

УДК 535.338

Ю. Ф. Зінковський, д. т. н., проф.; С. М. Злепко, д. т. н., проф.; В. М. Головня
УСТАНОВЛЕННЯ НОРМАТИВНИХ ЗНАЧЕНЬ НА НЕПРЯМИЙ
ПОКАЗНИК ВІДОБРАЖЕННЯ ФОРМИ ЕРИТРОЦИТІВ

Розглянуто визначення наявності патології організму людини за рівнем відхилення середньостатистичної форми еритроцита хворої людини відносно аналогічної умовно здорової людини. Проведено статистичні обрахунки експериментальних даних та підтверджено можливість умовного відокремлення довірчих інтервалів еритроцитів здорових та хворих людей і на їх основі проведення діагностики організму.

***Ключові слова:** проба крові, сканування, середньостатистична форма еритроцита, лазерний промінь.*

Вступ

На сьогодні дослідження формених елементів крові [4] дозволяють говорити про нові напрями та тенденції в медицині, а саме про можливість діагностики деяких хвороб за рівнем відхилення середньостатистичної форми еритроцита хворої людини відносно аналогічної форми еритроцита здорової людини.

Існуюча проблема

Завдяки дослідженням, проведеними американськими вченими в 90-х роках ХХ століття, встановлено, що статистично за формою еритроцитів можна виявити деякі захворювання, а саме: тропічну малярію, лейкоз, анемію. Також в судовій медицині форма еритроцитів дозволяє визначити рідкісні види отруту, які не піддаються типовим видам аналізу.

Вчені Сполучених Штатів Америки та Ізраїлю на міжнародному симпозіумі в Колумбійському університеті в 2008 році висунули ідею створення сертифікованого переліку найперспективніших новітніх технологій діагностики, серед яких розглядалася методика швидкої системи експрес-діагностики за пробом крові пацієнта. Наприклад, нині перспективним є оптичний моніторинг нейронної активності на основі показників оптичних властивостей крові, який застосовується в дослідженнях сомато-сенсорних та слухових структур (Godde, Hess), а також для аналізу анаболічних кортикоїдних структур (Pabva, Weliky).

Тому тепер є актуальним створення системи експрес-аналізу проб крові.

У світі цей вид аналізу тісно пов'язаний з використанням імовірнісного підходу, який у свою чергу дозволяє отримати лише якісне судження про наявність тої чи іншої хвороби. Це, наприклад, системи аналізу, які ґрунтуються на дослідженні картини розсіювання лазерного променя від проби крові.

Імовірнісного підходу можливо уникнути лише у випадку аналізу кожної окремої частинки в групі, оскільки, до цього аналізували цілу групу (наприклад, розсіювання групою еритроцитів променю лазера). Тому, на нашу думку, система експрес-аналізу крові повинна ґрунтуватися на дослідженні кожного інформативного елемента (еритроцита). Це можливо завдяки використанню принципу сканування проби крові променем лазера, при чому розсіювання від кожного форменого елемента достатньо може вплинути на зміну рівня інтенсивності відбитого випромінювання. Проаналізувавши залежність зміни інтенсивності в часі, в процесі сканування, можливо з великою точністю говорити про середньостатистичну форму еритроцита в досліджуваній пробі крові. При чому, особливістю цієї системи є класифікація експериментально отриманого сигналу (часова залежність інтенсивності відбитого лазерного променя від проби розчину крові при скануванні) за відповідними

навчальними вибірками.

Мета дослідження

Запропоновану систему експрес-аналізу формених елементів крові методом сканування суспензії, з певною концентрацією еритроцитів, зробити придатною для практичного використання в медичних лабораторіях для діагностики анемії, лейкозу, тропічної малярії.

При цьому необхідно забезпечити, щоб величина зміни рівня інтенсивності відбитого променя лазера від проби (ΔI_{max}) дозволяла охарактеризувати середньостатистичні параметри форми еритроцита з високою точністю (похибка не повинна перевищувати 20%), визначити вплив на точність діагностування цим методом концентрації еритроцитів у розчині крові.

Перевірити концентрацію еритроцитів у розчині крові шляхом використання основи для експериментального стенду решітки Горяєва чи лічильних камер. Через підрахунок еритроцитів у комірках вийти на початкове значення їх концентрації в розчині крові та переконатися в правильності приготування розчину крові перед експериментом.

