

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА ПРИКРЕПЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ IN VITRO

Герасимов И. Г., Привалов М. В., Гринченко А. А.

Донецкий национальный технический университет, г. Донецк

Кафедра автоматизированных систем управления

E-mail: iggerasim@mail.ru, max@kita.dgtu.donetsk.ua, grin4enko86@mail.ru

Abstract

Gerasimov I. G., Privalov M. V., Grinchenko A. A. Specialized computer system of prognosis making of parameters of neutrophils attachment process in vitro is described. Using methods of contour analysis investigated perimeter of neutrophils changes in attachment process. Hypothesis that behavior of perimeter could be described by kinetic equation of first order was tested. Found parameters of this kinetics equation and found that perimeter changes during attachment process are comply literature data. Time of process finishing is calculated and shown that for is prognosis making it is enough to investigate process during 10–15% of total time.

Введение. В современной цитологии для решения диагностических и лечебных задач необходима оценка комплекса параметров клеток. Одним из вопросов, ответ на который может позволить повысить эффективность диагностики и лечения, является прогнозирование параметров процесса прикрепления, в частности, нейтрофилов, без чего они не в состоянии выполнять свойственные им функции. К сожалению, работы начатые в этом направлении [1 – 4] не развивались в последнее десятилетие. В то же время получение оцифрованных изображений проекций клеток и расчет их геометрических параметров не представляет технических трудностей.

Постановка задачи. Разработать специализированную компьютерную систему (СКС) для прогнозирования параметров процесса прикрепления клеток на примере нейтрофилов на основании построения кинетической модели процесса.

Описание эксперимента. У трех добровольцев забирали 1 мл капиллярной крови, гепаринизовали и отстаивали 40 минут при температуре 37⁰ С. Отбирали суспензию лейкоцитов, содержащую нейтрофилы, которую анализировали под микроскопом (Люмам-РЗ, х90). Исследовали нейтрофилы в процессе их прикрепления к предметному стеклу при комнатной температуре во времени (t). Оцифрованные изображения проекций клеток получали с помощью цифровой видеокамеры CCD Oscar Color Camera OS-35II. Блок-схема СКС представлена на рис. 1. Изображения нейтрофилов приведены на рис. 2.

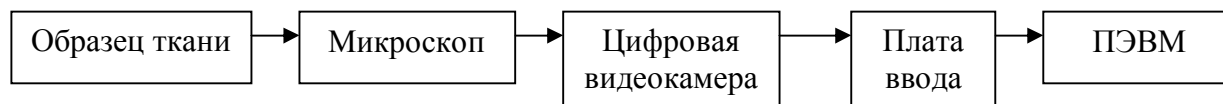


Рисунок 1 - Блок-схема СКС для измерения параметров клетки в процессе прикрепления.

На рис. 2 приведен общий вид нейтрофилов в поле зрения микроскопа.

