

УДК 535.338

Ю. Ф.Зиньковский, д. т. н., проф.; С. М. Злепко, д. т. н., проф.; В. М. Головня
УСТАНОВЛЕНИЕ НОРМАТИВНЫХ ЗНАЧЕНИЙ НА КОСВЕННЫЙ
ПОКАЗАТЕЛЬ ОТОБРАЖЕНИЯ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Рассмотрено определения наличия патологии организма человека по уровню отклонения среднестатистической формы эритроцита больного человека относительно аналогичного здорового человека. Проведены статистические расчеты экспериментальных данных и подтверждена возможность условного разделения доверительных интервалов эритроцитов здоровых и больных людей и на их основе проведения диагностики организма.

Ключевые слова: проба крови, сканирование, среднестатистическая форма эритроцита, лазерный луч.

Введение

На сегодняшний день исследования форменных элементов крови [4] позволяют говорить о новых направлениях и тенденциях в медицине, а именно о возможности диагностики некоторых болезней по уровню отклонения среднестатистической формы эритроцита больного человека относительно аналогичной формы эритроцита здорового человека.

Существующая проблема

Благодаря исследованиям, проведенным американскими учеными в 90-х годах XX столетия, было установлено, что статистически по форме эритроцитов можно выявить некоторые заболевания, а именно: тропическую малярию, лейкоз, анемию. Также в судебной медицине форма эритроцитов позволяет определить редчайшие виды ядов, что не подвергаются типичным видам анализа.

Ученые Соединенных Штатов Америки и Израиля на международном симпозиуме в Колумбийском университете в 2008 году выдвинули идею создания сертифицированного перечня самых перспективных современных технологий диагностики, среди которых рассматривалась методика быстрой системы экспресс-диагностики по пробе крови пациента. Например, сегодня перспективным является оптический мониторинг нейронной активности на основе показателей оптических свойств крови, который применяется в исследованиях сомато-сенсорных и слуховых структур (Godde, Hess), а также для анализа анаболических кортикоидных структур (Pabva, Weliky).

Поэтому на сегодняшний день является актуальным создание системы экспресс-анализа проб крови.

В мире данный вид анализа тесно связан с использованием вероятностного подхода, который в свою очередь позволяет получить лишь качественное суждение о наличии той или другой болезни. Это, например, системы анализа, которая базируются на исследовании картины рассеяния лазерного луча от пробы крови.

Вероятностного подхода возможно избежать лишь в случае анализа каждой отдельной частицы в группе, поскольку до этого анализировали целую группу (например, рассеяние группой эритроцитов луча лазера). Поэтому, по нашему мнению, система экспресс-анализа крови должна базироваться на исследовании каждого информативного элемента (эритроцита). Это возможно благодаря использованию принципа сканирования пробы крови лучом лазера, причем рассеяние от каждого форменного элемента достаточно может повлиять на смену уровня интенсивности отраженного излучения. Проанализировав зависимость изменения интенсивности во времени, в процессе сканирования, можно с большей точностью говорить о среднестатистической форме эритроцита в исследуемой

пробе крови. Причем, особенностью данной системы является классификация экспериментально полученного сигнала (временная зависимость интенсивности отраженного лазерного луча от пробы раствора крови при сканировании) по соответствующим учебным выборкам.

Цель исследования

Предложенную систему экспресс-анализа форменных элементов крови методом сканирования суспензии, с определенной концентрацией эритроцитов, сделать пригодной для практического использования в медицинских лабораториях для диагностики анемии, лейкоза, тропической малярии.

При этом необходимо обеспечить, чтобы величина изменения уровня интенсивности отраженного луча лазера от пробы (ΔI_{max}) позволяет охарактеризовать среднестатистические параметры формы эритроцита с высокой точностью (погрешность не должна превышать 20%), определить влияние на точность диагностирования данным методом концентрации эритроцитов в растворе крови.

