вычислительной сложности;
- Разработан и программно реализован численный метод решения обратной задачи светорассеяния для эритроцитов;

5. Иллюстрации, визуализация результатов.

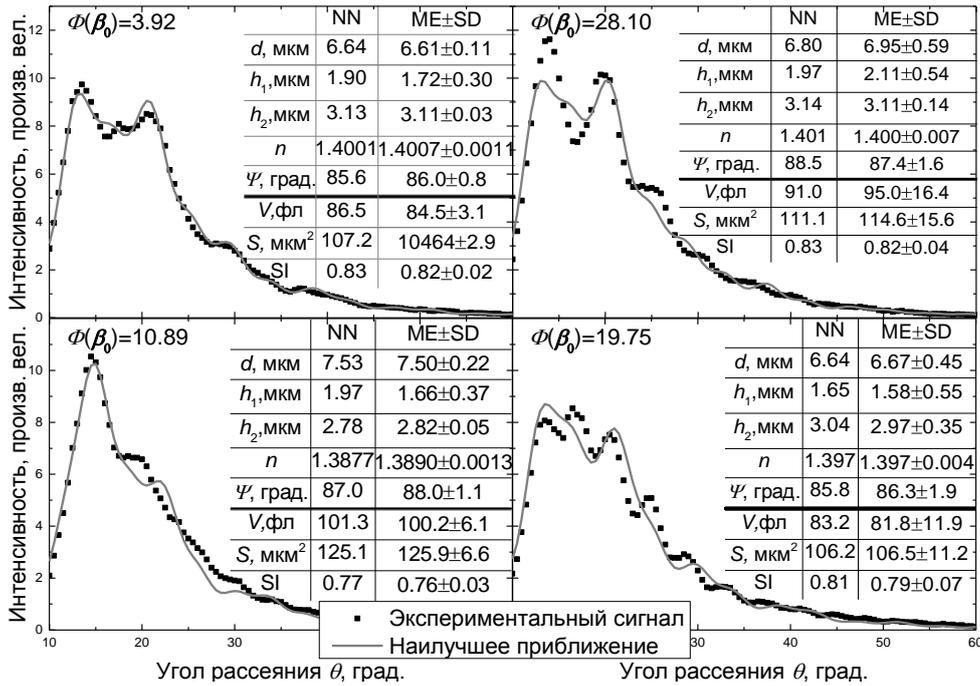


Рис. 1 Типичные измеренные индикатрисы и соответствующие им найденные в базе данных. Также представлены характеристики, отвечающие ближайшей индикатрисе по базе данных (NN) и оценки первичных и производных характеристик (математическое ожидание и стандартное отклонение, ME±SD), а также норма невязки $\Phi(\beta_0) = \|I^{theor} - I^{exp}\|$.

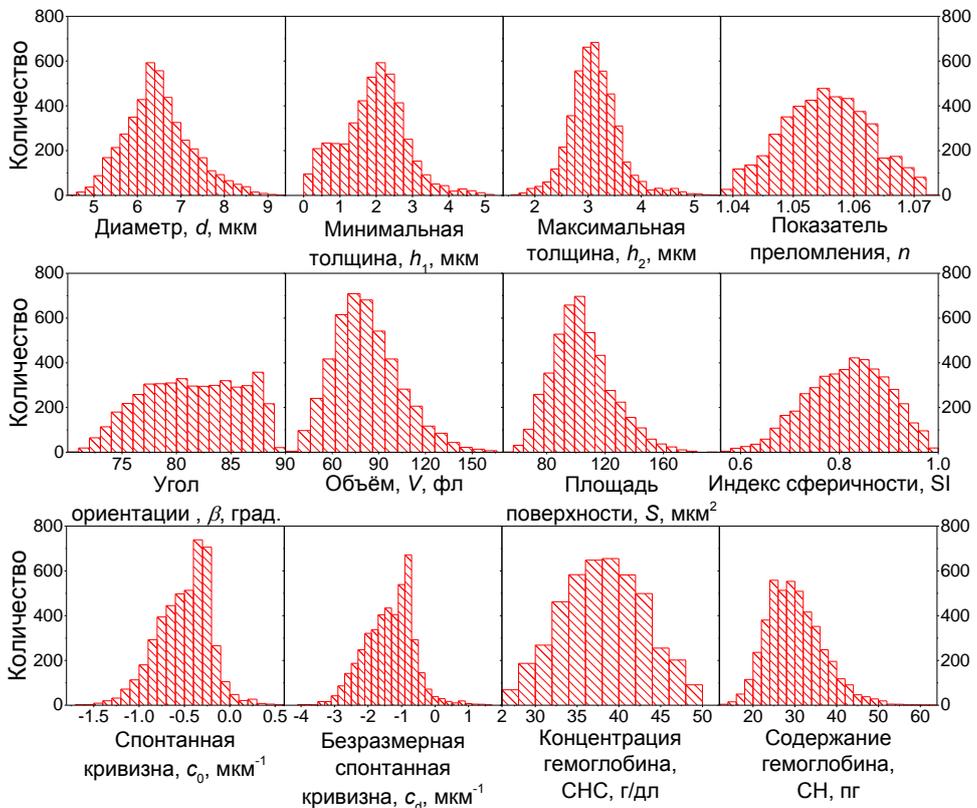


Рис. 2 Распределение характеристик эритроцитов донора №21, а также средние значения (Mean) и погрешности индивидуальных измерений (MU) для каждой их характеристик

Эффект от использования кластера в достижении целей работы.

Некоторые из целей работы можно было бы достичь и на обычных компьютерах, но только потратив месяцы вычислений и ограничивая себя по уровню дискретизации, а значит, и по достижимой точности моделирования и решения обратной задачи. Наличие суперкомпьютера в режиме постоянной доступности принципиально упрощает все эти задачи и изменяет саму постановку задач. В частности, практически для всех задач моделирования заранее неявно предполагается, что будет достигнута хорошая точность (вследствие доступных вычислительных мощностей).

Перечень публикаций, содержащих результаты работы (если есть).

2 статьи:

1. Gilev K.V., Yurkin M.A., Chernyshova E.S., Strokotov D.I., Chernyshev A.V., and Maltsev V.P. Mature red blood cells: from optical model to inverse light-scattering problem. Biomed. Opt. Express 7, 1305 (2016).
2. K.V. Gilev, E.S. Yastrebova, D.I. Strokotov, M.A. Yurkin, N.A. Karmadonova, A.V. Chernyshev, V.V. Lomivorotov and V.P. Maltsev, Advanced consumable-free morphological analysis of intact red blood cells by a compact scanning flow cytometer, Cytometry A 91, 867-873 (2017) DOI: 10.1002/cyto.a.23141 Impact Factor - 3.222 Q2 (JCR 2016)

Ваши впечатления от работы вычислительной системы и деятельности ИВЦ НГУ, а также Ваши предложения по их совершенствованию.

Все работает стабильно. Сотрудники ИВЦ оперативно реагируют на просьбы.