

Нефелометрический метод определения микрофизических параметров эритроцитов крови

Д. А. Смунев, М. М. Кугейко

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

Получены регрессионные соотношения между микрофизическими параметрами эритроцитов крови человека, представленных в форме сфероидов, и малоугловыми коэффициентами направленного рассеяния $\beta(\Theta)$ лазерного излучения в окне прозрачности крови. Показано, что одновременного с микрофизическими параметрами эритроцитов, показателем преломления можно определять и параметры формы — асферичность эритроцитов, размер большей оси сфероида с погрешностью порядка единиц процентов. Приведена блок-схема устройства, реализующего метод.

Ключевые слова: эритроциты, микрофизические параметры, коэффициенты направленного рассеяния, множественные регрессии, параметры формы, лазер, нефелометр-прозрачномер.

Введение

Неослабевающий интерес исследователей к эритроцитам крови объясняется их высокой чувствительностью к патологическим изменениям в организме человека. Существенные нарушения, связанные с изменением характеристик эритроцитов, наблюдаются при истинной полицитемии, множественной миеломе, острых и хронических лейкозах, анемиях. Высокой эффективности для определения микрофизических параметров (МФП) эритроцитов (счетной (N) и объемной (C_V) концентрации; параметров функции распределения по размерам — радиуса r и полуширины Δr ; действительной части показателя преломления n) можно достичь с использованием оптических методов исследования. Одно из преимуществ таких методов — бесконтактный способ контроля. Размер и форма эритроцитов также имеют важное диагностическое значение. Так, преобладание в крови эритроцитов малых размеров (микроцитоз) наблюдается при гемолитической болезни, анемии, после хронической кровопотери и нередко при злокачественных заболеваниях. Увеличение эритроцитов (макроцитоз) встречается при многих заболеваниях печени, алкоголизме, злокачественных новообразованиях, понижении функции щитовидной железы, миелопролиферативных заболеваниях, после спленэктомии и т. д.

В данной работе рассматривается применение принципов корреляционной спектронефелометрии для одновременного определения как МФП параметров функции распределения эритроцитов по размерам, так и параметра формы — асферичности эритроцитов, а также возможность упрощения процесса измерений за счет использования только двух коэффициентов направленного рассеяния.

Расчет оптических характеристик эритроцитов

Поскольку ядро интегрального уравнения единичного эритроцита зависит от его ориентации, обычно при расчетах ОХ используют разные приближения. При этом учитывается, что угловое распределение света, рассеянного на большом числе хаотически расположенных несферических частиц, такое же, как при рассеянии на шарах эквивалентного объема, а эритроциты представлены в сферическо-симметричном виде и характеризуются индикатрисой рассеяния, рассчитываемой по формулам Ми. Использование данной модели в других работах и сравнение численных расчетов с экспериментальными результатами показали, что такое приближение хорошо описывает свойства большинства биологических тканей, включая кровь. Отметим также, что для несферических частиц эквивалентные по площади и по объему радиусы не совпадают, однако для умеренно вытянутых (сплюснутых) сфероидов и цилиндров ($0.5 \leq \kappa \leq 2$) эта разница не превышает 5 %. Если для модели эритроцитов, представленной в виде эквивалентных по объему сфер, в качестве параметра формы можно считать r , то для модели, где эритроциты представляются в виде сфероидов, в качестве диагностического параметра формы эритроцита можно использовать параметр асферичности $e = D/d$, где D и d — большая и малая оси эллипса.

В настоящей работе эритроциты моделируются сплюснутыми сфероидами, соответственно, ансамбль эритроцитов и его оптические свойства моделируются ансамблем сфероидов со случайно заданными характеристиками большей оси D , параметра асферичности e , показателя преломления n и угла ориентации α . Распределение эритроцитов по объему $f(V)$ моделируется обобщенным гамма-распределением, которое достаточно хорошо аппроксимирует данные многочисленных экспериментальных исследований эритроцитометрических кривых образцов крови:

$$f(V) = \frac{N}{\Gamma(k+1)} k^{k+1} \frac{r^k}{V_0^{k+1}} \exp(-kV/V_0), \quad (1)$$

где N – счетная концентрация эритроцитов; V_0 – модальный объем; k – параметр полуширины распределения, связанный с ΔV (расстоянием между ветвями $f(V)$ на уровне $0.5 f(V)$) соотношением $k \approx 5.63 \cdot (\Delta V/V)^{-1.99}$.

