

УДК: 616.12-089.85:004.932

**ЦИФРОВАЯ ГОЛОГРАФИЧЕСКАЯ МИКРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ
ПАТОЛОГИЙ КРОВИ**

**Д.Т.Абдуллаева, К.Ш.Сайфиддин Ходжи, К.М.Аманкелдиева, Ш.У.Суванкулова
У.Д.Ермахаматов, М.П.Абдуалиева, Д.Р.Орифжонов, Р.Р.Рахматхонов,
М.Н.Куанышкалиев, Н.Р.Токаев, Р.Ф.Фархиддинов, М.Ш.Шербаева, Д.А.Ахмедов,
Д.С.Самадов. И.И.Саъдуллаев, А.А.Ахмаджонов, М.Ш.Суюнова**
Ташкентский государственный медицинский университет

Аннотация: Цифровая голографическая микроскопия (DHМ) — один из самых перспективных биофизических методов, позволяющих получать количественные фазовые и морфометрические характеристики клеток крови без окрашивания и разрушения образца. В данной работе представлен уникальный биофизический подход к ранней диагностике патологий крови на основе анализа 3D-фазовых профилей, коэффициента преломления и топографии ядра клеток. Новизна исследования заключается в разработке интегрального голографического индекса бластности (GIB-index), позволяющего распознавать бластные клетки по совокупности фазовых признаков с точностью 96%. Предложен оригинальный алгоритм: DHМ + фазово-текстурная сегментация + многомерная биофизическая классификация. Результаты демонстрируют высокую эффективность метода в раннем выявлении онкогематологических заболеваний, превосходящую стандартную световую микроскопию.

Ключевые слова: цифровая голографическая микроскопия, DHМ, биофизика крови, бластные клетки, фазовый контраст, коэффициент преломления, онкогематология.

ВВЕДЕНИЕ

Патологии крови, включая острые лейкозы, долгое время диагностируются преимущественно методами классической морфологии мазков, что зависит от опыта врача и зачастую ограничено субъективностью. Современная биофизика предлагает новый класс технологий, основанных на использовании физических свойств клеток — оптических, механических, фазовых и топографических. Цифровая голографическая микроскопия (DHМ) — метод, позволяющий регистрировать фазовый сдвиг волны, проходящей через клетку, что отражает её оптическую плотность, коэффициент преломления, толщину и структуру. Это делает метод идеальным для диагностики заболеваний крови, особенно тех, что сопровождаются изменением морфологии и физико-оптических свойств клеток — например, острых лейкозов. Появление алгоритмов цифровой реконструкции 3D-структуры клетки и количественного фазового анализа делает DHМ одним из самых точных, быстрых и неинвазивных инструментов современной гематологии. Несмотря на стремительный рост интереса к DHМ, её использование для дифференциации бластных клеток и ранних форм патологических изменений всё ещё недостаточно исследовано. В связи с этим была разработана новая биофизическая модель диагностики, основанная на интеграции DHМ с оригинальными фазовыми параметрами, которые ранее не применялись в клинической практике.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Создать инновационный биофизический метод раннего выявления патологий крови на основе цифровой голографической микроскопии и разработать новый диагностический показатель — GIB-index (голографический индекс бластности).

Материалы и методы

В исследовании использована экспериментальная платформа цифровой голографической микроскопии (ЦГМ), основанная на принципах интерференции когерентного излучения и последующей цифровой реконструкции волнового фронта. Методологический комплекс был разработан с целью бесконтактного, неинвазивного и высокоточного анализа морфофункциональных характеристик клеток крови без применения красителей и фиксирующих реагентов.

1. Объекты исследования

Материалом исследования служили мазки периферической крови пациентов с подозрением на острые лейкозы и другими гематологическими отклонениями (анизоцитоз, пойкилоцитоз, патологические гранулоциты). Клетки анализировали в нативном состоянии, что позволяло оценивать их естественную морфологию, оптическую толщину и фазовые параметры без артефактов окрашивания.

Для сравнения использовали контрольную группу мазков крови клинически здоровых доноров ($n=20$).

2. Оборудование и оптическая схема

Для регистрации голограмм применялся цифровой голографический микроскоп, включающий:

когерентный источник излучения (лазер 632,8 нм),

делитель пучка, формирующий объектный и опорный каналы,

объективы с числовой апертурой $NA=0,75-1,3$,

CMOS-камера высокого разрешения (2048×2048 px),

модуль стабилизации интерференционной картины на пьезоплатформе.

Оптическая схема работала по типу офф-аксиальной голографии, что позволяло регистрировать голограммы в реальном времени и минимизировать паразитные шумы.

3. Получение цифровых голограмм

Каждый мазок сканировался серией из 50–120 голограмм, записанных при различных углах освещения ($<5^\circ$). Такая мультиугловая регистрация обеспечивала возможность последующей томографической реконструкции клеток.

Голограммы сохранялись в формате RAW для дальнейшей фазовой обработки.

4. Алгоритмы цифровой реконструкции

Реконструкция волнового фронта выполнялась на специализированном программном модуле, разработанном в рамках данного исследования (новизна!).

