

На правах рукописи

Поляков Евгений Валерьевич

**МЕТОДЫ И МОДЕЛИ АНАЛИЗА СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА
ЯДЕР КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ДЛЯ СИСТЕМ
АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРЫХ
ЛЕЙКОЗОВ**

Специальность: 2.2.12. Приборы, системы и изделия медицинского назначения (технические науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва – 2021

Работа выполнена в Национальном исследовательском ядерном университете «МИФИ» на кафедре «Компьютерные медицинские системы»

Научный руководитель: доктор технических наук, профессор
Никитаев Валентин Григорьевич

Официальные оппоненты: **Сушкова Людмила Тихоновна**,
доктор технических наук, профессор,
Владимирский государственный университет имени
Александра Григорьевича и Николая Григорьевича
Столетовых, профессор, заведующая кафедрой
«Биомедицинские и электронные средства и
технологии» (г. Владимир)

Сергунова Кристина Анатольевна,
кандидат технических наук,
советник президента НИЦ «Курчатовский институт»
по ядерной медицине (г. Москва)

Ведущая организация: **Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана** (г. Москва)

Защита диссертации состоится «04» февраля 2022 года в 15⁰⁰ часов на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.029.03, созданного на базе Юго-Западного государственного университета, Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева, Белгородского государственного национального исследовательского университета, по адресу: 305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Юго-Западного государственного университета и на сайте https://swsu.ru/upload/iblock/b91/ienth08oq2n6jn3qqbu0xzgtlb4f4wp5/Disser_tatsiya-Polyakov-E.V.pdf

Автореферат разослан « » декабря 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Милостная Наталья Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность работы. Разработка методов медицинской диагностики онкологических заболеваний, является одной из важных задач национального проекта «здоровоохранение» РФ (Указ Президента от 07.05.2018 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года»). Успех лечения, прежде всего, определяется своевременностью и точностью диагностики.

Одно из перспективных направлений технологий искусственного интеллекта для диагностики новообразований кроветворной системы, в частности, установления вариантов острых лейкозов, связано с применением методов и средств цифровой обработки изображений клеток крови и костного мозга.

Острые лейкозы - гемопозитическая опухоль, при которой кроветворные клетки теряют способность к дифференцировке и созреванию. Неопластический пул представлен бластами - незрелые клетки костного мозга.

Диагностика острых лейкозов базируется на изучении морфологических, цитохимических и иммунофенотипических особенностей лейкоэмических клеток периферической крови и костного мозга.

Морфологический метод исследования заключается в изучении окрашенных препаратов крови и костного мозга с подсчетом числа бластов в процентах к общему числу клеток, но не дает возможности во многих случаях установить природу бластов в связи с их значительной неоднородностью. При световой микроскопии существенную роль играет точная оценка ряда параметров бластов: форма и размер клеток, очертания ядер, особенности строения хроматина, при этом учитывается его тонкопетлистая, глыбчатая и плотная структура. Полиморфизм бластов ассоциируется с разнообразием их фенотипических, генетических и молекулярно-биологических особенностей. До настоящего времени не удалось выявить существенных корреляций между структурой бластов и их иммунофенотипическим статусом. При обычной световой микроскопии неоднородность бластной популяции констатируется как в случаях Т-, так и В- вариантов острых лимфобластных лейкозов.

Цитохимическое исследование включает анализ маркеров гранулоцитарного и моноцитарного рядов гемопоэза. Они позволяют дифференцировать острые лимфобластные лейкозы от миелоидных лейкозов. Однако этот метод не является адекватным в части случаев лейкозов.

Иммунофенотипическое исследование основано на изучении антигенной структуры бластов с помощью проточной цитофлюорометрии. Использование широкого набора диагностических антител позволяет определить направленности дифференцировки и установить стадию созревания бластов. Анализ результатов иммунофенотипирования, с учетом морфологических и цитохимических показателей, дает основание определить совокупность процессов, приводящих к образованию и восстановлению тканей и этап дифференцировки бластов. Однако большая вариабельность опухолевых клеток, невозможность анализа морфологических особенностей клеток крови (например, строения ядерных хроматиновых нитей) и недоступность повторного исследования, не исключают возможности диагностической ошибки.

Использование световой микроскопии в сочетании с компьютерной обработкой данных позволяет объективизировать полученные данные в виде числовых индексов и улучшить дифференциальную диагностику острых лейкозов.

Разработка и применение новых методов, уточняющих морфологическую характеристику лимфоидных элементов, в настоящее время представляет значительный интерес и является актуальной научно-технической задачей.

Степень разработанности темы. В последнее время предпринимаются многочисленные попытки автоматизировать микроскопические исследования для повышения точности обнаружения юных форм клеток и воспроизводимости измерений.

Исследования в этой области выполняются рядом организаций по всему миру, такими как: Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) гематологии Министерства здравоохранения Российской Федерации (МЗ РФ), НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова МЗ РФ, Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы, Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства (ФМБА) МЗ РФ (Академия постдипломного образования ФГБУ Федерального научно-клинического центра (ФНКЦ) ФМБА), Саратовский Государственный Медицинский Университет (Россия), «Медицинские компьютерные системы» (МЕКОС) (Россия), Радиотехнический институт им. акад. А.Л. Минца (Россия), Центр мониторинга и клинико-экономической экспертизы Росздравнадзора (г. Москва), отдел лабораторной медицины больницы университета

Левена (г. Левен, Бельгия) (Department of laboratory medicine, University Hospital Leuven, Leuven, Belgium), Военно-Медицинская Академия (г.София, Болгария) (Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria), Национальный университет Колумбии (National University of Colombia) и др.

