



БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

УДК 535.4

УЛУЧШЕННЫЙ АЛГОРИТМ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ДЛЯ ЛАЗЕРНОЙ ЭКТАЦИТОМЕТРИИ ЭРИТРОЦИТОВ

С. Ю. Никитин, В. Д. Устинов, Е. Г. Цыбров, А. В. Приезжев

Никитин Сергей Юрьевич, доктор физико-математических наук, доцент кафедры общей физики и волновых процессов; научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, sergeynikitin007@yandex.ru

Устинов Владислав Дмитриевич, младший научный сотрудник кафедры математической физики; младший научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, vladustinov90@gmail.com

Цыбров Евгений Германович, студент кафедры математической физики, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, tsybrovevgeniy@yandex.ru

Приезжев Александр Васильевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры общей физики и волновых процессов; научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, avr2@mail.ru

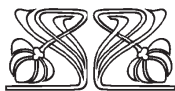
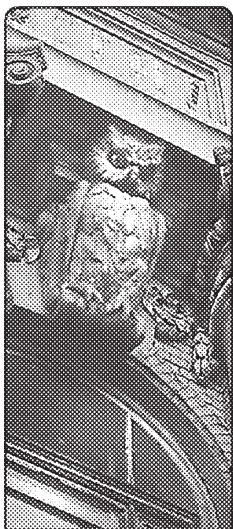
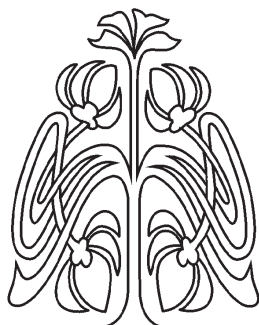
Рассматривается проблема измерения деформируемости эритроцитов методом лазерной дифрактометрии в сдвиговом потоке (эктацитометрии). Проведен углубленный теоретический анализ рассеяния лазерного пучка на неоднородном ансамбле частиц, моделирующих эритроциты в сдвиговом потоке лазерного эктацитометра. Выведены новые дифрактометрические уравнения, которые связывают характеристики ансамбля эритроцитов с параметрами наблюдаемой дифракционной картины. Представлен новый алгоритм обработки данных, позволяющий измерять среднюю деформируемость, а также ширину и асимметрию распределения эритроцитов по деформируемости в исследуемом образце крови. Работа нового алгоритма проверена методом численного моделирования на примере бимодального по деформируемости ансамбля эритроцитов. Показано, что новый алгоритм обеспечивает более высокую точность измерения по сравнению с алгоритмом, разработанным авторами ранее.

Ключевые слова: деформируемость эритроцитов, неоднородный ансамбль, сдвиговый поток, лазерная дифрактометрия, алгоритмы обработки данных.

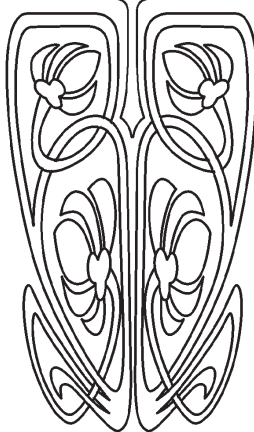
DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-3-150-157

Введение

Одной из актуальных проблем медицинской диагностики является проблема измерения деформируемости эритроцитов. Под деформируемостью понимают меру способности клеток крови изменять свою форму под действием внешних сил. Деформируемость эритроцитов является одной из основных реологических характеристик крови. Она существенно влияет на эффективную вязкость крови и способность крови проходить по тончайшим сосудам системы кровообращения – капиллярам [1]. Измерение этого параметра важно при диагностике и лечении многих заболеваний,



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





в частности, таких как серповидно-клеточная анемия [2], ишемия [3] и сахарный диабет.

Существуют несколько методов измерения деформируемости эритроцитов [4–6]. Это втягивание эритроцитов в микропипетку, механическая фильтрация, измерения с помощью лазерного пинцета, дифрактометрия эритроцитов в сдвиговом потоке (эктацитометрия). Однако пока эти методы недоступны для широкой клинической практики. Одной из главных остается проблема интерпретации экспериментальных данных. Для ее решения необходима стандартизация процедур измерений [7, 2], а также разработка более совершенных алгоритмов обработки данных. Один из таких алгоритмов, предназначенный для лазерной эктацитометрии эритроцитов, мы предлагаем в настоящей работе. С помощью этого алгоритма можно измерять среднюю деформируемость, а также ширину и асимметрию распределения эритроцитов по деформируемости в исследуемом образце крови. По сравнению с разработанным ранее, этот алгоритм должен обеспечить более высокую точность измерения указанных параметров.

Лазерная эктацитометрия эритроцитов

Для оценки деформируемости эритроцита необходимо измерить деформацию клетки под действием какой-либо известной внешней силы. В качестве такой силы можно использовать силу вязкого трения, возникающую в сдвиговом потоке жидкости. Эта идея лежит в основе метода лазерной эктацитометрии.

