



УНИВЕРСИТЕТ
ЛОБАЧЕВСКОГО

Работа выполнена на базе НИИ ЭО и БМТ ФГБОУ ВО «ПИМУ»
Минздрава РФ

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ FLIM

И.Д. Щечкин^{1,2}, С.А. Родимова¹, Н.В. Бобров³, А.М. Можеров^{1,2}, Д.С. Кузнецова^{1,2}

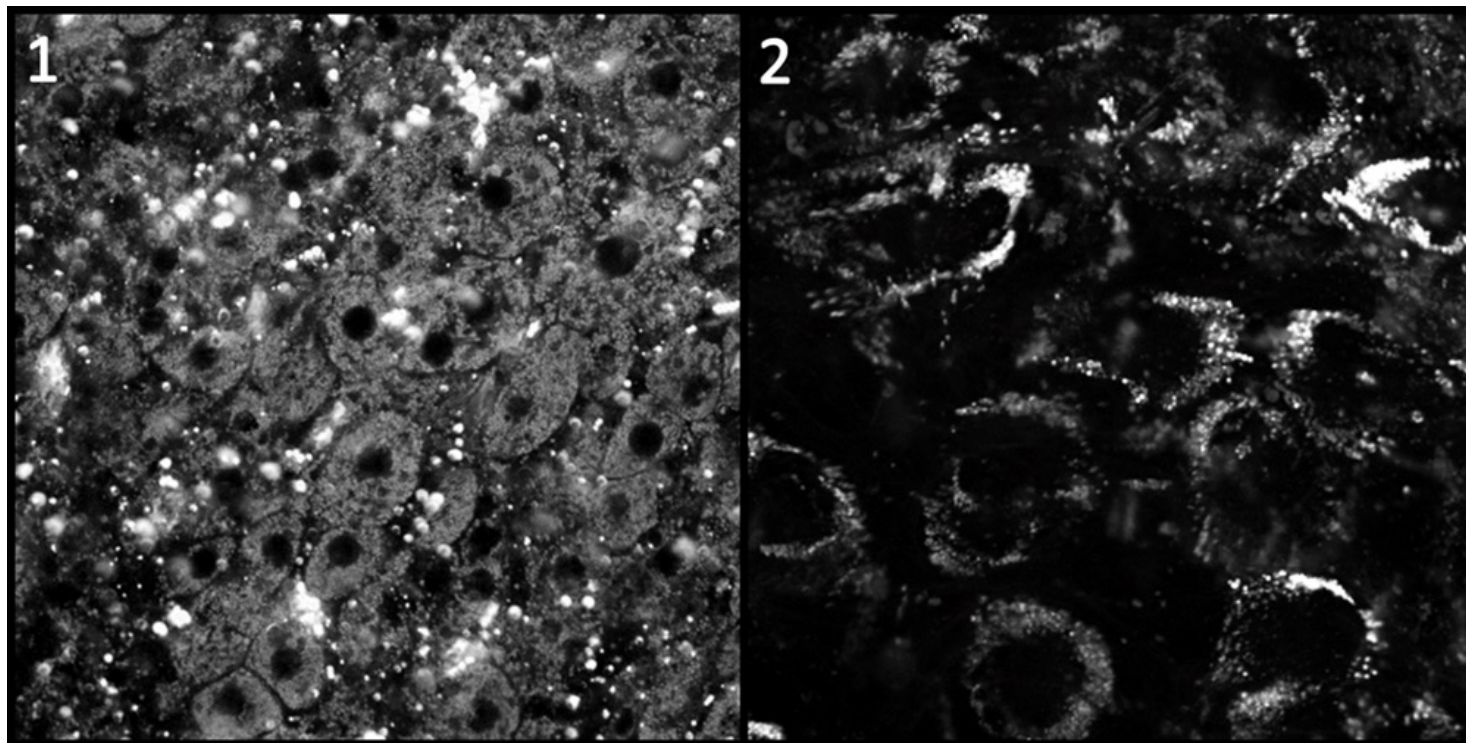
1 Научно-исследовательский институт экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий, Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, г. Нижний Новгород, Россия;

2 Нижегородский национальный исследовательский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия;

3 Приволжский областной медицинский центр, Россия, Нижневолжская наб., 2, Нижний Новгород, Россия.

Нижний Новгород
2023

FLIM



Примеры FLIM-изображений: 1 – ткань печени,
2 – дифференцирующиеся хондроциты.