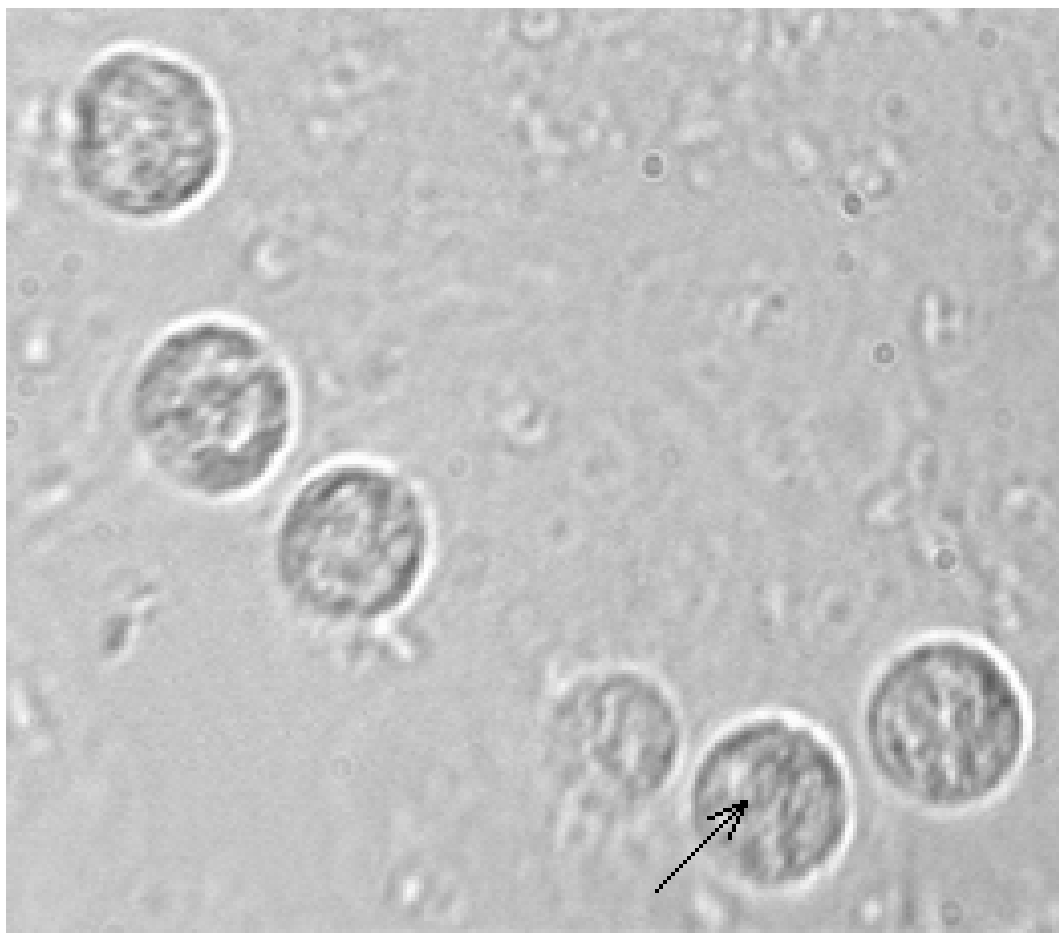


Рисунок 2 – Изображения нейтрофилов в поле зрения микроскопа (стрелкой показан прикрепляющийся нейтрофил).

Описание программных средств. Снимки изображений нейтрофилов получали с помощью программы ASUS Live Version 4.6 B2. Оконтуривание и расчет периметра нейтрофилов производили с помощью специально написанной программы [5]. Рассчитывали параметры кинетического уравнения процесса прикрепления, среднее и его доверительный интервал с доверительной вероятностью $P=0,95$ ($p<0,05$) используя пакет статистической обработки R for Windows FAQ Version for R-2.4.1.

Решение задачи. С помощью манипулятора «мышь» выделяли контур проекции нейтрофила в разные моменты времени, который представлен матрицей точек с координатами (x_i, y_i) и рассчитывали одну из геометрических характеристик объекта – периметр (P , пикс). Для каждого изображения нейтрофилов выделение контура проводили 10 раз. Погрешность измерения P не превышала 2,5 пикс.

На рис. 3а и 3б приведены изображения оконтуренных и не оконтуренных нейтрофилов в момент $t = 0$. На рис. 3в и 3г изображения оконтуренных и не оконтуренных нейтрофилов в момент $t = 27$ мин. На рис. 3д и 3е – в момент $t = 40$ мин. Как видно из рисунка, площадь проекции нейтрофила увеличивается с течением времени.