В ротационном эктацитометре разбавленную суспензию эритроцитов заливают в зазор между стенками двух прозрачных коаксиальных стаканов, один из которых неподвижен, а другой может вращаться с заданной угловой скоростью («ячейка Куэтта»). Вращение подвижного стакана вызывает течение жидкости и появление в ней сдвиговых напряжений, которые ориентируют эритроциты определенным образом и вытягивают их в направлении потока [8]. Суспензию просвечивают лазерным пучком и наблюдают картину рассеяния света на эритроцитах. При увеличении скорости вращения подвижного стакана эта картина вытягивается в направлении, перпендикулярном направлению потока. Степень вытягивания дифракционной картины и служит мерой деформации эритроцитов при данном сдвиговом напряжении [9].

Лазерная эктацитометрия эритроцитов была предложена Бессис и Мохандас в 1975 году

[10]. В настоящее время существуют коммерческие приборы, работающие на этом принципе: ЛОРКА (компания Mechatronics, Голландия) [11] и ЛАДЭ (фирма Реомедлаб, Россия) [12]. Достоинство данного метода состоит в том, что он позволяет быстро оценивать деформируемость большого ансамбля эритроцитов. Кроме того, в куэттовском потоке поле сдвиговых напряжений однородно. Это повышает информативность метода и упрощает интерпретацию экспериментальных данных. Недостатком ротационных эктацитометров является необходимость точной механической юстировки ячейки Куэтта, а также тщательной очистки стаканчиков после каждого измерения.

Сходный принцип действия имеет лазерный эктацитометр РЕОСКАН (Rheomeditech, Корея) [13, 14]. В приборе нет движущихся элементов, а сдвиговые напряжения возникают при протекании суспензии эритроцитов по узкому щелевому каналу («пуазейлевский поток»), однако в нем поле сдвиговых напряжений неоднородно, что уменьшает чувствительность прибора к состоянию и свойствам клеток крови. Кроме того, каждое измерение на РЕОСКАНЕ требует применения нового сменного картриджа [15].

Отметим, что в принципе возможны прямые наблюдения деформации эритроцитов в сдвиговом потоке с помощью микроскопа. Для этого необходимо создать поле сдвиговых напряжений в покоящейся суспензии эритроцитов. Это можно сделать, если поместить суспензию между двумя параллельными прозрачными дисками, вращающимися с одинаковыми скоростями в противоположные стороны. Такой метод измерения деформируемости эритроцитов был использован в работе [16] и называется методом реоскопии. Он труден в практической реализации и пока не получил дальнейшего развития. Тем не менее метод реоскопии полезен, поскольку он дает прямую информацию о форме эритроцитов в сдвиговом потоке и может служить для проверки данных, получаемых другими методами.

В настоящей работе мы предлагаем улучшенный алгоритм обработки данных для метода лазерной эктацитометрии эритроцитов, в котором информацию о клетках крови получают путем наблюдения и обработки дифракционных картин.

Теоретическая модель

Для количественной интерпретации данных лазерной эктацитометрии необходима теоретическая модель, которая связывает характе-



ристики ансамбля эритроцитов с параметрами наблюдаемой дифракционной картины. Такая модель развита и опробована в наших работах [17–21]. Мы моделируем эритроциты плоскими эллиптическими дисками. Эта модель опирается на изображения эритроцитов в сдвиговом потоке, полученные методом реоскопии [16]. Кроме того, как показали наши расчеты, в интересующей нас области экрана наблюдения картины рассеяния лазерного пучка на плоском и двояковогнутом дисках мало отличаются друг от друга [21]. Полуоси эллипсов a и b считаем случайными величинами и определяем формулами $a = a_0 \cdot (1 + \varepsilon)$, $b = b_0 \cdot (1 - \varepsilon)$. Здесь a_0 и b_0 – средние размеры полуосей, ε – случайный параметр (параметр формы эритроцита), среднее значение которого полагаем равным нулю, $\langle \varepsilon \rangle = 0$. Характеристиками ансамбля эритроцитов являются величины

$$s = a_0 / b_0, \langle \varepsilon^2 \rangle = \mu, \langle \varepsilon^3 \rangle = \nu. \quad (1)$$

Здесь угловые скобки обозначают усреднение по ансамблю частиц. Эти величины характеризуют среднюю деформируемость (s), а также ширину (μ) и асимметрию (ν) распределения эритроцитов по деформируемости. Задача теории заключается в том, чтобы связать параметры (1) с характеристиками дифракционной картины.

