

7. Cardigan R., Lawrie A., Mackie I., Williamson L. The quality of fresh-frozen plasma produced from whole blood stored at 4 °C overnight // *Transfusion*. 2005. Vol. 45 (8). PP. 1342-1348.
8. Ang A.L., Wong W.H., Tan J. et al. Ex vivo haemostatic capacity of plasma upon thawing and beyond: A comparison between fresh frozen plasma (FFP) and frozen plasma prepared from whole blood stored at room temperature up to 24 hours postcollection (RTFP24) // *Vox Sang*. 2019. Vol. 114 (3). PP. 198-206.
9. Kuta P., Melling N., Zimmermann R. et al. Clotting factor activity in fresh frozen plasma after thawing with a new radio wave thawing device // *Transfusion*. 2019. Vol. 59 (5). PP. 1857-1861.
10. Platten S., Elegbe O., Bower L. et al. Thawing times and hemostatic assessment of fresh frozen plasma thawed at 37 °C and 45 °C using water-bath methods // *Transfusion*. 2019. Vol. 59 (11). PP. 3478-3484.

*Александр Григорьевич Гудков,
д-р техн. наук, профессор,
кафедра «Технологии приборостроения»,
ФГБОУ ВО «МГТУ им. Н.Э. Баумана»,
генеральный директор,
ООО «НПИ ФИРМА «ГИПЕРИОН»,
Виталий Юрьевич Леушин,
канд. техн. наук, зам. генерального директора,
Вахтанг Нодарович Лемонджава,
начальник конструкторского отдела,
ООО «НПИ ФИРМА «ГИПЕРИОН»,
г. Москва,*

*Сергей Владимирович Сидоркевич,
д-р мед. наук, директор,
Андрей Дмитриевич Касьянов,
канд. мед. наук,
руководитель группы контроля качества,
Елена Анатольевна Киселева,
канд. мед. наук,
зав. отделением переливания крови,
ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России
(Санкт-Петербург),
г. С.-Петербург,
Светлана Викторовна Агасиева,
канд. техн. наук, доцент,
кафедра нанотехнологий
и микросистемной техники,
ФГАОУ ВО «Российский
университет дружбы народов»,
Василий Дмитриевич Шашиурин,
д-р техн. наук, профессор, зав. кафедрой,
Сергей Владимирович Чижиков,
аспирант,
кафедра «Технологии приборостроения»,
ФГБОУ ВО «МГТУ им. Н.Э. Баумана»,
Григорий Александрович Гудков,
лаборант,
ООО «НПИ ФИРМА «ГИПЕРИОН»,
г. Москва,
e-mail: ooo.giperion@gmail.com*

Ю.Д. Люшневская, Ф.А. Губарев, Д.С. Слизович

Портативный оптический прибор для оценки агрегационной активности тромбоцитов

Аннотация

Представлены результаты разработки прототипа портативного прибора на основе метода корреляции цифровых спекл-изображений для исследования нативной крови человека в режиме «point-of-care». Данная работа является продолжением серии публикаций по применению метода корреляции цифровых спекл-изображений для анализа функционального состояния системы гемостаза. Показана возможность анализа нативной крови с использованием метода корреляции лазерных спекл-изображений для качественной оценки состояния системы гемостаза и определения времени агрегации тромбоцитов. Проведено сравнение результатов, полученных с использованием разработанного прототипа прибора, с результатами, полученными при помощи пьезотромбоэластографа НПТЭГ «Меднорд».

Введение

Гемокоагуляция является важнейшим процессом в работе системы гемостаза, именно она отвечает за остановку кровотечения при повреждении сосудистой системы организма. Нарушение свертываемости крови может быть вызвано различными причинами и иметь негативные последствия для жизни и здоровья человека. На сегодняшний день контроль состояния системы гемостаза осуществляется главным образом посредством лабораторных методов диагностики [1]-[3].

Лабораторные методы диагностики системы гемостаза позволяют оценивать такие параметры, как международное нормализованное отношение, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время, и проводятся на образце плазмы. Такие методы являются доступными в лабораторных условиях, однако не позволяют в полной мере обнаружить нарушения состояния системы гемостаза [4]-[6], в частности не позволяют оценить агрегационную активность тромбоцитов. Преаналитические ошибки составляют почти 70 % [7], а анализ плазмы позволяет оценить нарушения лишь относительно.

Ввиду того, что нарушения свертывания крови сопровождаются практически любым заболеванием (инсульты, инфаркты, хирургические вмешательства и т. д.) и требуют назначения противотромботической терапии, важную роль в которой играют антиагреганты, необходимо применять комплексные методы оценки функционального состояния системы гемостаза. Доза и назначение антиагрегантов зависят от индивидуальных особенностей организма, которые необходимо оценивать и учитывать в динамике противотромботической терапии. Таким образом, переход к персонализированной медицине позволит воздействовать именно на те факторы свертываемости, которые приводят к нарушениям [8]-[10].

На сегодняшний день существуют приборы для оценки агрегационной активности тромбоцитов, например приборы «VerifyNow» и «Multiplate» [11], [12]. Такие приборы анализируют нативную кровь и позволяют оценивать индивидуальную чувствительность к антиагрегантам, однако они дорогостоящие и используют метод контактной индуктометрии, который оказывает влияние на результаты исследований и может привести к снижению достоверности измерений. Российским прибором, позволяющим оценивать агрегацион-

ную активность тромбоцитов у постели пациента, является НПТЭГ «Меднорд» [13], [14], построенный на основе метода низкочастотной пьезотромбоэластографии.

Известные приборы исследования активности тромбоцитов регистрируют изменения механических свойств крови (вязкость, плотность и т. д.). В процессе свертывания крови меняются не только механические, но и оптические свойства крови [15]. В связи с этим новым подходом в экспресс-оценке агрегационной активности форменных элементов крови является оптический метод, основанный на применении низкоинтенсивного лазерного излучения, позволяющий анализировать микропробу нативной крови и осуществлять онлайн-оценку процесса. В работе [16] показано, что метод корреляции цифровых спекл-изображений позволяет оценивать протромбиновое время плазмы. В работе [17] метод был апробирован на цитратной крови лабораторных животных. В работах [16], [17] использовалась лабораторная установка, которая стала основой для разработки лабораторного образца прибора, представленного в настоящей работе. В работе [18] обсуждался прототип прибора для прикроватной оценки свертываемости крови и были сформулированы требования к нему.

Данная работа является продолжением работ [16]-[18] и посвящена отработке метода лазерной спекл-корреляции для работы с нативной кровью человека и разработке прототипа измерительного модуля для портативного прибора. Сравнительные исследования нативной крови из одного забора проводятся одновременно с использованием предложенного оптического коагулометра и пьезотромбоэластографа НПТЭГ «Меднорд» (РУ № РЗН 2020/12855).

Материалы и методы

Метод корреляции цифровых спекл-изображений – это оптический метод, позволяющий проводить бесконтактную оценку деформации материалов [19]-[21] и изменения веществ в ходе процессов [22]-[25]. Метод основан на анализе изменения лазерных спеклов, образованных рассеянным от структуры материала когерентным излучением. При изменении в структуре наблюдаемого объекта или при его перемещении происходит изменение спекл-картины. Оценка спекл-картин, регистрируемых в процессе изменений, позволяет определять параметры перемещений или изменений структуры объекта. Кроме того, метод корреляции цифровых спекл-изображений позволяет оценивать оптически плотные жидкие биологические среды, что невозможно или затруднено в случае использования других оптических методов исследования.

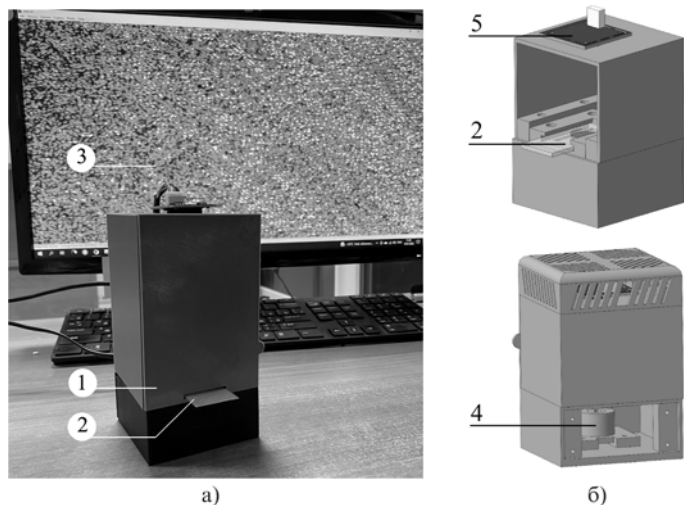


Рис. 1. Внешний вид (а) и схема измерительного модуля (б) аппаратно-программного комплекса: 1 – измерительный модуль; 2 – кювета; 3 – персональный компьютер; 4 – лазерный диод; 5 – USB-камера

На рис. 1 показан прототип аппаратно-программного комплекса, включающий в себя разработанный измерительный модуль, персональный компьютер и программное обеспечение.

Размер измерительного модуля составляет 70 x 70 x 155 мм. В основу измерительного модуля положена схема лабораторной установки, приведенная в [17] и модернизированная для портативного использования (рис. 1б).

В корпусе измерительного модуля предусмотрены кнопка включения/выключения питания и разъем питания. В нижней части корпуса располагается лазерный полупроводниковый диод с длиной волны 635 нм и мощностью излучения 5 мВт. Для включения лазерного диода на разъем питания через адаптер питания подается напряжение +3,5 В. Блок подключения и держатель диода расположены так, что светодиод освещает кювету с образцом. На фронтальной стороне прибора изготовлено отверстие для размещения кюветы, а в передней стенке устройства – отверстие для очистки внутренней поверхности. USB-камера расположена в верхней части корпуса на расстоянии 100 мм от кюветы с образцом. USB-камера подключена к персональному компьютеру.

Корпус измерительного модуля и кювета для образцов изготовлены из оптически непрозрачного и оптически прозрачного пластика соответственно, с использованием аддитивных технологий. Корпус измерительного модуля выполнен из АБС-пластика черного цвета. Выбор цвета определяется особенностями оптических систем, так как черный цвет поглощает свет без отражения. Закрытый корпус прибора позволяет снизить количество внешних помех во время исследования, а значит, повысить точность результатов. Кювета изготовлена из прозрачного АБС-пластика для обеспечения прохождения лазерного излучения через кювету. Все стенки измерительного модуля имеют толщину 3 мм. Диаметр кюветы 10 мм и глубина 0,4 мм обеспечивают объем пробы ~ 50 мкл.

Кровь помещают в кювету таким образом, чтобы образец имел ровную поверхность, что позволяет исследовать одинаковый объем крови во всех экспериментах. Процесс свертывания крови без добавления консервантов начинается сразу после контакта с иглой, поэтому количество манипуляций, выполняемых оператором перед анализом, сводится только к включению записи изображений цифровой камерой. Камера записывает спекл-изображения с частотой 30 кадр/с. Спекл-изображения передаются в персональный компьютер, где сохраняются и обрабатываются с использованием разработанной нами программы в среде программирования «MATLAB». Расчет значений коэффициента корреляции последовательных изображений производится аналогично работам [16], [17].

Результаты

Апробация прототипа прибора проводилась с использованием нативной крови добровольцев. Один образец параллельно оценивался разработанным прототипом и пьезотромбоэластографом НПТЭГ «Меднорд». На рис. 2 представлены зависимости коэффициента корреляции от времени, каждая из которых несет информацию о процессе свертывания крови каждого добровольца. Зарегистрированное пьезотромбоэластографом НПТЭГ «Меднорд» время агрегационной активности отмечено точками Т1...Т5. Численные значения приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты измерения агрегационной активности тромбоцитов, определенные методом корреляции спекл-изображений и тромбоэластографом НПТЭГ «Меднорд»

Способ измерения	Время агрегационной активности, мин				
	T1	T2	T3	T4	T5
Спекл-изображения	4,5	3,6	11,4	9,5	11,3
НПТЭГ «Меднорд»	4,5	3,5	11,5	11,7	8,5

Время агрегационной активности тромбоцитов, регистрируемое методом корреляции спекл-изображений, определялось нами как последний качественный пик, образованный полиномом, построенным по точкам зависимости. Мы полагаем, что первый регистрируемый пик образуется за счет естествен-

ного оседания эритроцитов после помещения крови в измерительную кювету. Второй пик обусловлен началом адгезии и агрегации, начинающимися после оседания эритроцитов. Таким образом, третий пик мы считаем окончанием агрегации тромбоцитов. Однако в случае с пациентом 2 второй качественный пик полинома совпадает со временем свертывания крови, регистрируемым тромбоэластографом. Эта особенность, вероятно, обусловлена различной скоростью протекания биохимических процессов у различных пациентов, что также влияет на скорость изменения оптической плотности. В дальнейшем планируется проведение более комплексного исследования с целью определения вклада биохимических процессов, происходящих в крови в процессе свертывания, в изменение коэффициента корреляции для последующей корректировки результатов измерений.

Анализ полученных зависимостей позволяет сделать вывод, что у добровольцев 1 и 2 процесс коагуляции протекает относительно быстро: кривые 1 и 2 быстрее изменяют свою форму в сравнении с кривыми 3, 4 и 5. Также мы можем видеть, что пьезотромбоэластограф регистрировал окончание процесса свертывания уже на 4,5 и 3,5 минутах, что соответствует выраженной гиперкоагуляции. У добровольцев 3, 4 и 5 время агрегации эритроцитов, зарегистрированное пьезотромбоэластографом, составило 8,5; 11,5 и 11,7 мин соответственно, что соответствует варианту нормы. Кривые 3, 4 и 5 дают информацию о том, что процесс свертывания длится дольше, чем в 1 и 2 экспериментах. Кроме того, характер поведения этих кривых схожий.

Заключение

Результаты, представленные в работе, показывают, что метод корреляции цифровых спекл-изображений позволяет анализировать нативную кровь, в частности оценивать временную агрегационную активность тромбоцитов: характер протекания процесса свертывания, длительность процесса, а также регистрировать отклонение от нормы. Время анализа состав-

ляет не более 15 мин, что приемлемо для использования разработанного прибора для прикроватного мониторинга состояния системы гемостаза. Кривые, полученные с использованием лабораторного прототипа аппаратно-программного комплекса, демонстрируют корреляцию с результатами пьезотромбоэластографии.

В качестве дальнейшего развития объекта исследования, для более детальной интерпретации кривых, получаемых на основе метода лазерной спекл-корреляции и более точного определения временных параметров процесса, необходима разработка стандартизированной методики измерений с учетом влияния биохимических процессов, в частности гематокрита.

За основу разработанного прототипа портативного оптического прибора для оценки агрегационной активности тромбоцитов была взята лабораторная установка, описанная в работах ранее, что дает основание полагать, что разработанный прибор позволяет анализировать плазму, цитратную и нативную кровь. Для проведения анализа не требуются дополнительные реагенты, расходные материалы или оборудование, что в дальнейшем позволит разработать универсальный прибор для персонального использования в режиме «point-of-care».

Список литературы:

1. Карпищенко А.И., Андреев В.А., Антонов В.Г. и др. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы. Руководство для врачей / Под ред. А.И. Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 696 с.
2. Levi M., Hunt B.J. A critical appraisal of point-of-care coagulation testing in critically ill patients // Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2015. № 13 (11). PP. 1960-1967.
3. Luo D., Chelales E.M., Beard M.M., Kasireddy N., Khismatullin D.B. Drop-of-blood acoustic tweezing technique for integrative turbidimetric and elastometric measurement of blood coagulation // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2021. № 413. PP. 3369-3379.

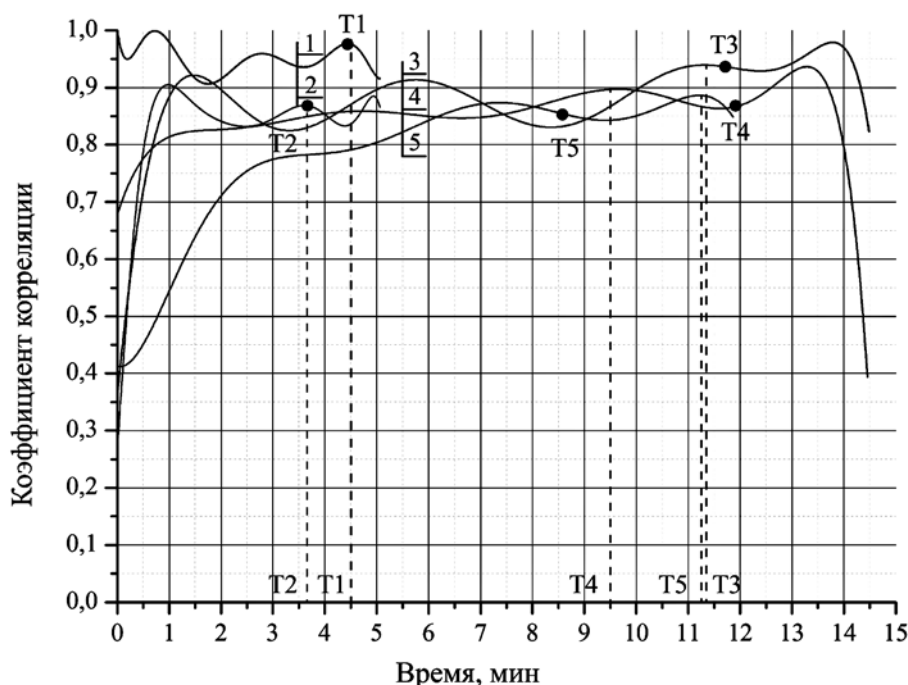


Рис. 2. Зависимости коэффициента корреляции от времени, рассчитанные по лазерным спекл-изображениям. Пунктиром показаны значения, приведенные в табл. 1. Точки T1...T5 – измерения, выполненные тромбоэластографом НПТЭГ «Меднорд»

4. Sharma S., Kumar S., Tewari P., Pande S., Murari M. Utility of Thromboelastography versus Routine Coagulation Tests for Assessment of Hypocoagulable State in Patients Undergoing Cardiac Bypass Surgery // *Annals of Cardiac Anaesthesia*. 2018. № 21 (2). PP. 151-157.
5. Mijin J., Arum H., Hyeran K., Kyoo-Hyung L., Je-Hwan L., Jung-Hee L. A comparison of coagulation test results from heparinized central venous catheter and venipuncture // *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 2020. Vol. 31 (2). PP. 145-151.
6. Pekelharig J., Furck A., Banya W., Macrae D., Davidson S.J. Comparison between thromboelastography and conventional coagulation tests after cardiopulmonary bypass surgery in the paediatric intensive care unit // *International Journal of Laboratory Hematology*. 2014. № 36 (4). PP. 465-471.
7. Соловьев М.А., Тютрин И.И., Удут В.В., Клименкова В.Ф. Опыт диагностики и мониторинга критических нарушений гемостаза // *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2013. № 4. С. 55-60.
8. Bolliger D., Tanaka K.A. Point-of-Care Coagulation Testing in Cardiac Surgery // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2017. Vol. 43 (4). PP. 386-396.
9. Kumar S., Nehra M., Khurana S., Dilbaghi N., Kumar V., Kaushik A., Kim K.H. Aspects of Point-of-Care Diagnostics for Personalized Health Wellness // *International Journal of Nanomedicine*. 2021. Vol. 16. PP. 383-402.
10. Sahli S.D., Rössler J., Tscholl D.W., Studt J.D., Spahn D.R., Kaserer A. Point-of-Care Diagnostics in Coagulation Management // *Sensors*. 2020. № 15 (20). P. 21.
11. Angiolillo D.J., Been L., Rubinstein M., Martin M., Rollini F., Franchi F. Use of the VerifyNow point of care assay to assess the pharmacodynamic effects of loading and maintenance dose regimens of prasugrel and ticagrelor // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2021. № 51. PP. 741-747.
12. Schultz-Lebahn A., Skipper M.T., Hvas A.M., Larsen O.H. Optimized tool for evaluation of platelet function measured by impedance aggregometry // *Platelets*. 2021. № 32 (6). PP. 842-845.
13. Слизович Д.С., Губарев Ф.А., Тютрин И.И. Прикроватный аппаратно-программный комплекс для оценки функционального состояния системы гемостаза // *Медицинская техника*. 2021. № 3. С. 10-13.
14. Меднорд-Техника. Производство и продажа медицинской техники [электронный ресурс] / <http://mednord-t.ru/> (дата обращения: 29.12.2021).
15. Hanson S.R., Tucker E.I., Latour R.A. Blood Coagulation and Blood-Material Interactions / In: *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* / 4th Ed. W.R. Wagner, S.E. Sakiyama-Elbert, G. Zhang M., M.J. Yaszemski (eds.). – Cambridge, MA: Academic Press, 2020. PP. 801-812.
16. Ли Л., Сытник Ю.Д., Губарев Ф.А., Пеккер Я.С. Оценка свертываемости крови по корреляционным характеристикам лазерных спекл-изображений // *Медицинская техника*. 2018. № 3. С. 23-25.
17. Люшневская Ю.Д., Губарев Ф.А., Ли Л., Носарев А.В., ГусакOVA В.С. Определение времени коагуляции цельной крови методом корреляции лазерных спекл-изображений // *Медицинская техника*. 2020. № 4. С. 25-28.
18. Sytnik I.D., Gubarev F.A., Li L. A prototype of optical blood coagulometer / 2019 20th International Conference of Young Specialists on Micro/Nanotechnologies and Electron Devices (EDM), IEEE, Erlagol (Altai Republic). 2019. PP. 593-596.
19. Zheng Q., Mashiwa N., Furushima T. Evaluation of large plastic deformation for metals by a non-contacting technique using digital image correlation with laser speckles // *Materials & Design*. 2020. Vol. 191. Art. № 108626.
20. Pan B. Digital image correlation for surface deformation measurement: Historical developments, recent advances and future goals // *Measurement Science and Technology*. 2018. Vol. 29 (8).
21. Etchepareborda P., Moulet M-H., Melon M. Random laser speckle pattern projection for non-contact vibration measurements using a single high-speed camera // *Mechanical Systems and Signal Processing*. 2021. Vol. 158. Art. № 107719.
22. Li L., Gubarev F.A., Cao Y., Liushnevskaya I.D., Mostovshchikov A.V. Laser speckle correlation technique application for remote characterization of metal nanopowder combustion // *Applied Optics*. 2021. Vol. 60. № 22. PP. 6585-6592.
23. Yokoi T., Aizu Y., Uozumi J. Analysis of blood coagulation process based on fractality and dynamic characteristic of laser speckle pattern // *Journal of Biomedical Optics*. 2018. Vol. 24 (3). Art. № 031018.
24. Khaksari K., Kirkpatrick S.J. Laser speckle contrast imaging is sensitive to advective flux // *Journal of Biomedical Optics*. 2016. Vol. 21 (7). PP. 076001.1-8.
25. Hild F., Bouterf A., Forquin P., Roux F.S. On the use of digital image correlation for the analysis of the dynamic behavior of materials / In: *The micro-world observed by ultra high-speed cameras*. – Springer, Cham, 2017. PP. 185-206.

Юлия Дмитриевна Люшневская,
аспирант,
Федор Александрович Губарев,
канд. физ.-мат. наук, доцент,
Исследовательская школа химических
и биомедицинских технологий,
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский политехнический университет»,
Дмитрий Сергеевич Слизович,
аспирант,
Исследовательская школа химических
и биомедицинских технологий,
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский политехнический университет»,
помощник научного руководителя,
ООО «Меднорд-Техника»,
г. Томск,
e-mail: juliasytnik55@yandex.ru

* * * * *