Цель и задачи

Цель:

Разработка алгоритма на основе НС, способного определять характеристики флуоресценции ткани печени по FLIM изображениям.

Задачи:

- Моделирование регенерации печени у лабораторных животных;
- Проведение FLIM визуализации;
- Разработка алгоритма анализа FLIM изображений;
- Проведение анализа FLIM изображений.

Материалы и методы

Модельный объект

- 18 крыс самцов линии Wistar, весом в 300 – 400 грамм

Резекция печени (2 группы)

- 30% гепатэктомия
- 70% гепатэктомия

Лазерная сканирующая микроскопия LSM 880 (Carl Zeiss, Германия)

$\lambda_{\text{ex}} = 720 \text{ нм}$

Детекторы:

стандартный HPM-100-40: $\lambda_{\text{ex}} = 450 - 490 \text{ нм}$

Обработка и анализ результатов

SPCImage (Becker & Hickle GmbH, Германия)

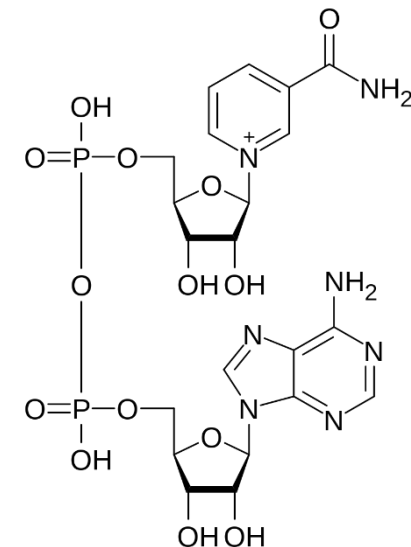
ImageJ (National Institutes of Health, США)

Google Colaboratory (Google, США)

RStudio (Posit, США)

