

"Характеризация эритроцитов человека по светорассеянию с помощью сканирующей проточной цитометрии". Ястребова Екатерина Сергеевна, ИХКГ СО РАН, 28.01.2021

Тема работы:

Численное моделирование сигналов светорассеяния от одиночных эритроцитов для их морфологического и функционального анализа

Состав коллектива

- Гилев Константин Викторович, н.с. ИХКГ (старший преподаватель в НГУ), к.ф.-м.н.
- Ястребова Екатерина Сергеевна, м.н.с., ИХКГ (ассистент преподавателя в НГУ)

Информация о гранте:

Работа поддержана грантом РФФИ №18-75-10030 «Влияние структурно-функциональных свойств эритроцитов на формирование нестабильных атером в патогенезе атеросклероза»

Аннотация

Характеризация эритроцитов позволяют оценить состояние крови и выявить сердечно-сосудистые, наследственные и другие заболевания, оценить работу газотранспортной функции организма. Существующие на сегодняшний день гематологические анализаторы, расположенные в клинических лабораториях, не обеспечивают функциональную диагностику эритроцитов, определяя только концентрацию и объем. Предлагаемый метод, основанный на технологии сканирующей проточной цитометрии и решении обратной задачи светорассеяния позволяет определять характеристики клеток крови с высокой точностью и скоростью. Существенной частью метода характеристики является решение обратной задачи светорассеяния, используя параметрическую модель измеряемых клеток. С помощью кластера НГУ была насчитана регулярная база данных теоретических сигналов светорассеяния от эритроцитов в размере 650 тысяч частиц. На основе данной базы отрабатывается алгоритм получения численного решения обратной задачи светорассеяния для эритроцитов, основанный на интерполяции. В процессе работы может потребоваться расширения базы данных для повышения точности определяемых параметров.

Научное содержание работы:

Постановка задачи

Для оценки состояния газотранспортной функции крови и выявления связанных с ней сердечнососудистых, наследственных и других заболеваний необходимо с высокой точностью характеризовать морфологию эритроцитов и их изменения в результате воздействия препаратов. Для этой цели была насчитана и продолжается расширяться база данных сигналов светорассеяния эритроцитов, с помощью которой можно производить сравнение теории и эксперимента и извлекать искомые морфологические параметры клеток. В настоящий момент не существует другого доступного для клинической диагностики метода, позволяющего определить морфологические характеристики эритроцитов (диаметр, толщина, объём, площадь, форма, содержание гемоглобина) с высокой точностью и скоростью.

Современное состояние проблемы (на момент начала работы).

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 102 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. На предыдущем этапе проекта реализовано численное решение обратной задачи светорассеяния для эритроцитов, основанное на интерполяции по предварительно рассчитанной базе данных и оценке погрешности решения обратной задачи. Однако заявленные диапазоны характеристик эритроцитов в базе данных оказались недостаточны для всей популяции клеток. В связи с этим необходим дополнительный расчёт индикатрис светорассеяния в расширенном диапазоне характеристик.

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 в расширенном физиологическом диапазоне параметров. Модель эритроцита описана пятью параметрами: диаметр d , минимальная

толщина h_1 , максимальная толщина h_2 , показатель преломления n , угол ориентации относительно падающего излучения в потоке 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, а также на результатах предыдущих этапов исследований. Регулярная база данных рассчитана в диапазоне параметров, показанном в **Таблица 1**, и содержит на текущий момент 610000 записей. Расчёт осуществлён с использованием метода дискретных диполей в параллельной реализации на кластере Новосибирского Государственного Университета. 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 cd , 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. Насчитанная база данных используется для обработки эритроцитов человека и набора референсных значений параметров, характеризующих газотранспортную функцию по 40 донорам. Для каждой индикатрисы была решена обратная задача интерполяцией по регулярной базе данных, определены характеристики эритроцитов и погрешности определения характеристик.

