

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПОЛЯРИЗАЦИОННЫХ  
И НЕФЕЛОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ В ОПРЕДЕЛЕНИИ  
МИКРОФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЕЙ  
ЭРИТРОЦИТОВ

М. М. Кугейко, Д. А. Смунев

Белорусский государственный университет, Минск

E-mail: kugeiko@bsu.by

Высокой эффективности для определения микрофизических параметров (МФП) эритроцитов (параметры функции распределения по размерам; действительная часть показателя преломления  $n$ ; средний объём) можно достичь с использованием оптических методов исследования [1]. Размер и форма эритроцитов также имеют важное диагностическое значение [2]. Информация о всех отмеченных параметрах содержится в характеристиках светорассеяния, таких как коэффициенты рассеяния и поглощения, индикатриса рассеяния, поляризация и деполяризация.

Существует достаточно много подходов к моделированию единичного нативного эритроцита. Использовались модели шара [3], сплюснутого сфероида [4], шарового диска [5], поверхность вращения кривой Кассини [6] и, наконец, модель двояковогнутого дискоида [7]. Модель двояковогнутого дискоида (RBC – red blood cell) наилучшим образом описывает геометрию нативного эритроцита, что подтверждается экспериментальными данными [7].

Наиболее устойчивыми и точными методами обработки статистической измерительной информации относительно определяемых параметров являются методы с использованием множественных регрессий [8–11]. Для получения регрессий использованы формы эритроцита в виде шара [8,10] и сплюснутого сфероида [11], а также двояковогнутого дискоида [12]. Если модели шара и сплюснутого сфероида не нуждаются в пояснениях, то применение модели двояковогнутого дискоида требует пояснения (см. рис. 1). В [7] предложена 4-х параметрическая модель эритроцита человека:

$$\rho^4 + 2S\rho^2 z^2 + z^4 + P\rho^2 + Qz^2 + R = 0, \quad (1)$$

где  $\rho$  – радиус в цилиндрической системе координат ( $\rho^2 = x^2 + y^2$ ). Параметры  $P$ ,  $Q$ ,  $R$ , и  $S$  связаны с геометрическими параметрами эритроцита следующим образом:

$$P = -\frac{D^2}{4} - \frac{b^2 h^2}{4D^2} + \frac{b^2 c^4}{4D^2(h^2 - b^2)}, Q = \frac{D^4 + 4D^2 P - b^4}{4b^2}, R = -\frac{D^2}{16}(D^2 + 4P), S = -\frac{c^2 + 2P}{h^2}. \quad (2)$$

Геометрический смысл параметров  $b$ ,  $c$ ,  $D$  и  $h$  показан на рис. 1.

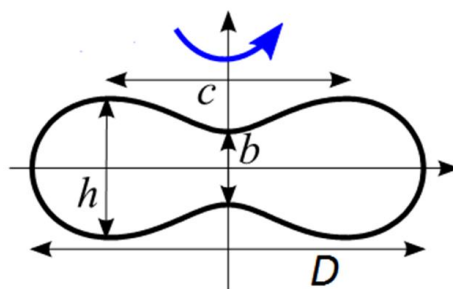


Рис. 1. Геометрический смысл параметров  $b$ ,  $c$ ,  $D$  и  $h$  в (2)

Таким образом, применение реалистичной модели двояковогнутого дискоида, численное моделирование светорассеяния на каждом из эритроцитов, дальнейшая аккумуляция на популяции и обработка массива данных с целью получения оптических характеристик рассеянного излучения дают возможности разработки наиболее точного и экономичного экспресс-метода определения МФП эритроцитов.

Для численного моделирования светорассеяния одной частицы нашли применение различные подходы, такие как метод дискретных диполей (МДД) [13], метод расширенных граничных условий (МРГУ) [14], метод разделения переменных (МРП) [14] и другие. Главным преимуществом МДД является то, что это один из самых общих методов, его применимость ограничена лишь доступными вычислительными ресурсами. Одним из наиболее распространенных программных продуктов является ADDA, реализующая принцип МДД. Программный комплекс, разработанный с участием автора, обладает следующими достоинствами: модель эритроцита (1) уже встроена в исходный код программы, кроме того, в отличие от других программных продуктов, имеется возможность учитывать особенности формы частицы для ускорения расчёта [15]. Результатом численного моделирования является набор сечений и факторов экстинкции, рассеяния, поглощения  $C/Q_{ext/sca/abc}$  и матрицы Мюллера для каждого из углов заданного диапазона ( $[0; 180^\circ]$ ).

Расчёты производились для случая неполяризованного падающего излучения, то есть  $I_{in} = [1 \ 0 \ 0 \ 0]$ . Были рассчитаны оптические характеристики для  $N=1000$  популяций. Процедура получения, обработки, обеспечения целостности и быстрого доступа к данным оказалась весьма нетривиальной технической задачей. Следует упомянуть, что стандартные средства (например, индексирование), хоть и ускоряли выборку, но общее время выполнения было неприемлемым. Проблема была решена монтированием виртуального жёсткого диска в оперативную память с последующим переносом туда базы данных. Используемая база данных – MongoDB [16]. Для расчёта оптических характеристик популяций эрит-

роцитов с применением модели сфероида также использовался МДД. Для расчёта оптических характеристик популяций эритроцитов с применением модели сфер используется теория Ми.

Регрессионный подход предполагает, что искомые микрофизические параметры (МФП)  $\mathbf{X} = (x_i)$  могут быть найдены с помощью некоторого аналитического преобразования  $\mathbf{Ox} \mathbf{Y} = (y_j)$ , где  $y_j$  – измеряемые оптические характеристики. Ниже приводятся результаты расчёта с использованием метода линейных регрессий:

$$\ln(x_i) = a_0 + \sum_{j=1}^n a_j \ln(y_j), \quad (3)$$

где численные значения коэффициентов  $a_j$  определяются на основе используемой выборки методом наименьших квадратов:

$$\min \left( \sum_{k=1}^N \left[ \ln(x_i) - a_{i0} - \sum_{j=1}^n a_{ij} \ln(y_j) \right] \right). \quad (4)$$

Кроме того, минимальное количество слагаемых  $n$  в (3) определяется точностью аппроксимации, а максимальное – как дополнительными привносимыми ошибками, так и степенью взаимной корреляции результатов. Критерием выбора оптимальных измеряемых оптических параметров  $y_j$  в (4) являлся метод минимизации погрешности:

$$\min \delta x_i(\Theta_1 \dots \Theta_n) = \min \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \left[ \frac{1}{x_{ik}} \left| x_{ik} - \exp(a_{i0}(\Theta_1 \dots \Theta_n) - \sum_{j=1}^n a_{ij}(\Theta_1 \dots \Theta_n) \ln(y_j^*)) \right| \right], \quad (5)$$

где  $N$  – размер выборки,  $\delta x_i$  – относительная погрешность измерения микрофизического параметра,  $y_j^* = y(\Theta_j) \pm \delta y$  – измеряемая под углом  $\Theta_j$  оптическая характеристика,  $\delta y$  – случайная 2.5% погрешность,  $a_{ij}(\Theta_1 \dots \Theta_n)$  – коэффициенты, определяемые в (4).

Таким образом, с использованием отмеченного выше критерия выбора в результате проведенных нами расчетов определены наиболее эффективные углы  $\Theta_i$  (для четырех слагаемых), рассчитаны коэффициенты  $a_j$  при определении объема  $V$  (для модели эритроцита в виде двуклового диска). Приводятся погрешности определения  $V$ . Наименьшая погрешность восстановления среднего объема достигается при применении 2 слагаемых индикатрисы и 2 слагаемых поляризации – 1.55 %:

Проведенные расчеты показали, что наименьшая погрешность восстановления среднего объема достигается при применении 2 слагаемых с применением значения индикатрисы ( $12^\circ$  и  $17^\circ$ ) и 2 слагаемых с поляризацией ( $41^\circ$  и  $47^\circ$ ) – 1.55 %

$$\ln V = a_0 + a_1 \ln \sigma^*(\Theta_1) + a_2 \ln \sigma^*(\Theta_2) + a_3 \ln P^*(\Theta_3) + a_4 \ln P^*(\Theta_4) \quad (6)$$

Знак \* после оптической характеристики означает наложение случайной 2.5 % погрешности. На рис. 2 приведена гистограмма погрешности определения  $V$  с использованием (6), где по оси ОУ отложена частота повторяемости  $N$  ошибок  $\delta V = \frac{|V - V^*|}{V}$  (число реализаций  $N$ , для которых получены данные погрешности  $\delta V$ ),  $V$  и  $V^*$  – соответственно заданные и рассчитанные с использованием (6) средние объёмы. Коэффициенты регрессии рассчитывались для разных моделей эритроцитов. Погрешности вычислялись при применении этих коэффициентов к рассчитанным оптическим характеристикам, полученным с использованием формы двояковогнутого дискоида.

Как видно из рис. 2, использование моделей сферы и сфероида по сравнению с моделью RBC приводит к средним погрешностям: для сфероида – 27.29 %, для сферы – 33.43 %. Это и предсказуемо, исходя из полученных погрешностей расчета оптических характеристик – индикатрис и поляризаций.

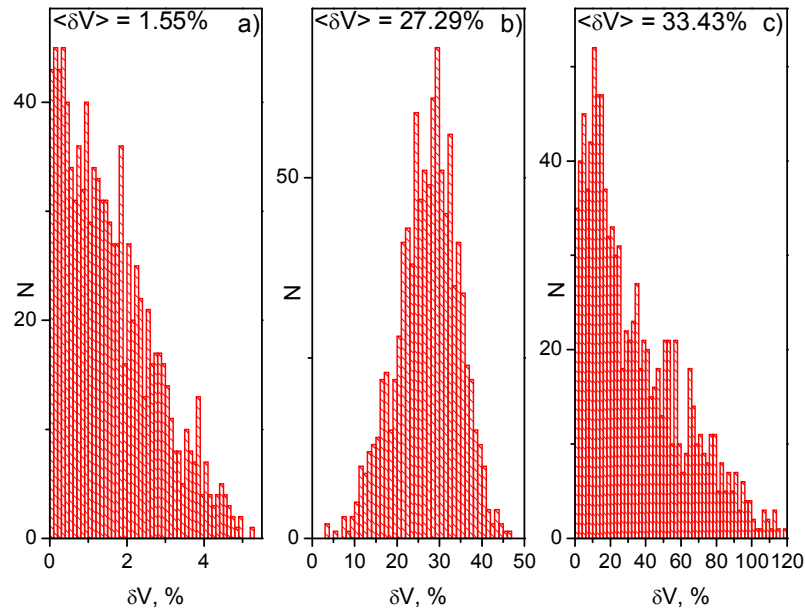


Рис. 2. Гистограммы погрешностей определения  $V$   
 а) RBC ( $\langle \delta V \rangle = 1.55\%$ ), б) сфероид ( $\langle \delta V \rangle = 27.29\%$ ),  
 в) сфера ( $\langle \delta V \rangle = 33.43\%$ )

О чувствительности регрессий к используемым математическим моделям эритроцитов можно судить и из следующего – при значениях индикатрисы на углах  $22^\circ$  и  $28^\circ$  сфера и RBC дают погрешности  $\sim 6\%$ .

Вышеописанные выводы относятся к несферизованным нативным эритроцитам. Ситуация меняется, если использовать предварительную сферизацию. Предварительная сферизация обосновывает применение модели сферы к ансамблю эритроцитов и делает возможным применение регрессионных методов с использованием модели сферы для определения микрофизических параметров. Погрешности определения МФП эритроцитов при этом составляют единицы процентов и сравнимы, таким образом, с отмеченными выше погрешностями. В заключение необходимо отметить, что такая точность восстановления  $V$  соответствует полностью сферизованным эритроцитам. Однако, как показано в [17], далеко не все частицы в используемых на практике гематологических анализаторах сферизуются – в среднем 7% частиц либо не изменяют своей первоначальной формы, либо сферизуются не полностью. Очевидно, таким образом, что реальные погрешности будут выше приводимых.

1. *Лопатин В. Н, Приезжев А. В, Афанасенко А. Ю.* Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред. Москва. 2004.
2. *Кизилова Н., Тишко Т., Тишко Д.* // III Евразийский конгресс по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика-2010». Москва. 2010. С. 260–262.
3. *Tycko D. H. et al.* // Appl. Opt. 1985. Т. 24, № 9. P. 1355–1365.
4. *Nilsson A. M. K. et al.* // Appl. Opt. 1998. Т. 37, № 13. С. 2735–2748.
5. *Eremina E., Eremin Y., Wriedt T. A* // Opt. Commun. 2005. Т. 244, № 1-6. P. 15–23.
6. *Mazeron P., Müller S.* // J. Opt.-Nouv. Rev. Opt. 1998. т. 29, № 2. С. 68–77.
7. *Юркин М. А.* Моделирование светорассеяния клетками крови с помощью метода дискретных диполей. Новосибирск, 2008. 213 с.
8. *Кугейко М. М., Смутнёв Д. А.* // Вестник БГУ. 2012. № 2. С. 19–23.
9. *Кугейко М. М, Лысенко С. А.* // Оптика и спектроскопия. 2008. Т. 104, №4. С. 654–659.
10. *Kugeiko M., Smunev D.* // Optics and spectroscopy. 2012. Т. 113. С. 446–450.
11. *Кугейко М. М., Смутнёв Д. А.* // Оптика и спектроскопия. 2014. Т. 117, № 4. С. 170–176.
12. *Кугейко М. М, Смутнёв Д. А.* // Журнал прикладной спектроскопии. 2015. Т. 6 –в печати
13. *Draine B. T., Flatau P. J.* // J. Opt. Soc. Am. A. 1994. Т. 11, № 4. С. 1491–1499.
14. *Kahnert F. M.* // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 2003. Т. 79. С. 775–824.
15. *Smunev D. A., Chaumet P. C., Yurkin M. A.* // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 2015. Vol. 156. P. 67–79.
16. MongoDB [Electronic resource]. URL: <https://www.mongodb.org/> (accessed: 25.09.2015).
17. *Тарасов П. А.* Определение характеристических параметров эритроцитов методами динамической проточной цитометрии, канд. дис. Красноярск, 2005. 99 с.