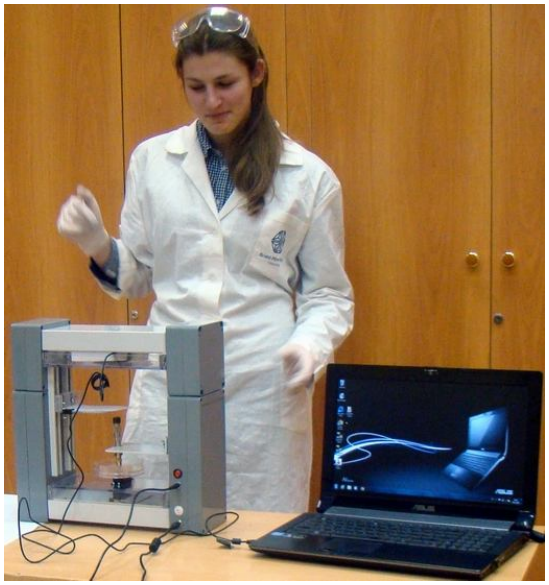
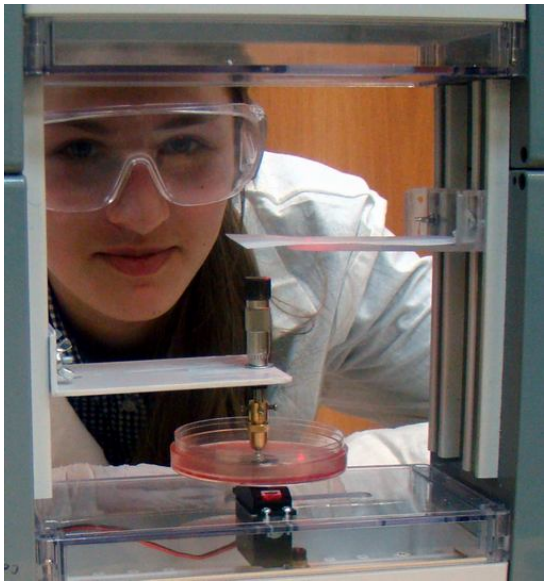
Мобильная установка для ускоренного анализа крови методом лазерной дифрактометрии





Ирина Трапезникова

Лицей 1580 (при МГТУ им. Н.Э. Баумана), 11 класс

Научный руководитель: Наливайко В.П., к.ф.-м.н., доцент ДНТТМ ГБПОУ «Воробьевы горы»

Актуальность работы

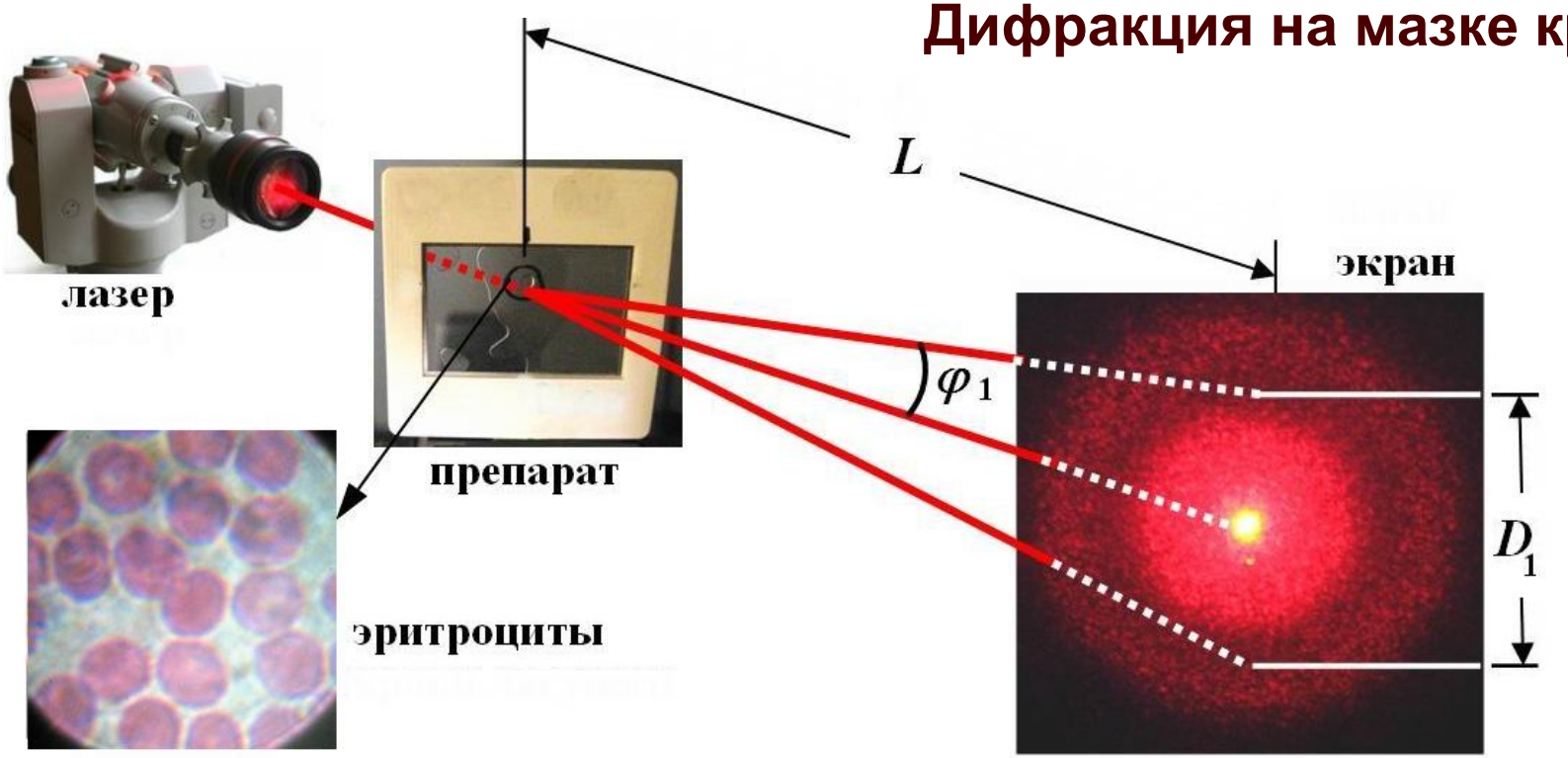
- В лабораторных анализах крови преобладают исследования свойств эритроцитов [1].
- Основное исследуемое свойство – деформабильность эритроцитов, определяющая эффективность газообмена и способность движения в микрососудах [2].
- При ряде патологических состояний деформационная лабильность эритроцитов существенно ухудшается.
- В современных технологиях с помощью кровотока осуществляется транспортировка наноструктурированных частиц к различным органам. Этот процесс требует оперативного контроля деформабильности эритроцитов [3].

