

На правах рукописи



Макаркин Михаил Андреевич

**Системы проточной цитометрии для поиска и
выделения редких объектов: моделирование и анализ
изображений и сигналов**

Специальность 1.5.2 —
«Биофизика»

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

Саратов — 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Научный руководитель: доцент, к.ф.-м.н.
Браташов Даниил Николаевич

Официальные оппоненты: **Дунаев Андрей Валерьевич**,
доктор технических наук, доцент,
научно-технологический центр биомедицинской фотоники ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева»,
ведущий научный сотрудник
кафедра приборостроения, метрологии и сертификации Института приборостроения, автоматизации и информационных технологий ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева»,
профессор

Ширшин Евгений Александрович,
кандидат физико-математических наук,
физический факультет ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова» ,
старший научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук»

Защита состоится «21» декабря 2023 г. в 16:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.392.06 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского.» по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корпус 11, ауд. 515.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» и на сайте <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-06/kandidatskaya-dissertaciya-makarkina-mihaila>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
24.2.392.06,
д-р физ.-мат. наук, доцент



Генина Элина Алексеевна

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Актуальность данной работы заключается в слабой на данный момент проработке существующих техник наблюдения за посторонними объектами в кровотоке. Некоторые опасные заболевания, такие как меланома (и прочие виды рака) или малярия, характеризуются выделением специфических агентов в кровотоки, таких как зараженные паразитами эритроциты, циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) и т.п. [1; 2], бактерии [3]. Своевременное обнаружение этих агентов позволит бороться с этими заболеваниями на ранней стадии развития, что снижает ущерб для пациентов. Есть и другие задачи в биофизике и биомедицине, в таких областях как иммунология, гематология, онкология, микробиология, где так же очень часто требуется использовать различные методы для изучения клеток, причем возможно более крупных их популяций. К таким задачам можно отнести анализ клеточного цикла [4], исследование влияния лекарственного препарата на клетки [5]. Сюда относятся и задачи, связанные с развитием систем адресной доставки лекарств с помощью различных типов микрокапсул [6]. Недостаточно развитые техники наблюдения и визуализации не позволяют исследовать в полной мере их биодеградацию, способность к образованию агрегатов и их устойчивость, реакцию клеток крови на них (иммунный ответ). Это в значительной степени замедляет внедрение в медицинскую практику уже существующих и хорошо отработанных техник создания носителей лекарств и их дистанционной доставки.

Поиск редких объектов в кровотоке для ранней диагностики онкологических заболеваний занимает в этом ряду особое место [7]. Однако, концентрация аномальных объектов в крови как правило очень низка, порядка 10 - 1000 объектов на 1 мл цельной крови, при том, что общее количество клеток в таком объеме достигает 10^9 [8]. Так как их скорость появления в кровотоке может колебаться [9], существует вероятность вовсе не обнаружить объекты во взятой у пациента пробе. Поэтому, для обеспечения статистической значимости экспериментов с детектированием редких объектов в кровотоке, необходимо проверять большие объемы крови. Для этого хорошо подходит проточная цитометрия [10], в том числе с визуализацией (ПЦВ) [11].

Наиболее высокой пропускной способности в цитометрии можно добиться при отказе от визуализации клеток. Однако, при этом возникают проблемы с надежной классификацией объектов. Как правило, современные методы *in vivo* цитометрии основаны на использовании рассеянного, поглощенного или флуоресцентного света от объектов в кровотоке [12; 13] или технике фотоакустики [14]. С учетом высокой пластичности и гетерогенности опухолевых клеток, гистограммы признаков у них и здоровых клеток могут быть сильно схожи. Проточная цитометрия с визуализацией (ПЦВ) позволяет объединить высокую пропускную способность

цитометрии (хоть и с определенным ее снижением) с богатым набором техник визуализации флуоресцентной микроскопии. ПЦВ позволяет изучать очень большие популяции клеток, получая визуальную информацию о их морфологии в каждом отдельном случае. Использование визуальных признаков может значительно упростить классификацию объектов в крови. Однако, требование работы *in vivo* налагает некоторые ограничения. В первую очередь, сложности возникают из-за сильного рассеяния и поглощения света в коже и подкожной жировой ткани, обычно он может проходить без искажения в среднем на глубину около 3 мм. Для обхода этого ограничения можно наблюдать только близко залегающие под кожей капилляры (например, в ухе [15] или под ногтями). Такой подход вносит ограничения на объем крови, доступной для анализа, делая изучение крупных сосудов (в первую очередь в конечностях) более предпочтительным. На данный момент визуализацию *in vivo* для объектов в этих сосудах возможно обеспечивать в основном с помощью фотоакустических методов [16].

Интерес представляют схемы с использованием структурированного освещения. К ним относят цитометрию светового листа (к примеру, сделанную на основе открытого дизайна установки SPIM - Fluid [17]), цитометрию, основанную на количественной фазовой микроскопии линейного поля с цифровой перефокусировкой [18], высокоскоростную микрожидкостную цитометрию с визуализацией на основе стробоскопического освещения [19]), так как в теории они могут объединить и высокую производительность и возможность визуализации. Можно перейти к модели квази-*in vivo* измерений, с освещением световым листом и выводом крови во внешнюю прозрачную ячейку, что позволит избавиться от сложностей с рассеянием и затуханием света в тканях. В данном методе световой лист перекрывает собой весь канал ячейки сразу. Поэтому отпадает нужда в гидродинамической фокусировке потока жидкости, свет будет попадать на все объекты, проходящие через плоскость светового листа. Это увеличивает пропускную способность цитометра, при этом позволяет обеспечить пространственное разрешение объектов с размером до единиц микрометров. Благодаря этим достоинствам, в данной работе была использована именно эта оптическая схема.

Экспериментальная установка в данной работе основана на концепции SPIM - Fluid [A1] [A2] и модифицировалась под квази-*in vivo* схему схожим с указанным в работе [20] образом, для того, чтобы было возможным осуществлять магнитную сепарацию во внешней проточной ячейке. Поток крови отводится от бедренной артерии испытуемого животного с помощью катетера через пластиковый капилляр в проточную ячейку с прозрачными стенками и затем возвращается в кровеносную систему через бедренную вену (таким же образом, через катетер). Через ячейку проходит неподвижный световой лист, который возбуждает флуоресценцию в

исследуемых объектах, помеченных соответствующими красителями. Флуоресцентный свет от них будет проходить через стенки проточной ячейки и попадать на детектор, расположенный перпендикулярно световому листу. Такую схему просто реализовать на практике. Однако, в схеме сложно расположить источник света и детектор так, чтобы они составляли между собой угол в 90° градусов и между ними уместилась проточная система. Приходится размещать ячейку и детектирующий объектив под углом в 45° . Из-за этого часть света будет испытывать полное внутреннее отражение. Вдобавок, при таком взаимном расположении ячейки и детектирующей камеры, световые пучки от объекта будут падать на объектив под углом к оптической оси линзы и собираться не в одной точке. На изображении формируется сильная аберрация. Также, оптика светового листа сама по себе предполагает формирование пространственно-неоднородной функции рассеяния точки (ФРТ) [21], которая будет неодинакова в разных частях светового листа. В итоге, несмотря на то, что оптическая схема в теории обеспечивает достаточное пространственное разрешение для изучения морфологии отдельных клеток, вносимые искажения нивелируют ценность получаемых изображений.

Для удаления искажений можно использовать оптический элемент по типу сплошной иммерсионной линзы (SIM) или восстанавливать изображение без искажений с помощью некоего алгоритма коррекции. Использование вычислительных методов позволяет обойтись без дополнительных линз и обеспечивает большую адаптивность установки под разные условия эксперимента. Таким образом, формулируется проблема получения чистого изображения, которую также можно рассматривать как задачу вычислительной деконволюции (обратной свертки).

