

Министерство образования и науки Российской Федерации
федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Инженерная школа неразрушающего контроля и безопасности
Направление подготовки 12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»
Отделение электронной инженерии

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Анализ свертываемости крови методом корреляции цифровых спекл-изображений

УДК 612.151.2-073.584

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1Д41	Сытник Юлия Дмитриевна		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Губарев Ф.А.	к. ф-м. н.		

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Николаенко В.С.			

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент	Мезенцева И.Л.			

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Фокин А.В.	к.т.н.		

Томск – 2018г.

Планируемые результаты обучения

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)
<i>общефессиональные и профессиональные компетенции</i>	
P1	Применять базовые и специальные естественнонаучные, математические, социально-экономические и профессиональные знания в комплексной инженерной деятельности при разработке, производстве, исследовании, эксплуатации, обслуживании и ремонте биомедицинской и экологической техники
P2	Ставить и решать задачи комплексного инженерного анализа и синтеза с использованием базовых и специальных знаний, современных аналитических методов и моделей
P3	Выбирать и использовать на основе базовых и специальных знаний необходимое оборудование, инструменты и технологии для ведения комплексной практической инженерной деятельности с учетом экономических, экологических, социальных и иных ограничений
P4	Проводить элементарный экономический анализ ресурсов, технологий и производств при решении профессиональных задач в области биотехнических систем и медицинской техники
P5	Проводить комплексные инженерные исследования, включая поиск необходимой информации, эксперимент, анализ и интерпретацию данных с применением базовых и специальных знаний и современных методов для достижения требуемых результатов
P6	Внедрять, эксплуатировать и обслуживать современное высокотехнологичное оборудование в предметной сфере биотехнических систем и технологий, обеспечивать его высокую эффективность, соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда, выполнять требования по защите окружающей среды
<i>Общекультурные компетенции</i>	
P7	Использовать базовые и специальные знания в области проектного менеджмента для ведения комплексной инженерной деятельности с учетом юридических аспектов защиты интеллектуальной собственности
P8	Осуществлять коммуникации в профессиональной среде и в обществе, в том числе на иностранном языке, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты комплексной инженерной деятельности
P9	Эффективно работать индивидуально и в качестве члена команды, проявлять навыки руководства группой исполнителей, состоящей из специалистов различных направлений и квалификаций, с делением ответственности и полномочий при решении комплексных инженерных задач
P10	Демонстрировать личную ответственность, приверженность и готовность следовать профессиональной этике и нормам ведения комплексной инженерной деятельности
P11	Демонстрировать знание правовых социальных, экологических и культурных аспектов комплексной инженерной деятельности, компетентность в вопросах охраны здоровья и безопасности жизнедеятельности
P12	Проявлять способность к самообучению и непрерывно повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСООБЪЕКТИВНОСТЬ И
РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Студенту:

Группа	ФИО
1Д41	Сытник Юлии Дмитриевне

Школа	ИШНКБ	Отделение школы (НОЦ)	ОЭИ
Уровень образования	Бакалавр	Направление/специальность	12.03.04 Биотехнические системы и технологии

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

<i>1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	Работа с информацией, представленной в научных публикациях, аналитических материалах, статистических бюллетенях, нормативно-правовых документах.
<i>2. Нормы и нормативы расходования ресурсов</i>	Определение структуры плана проекта и трудоёмкости работ, разработка графика проведения НИИ, бюджет НИИ.
<i>3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования</i>	Определение интегрального показателя финансовой эффективности, интегрального показателя ресурсо-эффективности, интегрального показателя эффективности и сравнительной эффективности вариантов исполнения

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

<i>1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НИИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	Выявление потенциальных потребителей результатов исследования, анализ конкурентных технических решений, SWOT-анализ.
<i>2. Планирование научно-исследовательских работ</i>	Структура работ в рамках научного исследования.
<i>3. Бюджет научного исследования</i>	Сырье, материалы, покупные изделия и полуфабрикаты, основная заработная плата, дополнительная заработная плата исполнителей темы.

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

<ol style="list-style-type: none"> <i>1. Оценка конкурентоспособности технических решений</i> <i>2. Матрица SWOT</i> <i>3. Перечень этапов проведения НИИ</i> <i>4. Оценка материальных затрат НИИ</i> <i>5. Оценка основной заработной платы</i> 	
--	--

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	20.03.18
---	----------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Николаенко В.С.			

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1Д41	Сытник Юлия Дмитриевна		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

Группа	ФИО
1Д41	Сытник Юлии Дмитриевне

Школа	ИШНКБ	Отделение	ОЭИ
Уровень образования	Бакалавр	Направление/специальность	12.03.04 Биотехнические системы и технологии

Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения	Объектом исследования является метод цифровой корреляции спекл-изображений. Данный метод можно использовать для оценки изменения свойств биологических жидкостей.
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Производственная безопасность	<p>1.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые может создать объект исследования</p> <p>1.1.1 требования по технике безопасной эксплуатации лазерных систем;</p> <p>1.1.2 меры предосторожности при работе с РНП-плазмой и целевой кровью.</p> <p>1.2 Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований</p> <p>1.2.1 повышенная загазованность воздуха рабочей среды;</p> <p>1.2.2 отклонение показателей микроклимата;</p> <p>1.2.3 пожарная безопасность;</p> <p>1.2.4 электробезопасность.</p>
2. Экологическая безопасность:	<ul style="list-style-type: none"> – анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы); – анализ воздействия объекта на литосферу (отходы);
3. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	<ul style="list-style-type: none"> - электрический ток; - пожаробезопасность
4. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:	<ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства;

	– организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны.
--	--

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	20.03.2018
--	------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент	Мезенцева Ирина Леонидовна			

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1Д41	Сытник Юлия Дмитриевна		

Министерство образования и науки Российской Федерации
федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Инженерная школа неразрушающего контроля и безопасности
Направление подготовки 12.03.04 Биотехнические системы и технологии
Отделение электронной инженерии

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ООП

(Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Бакалаврской работы

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)

Студенту:

Группа	ФИО
1Д41	Сытник Юлия Дмитриевна

Тема работы:

Анализ свертываемости крови методом корреляции цифровых спекл-изображений	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	

Срок сдачи студентом выполненной работы:

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.)</i></p>	<p>Объектом исследования является метод корреляции цифровых спекл-изображений.</p> <p>Данный метод используется для анализа свойств объектов и жидкостей.</p>
<p>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</p> <p><i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<ol style="list-style-type: none">1. Аналитический обзор литературы с целью определения области применения метода корреляции цифровых спекл-изображений;2. Изучение метода корреляции цифровых спекл-изображений;3. Оценка возможности применения данного метода для анализа времени свертывания крови;4. Анализ времени свертывания крови данным методом.
<p>Перечень графического материала</p>	

(с точным указанием обязательных чертежей)

Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы

(с указанием разделов)

Раздел	Консультант
«Финансовый менеджмент»	Николаенко Валентин Сергеевич
«Социальная ответственность»	Мезенцева Ирина Леонидовна

Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:

--

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику

--

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Губарев Ф.А.	к.ф.-м.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1Д41	Сытник Юлия Дмитриевна		

Реферат

Выпускная квалификационная работа 75 с., 16 рис., 18 табл., 39 источников.

Ключевые слова: когерентное излучение, протромбиновое время, свертываемость крови, He-Ne лазер, спекл-изображение.

Объектом исследования является метод корреляции цифровых спекл-изображений.

Цель работы – применение метода корреляции цифровых спекл-изображений для анализа времени свертывания цельной крови.

В процессе исследования проводился литературный обзор по применению данного метода для анализа свертываемости крови. Метод был протестирован и затем были проведены эксперименты по определению времени свертывания контрольной плазмы и цельной крови.

В результате исследования было показано, что метод корреляции цифровых спекл-изображений может быть использован для определения времени свертывания не только плазмы крови, но и цельной крови.

Область применения: медицинская диагностика, хирургия, медицина

Экономическая эффективность/значимость работы: внедрение нового метода для анализа свертывания крови. Оптические методы исследования являются в настоящее время активно развивающимися, а значит, разработка нового недорогого метода анализа свертывания крови является актуальным.

В будущем планируется разработка компактного прибора для непрерывного мониторинга времени свертывания крови во время хирургических операций.

Оглавление

Введение.....	12
Обзор литературы	14
1 Механизм коагуляции крови	15
1.1 Модель коагуляционного каскада.....	17
1.1.1 Внешний путь активации коагуляции крови	17
1.1.2 Внутренний путь активации коагуляции крови	17
1.2 Общий путь коагуляции крови.....	18
2 Применение метода спекл-изображений для анализа биологических процессов и тканей	21
2.1 Оценка вибраций методом спекл-изображений	22
2.2 Оценка свертываемости крови	24
2.3 Оценка кровенаполнения	26
Экспериментальная часть	27
1 Обработка спекл-изображений.....	27
2 Анализ протромбинового времени РНП-плазмы	29
2.1 Анализ протромбинового времени нормальной плазмы.....	29
2.2 Анализ протромбинового времени паталогической плазмы	32
2.3 Анализ протромбинового времени нормальной плазмы при разных концентрациях техпластина.....	33
2.4 Анализ протромбинового времени при разном объеме нормальной плазмы	36
3 Анализ протромбинового времени цельной крови	38
3.1 Анализ протромбинового времени свежей цельной крови.....	38
3.2 Анализ протромбинового времени консервированной цельной крови ...	39
Финансовый менеджмент	41

1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	41
1.1 Потенциальные потребители результатов исследования	41
1.2. Анализ конкурентных технических решений.....	42
1.3 SWOT-анализ	44
2. Планирование научно-исследовательских работ	47
2.1. Структура работ в рамках научного исследования.....	47
3 Бюджет научного исследования (НТИ).....	48
3.1 Сырье, материалы, покупные изделия и полуфабрикаты (за вычетом отходов).....	48
3.2 Основная заработная плата.....	49
3.3 Дополнительная заработная плата исполнителей темы	50
4 Оценка эффективности исследования	51
Социальная ответственность	53
Введение.....	53
1 Производственная безопасность	55
1.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые может создать объект исследования	56
1.1.1 Требования по технике безопасной эксплуатации лазерных систем	56
1.1.2 Меры предосторожности при работе с РНП-плазмой и цельной кровью	56
1.2 Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований.....	57
1.2.1 Повышенная загазованность воздуха рабочей среды.....	57
1.2.2 Отклонение показателей микроклимата	57
1.2.3 Пожарная безопасность.....	59

1.2.4 Электробезопасность.....	59
2 Экологическая безопасность	62
3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях	64
4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	65
Вывод	67
Список публикаций студента	68
Список литературы	69

Введение

В настоящее время к наиболее эффективным диагностическим методам определения основных параметров микроциркуляции относятся методы, основанные на динамическом рассеянии света. [1] Методы статистического и корреляционного анализа динамических спеклов широко применяются в материаловедении, медицине, биологии, химии и других областях современной науки. Важное практическое значение имеет разработка методов диагностики биологических тканей в процессе лазерного воздействия. Их особенность состоит в установлении взаимосвязей между параметрами лазерного излучения, динамикой физико-химических свойств биотканей и эффективностью воздействия. [2]

С оптической точки зрения биоткани (включая биожидкости: кровь, лимфу и пр.) можно разделить на два больших класса:

Сильно рассеивающие (оптически мутные), такие, как кожа, мозг, стенка сосуда, кровь, оптические свойства которых могут быть достаточно хорошо описаны в модели многократного рассеяния скалярных волн в случайно-неоднородной среде с поглощением;

Слабо рассеивающие (прозрачные), такие как ткани переднего отрезка глаза (роговица, хрусталик), оптические свойства которых описываются в модели рассеяния упорядоченной среде с плотной упаковкой рассеивателей, которые содержат поглощающие центры. [3]

Поскольку физико-химические процессы при лазерном воздействии протекают, как правило, в нестационарных и неравновесных условиях, то на первый план выходит задача динамической диагностики этих процессов и измерения физико-химических параметров, характеризующих состояние биоткани. В некоторых случаях поведение измеряемого параметра имеет выраженные черты, позволяющие устанавливать оптимальные дозы облучения и создавать системы обратной связи для управления мощностью лазерного излучения. [4]

Если при исследовании в качестве источника света используется лазер, то изображение объекта будет испещрено спеклами. Иными словами, спеклы ухудшают качество когерентных изображений.

Однако, спекл-поля несут информацию о свойствах объекта, на котором рассеялся свет лазера. Если объектом исследования является шероховатая поверхность, то о параметрах ее неоднородностей можно судить по характеристикам образующихся спеклов.

В настоящей работе мы проводим опыты для определения протромбинового времени контрольной РНП-плазмы с нормальным и патологическим временем свертывания. Сравниваем статические параметры спекл-изображений, полученные методом лазерной спекл-корреляции, с известными характеристиками реагентов. Проводим исследования по определению оптимального объема лабораторной кюветы и по определению влияния соотношения плазма-коагулянт на время коагуляции. Затем проводим опыты на цельной крови лабораторных крыс. Серия данных опытов была проведена не только на свежей цельной крови, но и на консервированной крови. Активация свертывания крови запускалась добавлением коагулянта в исследуемый образец.