Для решения этой задачи мы используем понятие линии изоинтенсивности (ЛИ). Так называют линию на экране наблюдения, на которой интенсивность рассеянного света постоянна. Мы рассматриваем ЛИ, лежащую на периферии центрального максимума дифракционной картины и вводим следующие ее характеристики:

$$f_0 = \frac{1}{4\beta^2} \cdot \frac{I}{I(0)}, \quad D = y_p / x_p, \quad C_1 = \sqrt{x_p / R(x_p)}, \quad (2)$$

$$C_2 = \sqrt{y_p / R(y_p)}.$$

Здесь I – интенсивность света на данной ЛИ, $I(0)$ – интенсивность центрального максимума дифракционной картины; x_p, y_p – координаты полярных точек ЛИ; $R(x_p), R(y_p)$ – радиусы кривизны ЛИ в полярных точках, $\beta = -0.4$ – постоянная величина (параметр функции Бесселя). Указанная область (периферия) дифракционной картины традиционно используется в лазерной эктацитометрии эритроцитов. Ее достоинство состоит в высокой чувствительности формы линий изоинтенсивности к параметрам исследуемого образца крови.

На рис. 1 показаны примеры дифракционной картины, линии изоинтенсивности, а также круги кривизны ЛИ в полярных точках.

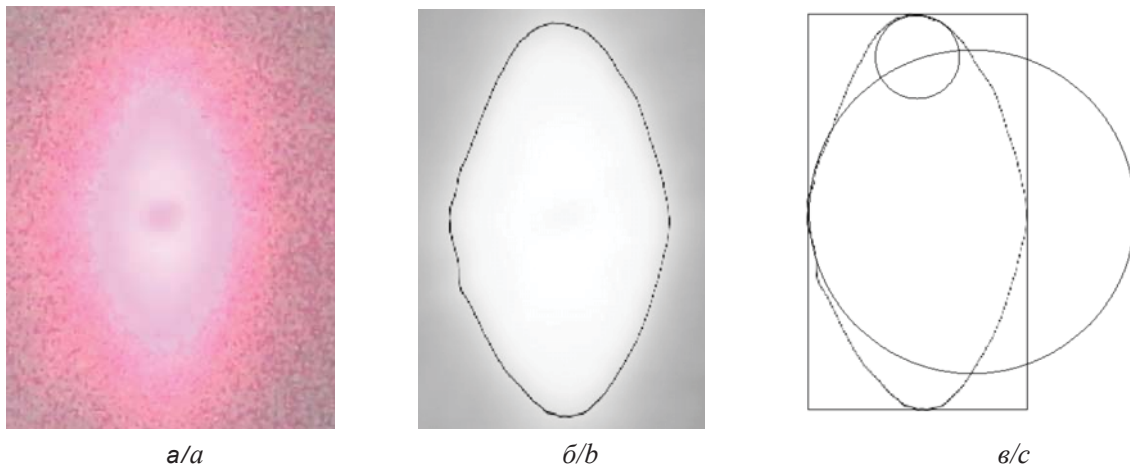


Рис. 1. Дифракционная картина (а), линия изоинтенсивности (б) и круги кривизны линии изоинтенсивности в полярных точках (в)

Fig. 1. Diffraction pattern (a), isointensity line (b) and circles of curvature of the isointensity line at polar points (c)

В работе [18] получено уравнение для формы линии изоинтенсивности. Это уравнение имеет вид
$$fr^2 = (1-r)^2 + \mu [H^2 + (r-1)(-2r+3(1-H^2))] + \nu H [-2r+3(1-H^2) - 5(r-1)(1-H^2)]. \quad (3)$$

Здесь $f = f_0 \cdot (1 - 2\mu)$ и $H = \cos 2\varphi$. Полярные координаты r и φ определяются формулами

$$x = Ar \cos \varphi, \quad y = Br \sin \varphi, \quad (4)$$



$$A = \frac{q_1 z}{ka_0}, \quad B = \frac{q_1 z}{kb_0}.$$

В этих формулах x, y – декартовы координаты точки на экране наблюдения в системе координат, начало которой расположено в центре дифракционной картины; z – расстояние от измерительного объема до экрана наблюдения, $k = 2\pi/\lambda$ – волновое число, λ – длина световой волны, $q_1 = 3.82$ – постоянная величина (параметр функции Бесселя). Уравнение (3) справедливо для слабо неоднородного ансамбля частиц, когда $\mu \ll 1$ и $|v| \ll 1$, и для ограниченной части дифракционной картины, лежащей на периферии центрального дифракционного максимума. Эта область определяется условием $I/I(0) \ll 1$.

В работе [18] мы рассмотрели приближенный вариант уравнения (3), пренебрегая в правой части этого уравнения слагаемыми, пропорциональными величине $(r-1)$. Это приближение применимо для узкой области на экране наблюдения, лежащей вблизи границы центрального дифракционного максимума. В данной работе мы проанализируем полное уравнение (3). Это позволит обобщить теорию на более широкую область дифракционной картины.

Используя соотношения [18]

$$x_p = Ar(0), \quad y_p = Br(\pi/2),$$

$$C_1 = \sqrt{x_p \left| \frac{d^2 x_p}{dy^2} \right|}, \quad C_2 = \sqrt{y_p \left| \frac{d^2 y_p}{dx^2} \right|}$$

и формулы (4), получим:

$$D/s = \frac{r(\pi/2)}{r(0)}, \quad C_1/s = \sqrt{1 - \frac{r''(0)}{r(0)}},$$

$$C_2/s = \sqrt{1 - \frac{r''(\pi/2)}{r(\pi/2)}}, \quad (5)$$

где функция $r(\varphi)$ определяется уравнением (3). Представим это уравнение в виде

$$\alpha r^2 - 2r \cdot (1+U) + 1+V = 0, \quad (6)$$

где $\alpha = (1-f_0) \cdot (1-2\mu)$ – постоянная величина, функции $U = \mu \cdot U_\mu + v \cdot U_v$ и $V = \mu \cdot V_\mu + v \cdot V_v$ линейны по малым параметрам μ и v , а тригонометрические функции U_μ, U_v, V_μ, V_v определяются формулами

$$U_\mu = \frac{1}{2}(3H^2 - 5), \quad U_v = \frac{1}{2}H \cdot (7 - 5H^2),$$

$$V_\mu = 4H^2 - 3, \quad V_v = 8H \cdot (1 - H^2), \quad H = \cos 2\varphi. \quad (7)$$

Решение уравнения (6) можно представить в виде

$$r(\varphi) = \frac{R(\varphi)}{(1 + \sqrt{f_0})(1 - 2\mu)},$$

где $R(\varphi) = 1 + \mu R_\mu + v R_v$,

$$R_\mu = \frac{1}{2\sqrt{f_0}} \left[-2U_\mu + (1 + \sqrt{f_0}) \cdot (V_\mu - 2) \right],$$

$$R_v = \frac{1}{2\sqrt{f_0}} \cdot \left[-2U_v + (1 + \sqrt{f_0}) \cdot V_v \right]. \quad (8)$$

Отсюда $r''(\varphi) = \frac{R''(\varphi)}{(1 + \sqrt{f_0})(1 - 2\mu)}$,

где $R'' = \mu R''_\mu + v R''_v$ и

$$R''_\mu = \frac{1}{2\sqrt{f_0}} \left[-2U''_\mu + (1 + \sqrt{f_0}) V''_\mu \right],$$

$$R''_v = \frac{1}{2\sqrt{f_0}} \cdot \left[-2U''_v + (1 + \sqrt{f_0}) \cdot V''_v \right]. \quad (9)$$

Используя формулы (7), получаем:

$$U''_\mu = 12(1 - 2H^2), \quad U''_v = -2H(7 + 15(2 - 3H^2)),$$

$$V''_\mu = 32(1 - 2H^2), \quad V''_v = -32H(1 + 3(2 - 3H^2)).$$

Подставив эти выражения в формулы (5), получим:

$$D/s = 1 + \mu \cdot [R_\mu(\pi/2) - R_\mu(0)] + v \cdot [R_v(\pi/2) - R_v(0)],$$

$$C_1/s = 1 - \frac{1}{2} R''(0), \quad C_2/s = 1 - \frac{1}{2} R''(\pi/2). \quad (10)$$

Соотношения (10) написаны в линейном по малым параметрам μ и v приближении. Процедура вывода дифрактометрических уравнений показывает, что приближение применимо, если неоднородность ансамбля эритроцитов по деформируемости является достаточно слабой. Математически это условие можно выразить формулой

$$\mu < \frac{1}{2} f_0, \quad (11)$$

где параметры μ и f_0 определены формулами (1), (2).

Используя формулы (10), получаем дифрактометрические уравнения:

$$D/s = 1 + v \cdot q_0, \quad C_1/s = 1 + \mu \cdot q_1 - v \cdot q_2,$$

$$C_2/s = 1 + \mu \cdot q_1 + v \cdot q_2, \quad (12)$$

где

$$q_0 = 2/\sqrt{f_0}, \quad q_1 = 8 + \frac{2}{\sqrt{f_0}}, \quad q_2 = 16 + \frac{8}{\sqrt{f_0}}. \quad (13)$$

Таким образом, поставленная задача решена. Уравнения (12), (13) связывают между собой



характеристики ансамбля эритроцитов (1) и параметры дифракционной картины (2).

Алгоритм обработки данных

Решение уравнений (12) имеет вид [18]

$$s = \frac{Q}{1 + \sqrt{1 - 2QqC_1}}, \quad \mu = \frac{1}{2q_1} \left(\frac{C_2}{s} + C_1s \right) - \frac{1}{q_1},$$

$$v = \frac{1}{2q_2} \left(\frac{C_2}{s} - C_1s \right). \quad (14)$$

где

$$q = q_0 / 2q_2, \quad Q = 2(D - qC_2). \quad (15)$$

Формулы (13)–(15) дают явное выражение искомых характеристик ансамбля эритроцитов (1) через экспериментально измеряемые параметры дифракционной картины (2). Они математически выражают улучшенный алгоритм обработки данных для лазерной эктацитометрии эритроцитов.

