

1561111

Московский ордена Ленина, ордена Октябрьской революции
и ордена Трудового Красного Знамени Государственный
Технический Университет им. Н. Э. Баумана

На правах рукописи

Сафонова Лариса Петровна

ПРОСТРАНСТВЕННО-ЧАСТОТНЫЙ АНАЛИЗ ФОРМЕННЫХ
ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ

Специальность: 05.11.17 - Медицинские приборы
и системы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва - 1998

Работа выполнена в Московском Государственном
Техническом Университете им. Н.Э. Баумана.

Научный руководитель:

к.т.н., доцент Спиридонов И.Н.

Официальные оппоненты:

- д.х.н., профессор, зав. кафедрой НФКХ
ММА им. И. М. Сеченова Ершов Ю.А.,
- к.т.н., с.н.с. в/ч 44236 Галущенко В.В.

Ведущая организация:

Гематологический научный центр РАМН

Защита диссертации состоится "12" декабря 1998 г.
в 14³⁰ часов на заседании специализированного учено-
го совета Д 053.15.13. при МГТУ им. Н.Э. Баумана по
адресу: 107005, г. Москва, 2-ая Бауманская улица,
д. № 5.

Для просим выслать по ука-

знакомиться в библиотеке МГТУ

"1" сентября 1998 г.

1561111

Щукин

каз N 181. Объем 1.0
им. Н. Э. Баумана.

НТБ МГТУ им. Н.Э. Баумана



1561111

Сафонова Л.П. Пространстве

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одними из немногих количественных характеристик, отражающих функциональное состояние человека, динамику физиологических процессов, протекающих в организме под действием различных факторов, являются параметры клинического анализа крови: количество гемоглобина, концентрации нормальных и патологических форменных элементов. Клинический анализ крови – важный этап процессов диагностики и лечения заболеваний.

Анализ, классификация и подсчет нормальных и патологических клеток крови, кроме бласных, основываются на качественно оцениваемых стандартным визуальным методом морфологических параметрах: размер клетки ($K\alpha$), форма клетки ($K\beta$), размер ядра ($\Lambda\alpha$), форма ядра ($\Lambda\beta$), размер гранул ($Z\alpha$), количество гранул ($Z\gamma$) и других. Параметры $\Lambda\beta$, $\Lambda\alpha$, $Z\alpha$, $Z\gamma$ характеризуют внутреннюю структуру клетки (Λ) (табл. 1).

116-1961
Для обеспечения требований современной клинической практики к анализу крови необходимо определять концентрации лейкоцитов с относительными погрешностями, не превышающими следующих значений: для лимфоцитов – 4%, сегментоядерных нейтрофилов – 2%, палочкоядерных нейтрофилов – 8%, моноцитов – 7%, эозинофилов – 10%, общего количества лейкоцитов – 6%.

Указанным требованиям не отвечают стандартные визуальные методы анализа окрашенных мазков и жидких проб крови под микроскопом. Максимальные относительные погрешности определения концентраций лейкоцитов и эритроцитов составляют соответственно 30% и 14%, относительная погрешность дифференциального анализа лейкоцитов, патологических клеток – более 30%, что определяется малым количеством анализируемых клеток (1-500), преобладанием влияния субъективного фактора на результаты исследований (Предтеченский В.Е., 1950; Козловская Л.В., 1984).

Современные автоматические гемоанализаторы: проточные (Cobas Argos 5Diff, Technicon H-1/H-3, Coulter MAXM, Cell-Dyn 3500, System-9100+ и др.) и системы компьютерного анализа гемоизображений (Hematrak 590, Autocyte и др.), –

не позволяют количественно оценивать морфологические параметры крови, кроме размеров клеток ($K\alpha$), не обеспечивают требуемой точности дифференциального анализа лейкоцитов, незрелых форм и клеток с атипичной морфологией ввиду отсутствия взаимосвязи между измеряемыми и морфологическими параметрами (Козинец Г.И., 1997; Turgeon M.L. 1993).

Единственным методом анализа патологических клеток крови в настоящее время является визуальный анализ, несмотря на низкую точность, трудоемкость, значительный дефицит квалифицированных врачей-лаборантов.

Анализ литературных данных позволяет сделать вывод об актуальности и необходимости разработки метода и создания на его основе гемоанализатора для количественной оценки морфологических параметров ($K\alpha$, $K\beta$, $A\beta$, $A\alpha$, A), для дифференциального анализа и определения концентраций нормальных и патологических клеток крови.

Как следует из работ Н. С. van de Hulst (1957), Casasent D., Psaltis D. (1976), Колфилда Х. Дж. (1980), Stark H. (1982), Попечительева Е.П. (1981, 1991), Приезжева А.В. (1989), одним из наиболее перспективных методов анализа форменных элементов крови является анализ пространственно-частотных спектров (ПЧС) гемоизображений, позволяющий количественно оценивать форму и структуру последних.