Обзор литературы

Коагуляция крови – сложный физиологический процесс, основной функцией которого является прекращение утечки крови в случае повреждения сосуда. В нормальных условиях вследствие разрыва ткани или воспаления, в крови запускается каскад химических реакций, что приводит к образованию тромба на месте травмы. Сгусток недостаточного размера для покрытия поврежденной области не может предотвратить потерю крови, которая может привести к кровотечению. А случайное формирование массивных сгустков может блокировать сосуд и спровоцировать тромбоз. Многочисленные экспериментальные исследования показывают основные механизмы, регулирующие процесс свертывания крови, однако, детали пространственно-временного распределения основных факторов трудно наблюдать *in vitro* и требуют внедрения методов моделирования. [5]

Сгусток крови состоит из клеток крови, захваченных волокнами полимера фибрина. Фибриноген преобразуется в фибрин при воздействии на него активированным тромбином, который играет ключевую роль в процессе свертывания крови. В месте повреждения образуется начальное количество тромбина, если его концентрация превышает пороговое значение, начинается самопроизвольное производство тромбина, который и обеспечивает свертывание крови, а активация факторов IX и X вызывает превращение протромбина в тромбин. Когда концентрация тромбина достаточно высока, он активирует факторы XI, VIII и последний образует комплекс с активированным фактором X (протромбиназы комплекс), который выступает в качестве основного активатора протромбина. Увеличение количества активированного фактора X катализируются внутренним комплексом теназы ([VIIIa, IXa]), образующимся на поверхности клеток. Концентрация тромбина увеличивается от места травмы до стенок. Размер сгустка и скорость его роста регулируется действием ингибиторов плазмы, таких как антитромбин и протеин С. Баланс между свертывающей и противосвертывающей системы имеет важнейшее физиологическое значение и любые его изменения приводят к серьезным осложнениям. Для моделирования процесса активации факторов крови существует несколько моделей.

Основным результатом функционирования коагуляционного процесса в плазме крови является увеличение концентрации тромбина [6].

Математические модели процесса коагуляции крови дают информацию о динамике образования сгустков, которая необходима для понимания базовых процессов коагуляции. Распределение факторов свертываемости в плазме крови является одним из самых важных критериев, определяющих динамику роста сгустка. Концентрация тромбина играет решающую роль в процессе коагуляции. Распространяется с места травмы с постоянной скоростью и, таким образом, хорошо описывается с помощью перемещающегося волнового раствора системы PDES по концентрации факторов крови. Авторы Galochkina T, Bouchnita, A., Ouzzane, H. В работе «Traveling wave solutions in the mathematical model of blood coagulation» [7] предоставили аналитическое исследование такой системы и получили условия существования и устойчивости решений типа бегущих волн. Представленный подход может быть использован для анализа других систем аналогичного типа при условии, что система может быть сведена к монотонной. Сравнение с экспериментальными данными показывает, что такой подход позволяет аналитически оценить скорость распространения волны тромбина. Таким образом, можно сделать выводы о поведении перемешивающихся волновых решений и условиях позиционности скорости распространения волны. Обычно такая информация доступна только при непосредственном моделировании всей системы, что важно как для проверки модели, так и для дальнейшего анализа результатов.

1 Механизм коагуляции крови

В норме у здорового человека при повреждении мелких сосудов кровотечение останавливается из 1-3 минуты. Тромбоциты это плоские безъядерные клетки неправильной округлой формы диаметром 1-4 мкм. В нормальном состоянии тромбоциты в крови пребывают в не активированном состоянии. Активация тромбоцитов наступает после контакта с активирующей поверхностью и действия факторов свертывания. Именно активированные тромбоциты выделяют вещества, необходимые для нормального гемостаза. На данный момент точная последовательность этапов активации тромбоцитов не изучена. Это связано с тем, что в процессе коагуляции имеет место положительная обратная связь. Активированные тромбоциты способствуют активации других тромбоцитов.

Коагуляция крови состоит из несколько взаимосвязанных реакций, протекающих при участии ферментов. Тринадцать белков или факторы свертывания крови составляют систему свертывания. Их обозначают римскими цифрами, а активированные факторы обозначают с добавлением индекса «а». Белок протромбин превращается в тромбин под действием активатора протромбина.

Активатор протромбина вызывает распад растворенного фибриногена в результате чего образуется фибрин, волокна фибрина и образуют основу тромба. В результате увеличения количества фибрина кровь превращается в студенистое вещество.

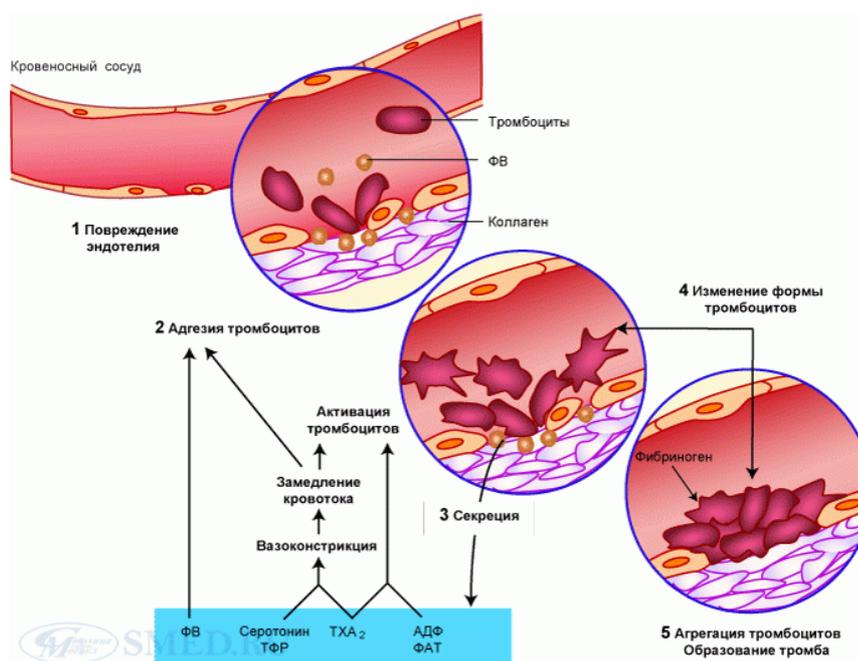


Рисунок 1 – Схема гемостаза [8]

- 1 – повреждение эндотелия;
- 2 – адгезия тромбоцитов;
- 3 – активация тромбоцитов, выделение биологически активных веществ из их гранул и образование медиаторов – производных арахидоновой кислоты;
- 4 – изменение формы тромбоцитов;
- 5 – необратимая агрегация тромбоцитов с последующим формированием тромба.

ФВ – фактор Виллебранда, ТФР – тромбоцитарный фактор роста, ТХА 2 – тромбоксан А₂, АДФ – аденозиндифосфат, ФАТ – фактор активации тромбоцитов.

1.1 Модель коагуляционного каскада

Механизм свертывания крови состоит из внешнего и внутреннего пути коагуляции крови.

1.1.1 Внешний путь активации коагуляции крови

Внешний путь активации коагуляции крови является основным путем. Данный состоит из следующих компонентов: тканевый фактор, ингибитор тканевого фактора, плазменный фактор. Тканевой фактор представляет собой внутренний мембранный гликопротеин, имеющийся во многих клетках; он не выделяется в кровь, пока не произойдет повреждение клеток. Тканевой фактор выступает в качестве рецептора, который в присутствии ионов кальция активирует фактор VII. Активация тканевого фактора приводит к открытию его активного центра. Активация фактора VII может произойти за счет действия других сериновых протеаз таких как тромбин, ФХIIa, ФХa, и ФХa, а также за счет самоактивации, однако самоактивация *in vivo* идет незначительно.

1.1.2 Внутренний путь активации коагуляции крови

Компонентами внутреннего пути являются факторы XII, XI, IX, XIII, кофакторы – высокомолекулярный кининоген и прекалликреин и их ингибиторы.

При повреждении эндотелия обнажается отрицательно заряженная поверхность и начинается внутренний путь коагуляции крови. При контакте с такой

поверхностью, активируется фактор XII. Образуя активированный фактор XII. Фактор XIIa активирует FXI и превращает прекалликреин в калликреин и активирует фактор XII (петля положительной обратной связи). Механизм взаимной активации FXII и прекалликреин осуществляется, чем механизм самоактивации FXII, это и обеспечивает увеличение скорости активации. Фактор XI и прекалликреин связываются с активирующей поверхностью посредством высокомолекулярного кининогена. Активация проферментов происходит только при наличии высокомолекулярного кининогена.

Фактор XIa активирует фактор IX. Фактор IX может также активироваться под действием комплекса FVIIa. Для прикрепления к тромбоцитарному фосфолипиду активированный FIXa требует наличия кальция и затем, фактор X превращается в фактор Xa. Фактор VIII является мощным ускорителем завершающей ферментативной реакции. Фактор VIII, антигемофильный фактор, кодируется большим геном, расположенным на конце X-хромосомы. Антигемофильный фактор активируется под действием тромбина и факторов IXa и Xa. FVIII циркулирует в крови в связанной форме. Чтобы активированный FVIII мог приобрести активную форму, он должен отсоединиться от фактора фон Виллебранда. При воздействии тромбина на этот комплекс происходит отделению FVIII от основного протеина и расщеплению на тяжёлую и лёгкую цепи FVIII, которые важны для коагулянтной активности FVIII.

1.2 Общий путь коагуляции крови

Внешний и внутренний пути свёртывания крови заканчиваются на активации FX. Общий путь коагуляции крови начинается с образования FXa. В свою очередь фактор Xa активирует FV. Комплекс факторов Xa, Va, IV (Ca²⁺) на является протромбиназой, которая активирует протромбин.

Тромбин является пептидазой, которая эффективно расщепляет аргиниловые связи. Под действием тромбина начинается частичный протеолиз фибриногена. Однако тромбин влияет не только на фибрин и фибриноген. Тромбин стимулирует агрегацию тромбоцитов, активирует факторы V, VII, XI и XIII (положительная обратная связь), а также разрушает факторы V, VIII и XI (петля отрицательная

обратной связи), стимулирует эндотелиальные клетки и лейкоциты. Вызывает миграцию лейкоцитов и регулирует тонус сосудов. А стимуляция роста клеток способствует репарации тканей.

Тромбин способствует преобразованию фибриногена в фибрин. Фибриноген является сложным гликопротеином, состоящий из трёх пар неидентичных полипептидных цепей. Тромбин расщепляет аргинин-глициновые связи фибриногена с образованием двух пептидов (фибринопептид А и фибринопептид В) и мономеров фибрина. Эти мономеры образуют полимер, соединяясь (фибрин I) и удерживаясь водородными связями. Затем гидролиз этих комплексов под действием тромбина приводит к выделению фибринопептида В. Тромбин активирует FXIII, который связывает боковые цепи полимеров ковалентными связями. Между мономерами появляются перекрёстные связи, создающие фибриновые волокна, прочность которых позволяет удерживать тромбоцитную массу на месте травмы. Но на этой стадии коагуляции сеть волокон фибрина, которая удерживает основную массу клеток крови и кровяных пластинок, является рыхлой. Свою окончательную прочную форму она принимает через несколько часов. Когда волокна фибрина сожмутся и из них выйдет сыворотка, т.е. лишённая фибриногена плазма. На месте сгустка остаётся плотный красный тромб, состоящий из сети волокон фибрина с захваченными ею клетками крови. В этом процессе участвуют тромбоциты. В них содержится тромбостенин – белок, способный сокращаться за счёт энергии АТФ. Благодаря ретракции сгусток становится более плотным и стягивает края раны, что облегчает её закрытие клетками соединительной ткани.

