

ЛЖ сердца индивидуально у пациентов с различной сердечно-сосудистой патологией и прогнозировать место локализации имплантируемых устройств.

В проведенном исследовании получены первые результаты, которые свидетельствуют о достаточном энергопотенциале сердца для обеспечения работы ЭКС. Также определена локализация наиболее подвижного участка левого желудочка со стороны эпикарда – базальный уровень боковой стенки ЛЖ.

Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки России по теме «Разработка макета устройства микроэлектромеханического (МЭМС) преобразования кинематической активности сердца в электрическую энергию для применения в высокотехнологичной кардиохирургии» № 14.607.21.0021. Шифр 2014-14-579-0001-066. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований – RFMEFI60714X0021.

Список литературы:

1. Goto H., Sugiurat A., Harada Y., Kazui T. Feasibility of using the automatic generating system for quartz watches as a leadless pace-maker power source // Medical and biological engineering and computing. 1999. Vol. 37. № 3. PP. 377-380.
2. Бокерия Л.А. Здоровье России. Атлас. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2014. PP. 121-136.
3. Yeun-Ho Joung Development of Implantable Medical Devices: From an Engineering Perspective // Int. Neurourol. J. 2013. Vol. 17. PP. 98-106.
4. Olivo J., Carrara S., De Micheli G. Energy harvesting and remote powering for implantable biosensors // IEEE Sens. J. 2011. Vol. 11. PP. 1573-1586.
5. Dominguez-Nicolas S.M., Juarez-Aguirre R., Herrera-May A.L., Garcia-Ramirez P., Figueras E., Gutierrez-D E.A., Tapia J.A., Trejo A., Manjarrez E. Respiratory magnetogram detected with a MEMS device // J. Med. Sci. IF. 2013. № 2. P. 065.
6. Pfenniger A., Jonsson M., Zurbuchen A., Koch V., Voger R. Energy Harvesting from the Cardiovascular System, or How to Get a Little Help from Yourself // Biomedical Engineering Society. November 2013. Vol. 41. № 11. PP. 2248-2263.
7. Boisseaux S., Despesse G., Ricart T., Defay E., Sylvestre A. Cantilever-based electret energy harvesters // Smart Materials and Structures. 2011. Vol. 20. № 10. P. 105013.

8. Zurbuchen A., Pfenniger A., Stahel A., Stoeck C.T., Vandenberghe S., Koch V.M., Vogel R. Energy Harvesting from the Beating Heart by a Mass Imbalance Oscillation Generator // Annals of Biomedical Engineering. January 2013. Vol. 41. № 1. PP. 131-141.

Лео Антонович Бокерия,
академик РАН, директор,
ФГБУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ,
Ольга Леонидовна Бокерия,
д-р мед. наук, профессор,
зам. заведующего по лечебной и научной работе,
отделение хирургического лечения
интерактивной патологии,
ФГБУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ,
Кирилл Геннадьевич Потловский,
канд. техн. наук, генеральный директор,
ООО «Техно Портной»,
Ирина Ивановна Аверина,
канд. мед. наук, ст. научный сотрудник,
Марина Юрьевна Мироненко,
врач функциональной диагностики,
Анна Сергеевна Сатюкова,
мл. научный сотрудник,
Людмила Александровна Глушко,
канд. мед. наук, мл. научный сотрудник,
Татьяна Георгиевна Ле,
мл. научный сотрудник,
Владимир Александрович Шварц,
канд. мед. наук, мл. научный сотрудник,
отделение хирургического лечения
интерактивной патологии,
ФГБУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ,
г. Москва,
e-mail: tanya_co@mail.ru

В.А. Дубровский, М.Ф. Медведева

Акусто-оптический метод определения группы крови: фотометрический и статистический способы обработки фотоизображений

Аннотация

Статья посвящена анализу двух способов компьютерной обработки фотоизображений при акусто-оптическом типировании крови человека. Необходимость такого анализа продиктована желанием увеличить разрешающую способность, а следовательно, надежность определения группы крови акусто-оптическим методом. Показано, что в сравнении с традиционной фотометрией предложенный статистический способ обработки фотоизображений дает выигрыш в разрешении акусто-оптического метода в 1,5...4 раза для прямого подхода перекрестной техники типирования крови и в 2...5 раз – для обратного подхода. Рассматриваемую работу можно рассматривать как этап совершенствования акусто-оптического метода инструментального определения групповой принадлежности крови человека.