С точки зрения статистических свойств исследуемых проб крови, корректно осуществить формирование и провести анализ ПЧС гемоизображений позволяют когерентно-оптические процессоры (КОП), теоретические основы расчета и проектирования которых изложены в работах Goodman J. W. (1968), Collier C. B. (1971), Papoullis A. (1971), Василенко Г.И. (1977), Stark G. (1988), Рожкова О.В. (1986) и других авторов.

Цель и задачи исследования.

Целью диссертационной работы является разработка метода и устройства для количественной оценки морфологических параметров крови: размеров, форм клеток и ядер, внутренней структуры клеток, - а также определения концентраций форменных элементов и количества гемоглобина.

Для достижения поставленной цели были сформулированы и решены следующие задачи:

1) исследование возможности количественной оценки морфологических параметров крови по ПЧС гемоизображений;

2) разработка комплекса гематологических характеристик (КГХ), измеряемых по ПЧС анализируемых гемоизображений и адекватных параметрам клинического анализа крови;

3) разработка когерентно-оптического метода анализа гемоизображений (КОМАГ);

4) разработка методики проектирования лазерного анализатора крови (ЛАК);

5) создание макета ЛАК и его экспериментальное исследование;

6) разработка методик определения морфологических параметров ($K\alpha$, $\Lambda\alpha$, $K\beta$, $\Lambda\beta$, Λ), количества гемоглобина (Hb), концентраций эритроцитов (N_3) и лейкоцитов (N_d) на макете ЛАК.

Методы исследования. Поставленные задачи решались на основе скалярной теории дифракции, теории рассеяния, теории оптических систем, теории обработки изображений, методик построения и расчета когерентных оптических процессоров, методов математической статистики.

Научная новизна.

1. Установлены требования к точности определения концентрации и дифференциального анализа лейкоцитов.

2. Показано, что для классификации и подсчета клеток крови, нормальных и патологических, с требуемой точностью необходимо количественно оценивать морфологические параметры: размер клетки ($K\alpha$), форму клетки ($K\beta$), форму ядра ($\Lambda\beta$), размер ядра ($\Lambda\alpha$), внутреннюю структуру клетки (Λ).

3. Впервые получен комплекс гематологических характеристик (Q , q_{10} , r_1 , Φ , I_{np}), измеряемых по ПЧС проб крови и адекватных параметрам клинического анализа ($K\alpha$, $K\beta$, $\Lambda\beta$, $\Lambda\alpha$, Λ , Hb, N_3 , N_d).

4. Предложен когерентно-оптический метод анализа гемоизображений для определения КГХ, заключающийся в формировании и анализе ПЧС проб крови.

5. Определены основные медико-технические требования к специальной аппаратуре, лазерному анализатору крови (ЛАК); разработана методика проектирования ЛАК; рассчитан и создан

макет ЛАК для измерения КГХ.

6. Предложены методики количественной оценки параметров $K\alpha$, $K\beta$, $A\beta$, $A\alpha$, A , Hb , N_3 , N_L с помощью макета ЛАК.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Комплекс гематологических характеристик, адекватных параметрам крови: размер клетки ($K\alpha$), форма клетки ($K\beta$), форма ядра ($A\beta$), размер ядра ($A\alpha$), внутренняя структура клетки (A), количество гемоглобина (Hb), концентрация эритроцитов (N_3), концентрация лейкоцитов (N_L).

2. Когерентно-оптический метод анализа гемоизображений.

3. Методика проектирования лазерного анализатора крови.

4. Методики количественной оценки размеров, форм клеток крови и ядер, ($K\alpha$, $K\beta$, $A\beta$, $A\alpha$), внутренней структуры клеток (A), количества гемоглобина (Hb), концентраций эритроцитов (N_3) и лейкоцитов (N_L) с помощью макета ЛАК.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в разработке КОМАГ и методики проектирования ЛАК для количественной оценки морфологических параметров клеток крови: $K\alpha$, $K\beta$, $A\beta$, $A\alpha$, A , - что позволит обеспечить требуемую точность дифференциального анализа клеток, определения концентраций, количественный анализ патологических форменных элементов, повысить эффективность диагностики на основе данных клинического анализа крови.

Получены статистически обработанные данные анализа морфологии более 2000 клеток крови разных типов (промиелоцитов, миелоцитов, палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, эритроцитов), подтверждающие эффективность применения пространственно-частотного анализа (ПЧА) форменных элементов, разработанных КОМАГ и ЛАК для классификации морфологически распознаваемых клеток крови, нормальных и патологических.

Результаты работы позволяют рекомендовать применение КОМАГ для расширения функциональных возможностей проточных гемоанализаторов, применение ЛАК для гематологических лабораторий различных уровней и специализаций.

Апробация работы проведена на базе Городской поликлиники N 160 (МГТУ им. Н.Э. Баумана). Результаты работы внед-

рени в учебный процесс кафедр БМТ1 и БМТ2 МГТУ им. Н. Э. Баумана. Основные положения работы докладывались на научных семинарах кафедры "Биомедицинские технические системы и устройства" и отдела НИИ РЛ 01 МГТУ им. Н. Э. Баумана (Москва, 1996, 1997), на 2-ой Международной научно-технической конференции по Оптической обработке информации (Санкт-Петербург, 17-20 июня 1996), на научно-технических конференциях "Студенческая весна '94" (Москва, МГТУ им. Н. Э. Баумана, май 1994), "165 лет МГТУ им. Н. Э. Баумана" (Москва 21-23, ноябрь 1995), на VI МНТК "Лазеры в науке, технике, медицине" (Суздаль, 1995), на VII МНТК "Лазеры в науке, технике, медицине" (Сергиев Посад, 24-26 сентября 1996), на VIII МНТК "Лазеры в науке, технике, медицине" (Псков, Пушкинские горы, 9-12 октября 1997), на IV МНТК "новые информационные технологии в медицине и экологии" (Ялта-Гурзуф, Крым, Украина, 26 мая - 4 июня 1998), на объединенном научном семинаре кафедр РЛ7 "Биомедицинские технические системы и устройства", РЛ8 "Медико-технические и информационные технологии", отделов НИИ РЛ 01, 06 МГТУ им. Н.Э. Баумана (Москва, 30 июня 1998).

Публикации.

По материалам диссертации опубликованы 4 научных статьи и 4 тезисов докладов на научных конференциях.

Структура и объем работы.

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав и приложений. Основной текст диссертации изложен на 150 страницах. В приложение вошли сведения справочного характера. Список литературы включает 130 библиографических источника. Диссертация проиллюстрирована рисунками, таблицами, графиками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована необходимость и актуальность, новизна и практическая значимость исследования, сформулированы цели и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена обобщению литературных данных

по клиническому анализу крови. Определены диапазоны изменений параметров клинического анализа в норме (с уровнем доверия не менее 0,8) и при патологиях (с уровнем доверия не менее 0,56).

Для лечебных учреждений не онкологического профиля возможные патологии в 70–90% случаев проявляются в виде изменений концентраций нормальных клеток и в 10–30% в виде появления клеток с атипичными морфологическими параметрами: незрелых гранулоцитов (метамиелоцитов, миелоцитов, промиелоцитов), эритроцитов с измененной формой (пойкилоцитоз) или размерами (анизоцитоз) и др. (табл. 1).

Нормальные и патологические клетки характеризуются определенными морфологическими параметрами (табл. 1).

На основании клинических данных по оценке функционального состояния человека (Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А., 1990 г.) сформулированы требования к точности определения концентрации и дифференциального анализа лейкоцитов, превышающие точности, обеспечиваемые стандартными визуальными методами, в 5 раз, системами компьютерного анализа гемоизображений – в 3 раза, проточными гемоанализаторами – в 1,5–3 раза.

Рассмотрены применяемые на практике методы анализа клеток крови, функциональные возможности существующих гематологических анализаторов (проточных и систем компьютерного анализа гемоизображений), их преимущества и недостатки.

Обоснована необходимость количественной оценки морфологических параметров форменных элементов: размер клетки (Kα), форма клетки (Kβ), форма ядра (Aβ), размер ядра (Aα), внутренняя структура клетки (A).

Сформулированы цель и основные задачи исследования.

Во второй главе теоретически показана возможность применения для исследования проб крови пространственно-частотного анализа, позволяющего количественно оценивать особенности форм и структуры высокоинформативных изображений (Stark G., 1988; Carlson F.P., Lee Ch.K., 1978; Спиридонов И.Н., 1989, 1993; Аполлонова И.А., 1993, 1996).

На основании анализа оптических свойств крови и особенностей гемоизображений предложена феноменологическая мо-

Таблица 1

Морфологические параметры клеток крови, наиболее значимые для дифференциального анализа

(по Абрамову М.Г., 1979; Афанасьеву Ю.И. и др., 1989; Беляеву М.П. и др., 1992; Вельтишеву Д.Е., 1991; Воробьеву А.И. и др., 1985; Козловской Л.В., Николаеву А.Ю., 1984; Хэтгинс Э., 1993)

		Тип клетки	Размер клетки Ка, мкм	Размер ядра Лх, мкм	Форма ядра Лв	Размер гранул За, мкм	Количество гранул Зв	Вид клетки
ПАТОЛОГИЯ БЕЛОЙ КРОВИ	Незрелые клетки гранулоцитарного роста (10-30% клинических случаев)							
	Промиелоцит	ø16 - 24	ø13 - 21	Округлое, выпуклое	0,05 - 0,2	Обильная зернистость		
	Миелоцит	ø10 - 18 чаще 13-15	ø7 - 13	Выпуклое, овальное	0,05 - 1,2	Зависит от типа грану- лоцита		
	Мегамиело- цит	ø10 - 15	(7 - 11)	Подковообразное, бобовидное	0,05 - 1,2	Зависит от типа грану- лоцита		
	Нейтрофил палочко- ядерный	ø 9 - 15	4,5 - 7,5	U-, I-образное S-образное	0,15 - 1,2	Немногочис- ленная		
	Нейтрофил сегменто- ядерный	ø 9 - 15	4,5 - 7,5	Зрелые клетки периферической крови Двухсегментное - пятисегментное	0,15 - 1,2	Немногочис- ленная		
	Лимфоцит	ø7 - 15	ø 5 - 7	Круглое, овальное выпуклое	0,05 - 0,2	Немногочис- ленная		
	Моноцит	ø14 - 20	11 - 15	Лопастное, бобо- видное, грибооб- разное	0,05 - 0,2	Немногочис- ленная		
	Базофил с/я	ø 9 - 12	4,5 - 6	Трехсегментирован- ное (с соединяю- щими перемычками)	0,15 - 1,2	Немногочис- ленная		
	Эозинофил с/я	ø12 - 17	6 - 8,5	Чаще две грушевид- ные дольки	0,5 - 0,8	Обильная		
НОРМАЛЬНАЯ СОСТАВ КЛЕТОЧНЫЙ	Тромбоцит	ø 1 - 5	Без ядра и зернистости					
	Эритроцит	ø 7 - 8	Без ядра и зернистости					
	Незрелые клетки эритроцитарного роста (менее 7% клинических случаев)							
	Ретикулоцит	ø 9 - 11	Без ядра			Отдельные зерна или группы базофильного вещества		
	Нормобласт ортохромный	ø 7 - 10	ø 4 - 6	Округлое, выпуклое	Нет			
	Эритроциты с атипичной морфологией (около 10-15% клинических случаев)							
	1. Изменение размеров эритроцитов (анизоцитоз)							
	Микроцит ($>15\%$)	5,0 - 6,2	—	—	—	—		
	Макроцит ($>17\%$)	8,2 - 11,0	—	—	—	—		
	2. Изменение формы эритроцитов (пойкилоцитоз)							
ПАТОЛОГИЯ КРАСНОЙ КРОВИ	Клетка	Ка, мкм	Ла, мкм	Морфологический параметр Ка		Зв	Вид клетки	
	Эхиноциты (3-10)% - ($>40\%$)	6,2 - 8,2	—	30-50 спикул ("выростов")		—		
	Мегалоциты (3-10)% - ($>40\%$)	11,0 - 12,0	—	Округлая, овальная		—		
	Зидиптоциты (3-10)% - ($>25\%$)	6,2 - 8,2	—	Зидиптичная		—		

дель пробы крови, позволяющая представить в аналитическом виде амплитудный коэффициент пропускания пробы ($t(x_0, y_0)$; x_0, y_0 - линейные координаты в плоскости гемоизображения).

Квадрат модуля преобразования Фурье от амплитудного коэффициента пропускания ($F\{t(x_0, y_0)\}$), являющийся пространственно-частотным спектром (ПЧС) исследуемой пробы, определяется следующим образом

$$I(v_x, v_y) = |F\{t(x_0, y_0)\}|^2, \quad (1)$$

где v_x, v_y - пространственные частоты, $v_x \approx x/(\lambda r)$; $v_y \approx y/(\lambda r)$; r - расстояние между ПЧС и гемоизображением; x, y - линейные координаты в плоскости ПЧС; λ - длина волны излучения.

В качестве информативных параметров при анализе ПЧС сложноструктурированных изображений, в том числе гемоизображений, целесообразно использовать интегральные характеристики, называемые угловым ($I_A(\varphi)$) и радиальным ($I_R(v)$) пространственно-частотными спектрами и соответственно определяемые формулами (2) и (3):

$$I_A(\varphi_1) = \left[\int_{\varphi_1}^{\varphi_1 + \Delta\varphi} \int_{v_{\min}}^{v_{\max}} I(v, \varphi) v dv d\varphi \right] / \left[\sum_{i=1}^N \int_{\varphi_1}^{\varphi_1 + \Delta\varphi} \int_{v_{\min}}^{v_{\max}} I(v, \varphi) v dv d\varphi \right], \quad (2)$$

где $I_A(\varphi_1)$ - значение углового пространственно-частотного спектра (УПЧС) в выбранном направлении φ_1 ; v, φ - полярные координаты в плоскости ПЧС, $v = (v_x^2 + v_y^2)^{1/2}$, $\tan \varphi = v_y/v_x$; $I(v, \varphi)$ - распределение интенсивности в ПЧС; i - номер углового сектора; $\Delta\varphi$ - погрешность вычисления по углу; $N = \pi/\Delta\varphi$ - требуемое разрешение по углу; $v_{\max}, v_{\min}$ - граничные значения пространственных частот;

$$I_R(v_1) = \left[\int_{v_1}^{v_1 + \Delta v} \int_0^\pi I(v, \varphi) v d\varphi dv \right] / \left[\sum_{i=1}^N \int_{v_1}^{v_1 + \Delta v} \int_0^\pi I(v, \varphi) v d\varphi dv \right], \quad (3)$$

где $I_R(v_1)$ - значение радиального пространственно-частотного спектра (РПЧС), соответствующее пространственной частоте

ν_1 ; 1 - номер частотного интервала; $\Delta\nu$ - погрешность вычисления по пространственной частоте; $M=(\nu_{\max}-\nu_{\min})/\Delta\nu$ - требуемое разрешение по частоте.

Анализ ПЧС с помощью интегральных характеристик, УПЧС и РПЧС, позволил ввести комплекс гематологических характеристик, определяемых по ПЧС гемоизображения и адекватных параметрам формы и структуры последнего (табл. 2).

Показано, что форма контура теневого сечения клетки (КБ), ядра (АБ), внутренняя структура клетки (А) количественно характеризуются векторами формы $Q_j = \{q^{(j)}_{10} / j=0, 2, 4, 6, \dots, 18\}$. Значения коэффициентов формы $(q^{(j)}_{10})$ определяются через значения амплитуд $|A_1|$, $|A_0|$ комплексных коэффициентов гармонического ряда Фурье соответствующей функции $I_A^{(j)}(\varphi)$: $q_{10} = q_{10}(|A_1|/|A_0|)$. Установлена требуемая погрешность вычисления УПЧС ($|\Delta\varphi| < 6^\circ$) для количественной оценки параметров КБ, АБ и А.

Диаметр округлых клеток (Ка) или ядер (Ла) оценивается по положениям минимумов ПЧС, либо формируемого РПЧС, что следует из формулы (3). Допустимая для оценки параметров Ка и Ла погрешность вычисления по пространственной частоте при формировании РПЧС - $|\Delta\nu| < 5 \text{ 1/мм}$.

Величина интенсивности центрального максимума ПЧС гемоизображения ($I_{np} = I(0,0)$) позволяет оценить концентрацию (N) одноклеточных клеток в анализируемой области. Общее количество гемоглобина (Hb) определяет значение амплитудного коэффициента пропускания пробы крови.

Аналитические взаимосвязи КГХ с соответствующими параметрами крови приведены в таблице 2.

Полученные в процессе теоретических исследований феноменологической модели результаты подтверждают эффективность применения ПЧА для количественной оценки морфологических параметров клеток крови и позволяют сформулировать основные медико-технические требования к специальной аппаратуре.

Третья глава. Анализ применяемых в теории рассеяния аппроксимационных методов и оптических свойств клеток крови позволяет заключить, что метод скалярной дифракции применим для анализа окрашенных клеток крови. На основании этого разработан когерентно-оптический метод анализа гемоизобра-

Таблица 2

**Комплекс гематологических характеристик
лазерного анализатора крови**

КОМПЛЕКС ПАРАМЕТРОВ КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ		Взаимосвязь комплекса гематологических характеристик с параметрами клинического анализа крови	КОМПЛЕКС ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК	
Количественно оцениваемый параметр крови	Обозначение		Обозначение	Характеристика определяемая по пространственно частотному спектру
Форма клеток	K_A	$I_A(\varphi) = \sum_{k=-\infty}^{+\infty} A_k \cdot \exp(j2\pi k \varphi / T)$ $A_k = \frac{1}{T} \int_{\varphi_0}^{\varphi_0+T} I_A(\varphi) \cdot \exp(-j2\pi k \varphi / T) d\varphi$ $Q = \{q_{10}\} = \{ A_1 / A_0 \}, 1=0,2,4,\dots,18$ $K_A = Q_1, \quad A_A = Q_2, \quad A = Q_3$	Q	Вектор формы
Форма ядра	A_A		$\{q_{10}\}$	Коэффициенты формы
Внутренняя структура клетки	A			
Эллиптичность формы	e	$q^* = 2(A_{20})^{1/2} / (1 + A_{20})$ $e \approx q_{20}^*$	q^*	Коэффициент эллиптичности формы
Средний диаметр клеток	K_i	$K_i = [1,22 + (1-1)/\sin(\arctg(p_i/r_2))] =$ $= [1,22 + (1-1)/v_i], \quad i = 1,2,3,\dots$	p_i (v_i)	Полярный радиус i-го минимума ПЧС (РПЧС)
ядер	A_i	$A_i = [1,22 + (1-1)/\sin(\arctg(p'_i/r_2))] =$ $= [1,22 + (1-1)/v'_i], \quad i = 1,2,3,\dots$	p'_i (v'_i)	
Общее количество гемоглобина	Hb	$Hb = A [\ln(\Phi_0/\Phi)] + B;$ $A = \text{const}, B = \text{const} - \text{коэффициенты связи}$	Φ_0 $\ln \frac{\Phi_0}{\Phi}$	Оптическая плотность пробы крови
Концентрация эритроцитов	N_3	$N_i = k_{11} [((I_0 - I_{np})/I_0)] \cdot \ln(\Phi_0/\Phi) + k_{12}$ $k_{11} = \text{const}, \quad k_{12} = \text{const} - \text{коэффициенты связи}; \quad i = (3, 4)$	$I_0 - I_{np}$	Нормированное изменение интенсивности центрального максимума ПЧС
лейкоцитов	N_4		I_0	

Φ_0, Φ - соответственно падающий и прошедший пробу потоки излучения

I_0, I_{np} - соответственно интенсивности центрального максимума

в отсутствие и при наличии исследуемой пробы крови

жений для измерения КГХ по формируемым ПЧС проб крови.

Основой технической реализации данного метода является когерентно-оптический процессор (КОП), параметры которого определяются схемой и параметрами фурье-анализатора и требуют учета особенностей гемоизображений при расчете и проектировании.

Разработанный лазерный анализатор крови имеет два канала для эталонной и исследуемой проб крови (рис. 1). Источником когерентного монохроматического излучения является He-Ne лазер с длиной волны 632,8 нм. Схема фурье-анализатора отличается переменным масштабом спектра, малыми размерами входной ($\rho_{вх} < 1$ мм) и выходной ($\rho_{вых} < 2$ мм) плоскостей.

Пространственно-частотный спектр при максимальном масштабе определяется выражением

$$I(v_x, v_y) = [A/(\lambda r_2)]^2 \cdot \left| \int \int t(x_0, y_0) P(x_0, y_0) \times \right. \quad (4) \\ \left. S_{тр} \times \exp[-j2\pi(v_x x_0 + v_y y_0)] dx_0 dy_0 \right|^2,$$

где A - амплитуда волны на выходе световолокна; r_1 и r_2 - параметры схемы КОП ЛАК (рис. 1); $P(x_0, y_0)$ - амплитудная функция пропускания апертурной диафрагмы; $S_{тр}$ - площадь анализируемой области гемоизображения.

С целью измерения КГХ и определения требуемых параметров крови в частотную плоскость ФПО устанавливаются режекторные фильтры: верхних частот (для определения концентраций форменных элементов), либо фильтр нижних частот (для формирования и анализа УПЧС и РПЧС).

Коэффициенты связи в аналитических выражениях, описывающих взаимосвязь полученного КГХ с соответствующими параметрами крови (K_α , K_β , A_β , A_α , A , N_β , N_α , N_β , N_α), определяются экспериментально.

Разработана методика проектирования ЛАК, состоящая из энергетического, габаритного расчетов и анализа погрешностей определения параметров ПЧС.

В четвертой главе приведены результаты работ по технической реализации предложенного КОМАГ, результаты расчетов основных элементов ЛАК в соответствии с разработанной мето-

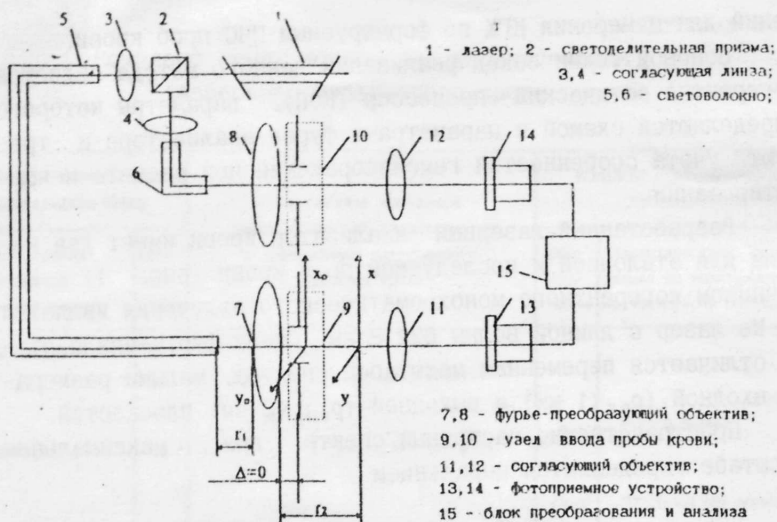


Рис. 1. Схема лазерного анализатора крови

дикой проектирования. На этапе экспериментальных исследований разработан макет лазерного анализатора крови, с помощью которого подтверждены установленные взаимосвязи КГХ с параметрами крови, разработаны методики количественной оценки параметров $K\alpha$, $L\alpha$, $K\beta$, $L\beta$, L , $N\beta$, N_3 , N_d .

Соответствие теоретических и экспериментальных результатов количественной оценки вектором формы U-, I-образной, бобовидной, круглой и эллиптической форм подтверждает правильность феноменологической модели, предложенного КГХ и разработанного КОМАГ.

В процессе анализа более 2000 клеток крови получены средние значения коэффициентов формы (q_{10}) с отклонениями не более 5%, количественно характеризующие форму ядра, внутреннюю структуру различных типов клеток крови (табл. 3).

По 54 стандартно окрашенным мазкам крови экспериментально установлено, что относительная погрешность измерения среднего диаметра эритроцитов на макете ЛАК составляет 8%, что превышает требуемую погрешность (5%). Повысить точность измерения позволят автоматическое приготовление и окраска мазков крови, построение кривой распределения клеток по размерам.

Результаты гармонического анализа УПЧС отдельных типов
клеток крови

Тип клетки	Вектор формы, $Q = \{q_{00}, q_{20}, q_{40}, \dots, q_{180}\}$									
	Коэффициент формы, отн. ед.									
	q ₀₀	q ₂₀	q ₄₀	q ₆₀	q ₈₀	q ₁₀₀	q ₁₂₀	q ₁₄₀	q ₁₆₀	q ₁₈₀
Промиелоцит	1	—	—	—	0,022	—	—	—	—	—
Миелоцит	1	—	—	—	0,024	—	—	—	0,023	—
Палочкоядерный нейтрофил	1	0,020	—	0,024	—	—	—	—	—	—
Сегментоядерный нейтрофил	1	0,033	—	0,020	—	—	—	—	—	—
Эозинофил	1	0,044	0,021	—	—	—	0,024	—	0,020	0,021
Базофил	1	0,079	0,024	0,021	—	0,028	—	—	—	0,025
Лимфоцит	1	0,033	0,024	—	0,022	—	—	—	—	—
Моноцит	1	0,040	—	—	—	0,020	—	—	—	—

Определение количества гемоглобина, концентраций эритроцитов и лейкоцитов проводилось на жидких пробах крови с применением стандартных разбавителей. Корреляционный и регрессионный анализы полученных экспериментальных данных с верифицированными значениями параметров крови позволили определить коэффициенты связи в аналитических выражениях для оценки количества гемоглобина, концентраций эритроцитов и лейкоцитов по измеряемым гематологическим характеристикам в условиях отсутствия эталонных проб.

Максимальная погрешность измерения количества гемоглобина на макете ЛАК по 120 лейкоцитарным пробам составила 5% относительно 1-3%, обеспечиваемых фотоэлектроколориметрами, работающих с лизированными пробам крови. Максимальные относительные погрешности измерений концентраций эритроцитов (по 92 пробам крови) и лейкоцитов (по 83 пробам крови) на макете ЛАК не превышают соответственно 6% и 9%, что сравнимо с точностями определения концентраций проточными гемоанализаторами и в 2-3 раза превышает точности визуального стандартного метода.

Макет ЛАК обеспечивает требуемые погрешности вычисления УПЧС и РЧС, соответственно $|\Delta\varphi|=2^\circ$, что превышает установленное значение 6° , и $|\Delta\nu|=1$ 1/мм.

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о применимости предложенного КГХ, разработанных КОМАГ и ЛАК для количественной оценки морфологических параметров форменных элементов, дифференциального анализа и определения концентраций клеток, в том числе патологических.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Общие выводы.

1. В результате анализа научно-технических данных и современного состояния проблемы показана актуальность, практическая ценность и техническая возможность создания лазерного анализатора крови для количественной оценки морфологических параметров клеток крови: размер клетки ($K\alpha$), форма клетки ($K\beta$), размер ядра ($\Lambda\alpha$), форма ядра ($\Lambda\beta$), внутренняя структура клетки (Λ), - для определения количества гемоглобина, и концентраций форменных элементов крови.

2. На основании анализа введенной феноменологической модели пробы крови получен комплекс гематологических характеристик, определяемых по пространственно-частотным спектрам проб крови и адекватных параметрам крови:

- вектор формы, количественно характеризующий форму клетки, ядра, внутреннюю структуру клетки;
- пространственная частота минимума ПЧС (РПЧС), позволяющая оценить средний диаметр клеток;
- величина прошедшего пробы крови потока излучения, зависящая от количества гемоглобина;
- величина центрального максимума ПЧС пробы, определяющая концентрацию клеток определенного типа в измерительном объеме.

Определены диапазоны изменений анализируемых пространственных частот ($\nu=1-1000$ 1/мм) и углов ($\varphi=0-180^\circ$), требуемые погрешности измерений по пространственной частоте ($|\Delta\nu| < 5$ 1/мм) и пространственному углу ($|\Delta\varphi| < 6^\circ$).

3. Разработан когерентно-оптический метод анализа ге-

моизображений, заключающийся в формировании ПЧС исходного гемоизображения, измерении предложенного КГХ и оценке параметров крови. Получены аналитические взаимосвязи КГХ с параметрами крови.

4. Разработана методика проектирования лазерного анализатора крови, состоящая из светознергетического и габаритного расчетов, анализа погрешностей измерения параметров ПЧС. Определена оптимальная оптическая схема когерентно-оптического процессора ЛАК. Получены аналитические выражения для расчета параметров основных компонентов оптической схемы ЛАК с учетом особенностей гемоизображений.

5. Рассчитан, создан и прошел экспериментальную апробацию макет ЛАК, особенностью которого являются наличие двух измерительных каналов для эталонной и исследуемой проб крови, использование в плоскости ПЧС режекторных фильтров нижних и верхних частот, позволяющих реализовать предложенные алгоритмы определения комплекса гематологических характеристик. Экспериментально подтверждена применимость введенного КГХ, эффективность КОМАГ.

6. Разработаны методики количественной оценки морфологических параметров: размера клетки ($K\alpha$), формы клетки ($K\beta$), размера ядра ($\Lambda\alpha$), формы ядра ($\Lambda\beta$), внутренней структуры клетки (Λ), — а также методики определения количества гемоглобина (Hb), концентраций эритроцитов (N_3) и лейкоцитов (N_L) на макете ЛАК.

По 2000 изображений реальных клеток крови получены значения координат векторов формы, количественно характеризующих различные типы клеток крови (эритроциты, палочко- и сегментоядерные нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, эозинофилы, базофилы), в том числе патологические (промиелоциты, миелоциты).

На 54 стандартно приготовленных мазках крови экспериментально подтверждена возможность определения среднего диаметра эритроцитов путем анализа РПЧС пробы.

В результате измерений, проведенных в ходе экспериментальной апробации КОМАГ и макета ЛАК на верифицированных пробах крови, получены значения коэффициентов связи для определения количества гемоглобина (по 120 пробам), количест-

ва эритроцитов (по 92 пробам) и лейкоцитов (по 83 пробам) по жидким пробам при разведении стандартными разбавителями в условиях отсутствия эталонных проб.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. Сафонова Л.П., Спиридонов И.Н. Применение когерентно-оптического метода для анализа мазков и жидких проб крови//Лазеры в науке, технике, медицине. Тез. докл. VI Междун. науч.-технич. конф. 19-21 сентября 1995 г. - Суздаль, 1995 г. - С. 124-125.

2. Сафонова Л. П., Спиридонов И. Н. Применение когерентно-оптического метода для морфологического анализа крови//Лазеры в науке, технике, медицине. Тез. докл. VII Междун. науч.-технич. конф. Сергиев Посад 24-26 сентября 1996 г. - Москва, 1996. - С. 196-197.

3. Сафонова Л. П., Спиридонов И. Н. Перспективы автоматизации гематологического анализа // Актуальные проблемы создания биотехнических систем/ Сб. науч. тр. - 1997. -Вып.2. - С. 232-243.

4. Спиридонов И. Н., Аполлонова И.А., Сафонова Л.П. Основные принципы создания лазерных анализаторов медицинских сложноструктурированных изображений//Конверсия. - 1997. - N 10. - С. 55-57.

5. Сафонова Л. П., Спиридонов И.Н. Метод количественной оценки патологии форменных элементов крови//Новые информационные технологии в медицине и экологии. Тез. докл. Междун. научн.-технич. конф. 26 мая - 4 июня 1998 г. - Ялта-Гурзуф, 1998 г. - С. 292-294.

6. Safonova L. P., Spiridonov I. N. Blood cell properties detection using coherence optics methods//Second International Conference on optical information processing: Advanced Technical Program and Abstracts. 17-20 June 1996 - S. Pet., 1996. - P. 75-76.

7. Safonova L. P., Spiridonov I. N. Blood cell properties determination by the coherent optical methods//Proceedings of SPIE. - 1996. - Vol. 2969. - P. 648-651.

8. Safonova L. P., Spiridonov I. N. Blood analysis by coherent optical methods//Proceedings of SPIE. - 1997. - Vol. 2982. - P. 232-238.