

УДК 612.014

КОМПЬЮТЕРНАЯ СИСТЕМА РАСЧЁТА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КЛЕТКИ И МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССА ПРИКРЕПЛЕНИЯ КЛЕТКИ

Фомичёв К. А., Герасимов И. Г.

*Донецкий национальный технический университет
Кафедра автоматизированных систем управления*

Обсуждается моделирование изменений морфометрических параметров клеток в процессе прикрепления. Разработана программа вычисления геометрических параметров клетки во время прикрепления. В результате вычислений и работы программы выводится статистика изменений параметров клетки в процессе прикрепления. Статистика имеет вид графика, который можно масштабировать и отслеживать значения параметров.

Введение

Роль клеток в организме многообразна, прежде всего, по причине их специфичности в разных тканях и органах организма. Существуют такие клетки, которые с течением времени меняют свою форму и размеры. Одна из таких клеток – нейтрофил, который для реализации своих функций прикрепляется, в результате чего меняет свои морфометрические параметры.

Прикрепление – процесс жизнедеятельности нейтрофила, в процессе которого клетка взаимодействует с поверхностью и плотно контактирует с ней. Данный процесс является главным и первым в жизнедеятельности клетки, ибо только и исключительно после прикрепления клетка начинает развиваться, питаться, размножаться и т. д. [1].

Наблюдение за клетками в процессах их жизнедеятельности – важнейший этап изучения их поведения. При этом при наблюдении за процессом прикрепления имеются определенные трудности, поскольку все клетки находятся в постоянном движении, их огромное количество, и обнаружить именно ту клетку, которая сейчас прикрепляется, удается с трудом. Изучение кинетики прикрепления индивидуальных клеток представляет несомненный интерес, поскольку позволяет судить не только о количестве прикрепившихся клеток, но и об их качестве. Исследование кинетики прикрепления индивидуальных клеток, помимо теоретического интереса, позволит разработать подходы к выявлению нарушений функционирования клеток, что может быть полезно для диагностики заболеваний и оценки состояний организма человека. Исходные данные для такого рода морфометрических исследований естественным образом формируются при измерении и расчете морфометрических показателей клетки, например, ее периметра и площади. Однако измерение и расчет этих показателей, а также моделирование самого процесса прикрепления оказывается трудоемким без применения специализированных автоматизированных систем.

По таким причинам, моделирование является удобным средством исследования жизнедеятельности клетки в реальном времени. Однако, для его реализации необходимо разработать специализированную программу расчета морфометрических параметров клетки в процессе ее прикрепления.

Цель исследования и постановка задачи

Целью исследования является создание компьютерной программы, которая визуализирует моделирование прикрепления клетки, а также выводит график статистики изменений морфометрических параметров. Также программный продукт должен будет предусмотреть моделирование прикрепления с визуализацией изменений параметров клетки в реальном времени.

Анализ последних исследований и публикаций, по рассматриваемому вопросу

Была разработана специализированная компьютерная система для прогнозирования параметров процесса прикрепления клеток крови на примере нейтрофилов на основании построения кинетической модели процесса [2]. Оцифрованные изображения проекций нейтрофилов на плоскость получали путем микроскопирования под иммерсией. На изображениях с помощью специальной компьютерной программы выделяли контур проекции нейтрофила на плоскость, измеряли периметр (P) и площадь (S) и рассчитывали параметры кинетических уравнений с помощью пакета статистических программ R for Windows. Было выяснено, что процесс прикрепления является резко возрастающим по скорости изменения P и S в начале и угасающим в конце, - изменения этих параметров стремятся к нулю. Т.е. график изменения этих параметров выглядит как s-образная кривая, а, следовательно, изменение морфометрических параметров во времени может подчиняться закономерностям формальной химической кинетики реакций первого порядка, для которых скорость реакции зависит от концентрации реагирующего вещества. При этом зависимость морфометрических показателей (M) от времени может быть описана уравнением, аналогичным кинетическому уравнению для необратимой реакции первого (псевдопервого) порядка [3]:

$$M_t = M_0 + (M_\infty - M_0) \times (1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

где M_t, M_0, M_∞ – P или S при $t(P_t, S_t), t = 0(P_0, S_0), t \rightarrow \infty(P_\infty, S_\infty)$, соответственно, k – константа скорости реакции первого порядка, c^{-1} .

Зависимость периметра или площади от времени также может быть описана другим кинетическим уравнением, аналогичным первому уравнению [4]:

$$M_t = M_0 + (M_\infty - M_0) \times \left(1 - \frac{k_2 e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} + \frac{k_1 e^{-k_2 t}}{k_2 - k_1} \right) \quad (2)$$

где M_t, M_0, M_∞ – P или S при $t(P_t, S_t), t = 0(P_0, S_0), t \rightarrow \infty(P_\infty, S_\infty)$, соответственно, k_1, k_2 – константы скорости первого и второго порядка, c^{-1} .