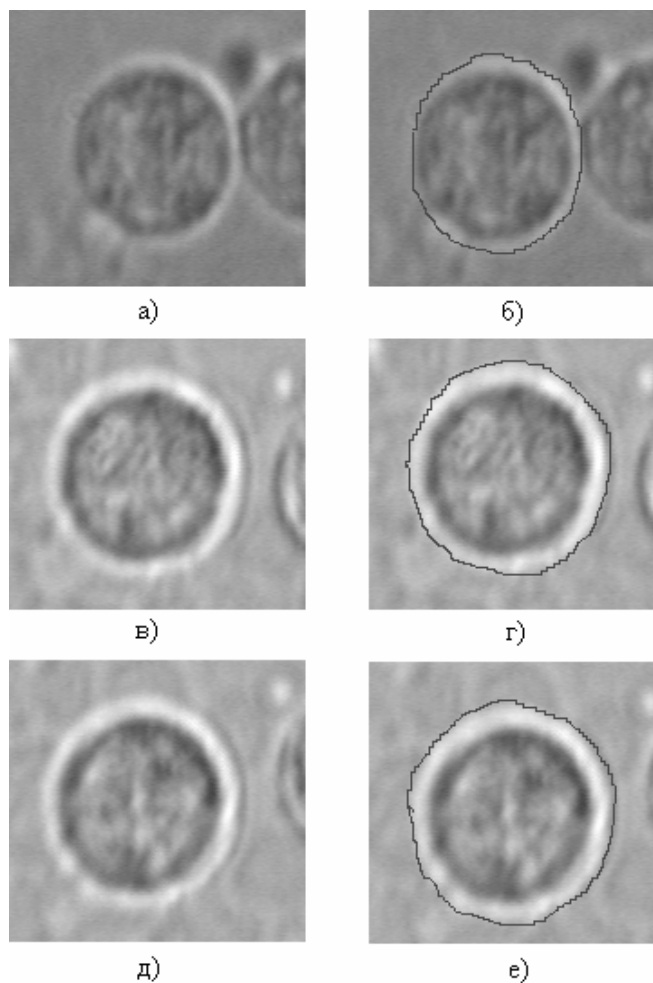


Рисунок 3 – Изображение нейтрофила оконтуренного (а, в, д), неоконтуренного (б, г, е), при $t = 0$ (а, б), 27 мин. (в, г) и 40 мин. (д, е).

Типичная зависимость $P(t)$, приведена на рис.4. Как видно из рисунка, процесс прикрепления начался при $t \geq 160$ мин.

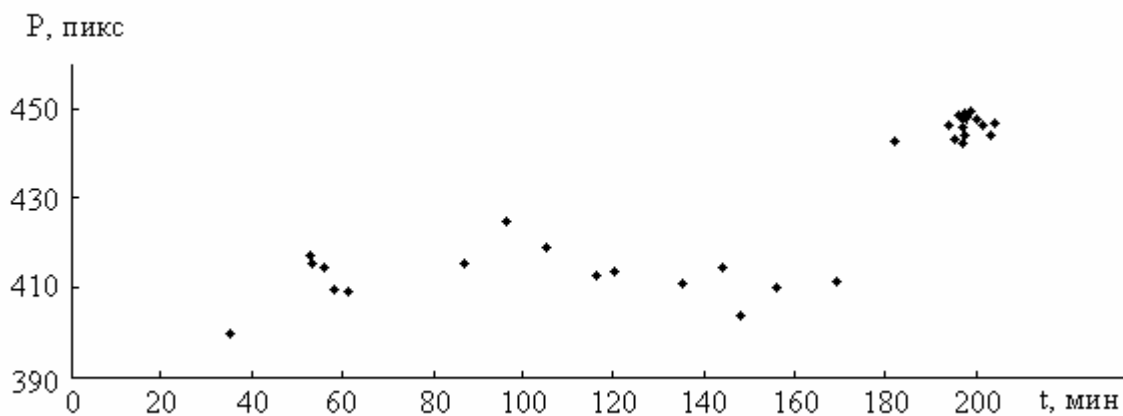


Рисунок 4 – Изменение периметра в процессе прикрепления нейтрофила.

Этот момент времени приняли в качестве $t = 0$. Зависимость $P(t)$ в процессе прикрепления нейтрофила приведена на рис. 5. Как видно из рисунка, периметр увеличивается с течением времени.

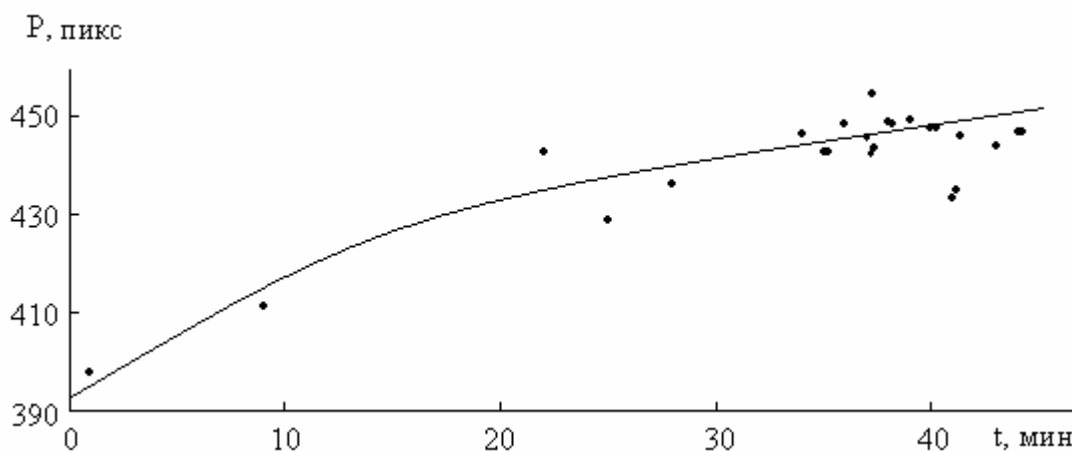


Рисунок 5 – Изменение периметра (P) в процессе прикрепления нейтрофила.