Матеріал і методи дослідження

Під спроможністю виявлення радіоелектронними засобами складових біологічних об'єктів будемо розуміти властивість породжувати і реєструвати біооб'єкт разом з демаскуючим його сигналом, який є наслідком внутрішнього перерозподілу енергії зондуючого сигналу. Мірою, яка характеризує спроможність виявлення еритроцитів відповідної концентрації в розчині крові шляхом сканування лазерним променем, є максимальна зміна інтенсивності променя ΔI_{max} , відбитого від досліджуваного зразка, яка змінюється в межах 0,5 – 14 мВ. Для зручності зміну рівня інтенсивності розглядаємо через зміну виміряного на виході оптичного перетворювача пропорційного рівня напруги. Чим більше значення величини ΔI_{max} , тим краща спроможність реєстрації форми досліджуваних біооб'єктів. Непрямим показником відображення форми еритроцитів є середній час $\Delta \tau_{сер}$, який дорівнює тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого від досліджуваного зразка променя лазера.

Параметром дослідження розглянемо середню тривалість імпульсу в експериментально отриманих графіках, які відображають розподіл еритроцитів відповідної концентрації в розчині крові, через зміну рівня інтенсивності відбитого променя лазера під час сканування зразків проб крові здорових людей. У табл. 1 та табл. 2 наведено результати дослідження восьми зразків проб крові від кожного з п'яти учасників експерименту, які належали до групи здорових людей та відповідно, восьми зразків проб крові від кожного з п'яти учасників експерименту, які належали до групи хворих людей. Причому кожна проба крові від певної особи бралася з інтервалом в один тиждень, а потім проводилось усереднення величин повторних десяти досліджень зразків проб крові. Це дає нам право стверджувати про статичну значимість з довірчою ймовірністю 95% даних досліджень. Експериментально встановлено, що рівню падіння інтенсивності відповідає граничне значення $I_{cp}=15$ мВ.

Таблиця 1

Результати дослідження проб крові групи здорових людей

Номер експерименту		1	2	3	4	5	6	7	8
Середня тривалість «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для здорової групи 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

Результати дослідження проб крові групи хворих людей

Номер експерименту		1	2	3	4	5	6	7	8
Середня тривалість «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для хворої групи 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

Перевірка гіпотези щодо виду функції розподілу проводилася за критеріями погодження Пірсона, Колмогорова та ін. За невеликого обсягу вибірки перевірку гіпотези щодо виду функції розподілу рекомендовано проводити наближеними методами – графічним методом або за асиметрією та ексцесом.

Графічний метод складається з розташування експериментально виміряних значень (x₁, x₂, ..., x_n) певних фізичних величин у зростаючому порядку, після чого, кожній з них співставляють значення середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера відповідної ймовірності P_k, розрахованої за формулою:

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

де k — порядковий номер експериментального виміру фізичної величини x, причому k=1, 2, ..., n.

За даними експериментального дослідження зразків групи крові здорових людей та розрахунками відповідних елементів вибірки значень ймовірності P_k, розрахованих за формулою (1), побудовано кумулятивну функцію розподілу середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для групи здорових людей, яку подано на рис. 1.

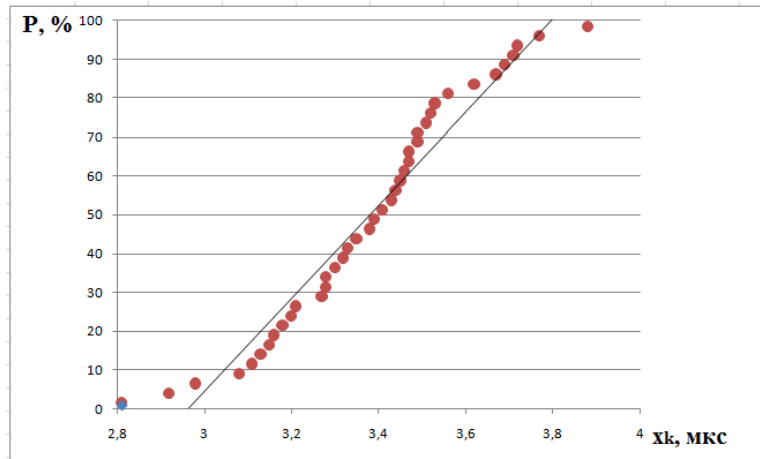


Рис. 1. Кумулятивна функція P розподілу середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для групи здорових людей

Аналогічно для групи хворих людей зобразимо кумулятивну функцію розподілу середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера (рис. 2).

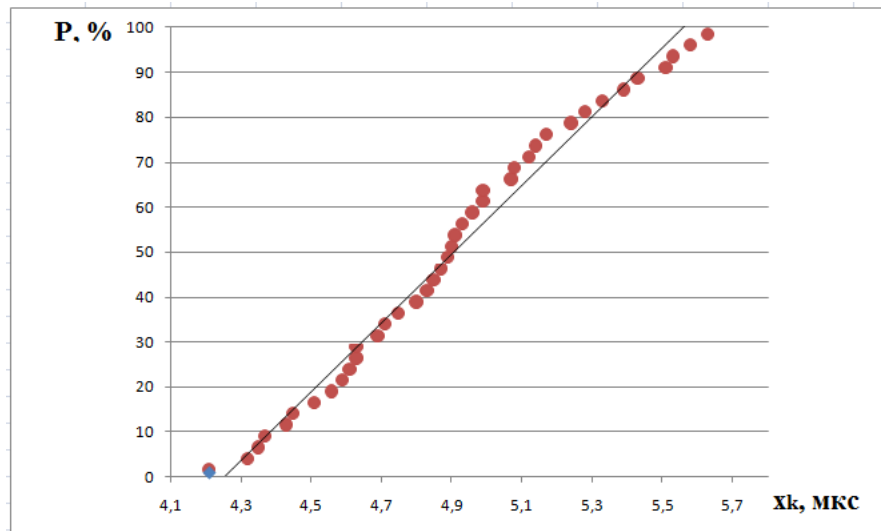


Рис. 2. Кумулятивна функція P розподілу середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для групи хворих людей

Візуальний аналіз зображеної кумулятивної функції для цих двох вибірок дає можливість зробити висновок, що закон розподілу є нормальним з високою вірогідністю.

Під час перевірки гіпотези щодо нормальності розподілу використовували також показники асиметрії та ексцесу. Асиметрія – це показник, який відображає ступінь несиметричності кривої диференціальної функції експериментального розподілу в порівнянні з диференціальною функцією нормального розподілу. Ексцес – показник, який відображає витяг (піднесення) кривої диференціальної функції експериментального розподілу в порівнянні з диференціальною функцією нормального розподілу [1].

Значення асиметрії (A) і ексцесу (E) розраховували таким чином:

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

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

де \bar{x} – середнє арифметичне значення вибірки; s – середньоквадратичне відхилення вибірки; x_i – i -те значення вимірюваної фізичної величини у вибірці.

Перевірка гіпотези щодо нормальності розподілу за показниками асиметрії та ексцесу проводилася в середовищі програми MS Excel 2007 для функції розподілу середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для групи здорових людей та для групи хворих людей, відповідно. Проведена перевірка з довірчою ймовірністю 95% дозволила стверджувати, що закон розподілу є нормальним.

Згідно міжнародного стандарту ISO 5479-97 «Статистичне подання даних. Перевірка відхилення розподілу ймовірностей від нормального розподілу» у випадку, якщо немає апріорної інформації щодо типу відхилення від нормального розподілу, рекомендовано використовувати багатосторонній критерій Шапіро-Уїлка, який застосовується для вибірок з $8 \leq n \leq 50$. Малі вибірки ($n < 8$) при виявленні відхилень від нормального розподілу не підтверджують достовірно отриманих результатів.

Критерій ґрунтується на регресійному аналізі порядкових статистик за їхніми очікуваними значеннями і є дисперсійним аналізом для повної вибірки. Статистикою цього критерію є відношення квадрата суми лінійної різниці вибірових впорядкованих статистик до звичайної оцінки дисперсії.

Оскільки критерій ґрунтується на впорядкованих спостереженнях, то перші n незалежні спостереження розташовуються в порядку зростання і позначаються символами x_1, x_2, \dots, x_n , після чого робиться обчислення так званої проміжної суми S за формулою:

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

де k – індекс, що має значення від 1 до $n/2$ або від 1 до $(n-1)/2$ при парному та непарному n відповідно; a_k – коефіцієнт, що має спеціальні значення для обсягу вибірки n . У цьому випадку статистика критерію W приймає вигляд:

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

де $nm_2 = \sum (x_i - \bar{x})^2$; n – обсяг вибірки; m_2 – вибірковий центральний момент другого порядку.

Якщо значення деяких спостережень рівні, впорядкована серія нумерується з повторенням рівних спостережень стільки разів, скільки вони виникають у вихідній серії.

Якщо $\alpha=p$, то критична межа критерію утворена значеннями меншими, ніж p -квантиль для $\alpha=p$. В ISO 5479-97 містяться таблиці p -квантилей статистики критерію W для $\alpha=p=0,01$ і $\alpha=p=0,05$.