Проверить концентрацию эритроцитов в растворе крови путем использования в качестве основы для экспериментального стенда решетки Горяева или счетных камер. Через подсчет эритроцитов в ячейках выйти на начальное значение их концентрации в растворе крови и убедиться в правильности приготовления раствора крови перед экспериментом.

Материал и методы исследования

Под способностью выявления радиоэлектронными средствами составляющих биологических объектов будем понимать свойство порождать и регистрировать биообъекты вместе с демаскирующим его сигналом, который является следствием внутреннего перераспределения энергии зондирующего сигнала. Мерой, которая характеризует способность выявления эритроцитов соответствующей концентрации в растворе крови путем сканирования лазерным лучом, является максимальное изменение интенсивности луча ΔI_{max} , отраженного от исследуемого образца, которая изменяется в пределах 0,5 – 14 мВ. Для удобства изменение уровня интенсивности рассматриваем через изменение измеренного на выходе оптического преобразователя пропорционального уровня напряжения. Чем больше значение величины ΔI_{max} , тем лучше способность регистрации формы исследуемых биообъектов. Косвенным показателем отображения формы эритроцитов является среднее время Δt_{cp} , равняющееся продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера от исследуемого образца.

В качестве параметра исследования рассмотрим среднюю продолжительность импульса в экспериментально полученных графиках, которые отображают распределение эритроцитов соответствующей концентрации в растворе крови, через изменение уровня интенсивности отраженного луча лазера во время сканирования образцов проб крови здоровых людей. В табл. 1 и табл. 2 приведены результаты исследования восьми образцов проб крови от каждого из пяти участников эксперимента, которые принадлежали к группе здоровых людей и соответственно, восьми образцов проб крови от каждого из пяти участников эксперимента, которые принадлежали к группе больных людей. Причем каждая проба крови от определенного лица бралась с интервалом в одну неделю, а потом проводилось усреднение величин повторных десяти исследований образцов проб крови. Это дает нам право утверждать о статической значимости с доверительной вероятностью 95% данных исследований. Экспериментально установлено, что уровню падения интенсивности соответствует предельное значение $I_{np}=15$ мВ.

Таблица 1

Результаты исследования проб крови группы здоровых людей

Номер эксперимента		1	2	3	4	5	6	7	8
Средняя продолжительность «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для здоровой группы людей, мкс	y ₁	2,81	3,49	3,51	3,2	3,46	3,33	3,67	3,88
	y ₂	3,72	3,45	3,47	3,43	3,21	3,18	3,3	3,13
	y ₃	2,92	3,52	3,56	3,62	3,11	3,27	3,16	3,47
	y ₄	3,53	3,38	3,32	3,41	3,08	3,69	3,49	3,77
	y ₅	3,28	3,44	3,39	3,15	3,28	3,35	3,71	2,98

Проверка гипотезы относительно вида функции распределения проводилась по критериям согласования – Пирсона, Колмогорова и др. При небольшом объеме выборки проверку гипотезы относительно вида функции распределения рекомендовано проводить приближенными методами – графическим методом или по асимметрии и эксцессу.

Таблица 2

Результаты исследования проб крови группы больных людей

Номер эксперимента		1	2	3	4	5	6	7	8
Средняя продолжительность «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы больных людей, мкс	y ₁	4,21	4,35	4,59	4,83	5,07	4,85	5,08	4,37
	y ₂	4,32	4,61	5,39	4,43	4,87	4,63	5,43	5,12
	y ₃	4,63	4,45	5,14	4,89	5,51	5,58	4,91	4,51
	y ₄	4,69	5,53	5,17	4,9	4,56	4,71	4,93	5,63
	y ₅	5,24	4,75	4,96	5,28	4,8	4,99	5,33	4,99

Графический метод состоит из расположения экспериментально измеренных значений ($x_1, x_2, \dots, x_n$) определенных физических величин в возрастающем порядке, после чего, каждой из них соотносят значение средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера соответствующей вероятности P_k , рассчитанной по формуле:

$$P_k = \frac{k - 3/8}{n + 1/4}, \quad (1)$$

где k — порядковый номер экспериментального измерения физической величины x , причем $k=1, 2, \dots, n$.

По данным экспериментального исследования образцов группы крови здоровых людей и расчетами соответствующих элементов выборки значений вероятности P_k , рассчитанных за формулой (1), построена кумулятивная функция распределения средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы здоровых людей, которая представлена на рис. 1.

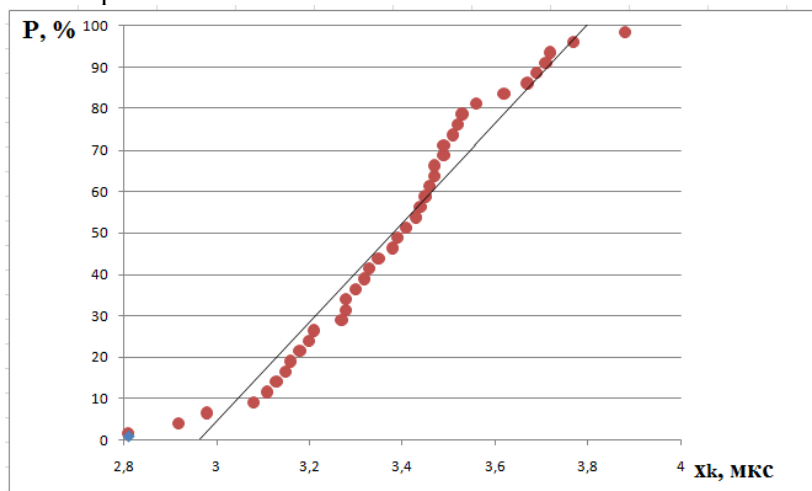


Рис. 1. Кумулятивная функция P распределения средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы здоровых людей

Аналогично для группы больных людей представим кумулятивную функцию распределения средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера (рис. 2).

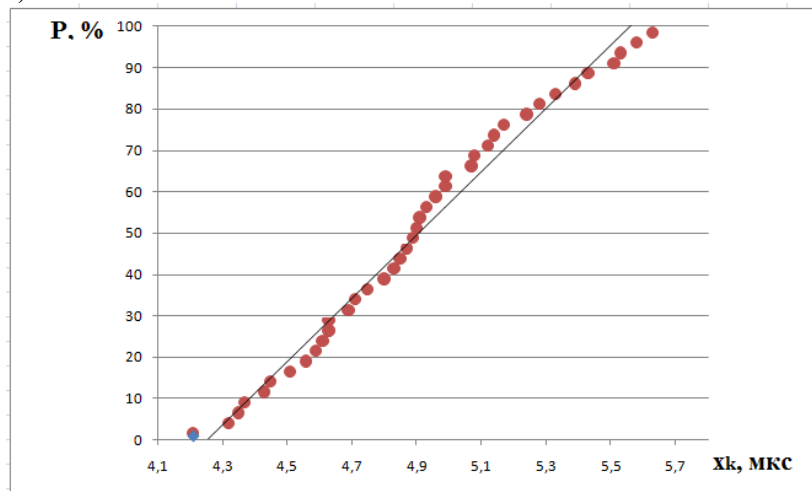


Рис. 2. Кумулятивная функция P распределения средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы больных людей

Визуальный анализ представленной кумулятивной функции для этих двух выборок дает возможность сделать вывод, что закон распределения является нормальным с высокой достоверностью.

При проверке гипотезы относительно нормальности распределения использовали также показатели асимметрии и эксцесса. Асимметрия — это показатель, который отображает степень несимметричности кривой дифференциальной функции экспериментального распределения в сравнении с дифференциальной функцией нормального распределения. Эксцесс — показатель, который отображает извлечение (подъем) кривой дифференциальной функции экспериментального распределения в сравнении с дифференциальной функцией нормального распределения [1].

Значение асимметрии (A) и эксцесса (E) рассчитывали следующим образом:

$$A \approx \frac{1}{ns^3} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^3,$$

$$E \approx \frac{1}{ns^4} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^4 - 3,$$

где $\bar{x}$ — среднее арифметическое значение выборки; s — среднеквадратичное отклонение выборки; x_i — i -тое значение измеренной физической величины в выборке.

Проверка гипотезы относительно нормальности распределения по показателям асимметрии и эксцесса проводилась в среде программы MS Excel 2007 для функции распределения средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы здоровых людей и для группы больных людей, соответственно. Проведенная проверка с доверительной вероятностью 95% дала возможность утверждать, что закон распределения является нормальным.

Согласно международному стандарту ISO 5479-97 «Статистическое представление данных. Проверка отклонения распределения вероятностей от нормального распределения» в случае, если нет априорной информации относительно типа отклонения от нормального распределения, рекомендовано использовать многосторонний критерий Шапиро-Уилка, который применяется для выборок с $8 \leq n \leq 50$. Малые выборки ($n < 8$) при выявлении отклонений от нормального распределения не подтверждают достоверно полученных

результатов.

Критерий основан на регрессионном анализе порядковых статистик по их ожидаемым значениям и является дисперсионным анализом для полной выборки. Статистикой данного критерия являются отношения квадрата суммы линейной разности выборочных упорядоченных статистик к обычной оценке дисперсии.

Поскольку критерий основан на упорядоченных наблюдениях, то первые n независимые наблюдения располагаются в порядке роста и обозначаются символами $x_1, x_2, \dots, x_n$, после чего делается вычисление так называемой промежуточной суммы S по формуле:

$$s = \sum_k a_k [x_{(n+1-k)} - x_k],$$

где k – индекс, который имеет значение от 1 до $n/2$ или от 1 до $(n-1)/2$ при парном и непарном n соответственно; a_k – коэффициент, который имеет специальные значения для объема выборки n . В этом случае статистика критерия W принимает вид:

$$W = S^2 / (nm_2),$$

где $nm_2 = \sum (x_i - \bar{x})^2$; n – объем выборки; m_2 – избирательный центральный момент второго порядка.

Если значение некоторых наблюдений одинаковые, упорядоченная серия нумеруется с повторением равных наблюдений столько раз, сколько они возникают в исходной серии.

Если $\alpha=p$, то критическая область критерия образована значениями меньшими, чем p -квантиль для $\alpha=p$. В ISO 5479-97 содержатся таблицы p -квантилей статистики критерия W для $\alpha=p=0,01$ и $\alpha=p=0,05$.

Используя данные упорядоченной серии с $n=40$ независимых значений средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы здоровых людей, рассчитываем: $\bar{X}=3,378$, $nm_2=1,155$, и определяем значение промежуточной суммы S : $S=1,47$.

Тогда получаем экспериментальное значение $W_{e1} = 1,87$. Согласно ISO 5479-97 значение p -квантиля статистики критерия $W_{гр}$ для $n=40$ и $\alpha=p=0,05$ равняется 0,940. Поскольку это значение меньше экспериментального значения W_{e1} , то нулевая гипотеза свидетельствует, что распределение в выборке является нормальным с доверительной вероятностью 99,95%.

Проводим соответствующие расчеты серии с $n=40$ независимых значений средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы больных людей. Используя данные, рассчитываем: $\bar{X}=4,906$, $nm_2=2,603$. Определяем значение промежуточной суммы S : $S=3,314$. Тогда экспериментальное значение $W_{e2} = 2,057$. Согласно ISO 5479-97 значение p -квантиля статистики критерия $W_{гр}$ для $n=40$ и $\alpha=p=0,05$ равняется 0,940. Поскольку это значение меньше экспериментального значения W_{e2} , то нулевая гипотеза, свидетельствует что распределение в выборке нормальное с доверительной вероятностью 99,95%.

Таким образом, для средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы здоровых людей, которая отображает форму «здоровых» эритроцитов, получаем:

- среднее арифметическое значение соответствующей выборки $\bar{X}=3,378$ мкс;
- ближайшее значение из ряда номинальных значений, которое отвечает точности измерения средней продолжительности «падения» уровня максимальной интенсивности отраженного луча лазера, которое отображает форму «здоровых» эритроцитов составляет 3,4 мкс;
- среднее квадратичное отклонение в выборке: $\sigma=0,237$ мкс;
- половину интервала нормативных значений: $3\sigma \approx 0,7$ мкс.

Итак, нормативный интервал значений на среднюю продолжительность «падения» уровня

интенсивности отраженного луча лазера для группы здоровых людей, которая отображает форму «здоровых» эритроцитов, составляет $3,4 \pm 0,7$ мкс.

Для средней продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы больных людей, которая отображает форму «нездоровых» эритроцитов, получаем:

- среднее арифметическое значение соответствующей выборки: $\bar{X} = 4,906$ мкс;
- ближайшее значение из ряда номинальных значений, которое отвечает точности измерения средней продолжительности «падения» уровня максимальной интенсивности отраженного луча лазера, которое отображает форму «нездоровых» эритроцитов, составляет 5 мкс;
- среднее квадратичное отклонение в выборке: $\sigma = 0,376$ мкс;
- половина интервала нормативных значений: $3\sigma \approx 1,3$ мкс.

Итак, нормативный интервал значений на среднюю продолжительность «падения» уровня интенсивности отраженного луча лазера для группы больных людей, которая отображает форму «нездоровых» эритроцитов, составляет $5 \pm 1,3$ мкс.

Выводы

Итак, в рассмотренной системе экспресс-анализа форменных элементов крови косвенным показателем отображения формы эритроцитов является среднее время $\Delta\tau_{cp}$ продолжительности «падения» уровня интенсивности отраженного от исследуемого образца луча лазера. Проведенные измерения и статистические расчеты косвенного показателя свидетельствуют о том, что нормативный интервал значений для группы больных людей, составляет $5 \pm 1,3$ мкс, а для группы здоровых – $3,4 \pm 0,7$ мкс.

Возможность условного разграничения доверительных интервалов позволяет устанавливать с определенной вероятностью по соответствующему анализу крови человека диагноз болезней, диагностирование которых требовало многочисленных процедур, дорогих реактивов и значительных затрат времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пикуза В. П. Экономические и финансовые расчеты в Excel. / В. П. Пикуза, О. Н. Гаращенко – Питер, Изд-кая группа БНВ, 2004 – 397 с.
2. Статистическое представление данных. Проверка отклонения распределения вероятностей от нормального распределения (ISO 5479-97) : ГОСТ Р ИСО 5479-2002. – [Чинний з 2002-07-01] – 2006. – 31 с.
3. Тучин В. В. Оптическая биомедицинская диагностика. / В. В. Тучин – Г.: Физматлит, –2007. – Т. 1. – 250 с.
4. Павлов С. В. Фотоплетизмографічні технології контролю серцево-судинної системи: моногр. / С. В. Павлов, В. П. Кожем'яко, В. Г. Петрук, П. Ф. Колісник – Вінниця: Універсум. – Вінниця, 2007. – 252 с.
5. Васильківський І. В. Автоматизований контроль оптичних параметрів водно-дисперсних середовищ: моногр. / І. В. Васильківський, В. Г. Петрук – Вінниця: УНІВЕРСУМ-Вінниця, 2007. – 171 с.

Зиньковский Юрий Францевич – д. т. н., академик АПНУ, профессор, заведующий кафедрой радиоконструирования и производства радиоэлектронной аппаратуры НТУУ «КПИ».

Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт».

Зленко Сергей Макарович – доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой проектирования медико-биологической аппаратуры, тел.: (0432) –59-81-22, e-mail: smzlepko@ukr.net.

Винницкий национальный технический университет.

Головня Виктория Мелентьевна – аспирант кафедры радиоконструирования и производства радиоэлектронной аппаратуры НТУУ «КПИ».

Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт».