

# СИСТЕМА ИССЛЕДОВАНИЙ КАПЕЛЬНЫХ ПРОБ БИОЖИДКОСТЕЙ

**Б**иологическая жидкость – информационная система, весьма чутко реагирующая на все изменения состояния организма. Разработан новый метод изучения свойств биологической жидкости как цельной структуры с тонкими функциональными связями.

В лабораторном клиническом анализе главным индикатором состояния организма является оценка изменения морфологического и молекулярного состава исследуемой среды. Но надо помнить, что в конкретных функциональных состояниях состав изучаемой среды проявляет себя не всегда. Биологический объект (в том числе биологическая жидкость) – система с очень тонкими функциональными связями. И поэтому изучение такого объекта должно проводиться с учетом всех внутрисистемных взаимодействий, структурных и фазовых превращений. Большинство диагностических методов лишь оценивают структуру и функционирование отдельных компонентов, изъятых из всей системы. Поэтому разработка методов изучения свойств биологических жидкостей как цельной функциональной структуры актуальна.

Мы полагаем, что изучение оптических свойств образца биожидкости, сформированного в виде лежащей капли, даст новую интересную информацию и создаст “почву” для развития новых систем и методов лабораторной диагностики. Капля цельной крови – система весьма чувствительная к морфологическому и химическому составу среды. Она также чувствительна к межклеточным, клеточно-молекулярным и межмолекулярным взаимодействиям, структурным и фазовым превращениям, которые происходят внутри нее.

В мировой практике известны результаты российских и зарубежных исследований высушенных капель биологической жидкости [1–6]. Но при этом не учитывается динамика внутрисистемных процессов. Оценивается лишь конечная картина узоров в слое сухого остатка после высыхания кап-

ли. Они образовались после перераспределения компонентов пробы и в процессе кристаллизации. Инструментальные методы оценки такой картины основаны на обработке фото- или видеоизображения. А это значительно усложняет техническую диагностическую систему и делает её громоздкой.

## ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка по капельным образцам внутренней энергии среды, межфазных взаимодействий, адсорбционных процессов на границах раздела фаз достаточно широко распространена в химии.

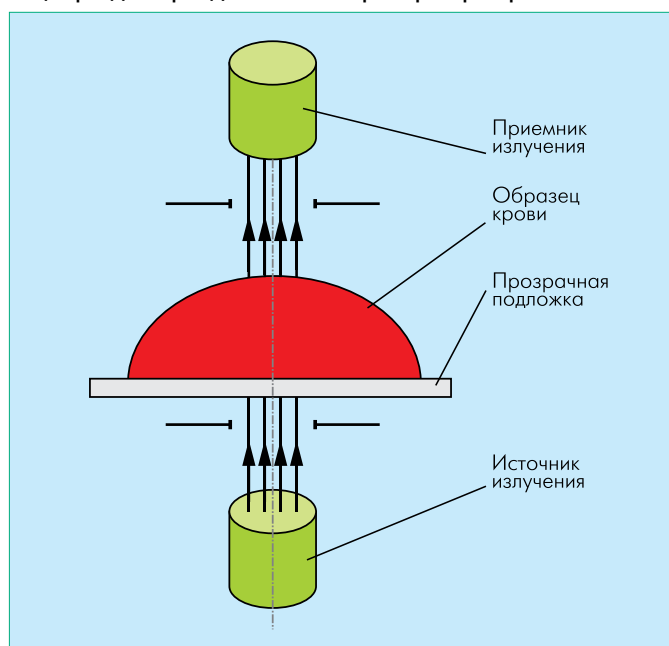


Рис.1 Схема реализации метода фотометрирования капельной пробы

При этом в экспериментальных исследованиях обычно используют прямые методы оценки краевых углов, поверхностного натяжения и т.д. Для конкретных задач медицинской диагностики это не всегда удобно, так как требует специализированной весьма дорогостоящей аппаратуры. Лучше использовать косвенные проявления процесса, подобно тому, как конечный эффект большинства биохимических реакций, иммуноферментных взаимодействий и др. проявляется в изменении оптических свойств образца после многократных его преобразований.

