


На правах рукописи



Гилев Константин Викторович

РАЗВИТИЕ МЕТОДА ЧИСЛЕННОГО РЕШЕНИЯ ОБРАТНОЙ ЗАДАЧИ  
СВЕТОРАССЕЯНИЯ И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ  
МОДЕЛИ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ДЛЯ ИХ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ

05.13.18 – математическое моделирование, численные методы и комплексы программ

Автореферат  
диссертация на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук.

Новосибирск – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук.

**Научный руководитель:**

**Мальцев Валерий Павлович**, доктор физико-математических наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Боровой Анатолий Георгиевич**, доктор физико-математических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева Сибирского отделения Российской академии наук (ИОА СО РАН), г. Томск, главный научный сотрудник, исполняющий обязанности заведующего группой теории рассеяния оптических волн.

**Криворотько Ольга Игоревна**, кандидат физико-математических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИВМиМГ СО РАН), г. Новосибирск, младший научный сотрудник

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительных технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИВТ СО РАН), г. Новосибирск

Защита состоится 18 апреля 2017 года в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 003.061.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИВМиМГ СО РАН) по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 6, конференц-зал ИВМиМГ СО РАН, тел. +7 (383) 330-71-59.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук: <http://icmmg.nsc.ru>

Автореферат разослан 14 февраля 2017 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

д.ф.-м.н.



Сорокин Сергей Борисович

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

Актуальность работы: Исследование эритроцитов является основой клинического анализа крови. Интерес к эритроцитам неизменно высок в связи с важной ролью, которую они играют для здоровья человека. Являясь самой многочисленной клеткой крови нашего организма (количество эритроцитов составляет  $\approx 4.5 \div 5$  миллионов в  $\text{мм}^3$ ), эритроцит решает множество задач: осуществляет транспорт кислорода, углекислого газа, участвует в формировании тромбов и определяет реологические свойства крови.

Подсчёт количества эритроцитов и измерение таких характеристик, как объём, площадь, форма, концентрация гемоглобина позволяют оценить состояние крови и выявить сердечно-сосудистые, наследственные и другие заболевания, оценить функциональные свойства эритроцитов.

Однако в настоящий момент не существует доступного для клинической диагностики метода, позволяющего определить морфологические характеристики эритроцитов (диаметр, толщина, объём, площадь, форма, содержание гемоглобина) с высокой точностью и скоростью. 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. Поэтому разработка метода для полной, точной и быстрой характеристики (определения морфологических свойств) эритроцитов является важной задачей.

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  $10^2$  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. Потенциал данного подхода был продемонстрирован, и успешно применён для характеристики тромбоцитов, лимфоцитов, бактерий, микрочастиц крови и жировых частиц молока. Распространение данного подхода на эритроциты сдерживалось сложной формой 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.

Корректное измерение индикатрисы светорассеяния на СПЦ предполагает качественное изготовление оптической кюветы. Для решения данной проблемы требуется разработка метода характеристики оптической кюветы.

Целью данной работы является: Развитие оптической модели эритроцита и разработка метода характеристики зрелых эритроцитов человека, основанного на решении параметрической обратной задачи светорассеяния.

Задачами данной работы являются:

1. Разработать оптическую модель и численный метод расчёта формы эритроцита человека на основе принципов минимизации функционала энергии для замкнутых оболочек;
2. Разработать численный метод решения параметрической обратной задачи интерполяцией по предварительно рассчитанной базе данных, обладающий заданной точностью решения;
3. Произвести систематическое исследование и выбор наилучшего численного метода для моделирования светорассеяния эритроцитами с точки зрения точности и вычислительной сложности;
4. Разработать и программно реализовать численный метод решения обратной задачи светорассеяния для эритроцитов;
5. Разработать и программно реализовать метод определения качественных свойств кварцевых капилляров, применяемых для измерения индикатрис светорассеяния.

Научная новизна:

1. Разработана новая математическая модель и аппроксимационная формула для расчёта формы эритроцита, описываемая тремя параметрами (диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина), отвечающая минимуму энергии деформации поверхности;
2. Разработан адаптивный метод построения интерполяционной базы данных для решения параметрической обратной задачи на основе анализа прямой задачи;
3. Впервые разработан и программно реализован метод характеристики эритроцитов человека, который позволяет определять форму эритроцитов, включая 11 морфологических характеристик эритроцита (диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина, показатель преломления, объём, площадь, индекс сферичности, спонтанная кривизна, безразмерная спонтанная кривизна, концентрация гемоглобина, содержание гемоглобина в эритроците), с высокой скоростью (около 100 клеток в секунду) и высокой точностью (погрешность индивидуальных измерений характеристик 0.34 мкм, 0.07 мкм и 8 фл для диаметра, толщины и объёма соответственно).

Теоретическая ценность работы заключается в:

- Разработке аппроксимационной модели эритроцита, основанной на физических принципах минимума энергии деформации поверхности;
- Развитии численных методов решения обратных задач на основе анализа прямой задачи, связанного с разработкой адаптивного метода построения интерполяционной базы данных;
- Развитии методов решения обратной задачи светорассеяния.

Практическая ценность работы:

- Разработанный численный алгоритм определения формы эритроцита (аппроксимационная формула) может быть использован для моделирования различных физических и биологических процессов;
- Разработанный метод построения интерполяционной базы данных может быть использован при решении различных обратных задач при известном численном решении прямой задачи;
- Метод характеристики эритроцитов расширяет возможности современных биомедицинских исследований и клинической диагностики, позволяя более глубокое исследование клеток крови;
- Разработанные методы могут быть использованы в развитии потенциала сканирующего проточного цитометра для характеристики клеток крови.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Аппроксимационная формула расчёта формы эритроцита человека, описываемого тремя параметрами (диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина), основанная на принципах минимума энергии деформации поверхности со среднеквадратической погрешностью аппроксимации менее 50 нм.

2. Адаптивный метод построения интерполяционной базы данных для решения параметрической обратной задачи светорассеяния, основанный на анализе прямой задачи. Точность решения обратной задачи светорассеяния для диаметра сферических частиц составляет 27 нм, показателя преломления –  $0.44 \times 10^{-2}$ .