Методы исследования эритроцитов

- Традиционные методы анализа (центрифугирование, фильтрация, реоскопия) весьма трудоемки и длительны, либо недостаточно информативны [2].
- Альтернатива традиционным методам – метод лазерной эридифрактометрии [3-7]. Однако современные модели эктацитометров имеют сравнительно большие размеры и массу.

Метод лазерной дифрактометрии

Дифракция на мазке крови



Диаметр эритроцита:

$$d = m_i \lambda \sqrt{1 + \left(\frac{2L}{D_i}\right)^2}$$

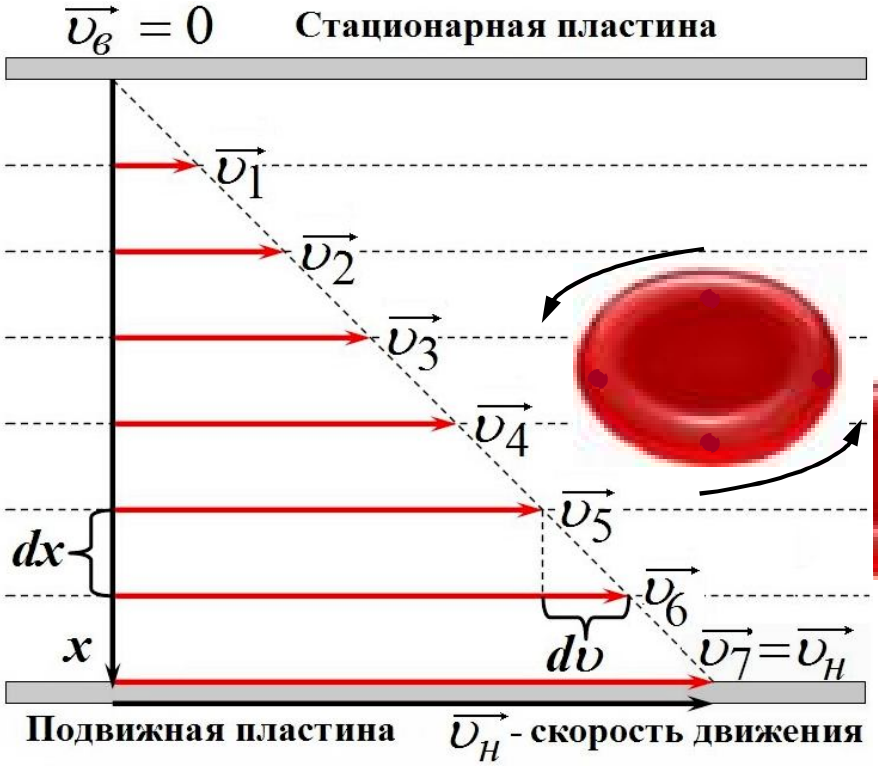
$$\lambda = 632 нм$$

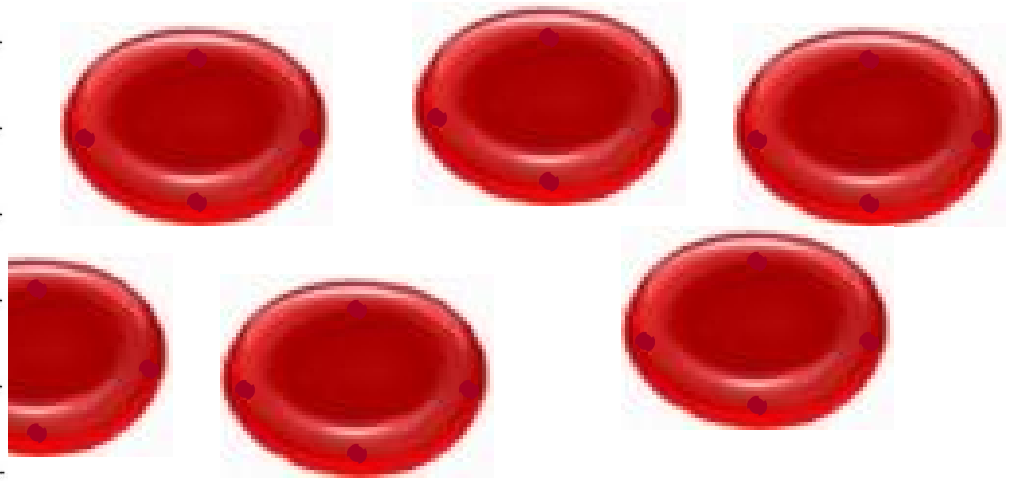
Номер темного кольца (*i*)	m_i	*L, мм*	D_i, *мм*	*d, мкм*
1	1,22	172	33	7,8±0,2
2	2,23	172	65	
1	1,22	210	41	
2	2,23	210	78	