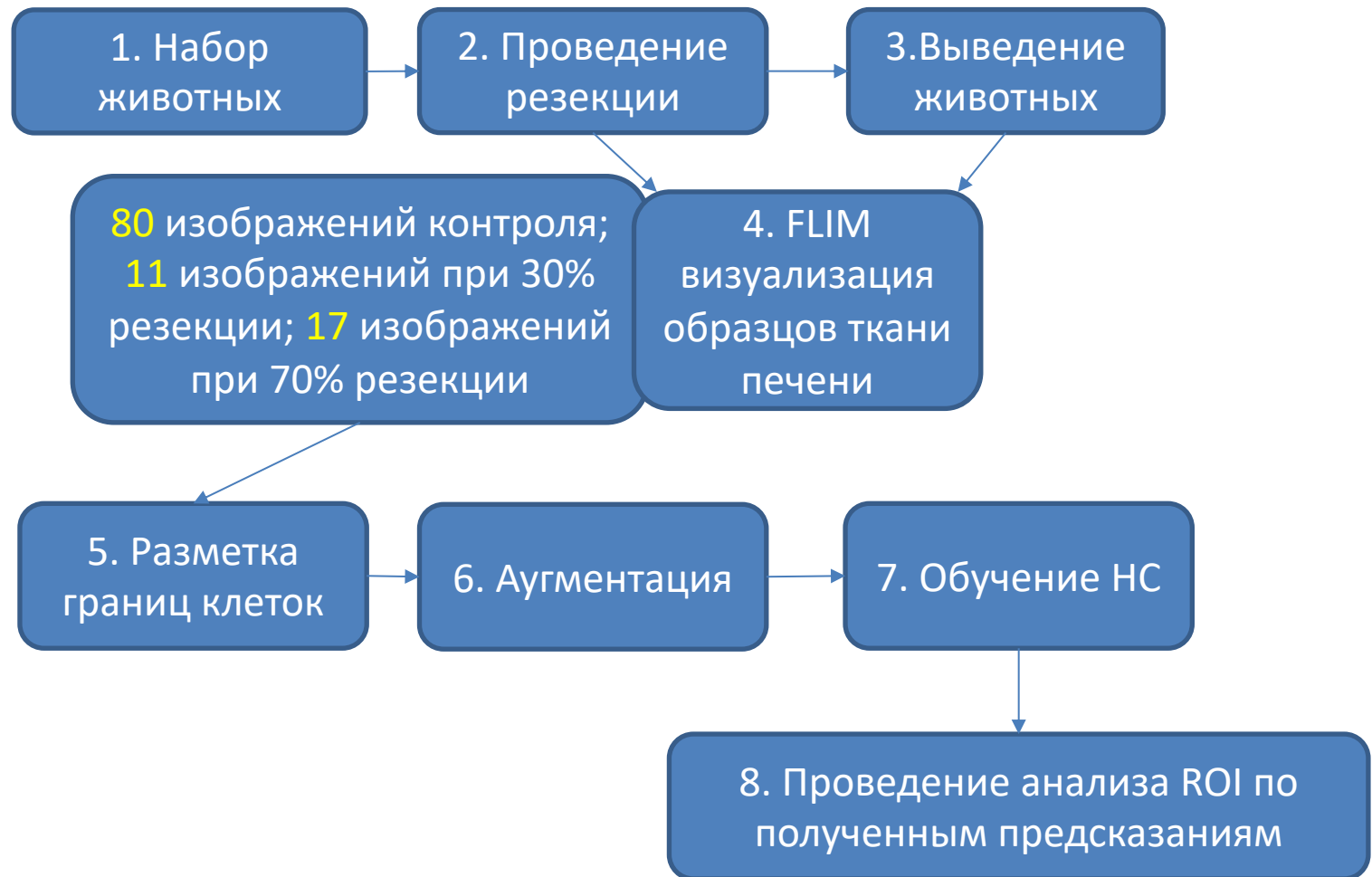


Лазерный сканирующий микроскоп
LSM 880 (Carl Zeiss, Германия).

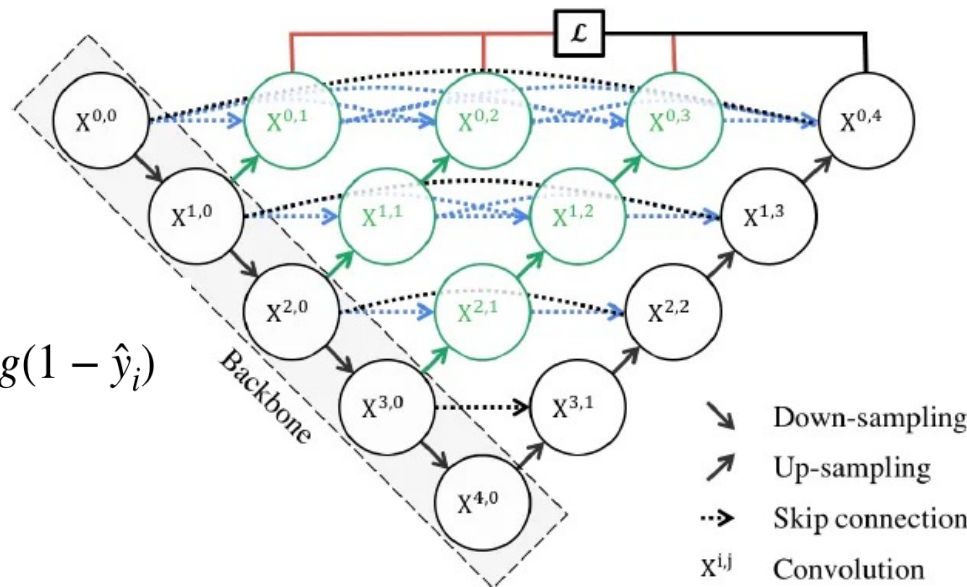


Никотинамидадениндинуклеотид 4

Схема эксперимента



Результаты: Unet++



$$BCE = -\frac{1}{N} \sum_{i=0}^N y_i \cdot \log(\hat{y}_i) + (1 - y_i) \cdot \log(1 - \hat{y}_i)$$

Функция потерь BCE

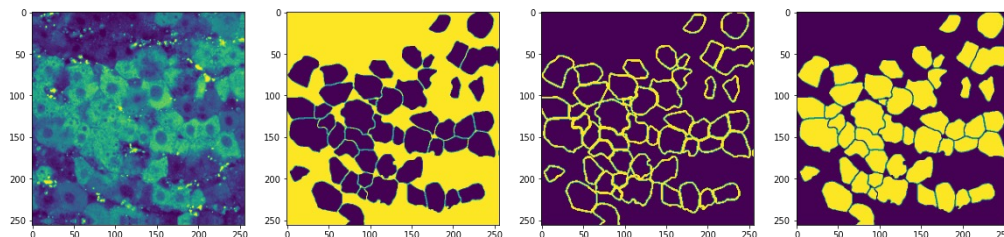
$$FL(p_t) = -\alpha_t(1 - p_t)^\gamma \log(p_t).$$

