

ФИЗИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИИ, МЕДИЦИНЫ, ЭКОЛОГИИ

УДК 615.478

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РАССЕИВАЮЩИХ СВОЙСТВ КАПЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

© 2012 г. А. С. Рафальский, А. А. Аристов, Г. С. Евтушенко, Е. В. Жогло

*Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Россия, 634050, Томск, просп. Ленина, 30*

Поступила в редакцию 28.03.2011 г.
После доработки 05.08.2011 г.

При изучении дисперсных сред оптическими методами существенную информацию о составе и свойствах образцов может дать индикатриса рассеяния. В статье описана простая и удобная экспериментальная установка, позволяющая измерять индикатрисы рассеяния (на углы от -90 до $+90^\circ$) образцов жидкостей, сформированных в форме лежащей капли, с параллельной регистрацией и оценкой геометрических параметров боковой проекции капельного образца. Приведены результаты исследования образцов крови с разным уровнем гематокрита и различными видами агрегации эритроцитов. Устройство может быть применено как в научно-исследовательской деятельности для изучения физических свойств жидких сред, так и в клинико-диагностической практике для постановки ряда существующих гематологических, иммунологических и биохимических тестов.

ВВЕДЕНИЕ

Большинство биологических жидкостей представляют собой дисперсные среды, в связи с чем для их анализа широко распространены методы, основанные на эффектах рассеяния и дифракции света, такие как нефелометрия, турбидиметрия и дифрактометрия.

В медицинской лабораторной клинической практике актуальной является задача разработки технических методов диагностики, позволяющих работать с малыми объемами исследуемого материала. Нами предложена методика, основанная на проведении оптических исследований с использованием образцов жидкости, сформированных в форме лежащей капли на прозрачной гидрофобной подложке. Проведенные нами исследования по изучению рассеивающих свойств биологических жидкостей показали, что применение для этих целей проб, сформированных в виде лежащих капель, предпочтительнее исследования проб, помещенных в плоскую кювету [1]. Для изучения рассеивающих свойств капельных образцов было создано устройство [2], которое позволяет получать индикатрисы рассеяния образцов параллельно с получением информации о геометрических параметрах капель. Так как конструкция установки обеспечивает условия, максимально уменьшающие испарение капельных образцов, возможно проведение длительных исследований, которые позволяют оценить динамику протекающих в капельной пробе биологической жидкости процессов.

КОНСТРУКЦИЯ УСТРОЙСТВА

Устройство для оценки физических свойств капельных проб биологических жидкостей состоит из нескольких функциональных блоков (рис. 1): камеры первичного преобразователя *КПП*, куда входят приемник излучения *ПИ*, испаритель, нагревательный элемент *НЭ*, термодатчик, источник излучения *ИИ* и исследуемая проба, блока терморегуляции *БТР*, источника стабильного тока *ИСТ*, блока сопряжения *БС* с персональным компьютером *ПК*, самого *ПК*, усилителя фототока *УС*, видеокамеры, блока питания *БП* и шагового двигателя *ШД*.

Основным блоком данного устройства является камера первичного преобразователя, изображенная на рис. 2. Она должна обеспечивать не только технические условия для адекватных фотометрических измерений, но и оптимальные условия для протекания исследуемых реакций в капельных образцах, а также независимость результатов исследований от параметров окружающей среды.

Камера представляет собой цельнометаллический корпус с выфрезерованным внутри рабочим объемом, который изолирован от воздействия внешней среды откидной крышкой с герметизирующей прокладкой. В рабочем объеме камеры располагается выполненная из гидрофобного прозрачного материала съемная кювета для размещения на ней в виде лежащей капли исследуемой пробы жидкости. Под кюветой находится верти-

кальный канал, по которому в рабочий объем камеры вводится пучок излучения от источника 14.