Существует множество методов деконволюции и удаления размытия [22]. Однако, классические методы деконволюции в большинстве своем требуют для работы точных представлений о ФРТ системы и о характере возникающего шума (будет ли он гауссов, пуассонов и т.д.). Так называемые методы слепой деконволюции формально не требуют знания ФРТ, но чувствительны к шуму. Они показывают хороший результат в контролируемых лабораторных условиях с неподвижными и малоподвижными объектами, чего достаточно для задач собственно микроскопии. Специфика же работы с данными проточной цитометрии (тем более, *in vivo* и с перспективой на дальнейшее внедрение в клиническую практику) подразумевает наличие разных ФРТ в разных частях изображений. Сложный и пространственно - неоднородный характер наблюдаемых в нашем случае искажений делает использование методов на основе классического извлечения ФРТ и деконволюции слишком сложным процессом. Более разумным выбором будет использование статистических методов, которые извлекают параметры для работы непосредственно из изображений. Современное их развитие, машинное обучение, представляет особый интерес.

Машинное обучение уже широко используется в микроскопии (см. например, [23], [24], [25]). Примером успешного использования этой группы методов может служить решение задачи сортировки отдельных клеток [26]. Эта задача представляет большой интерес с точки зрения ранней диагностики.

Целью данной работы является разработка метода обработки изображений проточной *in vivo* цитометрии с визуализацией для обнаружения в потоке цельной крови редких объектов, таких как циркулирующие опухолевые клетки или носители для адресной доставки лекарств и анализ процессов поведения магнитных объектов (нанокompозитных микрокапсул с частицами магнетита) в проточном канале цитометра при воздействии стационарного градиента магнитного поля (магнитной сепарации объектов из потока крови).

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Провести обзор существующих методов деконволюции в системах микроскопии структурированного освещения с учетом присущих им неоднородностей функции рассеяния точки, методов деконволюции изображения на основе глубокого обучения, методов подсчета объектов в системах *in vivo* проточной цитометрии.
2. Разработать методику устранения искажений типа кома, вызванной ограничением числовой апертуры световых пучков в системе микроскопии светового листа.
3. Определить и имплементировать метод детектирования и подсчета объектов в потоке, способного эффективно функционировать при образовании крупных ярких агрегатов объектов.
4. Разработать модель движения объектов в проточной ячейке цитометра под действием магнитного поля, на основе разработанной модели оценить эффективность работы магнитного сортера при разных параметрах работы (скорость потока, конфигурация магнитного поля в ячейке, размер и магнитные свойства сепарируемых объектов).

Научная новизна:

1. В рамках диссертационной работы впервые применяется вычислительный подход для удаления сильных искажений в системе микроскопии светового листа посредством преобразования от-изображения-к-изображению. Обосновывается и проверяется на практике возможность переформулирования задачи в терминах переноса стиля. Определен наиболее универсальный метод, требующий малого количества данных для обучения - метод переноса произвольного стиля с мультисканальной самоадаптацией.
2. Разработан метод подсчета объектов в потоке цельной крови в проточной ячейке, шунтирующей артерию и вену лабораторного

животного, для новой системы *in vivo* цитометрии, основанной на микроскопии светового листа, основанный на детектировании контуров и измерении изменения площади крупных агрегатов частиц по средней площади единичных объектов.

3. Впервые была практически изучена динамика накопления магнитных микрокапсул на стенки капилляра при магнитной сепарации в зависимости от скорости потока, размера капсул и количества магнитных наночастиц в капсуле.

Практическая значимость работы обусловлена возможностью использовать полученную в процессе исследования информацию при внедрении в медицинскую практику и доклинические исследования техник адресной доставки лекарств и диагностики на основе обнаружения редких объектов в кровотоке. Модели для изучения эффективности удержания носителей на стенке проточной ячейки позволяет прогнозировать достижимые дозировки действующих веществ при использовании магнитных носителей при различных условиях доставки через кровеносную систему и различных параметрах носителей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Задачу реконструкции изображения в системе проточной цитометрии с визуализацией на основе светового листа с неоднородной функцией рассеяния точки и возникающем из-за ограничения численной апертуры светового пучка искажении (абберации кома) можно переформулировать как задачу преобразования от-изображения-к-изображению с передачей высокоуровневых параметров изображения (так называемый “перенос стиля”).
2. Для анализа динамики накопления объектов на стенках капилляра в потоке цельной крови в условиях образования их агрегатов и необходимости ведения подсчета объектов в реальном времени и с ошибкой, не более чем в 20% от общего числа частиц можно использовать сочетание простых алгоритмов компьютерного зрения: оператор Собеля, алгоритм Сузуки и подсчет количества частиц по средней площади единичной частицы.
3. Наилучшая динамика магнитного удержания объектов в потоке цельной крови наблюдается при определенном сочетании параметров: для двух загрузок магнетита скорость потока от 10 мкм/сек при радиусе микрокапсул 2.7 мкм, скорости потока от 5 до 10 мкм/сек при радиусе микрокапсул 5.5 мкм; для трех загрузок магнетита скорости потока от 5 до 50 мкм/сек при радиусе микрокапсул 2.7 мкм, скорости потока 5 до 25 мкм/сек при радиусе микрокапсул 5.5 мкм.

Достоверность подтверждается применением научного оборудования, сертифицированного в соответствии с международными стандартами

обеспечения единства измерений, и единообразием средств измерений. Результаты работы прошли оценку независимых рецензентов с последующим опубликованием в высокорейтинговых международных научных журналах (Biomedical Optics Express - импакт-фактор 3.732, Pharmaceutics - импакт-фактор 6.321, Micromachines - импакт-фактор 2.891, Molecules - 4.927).

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на следующих симпозиумах и конференциях: 1. Saratov Fall Meeting 2021 (Саратов, Россия, сентябрь 2021 г.). 2. International Conference Laser Optics (Санкт-Петербург, Россия, 20-24 июня, 2022 год).

Гранты.

1. Грант Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) по теме “Фундаментальные основы создания систем компьютерного зрения и обработки изображений для проточной цитометрии с визуализацией” (№20-31-90030, “Аспиранты”, 2020 - 2022 гг.)
2. Грант Российского Научного Фонда (РНФ) ”Детектирование и сортировка объектов в кровотоке с целью фильтрации его от компонент систем адресной доставки лекарств и поиска редких диагностических объектов” (№18-19-00354, 2021- 2023 гг.).

Личный вклад. Автор самостоятельно собирал и осуществлял предварительную подготовку данных для модели. Им были осуществлены практические проверки двух первоначальных поставленных концепций решения задачи деконволюции - моделирования ядра ФРТ фильтрами, извлеченных из классифицирующей сети и сведения задачи к задаче сегментации. Далее, им была сформулирована и проверена итоговая концепция. Диссертантом самостоятельно решена задача анализа динамики флуоресцентных объектов в кровотоке. Постановка задач исследования и обсуждение результатов проведены под руководством к.ф.-м.н. Д.Н. Браташова. Весь код написан также самостоятельно. Работа над установкой выполнялась коллективом проекта РНФ в рамках проекта (18-19-00354). В рамках этих работ диссертант отвечал за разработку алгоритмов по подсчёту объектов и моделирование поведения частиц при магнитной сепарации. Вклад в разработку установки других участников подробно описан в [A1]

Публикации. Основные результаты по теме диссертации изложены в 7 печатных изданиях, 6 из которых изданы в журналах, рекомендованных ВАК, 5 — в периодических научных журналах, индексируемых Web of Science и Scopus.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав и заключения. Полный объём диссертации составляет 126 страниц с 37 рисунками. Список литературы содержит 192 наименования.

Содержание работы

Во введении обосновывается актуальность исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы, формулируется цель, ставятся задачи работы, излагается научная новизна и практическая значимость представляемой работы.

Первая глава – “**Проблема удаления искажений изображения, получаемого с микроскопа.**” - посвящена обзору существующей литературы по тематике алгоритмов слепой деконволюции. Он состоит из вводного подраздела, подразделов “**Типы деконволюции**” и “**Классификация методов деконволюции**”, где приводится классификация типов деконволюции и существующих методов ее решения. Дана краткая характеристика для каждого класса алгоритмов решения задачи и рассмотрены их достоинства и недостатки. В следующем подразделе “**Глубокое обучение для задачи деконволюции**” рассмотрены причины успешного применения глубокого обучения в компьютерном зрении в общем и в задаче деконволюции в частности. Также приводится обзор наиболее распространенных и значимых методов с применением нейронных сетей. Подраздел “**Особенности обучения, тестирования и проверки в глубоком обучении**” рассказывает о трудностях инженерного характера и используемом программном и аппаратном обеспечении, о специфике применения методов глубокого обучения (сильная зависимость от количества и характера данных и реализации автоматической дифференциации). В подразделе “**Методы деконволюции на основе оптимизации**” рассмотрены современные оптимизационные методы деконволюции, как основная альтернатива глубокому обучению в задачах деконволюции. Наконец, последним в главе идет “**Заключение**”, где дается краткий итог всей главы и обосновывается выбор методов глубокого обучения для дальнейшей работы.

Вторая глава - “**Материалы и методы**” - описывает технические и материальные средства, а также протоколы, используемые для экспериментов. Также приведены формулы для расчета оптики светового листа, которые необходимы для понимания природы искажений. Подраздел “**Схема лабораторной установки для проведения исследований**”, описывает схему цитометра с визуализацией на основе дизайна SPIM-fluid (Рисунок 1 и Рисунок 2).

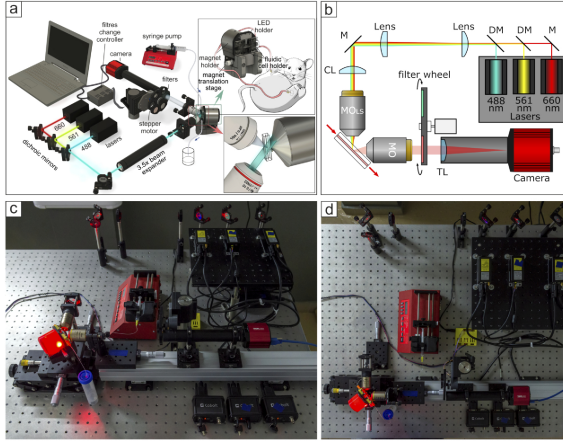


Рис. 1 — Общий дизайн системы (а), оптическая схемы (b) и фотографии (c) и (d) устройства, сочетающего цитометр на основе светового листа и магнитный сепаратор объектов. М — зеркало; DM — дихроичное зеркало; CL — цилиндрическая линза; MOls — светоформирующий микрообъектив; MO — микрообъектив подсистемы обнаружения; TL — тубус объектива.

В подразделе “**Оптика визуализации световых листов**” проводятся расчеты основных оптических характеристик для микроскопии светового листа, Используемое для расчетов ПО и АП описано в “**Вычислительные мощности и программное обеспечение**”. Отдельно вынесен подраздел “**Данные**”, где внимание уделено специфике используемых изображений (что важно в контексте задачи).

Третья глава - “Задача деконволюции”. В ней непосредственно разбираются методы решения задачи получения чистого изображения. В подразделе “**Обоснование выбора метода и фундаментальные основы нейронных сетей**” мы описываем задачу деконволюции с математической точки зрения и рассматриваем восстановление изображения через подход обучения, когда через использование целевой функции по известному обучающему набору истинных изображений и их оценкам $(x_n, y_n)_{n=1}^N$ можно итеративно создать оценку чистого изображения из новых данных и восстановить его по ней. Функция восстановления изображения будет представлена тогда, как:

$$R_{learn} = \arg \min \sum_{n=1}^N f(x_n, R_{\theta} y_n) + g(\theta), R_{\theta}, \theta \in \Theta$$

где Θ - множество всех возможных параметров, $f : X \times X \rightarrow R^+$ является мерой ошибки, а $g : \Theta \rightarrow R^+$ является регуляризатором по параметрам, добавленным с целью избежать переобучения. После завершения

одного шаг обучения, можно использовать R_{learn} для восстановления нового изображения из его измерений.

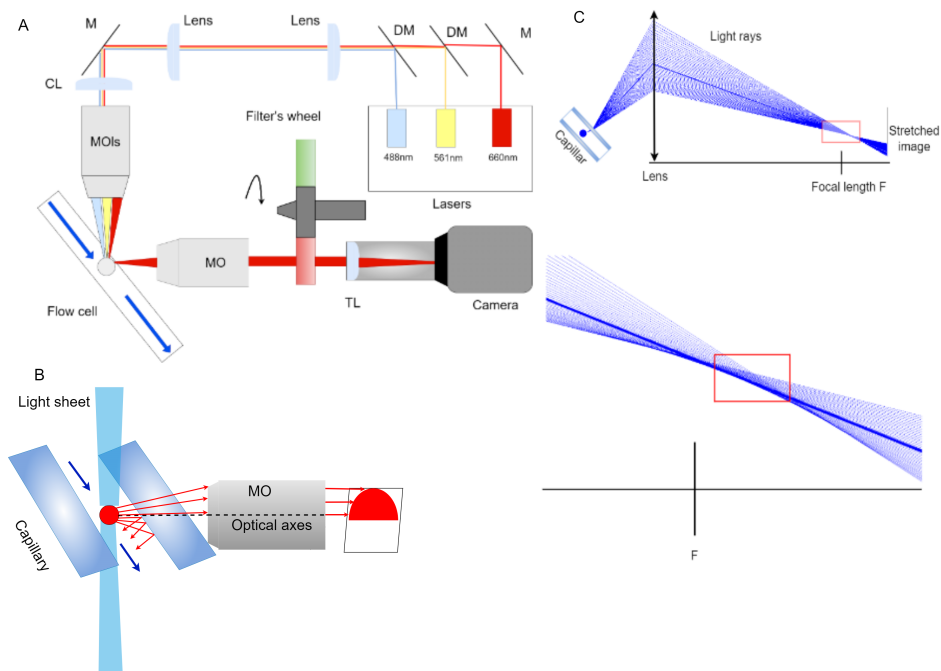


Рис. 2 — Оптическая схема проточного цитометра с визуализацией на основе светового листа и схема формирования в нем искажений. А) Общий вид цитометра. CL — цилиндрическая линза; DM — дихроичное зеркало; M — зеркало; MO — микрообъектив; MOs — легкие листообразующие MO; TL — тубусная линза. В) Влияние полного внутреннего отражения света на эффективную апертуру MO. С) Трассировка лучей, показывающая формирование аберрации комы.

Подход обучения требует наличия большой обучающей выборки, минимизация меры ошибки обычно более сложна, чем в классическом подходе с целевой функцией, и требует зависящего от задачи выбора f, g и класса функций, описывающих R и Θ . В нашей задаче мы можем получить большое количество искаженных изображений непосредственно с установки и какое-то количество чистых изображений, полученных разными способами (о чем подробнее написано в разделе “Извлечение ФРТ”). Также, мы имеем возможность повлиять на важные параметры оптической системы и экспериментов (силу искажения до некоторой степени, скорость потока, интенсивность флуоресценции), а значит, есть возможность исследовать их влияние на восстанавливаемое изображение. С этой точки зрения, постановка обратной задачи через параметрическую функцию будет для нас более удобна. С другой стороны, аналитическое определение регуляризатора, функции потери и т.д. - это сложная работа, к тому же в силу некорректности задачи слепой деконволюции мы получим неустойчивое решение. Другими словами - нет гарантий, что наше конкретное найденное решение в терминах целевой функции, адекватное при одних условиях, будет адекватно восстанавливать изображения при их небольших изменениях. Поэтому в данной работе сделан акцент на подходе с обучением. Однако, самые распространенные и простые из классических методов слепой деконволюции изображений, основанные на переходе в частотную область и использовании теоремы свертки были так же испробованы. Это модифицированный метод деконволюции Винера, в котором предварительно оценивается функция рассеяния функции путем деления в частотной области преобразований Фурье искаженного и неискаженного изображений. Затем мы попытались использовать метод Люси-Ричардсона, модифицированный для слепой деконволюции. Результат показан на Рисунке 3.

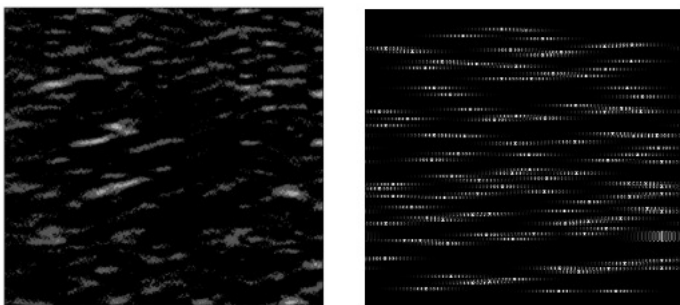


Рис. 3 — Изображения, реконструированные модификациями методов Винера и Люси-Ричардсона для слепой деконволюции.