Применение средств автоматизации микроскопического анализа для медицины при диагностике лейкозов отмечено в работах врачей и биологов: Блиндарь В.Н., Воробьева А.И., Воробьева И.А., Волковой М.А., Дубровского В.А., Жукотцкого А.В., Зубрихиной Г.Н., Козинца Г.И., Красновой Л.С., Луговской С.А., Менделеева Л.П., Почтарь М.Е., Румянцева А.Г., Савченко В.Г., Соснина Д.Ю., Тупицына Н.Н., Френкель М.А., Харaziшвили Д.В., Zaman, Z., Dino Masic, Andrew Filby, Ludovic Lhermitte, Daniela Morf, Aaron Kruse и др.

В направлении разработки и совершенствования автоматизации диагностики острых лейкозов, методов цифровой обработки изображений и улучшения качества медицинских изображений известны работы отечественных и зарубежных исследователей: Новикова К.В., Медового В.С., Панова С.А. Чистова К.С., Шахтарина Б. И. Штадельмана Ж.В., Яковенко М.К., Deaz G, Waidah Ismail, Subrajeet Mohapatra, Hayan Tareq AbdulWahhab, Santiago Alferezi др.

Несмотря на успехи в области автоматизации микроскопического исследования, нерешенными остаются проблемы: определения патологических клеток на препаратах крови и костного мозга; получение независимых объективных критериев для дифференциальной диагностики вариантов острых лейкозов; сопоставление структуры хроматина бластов и их иммунофенотипического статуса.

Объектом исследования в диссертации являются цифровые микроскопические изображения клеток с цитологических препаратов крови и костного мозга.

Предметом исследования являются методы и алгоритмы цифровой обработки и распознавания изображений клеток с цитологических препаратов крови и костного мозга.

Цель диссертационной работы – повышение качества автоматизированной диагностики острых лейкозов за счет получения дополнительных независимых объективных количественных характеристик структуры хроматина ядер клеток.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Определить современные и перспективные подходы в области автоматизации диагностики острых лейкозов.

2. Разработать метод определения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов с применением световой микроскопии и компьютерной обработкой данных для диагностики острых лейкозов и его подвариантов.

3. Разработать иерархическую двухуровневую модель установления соответствия диагностических данных компьютерной микроскопии и лазерной проточной цитометрией для проведения дифференциальной диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний.

4. Разработать метод анализа изображений лейкоцитов и на его основе модели расчета оптических особенностей структурах ядер клеток крови для определения типа лейкоцита при диагностике и дифференциальной диагностике острых лейкозов.

5. Разработать методику выполнения автоматизированного анализа изображений препаратов крови и костного мозга при дифференциальной диагностике острого лейкоза и его подвариантов.

6. Анализ разработанных методов и предложенных моделей анализа изображений структуры хроматина ядер клеток костного мозга для повышения качества автоматизированной диагностики острых лейкозов в клинических условиях.

Методология и методы исследований. В диссертационной работе для решения поставленных задач использовались: методы системного анализа и синтеза биотехнических систем, теория проектирования сложных информационных систем и теория моделирования; методы и алгоритмы обработки изображений, теории распознавания образов, теория вероятностей и математической статистики.

Научная новизна:

1. Метод анализа изображений лейкоцитов и на его основе модель расчета оптических особенностей структуры хроматина ядер клеток крови, отличающийся количественным описанием качественных признаков на основе структурных элементов, по которым проводится определение типа лейкоцита при диагностике и дифференциальной диагностике острых лейкозов.

2. Метод определения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов, отличающийся применением световой микроскопии и компьютерной обработки данных, позволяющий по изображениям структуры хроматина ядер бластов костного мозга уточнить вариант заболевания для объективизации исследований при диагностике острых лейкозов.

3. Иерархическая двухуровневая модель установления соответствия диагностических данных компьютерной микроскопии и лазерной

проточной цитометрии, отличающаяся тем, что на первом уровне применяется модель сопоставления результатов компьютерного анализа и традиционного микроскопического исследования для подтверждения диагноза острый лейкоз, а на втором уровне - модель сравнения результатов компьютерной микроскопии с данными лазерной проточной цитометрии для дифференцировки клеток по строению хроматина ядер. Применение иерархической двухуровневой модели позволило установить наличие зависимости между направленностью дифференцировки клеток и особенностями строения хроматина ядер, что важно при проведении дифференциальной диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний.

4. Методика выполнения автоматизированного микроскопического исследования изображений клеток с препаратов костного мозга и крови, отличающаяся проведением анализа изображений клеток крови и костного мозга с получением новых дополнительных независимых объективных количественных характеристик для решения задачи диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в том, что:

- получены дополнительные независимые объективные критерии для дифференциальной диагностики острого лейкоза, позволяющие уточнить вариант заболевания и снизить время проведения диагностического процесса на одну треть;
- интенсифицировано принятие клинических решений и адекватный подбор терапевтических схем у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами путем использования световой микроскопии в сочетании с компьютерной обработкой данных;
- разработан инструментарий формирования баз знаний, которая может использоваться как наглядный атлас-справочник распознавания патологических клеток при подготовке врачей;
- материалы, полученные в данной диссертационной работе, используются при подготовке будущих специалистов кафедры №46 «Компьютерные медицинские системы» НИЯУ МИФИ;
- Предложенные методы и модели, а также результаты, полученные в рамках настоящего диссертационного исследования, выполнены при поддержке грантов РФФИ 17-07-01496 «Исследование возможностей телевизионной системы при диагностике острых лейкозов», 18-07-01456 «Исследование влияния характеристик сенсора оптического излучения в видимом диапазоне на эффективность

автоматизированного микроскопического анализа в онкологической диагностике» и 18-29-09115 «Методы и модели искусственного интеллекта для решения междисциплинарных фундаментальных проблем диагностики лимфопролиферативных заболеваний и минимальной остаточной болезни в онкологии».

На защиту выносятся следующие основные результаты и положения:

1. Метод анализа изображений лейкоцитов и на его основе модель расчета оптических особенностей структуры ядер клеток крови, основанный на представлении изображения в виде структурных элементов для определения типа лейкоцита при диагностике и дифференциальной диагностике острых лейкозов.

2. Метод определения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов с применением световой микроскопии и компьютерной обработкой данных, позволяющий по изображениям структуры хроматина ядер бластов костного мозга уточнить вариант заболевания для объективизации исследований при диагностике острых лейкозов.

3. Иерархическая двухуровневая модель установления соответствия диагностических данных компьютерной микроскопии и лазерной проточной цитометрии. Первый уровень - модель сопоставления результатов компьютерного анализа и традиционного микроскопического исследования для подтверждения диагноза острого лейкоза. Второй уровень - модель сравнения результатов компьютерной микроскопии с данными лазерной проточной цитометрии для дифференцировки клеток по строению хроматина ядер. Применение иерархической двухуровневой модели, позволило установить наличие зависимости между направленностью дифференцировки клеток и особенностями строения хроматина ядер для проведения дифференциальной диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний.

4. Методика выполнения автоматизированного микроскопического исследования изображений клеток с препаратов костного мозга и крови, позволяющая проводить анализ изображений клеток крови и костного мозга с получением новых дополнительных независимых объективных количественных характеристик для решения задачи диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний.

5. Результаты экспериментального исследования по определению Т- и В- вариантов острого лимфобластного лейкоза с применением систем компьютерной микроскопии подтвердили возможность различия В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов, при этом в проведенном

эксперименте получено различие В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов с точностью 95 %.

6. Инструментарий для создания базы знаний клеток костного мозга и крови позволяющий формировать верифицированные данные для обучения систем искусственного интеллекта: распознавания образов, экспертных систем и систем поддержки принятия врачебных решений.

Содержание диссертации соответствует паспорту научной специальности 2.2.12. Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

Достоверность результатов работы обеспечена корректным применением положений системного анализа, теории цифровой обработки изображений, распознавания образов и анализа экспериментальных данных, использованием представительных выборочных совокупностей и подтверждается заключением врачей-экспертов диагностической лаборатории иммунологии гемопозеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ; соответствием данных, полученных в работе, результатам исследования с применением прибора, основанного на другом физическом принципе действия (иммунофенотипическое исследование с помощью лазерной проточной цитофлуорометрии); экспериментальной проверкой адекватности разработанных моделей.

Апробация работы. Основные теоретические положения и научные результаты диссертационной работы докладывались на научных конференциях: «Научная сессия МИФИ» с 2012 г. по 2015г.; на IX Курчатовской молодежной научной школе 2011 г.; X Курчатовской молодежной научной школе 2012г.; X Курчатовской молодежной научной школе 2012г.; IV Международной молодежной научной школе-конференции «Современные проблемы физики и технологий» 2015г.; XXIII международной конференции и дискуссионном научном клубе «Новые информационные технологии в медицине, биологии фармакологии и экологии», Крым, Ялта-Гурзуф 2015г.; 15-ой международной конференции «Обработка сигналов, вычислительная геометрия и искусственное зрение», Слима, Мальта, 2015 г.; 6-ой международной конференции «Биологические науки и биоинформатика», г. Дубай, ОАЭ, 2015 г.; первом международном симпозиуме «Инженерно-физические технологии биомедицины», г. Москва, 2016г.; втором международном симпозиуме «Инженерно-физические технологии биомедицины», г. Москва, 2017г.; школе-конференции молодых ученых с международным участием «Ильинские чтения» ГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2018 г.;

V Российском конгрессе лабораторной медицины, Москва, 2019; Учёном совете медицинского института РУДН, 2019; XXII международной конференции «Управление развитием крупномасштабных систем», Москва, Институт проблем управления РАН, 2019.

Разработка «Технология автоматизированного анализа клеток крови» удостоена золотой медали XXI Московского международного Салона изобретений и инновационных технологий «Архимед-2018».

Результаты работы, в частности, методы, модели, методики и программное обеспечение, получили высокую оценку специалистов лаборатории иммунологии гемопоэза Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина (заведующий, д.м.н., профессор Н.Н. Тупицын) и кафедры клинической лабораторной диагностики института повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства (заведующий д.б.н., профессор Девиченский В.М.), используются в НМИЦ онкологии Н.Н. Блохина и ФГБУ ФНКЦ ФМБА, что подтверждается соответствующими актами о внедрении.

Публикации. Основные положения и результаты диссертационной работы опубликованы в 32 работах, включающих 6 статей в журналах из перечня ВАК, 11 статей в журналах, индексируемых в международных базах цитируемости Web of Science и Scopus, 1 патент на полезную модель, 3 патента на изобретение.

Личный вклад автора заключается: в проведении обзора современных и перспективных подходов в области автоматизации диагностики острых лейкозов; разработке методов анализа и распознавания структуры ядер клеток, модели формирования количественных характеристик изображений клеток крови и костного мозга и сопоставления результатов микроскопического анализа с данными иммунофенотипического исследования, а также методики автоматизированного микроскопического анализа изображений клеток с препаратов крови и костного мозга; планировании и проведении экспериментальных исследований по разделению Т- и В- вариантов острого лимфобластного лейкоза; разработке программных средств проведения экспериментальных исследований и инструментария для формирования эталонных баз знаний клеток крови с описанием типов клеточных элементов, условий съемки, данных иммунофенотипа. В работах, выполненных в соавторстве, личный вклад автора состоял, в разработке основных методов и средств проведения исследований, получении экспериментальных результатов по установлению корреляций

между структурой бластов и их иммунофенотипическим статусом, интерпретации полученных результатов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения и списка литературы, включающий 155 наименований. Работа изложена на 158 страницах машинописного текста, содержит 59 рисунков и 15 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулирована цель и аргументирована научная новизна исследований, показана теоретическая и практическая значимость полученных результатов, представлены выносимые на защиту научные положения, сведения об апробации и внедрении результатов работы.

Первая глава посвящена обзору методов и средств автоматизации микроскопического анализа на базе световой микроскопии для диагностики острых лейкозов.

Отражены общие вопросы и современные тенденции диагностики острых лейкозов. Рассмотрены средства повышения точности и снижения субъективизма в диагностике острых лейкозов с указанием роли и места автоматизации микроскопического анализа. Исследованы методы и средства цифровой обработки и распознавания изображений, включая предобработку, описание и классификацию объектов. Представлен анализ систем компьютерной микроскопии, методов обработки диагностической информации в компьютерных анализаторах изображений с оценкой их эффективности при диагностике острых лейкозов.

Отмечены перспективные исследования в области автоматизации микроскопического анализа при диагностике острых лейкозов.

Обоснован подход автоматизированного микроскопического анализа изображений структуры ядер клеток крови и костного мозга с применением световой микроскопии в сочетании с компьютерной обработкой данных для диагностики острых лейкозов и его вариантов.

Во второй главе для оценки оптических параметров на базе световой микроскопии в сочетании с компьютерной обработкой данных предложена модель количественного анализа изображений препаратов костного мозга и крови имеющая следующий вид: $M_{jp} = \{IMN, S, CCM, P, Cl, In, Tce\}$. Здесь I_{MN} - входное цифровое изображение, S - сегментация ядра лейкоцита, $Сем$ - преобразование изображений ядер в полутоновые изображения компонент цветовых моделей, P - определение характеристик для полученных изображений, Cl - классификация

лейкоцитов, на основе полученных данных, In - расчет порогового значения характеристики для проведения диагностики и дифференциальной диагностики острых лейкозов. T_{ce} - оценка качества классификации.

Согласно предложенной модели оценки оптических характеристик структуры хроматина на изображении ядер клеток крови необходимо выделить ядро с целью дальнейшего измерения параметров. Выделение ядра выполнялось по следующей модели. $M = \{I, G, D, P, B, F, R, S\}$, где I – входное изображение, G – гистограмма цветовой компоненты изображения, D - экстремумы гистограммы, P - окно поиска локального минимума и максимума зоны ядра на гистограмме, B - бинаризация изображения по найденному порогу, F - фильтрация, R - распознавание областей изображения относящихся к ядрам, S – оценка результатов сегментации для дальнейших расчетов.

Для описания выделенных ядер клеток применены:

- методы анализа на основе матрицы пространственной смежности как оценка совместной плотности распределения вероятностей соседств пикселей и матрицы длин серий;

- метод вейвлет-анализа, в настоящее время применяется при обработке изображений в различных областях, хорошо себя зарекомендовал в качестве эффективного инструмента описания объектов и используется при обработке сигналов и функций, нестационарных во времени или неоднородных в пространстве;

- *метод анализа изображений лейкоцитов (новый метод - «структурные элементы»)*, базирующийся на представлении изображения в виде совокупности светлых и темных объектов, которые в микроскопических изображениях ядер клеток крови рассматриваются как «зерна» в плотной структуре хроматина и как «ячейки» в сетчатой структуре хроматина.

Таким образом, для каждого изображения ядра клетки крови формируется набор, из морфологических, текстурных и вейвлет-характеристик рассчитываемый для компонент цветowych моделей RGB , XYZ , HSL , Lab , Luv , HSI , HSV , YUV , YIQ , $YCbCr$, CMY . Полученные количественные характеристики, используются при дифференциальной диагностике острого лейкоза.

В третьей главе описано внедрение предложенных подходов при диагностике острых лейкозов и его вариантов, которое впервые проводилась на базе микроскопической системы (патент России на полезную модель №159002). В ходе дополнительных исследований в

систему расчета текстурных и вейвлет-характеристик предложен *метод определения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов с применением световой микроскопии и компьютерной обработки данных* позволяющий по изображениям структуры хроматина ядер бластов костного мозга уточнить вариант заболевания для объективизации исследований при диагностике острых лейкозов. Предложенный метод отличается от ранее известных тем, что на этапе микроскопического анализа определяется линейная направленность бластов лимфобластного лейкоза. Итоговая модификация системы проходила проверку в лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения России для оценки оптических характеристик хроматина ядер клеток крови и костного мозга при диагностике гемобластозов - острых лейкозов (острого лимфобластного с Т- и В- вариантами, острого миелобластного) и лимфом. Морфологическое и иммунофенотипические исследования крови и костного мозга проводились двумя независимыми экспертами лаборатории (патент России на изобретение №2659217).

Были получены изображения клеток в цветовой модели RGB на основе измерений функции яркости в трех спектральных диапазонах, соответствующих красному (R), зеленому (G) и синему (B) участкам спектра видимого электромагнитного излучения (автоматизированный микроскоп Olympus BX43 со спектрально-зональной камерой Imperx IPX-4M1ST-GCFB). Изображения сохранялись в формате BMP, с цветовой кодировкой RGB24 (свыше 16 млн. цветов).

Сформированна репрезентативная выборка экспериментальных эталонных верифицированных врачами-экспертами объектов для анализа данных морфологических характеристик лейкоцитов крови и костного мозга с результатами проточной цитометрии при проведении научно-исследовательских работ в области диагностики опухолевых заболеваний крови. Количественный состав выборки: 6678 изображений из них 941 - лимфоцитов крови 14 доноров; 2048 - лимфобластов костного мозга у 17 больных с Т- лимфобластным острым лейкозом, 2882 - лимфобласта костного мозга у 21 больного с В- лимфобластным острым лейкозом; 807 - лейкоэмические лимфоидные клетки костного мозга 13 больных фолликулярной лимфомой.

Разработана *иерархическая двухуровневая модель установления соответствия диагностических данных компьютерной микроскопии и лазерной проточной цитометрии* (Рисунок 1).

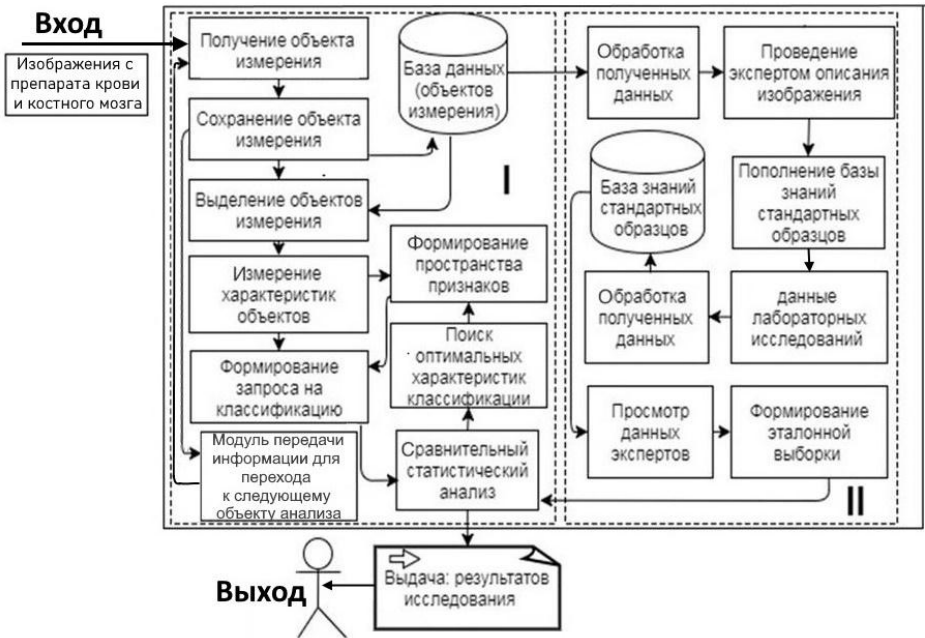


Рисунок 1 - Иерархическая двухуровневая модель установления соответствия диагностических данных компьютерной микроскопии и лазерной проточной цитометрии

Предложенная модель направлена на установление соответствия между структурой бластов и их иммунофенотипическим статусом (I – модель сопоставления результатов компьютерного анализа и традиционного микроскопического исследования для подтверждения диагноза острого лейкоза; II – модель сравнения результатов компьютерной микроскопии с данными лазерной проточной цитометрии для дифференцировки клеток по строению хроматина ядер). Этот подход позволяет уточнить вариант заболевания и снизить время проведения диагностического процесса на одну треть.

Представлен анализ факторов, влияющих на результат измерения характеристик в диагностических системах компьютерной микроскопии (освещенность образца, его положение в поле зрения телекамеры, фокусировка и др.). Анализ факторов представлен с учетом опыта кафедры №46 «Компьютерные медицинские системы» НИЯУ МИФИ и полученного лично автором работы в ходе планирования, проведения и анализа результатов экспериментальных исследований.

Для проведения исследований разработана *методика выполнения автоматизированного микроскопического исследования препаратов клеток с препаратов костного мозга и крови, позволяющая проводить анализ изображений клеток крови и костного мозга с получением новых дополнительных независимых объективных количественных характеристик для решения задачи диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний*. Нахождение характеристик для проведения разделения осуществлялось в двумерном пространстве признаков.

Предложенные методы, модели и программное обеспечение для количественного анализа клеток крови с препаратов крови и костного мозга позволяют уточнить характеристики лимфоцитов и лейкоэмических бластов и могут быть использованы для объективизации исследований при диагностике острого лейкоза.

В четвертой главе представлены результаты экспериментальных исследований.

Проведен эксперимент, в котором посредством расчета параметров структурных элементов проверена адекватность данного метода при распознавании клеток по типам в системе «АТЛАНТ». В итоге проведенного анализа сделан вывод, что предложенная модель позволяет соотнести оптические признаки, используемые врачом при диагностическом исследовании мазков крови, с количественными признаками в соответствии с предложенной моделью.

Показана, в ходе исследования, применимость метода текстурного анализа для разделения изображений клеток бластов костного мозга и лимфоцитов кров на базе компьютерной микроскопии при диагностике и дифференциальной диагностике острых лимфобластных лейкозов.

Представлены исследования применимости вейвлет-анализа для оценки структуры ядер клеток крови. Исследование направлено на нахождение новых характеристик с применением вейвлет-анализа при определении типов клеток в ходе диагностики и дифференциальной диагностики острых лейкозов. Эксперимент проводился в несколько этапов. На первом этапе определялись информативные пары вейвлет-признаков в задаче разделения клеток крови на два обобщенных класса – бластные и не бластные клетки (в каждом из этих классов присутствует несколько разных типов клеток крови). На втором этапе оценивалась эффективность признаков для классификации клеток крови в нутрии выборок, каждая из которых включает только два типа клеток крови. На третьем этапе исследования оценивалась точность определения бластов среди клеток типа бластов (дифференциация бластных клеток по типу).

Исследования показали, что математические модели для описания клеток крови с помощью вейвлет-анализа являются эффективным средством решения проблема автоматизированной классификации бластных клеток.

Исследованы оптических характеристик лейкоцитов при установлении В- и Т- вариантов острого лимфобластного лейкоза. Анализ экспериментальных данных полученных при исследованиях бластов острого лимфобластного лейкоза позволяет выявить взаимосвязь между строением ядер бластов и их антигенным статусом. Тем самым уточнить вариант заболевания и ускорить диагностический процесс. При этом точность разделения В- и Т- вариантов острого лимобластного лейкоза составила 95%. Таким образом по количественным характеристикам структуры хроматина изображений ядер бластов можно судить о варианте острого лимфобластного лейкоза (Т- или В- типа).

Проведенные экспериментальные исследования и анализ результатов показали, что разработанные методы и предложенные модели обеспечивают повышение качества автоматизированной диагностики острых лейкозов за счет получения дополнительных независимых объективных количественных характеристик структуры хроматина ядер клеток.

В **Заключении** сформулированы основные результаты диссертационной работы, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

В диссертационной работе решена научно-техническая задача создания методов и моделей количественного анализа клеток крови с препаратов крови и костного мозга, позволяющая уточнить характеристики лимфоцитов и лейкоемических бластов при проведении исследований для установления вариантов острого лейкоза, а также снизить время проведения диагностического процесса на треть.

В результате выполнения диссертационного исследования получены следующие основные результаты:

1. По итогу анализа современных и перспективных подходов в области автоматизации диагностики острых лейкозов показано, что, несмотря на успехи в области автоматизации микроскопического исследования, нерешенными остаются проблемы: определения патологических клеток на препаратах крови и костного мозга; получение независимых объективных критериев для дифференциальной диагностики вариантов острых лейкозов; сопоставление структуры хроматина бластов и их иммунофенотипического статуса.

Перспективным направлением автоматизации распознавания клеток является нахождение новых информативных признаков, оценка влияния артефактов на результат классификации, проведение дифференциальной диагностики между типами лейкозов и сопоставления структуры blastов и иммунофенотипического статуса. Проведена классификация признаков, пригодных для использования в качестве информационных маркеров;

2. Разработан метод определения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов с применением световой микроскопии и компьютерной обработкой данных, позволяющий по изображениям структуры хроматина ядер blastов костного мозга уточнить вариант заболевания для объективизации исследований при диагностике острых лейкозов (Патент на изобретение №2659217 от 12.12.2017);

3. Предложена иерархическая двухуровневая модель установления соответствия диагностических данных компьютерной микроскопии и лазерной проточной цитометрией, позволяющая количественно оценить особенности строения хроматина ядер клеток, которая обеспечила установление зависимости между направленностью дифференцировки клеток и особенностями строения хроматина ядер для проведения дифференциальной диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний;

4. Разработан метод анализа изображений лейкоцитов и на его основе модели расчета оптических особенностей структурах ядер клеток крови для определения типа лейкоцита при диагностике и дифференциальной диагностике острых лейкозов (Патент на изобретение №2612007 от 26.12.2014);

5. Разработана методика выполнения автоматизированного микроскопического исследования изображений клеток с препаратов костного мозга и крови, позволившая проводить анализ препаратов крови и костного мозга с применением новых дополнительных независимых объективных количественных характеристик для решения задачи диагностики острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний.

6. Разработанные в диссертации методы, модель и методика позволили обеспечить повышение качества автоматизированной диагностики острых лейкозов, что подтверждено проведением в клинических условиях анализа количественных характеристик по цифровым изображениям ядер клеток с препаратов крови и костного мозга для установления взаимосвязи между направленностью дифференцировки клеток и строением хроматина ядер при

дифференциальной диагностике острых лейкозов. Экспериментальное исследование по определению Т- и В- вариантов острого лимфобластного лейкоза с применением систем компьютерной микроскопии подтвердили возможность различения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов, при этом в проведенном эксперименте получено различие В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов с точностью 95%.

Рекомендации. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы при разработке и развитии методов и средств автоматизированного распознавания клеток крови для научного и практического применения.

Предложенный подход к распознаванию имеет многоцелевой характер. Он был эффективно использован при распознавании лимфом, диагностики стадий катаракты с применением текстурного анализа, анализе цитологических и гистологических изображений опухолей, совместном использовании с системами молекулярной диагностики.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Планируемое развитие математического, алгоритмического и программного обеспечения позволит оптимизировать создание автоматизированного рабочего места врача клинической лабораторной диагностики.

Широкое внедрение средств автоматизированного распознавания позволит снизить затраты при проведении диагностики острых лейкозов (как за счет уменьшения физических, когнитивных усилий и временных затрат медицинского персонала, так и количества реактивов в диагностической панели при проведении морфологических исследований, включая иммунофенотипирование).

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК

1. Никитаев В.Г. Технологии искусственного интеллекта в диагностике острых лимфобластных лейкозов и минимальной остаточной болезни / В.Г. Никитаев, Н.Н. Тупицын, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков [и др.] // Медицинская техника. – 2020. – №5. – С. 42-44.

2. Поляков Е.В. Анализ эффективности методов и моделей обработки изображений препаратов крови и костного мозга для автоматизированной диагностики острых лейкозов / Е.В. Поляков // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2019. – Т. 18. – № 2. – С. 133-144.

3. Никитаев В. Г. Формирование выборок клеток в системе компьютерной микроскопии для проведения исследований методов диагностики острых лимфобластных лейкозов / В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков, О.А. Чернышева [и др.] // Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Управление, вычислительная техника, информатика. Медицинское приборостроение. – 2019. – Т. 9. – № 2. – С. 91-101.

4. Поляков Е. В. Состояние и перспективы развития систем автоматизации световой микроскопии при диагностике острых лейкозов / Е. В. Поляков // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 407-420.

5. Никитаев В.Г. Исследование эффективности применения вейвлет-анализа в информационно-измерительных системах диагностики острых лейкозов / В.Г. Никитаев, О.В. Нагорнов, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков [и др.] // Измерительная техника. – 2014. – № 8. – С. 96-98.

6. Никитаев В.Г. Модель описания лейкоцитов периферической крови на основе оптических особенностей структуры ядер / В.Г. Никитаев, О.В. Нагорнов, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков [и др.] // Измерительная техника. – 2014. – № 5. – С. 56-58.

Публикации в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах Web of Science (CoreCollection), Scopus

7. Nikitaev V.G. Method for optical radiation sensor signal irregularity correction in the computer microscopy system / V.G. Nikitaev, O.V. Nagornov, A.N. Pronichev, E.V. Polyakov [et al.] // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing. – 2019. – Vol. 1189. – No. 1. – P. 012026.

8. Nikitaev, V.G. Model of image sensor signal correction in the computer microscopy system / V.G. Nikitaev, O.V. Nagornov, A.N. Pronichev, E.V. Polyakov [et al.] // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing. – 2019. – Vol. 1205. – No. 1. – C. 012041.

9. Nikitaev V.G. Textural characteristics of bone marrow blast nucleus images with different variants of acute lymphoblastic leukemia / V.G. Nikitaev, A.N. Pronichev, E.V. Polyakov, A.V. Mozhenkova, [et al.] // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing. – 2018. – Vol. 945. – No. 1. – C. 012008.

10. Nikitaev V.G. Approach to building knowledge bases in information-measuring systems diagnostics of acute leukemias / V.G. Nikitaev, A.N. Pronichev, E.V. Polyakov [et al.] // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing. – 2018. – Vol. 945. – No. 1. – C. 012007.

11. Nikitaev V.G. Research methodology of the artifact effect in the blood to the result of cell classification / V.G. Nikitaev, E.V. Polyakov, S.O. Seldyukov // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing. – 2017. – Vol. 798. – No. 1. – С. 012130.

12. Nikitaev V.G. A method for estimating the accuracy of measurements of optical characteristics of the nuclei of blood cells in the diagnosis of acute leukemia / V.G. Nikitaev, E.V. Polyakov // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing. – 2017. – Vol. 798. – No. 1. – С. 012128.

13. Nikitaev V.G. Method of automating of the separation of blasts and lymphocytes in the diagnosis of acute myeloid leukemia / V.G. Nikitaev, E.V. Polyakov, I.I. Matveeva, V. N. Blindar // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing. – 2017. – Vol. 798. – No. 1. – С. 012129.

14. Pronichev A.N. The use of optical microscope equipped with multispectral detector to distinguish different types of acute lymphoblastic leukemia / E.V. Polyakov, N.N. Tupitsyn, M.A. Frenkel, A.V. Mozhenkova // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing. – 2017. – Vol. 784. – No. 1. – С. 012003.

15. Nikitaev V.G. The influence of physical factors in recognizing blood cells in the diagnosis computer microscopy systems acute leukemia / V.G. Nikitaev, A.N. Pronichev, E.V. Polyakov, V.V. Dmitrieva [et al.] // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing. – 2017. – Vol. 784. – No.1. – С. 012042.

16. Nikitaev V.G. The blood smear image processing for the acute leukemia diagnostics / V.G. Nikitaev, O.V. Nagornov, A.N. Pronichev, E.V. Polyakov [et al.] // *International journal of biology and biomedical engineering*. – 2016. – Vol. 10. – С. 109-114.

17. Nikitaev V.G. The use of the wavelet transform for the formation of the quantitative characteristics of the blood cells images for the automation of hematological diagnostics / V.G. Nikitaev, O.V. Nagornov, A.N. Pronichev, E. V. Polyakov [et al.]// *WSEAS Transactions on Biology and Biomedicine*. – 2015. – Vol. 12. – No. 3. – С. 16-19.

