

Неинвазивные методы исследования клеточного состава крови в условиях космического полета

Ковалёва А. А.^{1*}, Пичулин В. С.^{2}, Скедина М. А.^{1***}**

¹*Государственный научный центр Института медико-биологических проблем ГНЦ РФ*

ИМБП РАН, Хорошевское шоссе, 76 А, Москва, 123007, Россия

²*Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет), МАИ,*

Волоколамское шоссе, 4, Москва, А-80, ГСП-3, 125993, Россия

** e-mail: inj.ann@rambker.ru*

*** e-mail: start152295@yandex.ru*

**** e-mail: skedina@imbp.ru*

Аннотация

Рассмотрены преимущества применения неинвазивных методов исследования клеточного состава крови в условиях космического полета. Проанализированы пути расширения функциональных возможностей ультразвуковой медицинской аппаратуры. Разработаны математическая имитационная модель исследуемой среды, а также модель формирования амплитудного спектра ультразвукового сигнала, на основании исследования которых предложен ряд требований к аппаратной части оборудования и представлен вариант методики.

Ключевые слова: анализ крови, космический полет, неинвазивность, ультразвуковая диагностика, математическая модель, амплитудный спектр

Опыт выполнения пилотируемых космических полетов (КП) в СССР (России) и США показывает, что проблема обеспечения безопасности экипажей пилотируемых космических аппаратов (ПКА) по мере усложнения программ полета становится все более актуальной. А

безопасность космического полета определяется, в том числе, и состоянием здоровья экипажа [1].

Кровь, как и все биологические жидкости, является важным веществом для диагностики функционального состояния организма. С физической точки зрения она является суспензией, где жидкая компонента – плазма крови, а твердая – форменные элементы, характеризующиеся определенной концентрацией, формой и размером. Деятельность экипажа на протяжении КП может привести к изменению этих параметров, причем некоторые из них могут быть необратимыми [2]. Поэтому для своевременного принятия профилактических мер необходим контроль за клеточным составом крови.

Однако исследование клеточного состава крови в условиях КП не всегда реализуемо. Работа с жидкими средами в этих условиях затруднена в силу действия такого фактора как невесомость. Под влиянием невесомости происходит уменьшение объема циркулирующей крови, ухудшение ее свертывания, что затрудняет процесс забора требуемого для исследования объема крови [3].

Инвазивное (т.е. с нарушением целостности кожных покровов) взятие у членов экипажа биологических сред для последующего анализа сопряжено с риском инфекционного заражения, так как искусственная замкнутая экосистема в ПКА является чрезвычайно благоприятной для роста и размножения различных микроорганизмов. К тому же расходные материалы, которые используются в процессе забора крови, требуют определенных условий хранения (в особенности – влажности и температуры) и имеют ограниченный срок годности, а их допоставка на борт может быть несвоевременной.

Все вышеуказанные обстоятельства доказывают целесообразность применения неинвазивных методов исследования.

Для практического внедрения неинвазивных методов, позволяющих оценить клеточный состав крови, необходимо проанализировать такие аспекты, как возможность использования метода в условиях КП, а также функциональность и диагностическая значимость применяемого оборудования.

Нами рассматриваются возможности высокочастотной ультразвуковой доплерографии как метода неинвазивного исследования клеточного состава крови в условиях КП.

Разработка новейших медицинских диагностических аппаратно-программных комплексов (АПК) невозможна без математического имитационного моделирования объекта исследования, так как любое оборудование является частью сложной технической системы «пациент-прибор-врач». Для экспериментальной проверки возможностей метода требуется разработка имитационной математической модели или системы моделей исследуемого объекта, поскольку подобные работы позволяют минимизировать материальные затраты и дают возможность проводить исследования с любыми входными данными.

Возможности неинвазивных методов исследования

В настоящее время ультразвуковой (УЗ) метод исследования, основанный на эффекте Доплера, применяется на международной космической станции для исследования малых (диаметром до 1,5 мм) кровеносных сосудов. В ранее проведенных авторами исследованиях показано, что метод УЗ высокочастотной флоуметрии, может быть использован в условиях невесомости для определения клеточного состава крови [4].

Ультразвуковое оборудование функционирует в условиях невесомости, а также способно, как показала практика, выдержать вибрацию и перегрузки на этапе транспортировки к месту эксплуатации. Другими преимуществами этого метода являются относительно небольшие массогабаритные характеристики оборудования (порядка 2 - 2,5 кг), неинвазивность, обуславливающая инфекционную безопасность, длительный срок хранения расходных материалов и наличие путей расширения функциональных возможностей диагностического оборудования (рис. 1). Методика проста в исполнении, что дает возможность проводить исследование неспециалистом.