Эксперименты показали, что классические методы деконволюции очень плохо справляются со своей задачей (Рис. 3), что объясняется сложностью функции искажения и наличием шумов, которые нельзя однозначно отнести к гауссовым или пуассоновским. Шумы других форм перечисленные алгоритмы уже не могут надежно отделить от функции чистого изображения. Также для таких алгоритмов необходимо условие однородности - шумы и искажения должны быть одинаковыми во всех областях изображения. Использование техники светового листа предполагает неравномерность искажения. В итоге, классические алгоритмы деконволюции не позволили добиться приемлемого качества изображения.

В терминах уравнения ниже, использование сверточной нейронной сети будет означать, что набор функций R_θ будет представлять собой фиксированные последовательности операций фильтрации, чередующихся с простыми нелинейными операциями (активациями). Этот класс функций параметризуется численными значениями в используемых фильтрах (также известными как веса фильтров). Эти веса фильтров являются параметрами, по которым и будет происходить минимизация.

Из этого мы делаем гипотезу, что функцию размытия можно построить по фильтрам обученной на размытых изображениях сверточной нейронной сети.

В подразделе **"Извлечение ФРТ из фильтров классифицирующей и сегментирующих нейросетей"** эта гипотеза проверяется. Для этого были использованы:

1. стандартная сверточная нейронная сеть (LeNet) с большими размерами входных сверток, обученная для классификации размытых и неразмытых изображений.
2. сеть U-net, которой попытались извлечь неразмытые образы объектов из размытых с помощью сегментации по готовым маскам.

Затем мы извлекли соответствующие фильтры из сети LeNet и попробовали выделить сеть U-net чистые изображения. В обоих случаях результат был отрицательным, см. Рисунок 4 и Рисунок 5.

Несмотря на неудачу, эксперименты помогли выяснить два важных момента:

1. Становится понятно, что локализовать ФРТ как конкретный набор фильтров в сверточных слоях сетей, выполняющих задачу отделения чистых от искаженных изображений (как классификацию или семантическую сегментацию) не представляется возможным.
2. Так же выяснилось, что задача деконволюции на наших данных требует одновременного увязывания друг с другом не просто отношений между пикселями на разных пространственных масштабах, но и высокоуровневых общих характеристик изображений.



Рис. 4 — Фильтры, полученные из нижнего слоя сверточной нейронной сети после обучения. Свертки размером 32x32 были приняты как оптимальные с точки зрения обеспечения приемлимого рецептивного поля для захвата ФРТ со всего изображения и позволяющие проводить обучение относительно быстро. Видно, даже на взгляд их форма не соответствует требуемой

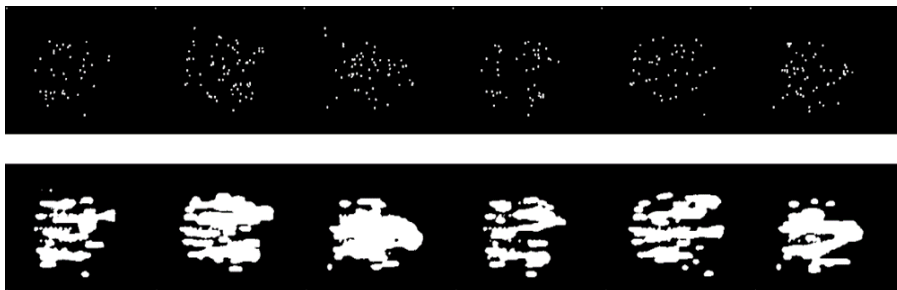


Рис. 5 — Используемые в качестве масок чистые изображения и предсказанный U-net результат.

После серии экспериментов мы пришли к тому, что необходимость учета этих пунктов делает выделение ФРТ в явном виде слишком громоздкой задачей. Выстраивание связи между всеми пространственными признаками, определением их вклада в ядро размытия в любом случае потребует большой емкости модели. Вдобавок, неоднородность искажения потребует делать это отдельно для небольших участков изображения. Так что вывод ФРТ в явном виде сделает задачу неподъемной для слабых вычислительных систем. Поэтому, разумней остановится на преобразование от-изображения-к-изображению с неявным выводом чистого изображения путем приближения пространственных характеристик. Так как геометрическое место объектов практически не меняется при искажении (местоположение рассчитываем по найденным максимумам яркости) и

скорость съемки камеры в установке достаточно высока, мы можем утверждать, что основной вклад в искажение исходного изображения вносит именно крупномасштабные искажения от оптической схемы установки. Если абстрагироваться от оптической задачи, мы можем сказать, что искажение в нашей системе является не характеристикой, относящейся к локальным объектам, а характеристикой общей текстуры изображения. И для восстановления чистого изображения нам необходимо определять эти характеристики для искаженного и неискаженного изображений и натренировать сеть преобразовывать их. Подобная постановка задачи характерна для задачи нейронного переноса стиля.

В подразделе “**Деконволюция как передача пространственных признаков (стиля)**” обосновывается необходимость и возможность переформулировки задачи как задачи нейронного переноса стиля. Механизм описан на примере алгоритма Гатиса. Мы попробовали его использовать с различными гиперпараметрами и получили приемлимый результат. Отмечено, что сильное влияние оказывает характер чистых изображений (синтетические изображения не подходят для обучения) и используемый оптимизатор (мы в итоге остановились на L-BFGS), см. Рисунок 6 и Рисунок 7.

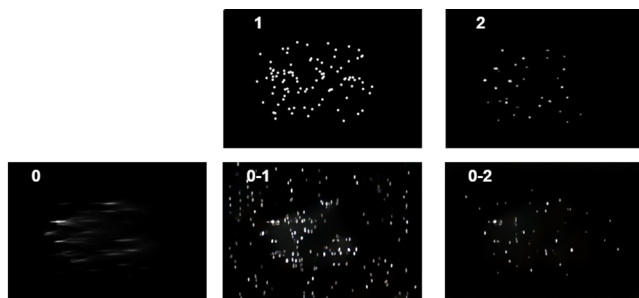


Рис. 6 — Результат попыток переноса стиля на исходное искаженное изображение (0) с синтетического (1) обозначен как (0-1). Перенос с исходного отредактированного изображения (2) обозначен как (0-2). Можно видеть, что на синтетических частицах результат заметно хуже. Причины этого подробнее описаны в разделе “О высокочастотных компонентах”. Используемый оптимизатор - Adam.

Подраздел “**Вопрос о высокочастотных компонентах изображений**” вкратце описывает возникшую проблему высокочастотного смещения при обучении нейросети и невозможности использования синтетических изображений. Мы столкнулись с тем, что использование синтетических чистых изображений для обучения всегда дает ухудшение результата. Дополнительные эксперименты показали, что если создать

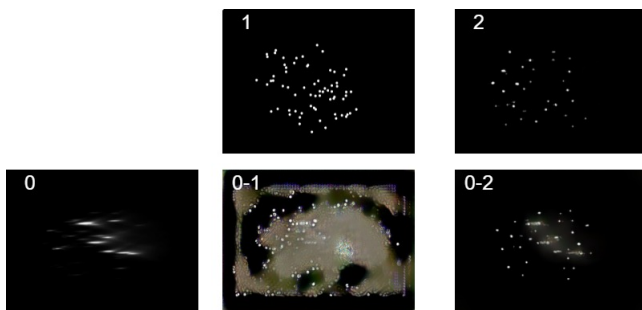


Рис. 7 — Результат попыток переноса стиля на исходное искаженное изображение (0) с синтетического (1) обозначен как (0-1). Перенос с исходного отредактированного изображения (2) обозначен как (0-2). Можно видеть, что на синтетических частицах результат заметно хуже. Наблюдается лучшая локализация объектов. L - BFGS использован в качестве оптимизатора

чистые изображения напрямую из данных с цитометра, этот эффект пропадает. Это происходит вследствие так называемого высокочастотного сдвига нейронных сетей. Это явление проявляется в том, что сети в процессе тренировки могут быть очень чувствительны к высокочастотным компонентам изображений, которое не воспринимаются человеческим восприятием как существенные. На фурье-амплитудах видно различие между двумя видами чистых изображений, которые и воспринимают нейронные сети, см. Рисунок 8.

