

УДК 612.111

## ЛАЗЕРНИЙ ПРИЛАД ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ХАРАКТЕРИСТИК КРОВІ

*Байкова Анастасія Геннадіївна*  
[baykova.anastasiia@gmail.com](mailto:baykova.anastasiia@gmail.com)

*Богомолов Миколай Федорович*  
[mfbogomolov@gmail.com](mailto:mfbogomolov@gmail.com)

*Шликов Владислав Валентинович*  
[v.shlykov@kpi.ua](mailto:v.shlykov@kpi.ua)

Кафедра біомедичної інженерії  
Національний технічний університет України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»  
м. Київ, Україна

*Анотація* - На сьогоднішній день спостерігається достатньо інтенсивне впровадження лазерних технологій в біомедичні дослідження, і зокрема – у дослідження біологічних об'єктів, таких як біологічні рідини. Завдяки своїм властивостям, лазерне випромінювання користується широким попитом при проектуванні апаратів медичної діагностики. В свою чергу, дослідження біохімічних параметрів та формених елементів крові (ФЕК) відіграють важливу роль для діагностики різноманітних захворювань, починаючи з анемії, та важких типів цукрового діабету. Перевага лазерного методу дослідження крові над іншими є досить очевидною: лазерне джерело випромінювання є інтенсивним, монохроматичним та когерентним, має можливість фокусування на невеликій ділянці, є відносно легко керованим. Сучасні лазерні аналізатори крові мають надзвичайно високу актуальність, оскільки вони дозволяють проводити ранню діагностику низки серйозних захворювань та синдромів, що допомагає їх запобіганню. У даній роботі запропоновано нову методику визначення параметрів крові людини шляхом поєднання спекл-інтерферометрії та проточної цитометрії. Здійснено аналіз низки різних приладів для створення ефективного лазерного приладу з метою підвищення достовірності даних при визначенні параметрів крові за допомогою спекл-інтерферометрії. В роботі представлено лазерний пристрій для дослідження характеристик крові, який базується на методі спекл-інтерферометрії та проточній цитометрії.

*Ключові слова:* кров, лазер, спекл, інтерферометрія, параметри крові.

### I. ВСТУП

Серед сучасних напрямлень науково-технічного прогресу в медицині необхідно зазначити, перш за все, розвиток лазерної техніки, поширення досліджень в дальньому інфрачервоному та ультрафіолетовому частинах спектру, розвиток фізичної електроніки, імпульсної техніки тощо. В усіх перерахованих напрямленнях ефективність досліджень тісно пов'язана з розробкою високоточних засобів вимірювання. Серед різноманітних типів сучасних вимірювальних засобів одне з перших місць належить оптико-електронним приладам. Сучасні оптичні прилади забезпечують можливість проведення вимірювань з дуже високою точністю і надійністю параметрів як

неперервних, так і швидкоплинних процесів в широкому спектральному і енергетичному інтервалі, а також в умовах сильних вібрацій, великих перепадів температури та тиску. Більше того, сучасна оптична апаратура дозволяє автоматизувати аналіз і обробку результатів вимірювання. Серед основних класів оптико-електронних приладів, перш за все, є важливим зазначити прилади, робота яких базується на лазерному випромінюванні. У даній роботі було розроблено лабораторний стенд для дослідження параметрів крові людини.

Винахід лазерів та їх широке впровадження в практику наукових досліджень здійснили вагомий вплив на розвиток нових методів діагностики і терапії. Це сприяло розвитку лазерної медицини, під якою розуміється сукупність

засобів і методів дослідження, в яких використовуються лазери та основні специфічні властивості лазерного випромінювання.

## II. МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою роботи є розробка лазерного приладу для дослідження параметрів крові з використанням спекл-інтерферометрії та елементів проточної цитометрії для підвищення достовірності та точності визначення параметрів крові.

## III. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під час розробки лазерного приладу для дослідження параметрів крові було використано теоретичні та практичні засади проектування оптичних приладів. Зокрема було проаналізовано оптичні основи, на яких базується робота приладу, в тому числі формування нормально-розвиненої спекл-інтерферограми при освітленні шорсткої поверхні високо когерентним пучком.

Відомо, що статистичні властивості спекл-інтерферограми, яка формується під час освітлення шорсткої поверхні високо когерентним пучком, не залежать від детальних характеристик мікрорельєфу поверхні. Зображення відбиваючого (проникаючого) об'єкта представляє складну гранулярну структуру, що не має явного зв'язку з мікроскопічними властивостями освітлюваного об'єкта. Більшість поверхонь, що відбивають (пропускають) лазерне випромінювання є екстримально шорсткі відносно довжини хвилі. Можна вважати, що основний вклад в розсіювання світла вносять малі ділянки поверхні з центрами в точках, що дзеркально відбивають випромінювання. Зі збільшенням крутизни шорсткості і величини освітлюваної області, число точок випромінювання зростає. Відбита від такої площини хвиля складається з вкладів від великого числа малих ділянок поверхні, які

можна вважати незалежними розсіювальними областями [1].

Робота розробленого лазерного приладу заснована на методах аналізу об'єктивних та суб'єктивних спеклів під час опромінення крові високо когерентним пучком світла. Об'єктивна спекл-картина формується у всьому просторі перед поверхнею, що освітлюється. Суб'єктивна спекл-картина виникає при відображенні розсіювальної поверхні на екран за допомогою оптичної системи. Об'єктивну спекл-картину можна зареєструвати, якщо в площині спостереження розмістити фотоплівку і засвітити її спекловою картиною. Але якщо сфотографувати цю ж картину за допомогою фотоапарата, то на фотоплівці отримаємо суб'єктивну картину, оскільки її параметри будуть вже залежати від об'єктиву фотоапарата [2].

## IV. ОСНОВНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Розглянемо механізм утворення спеклів на прикладі зображення точкового джерела, яке наведено на рисунку 1. Сферична хвиля, що розповсюджується від точкового джерела, перетворюється в сферичну хвилю, що сходиться з центром  $S'$  – геометричне зображення точкового джерела  $S$ .

Структура плями, вид дифракційної картини, залежить від форми отвору, що утворений оправою об'єктиву. Нехай отвір круглий, а його діаметр  $2a$ , тоді в площині зображення  $\pi'$  амплітуда визначається Фур'є – перетворенням кругової функції. Амплітуда в точці  $P$  дається функцією Ейрі (1):

$$V(P) = \frac{2J_1(z)}{z}; Z = ka\vartheta; k = \frac{2\pi}{\lambda}, \quad (1)$$

де  $\vartheta$  – кутовий радіус першого кільця,  $\vartheta = \frac{1,22\lambda}{2a}$ .

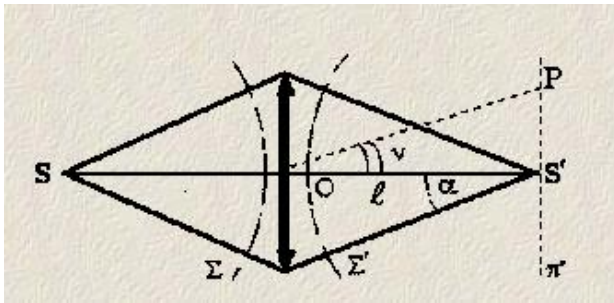


Рисунок 1 – Точкове джерело світла

Якщо змістити площину спостереження з  $\pi'$  на площину  $\pi''$  з відстанню між ними  $\delta l$  (рис. 2), тоді хвилі, дифраговані різними точками поверхні  $\Sigma$ , приходять в точку  $S'$  в фазі, а в точку  $S''$  – в протифазі. При цьому максимальна різниця ходу в точці  $S''$ ,  $\Delta = IS'' - OS''$ . Отже, можна записати рівняння (2):