Для проверки работы нового алгоритма мы провели численное моделирование рассеяния лазерного пучка на бимодальном ансамбле эритроцитов. Ансамбль представляет собой смесь недеформируемых и деформируемых эритроцитов, находящихся под определенным сдвиговым напряжением. Форма клеток первой компоненты ансамбля характеризуется числом s_1 , второй компоненты – числом s_2 , а доля клеток первого типа – числом p . На основе этих данных вычисляются характеристики ансамбля s, μ, v по формулам [18]

$$s = M + \sqrt{M^2 + s_1s_2}, \quad \mu = p\varepsilon_1^2 + (1-p)\varepsilon_2^2,$$

$$v = p\varepsilon_1^3 + (1-p)\varepsilon_2^3, \quad (16)$$

где

$$M = (s_2 - s_1) \cdot (p - 1/2), \quad s = M + \sqrt{M^2 + s_1s_2},$$

$$\varepsilon_1 = \frac{s_1 - s}{s_1 + s}, \quad \varepsilon_2 = \frac{s_2 - s}{s_2 + s}. \quad (17)$$

Затем строится дифракционная картина по методике, описанной в работе [20], выбирается линия изоинтенсивности, соответствующая определенному числу f_0 , и определяются параметры этой линии D, C_1, C_2 . После этого числа s, μ, v вычисляются по формулам (13)–(15). Сравнивая результаты, полученные этими двумя способами, можно оценить точность работы алгоритма.

Приведем пример. Для условий

$$s_1 = 1, \quad s_2 = 2.84, \quad p = 0.2, \quad f_0 = 0.077 \quad (18)$$

мы получили

$$D = 2.23, \quad C_1 = 0.92, \quad C_2 = 2.86. \quad (19)$$

Отсюда по формулам (13)–(15) нашли

$$s = 2.44, \quad \mu = 0.047, \quad v = -0.012. \quad (20)$$

Для этих же условий по формулам (16), (17) получили

$$s = 2.35, \quad \mu = 0.040, \quad v = -0.012. \quad (21)$$

Сравнение результатов (20) и (21) показывает, что алгоритм обработки данных (13)–(15) обеспечивает достаточно высокую точность измерений.

Обсуждение результатов

Оценивая качество нового алгоритма, целесообразно сравнить получаемые с его помощью результаты с данными алгоритма, предложенного в работах [17, 18]. Работа этого алгоритма описывается теми же формулами (14), (15), однако вместо (13) используется другой набор чисел, а именно

$$q_0 = 2/\sqrt{f_0}, \quad q_1 = \frac{2}{(1 - \sqrt{f_0})\sqrt{f_0}},$$

$$q_2 = \frac{2(4 - \sqrt{f_0})}{(1 - \sqrt{f_0})\sqrt{f_0}}. \quad (22)$$

Сопоставление данных проведем на примере того же бимодального ансамбля, который описывается формулами (18). Подстановка чисел (18) в (22), (14), (15) приводит к следующему результату:

$$s = 2.51, \quad \mu = 0.073, \quad v = -0.016. \quad (23)$$

Сравнивая данные (20), (21) и (23), видим, что новый алгоритм обеспечивает более высокую точность измерений по сравнению с алгоритмом, предложенным в работах [17, 18].

Еще один пример показан на рис. 2. Здесь изображены зависимости параметра μ , характеризующего разброс эритроцитов по деформируемости, от относительной интенсивности света на линии изоинтенсивности. Эти зависимости построены путем анализа дифракционных картин для модельного (бимодального) ансамбля эритроцитов, характеризуемого параметрами

$$s_1 = 1, \quad s_2 = 2.5, \quad p = 0.2. \quad (24)$$

Сплошная линия на рис. 2 построена с использованием формул (22). Линия, показанная пунктиром, – с использованием формул (13). Горизонтальная прямая показывает значение параметра μ , вычисленное по формулам (16), (17), (24).

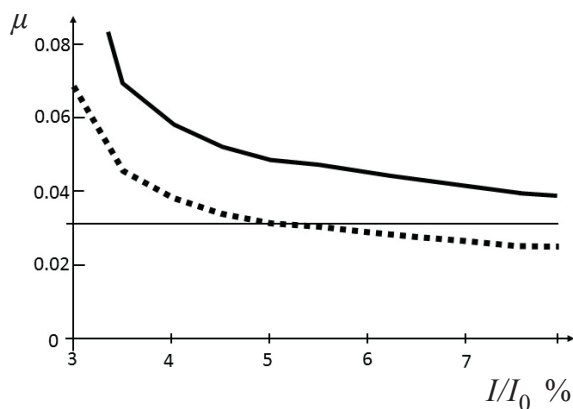


Рис. 2. Параметр μ , характеризующий разброс эритроцитов по деформируемости, как функция относительной интенсивности рассеянного света на линии изоинтенсивности. Кривые получены путем анализа дифракционной картины, построенной для модельного (бимодального) ансамбля эритроцитов. Сплошная линия построена с использованием формул (22). Линия, показанная пунктиром, – с использованием формул (13). Горизонтальная прямая показывает значение параметра μ , вычисленное по формулам (16), (17), (24)