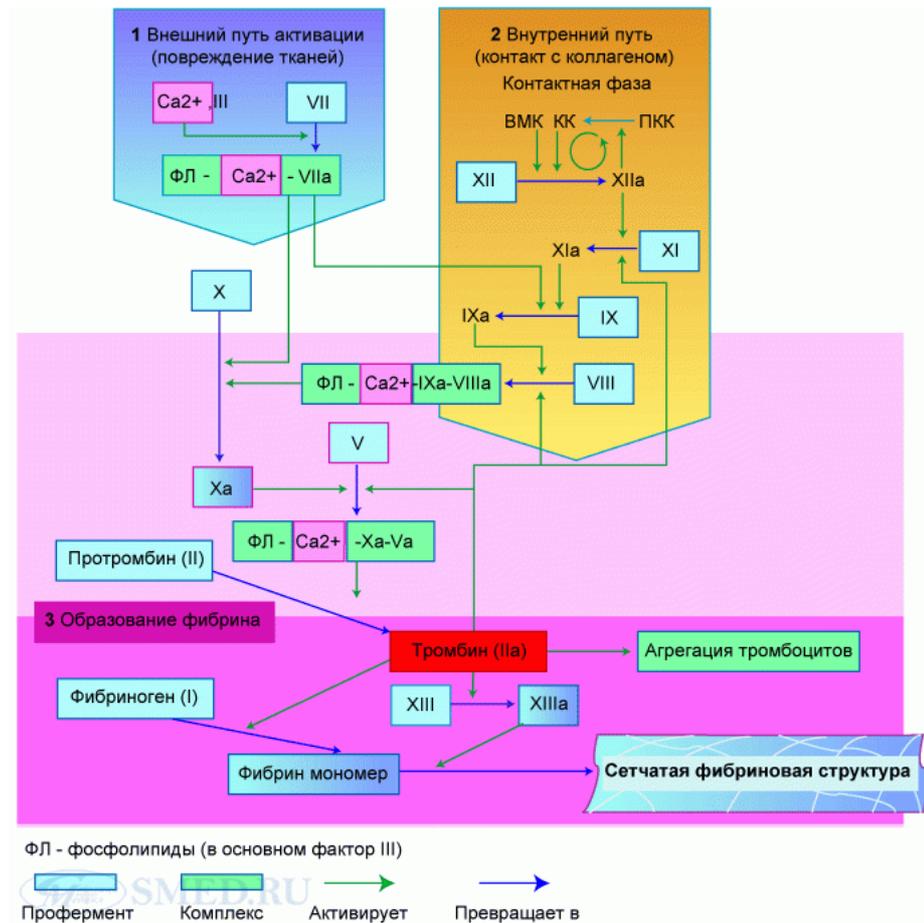


Рисунок 2 – Схема коагуляции крови согласно модели коагуляционного каскада

ФЛ – фосфолипиды;

ВМК – высокомолекулярный кининоген;

КК – калликреин;

ПКК – прекалликреин.

2 Применение метода спекл-изображений для анализа биологических процессов и тканей

Свежемороженая плазма содержит белки плазмы, включая прокоагулянты, ингибирующие компоненты системы свертывания крови, протеины острой фазы, иммуноглобулин и альбумин. Авторы работы «Coagulation Factor Activities Changes Over 5 Days in Thawed Fresh Frozen Plasma Stored at Different Initial Storage Temperatures» [9] исследовали время хранения крови и время, в течение которого кровь сохраняет свои свойства. Все факторы свертывания крови показали значительное сокращение деятельности в течение 5 дней хранения в обеих опытных группах. Базовые показатели коагуляционных факторов составили более 70%. К 5-му дню активность FVIII сократилась наиболее (36,9%) в группе хранения А, а уровень был 39,8% в группе хранения В. Другие активности по свертыванию крови, включая FV, составили > 50% на 5-й день.

В статье «Digital imaging information technology for biospeckle activity assessment relative to bacteria and parasites» [10] авторы изучали активность спеклов по отношению к бактериальному росту. В работе предоставлены экспериментальные результаты, которые демонстрируют потенциальное применение динамики спеклов для отслеживания активности бактерий во времени. Технология цифровой обработки спекл-изображений позволяет изучать динамику спеклов, которая коррелирует с активностью бактерий и паразитов.

Авторы Markandey M. Tripathi, Satoru Egawa, Alexandra G. Wirth, Diane M. Tshikudi, Elizabeth M. Van Cott & Seemantini K. Nadkarni в работе «Clinical evaluation of whole blood prothrombin time (PT) and international normalized ratio (INR) using a Laser Speckle Rheology sensor» [11] разработали ручной датчик LSR для количественной оценки PT/INR пациента путем анализа флуктуаций лазерного спекла, возникающих из капли образца крови, смешанного с реагентом тромбопластина. Датчик измерял вязкоупругий модуль G свертывающей крови на частоте 5 Гц от колебаний временной интенсивности спектральных моделей, захваченных при свертывании крови.

Автор работы [12] изучал толщину клеток, при которой происходит изменение спекл-картины. Было выявлено, что микроскопические размеры клеток

позволяют обнаружить трещины и микро-изменения при регистрации их методом спекл-корреляции.

Авторы работы [13] исследовали активность по отношению к бактериальному росту в чашках агара паразитов, пораженных препаратом, контролируемое с помощью спекл-структур, генерируемых когерентным источником, падающим на микроорганизмы. В работе представлены экспериментальные результаты, для демонстрации потенциального применения этого метода для отслеживания активности во времени. Технология цифровой обработки изображений является альтернативной визуализацией, позволяющей изучать динамику спеклов, которая коррелирует с активностью бактерий и паразитов.

Авторы работы [14] изучают оптическую когерентную томографию как метод, который практически исключает спекл-шум, возникающий из образца. Используя SM-OCT, авторы обнаруживают небольшие структуры в тканях живых животных, такие как внутренняя структура живой мышины роговицы, тонкие структуры внутри мышки, а также потные протоки и корпускулярная оболочка.

В работе [15] авторы проводили анализ картины спекл-пятен для изучения диагностического метода, который предоставляет информацию о микроструктуре поверхности зубной эмали, которая имеет чувствительность для обнаружения зарождающихся кариесных поражений. Была выявлена возможность применения данного метода для обнаружения ранних повреждений зубной эмали.

А в работе [16] авторы разработали метод визуализации кровотока и изменения концентрации крови, используя лазерную спекл корреляцию при освещении волокон сосудов. Авторы экспериментально показали взаимосвязь состояния крови и индивидуальной реакции изменения концентрации крови, измеренным методом.

2.1 Оценка вибраций методом спекл-изображений

В работе [17] авторы описывают экспериментальную установку, которая позволяет регистрировать передвижения спеклов. Установка состоит из двух основных компонентов: источник когерентного излучения зеленого спектра излучения, который освещает исследуемый объект и формирует спекл-структуры и

цифровой камеры, которая регистрирует перемещения спеклов и в дальнейшем эти изображения анализируются в программном обеспечении MatLab. Программное обеспечение отслеживает движение отраженных спекл-структур и извлекает двумерную проекцию трехмерного изображения. Данная установка имеет преимущество по сравнению с существующими подходами. Опытный образец освещается когерентным излучением, направленным под углом. Вследствие этого, сформированные спекл-структуры образуются только отраженным от шероховатой поверхности светом, а полученное изображение остается без фона. Такое освещение объекта позволяет регистрировать поперечное и осевое движение клеток, которое не может быть обнаружено при помощи обычной интерферометрии. С помощью данной установки авторы регистрировали сокращения сердечной мышцы крыс. Таким образом, авторы используют данную установку для регистрации вибраций, полученных от объекта.

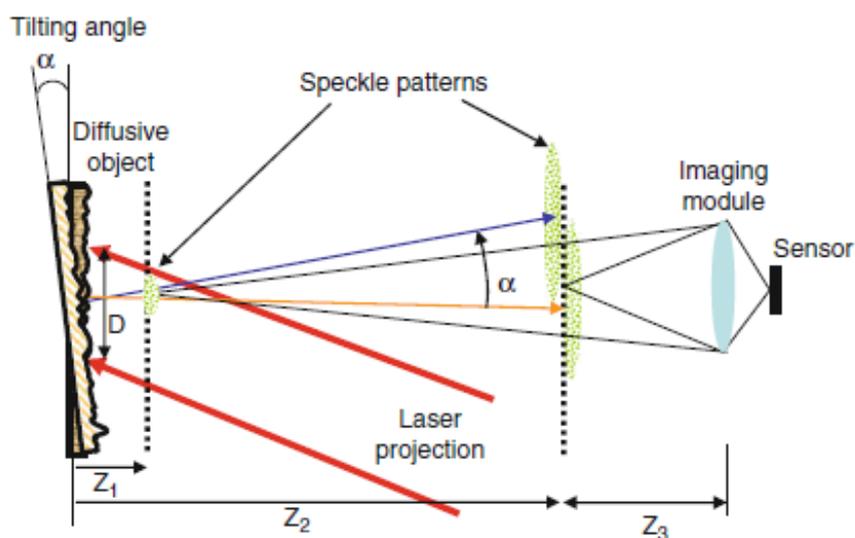


Рисунок 3 – Схема установки для формирования спекл-изображений [17]

В работе «Invited Paper Demonstration of a Remote Optical Measurement Configuration That Correlates With Breathing, Heart Rate, Pulse Pressure, Blood Coagulation, and Blood Oxygenation» [18] авторы приводят способ оптического измерения и разделения дистанционных источников вибраций. В данной работе приведены результаты исследований оценки свертывания крови, дыхания и оксиметрии крови. Авторы показывают возможность одновременного контроля данных параметров. Экспериментальная схема представлена на рисунке 4. Она

состоит из источника когерентного излучения, цифровой камеры для обработки изображений и персонального компьютера для обработки результатов. Все опыты проводились на молодых здоровых самках свиней.

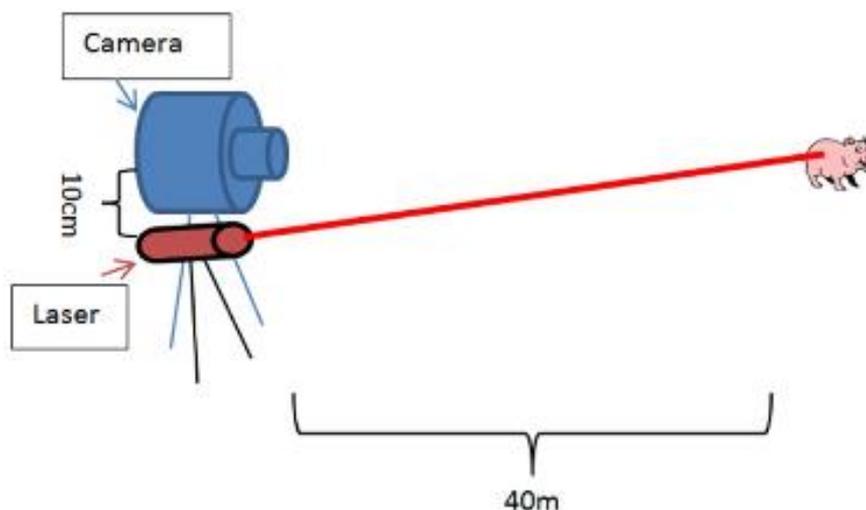


Рисунок 4 – Схема используемой установки

Для определения частоты сердечных сокращений определялось время между двумя соседними пиковыми амплитудами. Для определения скорости дыхания определяли смещенный синусоидальный профиль на медленной частоте, который легко отделяется от формы и частоты сердечных сокращений. Импульсное давление определялось как разница в динамическом диапазоне пика сердечного ритма (разница между положительными и отрицательными профилями вибрации, которая так же может быть описана как профиль сигнала). Мониторинг коагуляции основан на влиянии коагуляционных свойств крови на состояние вибрации кожи. В результате, при измерении частоты сердечных сокращений и частоты дыхания, данные, полученные оптическим методом и опорными измерениями имели незначительное расхождение.

2.2 Оценка свертываемости крови

Авторы Markandey M. Tripathi, Satoru Egawa, Alexandra G. Wirth, Diane M. Tshikudi, Elizabeth M. Van Cott & Seemantini K. Nadkarni в работе «Clinical evaluation of whole blood prothrombin time (PT) and international normalized ratio (INR) using a

Laser Speckle Rheology sensor» [19] разработали ручной датчик LSR для количественной оценки PT/INR пациента путем анализа флуктуаций лазерного спекла, возникающих из капли образца крови, смешанного с реагентом тромбопластина. Датчик измерял вязкоупругий модуль G свертывающей крови на частоте 5 Гц от колебаний временной интенсивности спектральных моделей, захваченных при свертывании крови.

В работе «Assessing blood coagulation status with laser speckle rheology» [20] авторы исследовали новый оптический подход, Laser Speckle Rheology (LSR), чтобы оценить коагуляцию крови путем измерения ее вязкоупругих свойств в процессе свертывания. Образец крови освещается лазерным светом и временные изменения интенсивности спеклов оценивались с использованием высокоскоростной CMOS камеры. В процессе свертывания крови, изменения вязкоупругих свойств сгустка ограничены Броуновским смещением света в образце. В результате, состояние свертывания крови можно измерить, связав временную шкалу изменений интенсивности спекла, с клинически релевантными изменениями свертывания крови включая время свертывания и содержание фибриногена. Результаты работы свидетельствуют о тесной корреляции между показателями коагуляции, измеряемыми с помощью LSR, и обычными результатами коагуляции активированного тромбопластина, протромбинового времени и функциональными уровнями фибриногена. Выявлена возможность оценки состояния коагуляции крови пациента в режиме реального времени на момент оказания медицинской помощи.

В работе «Assessing blood coagulation status with laser speckle rheology» [21] авторы исследовали новый оптический подход, Laser Speckle Rheology (LSR), чтобы оценить коагуляцию крови путем измерения ее вязкоупругих свойств в процессе свертывания. Образец крови освещается лазерным светом и временные изменения интенсивности спеклов оцениваются с использованием высокоскоростной CMOS камеры. В процессе свертывания крови, изменения вязкоупругих свойств сгустка ограничены Броуновским смещением света в образце. В результате, состояние свертывания крови можно измерить, связав временную шкалу изменений интенсивности спекла, с клинически релевантными изменениями свертывания крови включая время свертывания и содержание фибриногена. Результаты работы

свидетельствуют о тесной корреляции между показателями коагуляции, измеряемыми с помощью LSR, и обычными результатами коагуляции активированного тромбопластина, протромбинового времени и функциональными уровнями фибриногена. Выявлена возможность оценки состояния коагуляции крови пациента в режиме реального времени на момент оказания медицинской помощи.

В работе [22] авторы изучали время свертывания и прогрессирования сгустка фибрина при коагуляции крови при помощи спекл-структур. В данной статье авторы описывают опыт, в котором была использована кровь свиней и людей для исследования протромбинового времени и времени коагуляции крови с использованием спекл-корреляции. Для подтверждения точности эксперимента, всем донорам был введен в кровь антикоагулянт. Данные эксперимента подтвердили увеличение времени коагуляции у образцов с антикоагулянтом.

2.3 Оценка кровенаполнения

В работе [23] авторы показали зависимость интенсивности спеклов на скорость кровотока. В работе описано влияние разной степени давления на лоно ногтей на интенсивность спеклов.

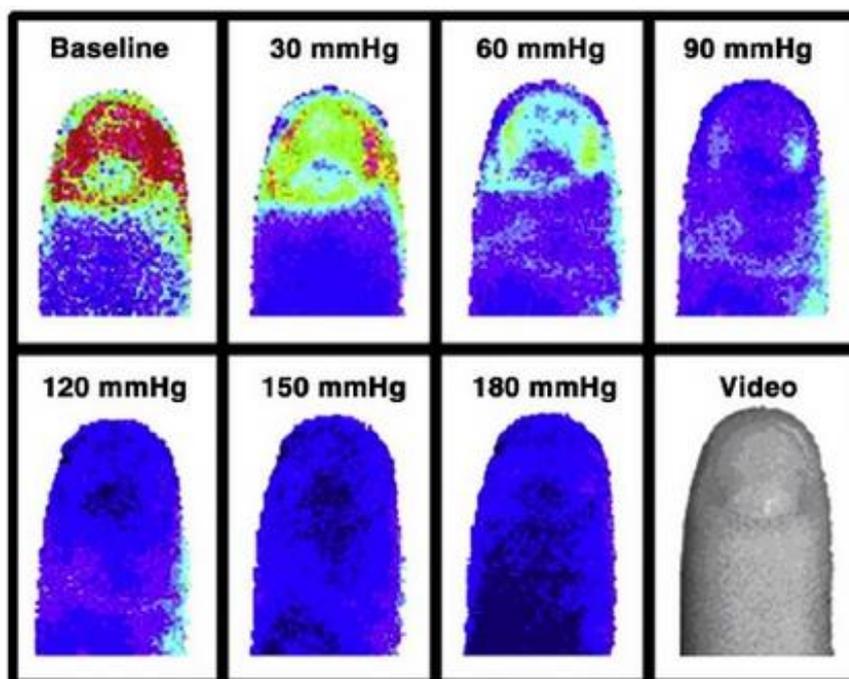


Рисунок 5 – Спекл-изображение кровенаполнения

Экспериментальная часть

1 Обработка спекл-изображений

При освещении шероховатой поверхности объекта когерентным излучением, блики, отраженные от поверхности, смешиваются и в результате формируют пространственно-распределенную спекл-картину. При перемещении объекта, находящегося под наблюдением, возникают соответствующие изменения в пространственном распределении спекл-картины. Определить смещение поверхности объекта возможно при измерении этих изменений. Так же данный метод позволяет измерять вибрации на поверхности объекта, определив время перемещения поверхности [24].

Рисунок 6 иллюстрирует изменения в позиции спекл-картины после перемещения. Начальное положение спекл-картины имеет координаты (x_1, y_1) , после перемещения они изменяется на (x_2, y_2) . Пусть интенсивность в некоторые части спекл-картины до перемещения: $f(x, y)$, после перемещения - $g(x, y)$. В изображении, полученном после перемещения можно найти области, схожие с оригинальной спекл-картиной f , так что можно сделать вывод о том, что спекл смещается из позиции f в позицию g .

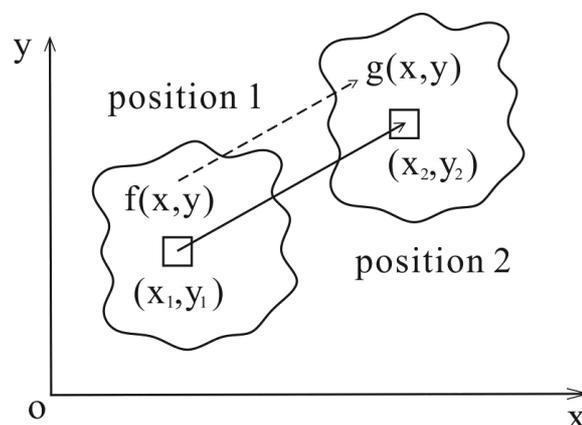


Рисунок 6 – Изменение положения спекл-картины в процессе перемещения

Для нахождения положения g , был реализован алгоритм в среде программного обеспечения MATLAB. Основная идея алгоритма состоит в нахождении расположения максимального коэффициента корреляции. Алгоритм содержит три основных шага.

В начале алгоритма выбирается спекл-изображение, затем оно находится в

следующих изображениях. Если выбранная картина имеет слишком маленький размер, невозможно локализовать следующую позицию в спекл-изображении из-за отсутствия уникальной информации в картине небольшого размера. Если выбранная картина имеет слишком большой размер, для обработки изображения потребуется много времени. Оптимальный размер картины находится в диапазоне 30×30 пикселей до 60×60 пикселей. [25]

Выбираются алгебраические выражения для расчета коэффициентов корреляции. Наиболее широко используемыми формулами для расчета коэффициента корреляции являются следующие [26-27]:

$$C_1 = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_i, y_i) \cdot g(x_i, y_i)]}{\sqrt{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m f^2(x_i, y_i) \cdot \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m g^2(x_i, y_i)}} \quad (1.1)$$

$$C_2 = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_i, y_i) - \bar{f}] \cdot [g(x_i, y_i) - \bar{g}]}{\sqrt{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_i, y_i) - \bar{f}]^2 \cdot \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [g(x_i, y_i) - \bar{g}]^2}} \quad (1.2)$$

$$C_3 = (C_2)^2 = \frac{\left\{ \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_i, y_i) - \bar{f}] \cdot [g(x_i, y_i) - \bar{g}] \right\}^2}{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [f(x_i, y_i) - \bar{f}]^2 \cdot \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [g(x_i, y_i) - \bar{g}]^2} \quad (1.3)$$

Где, \bar{f} - средняя интенсивность (начальная) спекл картины;

$f(x_i, y_i)$ - интенсивность ее пиксел с координатами (x_i, y_i) ;

\bar{g} - средняя интенсивность, полученная после перемещения;

$g(x_i, y_i)$ интенсивность ее пиксел с координатами (x_i, y_i) .

Основные требования к формуле расчета коэффициента корреляции являются надежность, помехоустойчивость и скорость расчета. На практике, формула (1.2) является наиболее широко используемой. Следует отметить, что на этом этапе местоположение максимума коэффициента корреляции обнаруживается с точностью в пределах $\pm 0,5$ пикселей.

Коэффициенты корреляции выбираются максимального значения для выполнения их интерполяции с шагом 0.01 пиксель. Таким образом, находится более точное расположение максимального коэффициента корреляции.

2 Анализ протромбинового времени РНП-плазмы

2.1 Анализ протромбинового времени нормальной плазмы

Если объект, находящийся под наблюдением, изменяет свою структуру, то спекл-изображение будет изменяться. Учитывая данную особенность, появляется возможность исследования биологических жидкостей с помощью корреляционного анализа спекл-изображений. Если под наблюдением находится жидкость, то спеклы образуются, когда когерентный свет отражается от молекул воды. Хорошим примером может служить кровь человека, поскольку процессы, происходящие в ней, чрезвычайно важны. С помощью методики, представленной в данной работе, возможно оценить временные характеристики свертывания крови. Если свертывание крови происходит слишком быстро или слишком медленно, это может свидетельствовать о наличии каких-либо заболеваний. Разработка быстрого и простого метода для данных измерений является актуальной задачей.

В настоящей работе мы используем контрольную плазму с известным протромбиновым временем. Целью работы является сравнение статических параметров спекл-изображений, полученных методом лазерной спекл-корреляции, с известными характеристиками реагента.

Реагент состоит из двух частей: контрольная плазма и реагент «Техпластин» производства фирмы «Технология стандарт», Россия. Техпластин – это растворимый тромбопластин-кальциевый реагент из кадаверного мозга, стандартизированный по международному индексу чувствительности (МИЧ) - аналог кроличьего тромбопластина. Тест разработан для анализа протромбинового времени контрольной плазмы, полученной из венозной крови человека. Определение времени свертывания используется для проверки протромбиновых факторов, а также мониторинга и лечения антикоагулянтами непрямого действия [28]. При добавлении в контрольную плазму техпластина, плазма начинает образовывать сгусток и этот процесс, согласно известным характеристикам, продолжается около 13-18 с.

Схема эксперимента представлена на рисунке 7. Луч He-Ne-лазера направляется на объект с помощью поворотного зеркала.

Сформированные спекл-изображения записываются цифровой камерой HiSpec FastCam 1. Размер анализируемого окна 1:1, то есть рассматривается все изображение.

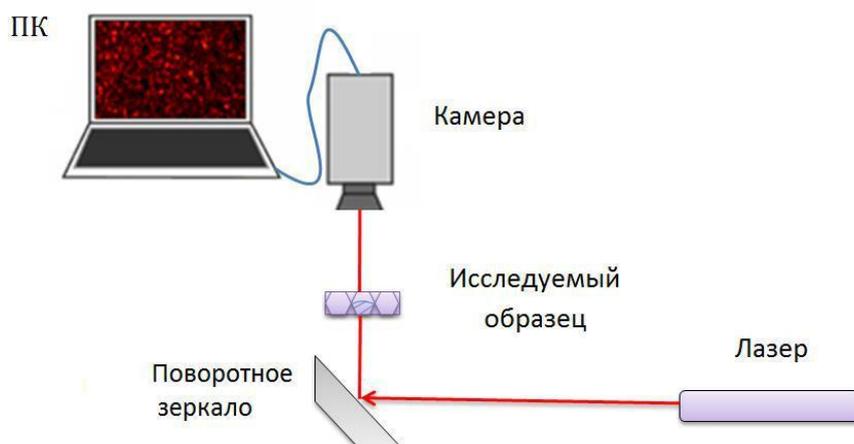


Рисунок 7 – Экспериментальная установка

Реагенты до активации растворялись в дистиллированной воде и поддерживались при постоянной температуре 37 °С. Процесс свертывания активируется при добавлении в контрольную плазму Техпластина. Соотношение реагентов, согласно рекомендациям, составляет 1:2. В экспериментах использовались 0.05 мл плазмы и 0.1 мл Техпластина.

На рисунке 8 показано спекл-изображение в процессе свертывания крови. В экспериментах камера записывала спекл-изображения с частотой 2 Гц. Анализируя изображения в программном обеспечении MatLab, получаем график процесса свертывания крови. В работе нами вычислялся коэффициент корреляции между текущим и предыдущим изображениями в серии спекл-изображений в момент процесса свертывания. Таким образом, определялась зависимость коэффициента корреляции от времени реакции. Результаты работы опубликованы в работе [40].

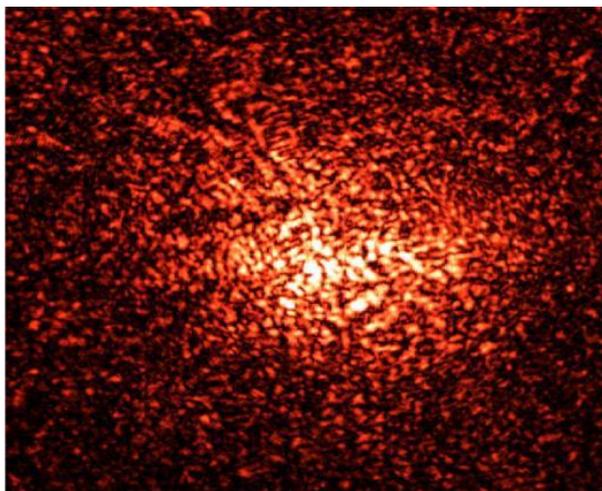


Рисунок 8 – Спекл-изображение в процессе свертывания плазмы крови

Используя полученные графики, можно определить время коагуляции, начало и конец процесса. На рисунке 9 приведены кривые коэффициентов корреляции для описания процесса свертывания крови для четырех образцов нормальной плазмы.

Известно, что коэффициент корреляции отражает соотношение двух спекл-картин, следовательно, указывает скорость изменения спекл-изображений за определенный период. Чем быстрее меняются изображения, тем менее оптически плотным является объект. В процессе коагуляции скорость изменения рассеяния света соответствует скорости процесса коагуляции. Например, хорошо видно, что на 13-18 с скорость изменения спекл-картины замедляется. После 18 секунды коэффициент корреляции становится больше 0.9 и стремится к 1. Это значит, в течение 13-18 с процесс коагуляции постепенно замедляется, а после 18 секунды почти останавливается. Результаты согласуются с известным временем свертывания (14-19 с), по инструкции [28], прилагаемой к реагентам. Данные результаты доказывают, что с помощью метода цифровой корреляции спекл-изображений возможно измерение времени свертывания с точностью, достаточной для применения в клинической практике.

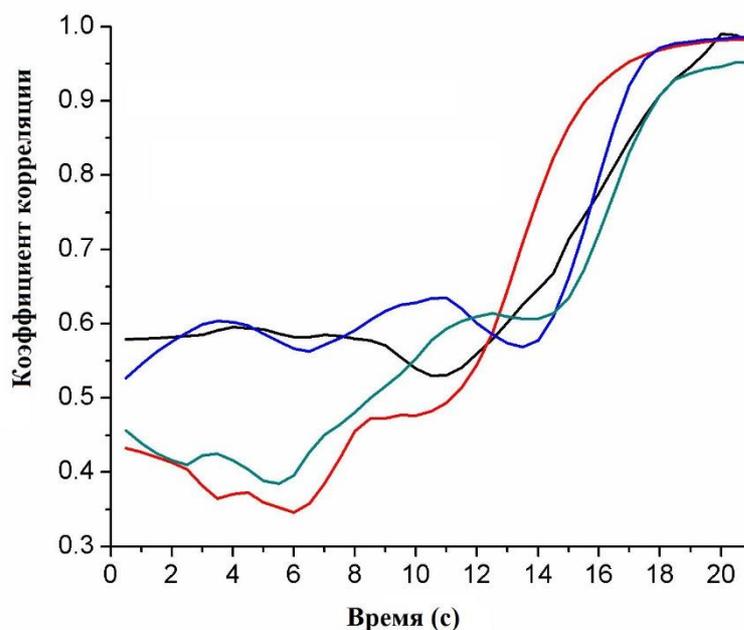


Рисунок 9 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени

После успешных экспериментов (рисунок 13), была проведена серия экспериментов как с нормальной плазмой, так и с паталогической. Использовались реагенты производства фирмы «Технология стандарт» (г. Барнаул). В приложении С представлены экспериментальные зависимости для всех исследованных образцов. Всего в работе было проведено 80 измерений.

На рисунке 14 приведена усредненная характеристика коэффициента корреляции во времени для нормальной и паталогической плазмы. Хорошо видно, что время коагуляции паталогической плазмы составляет 24-27 с.

2.2 Анализ протромбинового времени паталогической плазмы

Эксперименты по измерению протромбинового времени были проведены так же с паталогической плазмой. Паталогическая плазма отличается от нормальной тем, что она обеднена тромбоцитами. Использовались реагенты производства фирмы «Технология стандарт» (г. Барнаул).

На рисунке 10 приведена усредненная характеристика коэффициента корреляции от времени для нормальной и паталогической плазмы. Хорошо видно, что время коагуляции паталогической плазмы составляет 24-27 с. В отличии от нормальной плазмы, паталогическая плазма обладает более высоким временем

свертывания.

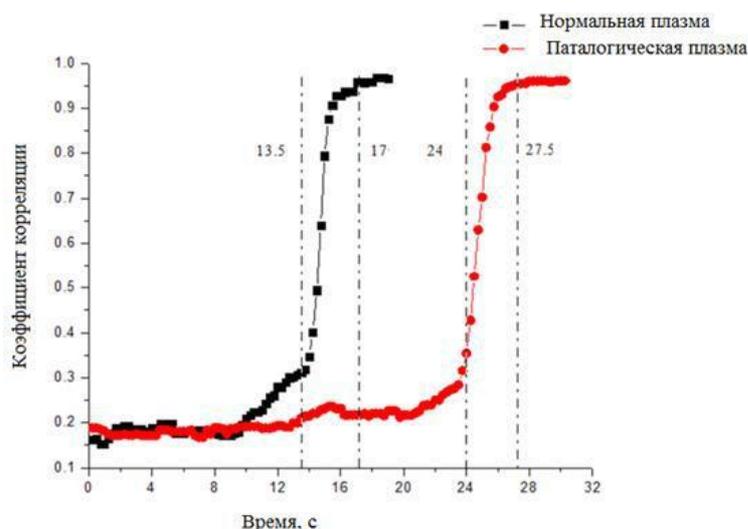


Рисунок 10 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени для нормальной и патологической плазмы

2.3 Анализ протромбинового времени нормальной плазмы при разных концентрациях техпластина

В данной части работы мы рассматривали влияние разной концентрации Техпластина на время коагуляции нормальной плазмы. Данные, полученные с помощью метода корреляции цифровых спекл-изображений сравнивались с данными, полученными с помощью анализатора показателей гемостаза «Минилаб 701». В таблице 1 приведены данные, полученные с помощью анализатора для концентраций плазма-Техпластин: 50-100 мл, 50-150 мл, 50-200 мл. Анализируя полученные результаты, мы можем сказать, что увеличив рекомендованное соотношение плазма-Техпластин (1:2), мы получаем не достоверные результаты: время коагуляции увеличивается, а при объемах 50-200 мл абсолютная погрешность в двух опытах составляет 1,4 с. Из полученных данных мы можем сделать вывод, что увеличение концентрации плазма-Техпластин является нежелательным фактором и не удовлетворяет условиям эксперимента.

Таблица 1 – Время коагуляции нормальной плазмы, зарегистрированное анализатором «Минилаб 701»

Плазма-Техпластин (мл)	Время коагуляции (1 опыт)	Время коагуляции (2 опыт)
50-100	13,4 с	13,7 с
50-150	15,9 с	15,85 с

50-200	17,7 с	20,53 с
--------	--------	---------

На рисунках 11, 12, 13 представлены данные, полученные методом корреляции цифровых спекл-изображений концентраций плазма-Техпластин: 50-100 мл, 50-150 мл, 50-200 мл. Анализируя результаты, полученные данным методом, можно сказать о том, что абсолютная погрешность для объемов плазма-Техпластин 50-150 мл составляет 2,4 с. При опытах, поведенных на объемах плазма-Техпластин 50-200 мл время коагуляции составляет 22 с, что значительно превышает указанные в рекомендации 13-18 с.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что для рекомендованных соотношений плазма-Техпластин 1:2 метод корреляции цифровых спекл-изображений может быть использован для анализа протромбинового времени.

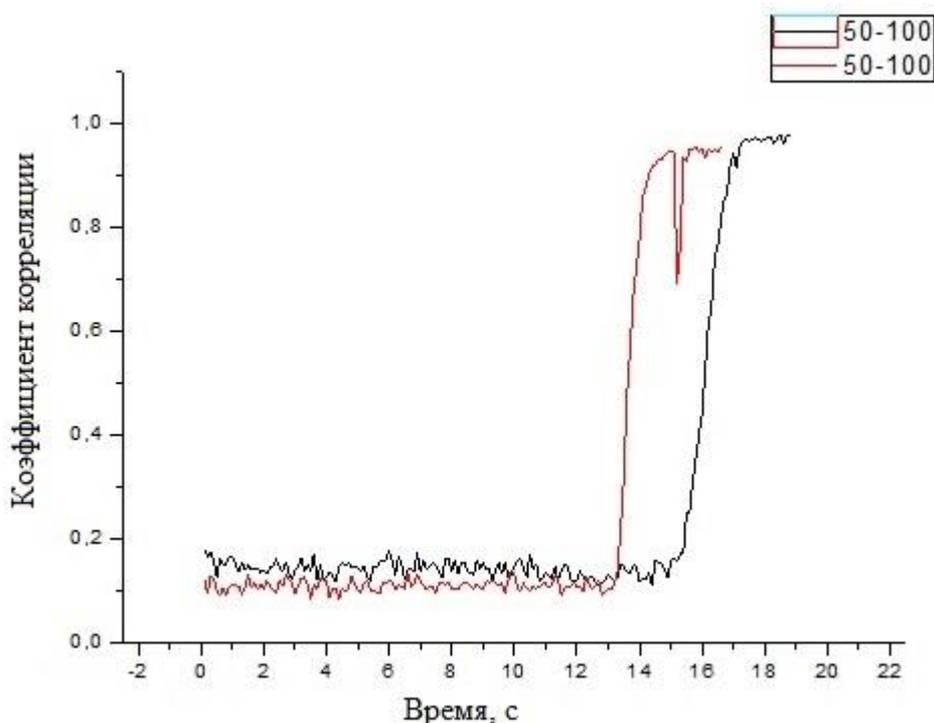


Рисунок 11 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени для соотношения 50 мл плазмы и 100 мл Техпластин

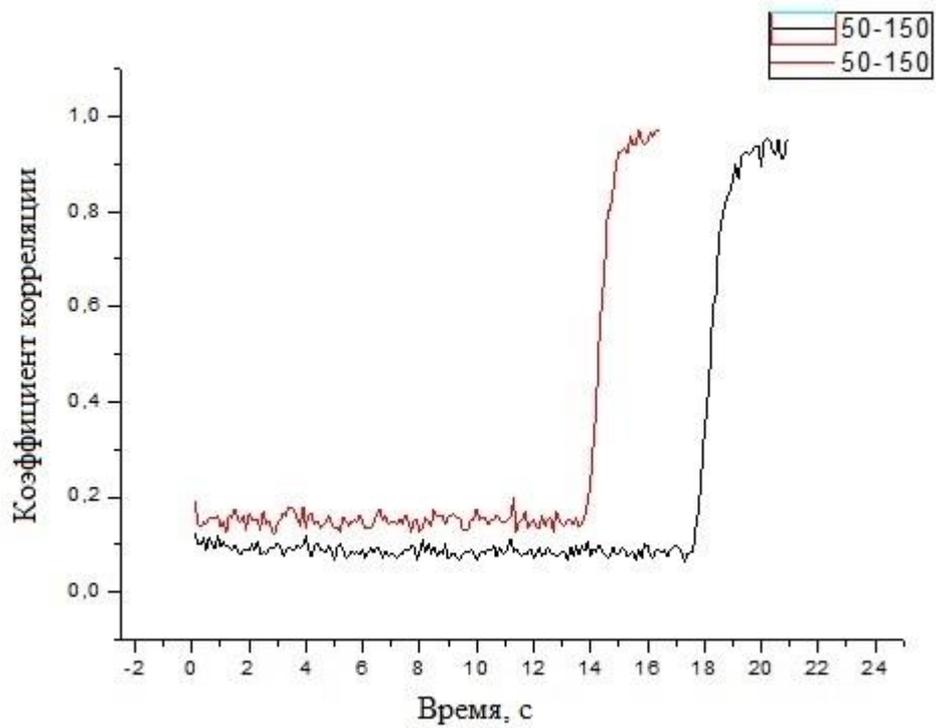


Рисунок 12 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени для соотношения 50 мл плазмы и 150 мл Техпластин

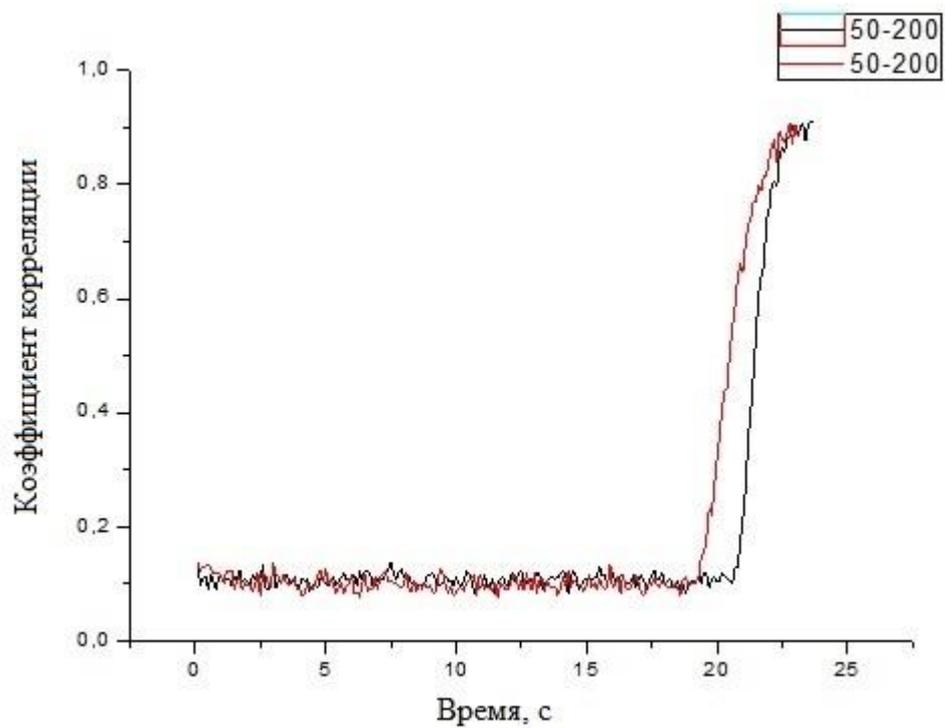


Рисунок 13 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени для соотношения 50 мл плазмы и 200 мл Техпластин

2.4 Анализ протромбинового времени при разном объеме нормальной плазмы

На рисунке 14 приведены результаты измерения времени свертывания при разном объеме плазмы. Данные результаты приведены в работах [41, 42]. График показывает время свертывания плазмы, измеренное оптико-механическим коагулометром «Минилаб 701» и время свертывания, измеренное методом корреляции цифровых спекл-изображений. Как показано на рисунке, измеренные значения времени свертывания анализатором находятся в диапазоне от 11,4 до 15,3 с. Измеренные значения времени свертывания методом корреляции цифровых спекл-изображений находятся в диапазоне от 14,4 до 17,4 с, который на 1 секунду меньше, чем в первом случае, и согласуются с характерным временем свертывания 13-18 с, приведенным в инструкции. Среднее значение времени свертывания при одном объеме плазмы отличается на 1,28-3,5 с в большую сторону при измерении методом корреляции цифровых спекл-изображений. Однако, сравнивая оба метода измерения, можно заметить, что разброс времени свертывания при одном объеме плазмы, измеренного анализатором имеет меньший разброс по сравнению с результатами измерения методом корреляции лазерных спекл-изображений. В целом, по величине разброса значений, можем сказать, что погрешность измерения составляет ± 1 секунду. Проведенные измерения при разном объеме плазмы показали, что независимо от используемого метода, при объеме плазмы 50 мкл разброс результатов измерений самый малый. При этом наблюдается минимальная разница 1.28 с между результатами измерений, полученными разными методами. Наибольший разброс значений имеет место при объеме плазмы 25 мкл. По результатам экспериментов, оптимальный объем плазмы составил 50 мкл. При использовании анализатора рекомендуемый объем составляет 200 мкл.

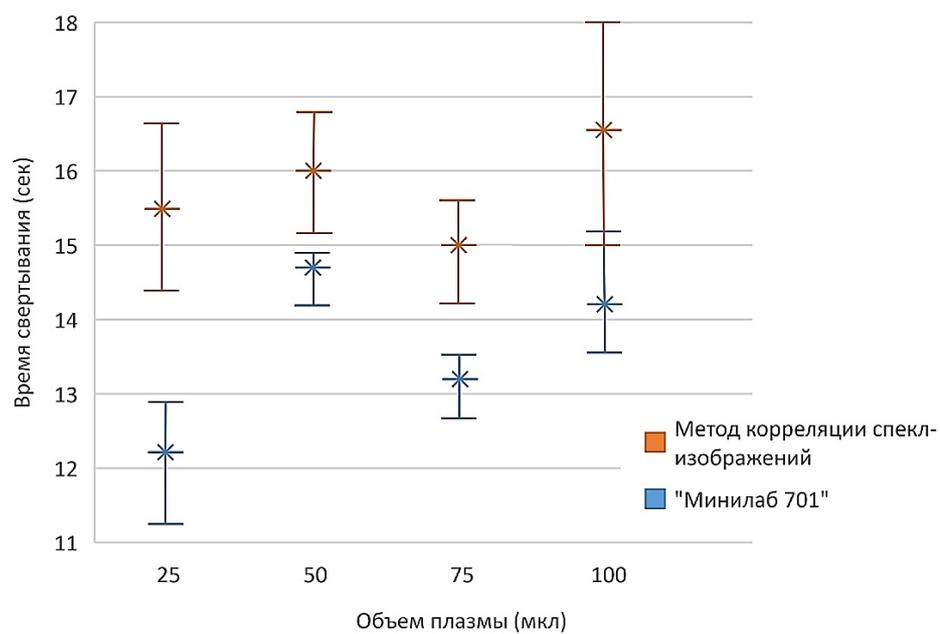


Рисунок 14 – Результаты измерения времени свертывания нормальной плазмы при разных объемах плазмы

3 Анализ протромбинового времени цельной крови

3.1 Анализ протромбинового времени свежей цельной крови

В данной части работы нами были проведены эксперименты по измерению времени свертывания цельной крови. Анализ производился методом корреляции цифровых спекл-изображений для каждого образца биологического материала. Реагентом в серии данных опытов была цельная венозная кровь условно здоровых взрослых лабораторных крыс, взятая из предсердия животного. Как было сказано ранее, процесс свертывания крови начинается сразу после контакта крови с активирующей средой. Поэтому, важной задачей для нас являлось начать измерение времени свертывания крови в первые моменты, после взятия материала. Взяв во внимание оптимальный объем плазмы, выявленный нами, на 3D-принтере были напечатаны кюветы объемом 50 мкл и глубиной 30 мм и 90 мм. В проведенных опытах цельная кровь помещалась в кювету с непрозрачным дном, которая находилась под наблюдением камеры. Результаты, полученные с помощью данного метода приведены на рисунке 15. Исходя из полученных данных, можно говорить о том, что кривая «Эксперимент 2» является наиболее информативной и близка к теоретической. По результатам данного эксперимента мы можем сказать о том, что на 23 секунде процесс коагуляции замедляется и коэффициент корреляции начинает приближаться к 1. Кривая «Эксперимент 3» показывает, что процесс коагуляции замедляется к 80 секунде. Данная кривая менее информативна, и мы можем сказать о том, что эксперимент был менее удачным, чем эксперимент 2. Оценивая полученный результат, можно сказать о том, что образец крови был помещен в кювету слишком поздно, процесс коагуляции начался в тот момент, когда кровь находилась в шприце или в сердце животного. Кривая «Эксперимент 1» не дает данных в времени свертывания крови, в данном случае помещенная в кювету кровь уже образовала фибриновый сгусток. Следовательно, данный опыт не дает нам информации о времени свертывания крови.

Из полученных данных мы можем сделать вывод о том, что при измерении времени свертывания цельной крови крайне необходимо на стадии лабораторных исследований правильно и быстро умертвить животное и взять венозную кровь из предсердия, затем необходимо сразу поместить кровь в кювету и начать измерение.

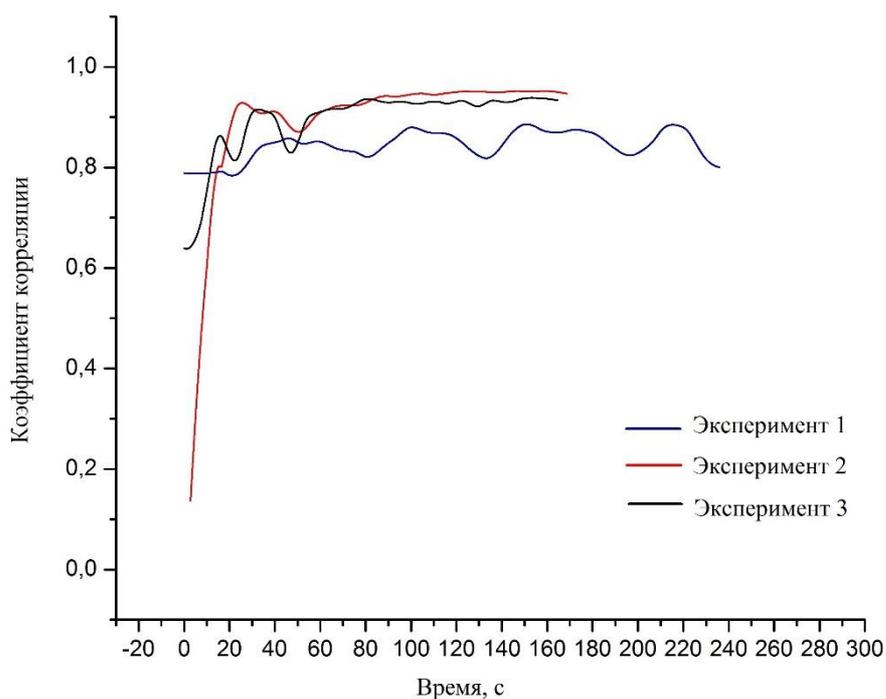


Рисунок 15 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени для цельной крови

3.2 Анализ протромбинового времени консервированной цельной крови

Время полного свертывания цельной венозной крови человека составляет 5-10 минут [29]. Поместив 50 мкл свежей цельной крови в кювету, у нас остается свободное количество цельной крови. Для хранения биологического материала мы использовали вакуумные пробирки с цитратом натрия. Данные пробирки применяются для исследования коагуляционных свойств крови: протромбин, тромбопластин, факторы свертывания. Для активации процесса свертывания крови в кювету с консервированной кровью мы добавляли Техпластин в пропорции 1:2. В данном случае время свертывания крови определяется консервантом, содержащимся в пробирке и реагентом Техпластин. На рисунке 16 представлены результаты проведенных опытов. Проанализировав полученные результаты мы можем сказать о том, что время свертывания крови в экспериментах 1, 3, 4 составляет 30-40 секунд, что соответствует теоретическому времени свертывания крови при активации процесса реагентом Техпластин. В экспериментах 2, 5, 6 полученные кривые показывают, что время коагуляции крови больше теоретического и составляет 140 с для кривой «Эксперимент 2», 320 с для кривой «Эксперимент 5» и 340 с для кривой

«Эксперимент б». Данные кривые могли дать такой результат вследствие того, что в данных опытах не было соблюдено точное соотношение объемов кровь-Техпластин. Так же коэффициент корреляции не достигает 1 ни в одном из опытов, это может быть связано с тем, что при добавлении разведенного Техпластина в кровь на поверхности тромба остается лишняя жидкость, в которой продолжают перемещаться спеклы, следовательно, коэффициент корреляции не достигнет 1.

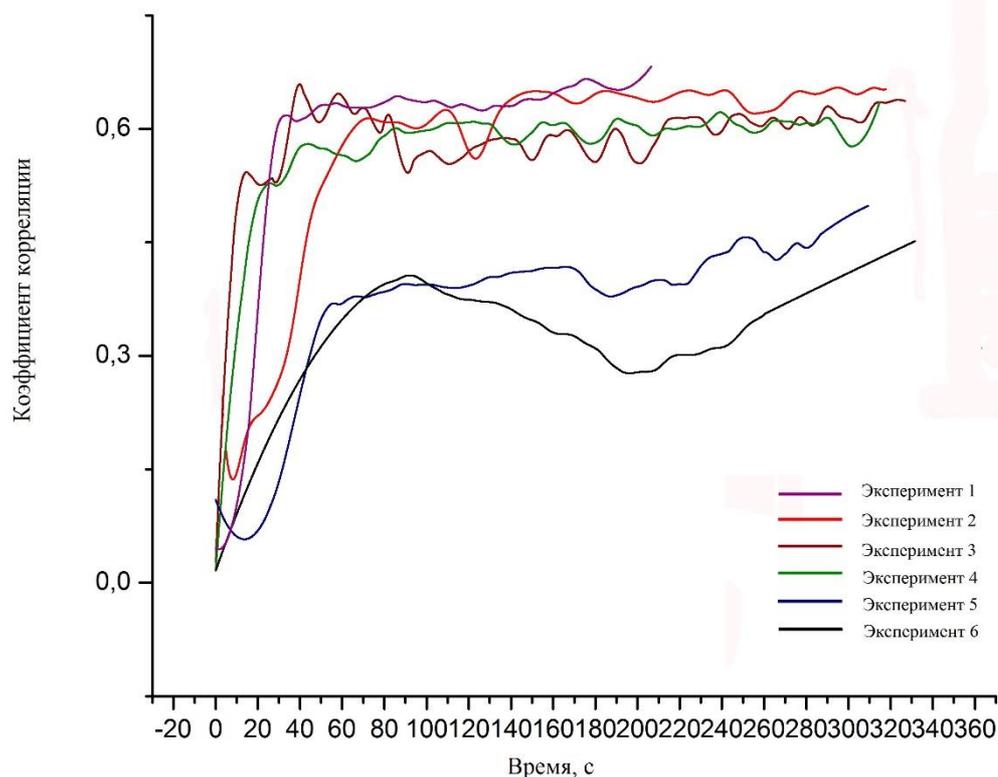


Рисунок 16 – Кривая зависимости коэффициента корреляции от времени для цельной консервированной крови

Финансовый менеджмент

1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Целью данной работы является проведение обзора применения методов оптического анализа в медицине, проведение серии экспериментов, подтверждающих возможность применения метода корреляции цифровых спекл-изображений для анализа плазмы крови и цельной крови и выявление оптимальных размеров кюветы для получения наиболее удобного анализа.

