

На правах рукописи

Клемина Анна Викторовна

**АКУСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

01.04.06 – акустика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Нижний Новгород – 2010

Работа выполнена на кафедре акустики радиофизического факультета
Государственного образовательного учреждения
высшего профессионального образования
«Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Научный руководитель: доктор физико-математических наук,
профессор Гурбатов С.Н.

Официальные оппоненты: доктор технических наук
Гаврилов Л.Р.
доктор физико–математических наук
Осипов Г.В.

Ведущая организация: Учреждение Российской академии
наук Институт прикладной физики
РАН

Защита состоится «29» сентября 2010г. в 15-00 на
заседании диссертационного совета Д 212.166.07 при Нижегородском
государственном университете им. Н.И.Лобачевского по адресу:
Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, корп. 1, ауд. 420.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке
Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Автореферат разослан «25» августа 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.ф.-м.н., доцент



Черепенников В.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы диссертации

Исследование физических характеристик биологических жидкостей является актуальной задачей, имеющей как самостоятельное научное (т. к. организм создает уникальные по своим свойствам жидкости и структуры), так и прикладное значение в области медицины и биологии.

В 70 – 90 - х годах двадцатого века в лаборатории биофизической акустики Института Биологической физики АН СССР под руководством А.П. Сарвазяна проводились исследования акустических характеристик белков и аминокислот с использованием интерферометра постоянной длины. Именно акустические исследования этих биологических жидкостей позволяют изучить тонкие структурные характеристики и гидратацию биологических макромолекул в растворе, их межмолекулярные взаимодействия и конформационные перестройки биополимеров [1].

Теоретические основы распространения ультразвуковых волн в интерферометре постоянной длины разработаны J. Hubbard [2]. Однако данные исследования относятся к интерферометру, не имеющему ограничительных стенок, т. е. объем резонатора в этом случае мог быть 100 – 200 мл. Ф. Эггерс предложил для исследования частотных зависимостей в жидкостях интерферометр постоянной длины или акустический резонатор объемом 1 – 5 мл, в котором присутствовали элементы регулировки параллельности пьезопреобразователей [3]. Его метод основывался на теоретических представлениях об идеальности акустического резонатора, т.е. отсутствии потерь при отражении на поверхностях пьезопреобразователей и в предположении, акустическая волна в резонаторе плоская.

Более точное теоретическое поведение ультразвукового поля в резонаторе было выполнено А. Labhardt в 1975 г [4]. Оно учитывало акустические свойства пьезопреобразователей, потери при отражении от них, а также дополнительные эффекты, возникающие из – за трехмерного распространения волны внутри цилиндрической кюветы.

Акустический интерферометр постоянной длины или акустический резонатор с целью его применения для исследования биологических жидкостей совершенствовался в 70 – 90 годах двадцатого века, однако для медико-биологических приложений, в частности, в области медицинской лабораторной диагностики известные технические решения применить не представляется возможным по ряду причин:

1. Биожидкости организма человека, используемые для лабораторной диагностики (сыворотка крови, цельная кровь), как правило, могут быть использованы в очень ограниченном объеме (не более 0,1 – 0,5 мл), а при исследовании крови детей – еще меньше, т.е. объем измерительной ячейки должен быть не более 70 – 90 мкл.

2. Точность измерений скорости и поглощения ультразвука должна быть предельно высокой для высококонцентрированных биосред (сыворотка крови, цельная кровь). Необходимо регистрировать возможные отклонения от нормы для нативных биологических жидкостей, чтобы определить изменения их состава и надежно регистрировать патологию. По нашим оценкам погрешность измерения относительного изменения скорости ультразвука должна быть не более $10^{-4}\%$ и 1% для поглощения ультразвука.

3. Для систематических, серийных исследований (200 – 250 исследований в день) конструкция акустического интерферометра постоянной длины не должна иметь регулирующих параллельность элементов, но добротность резонатора с водой должна быть не хуже 4000 – 5000.

4. Сыворотка крови и цельная кровь человека – это среды, имеющие биологическую опасность (гепатит, СПИД) и достаточно агрессивны, поэтому конструкция ультразвукового резонатора должна допускать специальную обработку дезинфицирующими средами, но при нагрузке до 50000 исследований в год результаты исследований должны быть воспроизводимы и правильны при проведении всего цикла измерений.

Известные ультразвуковые интерферометры постоянного объема не удовлетворяют перечисленным выше условиям. Поэтому разработка и исследование акустического интерферометра постоянной длины малого объема, имеющего специальные конструктивные особенности для его применения в лабораторной медицинской диагностике, является актуальной задачей.

Изучение распространения ультразвуковых волн в интерферометре постоянной длины специальной конструкции малого (около 80 мкл) объема для серийных прецизионных измерений скорости и поглощения ультразвука, их частотных и температурных зависимостей, экспериментальное подтверждение необходимых точностных характеристик интерферометрических измерений явилось предметом диссертационной работы. Кроме того, необходимо было разработать и испытать способ определения параметров белкового и липидного спектра сыворотки крови на основе высокоточных измерений ее акустических характеристик

До настоящего времени все традиционные биохимические методы определяют общий белок и белковые фракции (альбумин, α_1 -, α_2 -, β -, γ - глобулины) и липидные компоненты (холестерин общий, холестерин липопротеидов высокой и низкой плотности, триглицериды) сыворотки крови с использованием специальных биохимических реагентов, которые дороги, агрессивны и не безопасны для здоровья врача – лаборанта, а при ежедневно проводимых исследованиях просто вредны для здоровья и вызывают онкологические заболевания различных органов. Поэтому актуальна задача разработки безреагентных методов определения важнейших компонентов крови человека.

Цель и задачи работы

Цель настоящей диссертационной работы и задачи настоящего исследования состоят в следующем:

1. Рассмотреть особенности распространения ультразвуковых волн в интерферометре постоянной длины малого (менее 80 мкл) объема, выяснить влияние дифракции и фазовых потерь из-за неидеальности отражения ультразвуковых волн на поверхностях пьезопреобразователей и, таким образом, определить предельную добротность такого ультразвукового резонатора.
2. Исследовать условия ультратермостатирования акустического резонатора малого объема с помощью специально разработанного стенда. Определить метрологические характеристики акустического анализатора биожидкостей, основным узлом которого является ультразвуковой интерферометр постоянной длины.
3. Используя аддитивную модель вклада отдельных компонентов сыворотки крови в суммарные акустические характеристики, исследовать зависимость относительной скорости и поглощения ультразвука, их температурных и частотных характеристик от концентрации белковых и липидных компонентов в сыворотке крови.
4. Исследовать предельные точностные возможности разработанного акустического резонатора малого объема на примере измерения акустических характеристик слюны и рассмотреть возможность использования этих характеристик в кардиологической практике.
5. Изучить влияние радиационной силы на эритроциты крови в поле стоячей ультразвуковой волны в интерферометре малого объема и на основании этих исследований разработать акустический метод определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ) – важного параметра общего анализа крови.

Методы исследований

Проведенные в работе исследования базируются на методах математической физики, теории вероятностей, теоретической акустики, биофизики, а также на методах математического моделирования, с использованием разработанных автором программ и натуральных экспериментов.

Научная новизна работы

В работе впервые:

1. Теоретически и экспериментально исследован цельнометаллический интерферометр постоянной длины малого (менее 80 мкл) объема для серийного акустического анализатора, определены способы поддержания заданных температур в этом интерферометре с погрешностью $\pm 0,002^\circ\text{C}$ и разработаны алгоритмы анализа АЧХ интерферометров для определения

относительного измерения скорости ультразвука с погрешностью $\pm 10^{-4}\%$ и поглощения ультразвука с погрешностью $\pm 1\%$ для сыворотки крови.

2. Разработана методология определения белковых липидных компонентов сыворотки крови на основе измерений скорости и поглощения ультразвука и их температурных и частотных зависимостей и предложен акустический безреагентный метод одномоментного определения общего белка, белковых фракций и параметров липидного спектра сыворотки крови. Успешно проведены клинические испытания безреагентного акустического метода.

3. Исследованы акустические характеристики слюны человека в норме и при патологии сердечно – сосудистой системы. Совместно с медицинскими соисполнителями разработаны рекомендации использования акустического метода исследования слюны в кардиологической практике.

4. Выявлена зависимость скорости оседания эритроцитов (СОЭ) от относительного изменения скорости ультразвука и на основании проведенных исследований по влиянию радиационной силы на эритроциты в цельной крови разработан акустический способ определения СОЭ.

Практическая значимость результатов

Изучение особенностей интерферометра постоянной длины малого объема позволило улучшить технические характеристики серийного прибора – акустического анализатора безреагентного АКБа – 01 БИОМ и подготовить техническое задание для акустического анализатора нового поколения.

Разработанная модель анализа сложных биологических сред (сыворотка крови содержит более 200 компонентов) акустическим методом положена в основу методических рекомендаций для применения акустического анализатора безреагентного АКБа – 01 «БИОМ» в медицинской практике. Прибор в биохимическом исполнении работает в более чем 30 лабораториях в различных регионах России.

Акустический метод определения СОЭ на основе воздействия на эритроциты радиационной силы применяется в выпускаемом фирмой «БИОМ» СОЭ – метре, который используется в клинико-диагностических лабораториях г. Дзержинска, в Кисловодском центральном военном санатории, в клинико-диагностической лаборатории Института курортологии Федерального медико-биологического агентства (г. Пятигорск) и ряде других лечебно – профилактических учреждениях.

Достоверность

Достоверность полученных результатов подтверждается данными клинических испытаний разработанных способов акустического безреагентного анализа сыворотки крови для определения общего белка, белковых фракций и липидных компонентов и цельной крови для

определения скорости оседания эритроцитов в ведущих медицинских лабораториях России: на кафедре лабораторной диагностики Академии последипломного образования Минздравсоцразвития РФ, Ставропольской медицинской академии на кафедре лабораторной диагностики, Клиническом военном госпитале им. Н.Н. Бурденко.

Положения, выносимые на защиту

1. Алгоритм и экспериментальная установка для исследования цельнометаллической конструкции интерферометра постоянной длины, позволяющие разработать оптимальную схему электронного ультратермостатирования интерферометра с нестабильностью 0.002°C за 30 сек для серийного акустического анализатора.

2. Методика акустического анализа биологической жидкости многокомпонентного состава, основанная на высокоточных измерениях относительной скорости и поглощения ультразвука, их температурных и частотных зависимостей, позволяющая получить безреагентный способ определения общего белка, белковых фракций и липидных компонентов сыворотки крови.

3. Методика акустического анализа слюны человека, позволяющая использовать акустический параметр слюны для неинвазивного способа прогнозирования течения инфаркта миокарда в госпитальном периоде лечения пациентов.

4. Выявленное влияние радиационной силы на эритроциты в цельной крови, помещенной в поле стоячей ультразвуковой волны, позволяющее определить скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и разработать новый акустический способ измерения СОЭ.

Апробация результатов и публикации

Результаты диссертационной работы представлялись на XVIII-XX сессиях Российского Акустического Общества (Таганрог - 2006, Нижний Новгород – 2007, Москва – 2008), 5th Forum Acousticum (Paris, 2008), International Congress on Ultrasonics (Chile, 2009), Всероссийской научно – технической конференции «Перспективы фундаментальной и прикладной науки в сфере медицинского приборостроения» (Таганрог, 2009), IX Международной научно-технической конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии» (Суздаль – Владимир, 2010), Международном конгрессе «Лабораторные технологии при организации медицинской помощи» (Москва, 2010), Всероссийской научно – технической конференции «Медицинские информационные системы» (Таганрог, 2010), XLVII Международной научной студенческой конференции «Студент и научно–технический прогресс: Физика» (Новосибирск, 2009), IX – XIII научных конференциях по радиофизике (Нижний Новгород, 2005 – 2009), XI - XIII Нижегородских сессиях молодых ученых (Нижний Новгород, 2006 – 2008).

Основные материалы диссертации опубликованы в 22 работах. Среди них 6 статей (4 из которых входят в список ВАК) и 15 работ, представляющие собой опубликованные материалы докладов на научных конференциях [2 – 7, 9 – 23]. Получен патент РФ на разработанный акустический метод [1]. Одна статья направлена и принята в печать (в журнал «Известия ЮФУ. Технические науки») [8].

Работа выполнена при поддержке Грантов РФФИ № 05-02-16517, 08-02-00631, 09-02-97074; Грантов государственной поддержки ведущих научных школ НШ-5200.2006.2, 1055.2008.2, 3700.2010.2; Проектов ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" (контракт № 02.740.11.0565, контракт № П2308).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка цитируемой литературы. Общий размер работы составляет 129 страниц, список цитируемой литературы включает 83 наименования.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении излагаются состояние и актуальность предмета исследования, краткий обзор известных методов и результатов по теме диссертации, цели и структура работы, научная новизна и практическая значимость проводимого исследования.

В первой главе представлен обзор методов измерения скорости и поглощения ультразвука в жидкостях, а именно импульсный, фазовый и резонаторный методы. Рассмотрены точностные характеристики этих методов и показано, что точности измерений не могут позволить выявить незначительные изменения состава нативных биологических жидкостей (сыворотка крови, цельная кровь).

Регистрация этих изменений необходима для определения белковых фракций и липидных компонентов крови, а также зарегистрировать изменения в скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в цельной крови. Только метод интерферометра постоянной длины имеет потенциальные возможности для решения указанных задач. Однако в литературе рассмотрены вопросы использования акустического интерферометра для исследования сред при концентрации компонентов порядка 1 г/л.

Для применения акустического интерферометра в серийных исследованиях высококонцентрированных биологических жидкостей разработана цельнометаллическая конструкция интерферометра. В первой главе рассмотрено распространение ультразвуковых волн в таком интерферометре. Формулы для определения скорости v_s и поглощения ультразвука на длину волны $\alpha\lambda$, учитывающие трехмерные эффекты при распространении волн в интерферометре и потери из-за конечности

размеров акустического интерферометра малого (менее 80 мкл) объема, имеют следующий вид [4]:

$$v_s = \frac{2\pi f_j}{\sqrt{\hat{\mu}'_j + \left(\frac{2,4049}{R}\right)^2}}, \quad \alpha\lambda = \pi \frac{\Delta f_j}{f_j} - \frac{0,147}{\beta_2} \left(\frac{v_s}{Rf_j}\right)^3 - \frac{v_s}{f_j} \hat{\mu}''_j, \quad (1, 2)$$

где f_j – частота j пика, Δf_j – ширина j пика, R – радиус преобразователей, β_2 – удельный входной импеданс стенки ячейки, $\hat{\mu}'_j, \hat{\mu}''_j$ – реальная и мнимая части волнового числа.

Формулы использованы во второй главе для точного определения скорости и поглощения ультразвуковых волн в разработанном интерферометре постоянной длины малого объема.

Во второй главе описаны автоматизированная установка для измерения скорости и поглощения ультразвука в различных жидкостях на основе интерферометра постоянной длины и интерферометрические датчики, в которых проводились измерения ультразвуковых характеристик сыворотки крови, цельной крови и слюны человека.

В разделе 2.1 представлена разработка акустического датчика малого объема и представлен процесс оптимизации системы его термостатирования. Для этого был собран стенд, в котором использовался интерферометр постоянной длины с системой водяного термостатирования. В данном интерферометре нет элементов регулирования параллельности пьезопреобразователей, параллельность их обеспечивается технологически при изготовлении. Блок – схема стенда представлена на рис. 1.

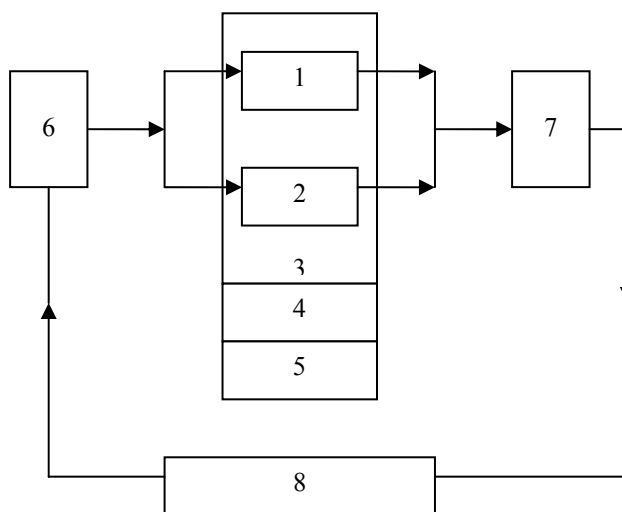


Рис.1. Блок – схема стенда

- 1, 2 – акустические интерферометры с водяным термостатированием;
- 3 – теплоизолирующая оболочка; 4, 5 – водяные ультратермостаты;
- 6, 7 – ВЧ – переключатели; 8 – анализатор спектра СКЧ – 59.

В ходе исследований на специализированном стенде был разработан электронный термометр «БИОМ», который измеряет температуру с точностью не хуже $\pm 0,05^\circ\text{C}$ при разрешении по температуре $0,001^\circ\text{C}$. Была проведена калибровка электронного термометра.

В разделе 2.2 представлены исследования частотных и температурных зависимостей скорости и поглощения ультразвука в растворах солей, которые используются для проверки стабильности работы разработанной акустической системы «БИОМ».

Выявление особенностей, свойств и состава этих сред требует высокоточных измерений скорости (порядка $\sim 10^{-6}$) и поглощения (порядка $\sim 10^{-2}$) ультразвука. Для получения акустических характеристик с такими точностями необходимо поддержание температуры в акустических ячейках с точностью не хуже $\pm 0,05^\circ\text{C}$. Для подтверждения стабильности и правильности получаемых данных необходимо иметь стандартные среды, свойства которых мало меняются со временем. Для контроля стабильности работы акустической системы «БИОМ» были разработаны растворы солей, акустические свойства (скорость и поглощение ультразвука) которых лежат в диапазоне биологических жидкостей.

Для выбора конкретных солевых растворов, которые могли бы имитировать сыворотку крови по акустическим параметрам и использоваться для ежедневного контроля качества, были исследованы следующие водные растворы неорганических солей NaCl (хлорид натрия), NaHCO_3 (гидрокарбонат натрия) и MnSO_4 (сульфат марганец). Первые две соли при концентрации, соответствующей скорости ультразвука в сыворотке крови, в необходимом нам частотном диапазоне 6 – 14 МГц, имели поглощение ультразвука, близкое к поглощению ультразвука в воде и поэтому не пригодны для калибровочных сред. Растворы MnSO_4 оказались наиболее подходящими и по скорости и по поглощению ультразвука, поэтому были исследованы.

Были проведены измерения скорости и поглощения ультразвука в 0.5М водного раствора соли MnSO_4 в зависимости от частоты и температуры, а также при его разбавлении в 2, 4 и 10 раз. Все полученные результаты совпадают с данными работ других авторов.

Всесторонне исследованный акустический датчик является основным принципиальным блоком акустического анализатора безреагентного АКБа-01 БИОМ, разработанного фирмой «БИОМ» для акустического анализа биологических жидкостей (рис. 2).

В третьей главе приведены примеры применения акустического интерферометра постоянной длины малого объема (80 мкл) для исследования различных биологических жидкостей, в частности, сыворотки крови, цельной крови и слюны человека. Разработаны новые акустические методы безреагентного определения общего белка, белковых фракций, липидного спектра сыворотки крови, акустический метод определения

скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в цельной крови, а также акустический способ исследования состава слюны человека.



Рис. 2. Акустический анализатор безреагентный АКБа – 01 «БИОМ»

В разделе 3.1 представлены исследования сыворотки крови человека и предложен акустический метод безреагентного определения общего белка и белковых фракций сыворотки крови человека.

Для разработки акустического метода определения общего белка и белковых фракций сыворотки крови были исследованы частотные и температурные зависимости скорости и поглощения ультразвука в этой биосреде.

Для определения общего белка было измерено поглощение ультразвука в сыворотке крови при определенной температуре из диапазона (15-40)°С и концентрацию общего белка определяют по формуле:

$$A1. \quad C_{об} = \left(\frac{1}{A_{об}} \right) \alpha_s^T, \quad A2. \quad (3)$$

где $C_{об}$ – концентрация общего белка в г/л; α_s^T - относительное поглощение ультразвука в сыворотке крови относительно дистиллированной воды; $A_{об}$ – концентрационный коэффициент поглощения для общего белка.

Акустический метод определения белковых фракций базируется на исследованиях скорости ультразвука в сыворотке крови и в двух модифицированных сыворотках, полученных с помощью воздействия на сыворотку разработанными растворами. Предполагалось, что белковые фракции дают аддитивный вклад в относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке крови и двух модифицированных сыворотках, одна из которых не содержит γ -глобулин, а другая β - и γ -глобулины. Принимая

во внимание минимальное влияние низкомолекулярных компонентов сыворотки крови на скорость ультразвука в этих биологических средах, для определения процентных долей в сыворотке крови альбумина, α_1 - глобулина, α_2 – глобулина, β - глобулина, γ - глобулина использовали систему линейных уравнений.

При проведении сравнительных исследований сыворотки крови для разных групп пациентов методом электрофореза и акустическим методом установлена высокая степень корреляции изменений альбумина, α_1 -, α_2 - и γ - глобулинов ($r = 0.95, 0.92, 0.65, 0.64$ соответственно).

В разделе 3.2 представлен акустический метод определения липидного спектра сыворотки крови человека.

Метод акустического безреагентного определения липидных компонентов сыворотки крови человека базируется на исследованиях частотных зависимостей поглощения ультразвука и температурных зависимостей скорости ультразвука в сыворотке крови, содержащей разное количество белка и липидных компонентов.

На рис. 3 представлены результаты исследования а) температурной зависимости относительного изменения скорости ультразвука и б) частотной зависимости поглощения на длину волны для трех типов сывороток крови при одинаковом (66 г/л) содержании общего белка и различном содержании липидных компонентов: 1 – нормальном ($X_{об} = 4$ ммоль/л, $X_{ЛПВП} = 1,37$ ммоль/л, $Trг = 0,9$ ммоль/л); 2, 3 – патологических (2 - $X_{об} = 5,8$ ммоль/л, $X_{ЛПВП} = 1,00$ ммоль/л, $Trг = 1,9$ ммоль/л; 3 - $X_{об} = 7,4$ ммоль/л, $X_{ЛПВП} = 0,80$ ммоль/л, $Trг = 3,7$ ммоль/л).

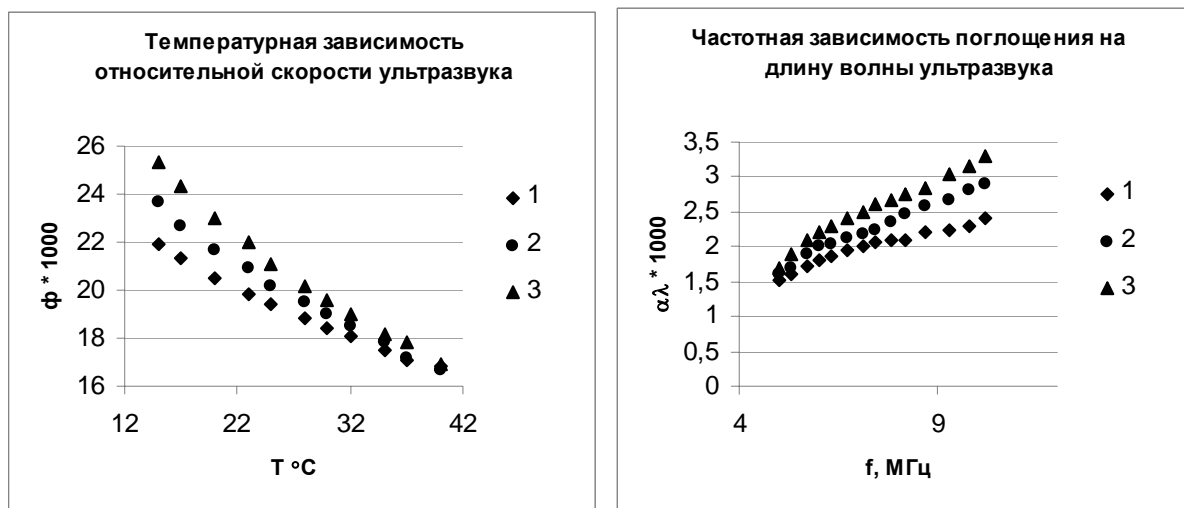


Рис. 3. а) температурная зависимость изменения относительной скорости ϕ ультразвука
б) частотная зависимость поглощения на длину волны $\alpha\lambda$ ультразвука

Анализ результатов исследований сывороток крови с различными значениями липидных компонентов позволил выявить четкие закономерности акустических характеристик (скорости и поглощения ультразвука) от липидного состава сыворотки. Предполагая, аддитивность

вклада отдельных липидных компонентов в температурные зависимости скорости ультразвука, а также в частотные и температурные зависимости поглощения ультразвука на длину волны, определяли концентрацию липидных компонентов сыворотки крови холестерина общего, холестерина липопротеинов высокой плотности и триглицеридов из системы линейных уравнений. Концентрацию холестерина липопротеидов низкой плотности вычисляли, используя формулу Фридрексона.

Для оценки правильности определения липидных компонентов были использованы контрольные сыворотки и проведены сопоставительные исследования предложенного акустического метода определения липидных компонентов сыворотки крови с традиционными биохимическими методами. Результаты сопоставительных исследований имели по всем измеренным липидным компонентам коэффициенты корреляции от 0,73 до 0,85, что соответствует высокой корреляционной связи, достаточной для правильной диагностики нарушений липидного обмена.

В разделе 3.3 приводятся исследования количественной связи акустических характеристик слюны человека с ее биохимическим составом.

Акустические характеристики слюны ранее не исследовались, в то время как эти характеристики могут отражать свойства и состав слюны, которые изменяются при различных функциональных и патологических изменениях в организме человека. Для измерений акустических характеристик слюны использовалась акустическая система «БИОМ». Основные компоненты слюны, которые могут изменять акустические характеристики, это ионы K^+ и Na^+ , а также белок и глюкоза. Концентрация K^+ и Na^+ в тех же образцах слюны определялась методом пламенной фотометрии, концентрация глюкозы в слюне измерялась ферментативно, концентрация общего белка – по Лоури.

На рис. 4 представлены концентрационные зависимости относительных изменений скорости ультразвука $A_i = (v_i - v_0) * 10^3 / v_0$ и поглощение ультразвука $B_i = (\alpha_i - \alpha_0) / \alpha_0$ в водных растворах основных компонентов слюны, где v_i , v_0 , α_i и α_0 – скорости ультразвука и коэффициенты поглощения в растворах отдельных компонентов и дистиллированной воде, соответственно.

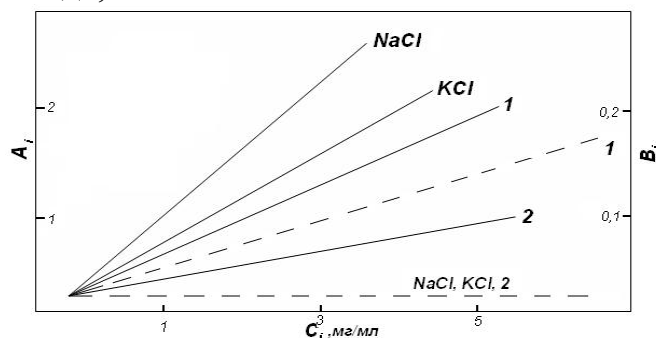


Рис. 4. Концентрационные зависимости A_i (сплошная линия) и B_i (пунктирная линия) в водных растворах K, Na, общего белка (1) и глюкозы (2)

Для характеристики при акустических исследованиях введен акустический показатель слюны (АПС):

$$АПС = \left(\frac{v_{слюна}}{v_{H_2O}} - 1 \right) * 10^3, \quad (4)$$

$v_{слюна}$ – скорость ультразвуковых волн в слюне.

Были проведены исследования акустического показателя для здоровых людей и для людей с различными клиническими формами ишемической болезни сердца (ИБС). Выявлены различия в АПС для разных групп. Для оценки вклада основных компонентов слюны в ее суммарные акустические характеристики измерены концентрации этих компонентов для контрольной группы (здоровые люди) и больных ИБС. Результаты этих исследований представлены в таблице.

Таблица

Компонент слюны	Норма (n=22)		ИБС (n=49)	
	$C_i, мг/мл$	A_i	$C_i, мг/мл$	A_i
К+	0,77±0,049	0,710±0,042	1,32±0,099	1,24±0,09
Na+	0,490±0,052	0,9±0,103	0,73±0,095	1,34±0,011
Общий белок	0,540±0,027	0,11±0,05	1,34±0,08	0,27±0,09
Глюкоза	0,09±0,01	0,020±0,004	0,19±0,02	0,04±0,01
A_i		1,74±0,11		2,890±0,201
A		1,76±0,31		3,01±0,34

Видно, что при ИБС достоверно увеличиваются все основные компоненты слюны, дающие вклад в АПС, а особенно общий белок (в среднем в 2,5 раза) и глюкоза (в среднем в 2 раза). Следует отметить, что сумма вкладов отдельных компонентов в норме совпадает в пределах ошибок измерений с измеренной величиной АПС. При патологии (ОКС), измеренная величина АПС выше суммы вкладов исследованных компонентов. Возможно не были учтены некоторые компоненты слюны, которые, однако не дают принципиального вклада в АПС.

В разделе 3.4 изучено влияние радиационной силы в поле стоячей ультразвуковой волны в интерферометре постоянной длины малого (80 мкл) объема на эритроциты человека в цельной крови и представлен метод определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ), как важного параметра общего анализа крови, на основании акустических измерений.

Под влиянием радиационной силы эритроциты собираются в узлы стоячей ультразвуковой волны и интенсивно агрегируют. Результирующее поведение эритроцитов крови в поле стоячей ультразвуковой волны регистрируется как изменение во времени акустического параметра крови (АПК):

$$АПК = \left(\frac{v_{кр}}{v_{H_2O}} - 1 \right) * 10^3, \quad (5)$$

$v_{кр}$ – скорость ультразвуковых волн в цельной крови.

Было определено различное поведение АПК во времени при нормальных и патологических значениях СОЭ. Полученные зависимости СОЭ от измеряемых акустических параметров позволили предложить новый акустический способ определения СОЭ за интервал времени порядка 120 сек в отличие от традиционного метода, для которого требуется не менее 1 часа.

Проведены сравнительные исследования разработанного акустического и традиционных (метод Панченкова и метод Вестергрена) методов. Испытания подтвердили воспроизводимость и правильность акустического метода определения СОЭ. Корреляция акустического метода с всемирно признанным методом Вестергрена составила 0,94.

В **заключении** приводятся основные достигнутые при выполнении работы результаты.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИИ

1. Рассмотрены особенности распространения ультразвуковых волн в цельнометаллическом интерферометре постоянной длины малого (менее 80 мкл) объема, выяснено влияние дифракции и фазовых потерь из-за неидеальности отражения ультразвуковых волн на поверхностях пьезопреобразователей и, определена предельная добротность такого ультразвукового резонатора.
2. Исследованы условия ультратермостатирования акустического резонатора малого объема с помощью специально разработанного стенда. Определены метрологические характеристики акустического анализатора биожидкостей, основным узлом которого является ультразвуковой интерферометр постоянной длины. Определены подходы к метрологическому контролю ультразвукового интерферометра малого объема. Рекомендованы специальные контрольные образцы, предназначенные для осуществления данного контроля.
3. Выполнены исследования акустических характеристик сыворотки крови, разработаны новые акустические методы безреагентного определения общего белка, белковых фракций и липидных компонентов сыворотки крови человека. Получен патент РФ на акустический способ определения общего белка, белковых фракций и липидных компонентов сыворотки крови.
4. Получен новый интегральный акустический показатель слюны (АПС), измеряемый методом интерферометра постоянной длины, и определены его средние значения для здоровых лиц. Установлена роль динамики величины АПС в краткосрочном прогнозировании осложнений у больных кардиологическими заболеваниями. Измерены вклады отдельных

компонентов слюны в суммарные акустические характеристики. Показано, что в пределах ошибок измерений сумма вкладов отдельных компонентов слюны совпадает с измеренным АПС.

5. Выявлены зависимости скорости оседания эритроцитов от измеряемых акустических параметров, предложен новый акустический способ определения скорости оседания эритроцитов за интервал времени порядка 120 сек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сарвазян А.П. Ультразвуковая велосиметрия биологических соединений // Молекулярная биология. 1983. Т. 17. № 5. С. 916-927.
2. Hubbard J.C. The acoustic resonator interferometer: 1. The acoustic system and its equivalent electric network // Phys. Rev. 1931. V. 38. P. 1011-1019.
3. Эггерс Ф., Функ Т. Ультразвуковые измерения на жидких образцах объемом порядка миллилитра в диапазоне частот 0,5...100 МГц // Приборы для научных исследований. 1973. Т. 44. № 8. С. 38-47.
4. Labhardt A. Shwarz G. A high resolution and low volume ultrasonic resonator method for fast chemical relaxation measurements // Berichte der Bunsen Gesellschaft. 1975. V. 80. № 1. P. 83-92.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ДИССЕРТАЦИИ

1. Клемин В.А., Долгов В.В., Клемина А.В. Способ определения общего белка, белковых фракций и липидных компонентов сыворотки крови // Патент на изобретение РФ № 2253115 от 27 мая 2005 г.
2. Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Исследование акустического резонатора сверхмалого объема для медико-биологических приложений // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Радиофизика. - Н.Новгород: Изд. ННГУ. 2006. Вып. 1(4). С. 59-66.
3. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Акустический анализ состава сыворотки крови человека // Акустический журнал. 2009. Т. 55. № 4 - 5. С. 496-505.
4. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Определение состава сыворотки крови человека на безреагентном акустическом анализаторе «БИОМ» // Известия ЮФУ. Технические науки. 2009. № 10 (99). С. 209-214.
5. Клемин В.А., Клемина А.В. Акустический анализатор «БИОМ» для безреагентной лабораторной медицинской диагностики // Известия ЮФУ. Технические науки. 2009. № 10 (99). С. 258-259.
6. Шаленкова М.А., Михайлова З.Д., Клемин В.А., Клемина А.В. Акустический показатель слюны и его применение в кардиологической практике // Лаборатория. 2010. №1. С. 20-22.
7. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А., Долгов В.В. Безреагентный акустический анализ цельной крови и сыворотки крови человека // Лаборатория. 2010. № 2. С. 29.
8. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Акустический анализ слюны человека // Известия ЮФУ. Технические науки. 2010. № 9 (110). (в печати)
9. Клемина А.В., Клемин В.А., Демин И.Ю. Исследование акустического резонатора сверхмалого объема для медико-биологических приложений // Труды (девятой) Научной конференции по радиофизике «Факультет – ровесник Победы». 7 мая 2005 г. - Ред. А.В.Якимов. - Нижний Новгород: ТАЛАН. 2005. С. 259-260.

10. Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Акустический метод определения общего белка и белковых фракций сыворотки крови человека // Сборник трудов XVIII сессии РАО. – Москва: ГЕОС. 2006. Т.3. С. 199-122.
11. Клемина А.В. Применение акустического интерферометра постоянной длины малого объема для биомедицинской диагностики // XI Нижегородская сессия молодых ученых. Естественно-научные дисциплины: Материалы докладов. - Н.Новгород: Изд. Гладкова О.В. 2006. С. 25.
12. Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Измерение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) с помощью акустического интерферометра постоянной длины // Труды X научной конференции по радиофизике, посвященная 90-летию ННГУ и 100-летию со дня рождения Г.С.Горелика. - Ред. А.В.Якимов. - Нижний Новгород: ТАЛАМ. 2006. С. 25-26 (<http://www.rf.unn.ru/rus/sci/books/06/>).
13. Клемина А.В. Определение общего белка и белковых фракций сыворотки крови человека с помощью акустического метода // XII Нижегородская сессия молодых ученых. Естественно-научные дисциплины: Материалы докладов. - Н.Новгород: Изд. Гладкова О.В. 2007. С. 55-56.
14. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Определение липидных компонентов сыворотки крови человека на основе акустических измерений // Сборник трудов XIX сессии РАО. – Москва: ГЕОС. 2007. Т. 3. С. 145-148.
15. Клемина А.В. Применение акустического резонатора для исследования биологических жидкостей // Труды XI научной конференции по радиофизике, посвященной 105 – летию со дня рождения М.Т. Греховой. – Нижний Новгород, Изд. Нижегородского госуниверситета. 2007. С. 175-176 (<http://www.rf.unn.ru/rus/sci/books/07/>).
16. Klemina A.V. Ultrasonic method to define human serum blood total protein and protein fractions // Abstracts of 5th Forum Acousticum in Acta Acustica (with Acustica). 2008. V. 94. Suppl. 1. P. 256.
17. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю. Акустический метод определения скорости оседания эритроцитов // Сборник трудов XX сессии РАО. – Москва: ГЕОС. 2008. Т. 3. С. 133-136.
18. Клемина А.В. Безреагентный способ определения липидных компонентов сыворотки крови человека // XIII Нижегородская сессия молодых ученых. Естественно-научные дисциплины: Материалы докладов. - Н.Новгород: Изд. Гладкова О.В. 2008. С. 53-55.
19. Клемина А.В. Связь акустических характеристик слюны человека с ее составом // Труды 12 - ой научной конференции по радиофизике, посвященная 90-й годовщине со дня рождения М.М. Кобрин. - Ред. А.В. Якимов. - Н. Новгород: Изд-во ННГУ. 2008. С. 186-188.
20. Sarvazyan A.P., Klemina A.V. Use of radiation force of standing acoustic wave in assessment of erythrocyte sedimentation rate // Paper for International Congress on Ultrasonics. - Universidad de Santiago de Chile. 2009. P. 34.
21. Клемина А.В. Применение акустического резонаторного метода для исследования биологических жидкостей малых объемов // Материалы XLVII Международной научной студенческой конференции «Студент и научно–технический прогресс»: Физика. - Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск. 2009. С. 68.
22. Гурбатов С.Н., Клемина А.В. Применение радиационной силы при измерении скорости оседания эритроцитов // Труды 13 - ой научной конференции по радиофизике, посвященная 85-летию со дня рождения М.А.Миллера. - Ред. А.В. Якимов. - Н. Новгород: Изд-во ННГУ. 2009. С. 162-163 (<http://www.rf.unn.ru/rus/sci/books/09/>).
23. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Акустический безреагентный анализатор «БИОМ» и его применение для определения параметров красной крови и липидного спектра человека // Труды IX Международной научно-технической конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии» с элементами научной молодежной школы. 2010. С.430-432.

ОГЛАВЛЕНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Введение

ГЛАВА 1. Обзор литературы. Теоретическое рассмотрение акустического интерферометра постоянной длины

1.1 Обзор литературы

1.1.1 Физические величины, характеризующие распространение продольных ультразвуковых волн в биологических средах

1.1.2 Методы измерения скорости и поглощения ультразвука

1.2 Теоретическое рассмотрение акустического интерферометра

Выводы первой главы

ГЛАВА 2. Экспериментальное исследование ультразвукового интерферометра постоянной длины малого объема

2.1 Разработка экспериментальной установки

2.2 Калибровочные исследования на экспериментальной установке

Выводы второй главы

ГЛАВА 3. Применение ультразвукового резонатора малого объема для медико-биологических исследований

3.1 Акустический способ определения общего белка и белковых фракций сыворотки крови человека

3.2 Акустический метод определения липидного спектра сыворотки крови человека

3.3 Акустический метод исследования слюны человека

3.4 Акустический метод определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ)

3.4.1 Влияние радиационной силы на процесс оседания эритроцитов в стоячей ультразвуковой волне

3.4.2 Акустический метод определения СОЭ

Выводы третьей главы

Заключение

Список опубликованных работ

Список литературы