В качестве источника излучения в наших исследованиях мы использовали полупроводниковый лазерный модуль, закрепленный под камерой первичного преобразователя. В рабочем объеме камеры размещен приемник излучения 10, оптически связанный с источником 14. Приемник оптического излучения может перемещаться по дуге над поверхностью исследуемого капельного образца в вертикальной плоскости, проходящей через центр его основания, на угол от 0 до 180° (с вершины в центре основания капли) от плоскости основания капельного образца с шагом 0,9°. Для его перемещения использован шаговый двигатель 8, закрепленный на боковой стенке камеры первичного преобразователя. При этом ось вала шагового двигателя лежит в плоскости основания капельного образца и проходит через его центр, а приемник излучения закреплен на штанге, соединенной с валом так, чтобы находиться на расстоянии 1 мм от исследуемого образца.

В боковой стенке камеры первичного преобразователя имеется окно 6, закрытое стеклом 7, для наблюдения за формой исследуемого капельного образца.

В камере первичного преобразователя размещены термодатчик 13 и нагревательный элемент 12, которые соединены с блоком терморегуляции. Блок терморегуляции, управляемый сигналом с датчика температуры, поддерживает в рабочем объеме камеры первичного преобразователя заданную температуру на всем протяжении исследования с колебаниями не более $\pm 0,1^\circ\text{C}$ в диапазоне температур окружающей среды от 10 до 30°C. Нагревательный элемент проволочного типа размещен внутри задней стенки корпуса камеры и имеет мощность до 15 Вт.

Для уменьшения испарения исследуемых капельных образцов в камере поддерживается повышенный уровень влажности. Для этих целей в камере предусмотрен испаритель воды 11 из гигроскопичного материала, наклеенного на внутреннюю поверхность камеры первичного преобразователя. Нижний край этого материала через щель в задней стенке камеры опущен в горизонтальный канал с водой, соединенный с внешним сосудом для заправки.

Для получения светового потока постоянной интенсивности необходимо, чтобы ток, питающий источник излучения ИИ (рис. 1), был стабилизирован. Для этого в состав данного устройства введен источник стабильного тока ИСТ, построенный по схеме компенсационного типа.

Сигнал с приемника излучения ПИ усиливается усилителем фототока УС, построенным по типовой схеме и выполняющим функцию преобразователя тока в напряжение. Далее с выхода уси-

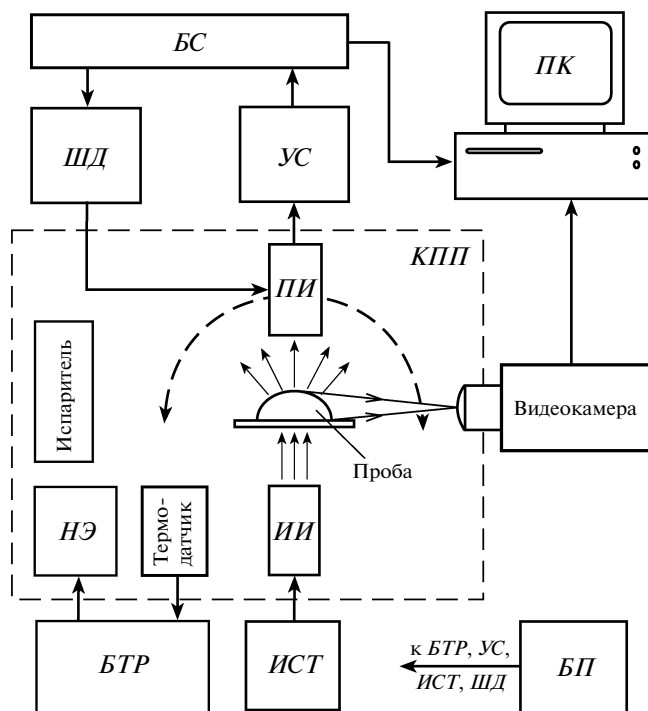


Рис. 1. Структурная схема устройства. КПП – камера первичного преобразователя; БТР – блок терморегуляции; ИСТ – источник стабильного тока; БС – блок сопряжения; УС – усилитель фототока; БП – блок питания; ШД – шаговый двигатель; ПК – персональный компьютер; ПИ – приемник излучения; НЭ – нагревательный элемент; ИИ – источник излучения.