Поэтому встает вопрос либо о получении высококачественных синтетических изображений, либо об использовании метода, требующего малого количества данных для обучения.

Подраздел **“Современные методы переноса стиля”** описывает соображения о необходимых качествах итогового метода, использованные методы и результат их применения. Мы использовали несколько наименее требовательных и быстродействующих алгоритмов, и в результате остановились на переносе произвольного стиля с самоадаптацией по каналам изображения. При исследовании была изучена эффективность двух основных подходов к переносу стиля - классический, основанный на оптимизации в пространстве изображения, и так называемый быстрый, основанный на оптимизации модели. Рассмотрены особенности работы этих моделей с предоставленными данными и выявлен характер взаимодействия с ними специфических особенностей данных моделей. Итоговой результат работы выбранных шести моделей показан на Рисунке 8. Общая эффективность метода складывается из двух характеристик - соответствие восстановленного и чистого изображения, а также скорость получения минимально приемлемого результата. Первая оценивается визуально и с

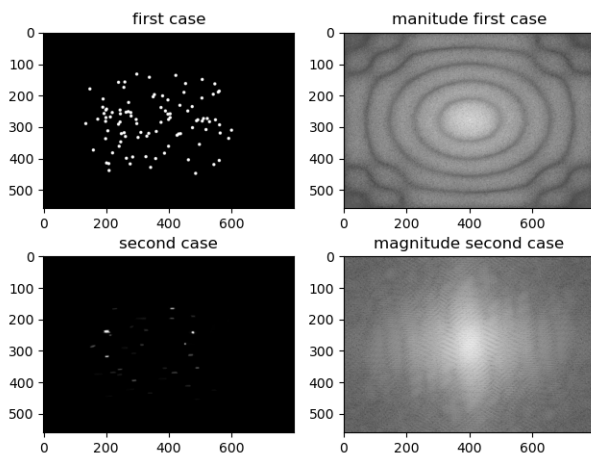


Рис. 8 — Сравнение магнитуд фурье-образов двух видов неискаженных изображений. На обоих картинках одинаковое количество объектов, расположенных в одинаковых местах. Однако, в сделанном вручную чистом изображении их яркость неодинакова и в целом, приглушена по сравнению с синтетическим изображением.

помощью метрик индекса структурного сходства (SSIM) и пикового отношения сигнал/шум (PSNR). Вторая - в количестве итераций при запуске модели.

Наиболее эффективным оказался метод переноса произвольного стиля с мультисканальной самоадаптацией. Примеры его работы на изображениях капсул и клеток ТНР-1 представлены на Рисунках 9, 10, 11, 12. На рисунке 12 видно, что на результат восстановления оказывает большое влияние масштаб (размер точки) изображений. Необходимо более детально исследовать эффект дискретизации поскольку методы глубокого обучения работают с пикселями изображения и не учитывают эффекты реальных физических размеров и эффекты, связанные с дискретизацией изображений относительно низкого разрешения.

Описание сути метода представлено в подразделе **“Рассмотрение метода произвольного переноса стиля с мультиадаптацией.”**

В четвертой главе – **“Анализ динамики флуоресцирующих объектов в кровотоке”** рассматривается решение задачи подсчета движущихся и неподвижных объектов в потоке жидкости. В подразделе **“Введение”** вкратце приводится обоснование необходимости решения этой задачи и ее краткая постановка. Так как это более простая и формализованная проблема, представляется возможным сразу подобрать подходящий набор алгоритмов для ее решения. В подразделе **“Используемые методы классического компьютерного зрения”** проводится оценка требований к методу решения задачи и оптимальные для него алгоритмы.

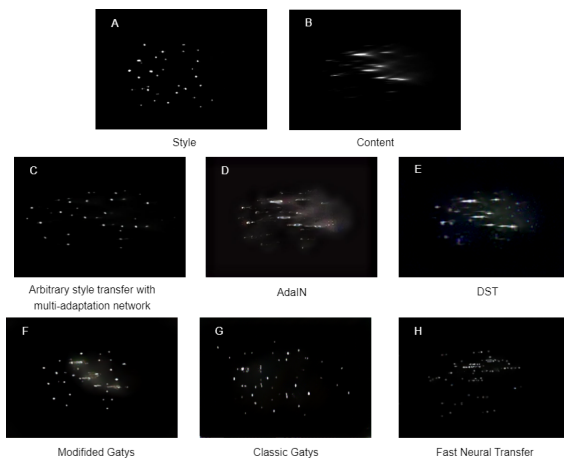


Рис. 9 — Результаты преобразования искаженного изображения с использованием шести разных моделей переноса стиля. А) - неискаженное изображение, В) - искаженное изображение с цитометра. С) - Н) - исходное искаженное изображение, с удаленными различными алгоритмами искажениями. С) - перенос произвольного стиля с мультиадаптацией, D) - перенос произвольного стиля с адаптивной нормализацией экземпляра, E) - перенос стиля с учетом геометрических деформаций, F) - алгоритм Гатиса с добавлением в функцию ошибки вариации функции, G) - классический алгоритм Гатиса, H) быстрый нейронный перенос стиля

Подраздел **“Алгоритм Сузуки”** описывает его работу и как он используется для детектирования объектов по их контурам. Для случаев без образования агрегатов мы можем напрямую увязать количество объектов и детектируемых контуров. Алгоритм также создает иерархию вложенных контуров, что практически не используется в данном исследовании, но возможно будет необходимо в дальнейшем. При случае образования агрегатов (при притягивании объектов магнитом) мы уже не можем напрямую считать частицы по контурам, так как происходит их слипание. Мы предлагаем использовать для этих случаев расчет средней площади одного контура до того, как происходит агрегирование, затем подсчет площади всего агрегата и деление его на найденную среднюю площадь. Так как площадь агрегата прямо и линейно пропорциональна площади всех отдельных объектов в нем, это даст некоторую среднюю оценку и для их количества. Для подсчета площади контуров сложной формы мы используем формулу Грина в численном виде. В подразделе **“Формула Грина”** описывается ее принцип.

Проверка точности алгоритмов осуществлялась по числу подсчитанных ими частиц, сравнивая его с заранее измеренным с помощью

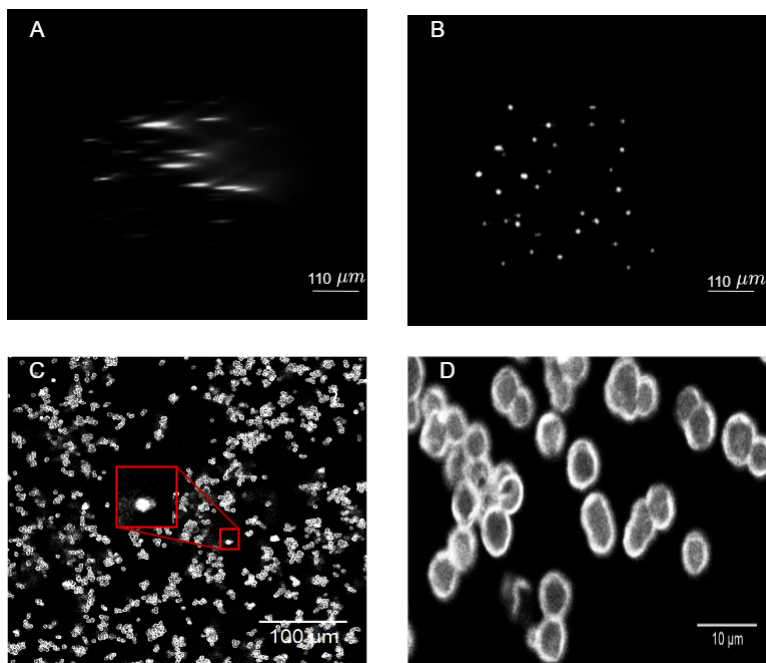


Рис. 10 — Восстановление изображения капсул. А) Искаженное изображение, В) восстановленное изображение. С) и D) изображения с конфокального микроскопа в разном приближении для примера.

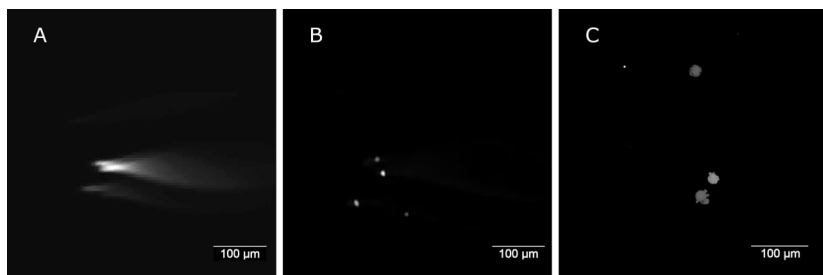


Рис. 11 — Восстановление изображения клеток. А) Искаженное изображение, В) восстановленное изображение. С) изображения с конфокального микроскопа для примера.

коммерческого проточного цитометра AMNIS ImageStream реальным числом частиц в жидкости. В зависимости от скорости потока и наличия крупных ярких агрегатов, мы детектируем и подсчитываем от 89 до 93% всех объектов. Также, была сделана параллельная оценка световой интенсивности на кадрах. Количество флуоресцентных объектов в кадре прямо

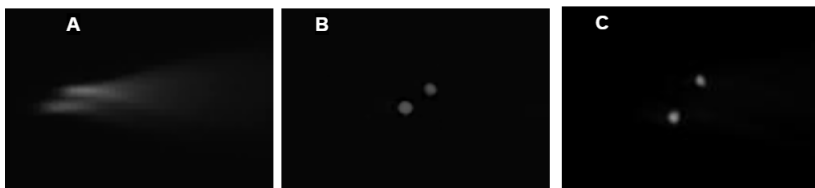


Рис. 12 — Сравнение одного и того же увеличенного фрагмента изображений клеток. (А) искаженное изображение с цитометра, (В) чистое изображение, полученное путем объединения изображений с микроскопа и цитометра, (С) реконструированное изображение.

пропорционально интенсивности. Это не позволит точно оценить общее количество частиц, но поможет сделать качественную оценку по зависимости от времени - должно наблюдаться совпадение динамики изменения интенсивности флуоресценции и изменения количества частиц. На рисунке 13 мы это демонстрируем.

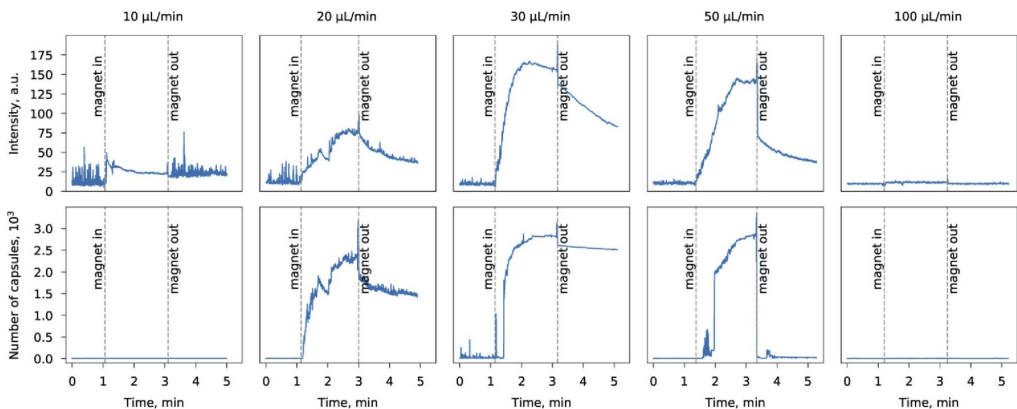


Рис. 13 — Сравнение результатов, полученных нашим методом и методом измерения средней интенсивности. Видно соответствие времени и формы всплесков интенсивности. Можно наблюдать, что резкие всплески на временных рядах (при подведении магнита) совпадают в обоих случаях.

Сделаны выводы о характере магнитного удержания объектов и влияние скорости потока в капилляре на их динамику: оптимальное накопление наблюдается при пропускной способности 20 и 30 микролитров в минуту.

Подраздел **"Переход к первым производным изображения"** описывает, как выбранный подход подвергался некоторой корректировке из-за особенностей эксперимента для повышения точности. Помимо образования агрегатов и засвечиваемости, в нашем случае также наблюдалась проблема слабо светящихся частиц. В отдельных экспериментах наблюдалось сильное падение точности детектирования, до пределов 80%

- 85% от общего числа объектов. Это происходит потому, что встречаются случаи слабо флуоресцирующих или находящихся у противоположной от детектора стенки юветы частиц, которые сложнее детектировать. При этом из-за малых величин яркости таких объектов есть вероятность просто отбросить такие случаи при недостаточно малом пороге бинаризации. Также, встречается наложение друг на друга световых следов объектов, то есть наблюдается частичное перекрывание границ объектов (рисунок 14). В данных случаях алгоритм Сузуки дает сбой. Увеличить число точно детектируемых частиц получилось, перейдя от самих изображений к распределению градиента яркости в каждой точке. Для этого к каждому исходному изображению применяется оператор Собеля (по координате y).



Рис. 14 — Случай пересекающихся световых следов(слева) и случай слабой флуоресценции(справа).

В результате, мы добились повышения точности детектирования до восьмидесяти процентов от исходного числа частиц.

Проведен дальнейший анализ зависимости количества удерживаемых магнитных капсул в капилляре в зависимости от скорости потока, размера и количества загрузок магнетита. Результаты показаны на рисунке 15.

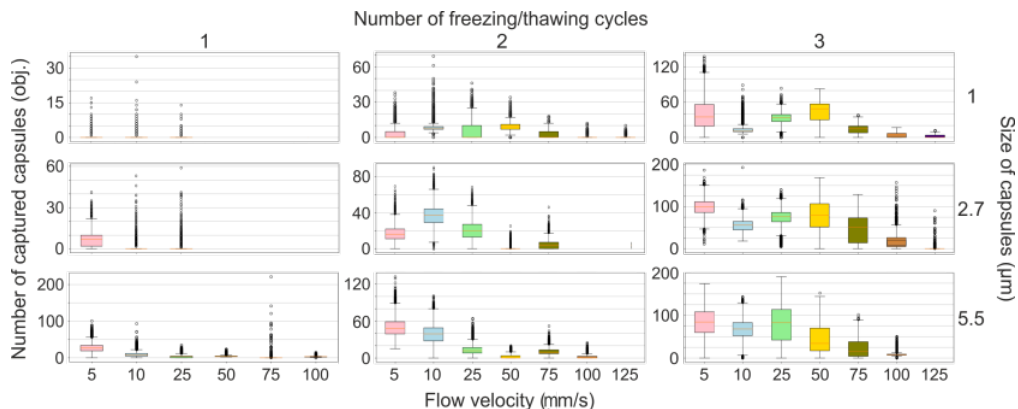


Рис. 15 — Диаграммы размаха количества удержанных магнитных капсул в зависимости от числа загрузок, скорости потока и размеров одной капсулы. При трех загрузках наблюдается падение количества удержанных капсул при увеличении их размера

Было обнаружено явление, когда при увеличении диаметра капсул они начинают хуже удерживаться магнитом, хотя в теории с увеличением размеров в капсулы должно упаковываться больше магнетита. Это объясняется сложной формой поверхности капсул, которая может не позволять полноценно разместить частицы магнетита.

В пятой главе – “**Движение магнитных объектов в капилляре в поле постоянного магнита**” рассмотрена вычислительная модель движения магнитных объектов в капилляре при магнитной сепарации и анализ динамики движения и накопления частиц на стенках. Дается описание уравнений движения на основе второго закона Ньютона и особенностей вычислительной модели. С помощью модели построены и проанализированы траектории движения объектов в потоке под действием магнитного поля, а так же влияние на них основных параметров эксперимента в сравнении с экспериментом. На рисунке 16 показана зависимость вида траекторий от скорости потока.

