РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО ПОДСЧЕТА КЛЕТОК В ПОЛЕ ЗРЕНИЯ В НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЕ

Леванчук Артём Викторович, Тихомирова Александра Александровна, Дохов Михаил Александрович, Крылова Юлия Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

E-mail: tikhomirova@bk.ru

Ключевые слова: морфометрия, подсчет клеток, сегментация, цитометрия, анализ изображений

Введение. Новые технологии получения изображений с высокой пропускной способностью стали важной частью исследований, как физиологии клеток, так и системной биологии, и для большинства работ в этом направлении характерна необходимость количественной оценки и анализа клеток/клеточных популяций. Морфометрические исследования клеток и их количественный анализ применяются также и в цитологической диагностике отдельных нозологий, для которых маркерами заболевания являются следующие факторы: размеры клеток, фактор формы клеток, количественные отношения клеток разного вида к общему числу клеток, количественные отношения числа клеток к занимаемой ими площади и средние размеры клеток на исследуемых изображениях [1]. В литературе описано множество автоматизированных алгоритмов подсчета клеток, способных выдавать качественный результат только при строгом соблюдении определенного набора критериев.

Цель исследования. проранжировать программное обеспечение для автоматизированного подсчета клеток в поле зрения по частоте встречаемости в научной литературе.

Материалы и методы. Для автоматизированной визуализации характерно одно общее требование и наиболее сложный этап анализа данных цитометрии изображений — способность обнаруживать и очерчивать контур отдельных клеток. Этот процесс называется «сегментация ячеек» и заключается в группировке пикселей, принадлежащих одной ячейке [2]. Данный вид исследований не может быть эффективно выполнен без инструмента автоматизированного анализа клеточных изображений и их сегментирования на области, соответствующие отдельным клеткам (ячейкам) [2]. С этой целью были разработаны различные свободно доступные программные инструменты, чтобы помочь пользователям в сегментации ячеек [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. Однако каждая из вышеупомянутых реализаций сегментации обычно работает оптимально в ограниченном диапазоне экспериментальных условий, таких как определенные типы клеток, условия роста, плотности клеток и способы визуализации. Это ограничение представляет собой серьезную проблему, поскольку точная настройка сбора и анализа данных важна для процедур, выходящих за рамки оптимизированных экспериментальных условий [10].

Результат: При всей простоте концепции сегментации, её реализация связана с целым каскадом проблем имеющих общее происхождение, которым является неравномерное, непредсказуемое, имеющее огромную вариабельность прохождение света через клетку/ткань при микроскопии. Полученные изображения нуждаются в сложной многоступенчатой подготовке, призванной как можно ярче очертить границы клеток (ячеек) для распознавания программными средствами. Большинство случаев, когда изображения не были успешно проанализированы, связаны с несовершенным качеством изображения или нетипичной морфологией, возможной, например, при гибели клеток. Плохо сфокусированные изображения и «грязные» слайды также становятся помехой разработанным алгоритмам. В научной литературе, посвященной способам автоматизированного подсчета клеток в поле зрения, чаще всего упоминается использование платформы с открытым программным обеспечением ImageJ (94,5%), на втором месте система с открытым исходным кодом, предназначенная для гибкого и высокопроизводительного анализа изображений ячеек — CellProfiler (4%). Другие программные средства (Icy, BioImageXD, Waa3D) упоминаются и, следовательно, используются значительно реже — 1,5%.

Заключение. Известные на сегодняшний день программные средства компьютеризированного и автоматизированного подсчета количества клеток в поле зрения могут быть использованы только в частных случаях и ограничены целым рядом условий необходимых для успешного проведения исследований. Эти ограничения, наличие большого количества узкоспециализированных программ, а также отсутствие универсального инструмента свидетельствует о наличии проблемы в этой области.

Литература:

1. I.B. Gurevich, V.V. Yashina, I.V. Koryabkina, H. Niemann, and O. Salvetti. Descriptive Approach to Medical Image Mining. An Algorithmic Scheme for Analysis of Cytological Specimens // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. — MAIK "Nauka/Interperiodica"/Pleiades Publishing, Inc., 2008. — Vol.18, No.4. — P. 542–562.
2. Meijering E. Cell segmentation: 50 years down the road [life sciences]. IEEE Signal Process Mag 2012;29:140–145.
3. Hilsenbeck O, Schwarzfischer M, Skylaki S, Schauberger B, Hoppe PS, Loeffler D, Kokkaliaris KD, Hastreiter S, Skylaki R, Filipczyk A, et al. Software tools for single-cell tracking and quantification of cellular and molecular properties. NatBiotech 2016;34:703–706.
4. Mayer C, Dimopoulos S, Rudolf F, Stelling J. Using CellX to quantify intracellular events In: Ausubel FM, et al., editors. Current Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley & Sons, Inc; 2001.
5. Huth J, Buchholz M, Kraus JM, Molhave K, Gradinaru C, Wichert G-v, Gress TM, Neumann H, Kestler HA. TimeLapseAnalyzer: Multi-target analysis for live-cell imaging and time-lapse microscopy. Comput Methods Prog Biomed 2011;104:227–234.
6. Carpenter AE, Jones TR, Lamprecht MR, Clarke C, Kang IH, Friman O, Guertin DA, Chang JH, Lindquist RA, Moffat J, et al. CellProfiler: Image analysis software for identifying and quantifying cell phenotypes. GenomeBiol 2006;7:R100.
7. de Chaumont F, Dallongeville S, Chenouard N, Herve N, Pop S, Provoost T, Meas-Yedid V, Pankajakshan P, Lecomte T, Le Montagner Y, et al. Icy: An open bioimage informatics platform for extended reproducible research. Nat Methods 2012;9:690–696.
8. Klein J, Leupold S, Biegler I, Biedendieck R, Munch R, Jahn D. TLM-Tracker: Software for cell segmentation, tracking and lineage analysis in time-lapse microscopy movies. Bioinformatics 2012;28:2276–2277.
9. Eliceiri KW, Berthold MR, Goldberg IG, Ibanez L, Manjunath BS, Martone ME, Murphy RF, Peng H, Plant AL, Roysam B, et al. Biological imaging software tools. Nat Meth 2012;9:697–710.
10. Meijering E, Carpenter AE, Peng H, Hamprecht FA, Olivo-Marin J-C. Imagining the future of bioimage analysis. NatBiotech 2016;34:1250–1255.