Таблица 1. Диапазоны параметров для построения базы данных сигналов светорассеяния

Параметр	Минимальное значение	Максимальное значение
Диаметр, мкм	4	10
Минимальная толщина, мкм	0.01	7
Максимальная толщина, мкм	1.3	7
Показатель преломления	1.005	1.2
Угол ориентации, градусы	62	90

Полученные результаты

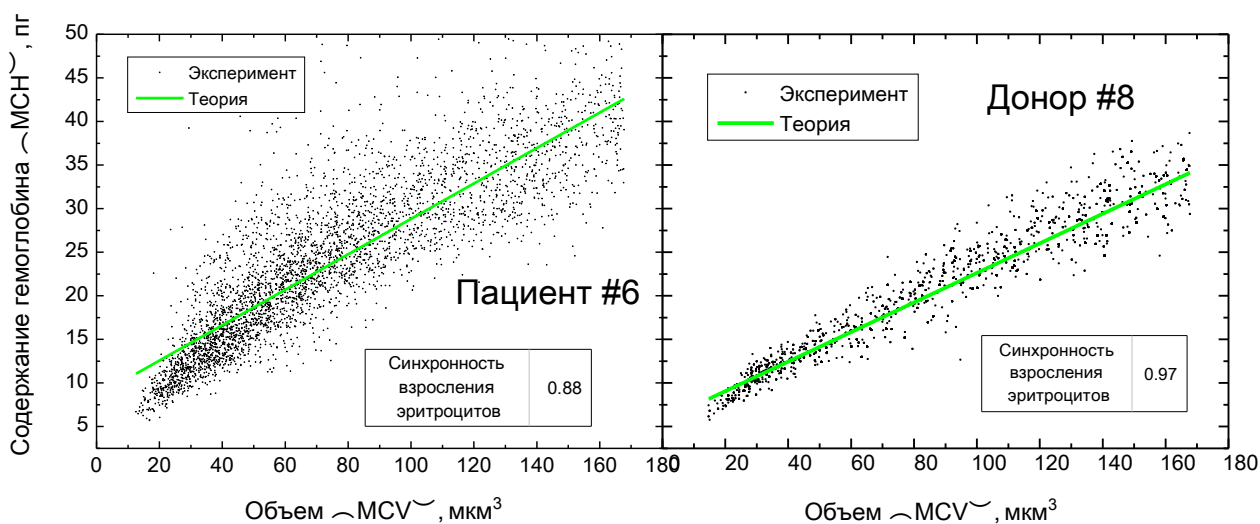
- a. Оптимизирован численный метод решения параметрической обратной задачи интерполяцией по предварительно рассчитанной регулярной базе данных, обладающий заданной точностью решения;
- b. Разработан и программно реализован численный метод решения обратной задачи светорассеяния для эритроцитов, основанный на последовательном применении регулярной базы данных и глобального поиска Direct;
- c. Была дополнена регулярная база данных индикатрис светорассеяния для характеристики эритроцитов в расширенном диапазоне параметров.

Иллюстрации, визуализация результатов

На графике представлены обнаруженные различия между пациентом с атеросклерозом брахицефальных артерий и условно здоровым донором. В координатах производных

параметров (объем и содержание гемоглобина), которые рассчитаны из исходных параметров, лежащих в основе формирования базы данных.

Однако, при обработке частиц наблюдалась устойчивая фракция, в районе диаметра равного 10 мкм (граница базы данных), которая, возможно, соответствует ретикулоцитам. В связи с этим требуется продолжить работу по расширению базы данных для характеристики всех типов частиц, что может иметь диагностический смысл.



Эффект от использования кластера в достижении целей работы

Наличие суперкомпьютера в режиме постоянной доступности принципиально упрощает и невероятно ускоряет расчет сигналов светорассеяния и набор базы данных теоретических сигналов. В частности, практически для всех задач моделирования заранее неявно предполагается, что будет достигнута хорошая точность (вследствие доступных вычислительных мощностей).

Публикации

- Yastrebova E.S., Dolgikh I., Gilev K.V., Vakhrusheva I.V., Liza E., Litvinenko A.L., Nekrasova V.M., Strokotov D.I. Karpenko A.A., Maltsev V.P. Spectral approach to recognize spherical particles among non-spherical ones by angle-resolved light scattering. *Optics and Laser Technology* 135 (2020). DOI: 10.1016/j.optlastec.2020.106700. Impact Factor - 3.233 Q1 (JCR 2019).
- Andrey V. Romanov, Anastasiya I. Konokhova, Ekaterina S. Yastrebova, Konstantin V. Gilev, Dmitry I. Strokotov, Valeri P. Maltsev, Maxim A. Yurkin, Sensitive detection and estimation of particle non-sphericity from the complex Fourier spectrum of its light-scattering profile *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 235, 317-331 (2019) DOI: 10.1016/j.jqsrt.2019.07.001, Impact Factor - 2.955 Q1 (JCR 2018)