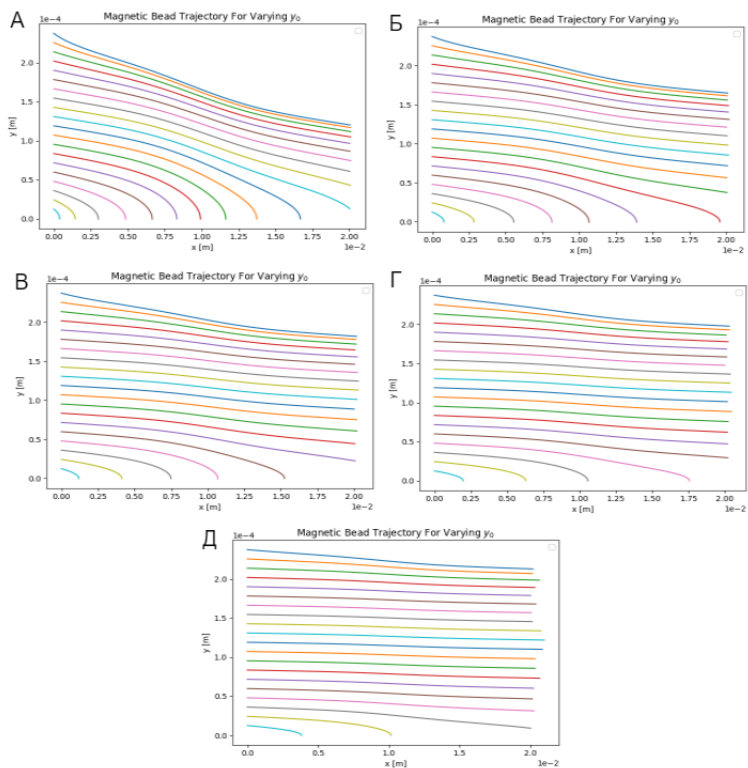


Рис. 16 — Пример траекторий движения частиц в капилляре при подведенном магните. Для примера взяты капсулы диаметром 2.7 мкм. Под обозначениями А), Б), В), Г), Д) показан вид траекторий при расходе жидкости в проточной системе равном 10 мл/мин, 20 мл/мин, 30 мл/мин, 50 мл/мин, 100 мл/мин соответственно. Разные траектории соответствуют различным значениям начального положения y_0 .

Помимо этого сделан вывод о преобладании магнитной силы над силами сопротивления при увеличении диаметра капсул (см. рисунок 17).

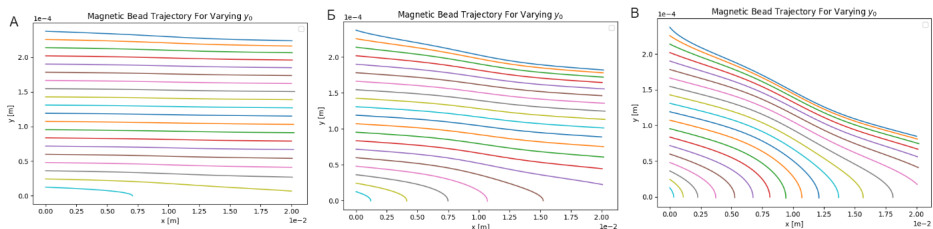


Рис. 17 — Пример поведения траекторий при изменении диаметра (массы) магнитных капсул. Величина расхода жидкости фиксирована и равна 30 мл/мин. Диаметр капсул равняется 1 мкм (А), 2.7 мкм (Б) и 5.5 мкм (В)

В **закл^ючении** приведены основные результаты работы, которые за^ключаются в следующем:

1. На основе анализа литературы и доступных данных был сделан вывод, что задачу удаления искажений с изображений проточного цитометра с визуализацией на основе светового листа с неоднородной функцией рассеяния точки и наличием абберации кома можно переформулировать как задачу нейронного переноса стиля.
2. Для анализа динамики магнитного удержания частиц и их подсчета в условиях образования крупных агрегатов в режиме реального времени был найден и использован оптимальный набор алгоритмов компьютерного зрения: алгоритм Сузуки, оператор Собеля и подсчет по средней площади единичного объекта.
3. Были найдены наиболее подходящие для магнитного удержания сочетания параметров проточной системы и носителей для адресной доставки (радиус, скорость потока, количество магнитного материала).
4. Для обучения нейросети в случае использования алгоритма переноса произвольного стиля с мультиадаптацией нежелательно использовать синтетические данные для расширения обучающей выборки, так как высока вероятность неправильного моделирования высокочастотных компонент изображения.
5. При использовании переноса стиля как метода реконструкции изображения, в нейросети необходим элемент распутывания стиля и контекста, чтобы уменьшить вероятность появления "ложной текстуры".
6. Метод МАМ может исказить (увеличивать) реальные расстояния между объектами (но не сами объекты) в силу особенностей восстановления границ между ними. В обучающей выборке должно быть достаточное количество примеров слипшихся двух-трех хорошо визуально разделимых объектов.

7. Архитектуры на основе GAN плохо подходят для работы с маленькими наборами данных из-за неустойчивости обучения.
8. Применение алгоритма Сузуки к изображению, предварительно обработанном оператором Собеля, повышает точность определения контуров объектов для случая слившихся объектов (не крупных агрегатов).
9. Одной загрузки магнетита в микрокапсулы недостаточно для их надежного захвата магнитом из потока.
10. Увеличение размера микрокапсул не обязательно ведет к увеличению количества загружаемого магнетита и лучшего захвата магнитным полем. Количество захваченных капсул зависит от параметров системы нелинейным образом.

Публикации автора по теме диссертации

- A1. Lightsheet-based flow cytometer for whole blood with the ability for the magnetic retrieval of objects from the blood flow [Текст] / R. A. Verkhovskii [et al.] // Biomedical Optics Express. — 2021. — Vol. 12, no. 1. — P. 380—394.
- A2. Correction: Verkhovskii et al. The Influence of Magnetic Composite Capsule Structure and Size on Their Trapping Efficiency in the Flow. *Molecules* 2022, 27, 6073 [Текст] / R. Verkhovskii [и др.] // *Molecules*. — 2023. — Т. 28, № 15. — URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/15/5647>.
- A3. *Makarkin, M.* State-of-the-Art Approaches for Image Deconvolution Problems including Modern Deep Learning Architectures [Текст] / M. Makarkin, D. Bratashov // *Micromachines*. — 2021. — Vol. 12, no. 12. — P. 1558.
- A4. Effect of Size on Magnetic Polyelectrolyte Microcapsules Behavior: Biodistribution, Circulation Time, Interactions with Blood Cells and Immune System [Текст] / R. Verkhovskii, A. Ermakov, O. Sindeeva, E. Prikhodzhenko, A. Kozlova, O. Grishin, M. Makarkin, D. Gorin, D. Bratashov // *Pharmaceutics*. — 2021. — Vol. 12, no. 13. — P. 2147.
- A5. The Influence of Magnetic Composite Capsule Structure and Size on Their Trapping Efficiency in the Flow [Текст] / R. Verkhovskii [и др.] // *Molecules*. — 2022. — Сент. — Т. 27, № 18. — С. 6073.
- A6. Light Sheet Flow Cytometry: Study of Polyelectrolyte Microcapsules in Whole Blood [Текст] / D. Bratashov, O. Sindeeva, O. Mayorova, R. Verkhovskii, A. Ermakov, O. Grishin, I. Kozhevnikov, M. Makarkin, E. Prikhodzhenko // 2022 International Conference Laser Optics (ICLO). — 2022. — С. 01—01.

- A7. Detection of Rare Objects by Flow Cytometry: Imaging, Cell Sorting, and Deep Learning Approaches [Текст] / D. V. Voronin, A. A. Kozlova, R. A. Verkhovskii, A. V. Ermakov, M. A. Makarkin, O. A. Inozemtseva, D. N. Bratashov // International Journal of Molecular Sciences. — 2020. — Т. 21, № 7.