лителя фототока сигнал поступает на блок сопряжения БС с ПК, где он оцифровывается и передается в ПК для обработки. Также через блок сопряжения по сигналу, поступающему с ПК, осуществляется управление шаговым двигателем ШД, обеспечивающим перемещение приемника излучения на заданный угол.

В качестве блока сопряжения было использовано устройство сбора данных USB-6008 производства National Instruments.

Объектив видеокамеры, расположенный на одной с лежащей каплей исследуемой пробой горизонтальной оси и сфокусированный на капле, устанавливается в окно 6 (рис. 2) камеры первичного преобразователя и позволяет получать изображение боковой проекции исследуемого капельного образца и передавать его для обработки и анализа в ПК через плату видеозахвата.

Персональный компьютер с установленным на нем оригинальным программным обеспечением позволяет автоматизировать процесс исследования, обеспечивая управление положением приемника излучения, считывание информации об интенсивности излучения, прошедшего через капельный образец, с последующим установлением

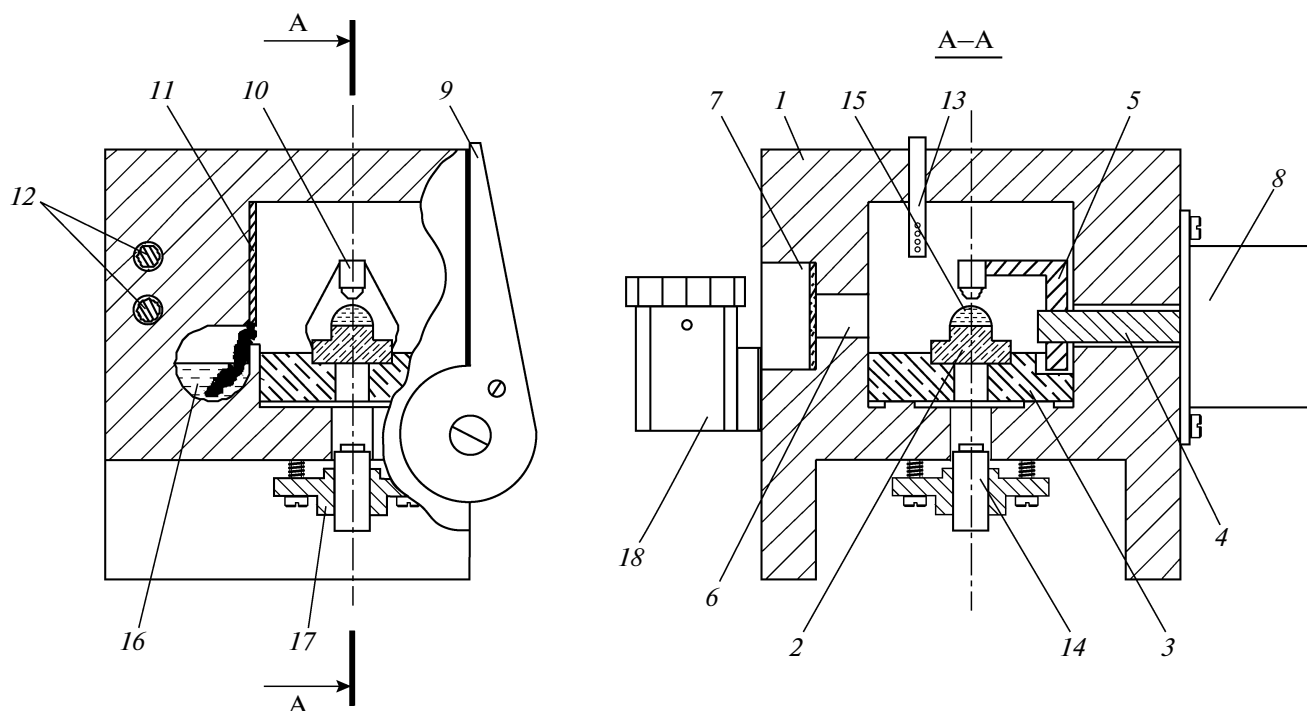


Рис. 2. Камера первичного преобразователя. 1 – корпус камеры первичного преобразователя; 2 – вкладыш кюветы; 3 – кювета; 4 – вал шагового двигателя; 5 – кронштейн приемника излучения; 6 – окно; 7 – стекло; 8 – шаговый двигатель; 9 – дверца; 10 – приемник излучения; 11 – ткань испарителя; 12 – нагревательный элемент; 13 – термодатчик; 14 – источник излучения; 15 – исследуемая проба; 16 – канал с водой; 17 – планшайба для крепления источника излучения; 18 – резервуар для заправки воды.

соответствия положения приемника излучения с интенсивностью излучения (U_n) при данном угле для построения индикатрисы рассеяния, а также проводить обработку полученного с видеокamеры изображения профиля капельного образца и измерение его геометрических параметров. Программное обеспечение реализовано в среде Lab-View 8.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ АНАЛИЗ