$$\Delta = \delta l \frac{a^2}{2}. \quad (2)$$

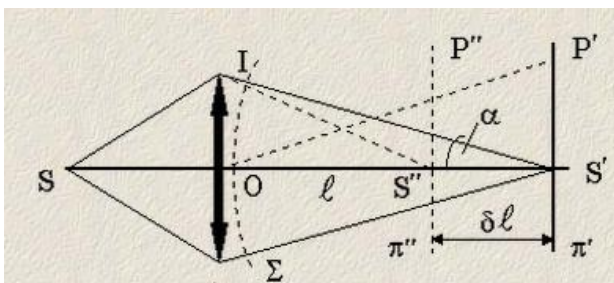


Рисунок 2 – Точкове джерело світла з де фокусуванням

Різниця ходу (2) пояснює зниження якості зображення. Якщо необхідно, щоб дифракційна картинка в точці  $S''$  майже не відрізнялась від такої в точці  $S'$ , то величина ходу  $\Delta$  має бути значно меншою довжини хвилі  $\lambda$ .

Важливим також є пояснити поняття спеклів Френеля та Фраунгофера, за аналогією до відповідних дифракцій. Розглянемо дифракцію на круглому отворі в зоні Френеля на осі системи (рис. 3). Інтенсивність в точці  $M$  – результат інтерференції хвиль, які випромінюються усіма точками отвору  $T$ .

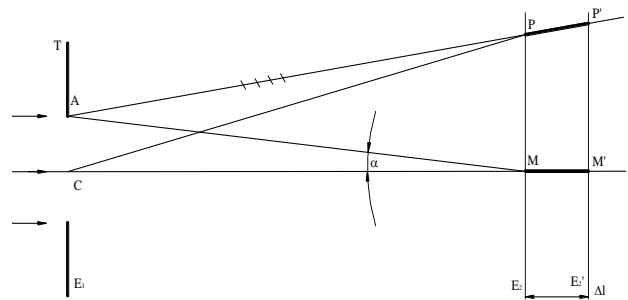


Рисунок 3 – Дифракційна задача Френеля

Різниця ходу в точці  $M$  для хвиль, які виходять з центру  $C$  та з крайньої точки  $A$  отвору  $T$ , проілюстровано формулою (3):

$$\Delta = AM - CM = \frac{a^2}{2l}, \quad (3)$$

де  $a$  – радіус отвору,  $l$  – відстань  $E_1E_2$ .

Різниця ходу в точці  $M$  для хвиль, які випромінюються двома довільними точками отвору  $T$ , змінюється в межах від 0 до  $\Delta$  ( $\Delta$  – максимальна різниця ходу хвиль для отвору  $T$ ). Якщо змістити площину спостереження на відстань  $\delta l$ , і таке зміщення буде достатньо малим, то вид інтерференційної картинки в новій точці не зміниться. Для збереження її сталого вигляду необхідно дотримуватись умови (4):

$$\delta l = \frac{2\lambda}{a^2}. \quad (4)$$

Розглядаючи випадок, коли в площині отвору знаходиться екран з дуже великою кількістю хаотично розташованих маленьких отворів, можна помітити, що внаслідок інтерференції в площині  $E_2$  буде

спостерігатися спекл-структура. Якщо екран  $E_2$  змістити на відстань, то картина не зміниться (рис. 4).

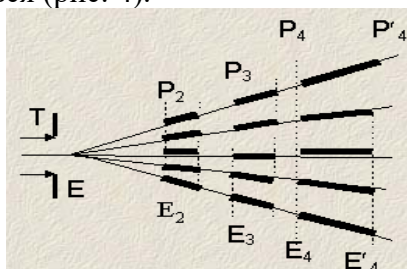


Рисунок 4 – Подібні спекл-структури при наявності екрану

Якщо все більше і більше віддаляти площину спостереження, то ми перейдемо в область спеклів Фраунгофера, де відстань між площинами  $E_n$  і  $E'_n$  нескінченно велика [4].

## V. СТРУКТУРНА СХЕМА ПРИЛАДУ ТА ЕТАПИ РОЗРОБКИ

Під час проектування приладу було розглянуто низку різних апаратів, робота яких заснована на лазерному випромінюванні: цитометри, оптичні доплерівські локатори, дифрактометри, спектрометри. Під час розробки були проаналізовані два варіанти лазерного лабораторного пристрою – системи спекл-інтерферометрії та їх структурні схеми. Структурні схеми приладів і їх описи представлено в огляді гістологічної техніки [3].

