

4. *Liatsikos E.N., Karnabatidis D., Katsanos K. et al.* Ureteral metal stents: 10-year experience with malignant ureteral obstruction treatment // *J. Urol.* 2009. № 182. PP. 2613-2617.
5. *Vanderbrink B.A., Rastinehad A.R., Ost M.C. et al.* Encrusted urinary stents: Evaluation and endourologic management // *J. Endourol.* 2008. № 22. PP. 905-912.
6. *Venkatesan N., Shroff S., Jeyachandran K. et al.* Effect of uropathogens on in vitro encrustation of polyurethane double J ureteral stents // *Urol. Res.* 2011. № 39. PP. 29-37.
7. *Chatterjee S., Maiti P., Dey R. et al.* Biofilms on indwelling urologic devices: Microbes and antimicrobial management prospect // *Ann. Med. Health Sci. Res.* 2014. № 4. PP. 100-104.
8. *Kliš R., Szymkowiak S., Madej A. et al.* Rate of positive urine culture and double-J catheters colonization on the basis of microorganism DNA analysis // *Cent. European J. Urol.* 2014. № 67. PP. 81-85.
9. *Kogan M.I., Moisyuk Ja. G., Shkodkin S.V. et al.* Effectiveness of ureteral stents with nanostructured coating in renal transplantation (preliminary results) // *Urologiia.* 2015. № 1. PP. 58-61.
10. *Mylytgashev M.P., Boyandin A.N., Shumilova A.A., Kapsargin F.P. et al.* The study of effectiveness of polyhydroxyalkanoates based biodegradable stents in ureteropelvic segment pyeloplasty // *Urologiia.* 2017. № 1. PP. 16-22.
11. *Prokic M.* Piezoelectric transducers modeling and characterization / MP Interconsulting. Le Locle, Switzerland, 2004. 186 p.
12. *Ультразвуковые преобразователи / Под. ред. Е. Кикучи.* – М.: МИР, 1972. 424 с.

Алексей Алексеевич Новиков,
д-р техн. наук, профессор,
кафедра «Машиностроение
и материаловедение»,
Антон Юрьевич Цуканов,
д-р мед. наук, профессор,
Данияр Сарсенбаевич Ахметов,
клинический ординатор,
Руслан Фикрат-оглы Мустафаев,
клинический ординатор,
кафедра хирургических
болезней и урологии ДПО,
ФГБОУ ВО «Омский государственный
медицинский университет»
Минздрава России,
Александра Рустамовна Мулюкова,
магистрант,
кафедра «Машиностроение и материаловедение»,
ФГБОУ ВО «Омский государственный
технический университет»
Минобразования России,
г. Омск,
e-mail: yarus952@mail.ru

Л. Ли, Ю.Д. Сытник, Ф.А. Губарев, Я.С. Пеккер

Оценка свертываемости крови по корреляционным характеристикам лазерных спекл-изображений

Аннотация

Приводятся результаты исследования процесса свертывания плазмы крови методом корреляции лазерных спекл-изображений. Проведена сравнительная оценка результатов измерений времени свертывания с использованием промышленного коагулометра «Минилаб 701» и предложенным методом для различных объемов пробы. Показано, что метод корреляции лазерных спекл-изображений не уступает в точности измерения времени свертывания и позволяет производить исследования с пробами значительно меньшего объема.

Введение

Оценка параметров гемостаза в реальном времени по-прежнему остается актуальной задачей, несмотря на большое количество существующих методов и средств измерений. К настоящему времени разработано несколько методов наблюдения и измерения физических характеристик, которыми сопровождается процесс свертывания, например вязкости крови [1]-[4], поверхностного натяжения [5], электропроводности [6]. Чрезвычайно важным фактором, влияющим на качество оценки параметров гемостаза, для всех используемых методов измерения является непосредственный контакт измерительного преобразователя с пробой, что в итоге приводит к искажению естественного процесса свертывания и часто неконтролируемой методической ошибке. Поскольку кровь является частично прозрачной средой с флуктуирующим в пространстве показателем преломления, это дает основание для использования оптических методов в целях оценки процесса свертывания без контакта первичного преобразователя с пробой. При пропускании когерентного излучения через такую среду возникают спекл-изображения [7], [8]. Перспективным бесконтактным методом оценки параметров свертываемости крови является метод, основанный на анализе спекл-изображений, формируемых при прохождении низкоинтенсивного лазерного излучения через пробу плазмы или цельной крови [9]-[11]. При

этом изменение спекл-изображений характеризует изменение структуры пробы в процессе свертывания.

На практике заболевания системы гемостаза характеризуются четырьмя индексами: протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и концентрация фибриногена. Широко распространенные анализаторы времени свертывания крови основаны на определении скорости возвращения металлического шарика или измерении интенсивности рассеянного света. В рассматриваемой работе используется метод корреляции лазерных спекл-изображений для измерения протромбинового времени. Метод основан на определении времени, когда изменение спекл-изображений становится минимальным.

Материалы и методы

В работе использовались плазма и реагент «Техпластин» в виде порошка производства фирмы «Технология стандарт» (Россия) с определенным временем свертывания [12]. Исследовалась нормальная плазма. Техпластин представляет собой растворимый тромбопластин – кальциевый реагент из каверного мозга, стандартизированный по международному индексу чувствительности (МИЧ), – аналог кроличьего тромбопластина. Измеряемое в описываемой работе время свертывания соответствует протромбиновому времени и, со-

гласно инструкции, для нормальной плазмы составляет 13...18 с [12]. Для подготовки реагента в один флакон с Техпластином добавляли 5 мл дистиллированной воды. Флакон встряхивали и выдерживали при температуре +37 °С в течение 20 мин. Для подготовки плазмы во флакон с контрольной плазмой добавляли 1 мл дистиллированной воды и содержимое растворяли при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдерживали 25...30 мин при комнатной температуре. В процессе реакции температуру поддерживали также на уровне +37 °С.

Схема эксперимента представлена на *рис. 1а*. He-Ne лазер ГН-5 (ОАО НИИ ГРП «Плазма», Россия) мощностью излучения 5 мВт через поворотное зеркало освещает исследуемый объем. Объем контейнера составляет 450 мкл, диаметр 7 мм. Для исследования времени свертывания плазмы объем Техпластина и плазмы брали в пропорции 2:1, согласно инструкции по применению [12]. В процессе свертывания, по причине движения микрочастиц и появления сгустков в исследуемом объеме, освещающий свет рассеивается и формирует спекл-изображение.

Регистрация спекл-изображений осуществляется скоростной камерой «HiSpec1» («Fastec», Германия) с объективом «Macro Lens EF 100 mm» («Canon», Япония). Размер спекл-изображения для дальнейшей обработки был выбран 400 × 400 пикселей. Размер пиксела используемой камеры примерно в 10 раз меньше среднего диаметра спекла, что обеспечивает качественную регистрацию спеклов и исключает перекрывающееся размытие. Время записи 30 с достаточно для измерения протромбинового времени.

Для определения времени свертывания плазмы в качестве характеристического параметра использовали коэффициент корреляции изображений. Коэффициент корреляция рассчитывали по формуле (1). Расчеты проводили в программном продукте «MATLAB 15» («The MathWorks», США):

$$C = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_{ij}, y_{ij}) - \bar{f}] \cdot [g(x_{ij}, y_{ij}) - \bar{g}]}{\sqrt{\left\{ \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_{ij}, y_{ij}) - \bar{f}]^2 \right\} \cdot \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [g(x_{ij}, y_{ij}) - \bar{g}]^2}}, \quad (1)$$

где \bar{f} – средняя интенсивность текущего спекл-изображения; $f(x_{ij}, y_{ij})$ – интенсивность пиксела на позиции (x_{ij}, y_{ij}) ; \bar{g} – средняя интенсивность предыдущего спекл-изображения; $g(x_{ij}, y_{ij})$ – интенсивность пиксела на позиции (x_{ij}, y_{ij}) .

Формула для расчета коэффициента корреляция использовалась ранее в работе [13], в которой были оптимизированы

условия измерений. Для определения времени свертывания в работе [14] рассчитывался коэффициент корреляции между последовательными спекл-изображениями при постоянном окне расчета. Было найдено, что коэффициенты корреляции соответствуют скорости изменения спекл-изображений и скорость изменения спекл-изображений соответствует движению частиц в смеси плазмы и реагента. Остановка движения частиц означает, что свертывание завершилось. Таким образом, время свертывания определяется как время с момента начала движения спеклов до момента, когда спекл-изображение перестает меняться или меняется незначительно (*рис. 1б*).

Верификация результатов измерений, полученных с применением метода корреляции лазерных спекл-изображений, проводилась путем сравнения с результатами измерений с использованием широко распространенного на практике оптико-механического коагулометра «Минилаб 701» (АО «Юнимед», Россия). Измерения обоими методами производились не менее 10 раз при разных объемах плазмы.

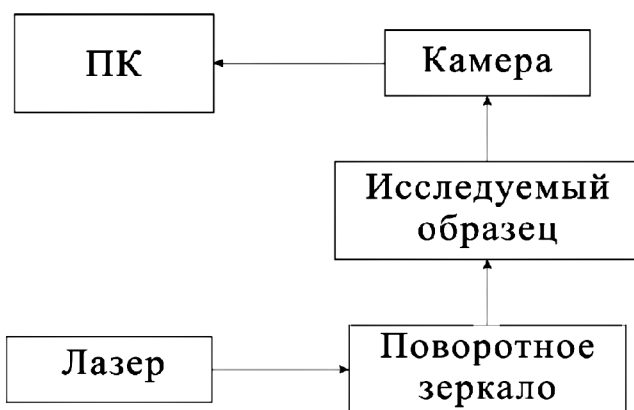
Результаты

На *рис. 2* представлены результаты измерения времени свертывания при разном объеме плазмы. График на *рис. 2а* показывает время свертывания плазмы, измеренное оптико-механическим коагулометром «Минилаб 701»; *рис. 2б* показывает время свертывания, измеренное методом корреляции лазерных спекл-изображений. Как показано на *рисунке*, значения времени свертывания, измеренные анализатором, находятся в диапазоне от 11,4 до 15,3 с. Значения времени свертывания, измеренные методом корреляции лазерных спекл-изображений, находятся в диапазоне от 14,4 до 17,4 с (*рис. 2б*), что на 1 с меньше, чем в первом случае, и согласуются с характерным временем свертывания 13...18 с, приведенным в инструкции [12]. Среднее значение времени свертывания при одном объеме плазмы отличается на 1,28...3,5 с в большую сторону при измерении методом корреляции лазерных спекл-изображений. Сравнивая *рис. 2а* и *рис. 2б*, можно заметить, что погрешность измерения составляет ± 1 с.

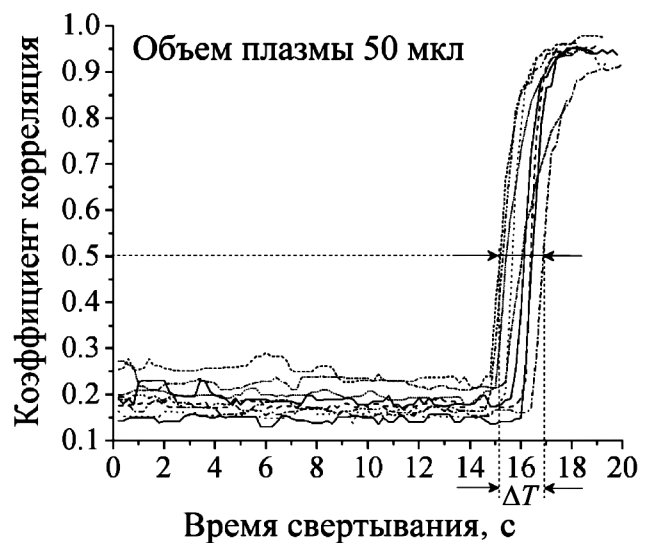
Измерения, проведенные при разном объеме плазмы, показали, что независимо от используемого метода при объеме плазмы 50 мкл разброс результатов измерений наименьший. При этом наблюдается минимальная разница 1,28 с между результатами измерений, полученными разными методами. Наибольший разброс значений имеет место при объеме плазмы 25 мкл.

Заключение

В рассматриваемой работе показана возможность измерения времени свертывания плазмы крови путем анализа лазер-



а)



б)

Рис. 1. Схема эксперимента (а) и характерный вид кривых коэффициента корреляции во время протекания процесса свертывания (б)

ных спекл-изображений. Приводится сравнение результатов, полученных промышленным коагулометром «Минилаб 701» и методом корреляции лазерных спекл-изображений. При использовании последнего требуемый объем пробы существенно меньше. Исследовано влияние объема плазмы на результаты измерения времени свертывания. По результатам экспериментов оптимальный объем плазмы составил 50 мкл. При использовании анализатора рекомендуемый объем составляет 200 мкл.

При использовании предложенного метода разброс значений составляет менее 2 с для конкретного объема. Расхождение между результатами измерений методом корреляции лазерных спекл-изображений и с применением оптико-механического анализатора составило 1,28...3,5 с при различных объемах проб. Полученные результаты демонстрируют возможность применения метода лазерных спекл-изображений для диагностики заболеваний системы гемостаза. В частности, интерес представляет разработка метода и прибора для экспресс-анализа свертываемости цельной крови.

Список литературы:

1. *Hansson K.M., Vikinge T.P., Ranby M., Tengvall P., Lundstrom I., Lindahl T.L.* SPR analysis of coagulation in whole blood with application in prothrombin time assay // *Biosens. Bioelectron.* 1999. Vol. 14. PP. 671-682.
2. *Puckett L.G., Barrett G., Kouzoudis D., Grimes C., Bachas L.G.* Monitoring blood coagulation with magnetoelastic sensors // *Biosens. Bioelectron.* 2003. Vol. 18. PP. 675-681.
3. *Huang C.C., Wang S.H. and Tsui P.H.* Detection of blood coagulation and clot formation using quantitative ultrasonic parameters // *Ultrasound Med. Biol.* 2005. Vol. 31. PP. 1567-1573.
4. *Libgot-Callé R.* High frequency ultrasound device to investigate the acoustic properties of whole blood during coagulation // *Ultrasound Med. Biol.* 2008. Vol. 34. PP. 252-264.
5. *Mintz M.* Method and apparatus for detecting a blood clot / U.S. Patent. No. 4787369, 1989.
6. *Тютрин И.И., Сорокожердиев В.О., Овсянников Ю.А., Штисман И.Н., Шипаков В.Е., Цыренжапов М.Б.* Способ оценки функционального состояния системы гемостаза / RU патент. № 2282855, 2006.
7. *Laser speckle and related phenomena* / Ed. J.C. Dainty. – Springer-Verlag, 1984. 342 p.
8. *Тучин В.В.* Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. 479 с.

9. *Piederrière Y., Cariou J., Guern Y., Le Brun G., Le Jeune B., Lotrian J., Abgrall J.F., Blouch M.T.* Evaluation of blood plasma coagulation dynamics by speckle analysis // *J. Biomed. Opt.* 2004. Vol. 9. PP. 408-412.
10. *Patiño-Velasco M.M., Andrade-Eraso C., Vasquez-Lopez J., Trivi M., Rabal H.J.* Blood Coagulation Measurements Using Dynamic Speckle Technique // VI Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB. 2014. Vol. 49. PP. 91-94.
11. *Tripathi M.M., Hajjarian Z., Van Cott E.M., Nadkarni S.K.* Assessing blood coagulation status with laser speckle rheology // *Biomedical Optics Express.* 2014. Vol. 5. № 3. PP. 1-15.
12. http://www.tehnologia-standart.ru/catalog/tekhplastin_test/tekhplastin_test_100_opr_.html.
13. *Gubarev F., Li L., Klenovskii M., Glotov A.* Speckle pattern processing by digital image correlation // MATEC Web of Conferences. 2016. Vol. 48. 04003. PP. 1-6.
14. *Li L., Bloskhina A.I., Gubarev F.A.* Liquid transparency changing dynamics estimation by means of digital speckle correlation / Conference: 2017 Progress in Electromagnetics Research Symposium – Spring (PIERS).

Ли Линь,
аспирант, ассистент,
Юлия Дмитриевна Сытник,
студент,
Федор Александрович Губарев,
канд. физ.-мат. наук, доцент,
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский политехнический университет»,
Яков Семенович Пеккер,
канд. техн. наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ,
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский политехнический университет»,
г. Томск,
e-mail: wojiaolilin@mail.ru

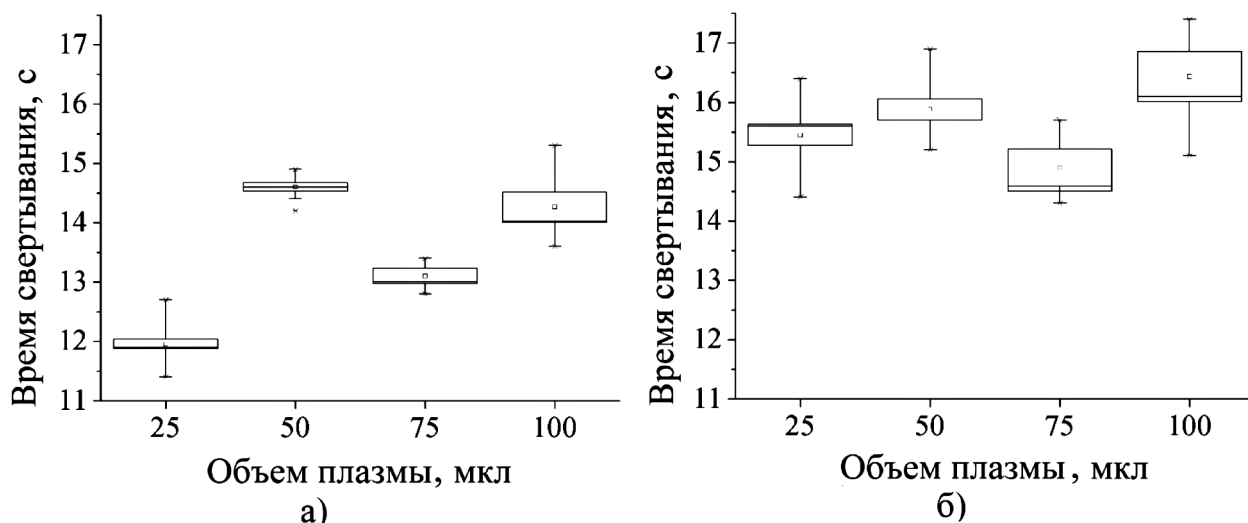


Рис. 2. Результаты измерений времени свертывания при разном объеме плазмы