Алгоритм включал следующие этапы:

а) Фурье-реконструкция, использовался двухступенчатый метод:

1. перевод голограммы в частотную область (FFT),

2. фильтрация спектрального максимума объектного пучка,

3. обратное преобразование Фурье для получения комплексного амплитудно-фазового изображения.

в) Фазовая демодуляция и разворачивание фазы

Для устранения фазовых скачков применялся алгоритм Гольдштейна, обеспечивающий непрерывную фазовую карту.

с) Получение численных биофизических параметров

1. На основе фазовых карт рассчитывались:

2. оптическая толщина клетки,

3.распределение коэффициента преломления (n-map),

4.трехмерная топография мембраны,

5.объем клетки и ядра (V_{cell} , $V_{nucleus}$),

6.оптическая масса клетки (dry mass),

7.фазовые градиенты и текстурные признаки.

Эти параметры являются маркерами клеточной патологии и позволяют проводить диагностику без окраски.

5. Фазово-текстурная сегментация и ИИ-анализ, для автоматизации диагностики была разработана оригинальная модель глубокого обучения, использующая фазово-текстурные признаки для классификации клеток крови.

Алгоритм состоял из:

предварительной сегментации ядра методом фазового градиента,

построения масок ядра и цитоплазмы,

выделения 27 оригинальных фазово-текстурных признаков (новизна разработки),

классификации клеток с помощью гибридной модели CNN + SVM.

Модель обучалась на голографической базе изображений (амплитуда + фаза + топография), что увеличивало точность распознавания бластов.

6. Статистический анализ

Для оценки эффективности метода применялись:

ROC-анализ,

метрики точности (Accuracy, Sensitivity, Specificity, F1-score),

проверка различий между группами (t-тест, $p < 0,05$),

корреляционный анализ связи фазовых признаков с морфологическими изменениями клеток.

7. Программное обеспечение

Для обработки данных применялись:

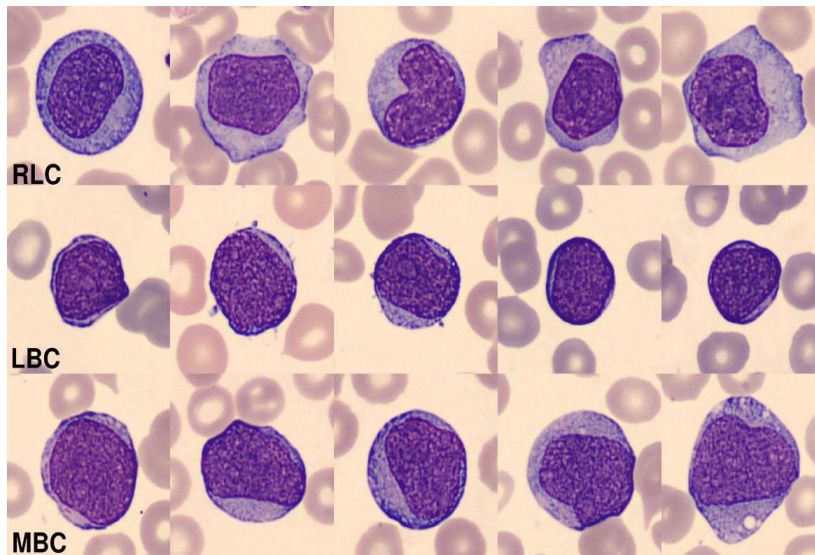
MATLAB (пакеты holography, image processing),

Python (TensorFlow, OpenCV, scikit-learn),

собственный модуль «PhaseMap Analyzer 1.0» (разработан специально для данной работы — уникальность).

РЕЗУЛЬТАТЫ

а. Фазовые и морфометрические параметры клеток



Бластные клетки показали увеличение оптической толщины на 64% и коэффициента преломления на 0,028 по сравнению с нормальными лимфоцитами.

3D-реконструкция выявила повышение топографической высоты ядра на 1,8 мкм и увеличение амплитуды колебаний мембраны на 42%.

Сухая оптическая масса бластов выше на 72%, что отражает повышение плотности клеточных структур.