Микроструктурные параметры эритроцитов (табл. 1) варьируются в диапазонах их возможных изменений, выбранных из литературных данных. Параметры функции распределения по размерам V_0 и k задаются из диапазонов, приведенных в табл. 2. Действительная (n) и мнимая (χ) части относительного показателя преломления соответствуют длине волны $\lambda = 0.65$ мкм ($\lambda = 0.495$ мкм в физрастворе с $n = 1.332$, который применяется для разбавления).

Расчет элементов матрицы Мюллера и эффективных сечений рассеяния и поглощения проведен с помощью программы ADDA на суперкомпьютере СКИФ для эритроцитов со случайно заданными МФП из табл. 1 и 2. Всего рассчитано и занесено в базу данных около 180 000 000 элементов матрицы Мюллера и эффективных сечений рассеяния и поглощения единичных эритроцитов. Из этого набора формировались ансамбли частиц, где количество рассеивателей задавалось из интервала 70–120 тысяч (0.02 мл крови при средней концентрации $(3.5\text{--}6) \cdot 10^6 \text{ мл}^{-1}$), а каждому рассеивателю случайным образом задавалась ориентация и МФП. Коэффициенты рассеяния под углом $\beta(\Theta)$ для ансамбля частиц из отмеченного выше интервала рассчитаны в приближении однократного рассеяния по правилу сложения индикатрис.

Т а б л и ц а 1. Вариации микрофизических характеристик эритроцитов

D	e	N	n	χ
5.2—9.6 мкм	2—4	$(3.5\text{--}6.0) 10^{12} \text{ л}^{-1}$	1.035—1.059	$10^{-4}\text{--}10^{-5}$

Т а б л и ц а 2. Вариации параметров функции распределения по размерам

k	V_0
6—10	75—95 мкм ³

При получении коэффициентов регрессионных уравнений на рассчитанные значения ОХ накладывались погрешности (для $\beta(\Theta)$): 10 % на углы 1—10°, 5 % — на все остальные углы), проведено сравнение рассчитанных и задаваемых значений для каждого из элементов выборки (МФП и соответствующие им оптические). Уравнения множественной регрессии для каждого МФП получены с использованием двух коэффициентов направленного рассеяния и имеют вид:

$$\lg p = a_0 + a_1 \lg \beta(\Theta_1) + a_2 \lg \beta(\Theta_2), \quad (2)$$

где a_i и Θ_i приведены в табл. 3 и 4; p_i — МФП. Определяемые МФП p_i и соответствующие уравнению (2) значения оптимальных углов Θ_i , выбранных путем прямого перебора (критерий отбора — минимальная средняя погрешность по выборке) из отмеченных выше при анализе корреляционных зависимостей интервалов углов, приведены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Оптимальные углы

МФП	Θ_1	Θ_2
D	5	12
e	5	12
V_0	3	9
ΔV	3	9
n	7	14
N	3	14

Т а б л и ц а 4. Коэффициенты регрессий

МФП	a_0	a_1	a_2
D	2.1892	−0.3208	0.2216
e	4.0179	−0.7815	0.4941
V_0	0.5708	0.2190	−0.1093
ΔV	1.0552	0.4365	−0.2140
n	−4.3541	0.3054	0.0283
N	11.4514	−0.8315	0.3205

Обсуждение результатов

На рис. 1 приведены гистограммы погрешности определения параметров формы — асферичности эритроцитов e , размер большой оси эллипса D с использованием (2), где по оси OY отложена частота повторяемости P ошибок $\delta = (x - x^*)/x$ (число реализаций P МФП эритроцитов, для которых получены данные погрешности δ), x и x^* — заданные и рассчитанные с использованием (2) с соответствующими коэффициентами из табл. 1 и 2 значения МФП. На рисунке также указаны средние по выборке ошибки определения отмеченных величин. С использованием регрессионных соотношений между угловыми коэффициентами рассеяния и МФП эритроцитов возможно определение параметров n , N , Δr , V_0 , а значит, и функции распределения по объему в пределах 10 %. Хотя по сравнению с методами, совместно с угловыми использующими поляризационные измерения, точность восстановления МФП несколько ухудшается, важными достоинствами рассматриваемого метода являются расширение функциональных возможностей, простота технической реализации, оперативность.

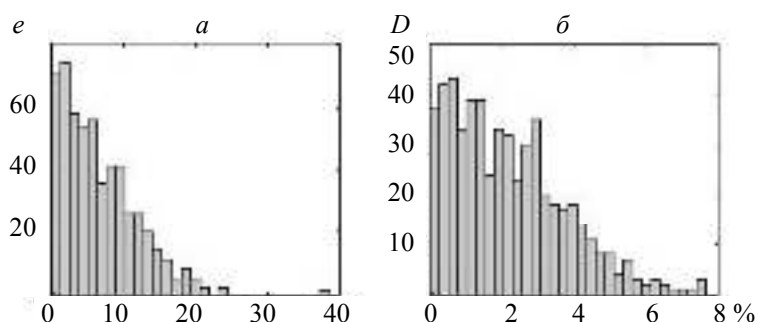


Рис. 1. Гистограммы ошибок определения e (а) и D (б) с использованием уравнения (6) с наложением 10%-ных случайных ошибок на $\beta(\Theta_k)$

Для реализации метода предлагается схема нефелометра-прозрачномера, представленная на рис. 2. В нее входят источники И1 и И2 (полупроводниковые лазеры), приемники П1 и П2, блок управления посылки излучения 3, устройство вращения, формирователи световых потоков 4, блок регистрации, обработки и хранения измерительной информации 5. Источниками И1 и И2 по-переменно по сигналам, поступающим с блока управления 3, посылаются световые потоки в исследуемую рассеивающую среду (в точку R). Часть излучения в точке R рассеивается в направлении приемника П2, расположенного под углом φ к направлению посылки излучения, часть проходит на приемник П1, расположенный противоположно, и регистрируется блоком 6.

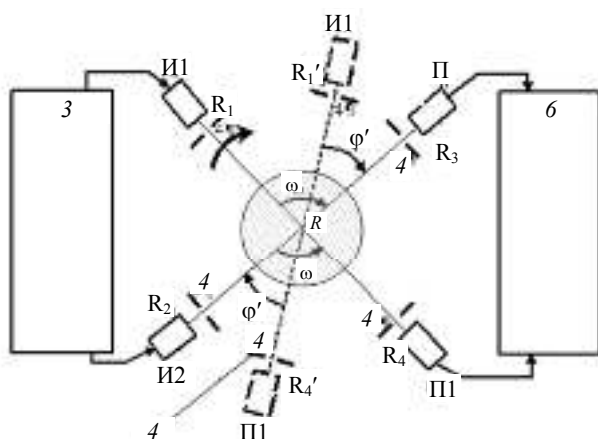


Рис. 2. Схема нефелометра-прозрачномера

С использованием предлагаемого нефелометра-прозрачномера значения β_φ измеряются с исключением методических погрешностей, обусловленных нестабильностью аппаратных констант источников, приемников, формирователей излучения, окружающей среды, а также загрязнений оптических элементов, поэтому при определении g_φ точность ее получения будет более высокой.

Nephelometric Method for Determination of the Microphysical Parameters of Blood Erythrocytes

D. A. Smunev, M. M. Kugeiko

^a *Belarusian State University, Minsk, Belarus, e-mail:kugeiko@bsu.by*

We obtained the regression relations between the microphysical parameters of erythrocytes in human blood presented in form of spheroids and the low-angle directional scattering coefficients $\beta(\Theta)$ in the spectral window of blood. The efficiency of using these regression relations for double-angle measurements was estimated. It is shown that we can, concurrently with microphysical parameters of erythrocytes, refraction index, determine shape parameter, such as asphericity of erythrocytes, and dimension of the large axis of spheroid to a precision of a few percent.

Keywords: erythrocytes, microphysical parameters, directional scattering coefficients, multiple regressions, shape parameters.