Функция потерь Focal

$$L_{dice} = \frac{2 * \sum p_{true} * p_{pred}}{\sum p_{true}^2 + \sum p_{pred}^2 + \epsilon}$$

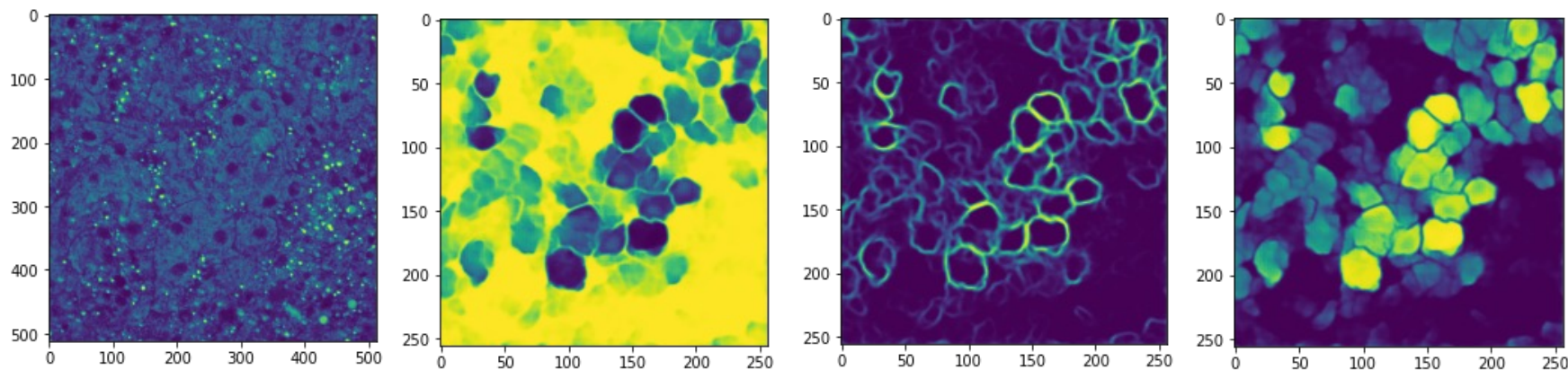
Функция потерь Dice

Архитектура Unet++



Пример изображений для обучения с 3х канальной маской

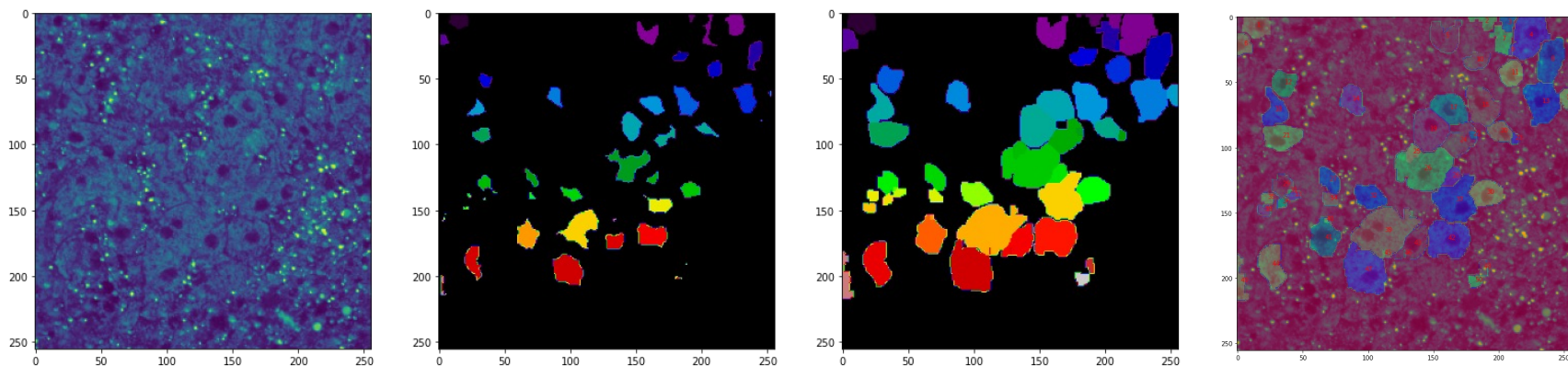
Результаты: **предсказания**



Пример предсказания границ клеток

Значение для многокомпонентной функции потерь составило менее **0.6**, Focal Loss составил **0.075**, Dice Loss составил **0.22**, при этом F1-метрика составила **0.77** и AUC составил **0.9**