Реализация проекта, расчеты, создание программы

Для того чтобы моделировать что-либо, необходимо иметь параметры и данные об объекте моделирования. Поэтому для данного исследования понадобятся начальные (до прикрепления) и конечные (после завершения прикрепления) геометрические параметры клетки крови (площадь, периметр или радиус), а также константы скорости реакции первого порядка. Таким образом, пользователь сможет смоделировать процесс прикрепления клетки любого размера и сразу получить результат в виде статистики изменений геометрических параметров клетки с течением времени, а также узнать время окончания прикрепления. Качественная программа пригодится многим медицинским учреждениям, принесёт им пользу и сэкономит множественные физические ресурсы и время.

Для реализации поставленных задач и целей необходимо удобное средство быстрой разработки программ и приложений. Была выбрана среда программирования Visual Basic 6.0. Достоинствами данного языка программирования является высокая скорость создания приложений с графическим интерфейсом, простой синтаксис, удобный режим отладки, а также большой выбор встроенных функций и компонентов. Visual Basic 6.0 – один из первых языков, поддерживающих событийно-управляемое программирование. Смысл событийно-управляемого программирования заключается в том, что вместо скрупулезного описания каждого шага необходимо лишь указать, как реагировать на различные события (действия пользователя): выбор команды, щелчок или перемещение мыши и пр. В результате программист создает не одну большую программу, а приложение, состоящее из набора взаимодействующих процедур, управляемых пользователем [4].

Уравнения (1) и (2) были использованы при написании программы для расчета параметров

клетки во время прикрепления. Из уравнений видно, что необходимы входные данные M_0 (начальное значение P или S) и $M_{\#}$ (конечное значение P или S), а также константы скорости первого (k , уравнение (1)) и второго (k_1, k_2 , уравнение (2)) порядка, которые расположены напротив соответствующих уравнений и заполнение предназначенных для этого полей обязательно (рис. 1). Как видно, входными параметрами приведенных уравнений являются периметр или площадь – это также отражено в программе в виде меток. Поскольку параметры констант различны при расчете по периметру от параметров при расчете по площади, то при активации определенной метки (периметр/площадь) значения соответствующих констант автоматически появляются в своих полях. Также есть возможность самому задать эти константы. Пользователь может указать точность расчета, выбрав значение в соответствующем выпадающем меню или же задать свое. Автоматически при заполнении полей M_0 и $M_{\#}$ рассчитывается начальный (r_0) и конечный ($r_{\#}$) радиусы клетки, соответственно, и выводятся в предназначенные поля. Кнопка «Расчет» - начало выполнения расчетов. Программа предусматривает выполнение расчетов по выбранным пользователем уравнениям, для этого рядом с уравнениями есть метки в виде галочек. Рядом с каждым параметром написана его размерность. Разрешен ввод как целых так и дробных чисел. При старте программы все поля заполнены данными взятыми из работ [3, 4].

The screenshot shows the main interface of the program. It features two checked equations:

1) $M_t = M_0 + (M_{\infty} - M_0) \times (1 - e^{-kt})$ with $k \times 10^3, c^{-1} = 1.75$

2) $M_t = M_0 + (M_{\infty} - M_0) \times \left(1 - \frac{k_2 e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} + \frac{k_1 e^{-k_2 t}}{k_2 - k_1}\right)$ with $k_1 \times 10^3, c^{-1} = 2$ and $k_2 \times 10^3, c^{-1} = 18$

Below the equations, there are radio buttons for 'периметру (P)' and 'площади (S)'. A 'Расчет' button is present. A 'Точность:' dropdown menu is set to '0.1'.

Input fields for $M_{0, \text{МКМ}} = 40$, $r_{0, \text{МКМ}} = 6.3662$, $M_{\#, \text{МКМ}} = 48$, and $r_{\#, \text{МКМ}} = 7.6394$ are visible.

Рисунок 1. Главная панель программы

После нажатия кнопки «Расчет», программа выполняет расчет морфометрических параметров клетки с введенными размерами. Данное действие выведет на основную форму программы график изменения геометрического параметра (периметра/площади) во времени, а также время завершения прикрепления по (1) и (2) уравнениям в отдельных для этого полях (рис. 2). Критерий останова работы программы: $M_{\#} - M_t \leq \epsilon$, где ϵ – погрешность вычисления, и если это условие выполняется, то $t_{\#}$ – время окончания прикрепления. Предусмотрена возможность отслеживать значения параметров по графику быстрым и удобным способом. Для этого под графиком находится бегунок, двигая который можно узнать значения искомого параметра в определенное время. Во время движения данного бегунка на графике появляется вертикальная линия, которая движется параллельно бегунку, а рядом с графиком в полях выводятся значения геометрического параметра по (1) и (2) уравнению. Бегунок имеет длину от 0 до найденного $t_{\# \text{max}}$, т.е. есть возможность смотреть значения по всему графику.

