

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ НСТ-ТЕСТА)

Баева Д.Н., группа КСД-00а

Руководитель проф. И.Г. Герасимов

На сегодняшний день существуют различные методы для оценки функционального состояния клеток. Одним из таких методов является оценка количества какого-либо вещества, поглощенного клеткой. В отличие от других методов, в которых исследуются совокупности клеток и делается вывод по их электрическим и оптическим свойствам, данный метод основан на визуальной оценке клеток. Этот метод является субъективным, однако позволяет учитывать свойства каждой клетки в отдельности.

Оценка состояния фагоцитарной активности нейтрофилов производится по результатам постановки спонтанного и стимулированного теста с нитросиним тетразолием (НСТ-тест). Нитросиний тетразолий (НСТ) поглощается нейтрофилами и под влиянием их дегидрогеназной системы бесцветный НСТ восстанавливается в темно-фиолетовые гранулы диформаза. Активность нейтрофилов визуально оценивается в баллах от 0 до 3-х [1].

Автоматизация процесса оценки функционального состояния клетки и детализация результатов с использованием такого метода оценки может значительно расширить возможности исследователя.

В процессе создания компьютерной системы оценки функционального состояния клетки решается задача нахождения доли клетки, заполненной диформаза. Для этого задачу необходимо представить в виде совокупности подзадач: нахождение цветовых и световых характеристик полученного изображения и анализ области спектра на гистограмме, принадлежащей диформаза.

Оцифрованные изображения (рис. 1) получали с помощью микроскопа Lumax-P3 (объектив x20, окуляр x7), видеокамеры OSCAR CCD и программного обеспечения. Для анализа изображения клетки нейтрофила использовали RGB-модель, которая позволяет получить характеристики изображения в трехмерном цветовом пространстве (красного, зеленого, синего цветов) [2].

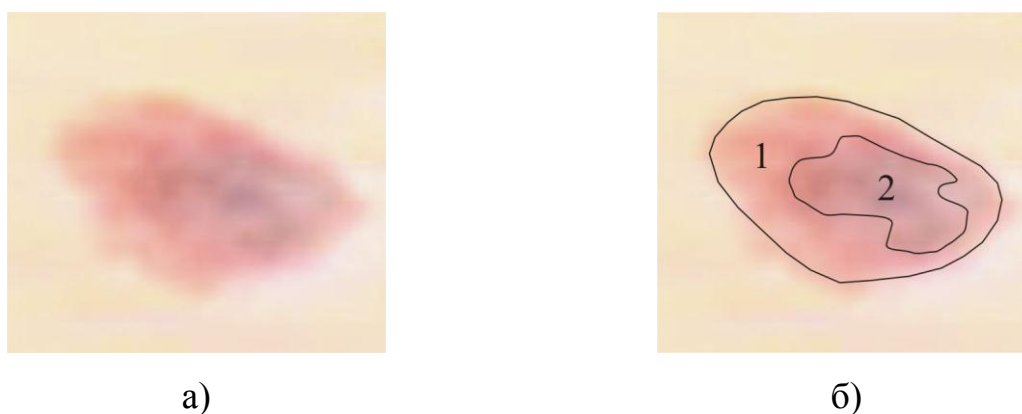


Рисунок 1 – Отцифрованное изображение нейтрофила (1) с отложениями диформаза (2) до (а) и после (б) выделения объектов.

Для реализации поставленной задачи были использованы различные методы обработки цветного изображения, а именно: построение гистограмм по красному, зеленому и синему составляющим изображения; сглаживание гистограммы и ее аппроксимация. Эмпирическим путем определено, что красный цвет является оптимально подходящим для анализа, так как в результате оценки гистограммы красного цвета наиболее четко выявляется участок клетки, заполненный диформаза (рис. 2). Сглаживание значений на гистограмме проводили методом скользящего среднего [3]. Аппроксимацию проводили с помощью полиномиального регрессионного анализа методом наименьших квадратов [3], используя специально написанную программу.

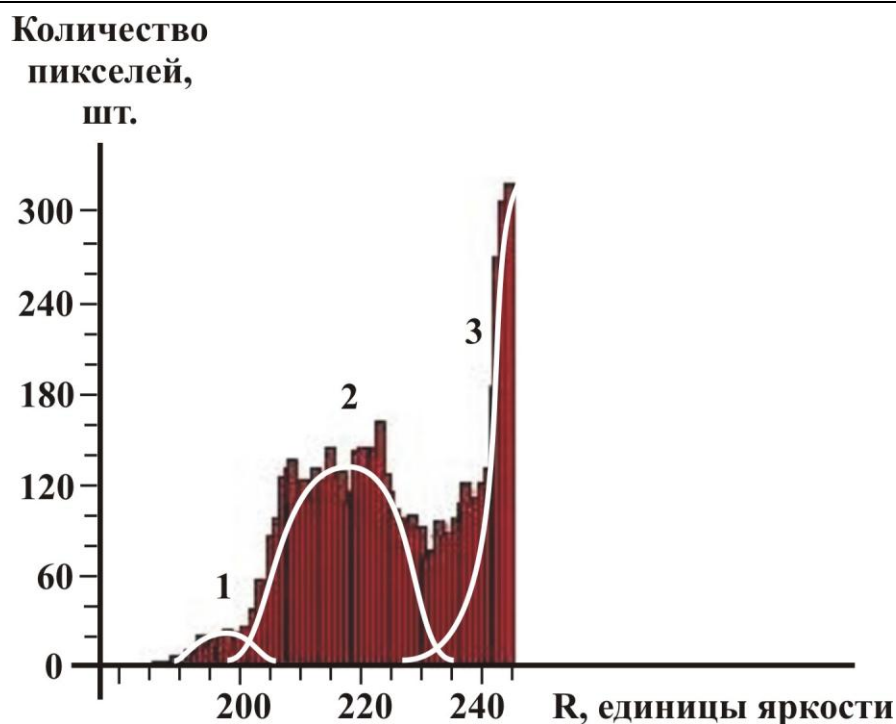


Рисунок 2 – Гистограмма красной составляющей цвета изображения клетки.

- 1-3 – пики красной составляющей цвета;
- 2 – пик принадлежащий диформазану.

Выделение спектра, принадлежащего диформазану, производится путем приравнивания к нулю второй производной полученного полинома третьей степени. Найденный таким образом порог является максимальным значением яркости, соответствующей диформазану. Данное выделение дает следующее значение площади участка, заполненного диформазаном: 1763 ± 43 пикселей. Тогда как выделение площади диформазана путем обведения его контура с помощью мыши, дает значение равное 2540 ± 30 пикселей. При этом относительная погрешность составляет -30%. Она является систематической и причина этого заключается в том, что пик диформазана перекрывается другими пиками (рис. 2). Для избавления от этой погрешности необходимо провести разделение пиков [4]. Тогда площадь под кривой 2 (рис. 2) и представляет собой площадь, соответствующую участку клетки, заполненному диформазаном. Решение задачи автоматизированного разделения пиков является предметом дальнейшей работы.

Перечень ссылок

1. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. –М.: Медицина, 1987. – 364 с.
2. Буковецкая О.А. Видео на вашем компьютере. – М.: ДМК Пресс, 2001. – 240 с.
3. Выгодский М.Я. Справочник по высшей математике. – М.: Наука, 1973. – 872 с.
4. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрии методом анализа. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.