Введение

Определение группы крови по системе АВ0, или Rh (системе резус), является одним из наиболее часто используемых тестов лабораторной диагностики [1]. Естественно, что чрезвычайная частотность подобных тестов требует создания специальной аппаратуры – автоматов для инструментального определения группы крови [2]-[10].

Одной из наиболее важных характеристик такого рода приборов является разрешающая способность. Авторы различных работ определяют этот параметр по-разному [6], [7], [11], [12].

Так, в [11], [12] под разрешающей способностью предложено понимать отношение оптического сигнала P_+ , соответствующего положительной реакции агглютинации (сыворотка иммунологически адекватна группе исследуемой крови – агглютинаты образуются), к уровню сигнала P_- для отрицательной реакции агглютинации (сыворотка иммунологически не соответствует данной группе крови – агглютинаты не образуются). Очевидно, что увеличение разрешающей способности прибора повышает надежность определения группы крови. Отметим, что ошибка в определении группы крови образца должна быть полностью исключена. Однако при недостаточной раз-

решающей способности прибора и в силу большой вариабельности образцов крови допустимо, что в некоторых случаях прибор может не определить группу крови анализируемой пробы.

Один из способов повышения разрешающей способности прибора – использование стоячих ультразвуковых волн (УЗ), предложенное в [13] и детально рассмотренное в [1], [11]-[15]. Сочетание ультразвукового воздействия на исследуемый биообъект с его зондированием световым излучением будем называть акусто-оптическим методом типирования крови.

В [5], [13]-[15] регистрация фотосигнала производилась аналоговым способом с помощью фотодиода, а в [11], [12], [16], [17] использовалась цифровая полихромная веб-камера с последующим компьютерным вычислением средней яркости пикселей в каждом фотоизображении в рамках выбранной области обработки в соответствии с позиционированием зондирующего светового луча. Естественно, что при таком подходе максимально возможное разрешение метода ограничивается диапазоном изменения величины яркости B пикселей фотоизображения.

В рассматриваемой работе с целью расширения потенциальных возможностей акусто-оптического метода с применением веб-камеры предлагается иной, статистический, способ обработки фотоизображений. Этот подход предусматривает анализ яркостей индивидуальных пикселей зоны обработки фотоизображения для положительной и отрицательной реакций агглютинации, однако без усреднения яркости фотоизображения по этой зоне.

Предлагаемый метод статистической попиксельной обработки фотоизображений может оказаться полезным не только для повышения разрешающей способности акусто-оптического метода типирования крови, но и при решении подобных медико-технических задач, связанных с разработкой приборов лабораторной диагностики, что делает настоящее исследование актуальным.

Материалы и методы

Объект исследования

Разрабатываемый акусто-оптический метод определения группы крови апробировался в рамках перекрестного способа, который, как известно, состоит из двух компонентов – прямого и обратного типирования крови. Объектами исследования являлись донорская кровь четырех групп по системе АВ0, соответствующие гемагглютинирующие сыворотки и стандартные эритроциты. Образцы донорской крови подвергались центрифугированию (3000 об/мин, 5 мин), затем плазма отбиралась для дальнейшего определения группы крови обратным способом, а эритроцитарная масса использовалась для типирования образца крови прямым методом. Общее количество исследованных проб составило: 16 для прямой компоненты перекрестного метода и 12 для обратной. Комплекс предварительных экспериментов [1], [16] выявил оптимальные условия для регистрации реакции агглютинации эритроцитов для обеих компонент перекрестного метода. Для прямой компоненты оптимальными являются: соотношение объемов стандартная сыворотка / исследуемые эритроциты, равное 17:1, при условии, что эритроцитарная масса разбавляется физиологическим раствором в соотношении 1:78. В этом случае объемная доля эритроцитарной массы в растворе составляет 1,05 %, а объемная доля стандартной сыворотки – 17,8 %. Для обратной компоненты перекрестного метода оптимальными являются: соотношение объемов исследуемая плазма / стандартные эритроциты, равное 4,4:1, при условии, что исследуемая плазма разводится физиологическим раствором в соотношении 1:4,3. При этом объемная доля исследуемой плазмы в растворе составляет 17,8 %, а объемная доля стандартных эритроцитов 4,05 %. Для определения групповой принадлежности крови человека турбидиметрическим методом для обеих компонент перекрестного метода использовалась кювета объемом 2800 мкл прямоугольной формы с внутренней толщиной зазора 5 мм.