К исследованию поведения капель биожидкостей можно применить оптические методы анализа. Так, если взять за объект каплю крови, то ее оптические свойства будут меняться в зависимости от целого ряда причин. Выделим из них наиболее значимые:

- Процессы агрегации клеточных и молекулярных компонентов изменяют поглощающие и рассеивающие свойства среды.
- Процессы оседания клеток и агрегатов сопровождаются перераспределением компонентов по объему пробы. А следовательно, изменение оптических свойств различных частей пробы характеризует эти процессы.
- Исходный химический состав, процессы адсорбции молекул на межфазной поверхности капля–воздух приводят к изменению поверхностного натяжения, то есть меняется форма капли. Поэтому световой поток, проходящий через каплю, будет промодулирован изменением толщины просвечиваемого слоя.
- Кривизна поверхности капли зависит от поверхностного натяжения. Значит, она так же изменится вслед за изменением натяжения. Это скажется на рассеивающих свойствах капельного образца (индикатрисе рассеяния).
- Надосадоочный прозрачный слой жидкой фазы в капле после окончания процесса оседания клеток выполняет роль фокусирующей линзы. И опять влияет на световой поток, идущий через каплю.

Учитывая связь между составом образца, происходящими в нем процессами и изменением свойств излучения, прошедшего через него, можно создать модель оптического поведения капельной системы. И положить ее в основу методики проведения диагностики. Анализ зарубежных и отечественных работ по изучению капельного образца биологической жидкости как оптической системы показал отсутствие таких исследований. Поэтому данное направление исследований мы находим весьма привлекательным как в области фундаментальных, так и прикладных задач. Мы предложили и апробировали способ оценки динамики процесса оседания эритроцитов [7, 8, 9] на основе метода фотометрирования образца крови в форме лежащей капли, и разработали устройство для его реализации [10].

Во время исследования образец крови в виде лежащей капли помещают на прозрачной гидрофобной кювете между источником и приемником оптического излучения (рис.1). Они расположены на одной оптической оси. Источник оптического излучения располагается под каплей, а приемник оптического излучения – над ней. Интенсивность светового потока, попадающего на фотоприемник, определяется оптическими свойствами просвечиваемого образца и меняется с течением времени в зависимости от процессов, протекающих в капельной пробе.

В капле-пробе цельной крови с антикоагулянтом, так же как и в стеклянном капилляре, происходят процессы агрегации эритроцитов и оседания их под действием силы тяжести. Процесс образования клеточных агрегатов ведет к увеличению прозрачности образца. В основу предложенного способа легли специфичные процессы, влияющие на его оптические свойства и проявляющиеся при оседании клеток именно в капельной пробе (рис.2). Несмотря на то, что поверхность капли на границе раздела кровь–воздух имеет форму, близкую к сферической, верхняя граница оседающего слоя клеток в капле – практически плоская, иногда наблюдается небольшой мениск. Следовательно, происходит перераспределение клеток, оседающих в центральной осевой области капли, ко всему объему оседающего слоя (рис.2 б). Это приводит к уменьшению числа клеток в осевой области и, соответственно, увеличению прозрачности этой области капли. Образование прозрачного слоя плазмы

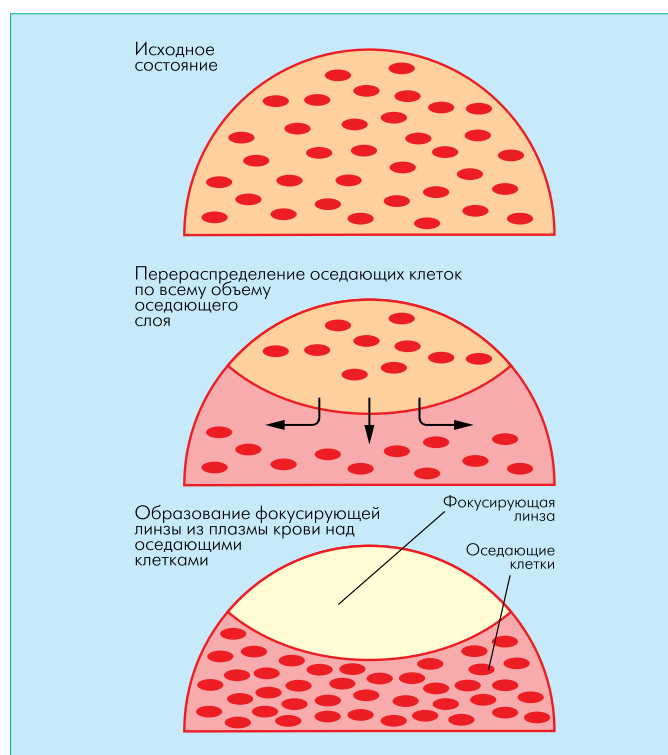


Рис.2 Модель процессов, происходящих в капельной пробе при оседании в ней эритроцитов

в виде линзы над оседающим слоем клеток (фиг.2 в) ведет к изменению рассеивающих свойств капли – “фокусировке” светового потока. Пройдя каплю, он попадает на фотоприемник. В ходе этих основных процессов интенсивность прошедшего светового потока в параксиальной области меняется с течением времени, что отражает процесс оседания клеток в капельном образце.

При оседании клеток в плоской кювете (рис.3) таких явлений не наблюдается. Экспериментальные кривые светопропускания, снятые для капельного образца и плоской кюветы, имеющих равную толщину  $h$  просвечиваемого слоя клеток, представлены на рис. 4. Сравнивая их, видим, что возрастание напряжения для капельной пробы идет значительно быстрее, чем в

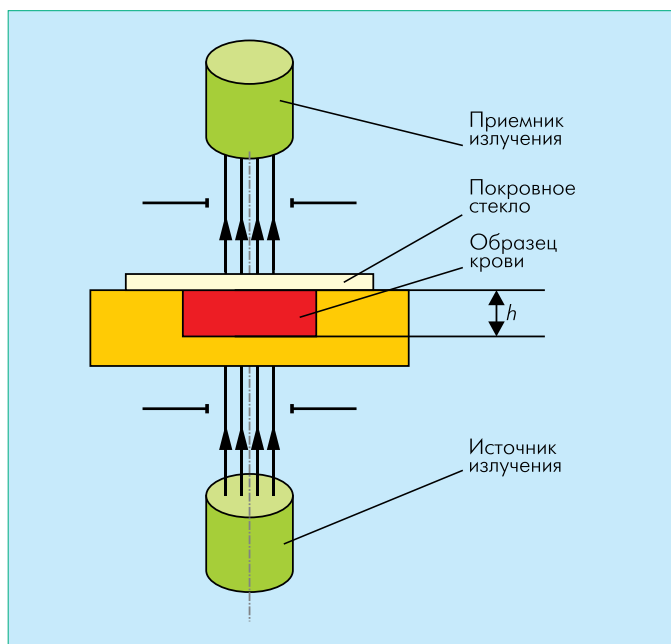


Рис.3 Схема проведения исследований в плоской кювете

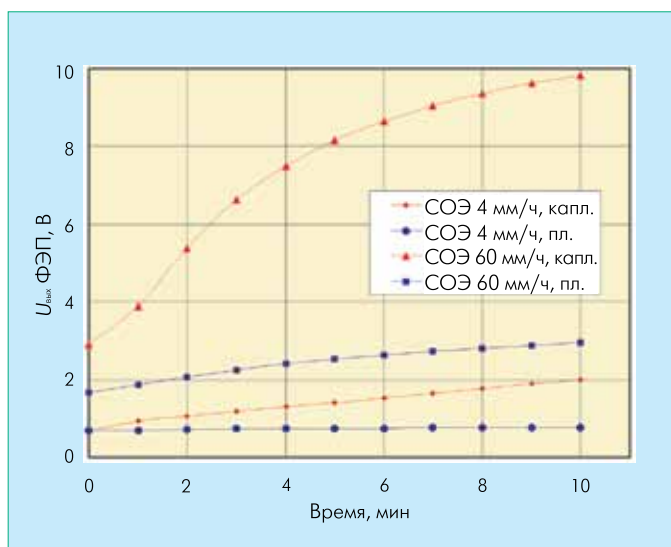


Рис.4 Экспериментальная зависимость светопропускания (выходного напряжения ФЭП) от времени в процессе оседания эритроцитов в капельной пробе (капл.) и в плоской кювете (пл.) для разных значений СОЭ образца

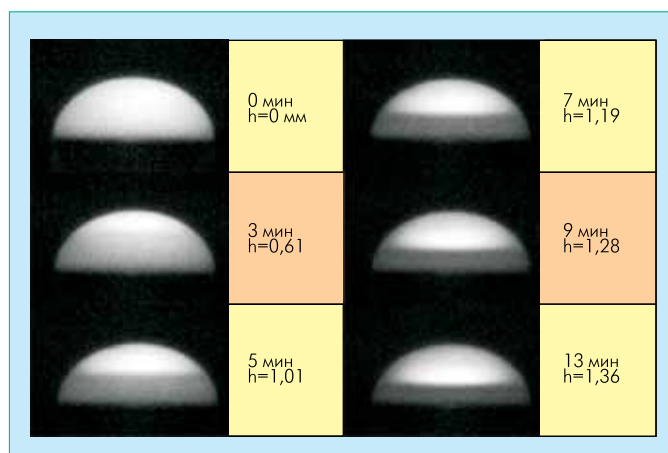


Рис.5 Оседание клеток в капле крови ( $h$  – высота плазмы над оседающим слоем клеток). Начальная высота капли 1,95 мм

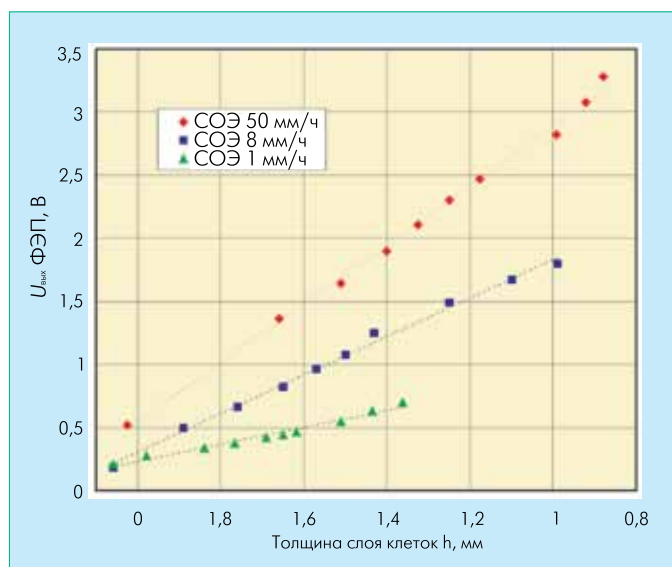
схеме с плоской кюветой при одинаковых значениях скорости оседания эритроцитов (СОЭ) для испытуемых образцов.

В ходе эксперимента сравнивали изменения величины светового потока, прошедшего через капельную пробу, с толщиной осевшего слоя клеток. Измерения проводили по снимкам боковой проекции капельной пробы (рис. 5). На рисунке 6 дана зависимость величины выходного напряжения фотоэлектронного преобразователя (ФЭП) от толщины осевшего слоя клеток, у нее линейный характер. Следовательно, поведение кривой светопропускания капельным образцом достаточно адекватно отражает процесс оседания клеток в пробе и может быть использован для анализа процесса оседания.

## ФОТОМЕТРИРОВАНИЕ КАПЕЛЬНЫХ ПРОБ

При исследовании скорости оседания эритроцитов мы оценивали только свет, прошедший на ФЭП прямо, через капельный образец. Оценка излучения, рассеянного капельным образом, дает информацию о более “тонких” процессах, происходящих в среде. Для выполнения исследований мы разработали экспериментальный исследовательский комплекс, который позволил достаточно полно исследовать и анализировать характеристики капельных проб жидких сред (рис.7). Он включает в себя систему видеоконтроля и анализа формы капельного образца, а также устройство контроля оптических свойств капли, в частности систему регистрации индикатрисы рассеяния оптического излучения. Причем, все процессы регистрации показателей и обработки данных автоматизированы и проводятся в условиях реального времени.

При выполнении исследования необходимо свести к минимуму воздействие на пробу внешних факторов, чтобы исключить их влияние на результат исследования. Для этого мы сконструировали камеру первичного преобразователя. В ней поддерживается постоянная температура ( $37^{\circ}\text{C}$ ) и высокий уровень влажности. Размещение капельных проб в камере-термостате с повышенной влажностью снижает их испарение. Это способствует повышению стабильности и точнос-

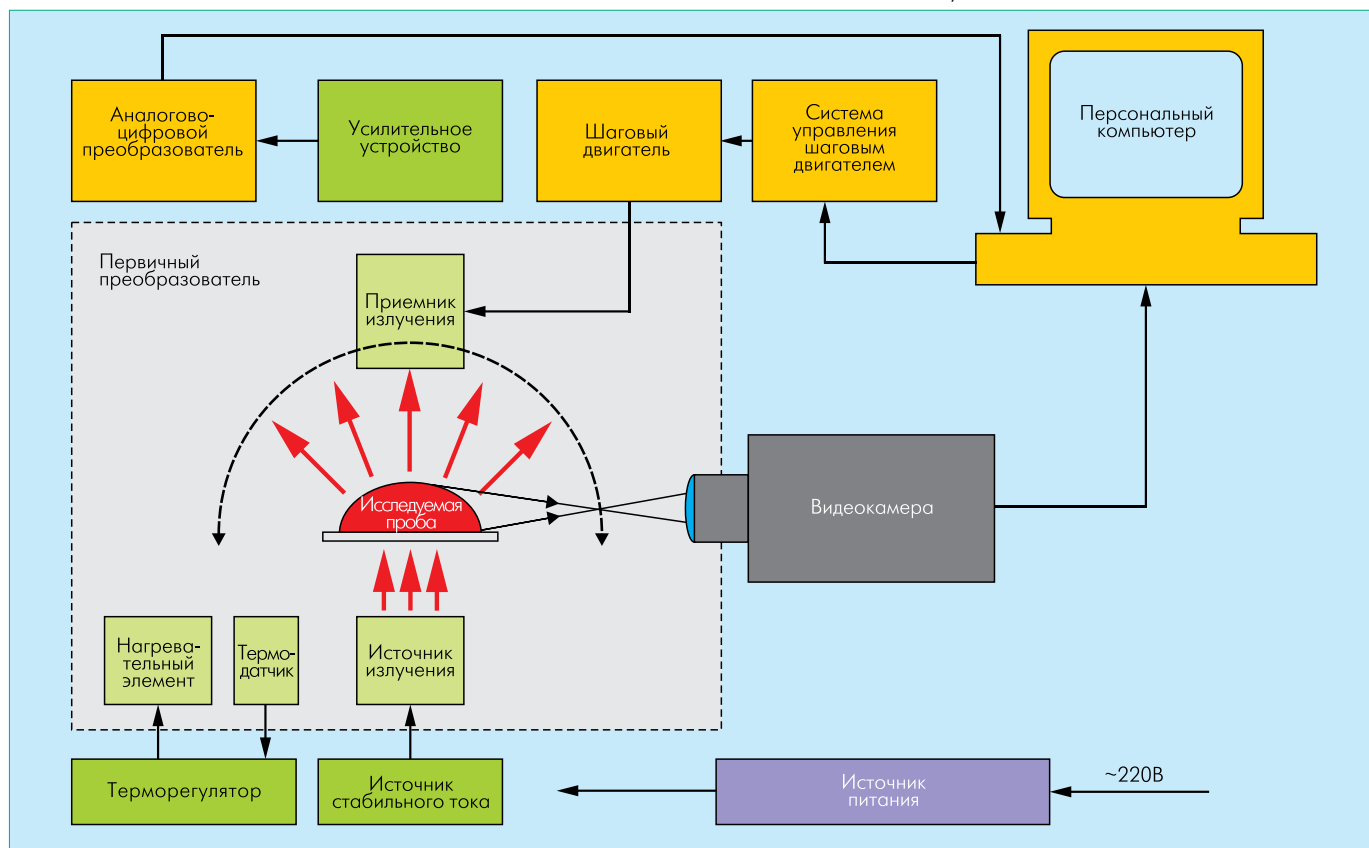


**Рис. 6** Экспериментальная зависимость светопропускания (выходного напряжения ФЭП) от толщины слоя плазмы  $h$  при разной величине СОЭ (время регистрации 30 мин)

ти показателей, получаемых при исследовании. Кроме того, уменьшение испарения проб позволяет увеличить время наблюдения. Тогда мы имеем возможность оценивать динамику происходящих в пробах процессов. Системы лабораторной диагностики на основе проведения анализов в капельных образцах можно эффективно использовать в медицинских диагностических тестах (биохимических, иммунологических и др.), в химии и биотехнологиях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Яхно Т.А. и др. Белок и соль: пространственно-временные события в высыхающей капле. – Журнал технической физики, 2004, т. 74, вып. 8.
2. Deegan R.D. Pattern formation in drying drops. – Physical Review E., 2000, vol. 61, № 1.
3. Deegan R.D. et al. Contact line deposits in an evaporating drop. – Physical Review E., 2000, vol. 62, № 1.
4. Рапис Е. Самоорганизация и супермолекулярная химия пленки белка от нано- до макромасштаба. – Журнал технической физики, 2004, т. 74, вып. 4.
5. Рапис Е. О характере процесса релаксации энергии возникающего при высыхании коллоидного раствора белка в открытой и закрытой системах. – Журнал технической физики, 2005, т. 75, вып. 9.
6. Тарасевич Ю.Ю., Православнова Д.М. Качественный анализ закономерностей высыхания капли многокомпонентного раствора на твердой подложке. – Журнал технической физики, 2007, т. 77, вып. 2.
7. Аристов А.А., Пеккер Я.С., Евтушенко Г.С. Применение метода фотометрирования капельной пробы крови для оценки процесса оседания эритроцитов. – Известия ТПУ, 2006, №3.
8. Aristov A.A. Evtushenko G.S., Ermolovich D.G. Micromethod of an estimate of erythrocyte sedimentation rate. – Proc. SPIE, 2008, vol.7006.
9. Аристов А.А. Способ определения динамики оседания клеток крови. Положительное решение о выдаче патента РФ № 2008108145/15 от 03.03.2008.
10. Аристов А.А. Устройство для оценки физических свойств биологических жидкостей. Патент на ПМ РФ №47526. Бюл. № 24, 2005.



**Рис. 7** Структурная схема системы для исследования капельных проб биожидкости