

## Алгоритм характеристической точки в лазерной эктацитометрии эритроцитов

С.Ю.Никитин, В.Д.Устинов

*Рассматривается проблема измерения деформируемости эритроцитов методом лазерной дифрактометрии в сдвиговом потоке (эктацитометрии). Получено новое уравнение, связывающее параметры дифракционной картины с шириной распределения эритроцитов по деформируемости. Методом численного моделирования установлено, что это уравнение обеспечивает более высокую точность измерений по сравнению с аналогичным уравнением, полученным нами ранее.*

*Ключевые слова:* деформируемость эритроцитов, дифрактометрия, лазерная эктацитометрия, алгоритмы обработки данных.

### 1. Введение

Актуальной задачей медицинской диагностики является измерение деформируемости эритроцитов, определяемой как мера способности этих клеток изменять форму под действием внешних сил [1–3]. Для оценки деформируемости необходимо измерить деформацию эритроцита под действием какой-либо известной внешней силы. Задача осложняется тем, что ансамбль эритроцитов неоднороден по своим свойствам, а измерения нужно проводить быстро и для большого количества клеток. Одним из способов решения этой задачи является лазерная дифрактометрия эритроцитов в сдвиговом потоке (эктацитометрия) [4–6].

В лазерном эктацитометре суспензия эритроцитов находится между двумя стеклянными пластинами, одна из которых неподвижна, а другая движется. Таким образом, на эритроциты действует напряжение сдвига. Суспензия просвечивается лазерным пучком, в результате чего на экране, установленном в дальней зоне, возникает дифракционная картина, которая регистрируется видеокамерой и передается в компьютер, где обрабатывается по определенному алгоритму. Подробнее этот метод описан в наших работах [7–9]. Алгоритм обработки данных строится на основе представления о том, как рассеивается лазерный пучок на ансамбле клеток крови. Таким образом, возникает физическая задача об отыскании связи между характеристиками наблюдаемой в эктацитометре дифракционной картины и параметрами образца крови, подлежащими определению.

В работах [9–12] нами предложено несколько алгоритмов обработки данных, позволяющих измерять статистические характеристики деформируемости эритро-

цитов, а именно среднюю деформируемость, ширину и асимметрию распределения эритроцитов по деформируемости. Опыты, проведенные со специально подготовленными образцами крови [10, 11], показывают, что эти алгоритмы работоспособны, однако необходимо повышать точность и надежность измерений.

Для анализа дифракционной картины (ДК) вводят понятие линии изоинтенсивности (ЛИ). Так называется линия, на которой интенсивность  $I$  рассеянного света имеет некоторое определенное значение. Для однородных по деформируемости ансамблей эритроцитов (кровь здоровых доноров) характерны ЛИ эллипсоидальной формы. В то же время для неоднородных ансамблей (кровь пациентов с серповидно-клеточной анемией или специально подготовленные образцы крови) ЛИ имеют ромбовидную форму. Как показано в работе [13], наиболее ярко особенности формы ЛИ проявляются в периферической части ДК – там, где интенсивность рассеянного света примерно на порядок меньше интенсивности центрального дифракционного максимума. В настоящей статье мы предлагаем алгоритм, позволяющий работать с той частью дифракционной картины, которая наиболее чувствительна к параметрам ансамбля эритроцитов. Эта область располагается вблизи границы центрального дифракционного максимума.

### 2. Характеристические точки дифракционной картины

Удобной характеристикой ЛИ является безразмерный параметр

$$\tilde{I} = III(0), \quad (1)$$

где  $I(0)$  – интенсивность света в центре ДК. Предположим, что

$$\tilde{I} \ll 1, \quad (2)$$

т. е. рассматриваемая ЛИ лежит на периферии центрального максимума ДК.

С.Ю.Никитин, В.Д.Устинов. Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, физический факультет и факультет вычислительной математики и кибернетики, Россия, 119991 Москва, Воробьевы горы; e-mail» sergeynikitin007@yandex.ru

Поступила в редакцию 4 октября 2017 г., после доработки – 23 октября 2017 г.

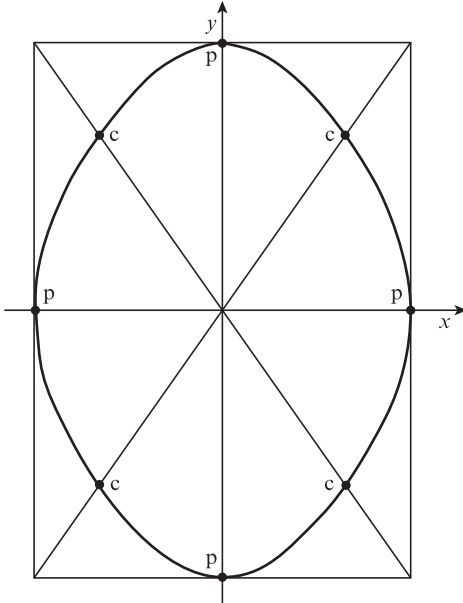


Рис.1. Линия изоинтенсивности, ее полярные (p) и характеристические (c) точки.

Пример ЛИ показан на рис.1. Этот же рисунок иллюстрирует понятие характеристических точек. Так называются точки пересечения ЛИ с диагоналями прямоугольника, охватывающего эту линию. Точки, расположенные на середине сторон прямоугольника, называются полярными.

Введем декартову систему координат с началом в центре дифракционной картины (центр прямоугольника на рис.1). Обозначим координату правой полярной точки через  $x_p$ , а координату верхней полярной точки через  $y_p$ . Координаты характеристической точки, лежащей в области  $x > 0, y > 0$  обозначим через  $x_c, y_c$ . Введем параметр полярных точек  $D$  и параметр характеристической точки  $Q$ , определив их формулами

$$D = \frac{y_p}{x_p}, \quad Q = \frac{1}{\sqrt{2}} \left( \frac{x_c}{x_p} + \frac{y_c}{y_p} \right). \tag{3}$$

Мы считаем, что параметры  $D$  и  $Q$ , а также параметр  $\tilde{I}$  можно измерить с помощью лазерного эктацитометра.

### 3. Теоретическая модель

Следуя работам [7–12], мы моделируем ансамбль эритроцитов в сдвиговом потоке лазерного эктацитометра набором плоских эллиптических дисков с полуосями  $a = a_0(1 + \varepsilon)$  и  $b = b_0(1 - \varepsilon)$ , где  $a_0$  и  $b_0$  – средние длины полуосей,  $\varepsilon$  – случайный параметр формы эритроцита. Правомерность такой модели обосновывается тем, что в области малых углов рассеяния модель эритроцита в виде плоского диска обеспечивает достаточную точность [7]. Мы предполагаем, что среднее значение параметра  $\varepsilon$  равно нулю ( $\langle \varepsilon \rangle = 0$ ), а распределение плотности вероятности  $w(\varepsilon)$  является симметричным, т.е.  $w(\varepsilon) = w(-\varepsilon)$ .

Ансамбль эритроцитов характеризуется параметрами

$$s = a_0/b_0, \quad \langle \varepsilon^2 \rangle = \mu, \tag{4}$$

где  $s$  – средняя деформируемость и  $\mu$  – ширина распределения эритроцитов по деформируемости для исследуемо-

го образца крови; угловые скобки обозначают усреднение по ансамблю частиц. Мы полагаем, что  $\mu \ll 1$ , т.е. неоднородность эритроцитов по деформируемости является относительно слабой. Наша дальнейшая задача заключается в том, чтобы выразить параметры образца крови (4) через характеристики ДК (3) и на этой основе построить алгоритм измерения.

Как показано в работе [12], для рассматриваемых условий ЛИ описывается формулами  $x = \text{Arcos}\varphi, y = B\text{r}\sin\varphi$ . Здесь  $A = q_1 z / (ka_0); B = q_1 z / (kb_0); z$  – расстояние от измерительного объема до экрана наблюдения;  $k = 2\pi/\lambda$  – волновое число;  $\lambda$  – длина световой волны. Зависимость  $r(\varphi)$  определяется формулой

$$r(\varphi) = \frac{1}{(1 + \sqrt{f_0})(1 - 2\mu)} \left[ 1 + \mu \left( \frac{H^2}{2\sqrt{f_0}} - \frac{5}{2} + 2H^2 \right) \right],$$

где

$$f_0 = \tilde{I}(4\beta^2); \tag{5}$$

$H = \cos(2\varphi)$ . Величины  $q_1 = 3.82$  и  $\beta = -0.4$  представляют собой параметры функции Бесселя первого порядка. Первый из них равен аргументу этой функции, при котором функция обращается в ноль, а второй – производной функции в этой точке.

С помощью приведенных формул можно вычислить координаты полярных и характеристической точек, а именно:  $x_p = Ar(0), y_p = Br(\pi/2), x_c = (1/\sqrt{2})Ar(\pi/4), y_c = (1/\sqrt{2})Br(\pi/4)$ . Заметим, что  $r(\varphi = 0) = r(\varphi = \pi/2)$ . Отсюда следует, что  $Q = r(\pi/4)/r(0)$ ,

$$x_c/x_p = y_c/y_p, \tag{6}$$

$$s = D, \tag{7}$$

$$Q = \frac{2 - 5\mu}{2 + \mu(1/\sqrt{f_0} - 1)}. \tag{8}$$

Соотношение (6) означает, что координаты полярных и характеристических точек ЛИ связаны между собой так, как показано на рис.1. Формулы (7), (8) решают поставленную выше задачу, связывая между собой параметры ДК (3) и характеристики ансамбля эритроцитов (4).

### 4. Алгоритм обработки данных

Разрешая уравнение (8) относительно  $\mu$ , получаем

$$\mu = \frac{2(1 - Q)}{5 + (1/\sqrt{f_0}) - Q}. \tag{9}$$

Формулы (7), (9) представляют собой алгоритм измерения средней деформируемости  $s$  и дисперсии деформируемости  $\mu$  эритроцитов в исследуемом образце крови. Алгоритм состоит в следующем. Сначала на ДК, полученной с помощью эктацитометра от данного образца крови, нужно выбрать ЛИ в соответствии с условием (2). Затем следует определить координаты полярных и характеристических точек ЛИ  $x_p, y_p, x_c, y_c$ , показанных на рис.1, а также измерить величину  $\tilde{I}$ , равную отношению интенсивности света на данной ЛИ к интенсивности центрального максимума ДК. После этого нужно вычислить

параметры  $D, Q, f_0$  по формулам (3), (5) и, наконец, определить параметры  $s$  и  $\mu$  по формулам (7), (9).

## 5. Проверка алгоритма в численном эксперименте

Проверим алгоритм на примере бимодального ансамбля эритроцитов. Такой ансамбль состоит из клеток всего двух типов. В модели эллиптических дисков клетки первого типа характеризуются размерами  $a_1, b_1$  и параметром формы  $\varepsilon_1$ , так что  $a_1 = a_0(1 + \varepsilon_1)$ ,  $b_1 = b_0(1 - \varepsilon_1)$ , а клетки второго типа – размерами  $a_2, b_2$  и параметром формы  $\varepsilon_2$ , так что  $a_2 = a_0(1 + \varepsilon_2)$ ,  $b_2 = b_0(1 - \varepsilon_2)$ . Толщины всех дисков считаем одинаковыми и равными  $h$ . Долю частиц первого типа в ансамбле обозначим через  $p$ .

Формы частиц обеих компонент ансамбля при данном сдвиге напряжении будем характеризовать параметрами

$$s_1 = a_1/b_1, \quad s_2 = a_2/b_2. \quad (10)$$

Три безразмерных параметра  $(s_1, s_2, p)$  полностью определяют бимодальный ансамбль эритроцитов. Эти параметры являются исходными данными для численного эксперимента. Остальные параметры выражаются через них следующим образом [9]:

$$s = M + \sqrt{M^2 + s_1 s_2}, \quad M = (s_1 - s_2)(p - 1/2),$$

$$\varepsilon_1 = \frac{s_1 - s}{s_1 + s}, \quad \varepsilon_2 = \frac{s_2 - s}{s_2 + s}, \quad \mu = p\varepsilon_1^2 + (1 - p)\varepsilon_2^2.$$

Далее рассмотрим симметричный бимодальный ансамбль клеток, для которого

$$p = 1/2, \quad s_1 = 1. \quad (11)$$

Физически такой ансамбль соответствует смеси деформируемых и недеформируемых клеток крови. Подобные ансамбли интересны, в частности, с точки зрения тестирования алгоритмов обработки данных [10, 11, 13, 14]. При условиях (11) единственным параметром ансамбля клеток остается величина  $s_2$ , характеризующая деформацию деформируемой компоненты ансамбля при данном сдвиге напряжении.

В этом случае

$$s = \sqrt{s_2}, \quad \mu = \left( \frac{1 - \sqrt{s_2}}{1 + \sqrt{s_2}} \right)^2. \quad (12)$$

Распределение интенсивности света в ДК для такого ансамбля имеет следующий вид:

$$I(x, y) = \frac{1}{4} I_0 N |\gamma|^2 \left[ \frac{1}{2} (a_1 b_1 \frac{k}{z})^2 G\left(\frac{k}{z} \sqrt{a_1^2 x^2 + b_1^2 y^2}\right) + \frac{1}{2} (a_2 b_2 \frac{k}{z})^2 G\left(\frac{k}{z} \sqrt{a_2^2 x^2 + b_2^2 y^2}\right) \right], \quad (13)$$

где  $I_0$  – интенсивность лазерного излучения;  $N$  – полное число эритроцитов, облучаемых лазером;  $|\gamma|^2 = 4 \sin^2(\Delta\varphi/2)$ ;  $\Delta\varphi = kn_0 h(n - 1)$ ;  $n$  – абсолютный показатель преломления материала, из которого состоят частицы;  $n_0$  – абсолютный показатель преломления окружающей среды.

В (13) введена функция

$$G(x) = [2J_1(x)/x]^2, \quad (14)$$

где  $J_1(x)$  – функция Бесселя первого порядка. Функция (14) удовлетворяет условию  $G(0) = 1$ . Отметим, что формула (13) описывает распределение интенсивности света в тех точках экрана наблюдения, куда не попадает излучение прямого лазерного пучка.

Нормированное распределение интенсивности света в дифракционной картине

$$\tilde{I}(x, y) = \frac{(a_1 b_1)^2 G\left(\frac{k}{z} \sqrt{a_1^2 x^2 + b_1^2 y^2}\right) + (a_2 b_2)^2 G\left(\frac{k}{z} \sqrt{a_2^2 x^2 + b_2^2 y^2}\right)}{(a_1 b_1)^2 + (a_2 b_2)^2}.$$

Эта функция подчиняется условию  $\tilde{I}(0) = 1$ .

Введем эффективный радиус эритроцита, определив его формулой

$$c_0 = \sqrt{a_0 b_0}. \quad (15)$$

Это радиус круга, площадь которого равна средней площади основания эллиптического диска, моделирующего эритроцит. В качестве масштаба ДК выберем

$$x_0 = z/(kc_0). \quad (16)$$

Далее введем безразмерные переменные

$$\tilde{a} = a/c_0, \quad \tilde{b} = b/c_0, \quad \tilde{x} = x/x_0, \quad \tilde{y} = y/x_0. \quad (17)$$

При этом

$$D = \frac{\tilde{y}_p}{\tilde{x}_p}, \quad Q = \frac{1}{\sqrt{2}} \left( \frac{\tilde{x}_c}{\tilde{x}_p} + \frac{\tilde{y}_c}{\tilde{y}_p} \right). \quad (18)$$

Для рассматриваемого бимодального ансамбля  $a_1 = \tilde{a}_1 c_0$ ,  $b_1 = \tilde{b}_1 c_0$ ,  $a_2 = \tilde{a}_2 c_0$ ,  $b_2 = \tilde{b}_2 c_0$ , где

$$\tilde{a}_1 = \tilde{b}_1 = \frac{2\sqrt{s}}{1+s}; \quad \tilde{a}_2 = \tilde{a}_1 s; \quad \tilde{b}_2 = \tilde{b}_1 s; \quad s = \sqrt{s_2}. \quad (19)$$

Отсюда

$$\tilde{I}(\tilde{x}, \tilde{y}) = \frac{1}{2} G\left(\sqrt{(\tilde{a}_1 \tilde{x})^2 + (\tilde{b}_1 \tilde{y})^2}\right) + \frac{1}{2} G\left(\sqrt{(\tilde{a}_2 \tilde{x})^2 + (\tilde{b}_2 \tilde{y})^2}\right). \quad (20)$$

Эта формула описывает распределение интенсивности света в дифракционной картине для рассматриваемого бимодального ансамбля эритроцитов с характеристиками (11). Здесь нормированная интенсивность света  $\tilde{I}$  определена формулой (1), функция  $G(x)$  – формулой (14), безразмерные координаты  $\tilde{x}$  и  $\tilde{y}$  определены формулами (15)–(17), параметры  $\tilde{a}_1, \tilde{b}_1, \tilde{a}_2, \tilde{b}_2$  – формулами (10), (19). Пример ДК, построенной по формуле (20), представлен на рис.2,а. На рис.2,б показана одна из ЛИ. Заметим, что подобные дифракционные картины и линии изоинтенсивности дают образцы крови при некоторых заболеваниях, в частности при серповидно-клеточной анемии [1].

Процедура проверки алгоритма заключается в следующем. На линии изоинтенсивности находим полярные и

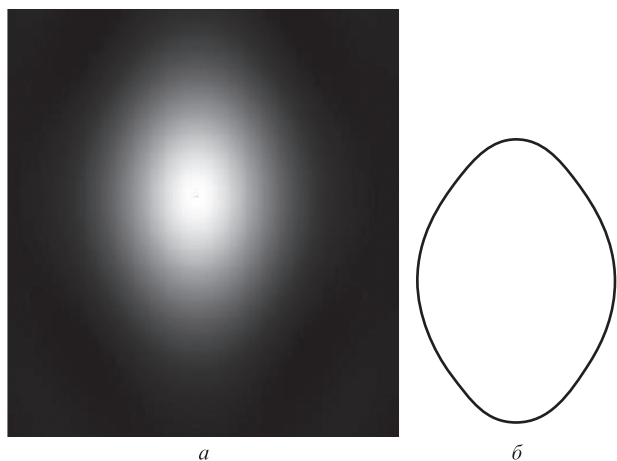


Рис.2. Дифракционная картина, построенная по формуле (20) при  $s_2 = 2$  (а), и линия изоинтенсивности, соответствующая  $\tilde{I} = 0.1$  (б).

характеристические точки (см. рис.1), определяем их координаты  $\tilde{x}_p, \tilde{y}_p, \tilde{x}_c, \tilde{y}_c$  и вычисляем параметры  $D$  и  $Q$  по формулам (18). После этого по формулам (7), (9) находим параметры  $s$  и  $\mu$  и сравниваем полученные значения с точными значениями этих параметров, определяемыми формулами (12).

### 6. Результаты

Примеры результатов расчетов представлены на рис.3 и 4. На рис.3 показаны значения параметра  $s$ , характеризующего среднюю деформируемость эритроцитов, а на рис.4 – значения параметра  $\mu$ , характеризующего ширину распределения эритроцитов по деформируемости. Для сравнения на рис.4 штриховой линией показаны результаты измерения дисперсии деформируемости эритроцитов, выполненного с помощью алгоритма из работы [10].

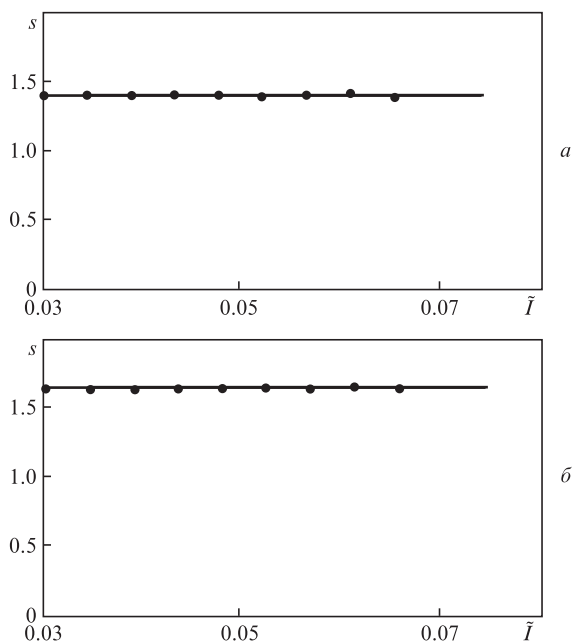


Рис.3. Результаты измерения средней деформируемости эритроцитов при  $s_2 = 2$  (а) и 3 (б). Точки – значения параметра  $s$ , вычисленные по формуле (7) на основе анализа дифракционной картины, построенной по формуле (20). Сплошные линии – точные значения параметра  $s$ , найденные по формуле (12).

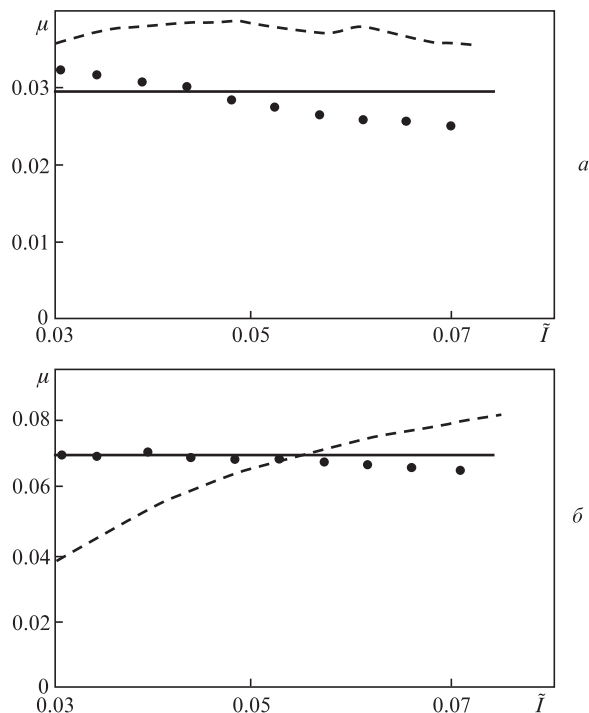


Рис.4. Результаты измерения дисперсии деформируемости эритроцитов при  $s_2 = 2$  (а) и 3 (б). Точки – значения параметра  $\mu$ , вычисленные по формуле (9) на основе анализа дифракционной картины, построенной по формуле (20). Сплошные линии – точные значения параметра  $\mu$ , найденные по формуле (12), штриховые линии – результаты измерений дисперсии деформируемости эритроцитов, выполненных с помощью алгоритма (21).

В используемых здесь обозначениях этот алгоритм описывается формулами

$$\mu = \frac{1}{2}(\rho_3 + \sqrt{\rho_3^2 + \rho_4}), \quad \rho = Q - 1,$$

$$\rho_1 = \frac{f_0(Q^2 - 1) - \rho^2}{2\rho\sqrt{f_0}}, \quad \rho_2 = \frac{f_0(Q^2 - 1) + Q^2/2}{2\rho\sqrt{f_0}}, \quad (21)$$

$$\rho_3 = \frac{2\rho_1\rho_2 - 1}{2\rho_2^2}, \quad \rho_4 = \frac{1 - \rho_1^2}{\rho_2^2}.$$

Приведенные данные показывают, что в области дифракционной картины, определяемой условием

$$0.03 \leq \tilde{I} \leq 0.075,$$

представленный в настоящей работе алгоритм обеспечивает более высокую точность измерений по сравнению с алгоритмом, разработанным в работе [10]. Отклонение дисперсии деформируемости эритроцитов от заданного значения связано с приближениями, использованными при выводе формул (9) и (21).

Обратим внимание и на следующее обстоятельство. В реальном эксперименте интенсивность рассеянного света на линии изоинтенсивности, выбранной для измерений, может определяться с некоторой погрешностью. Возникает вопрос о ее влиянии на точность измерения деформируемости эритроцитов. Как видно из рис.3 и 4, небольшая погрешность в измерении параметра  $\tilde{I}$  не приведет к существенной погрешности измерений средней деформируемости и ширины распределения эритроцитов по де-

формируемости, если эти измерения проводить с помощью предлагаемого нами алгоритма характеристической точки.

## 7. Заключение

В настоящей работе мы рассмотрели проблему измерения дисперсии деформируемости эритроцитов методом лазерной дифрактометрии в сдвиговом потоке (эктацитометрии). Анализ проведен для области дифракционной картины, лежащей на периферии центрального дифракционного максимума. Эта область традиционно используется в лазерной эктацитометрии эритроцитов и характеризуется высокой чувствительностью к характеристикам исследуемого образца крови. Для ансамбля клеток с симметричной функцией распределения по деформируемости мы разработали улучшенный вариант алгоритма характеристической точки. Этот алгоритм позволяет измерять дисперсию деформируемости эритроцитов в исследуемом образце крови и математически выражается формулой (9). Проверка, выполненная методом численного эксперимента, показала, что новый алгоритм обеспечивает более высокую точность измерений по сравнению с алгоритмом, разработанным нами ранее в работе [10].

Авторы благодарны А.В.Приезжеву за обсуждение результатов работы и полезные замечания. Работа поддержана РФФИ (гранты № 17-02-00249, 17-29-03507).

1. Céline Renoux, Nermi Parrow, Camille Faes, et al. *Clinic. Hemorheol. Microcircul.*, **62**, 173 (2016); doi: 10.3233/CH-151979.
2. Miklos Rabai, Jon A. Detterich, Rosalinda B. Wenby, et al. *Biorheology*, **51**, 159 (2014); doi:10.3233/BIR-140660.
3. Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Булаева С.В., Петроченко Е.П. *Реологические свойства крови при лечении злокачественных опухолей, атеросклероза и диабета* (Ярославль: ИД «Кандлер», 2016).
4. Bessis M., Mohandas N. *Blood Cells*, **1**, 307 (1975).
5. Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х. *Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию* (М.: Изд-во Российского государственного медицинского университета, 2004).
6. Musielak M. *Clinic. Hemorheol. Microcircul.*, **42**, 47 (2009); doi: 10.3233/CH-2009-1187.
7. Nikitin S.Yu., Priezzhev A.V., Lugovtsov A.E. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.*, **121**, 1 (2013).
8. Никитин С.Ю., Приезжев А.В., Луговцов А.Е., Устинов В.Д. *Квантовая электроника*, **44** (8), 774 (2014) [*Quantum Electron.*, **44** (8), 774 (2014)].
9. Nikitin S.Yu., Priezzhev A.V., Lugovtsov A.E., et al. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.*, **146**, 365 (2014).
10. Nikitin S.Yu., Lugovtsov A.E., Ustinov V.D., et al. *JIOHS*, **8**, 1550031 (2015); doi: 10.1142/S1793545815500315.
11. Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Yurchuk Yu. S., et al. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.*, **178**, 315 (2016).
12. Никитин С.Ю., Устинов В.Д., Цыбров Е.Г., Приезжев А.В. *Изв. Саратовского ун-та. Новая серия. Сер. Физика*, **17** (3), 150 (2017); doi: 10.18500/1817-3020-2017-17-3-150-157.
13. Streekstra G.J., Dobbe J.G.G., Hoekstra A.G. *Opt.Express*, **18**, 14173 (2010).
14. Plasek J., Marik T. *Appl. Opt.*, **21**, 4335 (1982).