Структурна схема варіанту скануючого приладу представлена на рисунку 5. Для зручності роботи, зменшення габаритів та підвищення точності вимірювань схему було доповнено блоком керування променем та діафрагмою (рис. 6). Лазер було обрано з міркувань потужності, довжини хвилі та кута розбіжності.

Проаналізувавши існуючі лазери було обрано гелій-неоновий лазер ЛГ-38, який

має потужність 50 мВт, довжину хвилі 0,63 мкм і кут розбіжності 0,5 мрад.

Схему керування променем було створено для зменшення габаритів установки та для зручності роботи. Вона складається з двох дзеркал, що встановлені під кутом  $45^\circ$  до променя. Схема направляє промінь у зворотному напрямку для більш раціонального використання робочого місця та дотримання оптичної вісі.

Оптичну схему можна реалізувати за допомогою однієї лінзи або системи лінз. Також необхідно враховувати аберації оптичної системи. Для послаблення спотворень використовується система лінз «анастигмат».

Об'єкт дослідження, тобто кров людини, встановлюється на предметний столик, що рухається за координатами  $X, Y, Z$  для забезпечення різних результатів з однієї проби. Зразок повинен знаходитись у фокусі лінзи для забезпечення найменшого діаметру досліджуваної зони.

Діафрагма перекриває центральний промінь, щоб він не засвічував зображення. Її діаметр дорівнює діаметру променя. Діафрагму необхідно розмістити на такі самі відстані до зразка, що й відстань від зразка до об'єктиву, щоб вона перекривала промінь і не знижувала інформативність та достовірність результатів.

Реєструючий пристрій може бути виконано із зарядовим зв'язком (ПЗЗ), як і екран з фотоапаратом. Роздільна здатність реєстрації картини залежить тільки від параметрів реєструючого пристрою. В даному приладі було використано фотокамеру NIKON D3100 з параметрами матриці 14,2 Мп, роздільною здатністю 4608x3072 dpi, розміром фіксуєної матриці 23x15,4 мм.

Іншим розглянутим варіантом був лазерний прилад з використанням проточної камери з гідрофокусуєною системою (рис. 7).

Найскладнішою частиною приладу є система гідродинамічного фокусування або система подачі рідини.

Вона є важливим компонентом будь-якого цитометра, тому що здійснює подачу зразка у вимірювальний осередок таким чином, що частинки суспензії по одній проходять через центральну зону збуджуючого лазерного променя (область з максимальною інтенсивністю світла). Обжимаюча рідина є профільтрованим розчином рН з фізіологічним вмістом солей.

Зразок крові подається коаксіально потоку обжимаючої рідини з певною швидкістю до центру каналу, в якому тече обжимаюча рідина. Згідно властивостям ламінарного потоку, потік зразка не перемішується з потоком обжимаючої рідини (хоча дифузія малих молекул відбувається) і обидва потоки у каналі

залишаються коаксіальними. Потік зразка (починаючи з підстінних шарів) зазнає в'язкого тертя об межу з обжимаючою рідиною і прискорюється (або сповільнюється) так, що його швидкість стає рівна швидкості струму обжимаючої рідини. Співвідношення тиску, під яким подаються зразок, і обжимаюча рідина визначає співвідношення поперечних перетинів потоків, тобто – кінцевий діаметр потоку зразка у точці детекції:

$$V_{об} \left( \frac{МЛ}{ХВ} \right) = S_{отвору} (см^2) \cdot V_{лін} \left( \frac{СМ}{ХВ} \right); \quad (5)$$

Відповідно (5), підвищення тиску, з яким подається зразок, приводить до розширення діаметру потоку. Таким способом здійснюється керування потоком.

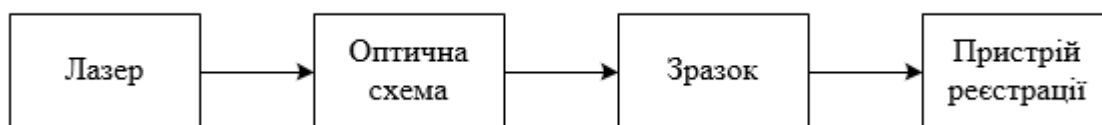


Рисунок 5 – Спрощена структурна схема скануючого варіанту



Рисунок 6 – Повна структурна схема скануючого варіанту



Рисунок 7 – Структурна схема проточного цитометра

Звуження каналу перед точкою детекції приводить до збільшення тиску і прискорення потоку:

- а) обидва потоки прискорюються;
- б) збільшений тиск обжимаючої рідини додатково звужує потік зразка.

Отже, кінцеві діаметри потоку зразка у точці детекції, наступні:

0°: розсіювання світлового кута вперед ( $1^\circ \sim 3^\circ$ ), яке можна використовувати для вимірювання розміру клітини.

10°: вузькочастотне розсіювання світла ( $7^\circ \sim 11^\circ$ ), яке можна використовувати для вимірювання структури клітини та її складності.

90°: перпендикулярне розсіювання світла ( $70^\circ \sim 110^\circ$ ), яке в основному використовується для вимірювання поверхні клітини та внутрішньої структури.

90° D: деполаризоване розсіювання світла ( $70^\circ \sim 110^\circ$ ), яке може використовуватися для вимірювання певного типу зернистості клітин.

## VI. РЕЗУЛЬТАТИ

Оптичну схему спроектованого пристрою наведено на рисунку 8.

Діаметр лазерного променя співрозмірний з розмірами клітини. Якщо залишкове горизонтальне світло досягає детектора 0°, запобіжник може заблокувати його, щоб запобігти насиченню електроніки. Горизонтальне світло з мінімальним відхиленням проходить до дзеркала з

отвором через збиральну лінзу. Світло, кут розсіювання якого  $\sim 0^\circ$  градусів проходить через отвір до кремнієвого фотодіода, що фіксує інтенсивність променя світла під кутом  $\sim 0^\circ$  градусів. Світло, що розсіюється під кутом  $\sim 10^\circ$  градусів, досягає іншого кремнієвого фотодіода за допомогою дзеркала. Вертикально розсіяне світло збирається групою конденсорних лінз, а потім проходить через щілину розміром 700 мкм (фільтр розсіює світло і покращує точність). Після того, як розсіяне світло, що містить інформацію про клітину, проходить через групу конденсорних лінз, вертикально розсіяне світло розділяється на дві частини за допомогою дільника променя (напівпрозоре дзеркало). Частина світла безпосередньо потрапляє на 90-градусну фотопомножувальну трубку. Решта розсіяного світла пройде через поляризатор, і лише деполаризоване розсіяне світло досягає деполаризуючої фотопомножувальної трубки під кутом 90 градусів.

Експериментально отримана спекл-картина за допомогою спроектованого лазерного пристрою (рис. 8) представлена на рисунку 9. Сіра область на зображеному спеклі є клітинами-примарами. Це означає, що еритроцит розпадається на частини. Зелений колір – це лімфоцити, рожевий – моноцити, синій – нейтрофіли, білий – базофіли, червоний – еозинофіли.

## VII. ОБГОВОРЕННЯ

Спираючись на проведену роботу можна сказати, що використовуючи оптичну схему (рис. 8) було підвищено швидкість і інформативність досліджень. Перша схема (рис. 5) дає змогу визначити форму і розмір досліджуваних об'єктів, в той час як за допомогою другої схеми приладу (рис. 6) можна отримати інформацію не тільки про розмір і форму, а й про концентрацію всіх мікрочастинок, які знаходяться в досліджуваній речовині. Також друга схема дозволяє не тільки значно підвищити швидкість вимірювання, а також повністю видалити крок підготовки зразків.

Перевага лазерного методу дослідження крові над іншими є досить очевидною: лазерне джерело випромінювання є

інтенсивним, монохроматичним та когерентним, має можливість фокусування на невеликій ділянці та є легко керованим. Лазерні аналізатори крові мають надзвичайно високу актуальність, оскільки дозволяють проводити ранню діагностику низки серйозних захворювань та синдромів, що допомагає їх запобіганню. Авторами запропоновано нову методику визначення параметрів крові людини шляхом поєднання спекл-інтерферометрії та проточної цитометрії. Здійснено аналіз низки різних приладів для створення ефективного лазерного приладу, з метою підвищення достовірності даних під час визначення параметрів крові за допомогою спекл-інтерферометрії.