Fig. 2. Parameter μ characterizing the spread of erythrocytes in deformability, as a function of the relative intensity of scattered light at the iso-intensity line. The curves were obtained by analyzing the diffraction pattern constructed for the model (bimodal) ensemble of erythrocytes. The solid line is calculated using formulas (22). The dotted line is calculated using formulas (13). The horizontal line shows the value of the parameter μ , calculated from formulas (16), (17), (24)

Этот рисунок демонстрирует преимущество нового алгоритма обработки данных для линий изоинтенсивности, лежащих в широкой области дифракционной картины. Увеличение ошибки измерений в области малых интенсивностей рассеянного света мы связываем с нарушением условия (11).

Заключение

В настоящей работе рассматривается проблема измерения деформируемости эритроцитов методом лазерной дифрактометрии в сдвиговом потоке (эктацитометрии). Проведен углубленный теоретический анализ рассеяния лазерного пучка на неоднородном ансамбле частиц, моделирующих эритроциты в сдвиговом потоке лазерного эктацитометра. Выведены новые дифрактометрические уравнения, которые связывают характеристики ансамбля эритроцитов с параметрами наблюдаемой дифракционной картины. Представлен новый алгоритм обработки данных, позволяющий измерять среднюю деформируемость, а также ширину и асиммет-

рию распределения эритроцитов по деформируемости в исследуемом образце крови. Работа нового алгоритма проверена методом численного моделирования на примере бимодального по деформируемости ансамбля эритроцитов. Показано, что новый алгоритм обеспечивает более высокую точность измерения по сравнению с алгоритмом, разработанным нами ранее.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Луговцову Андрею Егоровичу за помощь в проведении тестовых экспериментов и обсуждение результатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-02-00249).

Список литературы

1. Mokken F. C., Kedaria M., Henny C. P., Hardeman M. R., Gelb A. W. The clinical importance of erythrocyte deformability, a hemorheological parameter // *Annals of Hematology*. 1992. Vol. 64, № 3. P. 113–122.
2. Renoux C., Parrow N., Faes C., Joly P., Hardeman M., Tisdale J., Levine M., Garnier N., Bertrand Y., Kebaili K., Cuzzubbo D., Cannas G., Martin C., Connes P. Importance of methodological standardization for the ektacytometric measures of red blood cell deformability in sickle cell anemia // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2016. Vol. 62. P. 173–179. DOI: 10.3233/CH-151979.
3. Ажермачева М. Н., Плотников Д. М., Алиев О. И., Алифирова В. М., Плотников М. Б., Буркова К. И. Реологические свойства крови в острейший период ишемического инсульта и их взаимосвязь со степенью тяжести неврологических нарушений // *Бюл. сибирской медицины*. 2013. Т. 12, № 5. С. 5–12.
4. Musielak M. Red blood cell-deformability measurement : Review of techniques // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2009. Vol. 42. P. 47–64. DOI: 10.3233/CH-2009-1187.
5. Kim Yo., Kim K., Park Y. Measurement Techniques for Red Blood Cell Deformability : Recent Advances. Chapter 10 // *Blood Cell – An Overview of Studies in Hematology* / ed. E. Terry Moschandreu. 2012. P. 167–194. DOI: 10.5772/50698.
6. Kim J., Lee H., Shin S. Advances in the measurement of red blood cell deformability : A brief review // *J. of Cell Biol.* 2015. Vol. 1. P. 63–79. DOI: 10.3233/JCB-15007.
7. Baskurt O. K., Boynard M., Cokelet G. C., Connes Ph., Cooke B. M., Forconi S., Liao F., Hardeman M. R., Jung F., Meiselman H. J., Nash G., Nemeth N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. New guidelines for hemorheological laboratory techniques // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2009. Vol. 42. P. 75–97.
8. Фирсов Н. Н., Приезжев А. В., Климова Н. В., Тюрина А. Ю. Основные закономерности деформацион-



- ного поведения эритроцитов в сдвиговом потоке // Инженерно-физический журн. 2006. Т. 79, № 1. С. 114–120.
9. *Vialiat A., Abkarian M.* Red blood cell : from its mechanics to its motion in shear flow // International Journal of Laboratory Hematology. 2014. Vol. 36. P. 237–243.
 10. *Bessis M., Mohandas N.* A diffractometric method for the measurement of cellular deformability // Blood Cells. 1975. Vol. 1. P. 307–313.
 11. *Hardeman M. R., Goedhart P. T., Dobbe J. G. G., Lettinga K. P.* Laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA). A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters // Clinical Hemorheology and Microcirculation. 1994. Vol. 14. P. 605–618.
 12. *Фирсов Н. Н., Джанашия П. Х.* Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию. М. : Изд-во ГОУ ВПО «РГМУ», 2004. 280 с.
 13. *Shin S., Ku Yu., Park M., Jang J., Suh J.* Rapid cell-deformability sensing system based on slit-flow laser diffractometry with decreasing pressure differential // Biosensors and Bioelectronics. 2005. Vol. 20. P. 1291–1297.
 14. RHEOSCAN. URL: <http://www.rheoscan.com/main/main.html> (дата обращения: 15.01.2017).
 15. *Baskurt O. K., Hardeman M. R., Uyklu M., Ulker P., Cengiz M., Nemeth N., Shin S., Alexy T., Meiselman H. J.* Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries // Biorheology. 2009. Vol. 46. P. 251–264. DOI: 10.3233/BIR-2009-0536.
 16. *Dobbe J. G. G., Hardeman M. R., Streekstra G. J., Starckee J., Ince C., Grimbergen C. A.* Analyzing red blood cell-deformability distributions // Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2002. Vol. 28. P. 373.
 17. *Никитин С. Ю., Приезжев А. В., Луговцов А. Е., Устинов В. Д.* Измерение асимметрии распределения эритроцитов по деформируемости методом лазерной эктацитометрии // Квантовая электроника. 2014. Т. 44, № 8. С. 774–778.
 18. *Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D., Razgulin A. V.* Laser ektacytometry and evaluation of statistical characteristics of inhomogeneous ensembles of red blood cells // JQSRT. 2014. Vol. 146. P. 365–375.
 19. *Nikitin S. Yu., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D., Lin M. D., Priezzhev A. V.* Study of laser beam scattering by inhomogeneous ensemble of red blood cells in a shear flow // JIOHS. 2015. Vol. 8. P. 1550031. DOI: 10.1142/S1793545815500315
 20. *Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Yurchuk Yu. S., Lugovtsov A. E., Lin M. D., Priezzhev A. V.* New diffractometric equations and data processing algorithm for laser ektacytometry of red blood cells // JQSRT. 2016. Vol. 178. P. 315–324.
 21. *Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E.* Analysis of laser beam scattering by an ensemble of particles modeling red blood cells in ektacytometer // JQSRT. 2013. Vol. 121. P. 1–8.

Образец для цитирования:

Никитин С. Ю., Устинов В. Д., Цыбров Е. Г., Приезжев А. В. Улучшенный алгоритм обработки данных для лазерной эктацитометрии эритроцитов // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 150–157. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-3-150-157.

Improved Data Processing Algorithm for Laser Ektacytometry of Red Blood Cells

**S. Yu. Nikitin, V. D. Ustinov,
E. G. Tsybrov, A. V. Priezzhev**

Sergey Yu. Nikitin, ORCID 0000-0002-2396-5724, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, sergeynikitin007@yandex.ru

Vladislav D. Ustinov, ORCID 0000-0001-5169-4848, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, vladustinov90@gmail.com

Evgeny G. Tsybrov, ORCID 0000-0003-4593-4838, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, tsybrovevgeniy@yandex.ru

Alexander V. Priezzhev, ORCID 0000-0003-4216-7653, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, avp2@mail.ru

Background and Objectives: Red blood cells deliver oxygen to organs and tissues. In case of tropical malaria, blood anemia, diabetes mellitus and many other diseases, the cells become corrupted. These pathologies lead in altering deformability of the cells, i.e ability to change their shape under external forces. Precise measurement of cell's deformability gives important medical information which helps

to cure and monitor the most wide spread diseases more effectively. Thus, to improve the accuracy of modern techniques measuring the deformability of red blood cells is a task of great importance. The goal of this study is to enhance precision of laser diffractometry which is one of the basic tools for analyzing the deformability of red blood cells. **Materials and Methods:** The problem of measuring the deformability of red blood cells by laser diffraction in a shear flow (ektacytometry) is considered. Improved theoretical analysis of the laser beam scattering by inhomogeneous ensemble of particles mimicking red blood cells in a shear flow is performed. **Results:** New diffractometric equations establishing relations between characteristics of red blood cells and parameters of the diffraction pattern were derived. New data processing algorithm is presented for measuring the average deformability, as well as width and asymmetry of the erythrocyte deformability distribution. The numerical simulation of a bimodal ensemble of red blood cells was used for the algorithm verification. **Conclusion:** It has been shown that the new algorithm provides higher cells's deformability measurement accuracy compared to the algorithm developed earlier. **Key words:** erythrocyte deformability, inhomogeneous ensemble, shear flow, laser ektacytometry, data processing algorithm.

Acknowledgements: *The authors thank Andrey E. Lugovtsov for the help with test experiments and useful discussion of the results.*

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 17-02-00249).



References

- Mokken F. C., Kedaria M., Henny C. P., Hardeman M. R., Gelb A. W. The clinical importance of erythrocyte deformability, a hemorheological parameter. *Annals of Hematology*, 1992, vol. 64, no. 3, pp. 113–122.
- Renoux C., Parrow N., Faes C., Joly P., Hardeman M., Tisdale J., Levine M., Garnier N., Bertrand Y., Kebaili K., Cuzzubbo D., Cannas G., Martin C., Connes P. Importance of methodological standardization for the ektacytometric measures of red blood cell deformability in sickle cell anemia. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 2016, vol. 62, pp. 173–179. DOI: 10.3233/CH-151979.
- Azhermacheva M. N., Plotnikov D. M., Aliev O. I., Alifirova V. M., Plotnikov M. B., Burkova K. I. Reologicheskie svoistva krovi v ostreishii period ishemi-cheskogo insul'ta i ikh vzaimosviaz' so stepen'iu tiazhesti nevrologicheskikh narushenii [The rheological properties of blood in the most acute stage of ischemic stroke and their relation to the severity of neurological impairment]. *Biulleten' Sibirskoi Meditsiny*, 2013, vol. 12, no. 5, pp. 5–12 (in Russian).
- Musiellak M. Red blood cell-deformability measurement: Review of techniques. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 2009, vol. 42, pp. 47–64. DOI: 10.3233/CH-2009-1187.
- Kim Yo., Kim K., Park Y. Measurement Techniques for Red Blood Cell Deformability: Recent Advances. Chapter 10. In: *Blood Cell – An Overview of Studies in Hematology*. Ed. Terry E. Moschandreu. 2012, pp. 167–194. DOI: 10.5772/50698.
- Kim J., Lee H., Shin S. Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review. *Journal of Cellular Biotechnology*, 2015, vol. 1, pp. 63–79. DOI: 10.3233/JCB-15007.
- Baskurt O. K., Boynard M., Coklet G. C., Connes Ph., Cooke B. M., Forconi S., Liao F., Hardeman M. R., Jung F., Meiselman H. J., Nash G., Nemeth N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 2009, vol. 42, pp. 75–97.
- Firsov N. N., Priezzhev A. V., Klimova N. V., Tyurina A. Yu. Fundamental laws of the deformational behavior of erythrocytes in shear flow. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2006, vol. 79, no. 1, pp. 118–124.
- Vialiat A., Abkarian M. Red blood cell: from its mechanics to its motion in shear flow. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2014, vol. 36, pp. 237–243.
- Bessis M., Mohandas N. A diffractometric method for the measurement of cellular deformability. *Blood Cells*, 1975, vol. 1, pp. 307–313.
- Hardeman M. R., Goedhart P. T., Dobbe J. G. G., Lettinga K. P. Laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA). A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 1994, vol. 14, pp. 605–618.
- Firsov N. N., Dzhnanashiya P. Kh. *Vvedeniye v eksperimental'nuyu i klinicheskuyu gemoreologiyu* [Introduction to clinical experimental hemorheology]. Moscow, Izd-vo GOU VPO «RGMU» [Russian State Medical University], 2004. 280 p. (in Russian).
- Shin S., Ku Yu., Park M., Jang J., Suh J. Rapid cell-deformability sensing system based on slit-flow laser diffractometry with decreasing pressure differential. *Bio-sensors and Bioelectronics*, 2005, vol. 20, pp. 1291–1297.
- RHEOSCAN. Available at: <http://www.rheoscan.com/main/main.html> (accessed 15 January 2017).
- Baskurt O. K., Hardeman M. R., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Nemeth N., Shin S., Alexy T., Meiselman H. J. Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries. *Biorheology*, 2009, vol. 46, pp. 251–264. DOI: 10.3233/BIR-2009-0536.
- Dobbe J. G. G., Hardeman M. R., Streekstra G. J., Starckee J., Ince C., Grimbergen C. A. Analyzing red blood cell-deformability distributions. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 2002, vol. 28, p. 373.
- Nikitin S. Y., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D. Measuring skewness of red blood cell deformability distribution by laser ektacytometry. *Quantum Electronics*, 2014, vol. 44, no. 8, pp. 774–778.
- Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D., Razgulin A. V. Laser ektacytometry and evaluation of statistical characteristics of inhomogeneous ensembles of red blood cells. *JQSRT*, 2014, vol. 146, pp. 365–375.
- Nikitin S. Yu., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D., Lin M. D., Priezzhev A. V. Study of laser beam scattering by inhomogeneous ensemble of red blood cells in a shear flow. *JIOHS*, 2015, vol. 8, pp. 1550031. DOI: 10.1142/S1793545815500315.
- Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Yurchuk Yu. S., Lugovtsov A. E., Lin M. D., Priezzhev A. V. New diffractometric equations and data processing algorithm for laser ektacytometry of red blood cells. *JQSRT*, 2016, vol. 178, pp. 315–324.
- Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E. Analysis of laser beam scattering by an ensemble of particles modeling red blood cells in ektacytometer. *JQSRT*, 2013, vol. 121, pp. 1–8.

Cite this article as:

Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Tsybrov E. G., Priezzhev A. V. Improved Data Processing Algorithm for Laser Ektacytometry of Red Blood Cells. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 150–157 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-3-150-157.