Техника экспериментов

Сразу после приготовления образца каждая проба подвергалась воздействию стоячей ультразвуковой (УЗ) волны. Кювета с исследуемой смесью располагалась на пьезопреобразователе, УЗ-волна ориентировалась в вертикальном направлении. Для возбуждения пьезокерамического преобразователя использовался генератор ГЗ-112/1 с усилителем, а его выходное напряжение контролировалось осциллографом С1-79. Генератор настраивался резонансно по отношению к преобразователю $\nu = 2,25$ МГц, а его выходное напряжение, подаваемое на пьезокерамику, не превышало 15 В, что обеспечивало ультразвуковое воздействие на эритроциты без их гемолиза. Предварительные эксперименты позволили подобрать оптимальное время действия ультразвука на исследуемую взвесь: как для прямого, так и для обратного способа типирования крови оно составило 90 с [1], [16].

Луч, прошедший через исследуемый раствор, поступал на полихромную веб-камеру «Logitect-Quick Cam». Фотографирование процесса седиментации эритроцитов и их агрегатов (отрицательная реакция агглютинации) или эритроцитарных агглютинатов (положительная реакция) осуществлялось веб-камерой спустя 90 с после выключения ультразвука (время инкубации образца).

Биообъект зондировался коллимированным излучением светодиода типа LXHL-G1S с максимумом мощности потока излучения на длине волны $\lambda = 540$ нм (рис. 1), спектр которого соответствовал спектру поглощения гемоглобина в зеленой области (рис. 2).

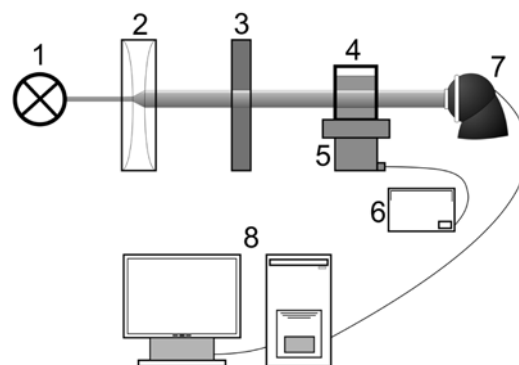


Рис. 1. Схема установки для регистрации реакции агглютинации эритроцитов: 1 – светодиод; 2 – конденсор; 3 – нейтральный светофильтр; 4 – кювета; 5 – ультразвуковой преобразователь; 6 – ультразвуковой генератор; 7 – 8-разрядная цифровая фотокамера; 8 – компьютер

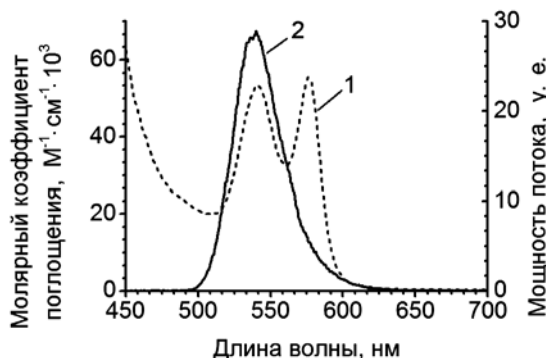


Рис. 2. Спектры: 1 – поглощение гемоглобина (левая ось ординат); 2 – излучение светодиода (правая ось ординат)

Специальный подбор спектра излучателя (рис. 2) обеспечивал низкий уровень яркости фотоизображений при отрицательной реакции агглютинации ввиду сильного поглощения света гемоглобином взвешенных клеток. В то же время при положительной реакции величины яркости были значительно выше из-за просветления среды, вызванной седиментацией крупных эритроцитарных агглютинатов.

Для обоих рассматриваемых здесь подходов к обработке фотоизображений, как и в [1], [11], [12], [16], осуществлялось разложение каждого изображения на RGB-компоненты, причем анализу подвергалась лишь составляющая G.