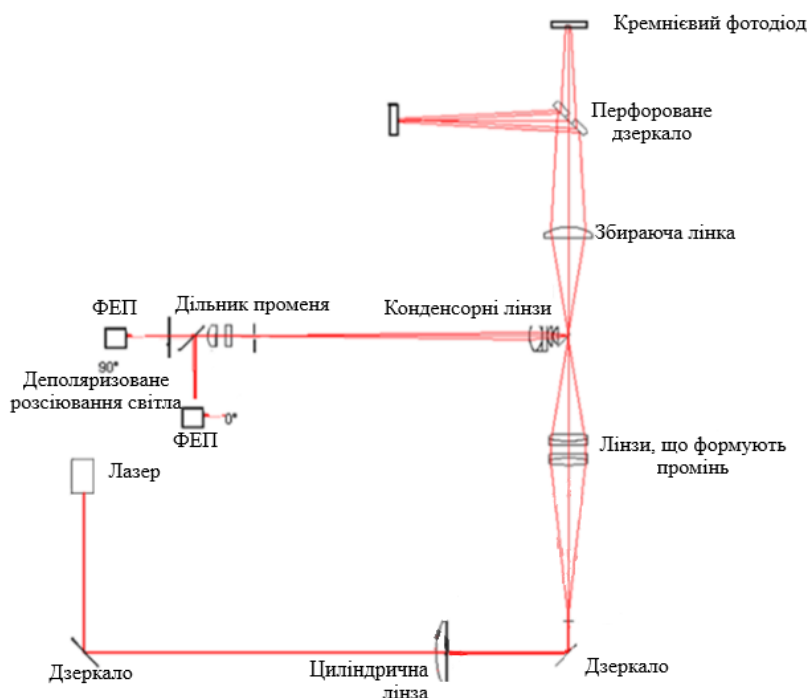


Рисунок 8 – Оптична схема спроектованого пристрою

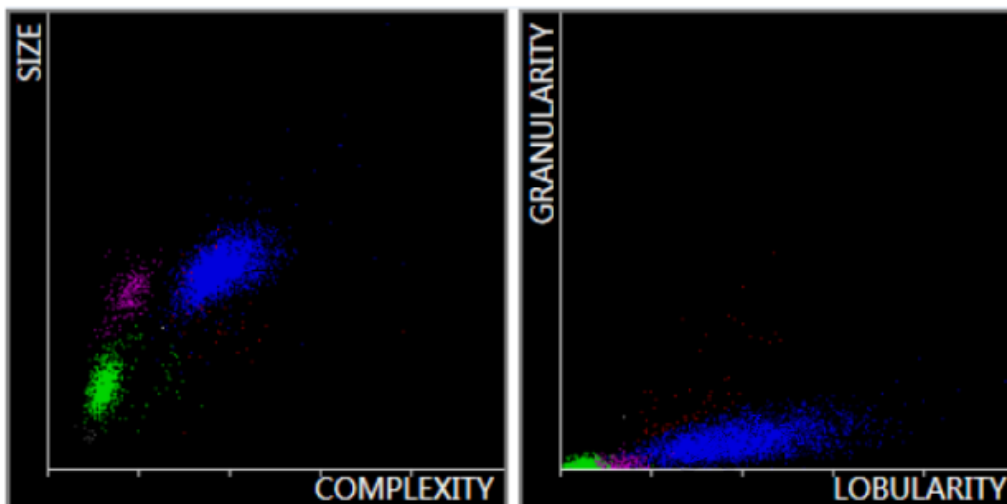


Рисунок 9 – Експериментально отримана спекл-картина

### VIII. ВИСНОВКИ

1. Виконано порівняльний аналіз існуючих оптичних приладів для визначення різних параметрів крові (форма, розмір формених елементів крові, концентрація мікрочастинок в крові, їх кількість).