На устройстве нами были проведены исследования по изучению рассеивающих свойств образцов крови человека с различным уровнем гематокрита Ht (объемная процентная доля, приходящаяся на форменные элементы крови) и различными видами агрегации эритроцитов [1, 3]. В эксперименте в качестве источника излучения применялся лазерный модуль с длиной волны излучения 805 нм, мощностью 120 мВт, а в качестве приемника излучения был использован фотодиод ФД256, воспринимающий данный спектральный диапазон.

Результаты исследования изначально были получены в абсолютных величинах, что затрудняло проведение сравнительного анализа индикатрис из-за значительного изменения во время

исследования уровня сигнала и величины гематокрита. Поэтому для оценки изменения интенсивности рассеянного излучения было проведено нормирование данных для каждой индикатрисы относительно максимального значения (U_0) интенсивности в ней, наблюдаемого при детектировании прямопрошедшего излучения (угол 0°). Это позволило определить характер изменения интенсивности излучения при разных углах рассеяния и провести сравнение индикатрис, полученных при исследовании проб, имеющих различные параметры.

На рис. 3 представлены полученные нами индикатрисы для образцов крови с разным гематокритом, зарегистрированные сразу же после формирования капель (рис. 3а) и через 2 мин (рис. 3б). Для проведения исследований использовалась цельная кровь с добавлением антикоагулянта (Трилон Б). Путем разведения цельной крови аутологичной плазмой были получены образцы с гематокритом 30 и 20%. Точное значение гематокрита определялось с помощью гематологического анализатора Mindray BC2300.

До начала агрегации (начальный момент после формирования капель) значительное влияние на характер рассеяния оказывает уровень гематокрита. При высоком гематокрите вследствие наличия

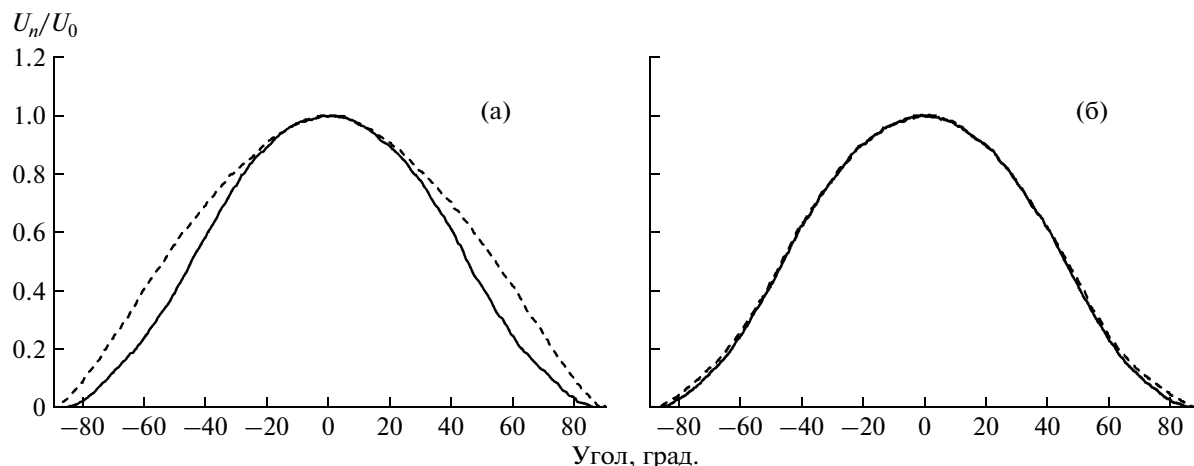


Рис. 3. Индикатрисы рассеяния оптического излучения капельными образцами крови с гематокритом $Ht = 20\%$ (сплошная линия) и $Ht = 30\%$ (штриховая) до начала агрегации (а) и после нее (б).

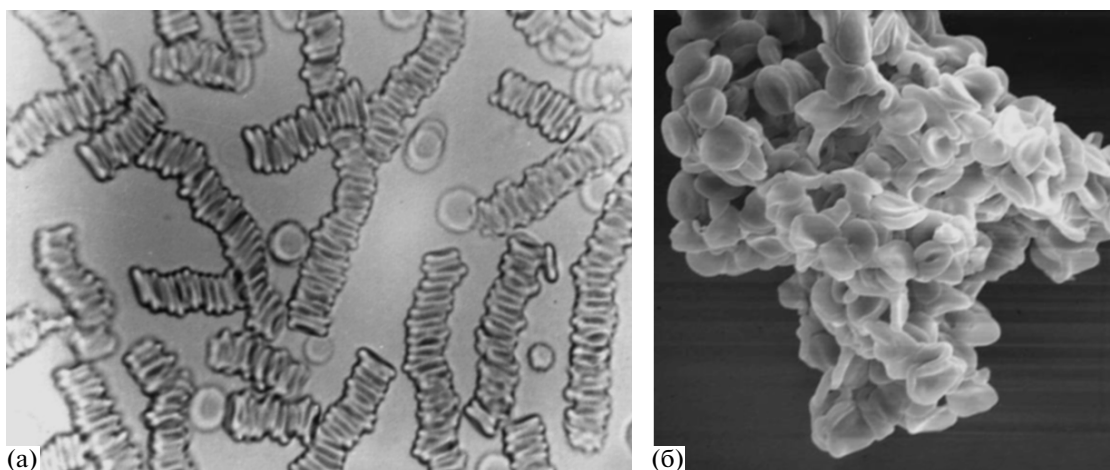


Рис. 4. Агрегаты в виде монетных столбиков, образовавшиеся при естественной спонтанной агрегации (а, данная работа), и клеточный конгломерат, образовавшийся в ходе специфической гемагглютинации (б, [4]).

большого числа отдельных клеточных элементов наблюдается значительное рассеяние излучения на большие углы ($50\text{--}60^\circ$). При последующей агрегации клеток (через 2 мин) качественные различия индикатрис сводятся к минимуму [1].

Были проведены исследования по изучению рассеивающих свойств на образцах крови, в которых протекали различные виды агрегации [1, 3] и соответственно образовывались агрегаты различной структуры. Так, в пробах крови, в которые добавлен только антикоагулянт, протекает естественная спонтанная агрегация эритроцитов. При данном виде агрегации образуются агрегаты, имеющие структуру монетных столбиков (рис. 4а). При добавлении в пробу крови гемагглютиниру-

ющей сыворотки (использовали кровь III группы и стандартную сыворотку II группы, содержащую антитела к III группе крови) происходит специфическая гемагглютинация, при которой образуются клеточные конгломераты, не имеющие четкой структуры (рис. 4б).

Как видно из представленных на рис. 5 кривых, для проб крови с одинаковым гематокритом, но разными видами агрегации, наибольшее различие в форме индикатрис наблюдается по прошествии некоторого времени. Данный факт можно объяснить тем, что образовавшиеся агрегаты имеют разные геометрические параметры, что в свою очередь сказывается на рассеивающих свойствах среды.

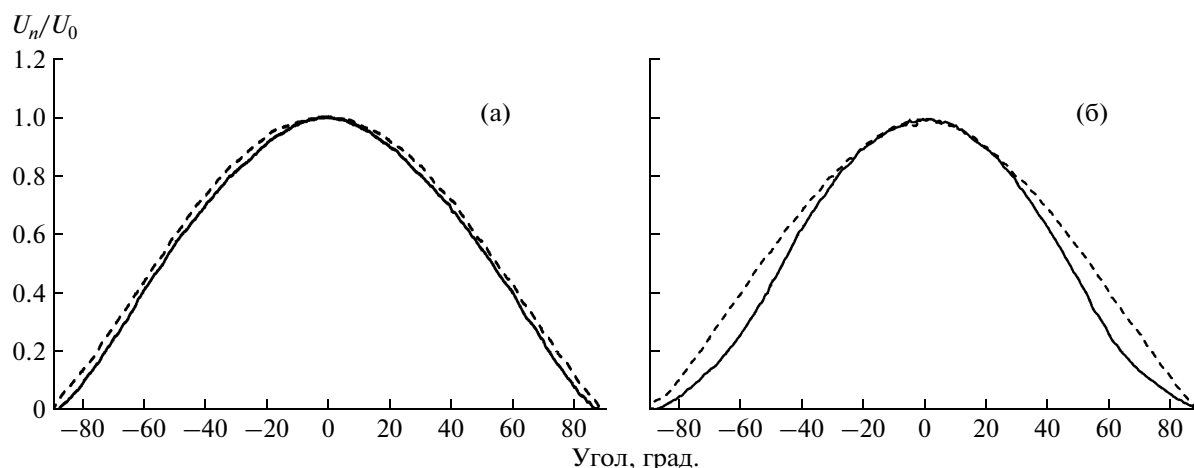


Рис. 5. Индикатрисы рассеяния оптического излучения капельными образцами крови ($Ht = 30\%$) со спонтанной агрегацией (сплошная линия) и специфичной гемагглютинацией (штриховая) до начала агрегации (а) и после нее (б).

В заключение отметим, что данное устройство удобно и просто в эксплуатации и может применяться в научно-исследовательской деятельности для изучения динамики процессов клеточной агрегации образцов биологических жидкостей, сформированных в форме лежащей капли, получать индикатрисы рассеяния и обрабатывать их. Данное устройство может быть приспособлено и для реализации существующих диагностических методик в клинической лабораторной диагностике.

Работа выполнена при поддержке федеральной целевой программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рафальский А.С., Аристов А.А., Евтушенко Г.С., Жогло Е.В. // Известия ЮФУ. Технические науки. 2010. № 8. С. 17.
2. Рафальский А.С., Аристов А.А. Патент РФ на полезную модель 98250. МПК7 G 01 № 33/00 // БИ. 2010. № 28.
3. Жогло Е.В., Аристов А.А., Евтушенко Г.С., Рафальский А.С. // Известия ЮФУ. Технические науки. 2010. № 8. С. 22–28.
4. Nishi K., Rand S., Nakagawa T. et al. // Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology. 2005. V. 6. № 2 (July–December 2005); http://www.anil-aggrawal.com/ij/vol_006_no_002/papers/paper001.html