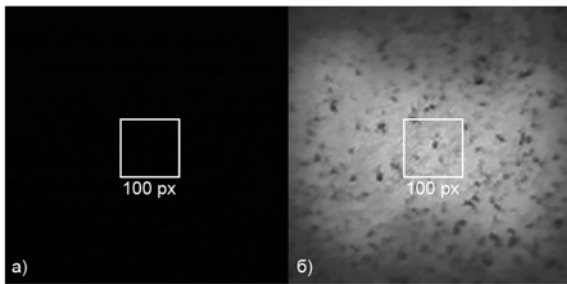


Рис. 3. Типичные фотографии засветки фотокамеры в зеленом G канале RGB-разложения для прямого метода типирования крови: а) отрицательная реакция агглютинации; б) положительная реакция агглютинации эритроцитов. Квадратами выделены зоны статистической обработки экспериментальных результатов, ширина зоны $w = 100$ пикселей

Как видно из рис. 3, в случае отрицательной реакции наблюдается сильное поглощение зондирующего излучения гемоглобином эритроцитов. При положительной реакции агглютинации среда становится значительно более оптически прозрачной вследствие быстрой седиментации образовавшихся крупных агглютинатов. В то же время на рис. 3б можно видеть взвешенные более мелкие эритроцитарные агглютинаты.

Каждой цифровой фотографии (например, рис. 3) ставится в соответствие матрица значений яркости B в канале G, характеризующая исследуемое изображение, причем объем каждой такой выборки определяется количеством пикселей выделенной зоны с заданным значением w .

Фотометрический подход

В рамках фотометрического подхода для каждого фотоизображения следует найти средние по области обработки w значения яркостей в канале G для положительной B_{cp+} и отрицательной B_{cp-} реакций агглютинации эритроцитов. Полученные средние значения яркости B_{cp+} и B_{cp-} пересчитывались в мощность светового потока, падающего на фотокамеру. Для этого использовалась экспериментально полученная калибровочная кривая – кривая соответствия средней мощности светового потока P_{cp} , падающего на веб-камеру, величине средней яркости пикселей B_{cp} (вопросы калибровки цифровых фотоприемников рассматривались, например, в [1], [16], [17]). В этом случае разрешение фотометрического метода в данной его реализации вычисляется по формуле $R_p = P_{cp+} / P_{cp-}$, где P_{cp-} и P_{cp+} – значения средних мощностей световых потоков, падающих на веб-камеру, для отрицательной и положительной реакций соответственно. Заметим, что здесь и далее нижние индексы параметров (например B_{cp}) соответствуют их усреднению по зоне обработки фотоизображений w , в то время как горизонтальная черта (макрон) над параметром (например \bar{B}) означает усреднение экспериментальных результатов по образцам.

Статистический подход

Предлагаемый способ обработки фотоизображения основывается на анализе функции распределения количества пикселей зоны w от величины их яркости $N(B)$. В этом случае параметром, который позволяет отличить положительную реакцию агглютинации от отрицательной и характеризует силу реакции агглютинации, может служить дисперсия данного распределения. Типичный вид такого распределения по зоне с $w = 100$ пикселей показан на рис. 4 для отрицательной (кривая 1) и положительной (кривая 2) реакций агглютинации.

Заметим, что эти кривые (рис. 4) соответствуют фотографиям засветки кюветы, представленным на рис. 3. Разрешение

метода рассчитывалось по формуле $R_D = D_+ / D_-$, где D_+ и D_- – значения дисперсии распределения количества пикселей по величине яркости для положительной и отрицательной реакций соответственно.

Такой подход при прочих равных условиях позволяет надеяться на большее значение величины разрешающей способности по сравнению с фотометрическим подходом. Действительно, средняя по зоне w яркость B_{cp} ограничена пределами $0 \leq B_{cp} \leq 255$ (для 8-разрядной CCD-камеры), в то время как дисперсия распределения $N(B)$ может изменяться в более широких пределах.

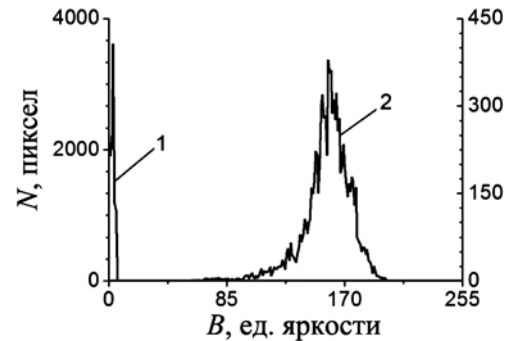


Рис. 4. Типичный вид распределения числа пикселей $N(B)$ с яркостью B по зоне $w = 100$ пикселей для отрицательной $N_-(B)$ (кривая 1, левая ось ординат) и положительной реакции агглютинации $N_+(B)$ (кривая 2, правая ось ординат)

Обсуждение результатов

Средняя по образцам крови величина разрешающей способности, а также разброс ее значений для двух рассмотренных подходов к обработке фотоизображений при акусто-оптическом типировании крови приведены в табл. 1. Значения минимально возможного R_{min} , среднего \bar{R} и максимально возможного R_{max} разрешения для обоих подходов вычислялись для зоны ширины $w = 100$ следующим образом: $R_p = \bar{P}_+ / \bar{P}_-$ ($R_D = \bar{D}_+ / \bar{D}_-$), где \bar{P}_+ и \bar{P}_- (\bar{D}_+ и \bar{D}_-) – соответствующие средние значения P_+ и P_- (D_+ и D_-) по всем измеренным образцам крови; $R_{p,min} = P_{+min} / P_{-max}$ ($R_{D,min} = D_{+min} / D_{-max}$), где D_{+min} и D_{-max} – минимальное значение $P_+(D_+)$ и максимальное значение $P_-(D_-)$ по всем результатам измерений соответственно; $R_{p,max} = P_{+max} / P_{-min}$ ($R_{D,max} = D_{+max} / D_{-min}$), где D_{+max} и D_{-min} – максимальное значение $P_+(D_+)$ и минимальное значение $P_-(D_-)$ по всем результатам измерений соответственно.

Таблица 1

Средние по образцам значения и разброс величины разрешения метода типирования крови

Способ анализа фотоизображений	Компонента кросс-метода	R_{min}	\bar{R}	R_{max}
Фотометрический	Прямая	52	150	319
	Обратная	25	119	262
Статистический	Прямая	118	328	857
	Обратная	93	399	938

Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что статистический способ обработки фотоизображений приводит к увеличению разрешения в 2...4 раза по сравнению с традиционной фотометрией. В то же время для обоих подходов наблюдается довольно большой разброс значений разрешения.

Естественно, размер зоны w влияет на разрешающую способность метода типирования крови. Так, максимальная разрешающая способность фотометрического подхода метода \bar{R}_p достигается при w в пределах от 0 до 100, в то время как для статистического подхода R_D максимально в области от 450 до 650 пикселей.

В табл. 2 и 3 приведены результаты сравнения значений разрешающей способности акусто-оптического метода типирования крови R для прямого и обратного исследований реакций агглютинации соответственно для двух способов: фото-

метрического $R_p = P_+ / \bar{P}$ и статистического $R_D = D_+ / \bar{D}$. Значения \bar{P} и \bar{D} находились путем усреднения P и D для образцов, которые принципиально соответствовали отрицательным реакциям агглютинации. Размер выбранной зоны принимался $w = 100$. Полушириной шрифта выделены значения, которые принципиально соответствуют условиям для отрицательных реакций агглютинации.

Результаты, приведенные в табл. 2 и 3, показывают, что применение предложенного статистического способа обработки фотоизображений позволяет увеличить разрешающую способность акусто-оптического метода типирования крови по сравнению с традиционной фотометрией: в 1,5...4 раза для прямой компоненты перекрестного способа определения группы крови и в 2...5 раз для обратной компоненты в зависимости от конкретных взаимодействующих пар «исследуемая кровь – агглютинирующая сыворотка» (прямой подход) или «исследуемая плазма – стандартные эритроциты» (обратный подход).

Заключение

Предложен и апробирован экспериментально статистический способ обработки фотоизображений в рамках акусто-оптического метода типирования крови. Такой подход позволяет существенно увеличить разрешающую способность метода по сравнению с традиционным фотометрическим и, следовательно, повысить надежность инструментального определения групповой принадлежности крови человека.

Список литературы:

1. Дубровский В.А., Забенков И.В., Торбин С.О. Определение группы крови человека по системе АВ0 методом цифровой микроскопии // Медицинская техника. 2013. Т. 3. С. 14-17.
2. Sturgeon P. Automation: Its introduction to the field of blood group serology // Immunohematology. 2001. Vol. 17 (4). PP. 100-105.
3. Kline T.R., Runyon M.K., Pothiwala M., Ismagilov R.F. ABO, D blood typing using plug-based microfluidics // Anal. Chem. 2008. Vol. 80 (16). PP. 6190-6197.
4. Muranyi I. et al. Blood typing apparatus / United States Patent 4533638. US Patent Issued on August 6, 1985.
5. Дубровский В.А., Дворецкий К.Н., Щербакова И.В., Балаев А.Э. Пространственное сканирование лазерного излучения в проточных счетчиках-анализаторах частиц // Приборы и техника эксперимента. 1999. Т. 42 (2). С. 111-115.
6. Steven R.A. A Simplified Visible/Near-Infrared Spectrophotometric Approach to Blood Typing for Automated Transfusion Safety / Thesis presented to North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA, 2005.
7. Lambert J.B. A miniaturized device for blood typing using a simplified spectrophotometric approach // Thesis submitted to

North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA, 2006.

8. Monchamont P., Plantier A., Chirat V., Rigal D. AB0 and Rh(D) blood typing on PK-700 with ready-to-use kits // Immunohematology. 2003. Vol. 19 (2). PP. 54-56.
9. Goldfinger D. et al. Portable blood typing apparatus and method / United States Patent 4650662. US Patent Issued on March 17, 1987.
10. Battrell C.F. et al. Microfluidic apparatus and methods for performing blood typing and crossmatching / United States Patent. Patent application number: 20100112723. Publication date: 05/06/2010.
11. Ganilova Yu.A., Doubrovski V.A., Zabenkov I.V. The resolving power of the flowing method to register the process of human erythrocytes agglutination in vitro on the base of correlation analysis of microphotographs // Proc. SPIE. 2011. Vol. 7999. PP. 799-903.
12. Дубровский В.А., Долмашкин А.А. Определение групповой принадлежности крови человека на основе цифровых фотографий процесса агглютинации эритроцитов // Опт. и спектр. 2010. Т. 109 (2). С. 1346-1350.
13. Алипов А.Н., Ванинский В.З., Денисов Л.Б., Донсков С.И., Дубровский В.А., Завьялов Э.Н., Князьков Н.Н. Способ определения реакции агглютинации / А. с. изобретения СССР № 1683760, приоритет от 04.06.1987. Бюл. № 38 от 30.10.1991.
14. Doubrovski V.A., Dvoretzki K.N. Ultrasonic wave action upon the red blood cell agglutination in vitro // Ultrasound in Medicine & Biology. 2000. Vol. 26 (4). P. 655.
15. Дубровский В.А., Дворецкий К.Н., Балаев А.Э. Исследование механизма усиления агрегации эритроцитов ультразвуковым полем // Акустический журнал. 2004. Т. 50 (2). С. 184.
16. Дубровский В.А., Медведева М.Ф. Оптимизация условий прямой и обратной реакций агглютинации эритроцитов, усиленных стоячей ультразвуковой волной / В кн.: Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2013. – Саратов: Изд-во «Новый ветер», 2013. С. 34-42.
17. Долмашкин А.А., Дубровский В.А., Забенков И.В. Определение группы крови на основе регистрации упругого рассеяния лазерного излучения методом цифровой фотографии // Квантовая электроника. 2012. Т. 42 (5). С. 409-417.

Валерий Александрович Дубровский,
канд. физ.-мат. наук, доцент, зав. кафедрой,
Мария Федоровна Медведева,
аспирант,
кафедра медицинской и биологической физики им. В.Д. Зернова,
Саратовский государственный медицинский
университет им. В.И. Разумовского, г. Саратов,
e-mail: doubrovski43@yandex.ru

Таблица 2

Прямая компонента кросс-метода

Сыворотка \ Группа крови	0 (I)		A (II)		B (III)		AB (IV)	
	R_p	R_D	R_p	R_D	R_p	R_D	R_p	R_D
0 _{α,β} (I)	1,1	1,2	176,2	201,7	77,7	173,6	163,9	291,6
A _β (II)	1,1	1,3	1,3	1,0	204,9	344,1	113,7	430,5
B _α (III)	1,5	1,5	123,8	563,7	0,7	0,9	190,2	289,9
AB ₀ (IV)	1,1	1,1	0,7	0,7	1,0	0,7	0,6	0,7

Таблица 3

Обратная компонента кросс-метода

Ст. эритроц. \ Группа крови	0 (I)		A (II)		B (III)		AB (IV)	
	R_p	R_D	R_p	R_D	R_p	R_D	R_p	R_D
0 (I)	1,0	1,0	0,7	0,8	0,7	0,8	1,1	1,1
A (II)	185,3	719,7	1,7	1,1	43,5	170,0	0,9	0,9
B (III)	64,6	132,2	181,5	572,8	0,7	0,8	1,1	1,4