

Тема работы

Поиск оптимальных характеристик модели для решения обратной задачи светорассеяния для тромбоцитов

Состав коллектива

Москаленский Александр Ефимович, зав. лаб. НГУ, н.с. ИХКГ СО РАН

Юркин Максим Александрович, с.н.с. ИХКГ СО РАН

Научное содержание работы

1. Постановка задачи

Тромбоциты играют важнейшую роль в механизме свёртывания крови. Они также вовлечены в многие процессы, включая воспаление и рост опухолей. В связи с этим оценка функционального состояния тромбоцитов является важной задачей для медицинской диагностики. Первым шагом в реакции тромбоцитов на стимулы является их активация, сопровождающаяся изменением формы. Проводя измерения формы тромбоцитов с достаточно высокой точностью, можно делать выводы о ходе процесса активации и доле клеток, реагирующих на тот или иной стимул. В нашей работе морфология клеток оценивается в результате решения обратной задачи светорассеяния, что зависит от используемых параметров модели. Необходимо было выбрать параметры, обеспечивающие наилучшую точность анализа популяции тромбоцитов.

2. Современное состояние проблемы

В работе форма тромбоцитов оценивается по индикатрисам светорассеяния, измеренным на сканирующем проточном цитометре. Ранее было показано, что решение обратной задачи с использованием в качестве оптической модели сплюснутого сфероида позволяет оценить морфологию тромбоцитов с хорошей точностью. В частности, среднее отношение полуосей тромбоцитов коррелировало с дозой добавленного активатора. Однако при изучении активации тромбоцитов важно отделять клетки с изменённой формой от покоящихся, а также частично активированных клеток. Использование отношения полуосей в качестве параметра для решения обратной задачи не позволяет разделить тромбоциты на эти три фракции. Данная работа посвящена поиску наиболее подходящего для этой цели параметра формы тромбоцитов.

3. Подробное описание работы, включая используемые алгоритмы.

Решение обратной задачи светорассеяния производится путём сравнения измеренной индикатрисы с теоретическими из базы данных. При этом удобно, когда параметры индикатрис из базы данных распределены

равномерно (случайно с постоянной плотностью вероятности) по всему диапазону изменения. В качестве характеристики формы тромбоцита могут быть выбраны, например, следующие:

1. Отношение полуосей $\varepsilon = a/b$. Именно этот параметр использовался в работе [1], однако в дальнейшем было продемонстрировано его недостаточность. Диапазон изменения: формально – от 1 до бесконечности, для тромбоцитов от 1 до некоторого конечного значения, определение которого является отдельным вопросом (использовалась граница 8).
2. Ellipticity (или flattening, или oblateness): $f = (a-b)/a$. Диапазон изменения – от 0 до 1, причём сильно сплюснутые формы занимают небольшой промежуток около 0, что снимает вопрос об определении границы. Аналогично и для всех нижеследующих характеристик.
3. Экцентриситет, который определяется как

$$e = \sqrt{1 - \left(\frac{b}{a}\right)^2} = \sqrt{1 - \varepsilon^2}$$

4. Sphericity S , выражающееся следующим образом:

$$S = \frac{2\sqrt[3]{ab^2}}{a + \frac{b^2}{\sqrt{a^2 - b^2}} \ln\left(\frac{a + \sqrt{a^2 - b^2}}{b}\right)}$$

5. Индекс формы δ , связанный с отношением полуосей:

$$\delta = \frac{2ab}{a^2 + b^2} = 2\left(\varepsilon + \frac{1}{\varepsilon}\right)^{-1}$$

На предварительном этапе были построены распределения тромбоцитов по отношению полуосей с помощью имеющейся базы данных [1]. Затем по указанным формулам значения ε были пересчитаны в другие характеристики. Распределения показаны на Рис.1. Следует отметить, что при данном подходе на вид гистограмм оказывает влияние не только распределение тромбоцитов, но и распределение индикатрис из базы данных по новым характеристикам. Поэтому для окончательной оценки целесообразности замены переменных было необходимо насчитать базы данных с равномерной плотностью распределения точек. Это было сделано для двух характеристик, которые казались наиболее многообещающими: Sphericity (№4 в списке) и индекс формы (№5 в списке). Теоретические индикатрисы, как и ранее, рассчитывались методом дискретных диполей с помощью программы с открытым исходным кодом ADDA.

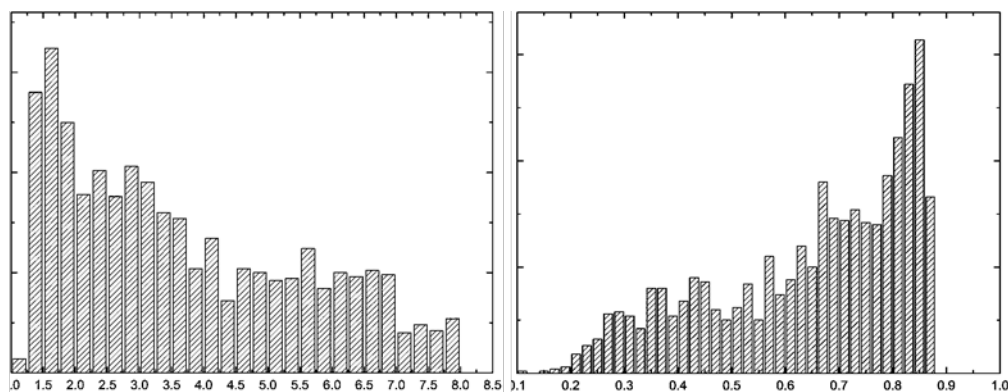
4. Полученные результаты.

В результате обработки тромбоцитов с помощью новой базы данных индикатрис было выяснено, что распределение клеток по индексу формы является наиболее информативным для извлечения диагностически значимых параметров. А именно, данное распределение обнаруживает три пика, при этом тромбоциты с малым индексом формы являются покоящимися, а с индексом формы около 1 – активированным. Ширина распределения активированных и неактивированных тромбоцитов по индексу формы получается примерно одинаковой, что является ещё одним удобным свойством данной характеристики. Поэтому было решено в дальнейшем использовать именно индекс формы, а не Sphericity. База данных содержит 199877 индикатрис сфероидов, характеристики которых равномерно распределены в следующих диапазонах: по радиусу сферы эквивалентного объёма - от 0.5 мкм до 2.12 мкм; по индексу формы - от 0.1 до 1 (соответствует отношению полуосей от 1 до 20); по показателю преломления - от 1.37 до 1.39; по углу ориентации (угол между осью симметрии сфероида и направлением распространения падающего излучения)- от 0 до 90 градусов.

Удобный вид распределения тромбоцитов по индексу формы позволил создать алгоритм для автоматического определения доли полностью активированных и покоящихся тромбоцитов в пробе, а также средние значения и ширины распределений индекса формы для трёх субпопуляций, включая частично активированные клетки (Рис. 2). Результаты опубликованы в работе [2] в журнале Cytometry A (импакт-фактор).

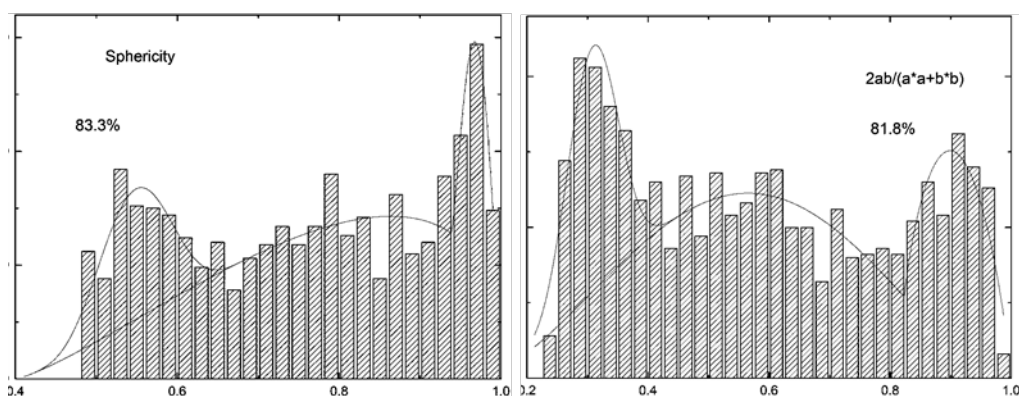
5. Иллюстрации, визуализация результатов.

Примеры распределения тромбоцитов по различным геометрическим параметрам показаны на Рис. 1. Видно, что использование индекса формы позволяет сделать субпопуляции покоящихся и активированных тромбоцитов более различимыми, а ширины их распределений примерно одинаковы.



Отношение полуосей

Экцентриситет



Sphericity

Индекс формы

Рис. 1. Примеры распределения одной и той же пробы тромбоцитов по различным геометрическим характеристикам: отношению полуосей, эксцентриситету, сферичности и индексу формы.

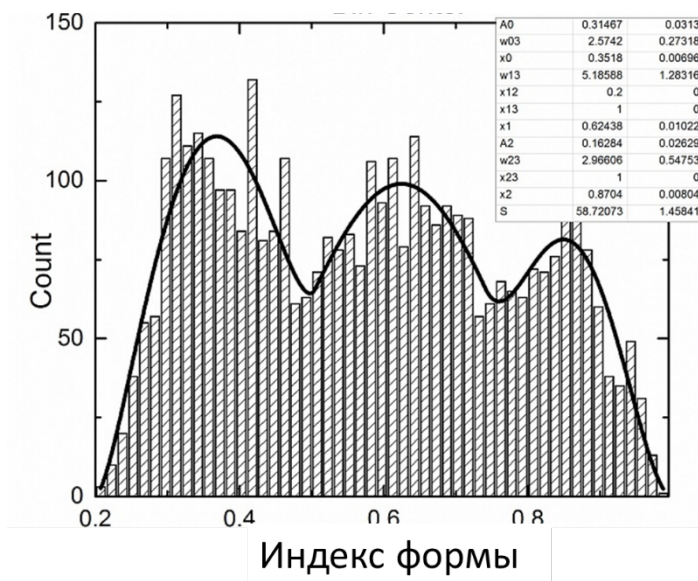


Рис. 2. Распределение тромбоцитов по индексу формы и фитинг суммой трёх пиковых функций, позволяющий определить соотношение между различными популяциями, средние величины и ширину распределения для каждой из них.

Эффект от использования кластера в достижении целей работы.

Мощности кластера НГУ и удобство работы позволили протестировать несколько возможных вариантов характеристик для описания распределения тромбоцитов по форме. Без использования кластера это заняло бы несколько лет. Проверка идей составляет существенную часть научного подхода, а в данном случае она стала возможной именно благодаря использованию кластера. В конечном итоге была создана база данных для решения обратной задачи светорассеяния и опубликована научная статья по расширенному анализу тромбоцитов.

Перечень публикаций, содержащих результаты работы (если есть).

Moskalensky A.E., Yurkin M.A., Konokhova A.I., Strokotov D.I., Nekrasov V.M., Chernyshev A.V., Tsvetovskaya G.A., Chikova E.D., and Maltsev V.P. Accurate measurement of volume and shape of resting and activated blood platelets from light scattering. *J. Biomed. Opt.* **18**, [017001](https://doi.org/10.1117/1.117001) (2013).

Litvinenko A.L., Moskalensky A.E., Karmadonova N.A., Nekrasov V.M., Strokotov D.I., Konokhova A.I., Yurkin M.A., Pokushalov E.A., Chernyshev A.V., and Maltsev V.P. Fluorescence-free flow cytometry for measurement of shape index distribution of resting, partially activated, and fully activated platelets, *Cytometry A* **89**, [1010–1016](https://doi.org/10.1002/cyto.a.10116) (2016).

Moskalensky A.E., Litvinenko A.L., Nekrasov V.M., and Yurkin M.A. A physical model of blood platelets shape and its effect on light scattering, *URSI Commission B International Symposium on Electromagnetic Theory (EMTS 2016)*, 14–18 August 2016, Espoo, Finland, pp. 583–585, <http://dx.doi.org/10.1109/URSI-EMTS.2016.7571460>

A. Litvinenko, V. Nekrasov, **A. Moskalensky**, D. Strokotov, V. Maltsev. Innovative Method for the Description of Human Platelets Population, *ISTH 2017 Congress*, July 8-13, Berlin, Germany, published in *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, Volume 1, Issue S1, July 2017, p. 500, <http://dx.doi.org/10.1002/rth2.12012>

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

Смена файловой системы очень порадовала. Если раньше архивация результатов расчётов и удаление файлов занимали существенную долю от общего времени расчётов, то сейчас эти процессы происходят гораздо быстрее.