Список литературы

1. Role of Extracellular Vesicles in Cellular Cross Talk in Malaria [Текст] / K. A. Babatunde, B. Yesodha Subramanian, A. D. Ahouidi, P. Martinez Murillo, M. Walch, P.-Y. Mantel // Frontiers in Immunology. — 2020. — Т. 11. — URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.00022>.
2. Clinical Applications of Circulating Tumour Cells and Circulating Tumour DNA in Non-Small Cell Lung Cancer: An Update [Текст] / J. Kapeleris, M. Ebrahimi Warkiani, A. Kulasinghe, I. Vela, L. Kenny, R. Ladwa, K. Byrne, C. Punyadeera // Frontiers in Oncology. — 2022. — Т. 12. — URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2022.859152>.
3. *Yagupsky, P.* 176 - Kingella Species [Текст] / P. Yagupsky // Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition) / под ред. S. S. Long, C. G. Prober, M. Fischer. — Fifth Edition. — Elsevier, 2018. — 945–948.e2. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323401814001766>.
4. Cellometer Vision as an alternative to flow cytometry for cell cycle analysis, mitochondrial potential, and immunophenotyping [Текст] / L. L.-Y. Chan, X. Zhong, J. Qiu, P. Y. Li, B. Lin // Cytometry Part A. — 2011. — Т. 79A.
5. Application of High-Throughput Flow Cytometry in Early Drug Discovery: An AstraZeneca Perspective [Текст] / M. Ding, R. Clark, C. Bardelle, A. Backmark, T. Norris, W. Williams, M. Wigglesworth, R. Howes // SLAS Discovery. — 2018. — Т. 23, № 7. — С. 719–731. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2472555222068903> ; Special Issue High-Throughput Flow Cytometry in Drug Discovery.
6. Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery [Текст] / M. Lengyel, N. Kállai-Szabó, V. Antal, A. J. Laki, I. Antal // Scientia Pharmaceutica. — 2019. — Т. 87, № 3. — URL: <https://www.mdpi.com/2218-0532/87/3/20>.

7. Detection of Rare Objects by Flow Cytometry: Imaging, Cell Sorting, and Deep Learning Approaches [Текст] / D. V. Voronin, A. A. Kozlova, R. A. Verkhovskii, A. V. Ermakov, M. A. Makarkin, O. A. Inozemtseva, D. N. Bratashov // International Journal of Molecular Sciences. — 2020. — Т. 21, № 7. — URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/7/2323>.
8. *Arechederra, M.* Liquid biopsy for cancer management: a revolutionary but still limited new tool for precision medicine [Текст] / M. Arechederra, M. A. Avila, C. Berasain // Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio. — 2020. — Т. 1, № 3. — С. 20200009. — URL: <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0009>.
9. Short-Term Circulating Tumor Cell Dynamics in Mouse Xenograft Models and Implications for Liquid Biopsy [Текст] / A. L. Williams, J. E. Fitzgerald, F. Ivich, E. D. Sontag, M. Niedre // Frontiers in Oncology. — 2020. — Т. 10. — URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2020.601085>.
10. *Fulwyler, M. J.* Electronic Separation of Biological Cells by Volume [Текст] / M. J. Fulwyler // Science. — 1965. — Т. 150, № 3698. — С. 910—911.
11. *McGrath, K. E.* Multispectral imaging of hematopoietic cells: Where flow meets morphology [Текст] / K. E. McGrath, T. P. Bushnell, J. Palis // Journal of Immunological Methods. — 2008. — Т. 336, № 2. — С. 91—97. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022175908001415>.
12. Detection of Rare Circulating Tumor Cell Clusters in Whole Blood Using Label-free, Flow Cytometry [Текст] / N. Vora, P. Shekhar, M. Esmail, A. Patra, I. Georgakoudi // Biophotonics Congress: Biomedical Optics 2022 (Translational, Microscopy, OCT, OTS, BRAIN). — Optica Publishing Group, 2022. — MW3A.3. — URL: <https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=Microscopy-2022-MW3A.3>.
13. In Vivo Flow Cytometry of Extremely Rare Circulating Cells [Текст] / X. Tan, R. A. Patil, P. Bartosik, J. M. Runnels, C. P. Lin, M. J. Niedre // Scientific Reports. — 2018. — Т. 9.
14. Towards rainbow portable Cytophone with laser diodes for global disease diagnostics [Текст] / H. J. Jawad [и др.] // Scientific Reports. — 2022. — Т. 12.
15. Improvement of spatial resolution in photoacoustic microscopy using transmissive adaptive optics with a low-frequency ultrasound transducer [Текст] / Y. Notsuka, M. Kurihara, N. Hashimoto, Y. Harada, E. Takahashi, Y. Yamaoka // Opt. Express. — 2022. — Янв. — Т. 30,

- № 2. — С. 2933–2948. — URL: <https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-30-2-2933>.
16. In vivo label-free photoacoustic flow cytography and on-the-spot laser killing of single circulating melanoma cells [Текст] / Y. He, L. Wang, J. Shi, J. Yao, L. Li, R. Zhang, C.-H. Huang, J. Zou, L. V. Wang // Scientific Reports. — 2016. — Т. 6.
 17. SPIM-fluid: open source light-sheet based platform for high-throughput imaging [Текст] / E. J. Gualda, H. Pereira, T. Vale, M. F. Estrada, C. Brito, N. Moreno // Biomed. Opt. Express. — 2015. — Ноябрь. — Т. 6, № 11. — С. 4447–4456. — URL: <http://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-6-11-4447>.
 18. Pitch-rotational manipulation of single cells and particles using single-beam thermo-optical tweezers [Текст] / S. Kumar, M. Gunaseelan, R. Vaippully, A. Kumar, M. Ajith, G. Vaidya, S. Dutta, B. Roy // Biomed. Opt. Express. — 2020. — Июль. — Т. 11, № 7. — С. 3555–3566. — URL: <http://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-11-7-3555>.
 19. *Spyratou, E.* Advanced Biophotonics Techniques: The Role of Optical Tweezers for Cells and Molecules Manipulation Associated With Cancer [Текст] / E. Spyratou // Frontiers in Physics. — 2022. — Т. 10. — URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphy.2022.812192>.
 20. Photoacoustic flow cytometry for nanomaterial research [Текст] / D. A. Nedosekin [и др.] // Photoacoustics. — 2017. — Т. 6. — С. 16–25. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213597916300453>.
 21. Light-sheet microscopy: a tutorial [Текст] / O. E. Olarte, J. Andilla, E. J. Gualda, P. Loza-Alvarez // Adv. Opt. Photon. — 2018. — Март. — Т. 10, № 1. — С. 111–179. — URL: <http://opg.optica.org/aop/abstract.cfm?URI=aop-10-1-111>.
 22. *Sarder, P.* Deconvolution methods for 3-D fluorescence microscopy images [Текст] / P. Sarder, A. Nehorai // IEEE Signal Processing Magazine. — 2006. — Т. 23, № 3. — С. 32–45.
 23. Label-free automated neutropenia detection and grading using deep-ultraviolet microscopy [Текст] / A. Ojaghi, P. C. Costa, C. Caruso, W. A. Lam, F. E. Robles // Biomed. Opt. Express. — 2021. — Октябрь. — Т. 12, № 10. — С. 6115–6128. — URL: <http://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-12-10-6115>.

24. An open-source solution for advanced imaging flow cytometry data analysis using machine learning [Текст] / H. Hennig, P. Rees, T. Blasi, L. Kamensky, J. Hung, D. Dao, A. E. Carpenter, A. Filby // *Methods*. — 2017. — Т. 112. — С. 201–210. — URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046202316302912> ; Flow Cytometry.
25. Morphology-Based Deep Learning Approach for Predicting Osteogenic Differentiation [Текст] / Y. Lan, N. Huang, Y. Fu, K. Liu, H. Zhang, Y. Li, S. Yang // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. — 2022. — Т. 9. — URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2021.802794>.
26. Imaging flow cytometer and image-guided cell sorter [Текст] / Y.-H. Lo, Y. Gu, R. Tang, X. Chen, Y. Han // *OSA Advanced Photonics Congress (AP) 2019 (IPR, Networks, NOMA, SPPCom, PVLED)*. — Optica Publishing Group, 2019. — ITh3A.3. — URL: <http://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=IPRSN-2019-ITh3A.3>.

Макаркин Михаил Андреевич

Системы проточной цитометрии для поиска и выделения редких объектов:
моделирование и анализ изображений и сигналов

Автореф. дис. на соискание ученой степени канд. физ.-мат. наук

Подписано в печать _____.____._____. Заказ № _____

Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 1. Тираж 100 экз.

Типография _____