

# **О возможностях использования полупроводниковых лазеров в диагностике форменных элементов крови**

М. М. Кугейко, С. А. Лысенко

*Белорусский государственный университет, 220030, Минск, Беларусь  
e-mail: kugeiko@bsu.by*

Предлагается легко автоматизируемая, эксплуатационно и метрологически надежная методика определения спектральных значений действительной части показателя преломления эритроцитов крови человека, основанная на измерении коэффициентов рассеяния света под двумя парами углов из передней и задней полусфер рассеяния и использовании спектрального уравнения множественной регрессии. Рассматривается техническое решение построения измерительной системы по данной методике с использованием полупроводниковых лазеров, позволяющее в максимальной степени устранить ошибки калибровки и влияние дестабилизирующих факторов.

**Ключевые слова:** эритроциты, показатель преломления, коэффициент направленного рассеяния, регрессионное уравнение, нефелометр, полупроводниковый лазер.

## **1. Введение**

Неослабевающий интерес исследователей к эритроцитам крови объясняется их высокой чувствительностью к патологическим изменениям в организме человека. Необходимость диагностики относительного показателя преломления эритроцитов крови ( $n(\lambda)$ , где  $\lambda$  – длина волны излучения) обусловлена, по меньшей мере, двумя причинами. Кроме вопросов косвенной идентификации вещественного состава эритроцитов, определенно коррелирующего с этим параметром, данные об  $n(\lambda)$  необходимы в качестве априорной информации при решении «ограниченных» обратных задач светорассеяния кровью.

Для определения микрофизических параметров эритроцитов используются методы оптики рассеивающих сред [1]. Однако ни один из этих методов не получил широкого распространения в клинической практике, что связано либо с чрезвычайной сложностью экспериментальной реализации этих методов либо с их принципиальными методическими ограничениями, не позволяющими обеспечить высокий уровень диагностики.

Ниже рассматривается возможность определения спектральных значений показателя преломления эритроцитов, основанная на измерении угловых оптических характеристик рассеивающей среды, позволяющая устранить недостатки известных оптических методов.

## **2. Методика определения $n(\lambda)$ и анализ ее эффективности**

При моделировании биологических объектов обычно учитывается, что угловое распределение света, рассеянного на большом числе хаотически расположенных несферических частиц, такое же, как при рассеянии на шарах эквивалентного объема. В связи с этим в нашей модели эритроциты представлены в сферическом виде с индикатрисой рассеяния, рассчитываемой по формулам Ми. Использование данной модели в других работах [2, 3] и сравнение численных расчетов с экспериментальными результатами [3, 4] показали, что такое приближение удовлетворительно описывает свойства большинства биологических тканей, включая кровь.

Для отношения коэффициентов рассеяния  $\beta(\theta)$  и  $\beta(\gamma)$  под углами  $\theta$  и  $\gamma$  при известных микрофизических параметрах эритроцитов (функция распределения частиц

по размерам  $f(r)$ , действительная  $n(\lambda)$  и мнимая  $\chi(\lambda)$  части относительного показателя преломления) справедливо следующее соотношение [1]:

$$\beta(\theta, \lambda) / \beta(\gamma, \lambda) = \int_0^\infty \pi r^2 K_\theta(n, \chi, x) f(r) dr / \int_0^\infty \pi r^2 K_\gamma(n, \chi, x) f(r) dr,$$

где  $x = 2\pi r / \lambda$  – параметр Ми,  $K_\theta(n, \chi, x)$  – фактор эффективности рассеяния излучения частицей с радиусом  $r$  на длине волны  $\lambda$  под углом  $\theta$ . В качестве  $f(r)$  используется обобщенное гамма-распределение, которое достаточно хорошо описывает данные многочисленных экспериментальных исследований образцов крови [5, 6]. Ниже представлены результаты теоретического исследования чувствительности связи между  $\beta(\theta) / \beta(\gamma)$  и  $n(\lambda)$  к вариациям микроструктурных параметров эритроцитов в диапазонах их возможных изменений, взятых из литературных данных [5–7].

Рис. 1, *а* иллюстрирует зависимость углов  $\theta$  и  $\gamma$ , соответствующих максимальной корреляции между  $\log|n(\lambda)-1|$  и отношением коэффициентов рассеяния под углами  $\theta$  и  $\gamma$   $\log[R(\theta, \gamma, \lambda)]$ , от длины волны излучения  $\lambda$ . На рис. 1, *б* представлены средние (MeanErr) и максимальные (MaxErr) по ансамблю реализаций оптико-микроструктурных параметров эритроцитов ошибки определения  $|n(\lambda)-1|$  по отношению коэффициентов рассеяния под углами максимальной корреляции на данной  $\lambda$ . Как видно из рис. 1, определение  $n(\lambda)$  с хорошей точностью (средняя погрешность определения  $n(\lambda)-1$  не превышает 2 %) в спектральных диапазонах 0.3–0.6 мкм и 0.6–1.2 мкм возможно осуществлять посредством измерения коэффициентов направленного рассеяния в областях углов  $\Omega_1$ :  $4^\circ \leq \theta_1 \leq 7^\circ$ ,  $84^\circ \leq \gamma_1 \leq 90^\circ$  и  $\Omega_2$ :  $92^\circ \leq \theta_2 \leq 100^\circ$ ,  $124^\circ \leq \gamma_2 \leq 140^\circ$  соответственно.

Очевидна постановка вопроса восстановления  $n(\lambda)$  во всем рассматриваемом спектральном диапазоне при проведении измерений  $\beta(\theta)$  и  $\beta(\gamma)$  под углами  $\theta$  и  $\gamma$  из обеих вышеуказанных областей  $\Omega_1$  и  $\Omega_2$ . Запишем уравнение множественной регрессии для 4-х углов приема рассеянного излучения:

$$\log[n(\lambda)-1] = a_0(\lambda) + a_1(\lambda) \log[R(\theta_1, \gamma_1, \lambda)] + a_2(\lambda) \log[R(\theta_2, \gamma_2, \lambda)], \quad (1)$$

$$\theta_1, \gamma_1 \in \Omega_1, \quad \theta_2, \gamma_2 \in \Omega_2.$$

В качестве критерия оптимальности выбора углов приема рассеянного излучения нами принимается минимум среднеспектральной погрешности восстановления  $|n(\lambda)-1|$  с использованием (1) при наложении на значения  $\beta(\theta)$  и  $\beta(\gamma)$  случайных ошибок в пределах 5 % (что учитывает чувствительность соответствующих регрессионных уравнений к ошибкам измерения оптических характеристик):

$$\min \left[ \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} \delta_{\max}(\theta_1, \theta_2, \gamma_1, \gamma_2, \lambda) d\lambda / (\lambda_{\max} - \lambda_{\min}) \right], \quad \theta_1, \gamma_1 \in \Omega_1, \quad \theta_2, \gamma_2 \in \Omega_2,$$

где  $\delta_{\max}(\theta_1, \theta_2, \gamma_1, \gamma_2, \lambda) = \max \{ \delta_i(\theta_1, \theta_2, \gamma_1, \gamma_2, \lambda) \}$  – максимальная по всему ансамблю реализации микроструктурных параметров эритроцитов погрешность определения  $|n_i(\lambda)-1|$ , возникающая с использованием уравнения (1) для углов  $\theta_1, \gamma_1$  и  $\theta_2, \gamma_2$ ,  $\delta_i = (n_i - \tilde{n}_i) / (\tilde{n}_i - 1)$ ,  $\tilde{n}_i$  – точное значение действительной части относительного показателя преломления эритроцитов для  $i$ -й реализации их микрофизических параметров,  $i = 1 \div 10^3$ .

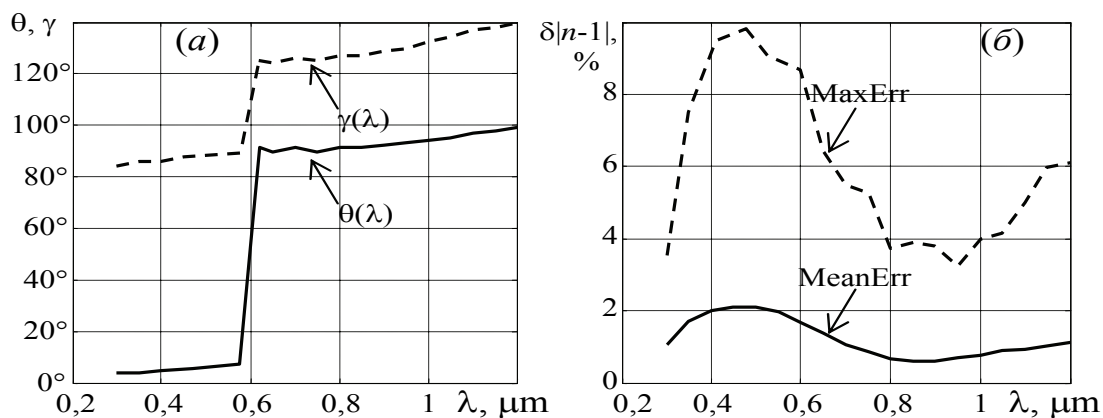


Рис. 1. *a* – зависимости углов, соответствующих наиболее тесной корреляции между  $\log|n(\lambda)-1|$  и  $\log[R(\theta, \gamma, \lambda)]$  от  $\lambda$ ; *б* – ошибки определения  $n(\lambda)-1$  из регрессионного уравнения для  $n(\lambda)$  и  $R(\theta, \gamma, \lambda)$  при углах  $\theta$  и  $\gamma$ , соответствующих данной  $\lambda$ .

Проведенный расчет по составленной программе показывает, что оптимальной в плане точности восстановления  $n(\lambda)$  является схема измерения  $\beta(\theta, \lambda)/\beta(\gamma, \lambda)$  под углами  $\theta_1 = 4^\circ$ ,  $\gamma_1 = 84^\circ$  и  $\theta_2 = 92^\circ$ ,  $\gamma_2 = 133^\circ$ . На рис. 2, *a* изображены спектральные зависимости коэффициентов  $a_k$  регрессионного уравнения (1), соответствующего данным углам. О точности восстановления  $n(\lambda)-1$  при 5 % ошибке измерения коэффициентов рассеяния под данными углами можно судить по рис. 2, *б*. Видно, что средние погрешности определения  $n(\lambda)-1$  не превышают 4 %, что свидетельствует о слабой чувствительности данного способа восстановления  $n(\lambda)$  к ошибкам  $\delta\beta(\theta, \lambda)$ . В самом деле, для погрешности определения  $|n-1|$  с использованием уравнения (1), вычисляемой методом конечных приращений (при равенстве ошибок измерения коэффициентов направленного рассеяния  $\delta\beta_k$ ,  $k = 1, 2, 3, 4$ ) справедливо выражение

$$\delta|n-1| = 2|a_1 + a_2|\delta\beta. \quad (2)$$

Причем, как видно из рис. 2, *a*,  $|a_1 + a_2| < 1$ , и следовательно  $\delta|n-1| < 2\delta\beta$ .

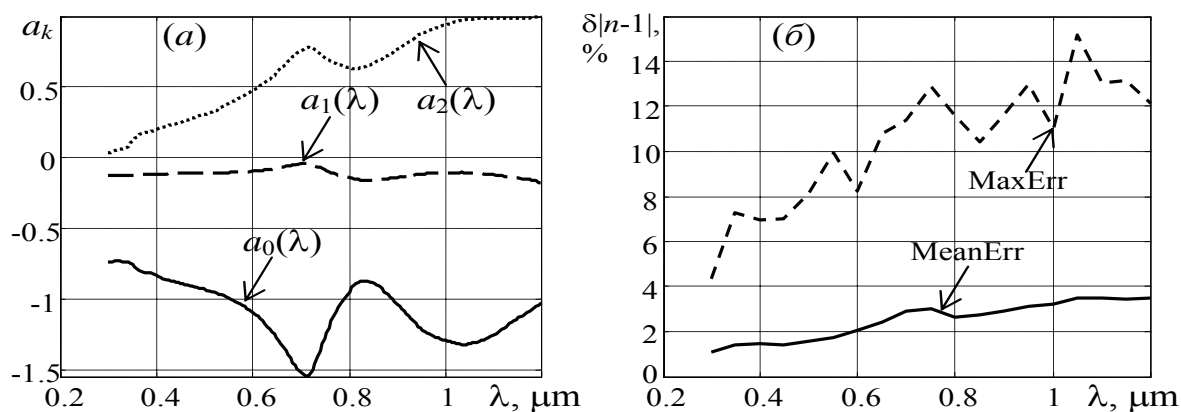


Рис. 2. (а) – спектральные зависимости регрессионных коэффициентов в (1); (б) – максимальные и средние по всему объему выборки микрофизических параметров эритроцитов, значения ошибок восстановления  $n(\lambda)-1$ .

Таким образом, для практического применения данной методики (установления спектральных значений  $n$ ) требуется измерить коэффициенты рассеяния под 4-мя выше указанными углами на отдельной длине волны или в некотором спектральном

диапазоне, и с использованием соответствующих этим длинам волн коэффициентов  $a_k$ , из уравнения (1) вычислить  $n(\lambda)$ .

### 3. Измерительная система

Для повышения точности измерений  $\beta(\theta)$  нами в рамках концепции «безаприорности» [8] разработан двухлучевой нефелометр-прозрачномер, принцип работы которого заключается в следующем. Через кювету с кровью попеременно первым и вторым источниками посылается зондирующее излучение на приемники, расположенные противоположно источникам. На приемниках регистрируется проходящее и рассеянное под углом в точке пересечения оптических осей приемников и источников излучение. При этом система «источник 2 – приемник 1» является статичной, а система «источник 1 – приемник 2» может вращаться (двигаться) вокруг оси, проходящей через точку взаимного пересечения лучей следствием чего является возможность изменения угла  $\theta$  между источниками.

В качестве источников излучения в требуемом спектральном диапазоне наиболее эффективно использовать перестраиваемые полупроводниковые лазеры. Применение лазеров других типов (более мощных) будет приводить к разрушению форменных элементов крови, увеличению габаритных размеров, стоимости и т. п.

Получаемое с помощью вышеописанного метода значение  $\beta(\theta)$  не зависит ни от аппаратных констант, ни от энергии излучения. Устойчивость разработанного метода к изменению аппаратных констант означает и устойчивость к загрязнению оптики. Предлагаемый метод также исключают методические погрешности, обусловленные нестабильностью оптикоэлектронного тракта и окружающей среды.

### 4. Заключение

Таким образом, можно заключить, что предлагаемая методика определения  $n(\lambda)$ , основанная на использовании регрессионного соотношения (1) является слабочувствительной к ошибкам измерения ОХ, обеспечивает погрешность измерений  $n(\lambda)-1$  в единицы процентов. Наиболее же приемлемым как с точки зрения повышения точности измерения, возможности автоматизации, придания эксплуатационной надежности и простоты реализации является система, сочетающая предложенный способ измерения угловых коэффициентов рассеяния с алгоритмом обработки (1).

### Литература

1. Лопатин В. Н., Приезжев А. В., Афанасенко А. Ю. и др. Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004.
2. Лопатин В. В., Приезжев А. В., Федосеев В. В. Биомедицинская радиоэлектроника. 2000. Т. 7, № 29.
3. Yaroslavsky A. N., Goldbach T. J. Biomed. Opt. 1999. Vol. 4, No. 47.
4. Rogan A., Friebel M., Dorschel K. et al. Biomed. Opt. 1999. Vol. 4, No. 36.
5. Хайруллина А.Я., Шумилина С.Ф. Определение функции распределения эритроцитов по размерам методом спектральной прозрачности. ЖПС. 1983. Т. 1. № 3, С. 340–347.
6. Кассирский И.А., Алексеев Г.А. Клиническая методология. М: Медицина, 1970.
7. Науменко Е.К. Изменение оптических свойств крови при агрегации эритроцитов. Мн.: Ин-т физики НАНБ, 2001.
8. Кугейко М.М. Лазерные системы (в условиях априорной неопределенности). Мн.: БГУ, 1999.