3. Метод характеристики нативных эритроцитов человека по индикатрисам светорассеяния (с помощью СПЦ) с возможностью определения 5 первичных (диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина, показатель преломления, угол ориентации относительно падающего излучения) и 7 производных (объём, площадь, индекс сферичности, спонтанная кривизна, безразмерная спонтанная кривизна, концентрация гемоглобина, содержание гемоглобина) характеристик клеток. Медианная погрешность определения диаметра составляет – 0.34 мкм, толщины – 0.07 мкм, объёма – 9 фл.

Апробация работы: Результаты диссертации опубликованы в 8 статьях, список которых приложен к автореферату. Содержание диссертации докладывалось на международных конференциях: Международной конференции «Оптика биологических частиц» (Новосибирск, 3-6 октября 2005 г.); III Евразийском конгрессе по медицинской физике и инженерии "МЕДИЦИНСКАЯ

ФИЗИКА-2010" (Москва, 21-25 июня 2010 г.); Международной конференции «Electromagnetic and Light Scattering XIII», 26–30 September 2011, Taormina, Italy); Международной конференции «Специальные техники измерений (поляриметрия) и удаленное зондирование» (Украина, Киев, 12-27 сентября 2010 г.); IV Международной молодежной школы-конференции «Теория и численные методы решения обратных и некорректных задач», Новосибирск, 5–12 августа 2012г.; XIV Международной конференции «Electromagnetic and Light Scattering», Лилль, Франция, 17-21 июня 2013 г.; Международной конференции «Mathematical Modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology», Новосибирск, 24-27 июня 2014 г.; Научных семинарах в Институте химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, Институте вычислительных технологий СО РАН, Институте математики им. С.Л.Соболева СО РАН, Институте вычислительной математики и математической геофизики СО РАН.

Структура диссертационной работы: Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка сокращений и списка цитированной литературы, включающего 132 наименований. Диссертация изложена на 90 страницах, включает 8 таблиц и 48 рисунков.

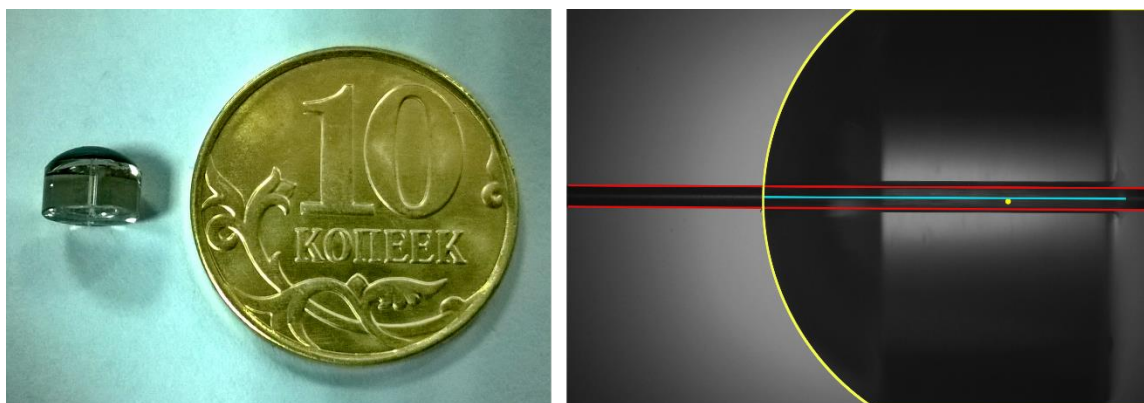
Личный вклад: Автор участвовал в постановке задач, обсуждаемых в диссертации, принимал непосредственное участие в экспериментальных и теоретических исследованиях, представленных в работе, получил оригинальные результаты, а также провёл их анализ и обсуждение.

### Содержание работы

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, определены цели и задачи работы, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, и дано краткое описание диссертации по главам.

Первая глава представляет собой литературный обзор, в котором рассматриваются подходы к моделированию формы и оптических свойств эритроцитов. Приведено описание морфологических свойств (характеристик) эритроцитов (диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина, объём, площадь, содержание гемоглобина и т.д.), диапазоны изменения данных характеристик, а также физические механизмы определения формы. Описаны существующие методы измерения характеристик, их особенности и показано преимущество предлагаемого метода измерений. Рассмотрены методы моделирования светорассеяния от эритроцитов, описанные в литературе, указаны особенности, а также теоретические и практические ограничения методов. Рассмотрены методы решения обратной задачи светорассеяния для одиночных частиц. Приведены эмпирические методы, метод нейронных сетей, спектральные методы, методы градиентного спуска и глобальной оптимизации, метод интерполяции по предварительно рассчитанной базе данных. Показаны особенности данных методов.

Вторая глава посвящена методам определения качества оптической кюветы СПЦ. Кювета представляет из себя кварцевый цилиндр диаметром 5 мм и длиной 5 мм, одно из оснований которого отшлифовано до сегмента шара (см. Рис. 1). По центру параллелепипеда проходит капилляр диаметром 254 мкм. Для последующего корректного измерения оптических сигналов (индикатрис светорассеяния) на СПЦ необходимо, чтобы расстояние между центром сферического зеркала и центра капилляра кюветы не превышало 20 мкм. Для решения задачи измерения данного расстояния разработана оптическая схема измерений, включающая фоточувствительную матрицу в качестве средства измерения. Изображение получается рассеянием кюветой света от источника и проекцией на фотоматрицу. К полученным с помощью фотоматрицы растровым изображениям применены методы обработки изображений. В частности, для выделения границ использованы градиентные методы наложением маски (дифференциального оператора) на растровое изображение. По найденным границам произведена аппроксимация графическими примитивами (прямыми и окружностями), определено взаимное расположение найденных графических примитивов и представлены погрешности аппроксимации. Разработан программный модуль для контроля качества изготовления оптических кювет. Представлены результаты использования разработанного метода для определения качества кварцевых оптических кювет. Были измерены 4 оптические кюветы в двух перпендикулярных проекциях (для каждой проекции с двух симметричных сторон). Показано, что 3 кюветы изготовлены со значительными погрешностями (смещениями центров капилляра и сферического зеркала от 30 до 80 мкм), а четвертая может быть использована для проведения дальнейших измерений.



**Рис. 1** Фотография оптической кюветы и масштабной монеты (слева) и результат обработки снимка с помощью разработанного метода (справа). Найденная граница сферической части кюветы, аппроксимированная с помощью окружности, показана жёлтым цветом, найденная граница капилляра, аппроксимированная с помощью пары прямых, - красным цветом, ось капилляра - голубым цветом

Третья глава посвящена разработке оптической модели и аппроксимационной формулы для формы эритроцита. Известно, что форма замкнутых эластичных оболочек определяется условием минимума энергии деформации поверхности. В математической формулировке это означает, что задача состоит в нахождении замкнутой поверхности  $A$ , отвечающей минимуму интеграла кривизны по поверхности:

$$E(A, c_0) = \frac{k_c}{2} \oint_A (c_p + c_m - c_0)^2 ds, \quad (1)$$

при заданных объёме  $V$ , площади поверхности  $S$  и спонтанной кривизне  $c_0$ ;  $c_p$  и  $c_m$  – главные кривизны поверхности,  $k_c$  – константа упругости.

В разделе 3.1 показано, что всё многообразие форм на самом деле может быть описано двумя параметрами: индексом сферичности  $SI = 3\sqrt{4\pi}VS^{-3/2}$  и безразмерной спонтанной кривизной  $c_d = c_0(S/(4\pi))^{1/2}$ , а параметр  $V$  играет роль масштабирующего коэффициента.  $SI$  представляет собой отношение объёма нативного эритроцита  $V$  к объёму эритроцита, сферизованного с сохранением площади поверхности  $S$ . Рассмотрены два численных метода расчёта формы, соответствующей минимуму интеграла кривизны: итерационный метод деформации трёхмерной поверхности (Surface Evolver) и метод минимизации энергии поверхности вращения. Показана значительная вычислительная сложность метода эволюции трёхмерной поверхности.

В разделе 3.2 более подробно рассмотрен метод минимизации энергии поверхности вращения и представлена численная реализация метода. Метод основан на приведении задачи минимизации интеграла кривизны поверхности к уравнению Эйлера-Лагранжа, а далее – к системе обыкновенных дифференциальных уравнений для сегмента двумерного профиля:

$$\begin{cases} \frac{dc_m}{ds} = \pm(1 - fc_p^2)^{-1/2} \left\{ c_p \left[ (c_p - c_0)^2 - c_m^2 \right] + 2(\lambda/k_c)c_p \right\} \\ \frac{dc_p}{ds} = \pm 2(1 - fc_p^2)^{1/2} (c_m - c_p) / f \\ \frac{df}{ds} = \pm 4(1 - fc_p^2)^{1/2}, \end{cases} \quad (2)$$

где  $s$  – нормализованная площадь, равная 0 на верхнем полюсе поверхности, 0.5 – на экваторе и 1 - на нижнем полюсе,  $f = x^2$ ,  $x$  – расстояние до оси вращения,  $c_p(s), c_m(s)$  - главные кривизны. Система (2) в свою очередь решается методом стрельбы, вариацией граничных условий с целью достижения в промежуточной точке двумерного профиля гладкой сшивки. Наличие локальных минимумов оптимизационной задачи подбора граничных условий обуславливает использование методов глобальной оптимизации. В частности, в данной работе использован итерационный метод глобальной оптимизации DiRect, предполагающий последовательное разбиение области определения параметров на подобласти (согласно условиям на рассчитанные значения функционала и структуре разбиения) с последующим уточнением значения функционала, а также метод сопряжённых градиентов из разных стартовых точек области определения (мультистарт).

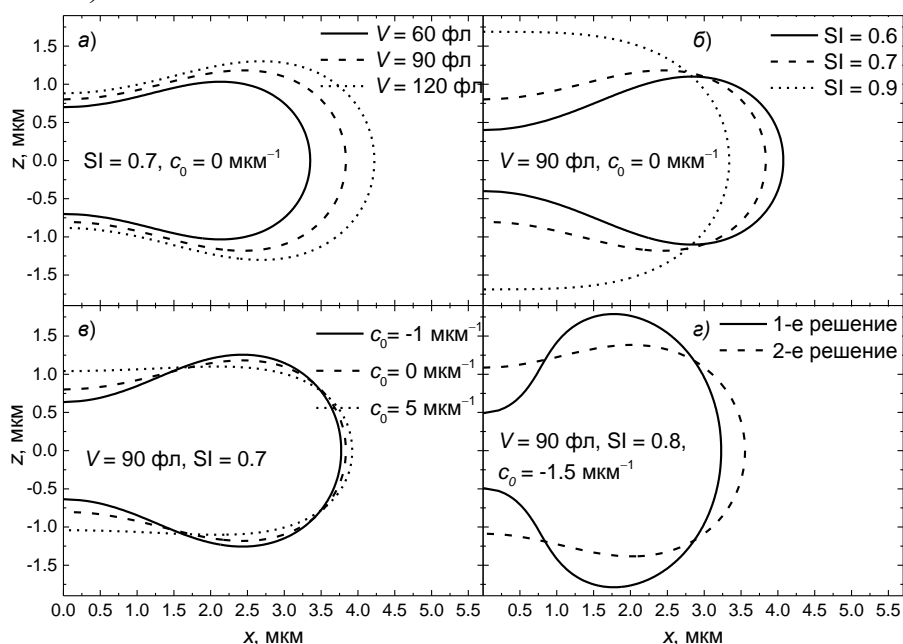


На Рис. 2 представлены примеры профилей, как результат решения системы (2) при различных заданных параметрах формы. При исследовании свойств численного метода обнаружены области многозначности решения задачи определения формы (Рис. 3). Показано, что неоднозначное решение связано не с особенностями численного алгоритма, а с фундаментальными особенностями задачи. Действительно, при сравнении с методом эволюции трёхмерной поверхности выявлены аналогичные двойные решения.

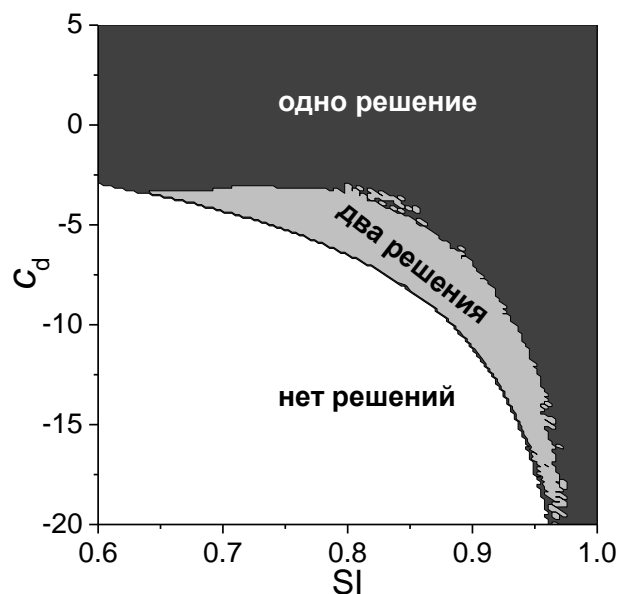
Для решения обратных задач необходима однозначность при моделировании формы, поэтому предложена альтернативная параметризация  $d, h_1, h_2$  — диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина соответственно.

Произведена численная проверка однозначности решения в новой параметризации. Определение формы напрямую в данной случае предполагает вычислительно сложный алгоритм двухуровневой подгонки, в связи с чем предложена аппроксимационная формула, позволяющая с высокой точностью и скоростью моделировать форму эритроцита.

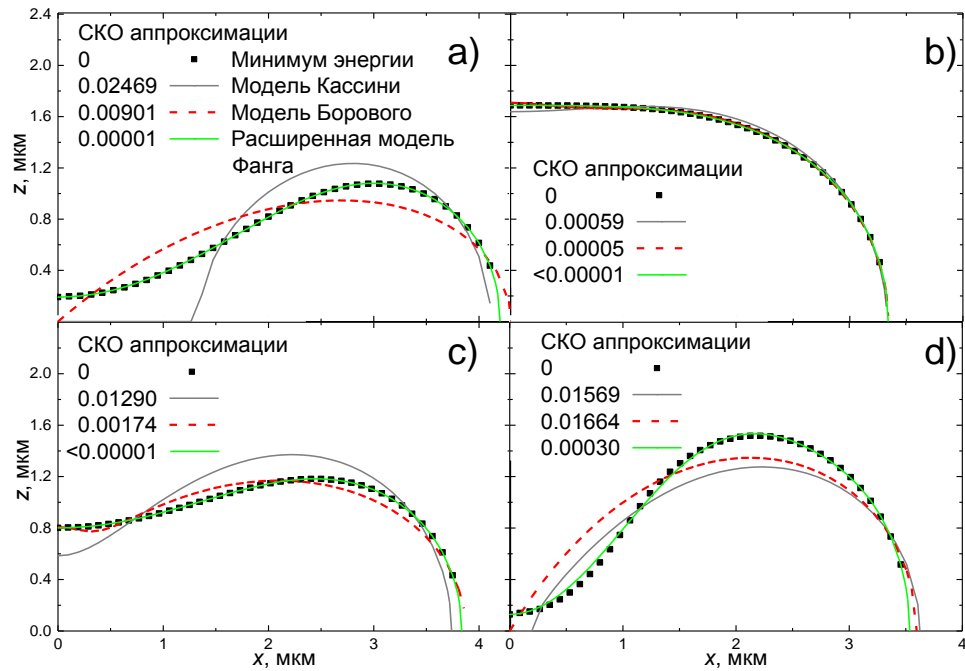
В разделе 3.3 рассматриваются представленные в литературе аппроксимационные формулы эритроцита (модель Фанга, модель А. Борового, овалы Кассини) и показываются их особенности. Предлагается



**Рис. 2** Примеры профилей эритроцитов, рассчитанных с помощью метода решения системы дифференциальных уравнений (2): а)  $SI = 0.7, c_0 = 0 \text{ мкм}^{-1}$ , и различными  $V$ ; б)  $V = 90 \text{ фл}, c_0 = 0 \text{ мкм}^{-1}$ , и различными  $SI$ ; в)  $V = 90 \text{ фл}, SI = 0.7$ , и различными  $c_0$ ; г) двузначное решение для  $V = 90 \text{ фл}, SI = 0.8, c_0 = -1.5 \text{ мкм}^{-1}$ .



**Рис. 3** Число осесимметричных двояковогнутых форм эритроцитов от двух безразмерных параметров формы  $SI, c_d$ . Белый цвет — нет решений, серый — одно решение, светло-серый — два решения.



**Рис. 4** Аналитические приближения профилей эритроцитов для различных параметров частиц. а)  $V = 90$  фл,  $SI = 0.55$ ,  $c_0 = 0$  мкм $^{-1}$ ; б)  $V = 90$  фл,  $SI = 0.9$ ,  $c_0 = 0$  мкм $^{-1}$ ; в)  $V = 90$  фл,  $SI = 0.7$ ,  $c_0 = 0$  мкм $^{-1}$ ; д)  $V = 90$  фл,  $SI = 0.7$ ,  $c_0 = -1.2$  мкм $^{-1}$ .

аппроксимационная формула для расчёта формы эритроцита («расширенная модель Фанга»):

$$z = \pm(d/2)\sqrt{1 - (2x/d)^2} \sum_{n=0}^{N-1} C_n (2x/d)^{2n}, \quad (3)$$

где  $d$  – диаметр,  $C_0 - C_{N-1}$  – свободные параметры, определяемые приближением

$$C_k(h_1/d, h_2/d) = \sum_{i=0}^4 \sum_{j=0}^4 p_{i,j}^k (h_1/d)^i (h_2/d)^j, \quad (4)$$

где  $p_{i,j}^k$  – аппроксимационные коэффициенты, найденный методом линейной регрессии. Показывается превосходство данной модели по точности над моделями, представленными в литературе (см. Рис. 4). Погрешность предложенной аппроксимационной формулы в наиболее неблагоприятном случае (максимальной отношение  $h_2/h_1$ ) составляет не более 50 нм (среднеквадратичная ошибка аппроксимации). Таким образом, разработан эффективный метод расчёта формы эритроцита, основанный на физических принципах. Метод расчёта формы эритроцита реализован в виде программы в среде LabView.

Четвёртая глава посвящена разработке численных методов решения параметрической обратной задачи. В данный момент не найдено ни аналитического, ни общего численного решения обратной задачи светорассеяния для одиночных частиц. Однако существует численное решение прямой задачи, поэтому для решения обратной задачи возможно использовать методы оптимизации. Вычислительная сложность решения прямой задачи высока (расчёт одной индикатрисы светорассеяния для несферизованного эритроцита на одном ядре процессора частотой 3.2 МГц занимает около 1 минуты), поэтому использование оптимизационного процесса с использованием расчёта прямой задачи для каждой частицы требует значительных вычислительных ресурсов. Для

ускорения численного решения можно использовать метод интерполяции по предварительно построенной базе данных. Однако возникает вопрос о структуре и плотности интерполяционной базы данных. В работе предложен итерационный адаптивный метод построения интерполяционной базы данных на основе анализа прямого отображения. Метод предполагает итерационное заполнение базы данных, основываясь на проверке следующих условий на элементах базы данных: а) локальной корректности отображения; б) требуемой погрешности решения обратной задачи. Для описания алгоритма вводятся две нормы.

$$\delta_1(x) = \min_{u \in X_1 \setminus B(x, \varepsilon)} \|f(u) - f(x)\|, \delta_2(x) = \max_{u \in N(x)} \|f(u) - f(x)\| \quad (5)$$

где  $\varepsilon$  – требуемая точность решения обратной задачи,  $B(x, \varepsilon)$  – шар размера  $\varepsilon$  с центром в  $x$ ,  $N(x)$  – соседние точки в базе данных,  $\delta_1(x)$  – ближайшее расстояние до образа точек, не являющимися соседними к  $x$  в пространстве параметров,  $\delta_2(x)$  – наиболее удалённое расстояние до образа соседа точки  $x$ ,  $X_1$  – узлы базы данных. Условием дополнительного расчёта базы данных в окрестности точки  $x$  (локальное уплотнение) является нарушение условия  $\delta_1(x) > \delta_2(x)$ , требующего, что все образы соседей данной точки  $x$  должны лежать ближе, чем образы несоседей, удалённых более, чем на  $\varepsilon$ . Формально алгоритм построения базы данных может быть выражен следующим образом:

*Нормализовать область параметров в единичный гиперкуб*

*Сформировать начальные точки базы данных  $X_1$*

*Do*

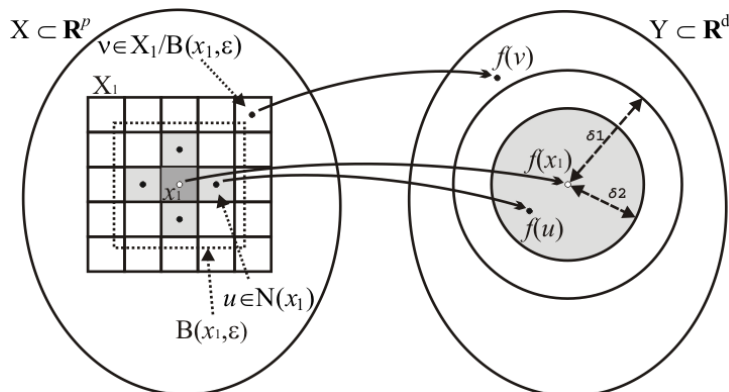
*{ Определить множество точек  $S$ , которые не удовлетворяют условию  $\delta_1(x) > \delta_2(x)$*

*Для каждого  $x \in S$*

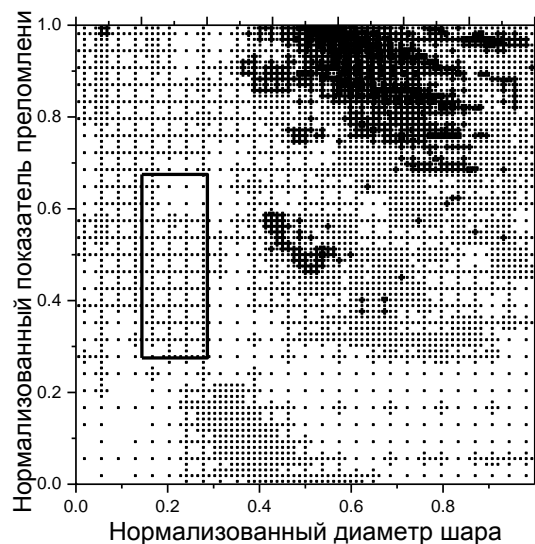
*{ Разделить гиперпрямоугольник, соответствующий  $x$ , на гиперпрямоугольники меньшего размера }*

*}*

*While ( $S \neq \emptyset$ )*



**Рис. 5** Схематическая иллюстрация определений (5)



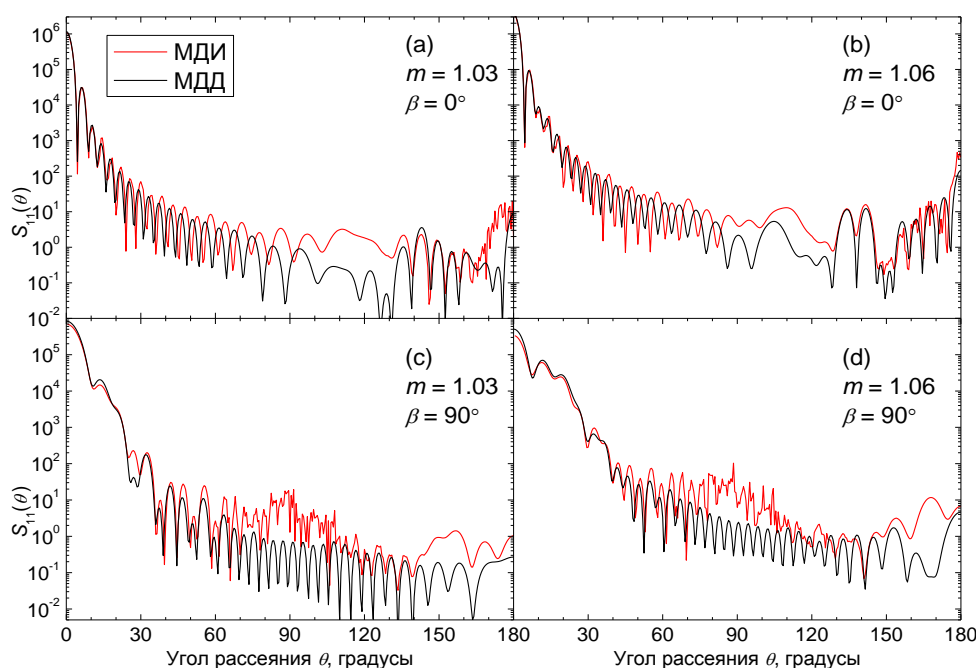
**Рис. 6** Иллюстрация структуры построенных баз данных в пространстве параметров частиц.

Разделение на гиперпрямоугольники может осуществляться различными методами. В данной работе использована структура разбиения аналогичная разбиению метода DiRect, предполагающая разбиение на три равные части вдоль одного из параметров. Иллюстрация условия представлена на Рис. 5. Предложено теоретическое обоснование метода и численный алгоритм. Доказана теорема о сходимости данного алгоритма в предположении гладкости прямого и обратного отображения.

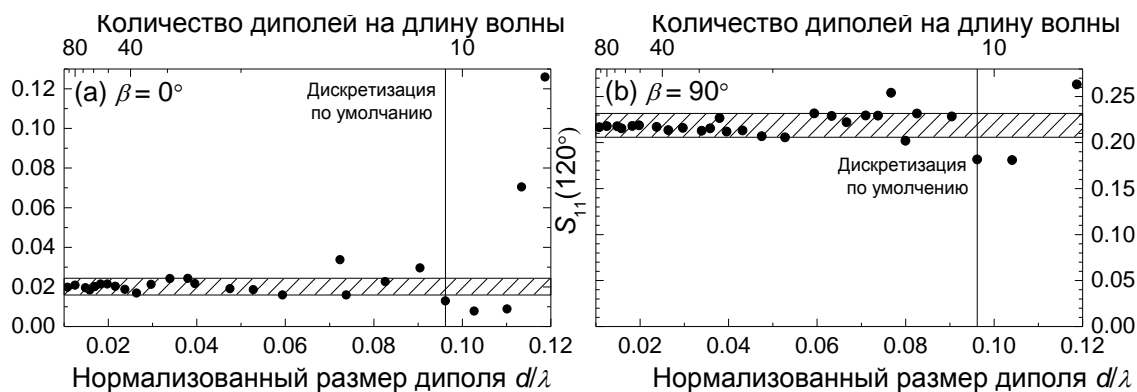
Данный метод использован при построении интерполяционной базы данных для решения обратной задачи для сферических частиц. В этом случае прямая задача может быть рассчитана по теории Ми с вычислительной сложностью  $\approx 1$  мс на одном ядре процессора частотой 3.2 МГц. На Рис. 6 показана структура базы данных, рассчитанной в результате работы предложенного метода. Сходимость алгоритма предполагает, что для каждого узла базы данных условие  $\delta_1(x) > \delta_2(x)$  выполнено. Произведено исследование влияния входных параметров на точность решения и чувствительность решения к наложению шума на индикатрисы (гауссов шум амплитудой 20 %), а также геометрическим деформациям частиц (сфероид с соотношением осей от 0.9 до 1.1).

Метод реализован в виде программного модуля в среде LabView, использован для определения характеристик полистирольных микросфер (средние значения диаметра и показателя преломления  $d = 3.72 \pm 0.08$  мкм,  $m = 1.195 \pm 0.06$ ) и показал совпадение с высокой точностью с данными производителя (средний диаметр  $d = 3.93 \pm 0.39$  мкм, показатель преломления  $m \approx 1.19$ ) и с эталонным методом глобальной оптимизации DiRect (средние значения  $d = 3.76 \pm 0.08$  мкм,  $m = 1.208 \pm 0.04$ ).

Пятая глава посвящена исследованию применимости численных методов моделирования светорассеяния для эритроцитов человека. В частности,



**Рис. 7**  $S_{11}(\theta)$  в логарифмическом масштабе для эритроцита с  $D = 8$  мкм,  $m = 1.03$  (a,c) и  $1.06$  (b,d),  $\beta = 0^\circ$  (a,b) и  $90^\circ$  (c,d) рассчитанные с помощью МДИ и МДД.



**Рис. 8** Сходимость результатов МДД для  $S_{11}(120^\circ)$  при увеличении плотности дискретизации для эритроцита с  $D = 7.5$  мкм,  $m = 1.03$ ,  $\beta = 0^\circ$  (а) и  $\beta = 90^\circ$  (б). Доверительные интервалы, определённые из этих данных, показаны заштрихованными областями.

исследованы наиболее подходящие по характеристикам – метод дискретных источников (МДИ) и метод дискретных диполей (МДД). Оба метода основаны на численном решении уравнений Максвелла, однако МДИ предполагает разложение электромагнитного поля в ряд по сферическим гармоникам, а МДД – дискретизацию рассеивающей частицы набором точечных диполей. Ранее в литературе не было проведено систематического сравнения данных методов и не были ясны границы применимости для моделирования светорассеяния от эритроцитов. В данной работе исследовано влияние параметров модели и методов на точность и вычислительную сложность методов. На Рис. 7 представлено сравнение индикатрис светорассеяния, рассчитанных МДИ и МДД. Показано, что различие в индикатрисах светорассеяния связано с неточностью МДИ, в то время как МДД сходится при увеличении числа диполей (уменьшения размера диполя) – см. Рис. 8. Кроме того, МДИ показывает еще более некорректные результаты при увеличении размера эритроцитов, а также при увеличении угла наклона оси вращения частицы от направления падающего излучения. В связи с тем, что скорость вычислений МДД сопоставима с МДИ ( $\approx 1$  минута на одном ядре процессора частотой 3.2 МГц), МДД выбран в качестве метода расчёта прямой задачи светорассеяния. Произведено исследование оптимальной дискретизации геометрической модели (размера диполя) для моделирования светорассеяния эритроцитами человека.

Шестая глава посвящена решению обратной задачи светорассеяния для эритроцитов на основе результатов предыдущих глав. Приведен метод решения обратной задачи, основанный на интерполяции по предварительно рассчитанной базе данных и методе оценки погрешности решения обратной задачи. Модель эритроцита описана пятью параметрами: диаметр  $d$ , минимальная толщина  $h_1$ , максимальная толщина  $h_2$ , показатель преломления  $n$ , угол ориентации относительно падающего излучения  $\Psi$ , 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. База данных рассчитана в диапазоне параметров, показанном в Таблице 1, и содержит 605000 записей. Расчёт осуществлён с

Параметр	Минимальное значение	Максимальное значение
Диаметр $d$ , мкм	4.0	10.01
Минимальная толщина $h_1$ , мкм	0.01	7.0
Максимальная толщина $h_2$ , мкм	1.3	7.0
Показатель преломления $n$	1.385	1.43
Угол ориентации $\Psi$ , градусы	70	90

Таблица 1 Диапазоны параметров для построения базы данных индикатрис

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 ( $d$ ,  $h_1$ ,  $h_2$ ,  $n$ ,  $\Psi$ ), а также производные параметры (объем  $V$ , площадь  $S$ , индекс сферичности  $SI$ , спонтанная кривизна  $c_0$ , безразмерная спонтанная кривизна  $c_d$ , 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. Приведены результаты характеризации эритроцитов человека. Описаны процедуры пробоподготовки и измерения индикатрис эритроцитов. Обработано 22 условно-здоровых донора, для каждого из которых было измерено  $\approx 1000$  индикатрис. Для каждой индикатрисы была решена обратная задача интерполяцией по базе данных, определены характеристики эритроцитов и погрешности определения характеристик. На Рис. 9 показаны

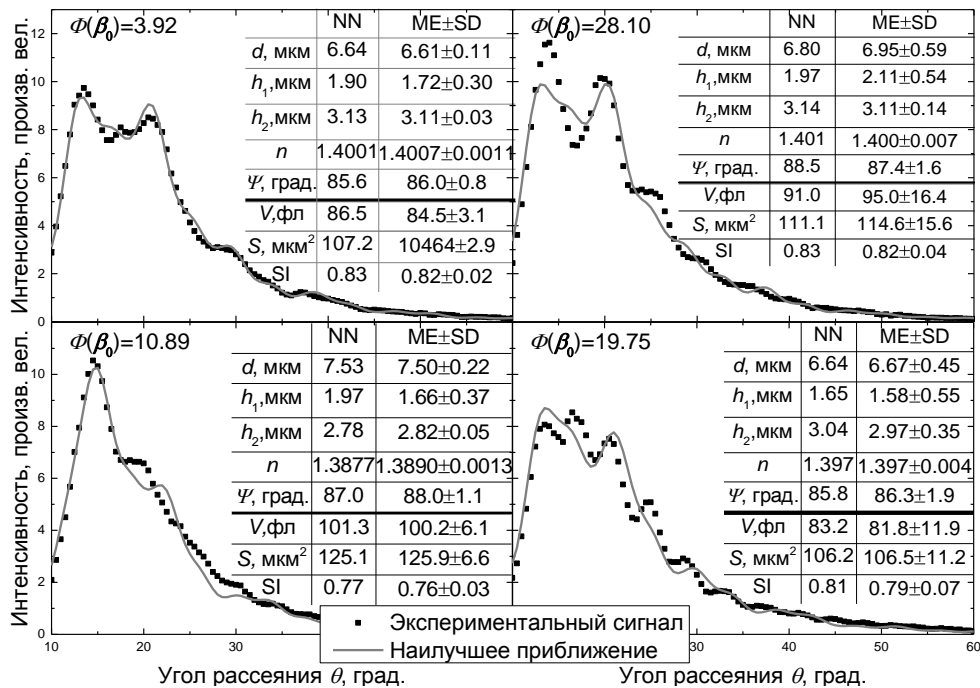
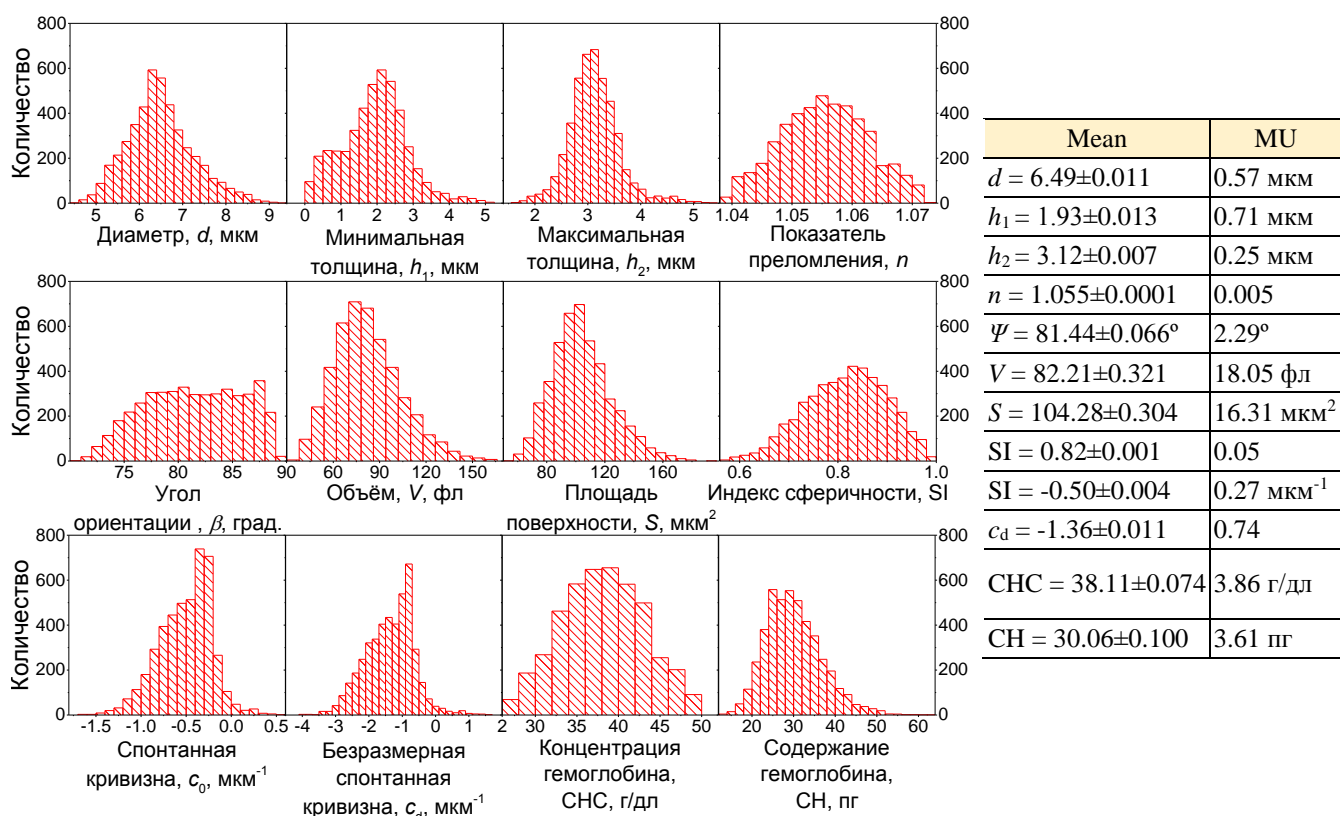