График можно масштабировать и просматривать на заданных интервалах времени. Для этого под графиком есть поля для ввода интервала и кнопка «Показать», при нажатии которой график изменит масштаб в соответствии с введенными значениями (рис. 3).

Выводы

На основании расчета кинетики морфометрических параметров разработана специализированная компьютерная программа для моделирования процесса прикрепления клетки. Программа позволяет указывать исходные геометрические параметры клетки, по которым рассчитывается время прикрепления этой клетки, а также выводится график изменения параметров клетки во времени.

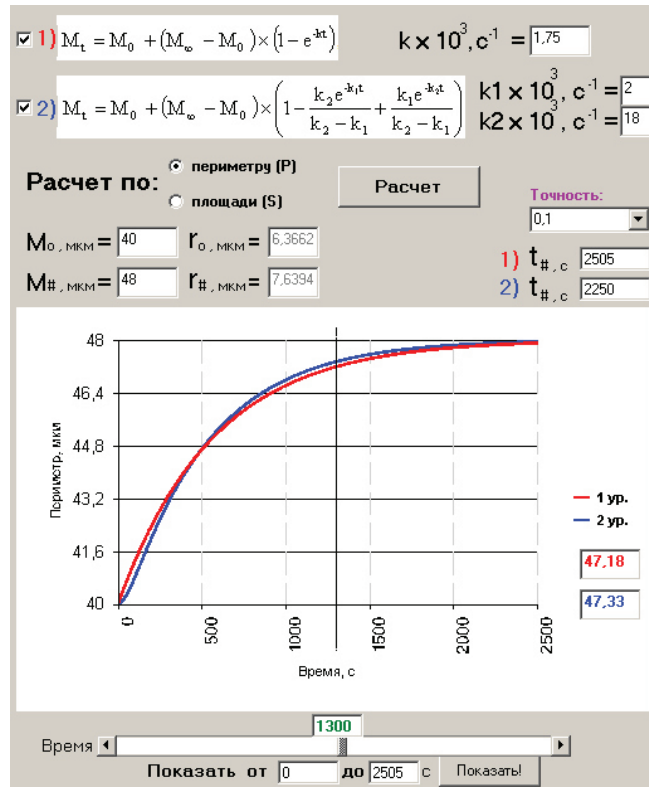


Рисунок 2. Окно программы после нажатия кнопки «Расчет»

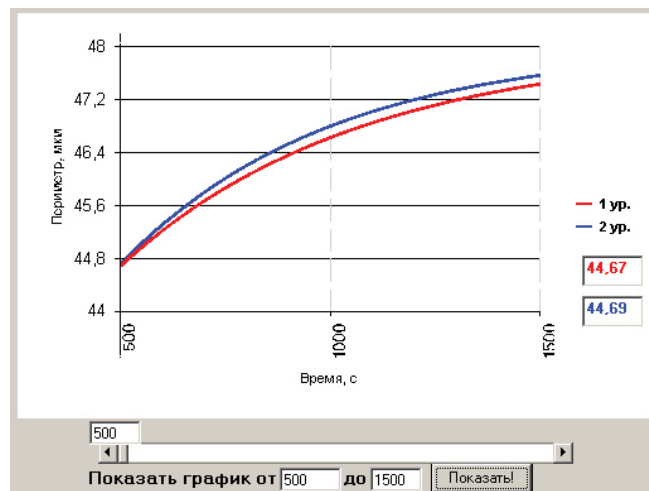


Рисунок 3. Вид графика после нажатия кнопки «Показать!»

Литература

- [1] Кузнецов С.Л., Пугачев М.К. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии. – М.: Мед. информ. агентство, 2004. – 432 с.
- [2] Герасимов И.Г., Привалов М.В., Гринченко А.А. Прогнозирование параметров процесса прикрепления клеток крови *in vitro*, // Наукові праці Донецького національного технічного університету. Сер. Обчислювальна техніка та автоматизація, 2008, - С. 1.
- [3] И.Г. Герасимов, Т.М. Гальбурт. Морфометрия нейтрофилов крови человека в процессе их прикрепления *in vitro*.
- [4] Сергеев В. Visual Basic 6.0. Наиболее полное руководство для профессиональной работы в среде Visual Basic 6.0, 2004, - С. 6.