Результаты: **instance** сегментация



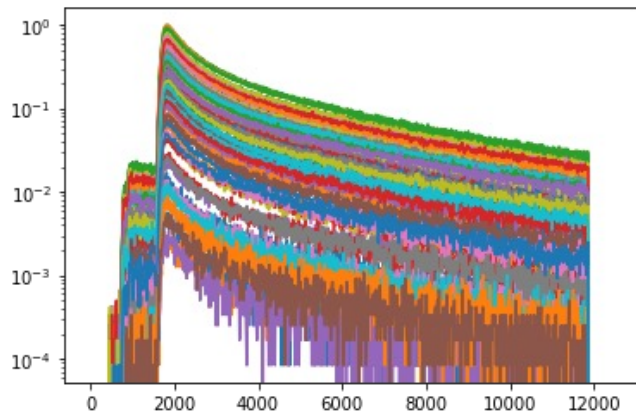
Пример сегментации

В качестве метода сегментации был выбран алгоритм Watershed.

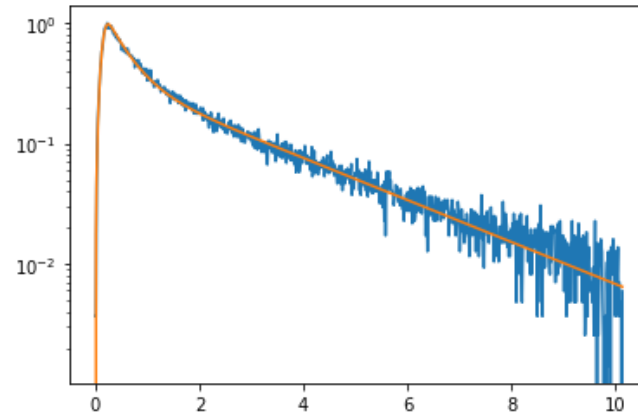
Стадии обработки:

- отделить клетки от не клеток (задача НС),
- всю массу клеток разделить на отдельные клетки (задача Watershed).

Результаты: обработка кривых затухания



Кривые затухания всех ROI одного изображения



Отчищенная от фона аппроксимированная кривая затухания

$$f(x; h; \mu; \sigma; \tau) = \frac{h\sigma}{\tau} \sqrt{\frac{\pi}{2}} \exp\left(\frac{1}{2}\left(\frac{\sigma}{\tau}\right)^2 - \frac{x - \mu}{\tau}\right) \operatorname{erfc}\left(\frac{1}{\sqrt{2}}\left(\frac{\sigma}{\tau} - \frac{x - \mu}{\tau}\right)\right)$$

Экспоненциально модифицированная Гауссова функция

$$t_n = \frac{1}{\lambda_n} = \tau_n,$$

$$a_n^{\text{absolute}} = \frac{h_n}{t_n},$$

$$a_n^{\text{relative}} = \frac{100 * a_n^{\text{abs}}}{\sum a_n^{\text{abs}}},$$

$$t_{\text{mean}} = \frac{\sum(t_n * a_n^{\text{abs}})}{\sum a_n^{\text{abs}}}$$

index	a1	t1	a2	t2	tau_mean	chi
4	72.57	0.52	27.43	2.84	1.16	0.71
41	70.76	0.51	29.24	2.80	1.18	0.47
9	70.71	0.51	29.29	2.72	1.16	1.34
6	70.69	0.52	29.31	2.80	1.19	1.25
38	70.66	0.51	29.34	2.77	1.17	0.32

Пример таблицы с рассчитанными параметрами затухания для одного изображения, $\chi^2 < 2$

Заключение

Таким образом, был разработан алгоритм, способный определять границы клеток с высокой точностью, выделять их на FLIM-изображении и рассчитывать соответствующие им параметры флуоресценции: времена жизни компонент и их вклады.

Разработанный алгоритм, в дальнейшем, позволит проводить обработку больших объемов накопленных данных и экспресс-анализ интраоперационных FLIM-изображений.

Спасибо за внимание

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-15-00263.