Використовуючи дані впорядкованої серії з $n=40$ незалежних значень середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променю лазера для групи здорових людей, розраховуємо: $\bar{X}=3,378$, $nm_2=1,155$, і визначаємо значення проміжної суми S : $S=1,47$.

Тоді отримуємо експериментальне значення $W_{e1} = 1,87$. Згідно ISO 5479-97 значення p -квантиля статистики критерію $W_{гр}$ для $n=40$ і $\alpha=p=0,05$ дорівнює 0,940. Оскільки це значення менше експериментального значення W_{e1} , то нульова гіпотеза, свідчить що розподіл у вибірці є нормальним з довірчою ймовірністю 99,95%.

Проводимо відповідні розрахунки серії з $n=40$ незалежних значень середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променю лазера для групи хворих людей. Використовуючи дані, розраховуємо: $\bar{X}=4,906$, $nm_2=2,603$. Визначаємо значення проміжної суми S : $S=3,314$. Тоді експериментальне значення $W_{e2} = 2,057$. Згідно ISO 5479-97 значення p -квантиля статистики критерію $W_{гр}$ для $n=40$ і $\alpha=p=0,05$ дорівнює 0,940. Оскільки це значення менше експериментального значення W_{e2} , то нульова гіпотеза свідчить, що розподіл у вибірці є нормальним з довірчою ймовірністю 99,95%.

Отже, для середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променю лазера для групи здорових людей, яка відображає форму «здорових» еритроцитів, одержуємо:

- середнє арифметичне значення відповідної вибірки $\bar{X} = 3,378$ мкс;
- найближче значення з ряду номінальних значень, яке відповідає точності виміру середньої тривалості «падіння» рівня максимальної інтенсивності відбитого променю лазера, яке відображає форму «здорових» еритроцитів становить 3,4 мкс;
- середнє квадратичне відхилення у вибірці: $\sigma=0,237$ мкс;
- половину інтервалу нормативних значень: $3\sigma \approx 0,7$ мкс.

Отже, нормативний інтервал значень на середню тривалість «падіння» рівня інтенсивності відбитого променю лазера для групи здорових людей, яка відображає форму «здорових» еритроцитів, становить $3,4 \pm 0,7$ мкс.

Для середньої тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого променю лазера для групи хворих людей, яка відображає форму «нездорових» еритроцитів, одержуємо:

- середнє арифметичне значення відповідної вибірки: $\bar{X} = 4,906$ мкс;
- найближче значення з ряду номінальних значень, яке відповідає точності виміру середньої тривалості «падіння» рівня максимальної інтенсивності відбитого променю лазера, яке відображає форму «нездорових» еритроцитів, становить 5 мкс;
- середнє квадратичне відхилення у вибірці: $\sigma=0,376$ мкс;

– половину інтервалу нормативних значень: $3\sigma \approx 1,3$ мкс.

Отже, нормативний інтервал значень на середню тривалість «падіння» рівня інтенсивності відбитого променя лазера для групи хворих людей, що відображає форму «нездорових» еритроцитів, становить $5 \pm 1,3$ мкс.

Висновки

Отже, в розглянутій системі експрес-аналізу формених елементів крові непрямим показником відображення форми еритроцитів є середній час $\Delta\tau_{сер}$ тривалості «падіння» рівня інтенсивності відбитого від досліджуваного зразка променя лазера. Проведено вимірювання та статистичні обрахунки непрямого показника, які свідчать про те, що нормативний інтервал значень для групи хворих людей, становить $5 \pm 1,3$ мкс, а для групи здорових – $3,4 \pm 0,7$ мкс.

Можливість умовного відокремлення довірчих інтервалів дозволяє встановлювати з певною ймовірністю за відповідним аналізом крові людини діагноз хвороб, діагностування яких потребувало багачисельних процедур, дорогих реактивів та значних витрат часу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пикуза В. П. Экономические и финансовые расчеты в Excel. / В. П. Пикуза, О. Н. Гарашенко – Питер, Изд-кая группа BHV, 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. – 180 с. (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.

Зіньковський Юрій Францевич – д. т. н., академік АПНУ, професор, завідувач кафедри радіоконструювання та виробництва радіоелектронної апаратури НТУУ «КПІ».

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут».

Зленко Сергій Макарович – доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри проектування медико-біологічної апаратури, тел.: (0432)–59-81-22, e-mail: smzlepko@ukr.net.

Вінницький національний технічний університет.

Головня Вікторія Мілентіївна – аспірант кафедри радіоконструювання та виробництва радіоелектронної апаратури НТУУ «КПІ».

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут».