

## Портативный прибор для экспресс-оценки функционального состояния системы гемостаза

### Аннотация

Приводятся результаты разработки портативного прибора для экспресс-оценки функционального состояния системы гемостаза на основе анализа нативной капиллярной крови. Проведена оценка сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у добровольцев в режиме реального времени с использованием разработанного прибора. Результаты исследований с использованием портативного прибора методом пьезокоагулографии сопоставлялись с результатами исследований методом низкочастотной пьезотромбоэластографии (АРП-01М «Меднорд»). Полученные данные показали высокую степень корреляции, что свидетельствует о перспективности использования предлагаемого метода и прибора для проведения исследований функционального состояния системы гемостаза у постели больного или вне лечебного учреждения.

### Введение

Наибольшее значение функциональное состояние системы гемостаза имеет для поддержания нормального кровотока, предупреждения и купирования геморрагии, тромбозов, ишемий и инфарктов органов, защиты от диссеминации бактерий и токсинов из очагов поражения. В этом состоит важнейшее общебиологическое значение системы гемостаза и роль ее нарушений в патогенезе заболеваний. Важность создания приборов для исследования системы гемостаза, в том числе портативных для экспресс-анализа, трудно переоценить, так как такие приборы являются необходимыми инструментами в оказании помощи пациентам с жизнеугрожающими состояниями [1]. Оперативная и точная диагностика нарушений в системе гемостаза – это фактор, от которого зависят своевременное лечение больного и начало профилактических мероприятий по предотвращению осложнений [2].

Контроль состояния свертывающей системы крови связан с активным применением в клинической практике современных высокоэффективных антикоагулянтов прямого и непрямого действия, антиагрегантов и тромболитиков. В этих случаях наибольший эффект достигается в результате целенаправленной коррекции нарушений гемостаза [3], [4].

На сегодняшний день существует широкий спектр общепринятых методов исследования системы гемостаза, основанных на оценке цитратной венозной крови с длительной преаналитикой [5], [6], что не позволяет своевременно и корректно оценить функциональное состояние анализируемой системы и не дает целостной картины всей системы. Развернутое исследование всех звеньев гемостаза является трудоемким, требует большого количества крови обследуемого, в ряде случа-

ев недостаточно оперативно и носит преимущественно исследовательский, а не прикладной характер [1]-[8].

В рамках тренда «point-of-care test» и персонализации медицины в целом большое внимание уделяется «глобальным» тестам оперативной/интегративной оценки плазменного и клеточного компонентов нативной крови, участвующих в полном цикле фибриногенеза (от инициации/амплификации до формирования поперечно-сшитого фибрина и его возможного лизиса) [9], [10]. Важным фактором корректного исследования является сокращение преаналитического этапа, на который приходится до 68 % всех лабораторных ошибок [11].

Широко используемые [10], [11], а также разрабатываемые в настоящее время методы и приборы для оценки функционального состояния системы гемостаза [12], [13] проводят измерение времени свертывания с использованием плазмы крови, цитратной крови и нативной венозной крови. При этом забор венозной крови возможен только квалифицированным персоналом в специальных условиях. Взятие пробы капиллярной крови является менее травматичным процессом для пациента и может осуществляться вне лечебного учреждения или в домашних условиях.

В связи с вышеизложенным разработка портативного прибора с возможностью проведения исследования нативной капиллярной крови у постели больного или вне лечебного учреждения является актуальной и необходимой задачей. Таким образом, целью рассматриваемой работы являлась разработка портативного прибора для проведения экспресс-оценки функционального состояния системы гемостаза с использованием метода пьезокоагулографии нативной капиллярной крови и оценка реперных показателей, полученных при сравнительном анализе, с результатами исследований с исполь-



Рис. 1. Макет одноразового картриджа (а) и приемного устройства (б)

зованием пьезотромбоэластографа АРП-01М «Меднорд» (ФСР 2010/09767) [14].

### Материалы и методы

Разработка портативного прибора включала в себя разработку одноразового картриджа и приемного устройства для обработки полученных данных. Ключевыми этапами разработки одноразового картриджа являлись оптимизация материала датчика, подбор резонансной частоты датчика и определение размеров измерительной камеры для анализа необходимого количества анализа – цельной капиллярной крови.

Выбор материала датчика обусловлен требованием нанесения серебряных электродов с заданными размерами без повреждения пьезокерамики. Единственным доступным на рынке и недорогим материалом является пьезокерамика ЦТС-19 (цирконат титаната свинца). Форма пьезоэлемента – полый цилиндр, снаружи которого расположен внешний электрод, а внутренним электродом является стенка измерительной камеры. Внешний электрод разделен на две симметричные части: излучатель и приемник ультразвуковых колебаний. Одноразовый картридж и приемное устройство показаны на *рис. 1*. Габаритные размеры картриджа составляют: длина – 5 см, ширина – 1,5 см, высота – 0,5 см; приемного устройства: длина – 12,5 см, ширина – 6 см, высота – 1,7 см. Размер пьезокерамического элемента был подобран в соответствии с требованием обеспечения необходимого объема анализа – нативной капиллярной крови, которая забирается стандартным скарификатором (20...25 мкл). Резонансная частота пьезокерамического элемента составляет  $(160 \pm 0,02) \% \text{ кГц}$ .

Измерительная камера расположена на электронной плате, которая является основанием одноразового картриджа. Для связи одноразового картриджа и портативного прибора использовался стандартный разъем USB, обладающий высокой надежностью, простотой использования и низкой стоимостью.

Обработка и анализ первичных данных, полученных с использованием одноразового картриджа, осуществляется приемным устройством, которое предназначено для использования в режиме «point-of-care». Устройство состоит из системы питания, цифрового генератора сигналов, схемы коррекции сигнала, микроконтроллера, платы усиления преобразования аналоговых сигналов, дисплея, клавиатуры, модуля Wi-Fi, USB-разъема, энергонезависимых часов. Блок-схема устройства представлена на *рис. 2*.

Приемное устройство реализовано на основе микроконтроллера – выбрано готовое решение на базе цифрового модуля «Arduino»© [15]. Основные функции устройства обеспечивает аналого-цифровой преобразователь (АЦП), входящий в состав микроконтроллера. Встроенный аккумулятор предназначен для случая автономного использования портативного прибора у постели больного или непосредственно самим пациентом вне лечебного учреждения. Также предусмотрена возможность подключения устройства к персональному компьютеру посредством USB-кабеля или по Wi-Fi для более детального анализа полученных результатов. В устройстве реализована возможность хранения нескольких последних исследований с указанием даты и времени. Дата и время регистрируются за счет наличия энергонезависимых часов реального времени в составе прибора. Для бесперебойной работы микросхемы часов реального времени предусмотрена сменная миниатюрная батарейка. Клавиатура предназначена для включения и выключения устройства, управления и ввода данных. Цифровой генератор сигналов формирует задающий сигнал на одноразовый картридж и микросхемы преобразователей уровней сигналов.

Для проведения исследования методом пьезокоагулографии одноразовый картридж подключается к USB-разъему включенного приемного устройства. Стандартным скарификатором производится прокол кожи для взятия  $(20 \pm 5)$  мкл нативной капиллярной крови из дистальной фаланги четвертого пальца. Анализ помещается в измерительную камеру одноразового картриджа на время 5...6 мин, в течение которого проба зондируется ультразвуковыми колебаниями частотой 150...160 кГц и исследуются начальные этапы фибринолиза: адгезия/агрегация, амплификация/пропагация.

Аналоговые сигналы с одноразового картриджа предварительно обрабатываются платой преобразования и декодирования аналоговых сигналов и поступают на вход АЦП микроконтроллера. После цифровой обработки результат измерений выводится на LCD-дисплей.

Пьезокоагулограмма представляет собой зависимость амплитуды сигнала пьезопреобразователя в относительных единицах от времени. Реперными точками пьезокоагулограммы являются:  $A_0$  – начальное значение амплитуды;  $A_1$  – значение амплитуды в момент времени  $t = 0,3$  мин;  $A_2$  – значение амплитуды в момент времени  $t = 2$  мин;  $A_3$  – значение амплитуды в момент времени  $t = 4$  мин;  $A_4$  – значение амплитуды в момент времени  $t = 5$  мин.

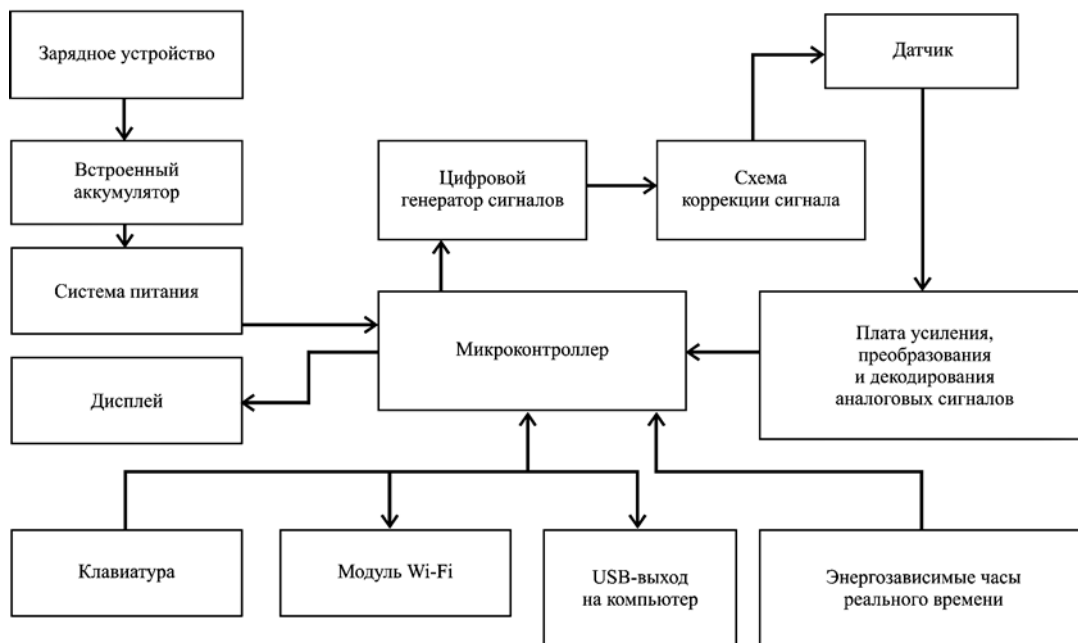


Рис. 2. Блок-схема приемного устройства

После записи пьезокоагулограммы полученные значения  $A_0...A_4$  сравниваются с референтными показателями условно здоровых людей. При увеличении интегрального показателя по отношению к референтному более чем на 20 % определяется состояние гиперкоагуляции, а при снижении не менее чем на 20 % определяется состояние гипокоагуляции. Кроме точек  $A_0...A_4$ , вычисляется площадь под кривой  $S$  и угол наклона коагулограммы  $\alpha$ . Вычисление площади под кривой производится методом трапеций.

Верификация результатов измерений, полученных с применением портативного прибора, в данной работе проводилась путем сравнения с результатами исследования одних и тех же добровольцев, полученными с использованием запатентованной методики низкочастотной пьезотромбоэластографии [16], реализованной в пьезотромбоэластографе АРП-01М «Меднорд» (ФСР 2010/09767). В ходе исследования с использованием пьезотромбоэластографа определяются следующие показатели: ИКК – интенсивность контактной коагуляции (норма составляет 14...37); КТА – константа тромбиновой активности (норма составляет 22,2...38,5); ТЗ – время свертываемости крови – точка желирования (норма составляет 5,7...9,7); ИКД – интенсивность коагуляционного драйва (норма составляет 31,9...36); ИПС – интенсивность полимеризации сгустка (норма составляет 15,6...20); Т5 – время формирования фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка (норма составляет 28...42). Использование метода НПТЭГ, как и представленного в данной работе метода, позволяет в режиме реального времени оперативно оценивать функциональное состояние системы гемостаза и с учетом выявленных гемостазиологических нарушений своевременно назначать соответствующую терапию с последующим мониторингом ее эффективности.

## Результаты

В исследовании принимали участие три добровольца с различным состоянием системы гемостаза. У каждого добровольца одновременно производили забор венозной крови инсулиновым шприцем для проведения пьезотромбоэластографии и забор капиллярной крови для проведения пьезокоагулографии. На рис. 3 представлены пьезокоагулограммы.

На начальном этапе пьезокоагулограммы  $A_1$  (до 0,3 мин) выявить информативный параметр не удастся, требуется дальнейшее изучение этого промежутка времени. Вероятнее всего, скачок на начальном этапе зависит от белкового состава крови. Поэтому в качестве показателей портативного прибора используются разница амплитуд в моменты времени 2, 4 и 5 мин относительно момента  $A_1$  и угол между точками на кривой в моменты времени 0,3 и 2 мин. Соответственно  $\Delta A_2 = A_2 - A_1$ ,  $\Delta A_3 = A_3 - A_1$ ,  $\Delta A_4 = A_4 - A_1$ .

Пациент 1 – условно здоровый доброволец в возрасте 28 лет. Показатели пьезокоагулографии составляют:  $\Delta A_2 = 228$ ;  $\Delta A_3 = 352$ ;  $\Delta A_4 = 376$ ;  $\alpha = 300^\circ$ ;  $S = 54$  (норма). Показатели НПТЭГ для пациента 1 составляют: ИКК = 15,7; КТА = 36; ТЗ = 7,4; ИКД = 35; ИПС = 17,3; Т5 = 37. Показатели соответствуют норме условно здорового человека.

Пациент 2 – возраст 26 лет, тромбофилия, МТНFR-гомозигота, лейденская мутация (FV), прегравидарный этап. Показатели пьезокоагулографии для пациента составили:  $\Delta A_2 = 350$ ;  $\Delta A_3 = 390$ ;  $\Delta A_4 = 396$ ;  $\alpha = 40^\circ$ ;  $S = 68$ . Показатели НПТЭГ составили: ИКК = 17; КТА = 66; ТЗ = 5,2; ИКД = 78; ИПС = 27,3; Т5 = 39,7. По результату исследования значения величин интегрального показателя  $S$  на 25,93 % выше нормы и соответствуют состоянию гиперкоагуляции.

По результатам исследований было принято решение о назначении гепарина подкожно. Через 1 ч после подкожного введения 5000 ЕД гепарина были повторно проведены исследования. На рис. 3б показаны пьезокоагулограммы до и после введения гепарина. Показатели пьезокоагулограммы после введения гепарина составили:  $\Delta A_2' = 190$ ;  $\Delta A_3' = 290$ ;  $\Delta A_4' = 295$ ;  $\alpha' = 230^\circ$ ;  $S' = 41$ .

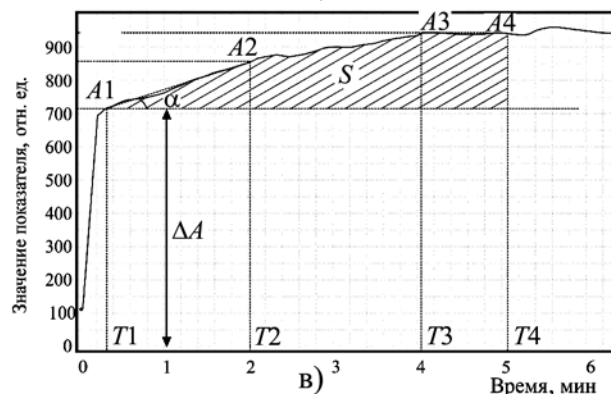
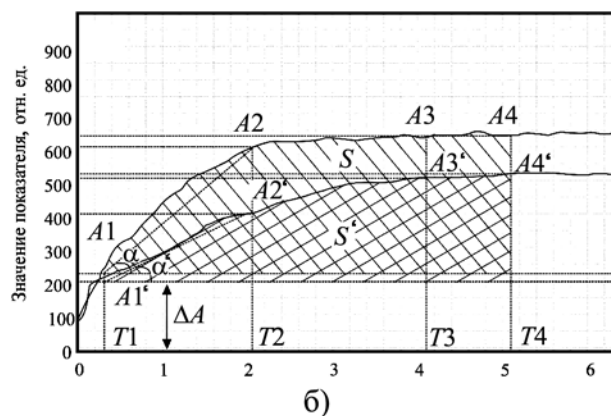
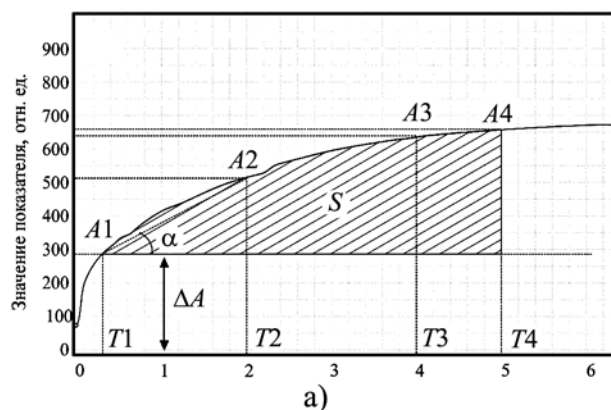


Рис. 3. Пьезокоагулограммы: а) пациент 1 – нормокоагуляция; б) пациент 2 – тромбофилия, пьезокоагулограммы до введения гепарина и после; в) пациент 3 – гипокоагуляция

По результатам исследований выявлено снижение величины интегрального показателя  $S$  на 40 %, что свидетельствует о состоянии гипокоагуляции.

Пациент 3 – возраст 29 лет, прегравидарная антикоагулянтная терапия НМГ (Клексан 0,4 [4000 МЕ]). Показатели пьезокоагулографии составили:  $\Delta A_2 = 140$ ;  $\Delta A_3 = 220$ ;  $\Delta A_4 = 220$ ;  $\alpha = 19^\circ$ ;  $S_2 = 41$ . Показатели НПТЭГ составили: ИКК = 6; КТА = 14; ТЗ = 18; ИКД = 14; ИПС = 9,6; Т5 = 7,0. По результатам исследований выявлено снижение величины интегрального показателя  $S$  на 24 % по отношению к нормальному значению. Показатели соответствуют состоянию гипокоагуляции.

## Заключение

Разработан портативный прибор для экспресс-оценки функционального состояния системы гемостаза в режиме реального времени на основе метода пьезокоагулографии нативной капиллярной крови, и представлены результаты тестирования прибора при исследовании пациентов с нормальной коагуляцией и с отклонениями от нормы. Полученные результаты про-

демонстрировали значительное различие между результатами исследования пациентов с нормокоагуляцией, гиперкоагуляцией и гипокоагуляцией и позволяют идентифицировать отклонения.

Результаты исследований, полученные с использованием портативного прибора методом пьезокоагулографии, показали высокую степень корреляции с результатами, полученными методом НПТЭГ (пьезотромбоэластограф АРП-01М «Меднорд», ФСР 2010/09767) и выполненными одновременно, с одними и теми же пациентами.

Полученные в рамках рассматриваемой работы данные демонстрируют возможность применения разработанного портативного прибора для оценки сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в режиме «point-of-care» и его перспективность как прибора для персонального использования в домашних условиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственной некоммерческой организации в форме Федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Фонд содействия инновациям)», договор (соглашение) 86ГРНТИС5/26016 от 22.12.2016 о предоставлении гранта на проведение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ по теме «Разработка прототипа портативного прибора для персональной экспресс-оценки состояния системы гемостаза с целью профилактики нарушений мозгового кровообращения и когнитивных расстройств после операций на органах сердечно-сосудистой и центральной нервной системы, трансплантации органов и введения имплантатов», НТИ «Нейронет».

#### Список литературы:

1. Галстян Г.М., Суханова Г.А. Введение в гемостаз, современные препараты крови и их влияние на коагуляцию // Медицинский совет. 2013. № 5-6. С. 11-16.
2. Заболотских И.Б., Синьков С.В., Шапошиников С.А. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза. – М.: Изд-во «Практическая медицина», 2008.
3. Тютрин И.И., Жуков Е.Л., Слизович Д.С. Устройство и способ для экспресс-оценки функционального состояния системы гемостаза / Патент RU 269393. 2018.
4. Удут В.В., Тютрин И.И., Котловская Л.Ю., Соловьев М.А., Жуков Е.Л. Технология низкочастотной пьезотромбоэластографии в оценке гемостатического потенциала // Вестник новых медицинских технологий. 2016. № 4. С. 104-113.
5. Вавилова Т.В. Как построить программу лабораторного обследования больного с нарушениями в свертывании крови // Атеротромбоз. 2017. № 2. С. 95-18.
6. Magnette A., Chatelain M., Chatelain B., ten Cate H., Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: Guidance for the clinical laboratories // Thrombosis Journal. 2016. Vol. 14 (49). PP. 1-14.
7. Тютрин И.И., Овсянников Ю.А., Сорокожердиев В.О., Шписман М.Н., Шипаков В.Е., Цыренжапов М.Б. Способ оценки функционального состояния системы гемостаза / Патент RU 2282855. 2004.
8. Тютрин И.И., Жуков Е.Л., Слизович Д.С. База данных показателей, характеризующих состояние гемостатического потенциала, условно здоровых добровольцев сибирской популяции / Свидетельство № 2019620555. 2019.
9. Karkouti K., Callum J., Wijeyesundera D., Rao V., Crowther M., Grocott H., Pinto R. Point-of-Care Hemostatic Testing in Cardiac Surgery: A Stepped-Wedge Clustered Randomized Controlled Trial // Circulation. 2016. Vol. 134.

10. Аксельрод Б.А. РОСТ подход в практике анестезиолога-реаниматолога / Форум анестезиологов и реаниматологов России ФАРР-2019, Москва, 18-20 октября, 2019 / <http://mednord-t.ru/wp-content/uploads/2020/03/РОСТ.pdf> (дата доступа: 17.03.2020).
11. Бражникова О.В., Гевеля Н.В., Майкова И.Д. Педиатрия. Типичные ошибки на преаналитическом этапе проведения лабораторных исследований // Приложение к журналу Concilium Medicum. 2017. № 4. С. 84-90.
12. 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.
13. Фанаскова Е.В., Груздева О.В., Акбашева О.Е., Тютрин И.И., Пенская Т.Ю., Учасова Е.Г., Дылева Ю.А., Барбараш О.Л. Возможность применения метода низкочастотной пьезотромбоэластографии для оценки гемостатического потенциала крови при операциях коронарного шунтирования на фоне длительной аспиринотерапии // Бюллетень сибирской медицины. 2017. № 3. С. 145-155.
14. Тютрин И.И., Шписман М.Н., Шипаков В.Е. Вибрационная пьезоэлектрическая гемокоагулография как способ оценки функционального состояния системы гемостаза // Медицинская техника. 1993. № 5. С. 27-28.
15. Интернет-сайт «Arduino Company» / <https://www.arduino.cc/> (дата доступа: 17.03.2020).
16. Интернет-сайт компании «Меднорд-Техника» / <http://mednord-t.ru/informaciya/> (дата доступа: 17.03.2020).

Егор Леонидович Жуков,  
аспирант,

Исследовательская школа химических  
и биомедицинских технологий,  
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
Томский политехнический университет»,  
коммерческий директор,  
ООО «Меднорд-Техника»,  
Федор Александрович Губарев,  
канд. физ.-мат. наук, доцент,  
Исследовательская школа химических  
и биомедицинских технологий,  
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
Томский политехнический университет»,  
Иван Илларионович Тютрин,  
д-р мед. наук, профессор,  
кафедра анестезиологии, реаниматологии  
и интенсивной терапии,  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации,  
научный руководитель,  
ООО «Меднорд-Техника»,  
г. Томск,  
e-mail: zukentiy@mail.ru