Патенты

18. Пат. 2712941 Российская Федерация, Способ коррекции сигнала датчика изображения слабоконтрастных объектов в системах компьютерной микроскопии при онкологической диагностике / В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков, В.В. Дмитриева, заявка № 2018144856 заявл. 18.12.2018; опубл. 03.02.2020, Бюл. № 4.

19. Пат. 2659217 Российская Федерация, Способ распознавания структуры ядер бластов крови и костного мозга с применением световой микроскопии в сочетании с компьютерной обработкой данных для

определения В- и Т- линейных острых лимфобластных лейкозов / В.Г. Никитаев, О.В. Нагорнов, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков [и др.], заявка №2017143326 заявл. 12.12.2017; опубл. 28.06.2018, Бюл. № 19.

20. Пат. 2612007 Российская Федерация, Способ автоматизированного анализа клеток крови посредством описания лейкоцитов на основе оптических особенностей структуры ядер / В.Г. Никитаев, О.В. Нагорнов, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков, [и др.], заявка №2014153250 заявл. 26.12.2014; опубл. 26.12.2014, Бюл. № 7.

21. Пат. 159002 Российская Федерация, Устройство анализа клеток крови на основе оценки характеристик структурных элементов ядер / В.Г. Никитаев, О.В. Нагорнов, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков, [и др.], заявка №2014153251/15 заявл. 26.12.2014; опубл. 20.01.2016, Бюл. № 2.

Научные работы в других изданиях

22. Polyakov E.V. Development of the distributed structure of formation of knowledge bases in the diagnosis of minimum residual disease / V.G. Nikitaev, A.N. Pronichev, O.A. Chernysheva, I.N. Serebryakova [et al.]: In Book: Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine. The 4th International Symposium and International School for Young Scientists. Book of Abstracts. 2019. – pp. 186-187.

23. Поляков Е.В. Методы искусственного интеллекта в диагностике минимальной остаточной болезни / Е.В. Поляков, В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, О.А. Чернышева, Н.Н. Тупицын: В книге: Современные проблемы физики и технологий. VIII-я Международная молодежная научная школа-конференция. 2019. – С. 149-150.

24. Поляков Е.В. Применение текстурных характеристик для определения вариантов острого лимфобластного лейкоза / Е.В. Поляков, В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, В.В. Дмитриева [и др.]: В сборнике: Современные проблемы физики и технологий. VI Международная молодежная научная школа-конференция, посвященная 75-летию НИЯУ МИФИ и 95-летию академика Н.Г. Басова. 2017. – С. 67-68.

25. Никитаев В.Г., Применение методов текстурного анализа в компьютерной микроскопии видимого диапазона электромагнитного излучения / В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков, В.В. Дмитриева [и др.] // Краткие сообщения по физике Физического института им. П.Н. Лебедева Российской Академии Наук. – 2016. – № 10. – С. 26-32.

26. Поляков Е.В. Классификация бластов костного мозга при диагностике острых лимфобластных лейкозах и лимфоцитов крови доноров с применением методов текстурного анализа / Е.В. Поляков, В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, В.В. Дмитриева [и др.]: В книге:

современные проблемы физики и технологий. тезисы докладов V Международной молодежной научной школы-конференции. Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; Российский фонд фундаментальных исследований; Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН. 2016. – С. 150-152.

27. Поляков Е. В. Методы и средства диагностики острых лейкозов: компьютерная микроскопия / Е.В. Поляков, В.Г. Никитаев, О.В. Нагорнов, А.Н. Проничев [и др.]: Современные проблемы физики и технологий. IVя Международная молодежная научная школа-конференция. Тезисы докладов. М.: НИЯУ МИФИ, 2015. – С. 52-53.

28. Поляков Е. В. Состояние и перспективы развития систем дифференциальной диагностики лимфоцитов с применением компьютерного анализа микроскопического анализа / Е.В. Поляков: Научная сессия МИФИ-2015. Аннотация докладов. Т. 2. М.: НИЯУ МИФИ, 2015. – С. 67.

29. Поляков Е.В. Исследование оптических особенностей структуры лейкоцитов периферической крови / Е.В. Поляков, В.Г. Никитаев, В.Н. Блиндарь, А.Н. Проничев [и др.]: Научная сессия МИФИ - 2014. Аннотация докладов. Т. 1. М.: МИФИ, 2014. – С. 266.

30. Никитаев В.Г. Текстуальный анализ в диагностике острых лейкозов / В.Г. Никитаев, О.В., Нагорнов, А.Н. Проничев, Е.В. Поляков [и др.]: Научная сессия МИФИ-2014. Аннотация докладов. Т. 1. М.: МИФИ, 2014. – С. 267.

31. Никитаев В.Г. Исследование факторов, влияющих на результаты распознавания в системах компьютерной микроскопии / В.Г. Никитаев, А.Н. Проничев, К.С. Чистов Е.В. Поляков [и др.] // Научная сессия МИФИ - 2014. Аннотация докладов. Т. 1. М.: МИФИ, 2014. – С. 267.

32. Никитаев В.Г. Критерий значимости для оценки информативности распознавания клеток крови в методе структурных элементов / В.Г. Никитаев, Е.В. Поляков, А.Н. Проничев: Научная сессия МИФИ-2013. Аннотация докладов. Т. 1. М.: МИФИ, 2013. – С. 270.