Моделируем течение крови в сосудах

Рассмотрим свойства слоя крови между двумя параллельными пластинами при движении одной из них.

Вблизи стенки сосуда эритроцит движется в потоке с градиентом скорости, деформируется и, вращаясь, движется как гусеница танка.

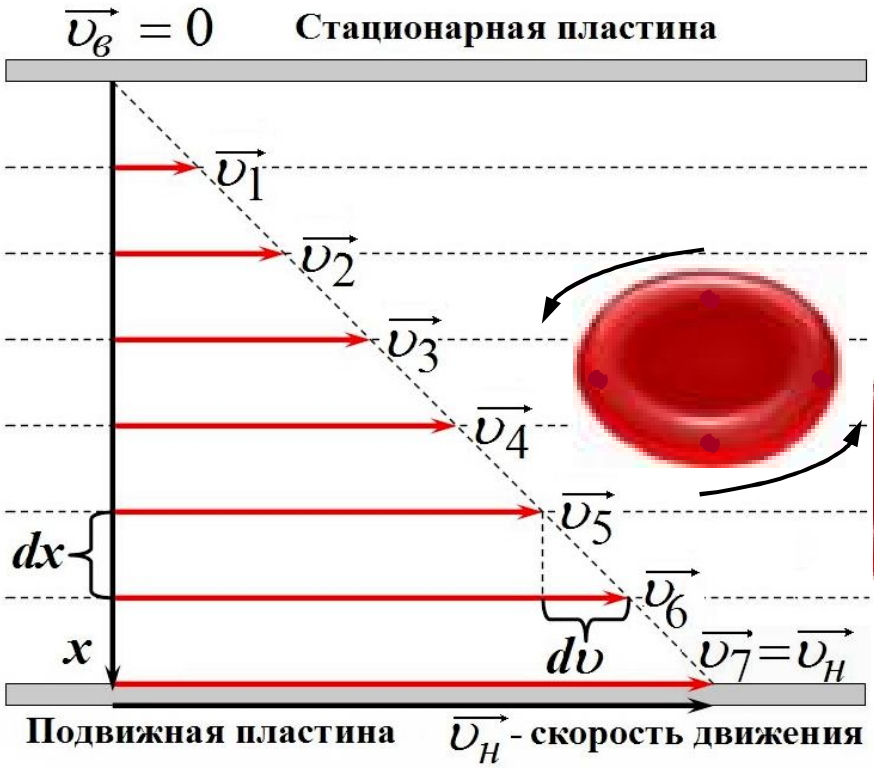


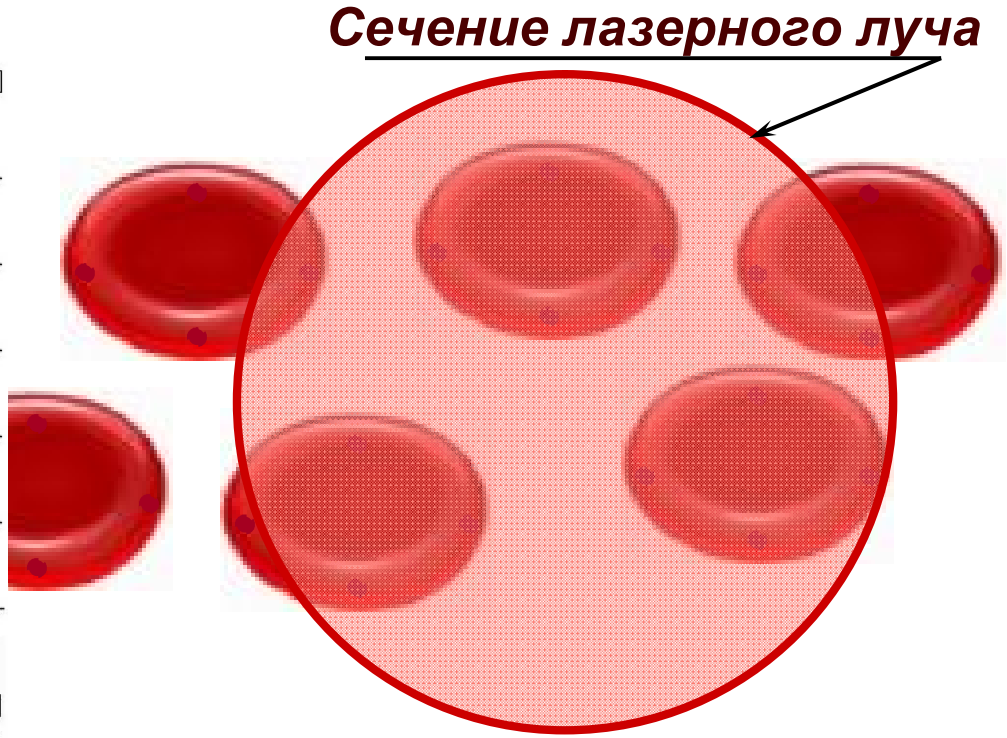


Эритроциты хаотически распределены в потоке, но все эритроциты своей узкой стороной движутся вдоль сосуда.

Дифракция на слое суспензии эритроцитов

Просвечивая слой суспензии эритроцитов излучением лазера можно наблюдать стационарные дифракционные картины в виде эллипсов.





Анализ изменения дифракционных картин позволяет судить о деформационной лабильности эритроцитов.

Цель и задачи работы

Спроектировать и создать программно-аппаратный комплекс для анализа эластичности мембран эритроцитов методом лазерной дифрактометрии, отвечающий следующим требованиям:

– мобильность, небольшие размеры и масса;

– компьютерная видеофиксация результатов экспериментов;

– компьютерный расчет индекса деформируемости эритроцитов в потоке крови;

– наглядность представления зависимости индекса деформируемости от усилия сдвига (градиента скорости потока);

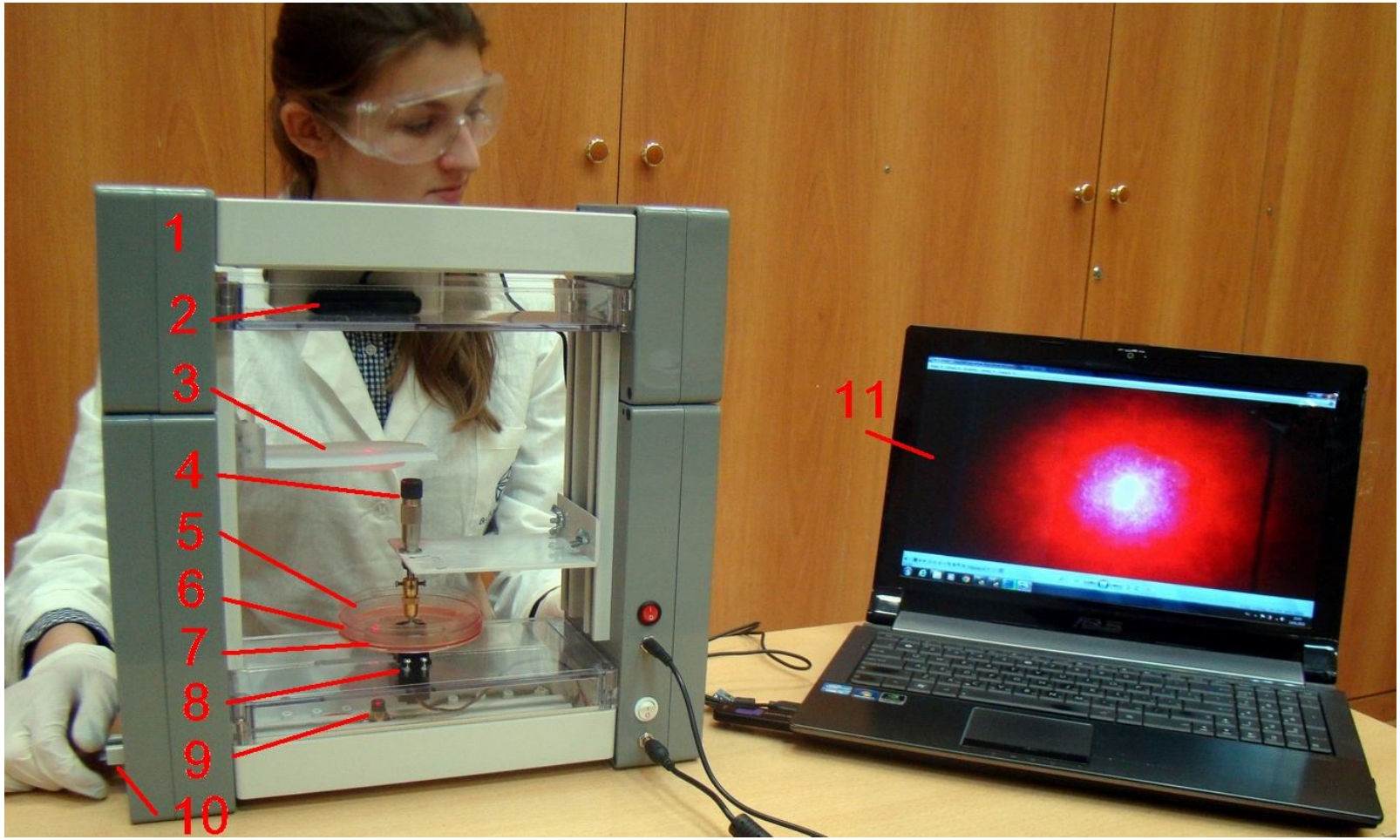
– простота и удобство в использовании.

Структура измерительного комплекса

1. Экспериментальная установка в авторском исполнении.
2. WEB камера
3. Ноутбук
4. ПО в составе трех независимых программ:
   - 4.1. Программа видеозахвата для мониторинга и сохранения результатов эксперимента: ContaCam*.
   - 4.2. Программа для редактирования видеопотока и отбора необходимых скриншотов эксперимента: FreeVimager*.
   - 4.3. Авторская программа LaserDiffraction для анализа дифракционных картин, расчета индекса деформируемости эритроцитов и графического представления результатов эксперимента.

* Программы ContaCam и FreeVimager распространяются по GNU GPL Version 3. Свободное использование для бизнеса, работы, учебы…

Экспериментальная установка



1. Монтажная рама (36x12x36 *см*)
2. WEB камера
3. Матовый экран
4. Регулировка толщины слоя суспензии (0,5÷5 *мм*)

5,6. Верхняя и нижняя чаша

7. Слой суспензии эритроцитов
8. Двигатель (0÷60 *об/мин*)
9. Лазерный диод λ=650 *нм*
10. Перемещение лазерного пятна по радиусу чаши (*R* = 20÷38 *мм*)
11. Запись видео. Окно ContaCam

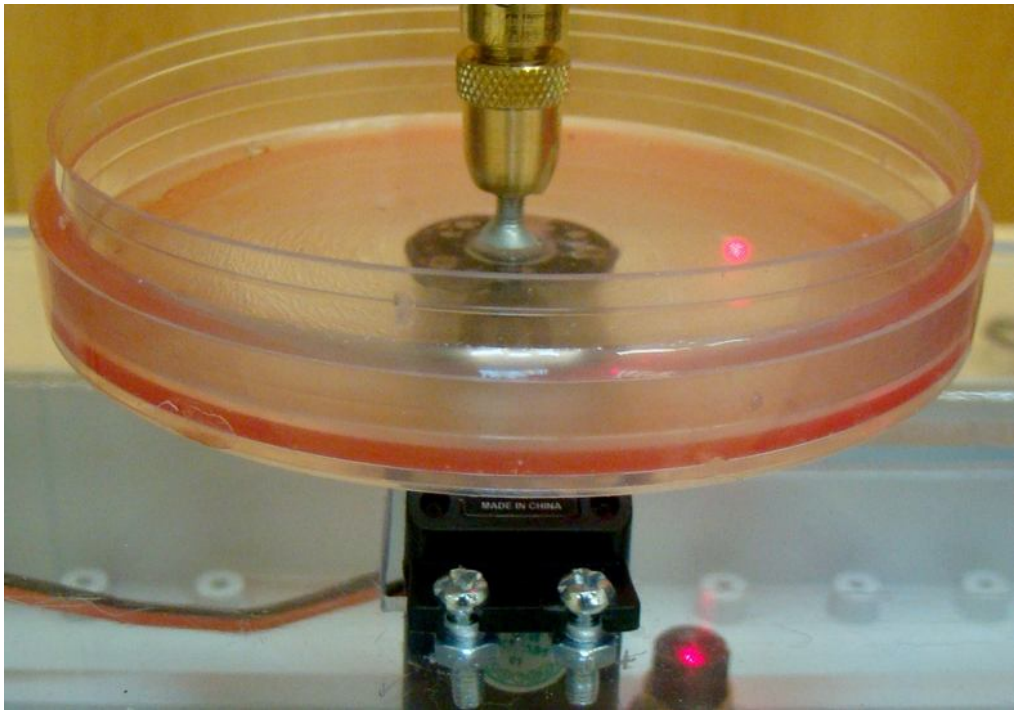
Подготовка образца крови. Регулировка установки

1. Подготовить и загрузить в установку опытный образец суспензии эритроцитов.

   Пробы крови автора и научного руководителя работы забирались в медицинском учреждении с помощью венопункции в шприц объемом 2 *мл* и стабилизировались 0,3% раствором цитрата натрия.

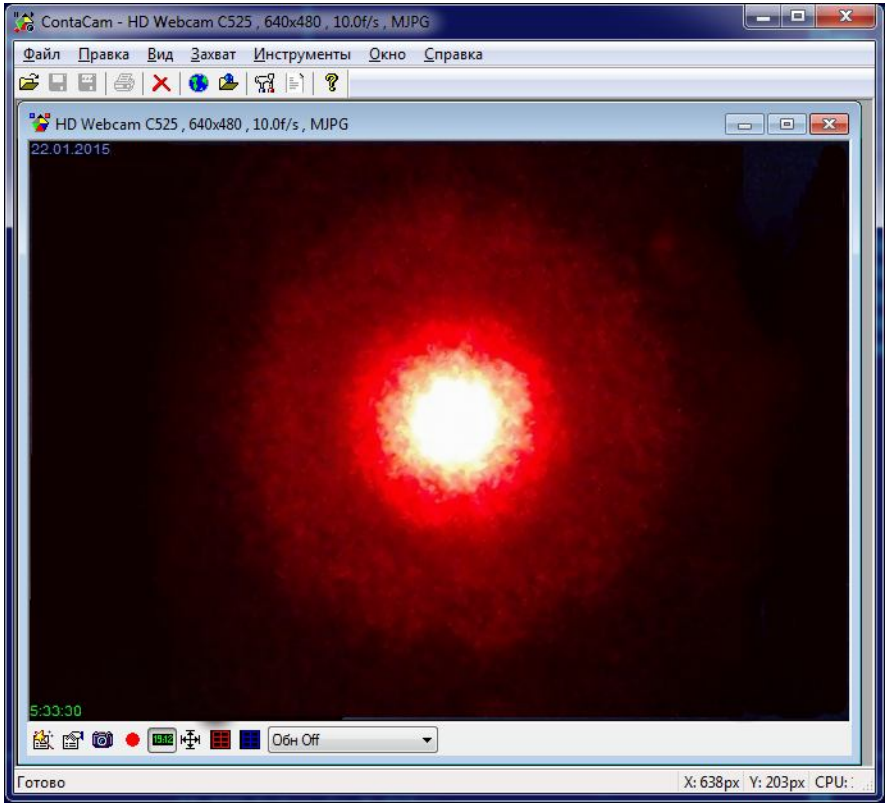
   Далее, проба крови объемом 0,1 *мл* помещалась в 10 *мл* 0,9% растворителя хлорида натрия для приготовления лекарственных форм для инъекций.

2. Установить лазер на необходимом расстоянии от оси установки (20÷38 *мм*) и отрегулировать высоту слоя суспензии (0,5÷5 *мм*).

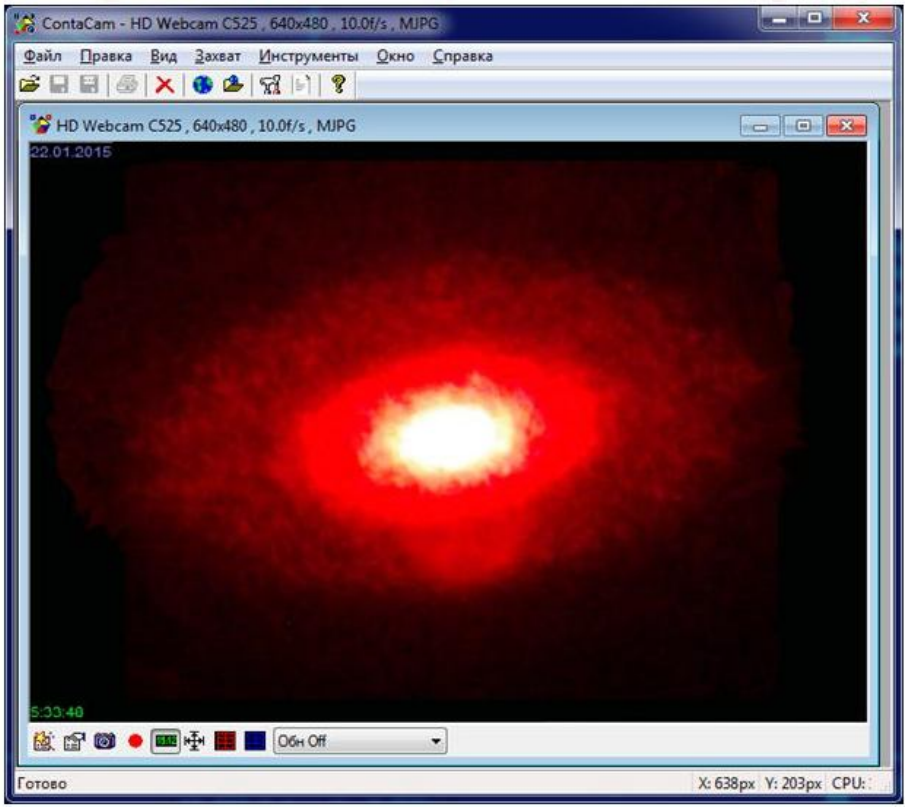


Видеозапись эксперимента

3. Включить установку с одновременным началом видеозаписи дифракционных картин. Программа ContaCam сохраняет весь видеопоток в папку с данными.



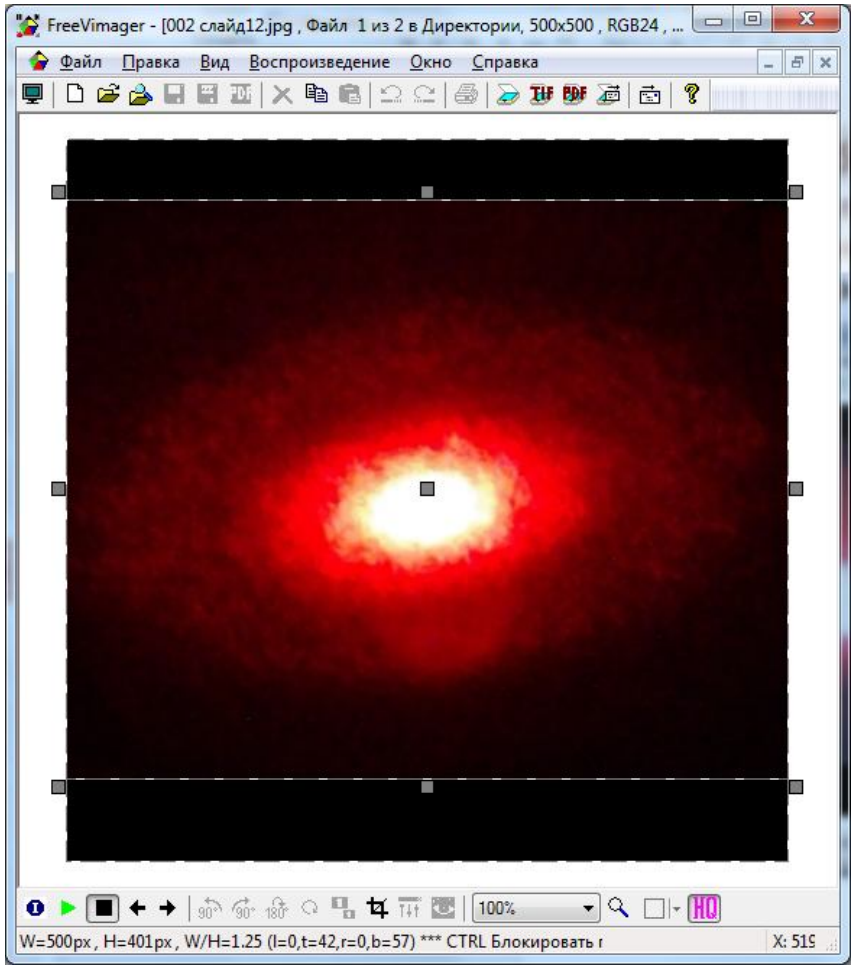
Дифракционная картина до включения двигателя