Рис. 9 Типичные измеренные индикатрисы и соответствующие им найденные в базе данных. Также представлены характеристики, отвечающие ближайшей индикатрисе по базе данных (NN) и оценки первичных и производных характеристик (математическое ожидание и стандартное отклонение,  $ME \pm SD$ ), а также норма невязки  $\Phi(\beta_0) = \|I^{theor} - I^{exp}\|$ .



**Рис. 10** Распределение характеристик эритроцитов донора №21, а также средние значения (Mean) и погрешности индивидуальных измерений (MU) для каждой их характеристик

результаты обработки отдельных эритроцитов. Приведены распределения характеристик отдельных доноров (Рис. 10), средние величины и погрешности всех 22 измеренных доноров.

Предложенный метод характеристики обладает высокой точностью индивидуальных измерений (медианная погрешность определения диаметра на уровне 1 стандартного отклонения составляет 0.34 мкм, толщины - 0.07 мкм, объёма - 9 фл). Полученные средние значения и распределения характеристик эритроцитов соответствуют литературным данным.

В заключении сформулированы основные результаты работы, которые опубликованы в 8 статьях и 8 тезисах конференций.

### Результаты работы:

1. Разработана оптическая модель эритроцита и предложена аппроксимационная формула расчёта формы эритроцита человека, описываемого тремя параметрами (диаметр, минимальная толщина, максимальная толщина), основанная на принципах минимума энергии деформации поверхности со среднеквадратической погрешностью аппроксимации менее 50 нм. Произведён выбор наилучшего метода моделирования светорассеивающих свойств эритроцитов.
2. Предложен и реализован адаптивный метод построения оптимальной интерполяционной базы данных для решения параметрической обратной задачи светорассеяния, основанный на анализе прямой задачи. При скорости решения более чем в 100 раз выше, чем методы глобальной оптимизации, точность



определения диаметра сферических частиц составляет 27 нм, показателя преломления  $n = 0.44 \times 10^{-2}$ .

3. Предложен и реализован метод характеристики нативных эритроцитов человека по индикатрисам светорассеяния (измеренных на СПЦ) с возможностью определения 5 первичных (диаметр, толщина, перетяжка, показатель преломления, угол ориентации) и 7 производных (объем, площадь, индекс сферичности, спонтанная кривизна, безразмерная спонтанная кривизна, концентрация гемоглобина, содержание гемоглобина) характеристик клеток. Медианная погрешность определения диаметра составляет - 0.34 мкм, толщины - 0.07 мкм, объема - 9 фл.
4. Разработан метод определения качественных свойств оптической кюветы сканирующего проточного цитометра на основе анализа изображений

### **Публикации по теме диссертации**

1. Berdnik, V. V., Gilev, K., Shvalov, A., Maltsev, V. & Loiko, V. A. Characterization of spherical particles using high-order neural networks and scanning flow cytometry. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 102, 62–72 (2006).
2. Dyatlov, G. V., Gilev, K. V., Semyanov, K. A. & Maltsev, V. P. The scanning flow cytometer modified for measurement of two-dimensional light-scattering pattern of individual particles. *Meas. Sci. Technol.* 19, 015408 (2008).
3. Strokotov D.I., Yurkin M.A., Gilev K.V., van Bockstaele D.R., Hoekstra A.G., Rubtsov N.B., and Maltsev V.P.. Is there a difference between T- and B-lymphocyte morphology? *J. Biomed. Opt.* 14, 64036 (2009).
4. Gilev, K. V., Eremina, E., Yurkin, M. A. & Maltsev, V. P. Comparison of the discrete dipole approximation and the discrete source method for simulation of light scattering by red blood cells. *Opt. Express* 18, 5681–5690 (2010).
5. Dyatlov, G. V., Gilev, K. V., Yurkin, M. A. & Maltsev, V. P. An optimization method with precomputed starting points for solving the inverse Mie problem. *Inverse Probl.* 28, 45012 (2012).
6. Gilev, K. V., Yurkin, M. A., Dyatlov, G. V., Chernyshev, A. V. & Maltsev, V. P. An optimization method for solving the inverse Mie problem based on adaptive algorithm for construction of interpolating database. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 131, 202–214 (2013).
7. Konokhova A.I., Rodionov A.A., Gilev K.V., Mikhaelis I.M., Strokotov D.I., Moskalensky A.E., Yurkin M.A., Chernyshev A.V., and Maltsev V.P. Enhanced characterisation of milk fat globules by their size, shape and refractive index with scanning flow cytometry. *Int. Dairy J.* 39, 316–323 (2014).
8. Gilev K.V., Yurkin M.A., Chernyshova E.S., Strokotov D.I., Chernyshev A.V., and Maltsev V.P. Mature red blood cells: from optical model to inverse light-scattering problem. *Biomed. Opt. Express* 7, 1305 (2016).