2. Розглянуто теоретичні засади, на яких базується методика дослідження характеристик крові людини на основі механізму формування спекл-картин та спекл-структур.

3. Розроблено лазерний прилад для дослідження характеристик крові, який дає можливість підвищити достовірність визначення параметрів крові та виконати попередню діагностику низки серйозних захворювань.

4. Наукова новизна спроектованого приладу полягає у вдосконаленні методу лазерного аналізу крові з використанням спекл-інтерферометрії. А саме, до даної методики було додано елементи проточного цитометра для отримання ширшого спектру результатів аналізу, а також для підвищення

достовірності та точності визначення параметрів крові.

Також перевагою поєднання проточної цитометрії та спекл-інтерферометрії є перспектива використання розробленого приладу не лише для аналізу характеристик крові людини, а також для інших біологічних об'єктів.

**Фінансування.** Дане дослідження не отримувало зовнішнього фінансування.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### ORCID ID та внесок авторів:

(D, C) Anastasia Baikova

0000-0002-4351-527X (A, F), Nikolay Bogomolov

0000-0001-8836-4658 (B, E) Vladyslav Shlykov

A - Концепція роботи та дизайн, B - аналіз стандартів надання медичної допомоги та протоколів лікування, C – Проектування алгоритмів, D - Написання



статті, Е - Критичний огляд, F -  
Остаточне схвалення статті.

#### ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Muhammad Mohsin Qureshi, Joshua Brake, Hee-Jae Jeon, Haowen Ruan, Yan Liu, Abdul Mohaimen Safi, Tae Joong Eom, Changhuei Yang, and Euiheon Chung, "In vivo study of optical speckle decorrelation time across depths in the mouse brain," Biomed. Opt. Express 8, 4855-4864 (2017)
2. Yokoi N, Aizu Y, Uozumi J. Analysis of blood coagulation process based on fractality and dynamic

characteristic of laser speckle pattern. J Biomed Opt. 2018;24(3):1-7. doi:10.1117/1.JBO.24.3.031018

3. Пішак В.П. Гістологія з основами гістологічної техніки/ Пішак В.П., Федонюк Л.Я., Зажаєва В.В. та ін. Київ Кондор 2006 – С. 598

4. Rodriguez, Francisco & Yao, Can & Domínguez-Juárez, Jorge Luis & Bravo-Abad, Jorge & Martorell, Jordi. (2011). Observation of speckle pattern formation in transparent nonlinear random media. Optics letters. 36. 1347-9. 10.1364/OL.36.001347.

UDC 612.111

## LASER DEVICE FOR STUDYING THE CHARACTERISTICS OF BLOOD

Anastasia Baikova

[baikova.anastasiia@gmail.com](mailto:baikova.anastasiia@gmail.com)

Nikolay Bogomolov

[mfbogomolov@gmail.com](mailto:mfbogomolov@gmail.com)

Vladyslav Shlykov

[v.shlykov@kpi.ua](mailto:v.shlykov@kpi.ua)

Department of Biomedical Engineering  
National Technical University of Ukraine  
“Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”  
Kyiv, Ukraine

**Abstract** – To nowadays, there is a fairly intensive introduction of laser technologies in biomedical research, and in particular in the study of biological objects, such as biological fluids. Due to its properties, laser radiation is in wide demand in the design of medical diagnostic devices. In turn, the study of biochemical parameters and formed elements of blood are an important role in the diagnosis of various diseases, starting with anemia and ending with diabetes. The advantage of the laser method of blood research over others is quite obvious: the laser radiation source is intense, monochromatic and coherent, has the ability to focus on a small area and is easily controlled. Laser blood analyzers are extremely relevant nowadays, as they allow early diagnosis of a number of serious diseases and syndromes, which helps prevent them. This paper proposes a new method of determining the parameters of human blood by combining speckle interferometry and flow cytometry. An analysis of a number of different devices was carried out to create an effective device in order to increase the reliability of data when determining blood parameters using speckle interferometry. This work presents a laser device for studying blood characteristics based on speckle interferometry and flow cytometry.

**Key words** – blood, laser, speckle, interferometry, blood parameters.