Расширение функциональных возможностей УЗ оборудования достигается за счет комплексного подхода к проблеме. Поэтому в статье уделено внимание методическим вопросам, а также вопросам цифровой

Рисунок 1. Пути расширения функциональных возможностей ультразвукового диагностического оборудования.

обработки сигнала (ЦОС), то есть программной части оборудования.

Специфика объекта исследования

Так как неинвазивное исследование клеточного состава подразумевает ультразвуковое сканирование объема ткани, включающего мягкие ткани и кровь, текущую по разветвленной сети мельчайших сосудов, где пульсовая волна практически отсутствует, то следует отметить ряд особенностей объекта исследования.

К ним относятся: наличие собственных внутренних механизмов, корректирующих его работу, множество вариаций нормы, лабильность кровотока (вносит некоторую стохастичность в описание структурных параметров микроциркуляторного русла), возможность наличия случаев патологии как со стороны сосудов, так и клеточного состава крови.

Что же касается самих форменных элементов крови (ФЭК), количество которых предполагается подсчитывать, то их характеристики находят свое отражение в ультразвуковой волне за счет эффектов, показанных на рис. 2.



Рисунок 2. Влияние параметров клеток крови на отраженный сигнал

Количество ФЭК в рабочей зоне датчика и их перемещение с током крови обуславливают первичные эффекты, которые находят свое отражение в таких характеристиках сигнала как амплитудный (ΔA) и частотный ($\Delta \nu$) сдвиги. Отмечено, что в

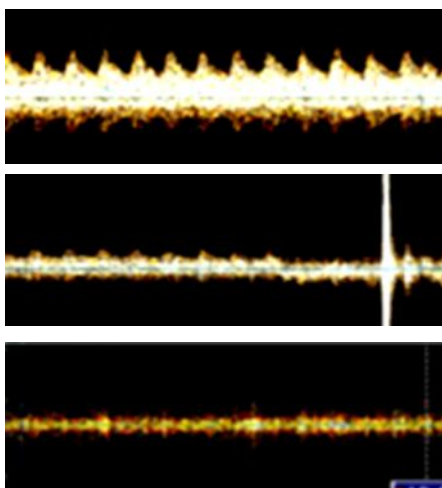


Рис. 3. Различные типы кровотока.

мельчайших сосудах кровотоки существенно зависят от свойств клеток крови (диаметра, сжимаемости и пр.) [5] и в этом проявляются так называемые «вторичные эффекты».

Свой вклад в результирующий сигнал могут также внести сосудистые реакции, степень

выраженности которых будет зависеть от типа кровотока в области исследования (рис. 3.). Выделяют три основных типа – кровотока с преимущественно артериальным наполнением (на рис. 3 обозначен как а), с преимущественно венозным наполнением (б) и с преимущественно капиллярным наполнением (с) [6]. Наиболее желательный тип, на фоне которого вторичные эффекты будут более выражены, и, следовательно, более благоприятный для проведения неинвазивного исследования клеточного состава крови – это капиллярный кровоток.

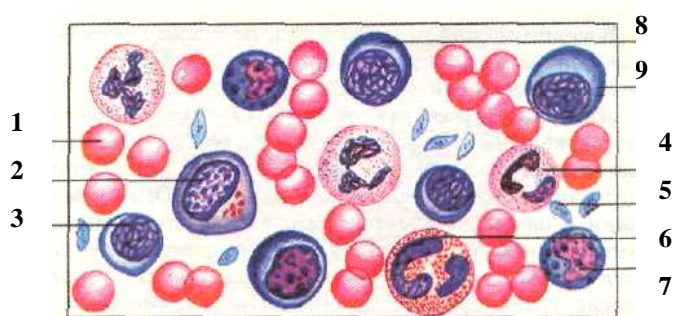
Изложенные выше обстоятельства обуславливают наличие специфического методического подхода к проведению исследования клеточного состава крови УЗ методом в условиях КП.

Концепция облаков рассеивателей

Для выработки требований к аппаратной части оборудования, а также для отработки некоторых блоков алгоритма ЦОС нами была разработана модель объекта исследования. В основе нее лежит концепция представления всей совокупности клеток крови в исследуемой области как облаков рассеивания. В рабочую зону УЗ датчика попадает совокупность рассеивателей, представленных эритроцитами, лейкоцитами и тромбоцитами (рис. 4), а также мягкие ткани и плазма крови.

Вся совокупность клеток крови была разделена на 5 групп, названных облаками рассеивателей, обладающими различными: плотностью, положением центра масс, средним размером частиц. Структурные характеристики облаков представлены в таблице.

Эффекты второго порядка, связанные с особенностями перемещения различных клеток крови в сосудах малого диаметра, были учтены через переменную



Условные обозначения:

- 1 — эритроцит; 2 — моноцит; 3 — малый лимфоцит;
- 4 — нейтрофильный сегментоядерный гранулоцит;
- 5 — тромбоциты, или кровяные пластинки; 6 — ацидофильный (эозинофильный) гранулоцит; 7 — базофильный гранулоцит; 8 — средний лимфоцит; 9 — большой лимфоцит.

Рисунок 4. Форменные элементы крови. [7]

глубину залегания центра масс облака относительно поверхности, граничащей с источником УЗ волн, а также среднюю скорость движения частиц в облаке.

Данная имитационная модель объекта исследования реализована в среде MATLAB 7.0.1. Предложенное описание структуры среды позволяет при последующем проведении вычислительного эксперимента сделать акцент на твердых частицах суспензии (клетках крови), движение которых в объеме близко к стохастическому [8].

Таблица.

Параметры облаков рассеивателей.

Тип облака	ФЭК в составе	Средний диаметр DV, мкм (10^{-6} м)	Количество от общего числа ФЭК для здоровых людей, %
V1	эритроциты	7,5	80
V2	нейтрофилы, эозинофилы	12	13
V5	лимфоциты	14	5,4
V3	моноциты	16	1,4
V4	базофилы	9	0,2

Моделирование элементов алгоритмов ЦОС

Одним из блоков ЦОС является обработка амплитудного спектра, особое внимание в данной работе уделено вопросу его формирования и отражению в нем таких параметров форменных элементов крови, как размер и концентрация в объеме. Частотный, он же доплеровский, спектр на современных приборах имеет хорошую оцифровку, в результате которой могут быть рассчитаны более двух десятков его характеристик, поэтому в данной работе он не рассматривается.

За основу для формирования амплитудного спектра была взята модель дискретных рассеивателей, которая, с учетом особенностей объекта исследования, была модифицирована для совокупности рассеивателей. Основные допущения:

- источник ультразвука - плоский поршневой преобразователь;
- излучаемая ультразвуковая волна – синусоидальная, плоская, монохроматическая;
- давление в среде без ультразвуковых волн постоянно;
- клетки крови – твердые сферические тела;

- клетки крови внедрены в однородную среду, плотность среды и скорость распространения ультразвука в ней соответствует мягким тканям;
- дифракция и интерференция отсутствуют;
- режим излучения – импульсный;
- конечная кривая давления на приемнике – сумма единичных кривых давления со всех форменных элементов крови, находящихся в объеме;
- в момент движения отраженной волны к приемнику падающей волны нет.

Рассеяние на крупных форменных элементах крови, таких как эритроциты и лейкоциты можно с допустимой степенью приближения описать уравнениями рассеяния на сфере [9]:

$$w \cong -\frac{Ak^2 R^3}{3 \cdot r} \left(1 - \frac{3}{2} \cos \theta\right) \cdot e^{-ikr}, \quad (1)$$

где: w , Па – амплитуда рассеянной волны;

θ , рад – угол между направлением падающей волны и направлением наблюдения;

A , Па – амплитуда падающей волны;

R , м 10^{-6} – радиус сферы;

r , м 10^{-6} – расстояние от сферы до источника звука;

k – волновое число.

Соответственно, давление рассеянной волны равно:

$$p_s(r, t) = w \cdot \exp(-i\omega \cdot t), \quad (2)$$

где: ω , рад/с – круговая частота волны;

t , с – время.

С учетом допущений для совокупности рассеивателей, наличием двойного эффекта Доплера и (1) выражение примет вид:

$$p(t) = -\frac{A\omega_0^2}{3} \left(1 - \frac{3}{2} \cos \theta\right) \cdot H(t) \sum_{m=1}^M R_m^3 \sum_{n=1}^{N_m} \frac{1}{r_{n,m} (c - u_{n,m} \cos \theta)^2} \cdot \exp\left(-i \left(\frac{c\omega_0}{c - u_{n,m} \cos \theta} \right) \left(\frac{r_{n,m}}{c} + t \right)\right)$$

, (3)

где: M – количество типов облаков рассеивателей;

n – число частиц в каждом типе облака;

ω_0 , рад/с – круговая частота источника ультразвука;

c , м/с – скорость звука в среде;

$u_{m,n}$, м/с – скорость движения n -го элемента в m -м облаке.

Вне импульса давление на приемнике равно нулю, т.е.:

$$H(t) = \begin{cases} 1 & t \in (t_0, t_1) \\ 0 & t \notin (t_0, t_1) \end{cases}$$

После стандартных процедур усиления сигнала и фильтрации низких частот, из (3) выделяется компонента, дающая вклад в амплитуду сигнала:

$$\tilde{p} = -\frac{A\omega_0^2}{6r} \left(1 - \frac{3}{2} \cos \theta\right) \cdot H(t) \cos(\bar{\varphi}_D) \sum_{m=1}^M R_m^3 N_m, \quad (4)$$

где $\bar{\varphi}_D$, рад - среднее значение фазы.

Если p_{es} – экспериментальное значение амплитуды, то при накоплении M и более экспериментальных значений получится система уравнений вида:

$$\sum_{m=1}^M D_{m,j} \cdot N_m = p_{es}, \quad j=1,2,\dots,J \quad (5)$$

$$\text{где } D_{m,j} = -\frac{A\omega_{0,j}^2}{6r_j c^2} \left(1 - \frac{3}{2} \cos \theta\right) \cdot H(t) \cos\left(\frac{\omega_{0,j} r_j}{c}\right) \cdot R_m^3 ;$$

J – число импульсов, используемых для вычисления количества форменных элементов крови

Частота зондирующего импульса, положение центра измерительного объема, продолжительность импульса могут изменяться от импульса к импульсу. Количество импульсов, то есть замеров, всегда будет превышать количество типов облаков рассеивателей, поэтому система уравнений (5) будет переопределена, что характерно для экспериментальных исследований природных объектов, в том числе и биологических.

Выводы и рекомендации

Предварительные испытания по получению амплитудного спектра на модели среды, реализованной в среде MATLAB показали следующее:

- на рабочие частоты генератора УЗ должны быть наложены ограничения, связанные, с одной стороны, с расположением рабочей зоны датчиков (зоны излучения-приема) и, с другой стороны, с возможным неблагоприятным воздействием УЗ на биологические ткани;

- требуется повышение тактовой частоты аналого-цифрового преобразователя, которое обусловлено невозможностью использовать импульсный режим для неинвазивного определения клеточного состава крови из-за ограничения минимальных рабочих частот датчиков и, как следствие, ухудшения соотношения сигнал-шум;

- примерное количество таких клеток крови, как тромбоциты, возможно определить лишь косвенно, путем анализа частотного спектра и сопоставлением с данными о скорости кровотока в мельчайших сосудах при известном значении тромбоцитов.

Таким образом, дополетный блок исследований должен обеспечивать учет индивидуальных особенностей мелких сосудов и определению индивидуальной «нормы». Для этого следует оценить УЗ методом реактивности сосудов, провести общий анализ крови, а затем неинвазивное определение клеточного состава крови. На борту ПКА исследование следует проводить в два этапа: сначала оценить тип кровотока в мельчайших сосудах для определения потенциального вклада вторичных эффектов и только потом проводить неинвазивное определение клеточного состава крови.

Библиографический список

1. Никогосян А.Е., Баевский Р.М. Медицинский контроль в полете полете // Здоровье, работоспособность, безопасность космических экипажей (Космическая биология и медицина; Т. IV). - М. Наука 2001. с. 102 - 144.
2. Легеньков В.И., Козинец Г.И. Гематология космических полетов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 148 с.: ил.

3. Гончаров И.Б., Ковачевич И. В., Жерनावков Я.Ф. Анализ заболеваемости в космическом полете // Здоровье, работоспособность, безопасность космических экипажей (Космическая биология и медицина; Т. IV). - М. Наука 2001. с. 145 - 164.
4. Скедина М.А., Ковалева А.А., Гирина М.Б., Клишин Г.Ю. Возможность определения элементного состава крови с помощью неинвазивного ультразвукового исследования микроциркуляции. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. №3 (27) 2008. с. 58 – 62.
5. Чернух А.М., Александров П.М., Алексеев О.В. Микроциркуляция. М.: Медицина, 1975. – 456 с, ил.
6. Козлов В.А., Артюшенко Н.К., Шалак О.В., Гирина М.Б., Гирин И.И., Морозова Е.А., Монастыренко А.А. Ультразвуковая доплерография в оценке состояния гемодинамики в тканях шеи, лица и полости рта в норме и при некоторых патологических состояниях. // Медицинская академия последипломного образования, ООО “СП Минимакс”, г. Санкт_Петербург, 2000 г.
7. Самусев Р.П., Липченко В.Я. Атлас анатомии человека: Учеб. пособие для студентов сред. мед. учеб. заведений. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: ООО «Издательский дом «ОНИКС 21 век»: ООО «Издательство «Мир и Образование», 2004. – 704 с.: ил.
8. Ковалева А.А., Скедина М.А., Пичулин В.С. Моделирование микроциркуляторного русла на основе гидромеханической и акустической математических моделей.// Авиакосмическая и экологическая медицина 2009. Т. 43. С.45 – 51.
9. Тихонов А.Н., Самарский А.А. Уравнения математической физики: Учеб. пособие. – 6-е изд., испр. и доп. М.: Изд-во МГУ, 1999 г. – 798 с.