

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОЦЕНКИ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА КОАГУЛЯЦИИ

Носова Е.В., Аристов А.А., Нefeldова Н.С.

Научный руководитель: Евтушенко Г.С., профессор, д.т.н.

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: zhogloev@gmail.com

DEVELOPMENT OF A METHOD OF ESTIMATION COAGULATION PROCESS PARAMETERS

Nosova E.V., Aristov A.A., Nefedova N.S.

Scientific Supervisor: Prof., Dr. Evtushenko G.S.

Tomsk Polytechnic University,

634050, Lenin str. 30, Tomsk, Russia

E-mail: zhogloev@gmail.com

Abstract

Article is devoted to the development of a new method of carrying out coagulation tests based on photometric study of bioliquid droplet samples. It is defined that the most informative are the optical curves obtained at the receiver location in the optical focus of droplet test, formed after the coagulation process. Researches on improvement of the methodology of carrying out experiments in order to increase the sensitivity and repeatability of our method are presented.

Своевременная диагностика нарушений процесса коагуляции играет большую роль в вопросе снижения уровня смертности и улучшения качества жизни. Много внимания уделяется разработке новых современных и надежных методов диагностики системы гемостаза. [1] В связи с этим на кафедре Промышленной и медицинской электроники НИ ТПУ был предложен и апробирован метод фотометрирования капельных образцов биожидкостей [2], а также техническое устройство, реализующее его.

В ранних работах [3] был описан разработанный метод и представлены первые результаты экспериментов. Полученные опытные данные использования метода фотометрирования капельных проб для определения протромбинового времени позволили сделать вывод о перспективности его применения. Действительно, полученная оптическая кривая, описывающая изменение светопропускания в ходе протекания процесса коагуляции, характеризует не только время образования сгустка, но и полную динамику данного процесса (рис.1).

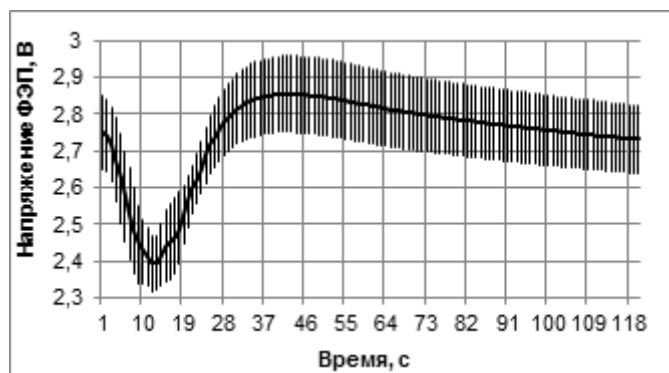


Рис.1. Форма оптического сигнала при образовании фибринового сгустка (тест по определению протромбинового времени, контрольная плазма)

Теоретический анализ процесса свертывания позволил четко соотнести форму типичной кривой со стадиями данного процесса. Наше предположение о соответствии времени минимума на кривой протромбиновому времени подтверждается экспериментами с использованием образцов плазмы, имеющих

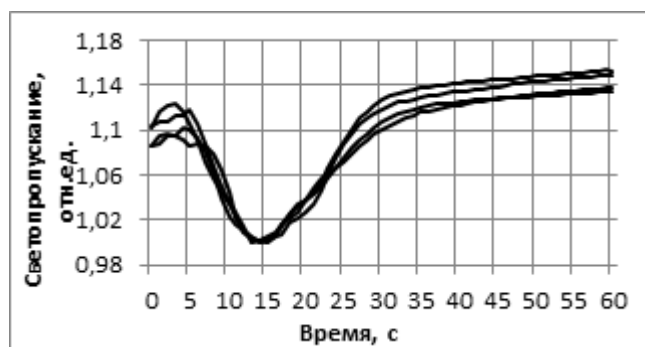
разное время образования фибринового сгустка вследствие разной концентрации факторов свертывания [3].

Первоначальные эксперименты проводились по методике, описанной ниже. Для определения протромбинового времени нами использовался набор реагентов «Техпластин-тест» фирмы «Технология-Стандарт» (г. Барнаул). Данный набор реагентов предназначен для оценки протромбинового времени свертывания цитратной плазмы в ручном варианте или с помощью коагулометра.

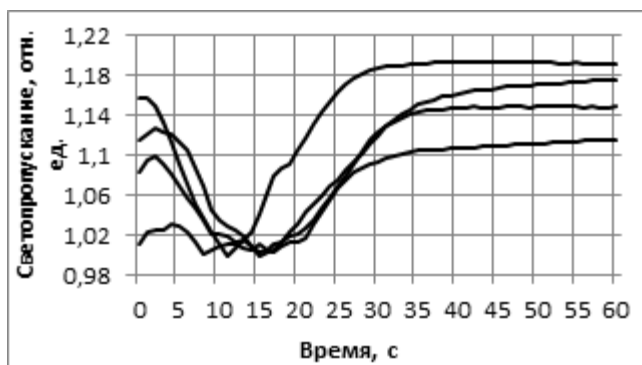
По стандарту, описанному в инструкции к набору реагентов, проводилась подготовка техпластина и контрольной нормальной плазмы (входит в состав набора) к анализу. Затем данные реагенты смешивались непосредственно на специальных фотометрических кольцевых кюветах диаметром 5 мм в соотношении 2:1 (две части техпластина и одна часть плазмы). Таким образом, анализируемые образцы формировались в виде лежащих капель. Объем капель был выбран таким, чтобы капля была устойчивой (не растекалась), и в то же время ее форма была достаточно выпуклой и стремилась к полусфере. Учитывая эти факторы, объем капель был выбран 21 мкл.

В ранних работах было доказано, что поскольку капля представляет собой плосковыпуклую линзу, а смешиваемые компоненты достаточно прозрачны, данная система обладает свойством фокусировать проходящее через нее излучение. Экспериментально было установлено, что наибольшие изменения оптического сигнала, связанные с процессами в капельном образце при образовании фибринового сгустка, регистрируется при положении приемника в области оптического фокуса [3]. Здесь, однако, необходимо уточнить, что точка фокуса при протекании процесса коагуляции в капле изменяет свое положение, а именно немного удаляется от капли. Это связано с изменениями энергетических характеристик капли в процессе коагуляции и перераспределением компонентов внутри капельного образца. И именно при положении фотоприемника в этом «удаленном» фокусе достигается наибольшая чувствительность оптической системы к протекающим процессам.

В целях разработки оптимальной схемы проведения фотометрических исследований было решено проверить влияние очередности смешивания реагентов при формировании капельного образца. В соответствии с первоначально принятой методикой на кювету наносился техпластин, после чего к нему добавлялась плазма, завершая формирование капельного образца. Сравнительные эксперименты, проведенные по данной методике и методике, при которой смешивание реагентов происходило в обратном порядке (7 мкл плазмы наносилось на кювету, после чего к ней добавлялось 14 мкл техпластина), показали следующие результаты (рис.2).



а)



б)

Рис.2. а) Динамики изменения оптических кривых при коагуляции в случае добавления плазмы к техпластину (серия из четырех повторений). б) Динамики изменения оптических кривых при коагуляции в случае добавления техпластина к плазме (серия из четырех повторений).

Видно, что эксперименты, выполненные по первоначально выбранной методике (рис.2а) имеют лучшую повторяемость результатов. Возможно, этот факт объясняется тем, что в отличие от случая (рис.2б), время реакции здесь больше времени смешивания потоков жидкости (техпластина и плазмы), в результате чего процесс коагуляции возникает в однородно смешанной гомогенной жидкости. Таким образом, можно сделать вывод о целесообразности использования первоначальной методики смешивания реагентов.

Таким образом, проведенные нами экспериментальные исследования показали возможность использования метода фотометрирования капельных образцов для получения информации о времени коагуляции крови при проведении протромбинового теста. Причем, данная методика характеризуется простотой выполнения, малыми объемами образца, необходимого для проведения анализа, а так же возможностью повысить информативность исследования за счет оценки не только времени образования сгустка, но и отслеживания динамики всего процесса. Кроме того, поскольку отсутствует перемешивание образца в ходе анализа, не происходит искусственной активации процесса свертывания, что делает данную методику более физиологичной. Безусловно, требуются дальнейшие исследования, направленные на усовершенствование предложенного метода, заключающиеся в улучшении оптической системы и конструкции измерительной камеры, а также апробации данного метода на других коагулометрических тестах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Свертывание крови: методы исследования и механизмы регуляции. — Клиническая онкогематология, 2008; 1: 174-181.
2. Аристов А.А. Биотехническая система экспресс-оценки процесса оседания эритроцитов в микрообъемах.// Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук. Томск: Изд. ТПУ, 2006.
3. A. Aristov, E. Nosova. Estimation of blood clotting in the drip samples using optical methods // Mechanical Engineering, Automation and Control Systems: Proceedings of International Conference, Tomsk, October 16-18, 2014. - Tomsk: TPU Publishing House, 2014, pp. 1-4.