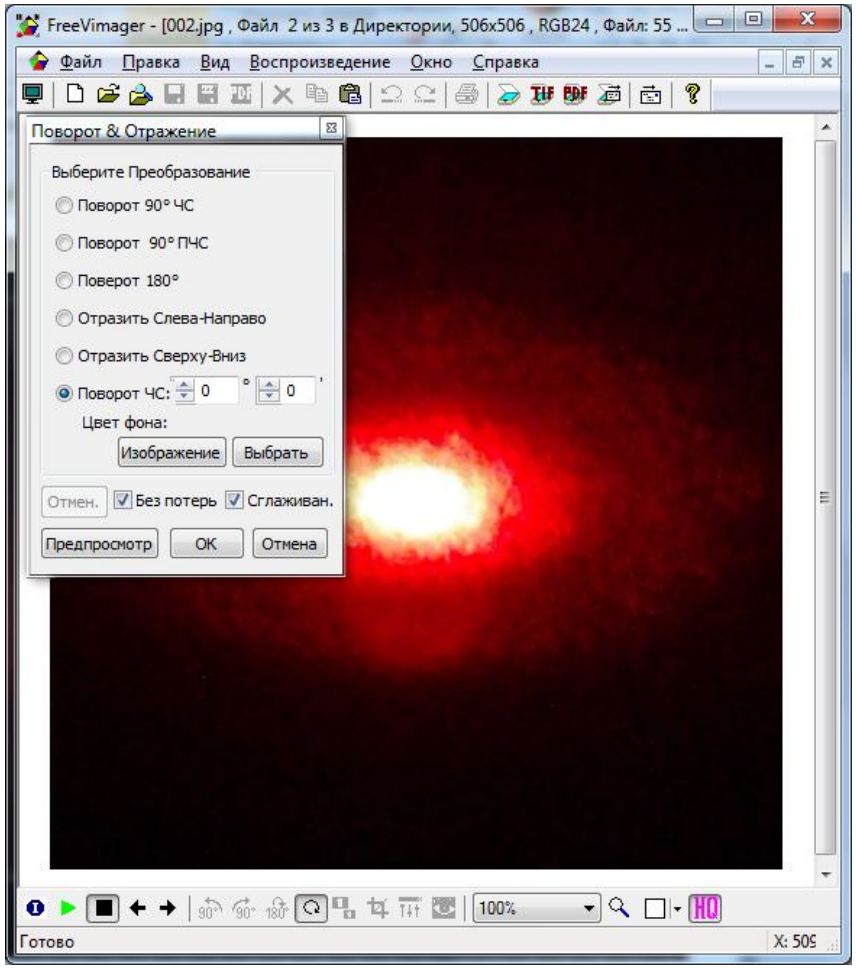


Дифракционная картина после включения двигателя

Отбор и обработка дифракционных картин для анализа

4. Перейти в окно программы FreeVimager.
Открыть сохраненный видеопоток и выбрать скриншоты.
При необходимости – повернуть и обрезать.



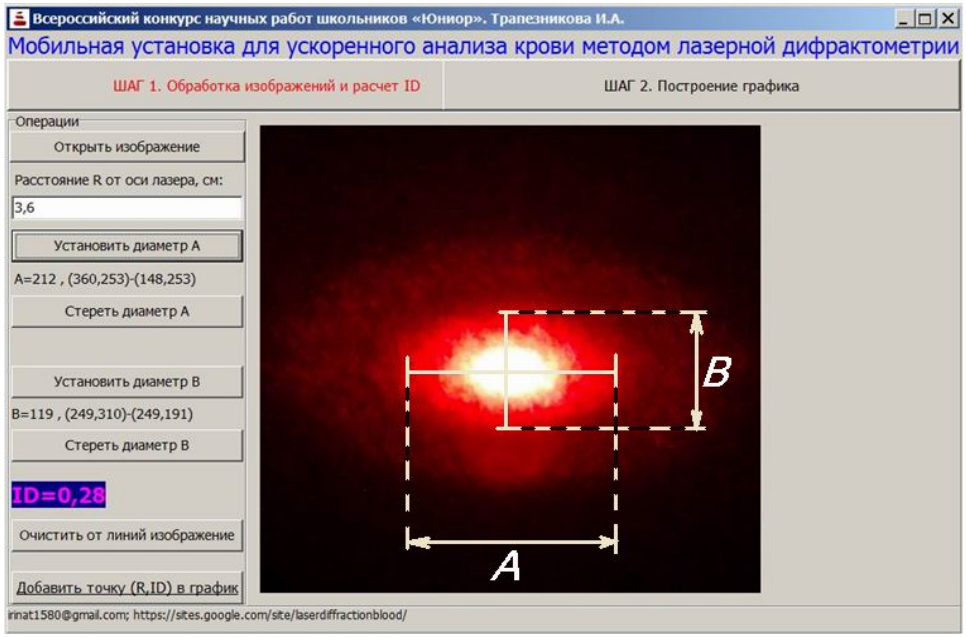


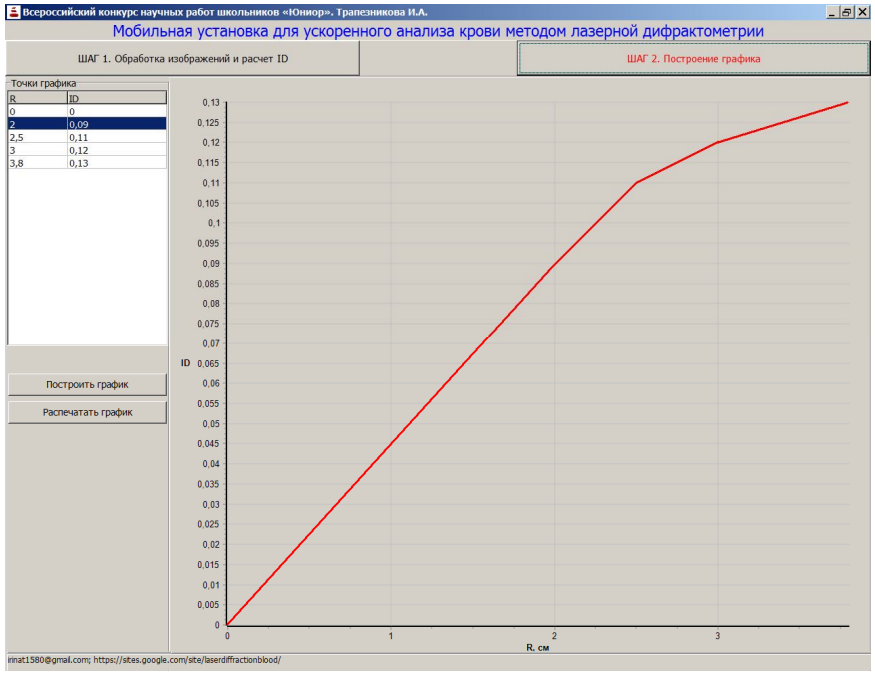
Расчет индекса деформируемости эритроцитов

5. Запустить авторскую программу LaserDiffraction.

- **Указать расстояние от оси вращения, отметить большую (*A*) и малую (*B*) оси дифракционного эллипса.**
- **Получить значение *ID*, и сохранить координаты для графика.**

6. Перейти в окно «Построение графика» программы LaserDiffraction. Построить и распечатать график.





$$ID = \frac{A - B}{A + B}$$

Оценка погрешности эксперимента

Проведена серия из 5 измерений при фиксированном градиенте скорости потока (частота вращения *n*=60 *об/мин*, толщина слоя *h* = 2*мм*, расстояние лазерного пятна от оси чашки Петри *R* = 30 *мм*)

В таблице приведены результаты расчета среднего значения *ID*, среднеквадратичной и относительной погрешности:

ID_i	<*ID*>	ΔID_i	<*ID*> $\pm \Delta ID$	ε, %
0,17	0,162	0,008	$0,162 \pm 0,004$	2,5
0,16		-0,002		
0,16		-0,002		
0,17		0,008		
0,15		-0,012		

Точность измерений (2-3%) согласуется с опубликованными результатами исследований дифракционным методом параметров крови без патологии [4-7].

Выводы

1. Мобильность созданного программно-аппаратного комплекса для ускоренного анализа эластичности мембран эритроцитов обусловлена сравнительно малой массой (1,4 *кг*) и размерами (36x12x36 *см*) установки. Для подготовки исследуемого образца достаточно пробы крови объемом менее 1*мл*.
2. Авторская программа значительно упрощает и ускоряет анализ дифракционных картин, расчет индекса деформируемости и построение графиков.
3. Простота и удобство использования комплекса подтверждены результатами тестовых испытаний.
4. Зафиксированный интервал изменения индекса деформируемости эритроцитов от 0,06 до 0,35 и погрешность измерений (2 – 3%) согласуются с опубликованными результатами [4-7].

Список литературы

1. Бегун П.И. Моделирование в биомеханике. – М.: Высш.шк., 2004, с.67.
2. Вохминцев А.П. и др. Деформируемость эритроцитов и способы ее клинической диагностики. //Современные наукоемкие технологии. -2004, №3. С.54.
3. Наумова Г.М. и др. Изменение микрореологических параметров эритроцитов при инкубации проб цельной крови с углеродными наночастицами. // 26 симпозиум по реологии, тез. докл. Тверь, 2012. С 126-126.
4. Франк Г.М., Лемажихин Б.К. Определение размеров эритроцитов методом дифракции света. //Труды института биологической физики. - 1955, вып. 1, с. 276.
5. Bayer R., Moser J. Analysis of erythrocyte flexibility by means of laser diffraction // Proceedings SPIE. 1993, v. 1884. P. 291-302.
6. Аристов А.А., Евтушенко Г.С. Лазерные системы в медицине. – 2003, Изд.Томского политехнического университета, 123 с.
7. Марьинских В.В. Исследование вязкоэластичных свойств мембран эритроцитов.// Автореферат дисс. Тюмень, 2007.