Вид зависимости P от t (рис. 5) позволяет предположить, что кривая прикрепления нейтрофилов может быть описаны кинетическим уравнением первого порядка [6]:

$$P(t) = (P_{\infty} - P_0)(1 - e^{-kt}) + P_0, \tag{1}$$

- где P – периметр нейтрофила в момент времени t ;
- P_0 – P при $t = 0$;
- P_{∞} – P при $t \rightarrow \infty$;
- k – константа скорости, c^{-1} .

Обработали экспериментальные данные в координатах уравнения (1) и нашли коэффициент корреляции $r = 0,95$. Его величина указывает на то, что изменения P в процессе прикрепления нейтрофилов действительно подчиняются кинетическому уравнению первого порядка. Рассчитали параметры кинетического уравнения (1) и полученные значения в пикс. перевели в мкм (таблица).

Таблица. Параметры уравнения (1) и радиус нейтрофила.

Параметр	Среднее \pm доверительный интервал
$P_{\infty} - P_0$, мкм	880 ± 30
P_{∞} , мкм	4390 ± 200
P_0 , мкм	3500 ± 180
$k \times 10^{-2}$, c^{-1}	$0,50 \pm 0,03$
t_{∞} , мин	640 ± 20
R_0 , мкм	560 ± 30
R_{∞} , мкм	700 ± 30
R_{∞}/R_0	$1,3 \pm 0,27$

На основании значений полученных параметров кинетического уравнения, задавая $(P_{\infty} - P(t)) \leq 2,5$ пикс. (погрешность измерения P), нашли t_{∞} – значение t , при котором процесс прикрепления можно считать практически завершённым. Получили $t_{\infty} = 640$ мин. Значения радиуса нейтрофила (R) при $t=0$ (R_0) и при t_{∞} (R_{∞}) рассчитали по значениям периметров по уравнению $R = P/2\pi$ (таблица). Значения и отношение R_{∞}/R_0 хорошо согласуется с литературными данными [7]. Таким образом, компьютерная система позволяет оценивать степень завершенности процесса прикрепления нейтрофилов ограничиваясь временем исследования 10 – 15% от t_{∞} и рассчитывать значения геометрических параметров в любой момент времени.

Выводы.

1. Процесс прикрепления нейтрофилов крови человека *in vitro* описан кинетическим уравнением первого порядка. Найдены параметры уравнения, рассчитано время завершения процесса прикрепления, а также значения радиусов нейтрофилов которые согласуются с литературными данными.
2. Компьютерная система позволяет уменьшить время исследования до 10 – 15% от общего времени процесса прикрепления нейтрофилов.

Литература

1. Медовый В. С., Балабуткин В. А., Верденская Н. В., Гусев А. А., Иванова И. А., Козинец Г. И., Погорелов В. М., Пятницкий А. М., Стоянов М. С., Соколинский Б. З., Теохаров А. Н. Автоматизированные цитофотометрические тесты мазков крови для общей клиники и скрининговых обследований населения // *Клин. лаб. диагн.* – 1997. – N 10. – С. 6 – 8.
2. Погорелов В. М., Медовый В. С., Хазем Г. М., Козинец Г. И. Анализ клеточного изображения // *Клин. лаб. диагн.* – 1995. – N 3. – С. 40 – 43.
3. Погорелов В. М., Медовый В. С., Балабуткин В. А., Соколинский Б. З., Пятницкий А. М., Козинец Г. И. Методы компьютерной цитологии в гематологических исследованиях // *Клин. лаб. диагн.* – 1997. – N 11. – С. 40 – 42.
4. Grenander U. Geometrics of Knowledge // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – N 3. – P. 783 – 789.
5. Меркулова Е. В., Трибрат А. А., Герасимов И. Г. Оценка функционального состояния клеток с использованием методов цифровой обработки изображений // *Наук. праці Донецького нац. техніч. унів. Сер.: Обчислювальна техніка та автоматизація.* – Вип. 106. – Донецьк: ДонНТУ, 2006. – С. 145 – 149.
6. Курский М. Д., Костерин С. А., Рыбальченко В. К. Биохимическая кинетика. – Киев: Вища школа, 1977. – 264 с.
7. Кузнецов С. Л., Пугачев М. К. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии. – М.: Мед. информ. агенство, 2004. – 432 с.
8. Shen L., Rangayyan R. M., Desautels J. E. L. Application of Shape Snalysis to Mammographic Calcifications // *IEEE Trans. Med. Imag.* – 1994. – V. 13, N 2. – P. 263 – 274.