На сегодняшний день разработка быстрого и точного анализа протромбинового времени является актуальной задачей. Определение протромбинового времени помогает выявить наличие заболеваний или патологий сосудистой системы. В данную категорию риска попадают люди в возрасте старше 40 лет, женщины в период менопаузы и после, беременные женщины, люди, страдающие варикозными заболеваниями или люди, имеющие тромбоз вен и т.д.

Таким образом, потенциальными потребителями являются люди, страдающие данными заболеваниями, которым необходим регулярный контроль протромбинового времени крови.

Помимо этого, потенциальными потребителями могут быть медицинские учреждения, в которых проводятся хирургические операции с подключением пациента к аппарату искусственного кровообращения. Непрерывный мониторинг протромбинового времени во время операции поможет облегчить работу оперирующих врачей.

Целью данного раздела является создание нового, конкурентоспособного метода анализа времени свертываемости крови, отвечающего современным требованиям медицины.

Для достижения поставленной цели необходимо: определить потенциальных потребителей результатов исследования, выполнить анализ конкурентных технических решений, провести планирование научно-исследовательских работ, а также оценить эффективность исследования.

1.2. Анализ конкурентных технических решений

Для сравнения конкурентоспособности используем несколько методов для анализа протромбинового времени. В качестве конкурентов будем рассматривать два метода: метод по Сухареву (К2), биохимический метод – гемотест (К3). Преимуществом использования первых двух методов, являются простота применения, минимальные затраты финансовых ресурсов. Преимуществом последнего из перечисленных методов является максимальная точность показаний. Метод, предлагаемый в данной работе (К1).

Таблица 2– Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		Бк1	Бк2	Бк3	Кк1	Кк2	Кк3
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Повышение производительности труда пользователя	0,01	5	2	4	0,05	0,02	0,04
2. Удобство в эксплуатации (соответствует требованиям потребителей)	0,1	5	3	4	0,5	0,3	0,4
3. Помехоустойчивость	0,1	4	2	5	0,4	0,2	0,5
4. Энергоэкономичность	0,08	4	5	2	0,32	0,4	0,16
5. Надежность	0,1	5	2	5	0,5	0,2	0,5
6. Безопасность	0,075	5	4	4	0,375	0,3	0,3
7. Функциональная мощность (предоставляемые возможности)	0,01	5	3	4	0,05	0,03	0,04
8. Возможность получения моментального результата	0,09	5	3	1	0,45	0,27	0,09
9. Качество интеллектуального интерфейса	0,025	5	2	5	0,125	0,05	0,125
10. Возможность подключения в сеть ЭВМ	0,07	5	1	5	0,35	0,07	0,35

Продолжение таблицы 2

Экономические критерии оценки эффективности							
1. Конкурентоспособность продукта	0.1	5	2	4	0.5	0.2	0.4
2. Уровень проникновения на рынок	0.035	3	5	5	0.105	0.175	0.175
3. Цена	0.06	4	5	3	0.24	0.3	0.18
4. Предполагаемый срок эксплуатации	0.05	5	1	3	0.25	0.05	0.15
5. Послепродажное обслуживание	0.04	5	1	4	0.2	0.04	0.16
6. Финансирование научной разработки	0.005	5	2	5	0.025	0.01	0.025
7. Срок выхода на рынок	0.02	4	5	5	0.08	0.1	0.1
8. Наличие сертификации разработки	0.03	1	5	5	0.03	0.15	0.15
Итого	1	80	53	73	4.55	2.595	3.845

Для анализа конкурентных технических решений используем формулу:

$$K = \sum V_i \cdot B_i \tag{2}$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента; V_i – вес показателя (в долях единицы); B_i – балл i -го показателя.

Рассчитав конкурентоспособность трех методов, можно сказать, что конкурентоспособность метода $K1$ составляет 4,55; $K2$ - 2,595; а $K3$ - 3,845. Таким образом метод $K1$, предлагаемый в настоящей работе, более конкурентоспособен, чем методы $K2$ и $K3$.

Оценивание баллов и конкурентоспособности было произведено по пятибалльной шкале, где 1 – очень плохо, 2– плохо, 3 – удовлетворительно, 4 – хорошо, 5- отлично.

1.3 SWOT-анализ

SWOT-анализ способствует выявлению слабых и сильных сторон проекта, также возможностей и угроз, то есть поможет рассмотреть данный проект (работу) со стороны внешних и внутренних факторов.

Таблица 3 – Матрица SWOT

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Актуальность. С2. Востребованность. С3. Точность полученных данных. С4. Простота использования. С5. Минимальный вред. С6. Возможность экспресс-диагностирования С7. Мобильность системы.	Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Отсутствие аналогичного применения метода. Сл.2. Низкая помехоустойчивость. Сл.3. Ограниченный диапазон возможных операций с прибором. Сл.4. Отсутствие производства прибора. Сл.5. Необходимость исследовательской работы.
Возможности: В1. Непрерывный мониторинг; В2. Усовершенствования метода путем модернизации алгоритма; В3. Появление спроса; В4. Снижение спроса на продукцию конкурентов.		
Угрозы: У1. Недостаточный спрос; У2. Конкуренционные методы являются «традиционными»; У3. Отсутствие финансирования; У4. Дополнения к государственным требованиям о сертификации продукции.		

Следующим шагом SWOT-анализа является выявление соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним условиям окружающей среды. Это соответствие или несоответствие должны помочь выявить степень необходимости проведения стратегических изменений.

Таблица 4 – Интерактивная матрица проекта

Возможности проекта		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
	B1	+	+	+	+	+	+	+
	B2	+	+	+	-	-	+	-
	B3	-	+	+	+	+	+	+
	B4	+	-	+	0	-	0	+

Анализ интерактивных таблиц представляется в форме записи сильно коррелирующих сильных сторон и возможностей:

- B1B2C2C3
- B1B3C1C2C3
- B1B2B3C6

Таблица 5 – Интерактивная матрица проекта

Слабые стороны проекта						
Возможности проекта		Сл1	Сл2	Сл3	Сл4	Сл5
	B1	-	-	-	+	+
	B2	+	+	0	-	-
	B3	+	+	-	-	-
	B4	+	+	+	-	-

Анализ интерактивных таблиц представляется в форме записи сильно коррелирующих слабых сторон и возможностей:

- B2B3B4Сл1Сл2
- B4Сл1Сл2Сл3
- B1Сл4Сл5

Таблица 6 – Интерактивная матрица проекта

Угроза проекта		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
	У1	-	-	-	-	-	+	+
	У2	-	-	+	-	+	+	+
	У3	+	+	-	-	-	-	-
	У4	+	+	-	-	+	+	+

Анализ интерактивных таблиц представляется в форме записи сильно коррелирующих сильных сторон и угроз:

- У3У4С1С2
- У1У2С6С7
- У2С5С6С7

Таблица 7 – Интерактивная матрица проекта

		Сл1	Сл2	Сл3	Сл4	Сл5
Угроза проекта	У1	-	+	+	+	+
	У2	-	+	+	+	+
	У3	-	-	-	-	+
	У4	+	+	+	-	+

Анализ интерактивных таблиц представляется в форме записи сильно коррелирующих слабых сторон и угроз:

- У1У2Сл2Сл3Сл4Сл5
- У2У3Сл5

Составив и проанализировав интерактивную матрицу проекта, составим итоговую матрицу SWOT-анализа.

Таблица 8 – SWOT-анализ

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1Актуальность. С2. Востребованность С3. Точность полученных данных С4. Возможность экспресс-диагностирования.	Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл.1.Помехоустойчивость низкая Сл.2 Необходимость исследовательской работы
Возможности: В1. Непрерывный мониторинг В2. Усовершенствование метода путем модернизации алгоритма В3.Появление спроса. В4.Снижение спроса на продукцию конкурентов.	Непрерывный мониторинг путем усовершенствованного метода обеспечит точность результата, а также появится возможность экспресс-диагностики.	Для того, чтобы возможности метода были реально выполнимы необходимо осуществить исследовательскую работу, что в то же время поможет избавиться от недостатков метода.
Угрозы: У1. Недостаточный спрос. У2.Конкурентные методы являются «традиционными». У3.Отсутствие финансирования	Востребованность может оказаться недостаточной в связи с тем, что потребитель отдает предпочтение «традиционным» методам, это может повлиять на финансирование исследований.	Недостаточный спрос может способствовать отсутствию финансирования, в то время как закономерно необходимо на исследовательские работы, которые необходимы для создания прибора и дальнейшего устранения недостатков, таких как низкая помехоустойчивость.

В результате анализа интерактивных матриц проекта, получаем таблицу, которая отображает самые важные параметры, которые в полной мере показывают сильные и слабые стороны проекта.

2. Планирование научно-исследовательских работ

2.1. Структура работ в рамках научного исследования

Таблица 9 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб	Содержание работ	Должность Исполнителя
Разработка задания на выполнение ВКР	1	Выбор направления исследований	Губарев Ф.А.
	2	Разработка задания	Сытник Ю.Д.
	3	Календарное планирование работ по теме	Сытник Ю.Д.
	4	Подбор и изучение материалов по теме исследования	Губарев Ф.А.
Предварительные экспериментальные исследования	5	Разработка алгоритма обработки спекл-изображений в среде Math Lab Испытание метода путем наблюдения за вибрацией объекта	Ли Л. Сытник Ю.Д. Губарев Ф.А.
Обобщение и оценка результатов	6	Оценка эффективности исследуемого метода путем анализа полученных экспериментальных данных	Губарев Ф.А.
Основные экспериментальные исследования	7	Создание экспериментальной установки для анализа свертывания крови представленным методом и настройка параметров алгоритма для анализа биологической жидкости. Исследование анализа свертываемости крови методом корреляции спекл-изображений	Ли Л. Сытник Ю.Д. Губарев Ф.А.
Подведение итогов	8	Составление пояснительной записки	Сытник Ю.Д.
	9	Проверка отчета	Губарев Ф.А.

Где, Губарев Ф.А. – руководитель; Ли Линь – ассистент; Сытник Ю.Д. – студент.

3 Бюджет научного исследования (НТИ)

3.1 Сырье, материалы, покупные изделия и полуфабрикаты (за вычетом отходов)

Расчет материальных затрат осуществляется по следующей формуле:

$$Z_m = (1 + k_T) \cdot \sum_{i=1}^m C_i \cdot N_{расxi}, \quad (3)$$

где m – количество видов материальных ресурсов, потребляемых при выполнении научного исследования;

$N_{расxi}$ – количество материальных ресурсов i -го вида, планируемых к использованию при выполнении научного исследования (шт., кг, м, m^2 и т.д.);

C_i – цена приобретения единицы i -го вида потребляемых материальных ресурсов (руб./шт., руб./кг, руб./м, руб./ m^2 и т.д.);

k_T – коэффициент, учитывающий транспортно-заготовительные расходы.

Транспортные расходы принимаются в пределах 15-25% от стоимости материалов.

Таблица 10 - Материальные затраты

Наименование	Единица измерения	Количество			Цена за ед., руб.			Затраты на материалы (Z_m), руб.		
		Сытник	Ли	Губарев	Сытник	Ли	Губарев	Сытник	Ли	Губарев
Ручка	шт.	10	5	1	10	10	10	100	50	10
Упаковка бумаги А4	шт.	1	-	-	300	-	+	300	-	-
Итого								400	50	10

Из затрат на материальные ресурсы, включаемых в себестоимость продукции, исключается стоимость возвратных отходов.

Под возвратными отходами производства понимаются остатки сырья, материалов, полуфабрикатов, теплоносителей и других видов материальных ресурсов, образовавшиеся в процессе производства научно-технической продукции, утратившие полностью или частично потребительские качества исходного ресурса (химические или физические свойства) и в силу этого используемые с

повышенными затратами (понижением выхода продукции) или вовсе не используемые по прямому назначению.

Таблица 11 – Расчет бюджета затрат на приобретение спецоборудования для научных работ

Наименование оборудования	Единица измерения	Кол-во единиц оборудования.	Цена единицы оборудования, тыс. руб	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
Набор реагентов	Упаковка	5	2000	10000
Набор для проведения исследований	Упаковка	1	3000	3000
Итого				13000

Итого по статье «материальные затраты»: 13000 руб.

3.2 Основная заработная плата

В состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы в размере 20 –30 % от тарифа или оклада. Расчет основной заработной платы сводится в табл. 16.

Таблица 12– Расчет основной заработной платы

Исполнители	Разряд	k_T	$Z_{тс}$, руб.	$k_{пр}$	k_d	k_p	Z_m , руб	$Z_{дн}$, руб.	Тр, раб. дн.	$Z_{осн}$, руб.
Губарев Ф.А.	Доцент	0.2	33800	0.3	0.5	1.3	79092	4284	10	42840
Ли Линь	-	0.2	17000	0.3	0.5	1.3	39780	2007	10	20070
Сытник Ю.Д.	-	0.2	17000	0.3	0.5	1.3	39780	2053	86	176558
Итого $Z_{осн}$										239468

3.3 Дополнительная заработная плата исполнителей темы

Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы учитывают величину предусмотренных Трудовым кодексом РФ доплат за отклонение от нормальных условий труда, а также выплат, связанных с обеспечением гарантий и компенсаций (при исполнении государственных и общественных обязанностей, при совмещении работы с обучением, при предоставлении ежегодного оплачиваемого отпуска и т.д.).

Расчет производится по следующей формуле:

$$З_{\text{доп}} = k_{\text{доп}} * Z_{\text{осн}} \quad (4)$$

где

$k_{\text{доп}}$ – коэффициент дополнительной заработной платы (на стадии проектирования принимается равным 0,12 – 0,15).

$$Z_{\text{доп}}(\text{ст.препод.}) = 2696.2(\text{ руб.})$$

$$Z_{\text{доп}}(\text{ассистент}) = 9402.1(\text{ руб.})$$

4 Оценка эффективности исследования

Эффективность работы заключается в том, что в сравнении с известными конкурентами, метод определения свертываемости крови, представленный в данной работе, отличается рядом преимуществ. В эксплуатации прибор, который возможно разработать на основе метода, представленного в работе, удобен и практичен, позволяет осуществить действия недоступные конкурентам, а именно: осуществлять экспресс-анализ и непрерывный мониторинг. Первая особенность будет важна для людей, нуждающихся в постоянном контроле над фактором свертывания крови. Слишком быстрое или слишком медленное время свертывания крови может свидетельствовать о наличие нарушений работы сердечно сосудистой системы. Вторая особенность принесет большой вклад в хирургию. Непрерывный мониторинг за данным фактором во время операции существенно упростит работу хирурга.

Таким образом, цель работы достигнута, поставленные задачи решены.

В данном разделе было доказано, что метод, представленный в работе, обладает высокой конкурентоспособностью.

Также по результатам SWOT-анализа были выявлены слабые и сильные стороны проекта, его возможности и угрозы. Все рассмотренные факторы коррелируют таким образом, что сильные стороны и возможности проекта преобладают.

Проведено планирование научно-исследовательских работ. Рассмотрен перечень этапов работ в рамках научного исследования.

Сформирован бюджет материальных затрат и затрат на приборостроение научно-исследовательского проекта, который составил 13460 (руб). Рассчитанный бюджет

Результаты исследования являются приемлемыми и не препятствуют дальнейшему проведению работ.

Вывод

На основе выявленных формул для расчета коэффициента корреляции и оптимального размера спекл-картины, с использованием представленной лабораторной установки были проведены опыты по регистрации времени свертывания нормальной и патологической плазмы крови, по определению оптимальных объемов кюветы и по определению времени свертывания цельной крови лабораторных животных.

На основе того, что данные, полученные методом корреляции цифровых спекл-изображений и с помощью лабораторной установки «Минилаб 701» согласуются между собой, а измеренное протромбиновое время контрольной плазмы с известным временем свертывания находится в указанных пределах нормы, мы можем сделать вывод о том, что метод корреляции цифровых спекл-изображений может быть использован для измерения времени свертывания как плазмы крови, так и цельной крови. Зависимость коэффициента корреляции от времени соответствует известному протромбиновому времени контрольной сыворотки, используемой в эксперименте.

В дальнейших исследованиях необходимо устранить ошибки при заборе биологического материала: необходимо осуществлять забор крови у животного за одинаковое во всех опытах время, не допускать длительного свертывания крови в шприце. Необходимо устранить ошибки измерения, связанные с вибрациями, влияющими на установку.

Список публикаций студента

1. J.D. Sytnik, A.I. Bloskina, F.A. Gubarev, Lin Li. Study of the process of blood clotting by speckle-correlation of images.//XIII International Conference Pulsed Lasers and laser Applications (AMPL-2017) – 2017.
2. Lin Li, I.D. Sytnik, Y.S. Pekker, F.A. Gubarev. Application of Laser-Speckle Correlation Method For Blood Coagulation Estimation.//Progress in Electromagnetic Research Symposium 2018 – 2018.
3. Л. Ли, Ю.Д. Сытник, Ф.А. Губарев, Я.С. Пеккер. Оценка свертываемости плазмы крови методом корреляции лазерных спекл-изображений.// Медицинская техника – 2018.

Список литературы

1. Дик, С. К. Лазерно-оптические методы и технические средства контроля функционального состояния биообъектов / С. К. Дик. – Минск : БГУИР, 2014. – 235 с.
2. Франсон, М. Оптика спеклов: пер.с англ. под ред./ Ю.И.Островского. – М. : Мир, 2010. - 171 с.
3. Z. Zalevsky, Y. Beiderman, I. Margalit, S. Gingold, M. Teicher, V. Mico, J. Garcia, *Optics Express*, 17, 21566 (2009).
4. Tuchin V. V., Galanzha E. I., Zharov V. P., *In vivo image flow cytometry*//V. V. Tuchin, *Advanced Optical Flow Cytometry: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, 2012. -P. 387–433.
5. Dashkevich N.M. Thrombin Activity Propagates in Space During Blood Coagulation as an Excitation Wave / Ovanesov M.V., Balandina N. // *Biophysical journal*. - 21 November 2012. – P. 2233-2240.
6. Tatiana Galochkina. Reaction-diffusion waves of blood coagulation / Anass Bouchnita, Polina Kurbatova, Vitaly Volpert.// *Mathematical Biosciences* - June 2017. – P. 130-139.
7. Galochkina, T. Traveling wave solutions in the mathematical model of blood coagulation // *Applicable Analysis* / Ouzzane, H., Bouchnita, A. , Volpert, V. - 10 December 2017. – P. 2891-2905.
8. Anderson R.R., Parrish J.A., Optical properties of humanskin // *The Science of Photomedicine* / Eds. J.D. Regan, J.A. Parrish. N. Y., 1982. P. 147-194.
9. Siti Salmah Noordin. Coagulation Factor Activities Changes Over 5 Days in Thawed Fresh Frozen Plasma Stored at Different Initial Storage Temperatures// *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*/ Faraizah Abdul KarimWan Mohd Zahiruddin bin Wan MohammadAbdul Rahim Hussein - 07 October 2017, P. 217-221.
10. Ramírez-Miquet, E.E. Digital imaging information technology for biospeckle activity assessment relative to bacteria and parasites// *Lasers in Medical Science*/ Cabrera, H. bEmail Author, Grassi, H.C.c, de J. Andrades, E.c, Otero, I., Rodríguez, D., Darias, J.G. -1 August 2017, P. 1375-1386.
11. Markandey M. Clinical evaluation of whole blood prothrombin time (PT) and

12. international normalized ratio (INR) using a Laser Speckle Rheology sensor.//*Nature human behavior*/, Tripathi, Satoru Egawa, Alexandra G. Wirth, Diane M. Tshikudi, Elizabeth M. Van Cott & Seemantini K. Nadkarni. - 23 August 2017, P. 110-117.
13. Yokoi, N. Estimation of individual response in finger blood concentration change under occlusion on human arm using speckle patterns.//*Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE*/ Shinohara, T.b Okazaki, S. – Vol. 10411, 2017.
14. Tshikudi, D.M. Optical sensing of anticoagulation status: Towards point-of-care coagulation testing// *PLoS ONE*/ Tripathi, M.M.a, Hajjarian, Z.a, Van Cott, E.M.b, Nadkarni, S.K. – V.12, August 2017.
15. Ramírez-Miquet, E.E. Digital imaging information technology for biospeckle activity assessment relative to bacteria and parasites.// *Lasers in Medical Science*/, Cabrera, H., Grassi, H.C.c, de J. Andrades, E.c, Otero, I., Rodríguez, D., Darias, J.G. – Vol. 32, 1 August 2017, P. 1375-1386.
16. Liba, O. Speckle-modulating optical coherence tomography in living mice and humans//*Nature Communications*/ Liba, O., Lew, M.D., Sorelle, E.D., Dutta, R., Sen, D., Moshfeghi, D.M., Chu, S., De La Zerda, A. – Vol. 8, 20 June 2017.
17. Olivan, S.R.G. Diagnosis of occlusal caries lesions in deciduous molars by coherent light scattering pattern speckle.//*Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*/ Deana, A.M., Pinto, M.M.b, Sfalcin, R.A., Fernandes, K.P.S., Mesquita-Ferrari, R.A., Prates, R.A., Bussadori, S.K. – Vol. 18, 1 June 2017, P. 221-225.
18. Pietro Ferraro, AdamWax, Zeev Zalevsky. *Coherent Light Microscopy. Imaging and Quantitative Phase Analysis.* - Springer-Verlag Berlin Heidelberg. – 2011. – Vol.378.
19. Yevgeny Beiderman. Demonstration of remote optical measurement configuration that correlates to glucose concentration in blood //*Biomedical Optics Express*/ Raz Blumenberg, Nir Rabani, Mina Teicher, Javier Garcia, Vicente Mico, and Zeev Zalevsky – Vol. 2, 2011, P. 858-870.
20. Tripathi M.M. Assessing blood coagulation status with laser speckle rheology //*Biomedical Optics Express*/ Hajjarian, Z.a, Van Cott, E.M.b, Nadkarni, S.K. – P. 817-831, March 2014.

21. Markandey M. Clinical evaluation of whole blood prothrombin time (PT) and international normalized ratio (INR) using a Laser Speckle Rheology sensor.//Nature human behavior/Tripathi, Satoru Egawa, Alexandra G. Wirth, Diane M. Tshikudi, Elizabeth M. Van Cott & Seemantini K. Nadkarni - P. 110-117, 23 August 2017.

22. Evelio E. Ramírez-Miquet. Digital imaging information technology for biospeckle activity assessment relative to bacteria and parasites//Lasers in Medical Science/ Humberto Cabrera, Hilda C. Grassi, Efrén de J. Andrades, Isabel Otero, Dania Rodríguez, Juan G. Darias – P. 1375–1386, August 2017.

23. A. P. Vladimirov, Julia A Mikhailova. Dynamic speckle interferometry of microscopic processes in solid state and thin biological objects//VI International Conference on Speckle Metrology – 2015.

24. Bezemer R., Klijn E. Validation of near-infrared laser speckle imaging for assessing microvascular (re)perfusion// Microvascular Research 2010, Vol.79, P.139 – 143.

25. F.A. Gubarev. Speckle pattern processing by digital image correlation// MATEC Web of Conferences/ Lin Li, M.S. Klenovskii and A.Ph. Glotov - 2016.

26. Alyona I. Bloshkina. Investigation of Extracting Information from Vibrating Objects by Digital Speckle Correlation// EDM 2016/, Lin Li, Fedor A. Gubarev, Miron S. Klenovskii – 2016.

27. Y. Piederrière, J. Cariou. Evaluation of blood plasma coagulation dynamics by speckle analysis//Journal of Biomedical Optics/ Y. Guern, G.L. Brun, B.L. Jeune, J. Lotrian - Vol. 9, No. 2, P. 408–412, 2004.

28. D. Zhang, X. Zhang, G. Cheng, Experimental Mechanics, 39, 62 (1999).

29. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени// Клинич. лаборат. диагностика. -1994. -№ 6. -С. 23-25.

30. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.

31. ГОСТ 31581-2012 Лазерная безопасность. Общие требования безопасности при разработке и эксплуатации лазерных изделий.

32. ГОСТ Р 51609-2000 Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования.
33. МУ-287-113 Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.
34. ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-технические требования к воздуху рабочей зоны.
35. СанПиН 2.2.4.548-96 Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений.
36. НПБ 105–03 Определение категории помещений, зданий и наружных установок по взрывопожарной и пожарной опасности.
37. СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".
38. ГОСТ 12.2.049–80 ССБТ. Оборудование производственное. Общие эргономические требования.
39. ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования.
40. Трудовой кодекс Российской Федерации от 30.12.2001 N 197–ФЗ.
41. J.D. Sytnik, A.I. Bloshkina, F.A. Gubarev, Lin Li. Study of the process of blood clotting by speckle-correlation of images.//XIII International Conference Pulsed Lasers and laser Applications (AMPL-2017) – 2017.
42. Lin Li, I.D. Sytnik, Y.S. Pekker, F.A. Gubarev. Application of Laser-Speckle Correlation Method For Blood Coagulation Estimation.//Progress in Electromagnetic Research Symposium 2018 – 2018.
43. Л. Ли, Ю.Д. Сытник, Ф.А. Губарев, Я.С. Пеккер. Оценка свертываемости плазмы крови методом корреляции лазерных спекл-изображений.//Медицинская техника – 2018.