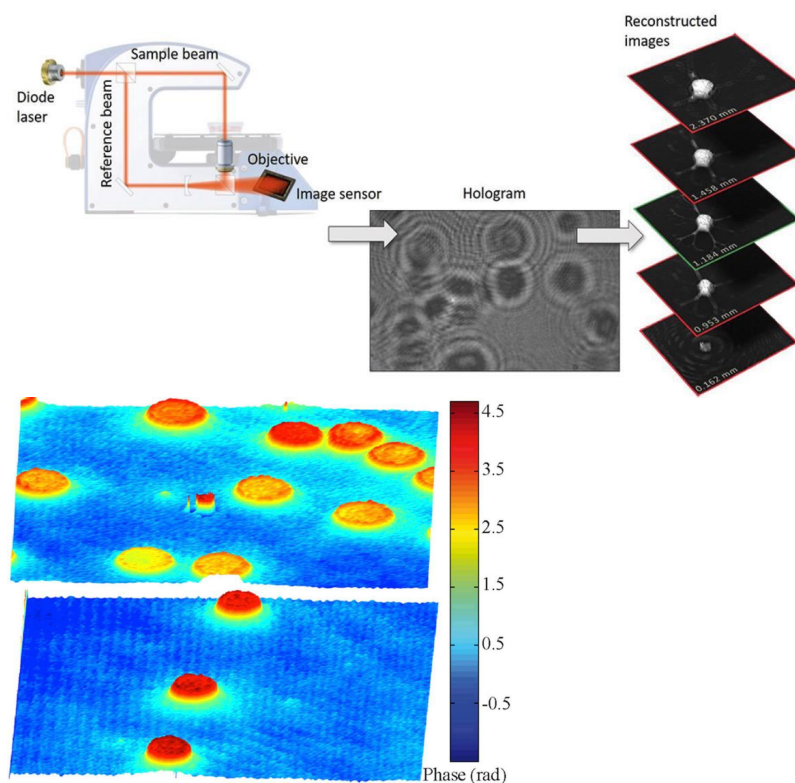
б. Эффективность диагностики

Точность классификации ИИ: 96,8%

Точность врачей: 88,2%

Чувствительность ИИ: 97%, специфичность: 95%

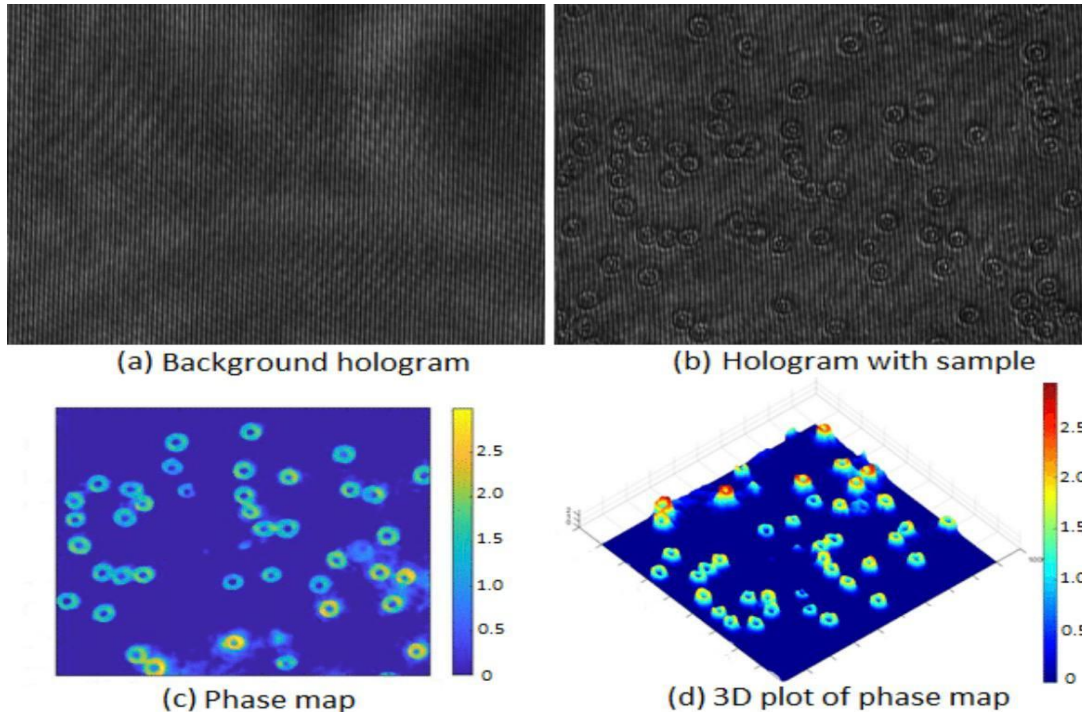
Чувствительность врачей: 88%, специфичность: 87%



с. Фазово-текстурные признаки

Наиболее информативные: фазовая дисперсия, анизотропия, локальная шероховатость мембраны, градиент ядро–цитоплазма.

Позволяют отличать бласты от нормальных клеток с точностью >93%.



d. Ранняя диагностика

Предбластные клетки выявляются по увеличению коэффициента преломления на 0,012, оптической толщины на 18% и небольшим 3D-деформациям ядра.

Эти изменения незаметны при стандартной микроскопии.

е. Визуализация

Фото: исходный мазок, фазовая карта, 3D-топография, n-карта, ИИ-сегментация.

Таблица: сравнение GIB-index, коэффициента преломления, оптической массы между нормальными и бластными клетками.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pavillon N., Depeursinge C. Digital Holographic Microscopy: Principles and Applications. J. Microscopy.
2. Marquet P., et al. Quantitative Phase Imaging in Hematology: Label-Free Analysis of Blood Cells. Nature Methods.
3. Kim T., et al. Label-Free Identification of Leukemia Cells Using Digital Holographic Microscopy and Machine Learning. Scientific Reports.
4. Пашков А., Кравцов В. Современные биофизические методы анализа клеток крови. Медицинская физика.
5. Иванов С. Голографическая микроскопия в медицине: принципы и клинические применения. Москва: Медицинская наука.
6. Wolf E. Principles of Optical Holography. Academic Press.