

Мобильное устройство для определения распределения красных клеток крови по размерам

Аннотация

Предложены оптическая схема регистрации и принцип анализа дифракционных картин влажных мазков крови в излучении светодиода. Разработано компактное компьютеризованное оптическое устройство, основанное на принципах эктацитометрии (дифрактометрии), предназначенное для измерения ширины распределения эритроцитов по размерам.

Введение

Анализ крови является широко распространенным инструментом в современной медицинской диагностике. Изменение распределения клеток по размерам в крови человека оказывает влияние на вязкость крови [1].

Недавние исследования показали, что изменение дисперсии (ширины) распределения клеток по размерам на 1 % ведет к увеличению риска смертности на 14 % для больных сердечно-сосудистыми заболеваниями [2]. Обычно распределение эритроцитов по размерам измеряется при помощи микроскопических изображений мазков крови, проточных цитометров и/или счетчиков Коултера. Однако современные приборы для измерения данного параметра все еще остаются относительно дорогими и/или требуют больших затрат времени для измерений. В связи с этим актуален поиск новых, более доступных для массовой клинической практики способов измерения ширины распределения эритроцитов по размерам, позволяющий проводить экспресс-анализ большого числа клеток.

При использовании метода лазерной дифрактометрии малые частицы освещают лазерным лучом и по дифракционной картине определяют распределение освещенных частиц по размерам [3]. Преимуществом данного подхода является то, что лазерный луч освещает сотни тысяч клеток одновременно, что позволяет получать статистически значимые результаты без дополнительных временных и вычислительных затрат. Однако, в классическом варианте данного метода необходимо измерить дифракционную картину с погрешностью менее 1 % и решить регуляризованную систему из большого числа линейных уравнений. Эти сложности обуславливают высокую стоимость приборов данного типа.

В [4] было предложено определять ширину распределения эритроцитов по размерам на основе измерения видности дифракционной картины. В данном методе эритроцит моделируют тонким однородным цилиндром с круглым основанием, расположенным перпендикулярно направлению распространения лазерного луча. Было показано, что в этом случае видность зависит от искомого параметра монотонно, что позволяет определить ширину распределения по известной видности, используя табулированные данные.

Впервые измерение размеров малых частиц на основе видности дифракционной картины были осуществлено в [5]. Однако в этой работе все частицы освещались лазером по отдельности аналогично тому, как это делается в проточных цитометрах, что ведет к значительному удорожанию установки.

Использование лазерного излучения в дифрактометрах ограничивает точность определения контраста дифракционной картины из-за наличия спекл-шума.

Основная часть

В рассматриваемой работе предложена компактная оптическая схема прибора, позволяющая регистрировать дифракционное поле в дальней зоне в излучении светодиода.

Схема устройства представлена на рис. 1. Расходящийся пучок излучения светодиода 1, выделенный небольшой диафрагмой 2, коллимируется линзой 3, проходит через образец 4 (мазок крови или прозрачный канал с кровью) и попадает в объектив 5 миниатюрной камеры. Объектив фокусирует прошедшее без дифракции излучение в небольшое пятно в центре приемной матрицы 6 камеры, закрепленной на крышке 7,

закрывающей от окружающего освещения предметный стол 8 с закрепленной в нем втулкой для светодиода. Излучение, дифрагировавшее на эритроцитах, образует на матрице вокруг центрального пятна дифракционную картину, несущую информацию о геометрических параметрах эритроцитов.

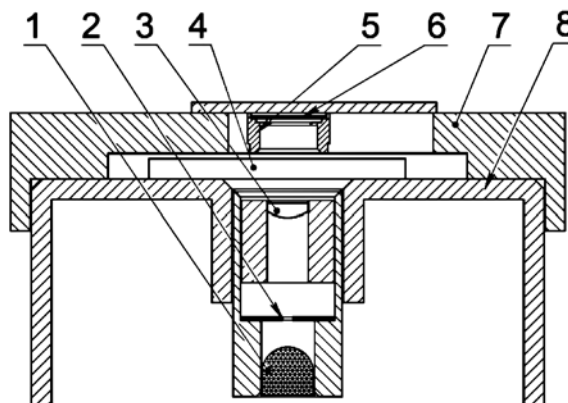


Рис. 1. Схема устройства: 1 – светодиод; 2 – диафрагма; 3 – линза; 4 – предметное стекло; 5 – объектив; 6 – матрица; 7 – крышка; 8 – предметный стол

Источником излучения служит синий светодиод с центральной длиной волны 476 нм. Коллимирующая линза с фокусным расстоянием 12 мм формирует параллельный пучок диаметром 3 мм. Образцы крови располагают горизонтально между коллимирующей линзой и объективом камеры, при этом имеется возможность перемещения образца для выбора контролируемого участка или для многократной записи с целью получения усредненных данных. Диаметр входного отверстия объектива камеры, составляющий 1,5 мм, определяет анализируемую в каждом кадре область образца. В качестве регистратора использовано устройство «Raspberry», представляющее собой компактный компьютер, оснащенный 64-разрядным 4-ядерным процессором с тактовой частотой 1,4 ГГц, базирующимся на ARM-архитектуре и поддерживающим работу различных сборок ОС «Linux». Устройство располагает интерфейсом ввода/вывода общего назначения, портами USB 2.0 для подключения периферии, HDMI, Ethernet, беспроводными интерфейсами Wi-Fi и Bluetooth, а также MIPI CSI-портом для подключения камеры.

Регистрацию цифровых дифракционных картин проводили на камеру «RaspberryPiCameraModule v2.1», оснащенную CMOS-сенсором «Sony IMX219PQ», с диагональю 4,6 мм (1/4,0) и эффективным разрешением 3280 × 2464 пикселей. Время экспонирования одного кадра составляло 5 мс.

На рис. 2 представлена зарегистрированная дифракционная картина, полученная на влажном мазке крови. Для анализа дифракционных картин разработано программное обеспечение с использованием пакета MATLAB. Алгоритм обработки получаемых картин включал в себя выделение монохромной компоненты изображения, затем производился поиск центра дифракционной картины как «центр масс» множества точек с яркостью, превосходящей половину максимальной. Из найденного центра проводились лучи-секунды под углами от 0 до 360 град с шагом 1 град, по которым строили профиль интенсивности. В случае круглых частиц дифракционная картина обладает круговой симметрией, что позволяло усреднить

профили по всем лучам для снижения спекл-шума и шума приемной матрицы. Далее для сглаживания остающихся флуктуаций усредненный профиль аппроксимировали полиномом десятой степени.

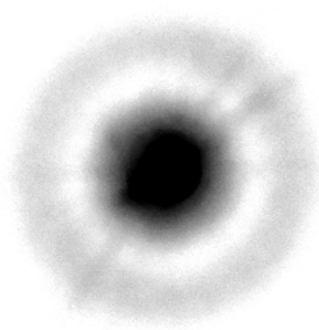


Рис. 2. Характерный вид картины дифракции влажного мазка крови (негатив)

На полученной гладкой кривой определяли значения интенсивности I_{\min} и I_{\max} в первом минимуме и первом максимуме интенсивности и находили видность v дифракционной картины как $v = (I_{\max} - I_{\min}) / (I_{\max} + I_{\min})$. Типичное значение видности, полученное в наших калибровочных экспериментах, составило порядка 7 %. Используя табулированные данные, связывающие видность дифракционной картины с разбросом клеток по размерам, был определен относительный разброс клеток, составивший 18 %. Отметим необходимость фиксации эритроцитов с помощью глутарового альдегида, для чего мы использовали протокол подготовки пробы крови, представленный в [6].

Заключение

Предложен метод измерения ширины распределения эритроцитов по размерам, основанный на принципах дифрактометрии. Разработано компактное устройство для регистрации картин дифракции красных клеток в излучении низкокогерентного источника (светодиода). Вычислительная мощность устройства в сочетании с интерфейсами ввода/вывода позволяет проводить регистрацию картин дифракции и выполнять соответствующие расчеты для вычисления распределения клеток по размерам на основе видности зарегистрированных дифракционных картин. По нашему мнению, предложенный макет устройства имеет перспективы применения в клинической практике для выявления отклонений от нормы параметров распределения эритроцитов по размерам.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-29-03507-офи_м.

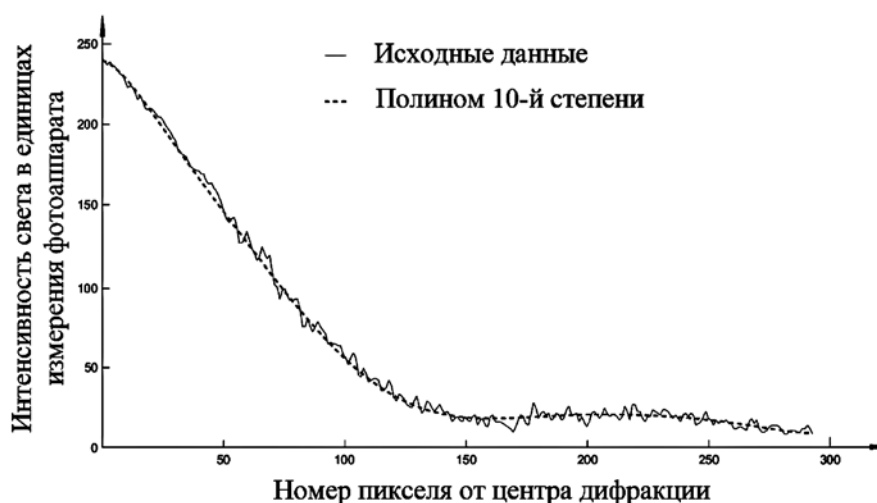


Рис. 3. Характерный вид зависимости распределения интенсивности вдоль полупрямой, исходящей из центра дифракционной картины

Список литературы:

1. Козинец Г.И., Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование системы крови в клинической практике. – М.: Триада-Х, 1997. Т. 12. 480 с.
2. Patel K.V., Ferrucci L., Ershler W.B., Longo D.L., Guralnik J.M. Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults // Archives of Internal Medicine. 2009. Vol. 169. № 5. PP. 515-523.
3. Black D.L., McQuay M.Q., Bonin M.P. Laser-based techniques for particle-size measurement: A review of sizing methods and their industrial applications // Progress in Energy and Combustion Science. 1996. Vol. 22. № 3. PP. 267-306.
4. Nikitin S.Y. et al. Relation between the diffraction pattern visibility and dispersion of particle sizes in an ektacytometer // Quantum Electronics. 2011. Vol. 41. № 9. PP. 843-846.
5. Farmer W.M. Measurement of particle size, number density, and velocity using a laser interferometer // Applied Optics. 1972. Vol. 11. № 11. PP. 2603-2612.
6. Baskurt O.K. et al. Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries // Biorheology. 2009. Vol. 46. № 3. PP. 251-264.

Павел Сергеевич Винников,
бакалавр,

ФГБОУ ВО «Московский
политехнический университет»,

Владислав Дмитриевич Устинов,

канд. физ.-мат. наук, мл. научный сотрудник,

факультет вычислительной математики и кибернетики,

МГУ им. М.В. Ломоносова,

Александр Евгеньевич Штанько,

канд. физ.-мат. наук, доцент,

МГТУ «СТАНКИН»,

Андрей Егорович Луговцов,

канд. физ.-мат. наук, ст. научный сотрудник,

инженер,

физический факультет,

МГУ им. М.В. Ломоносова,

Георгий Сергеевич Каленков,

канд. мед. наук, научный сотрудник,

Институт динамики геосфер РАН,

Мария Александровна Карпилова,

канд. мед. наук, научный сотрудник,

ФГБНУ «Научно-исследовательский

институт глазных болезней»,

г. Москва,

e-mail: vinnpavel@gmail.com