



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/4905 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2024104729, 26.02.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.02.2024

Дата регистрации:
17.05.2024

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 26.02.2024

(45) Опубликовано: 17.05.2024 Бюл. № 14

Адрес для переписки:
109390, Москва, а/я 60, Кошелевой Н.В.

(72) Автор(ы):
Катасонов Андрей Борисович (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Научный центр
психического здоровья" (ФГБНУ НЦПЗ)
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2749767 C1, 16.06.2021. RU
2343456 C1, 10.01.2009. US 5071247 A, 10.12.1991.
US 2007212678 A1, 13.09.2007. CN 106902903 A,
30.06.2017.

(54) Устройство для измерения кинетики агрегации тромбоцитов

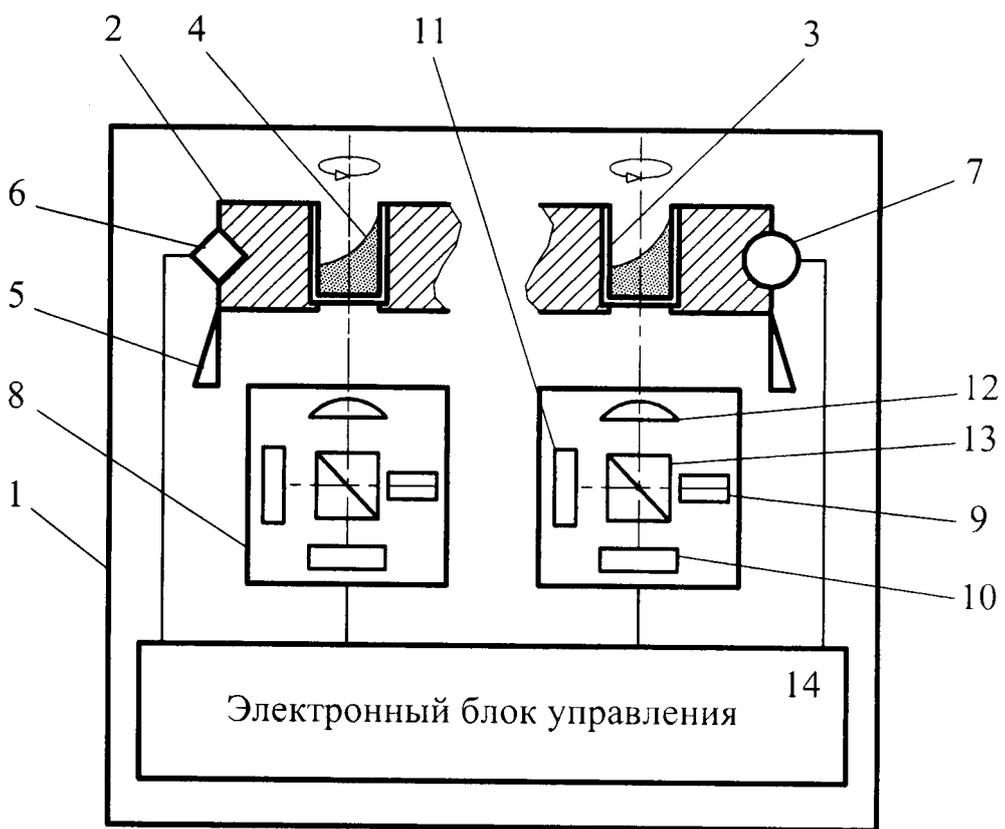
(57) Реферат:

Полезная модель относится к области медицинской техники. Устройство для измерения кинетики агрегации тромбоцитов содержит размещенный в корпусе (1) кюветодержатель (2), закрепленный на упругих опорах (5) и выполненный подвижным с обеспечением возможности совершать гармонические колебания в горизонтальной плоскости по взаимно перпендикулярным осям со сдвигом фаз в 90 градусов. В кюветодержателе (2) размещены кюветы (3), каждая из которых выполнена из оптически прозрачного материала и образует рабочую емкость для исследуемого образца (4) плазмы крови. В корпусе (1) размещены также электронный блок (14) управления и связанные с ним модуль (6) термостабилизации, узел (7) перемешивания плазмы крови, выполненный в виде вибродвигателя, и размещенный под кюветодержателем (2) оптический узел, включающий оптические модули (8). Каждый из

оптических модулей (8) содержит источник (9) лазерного излучения, основной (10) и дополнительный (11) приемники лазерного излучения, фокусирующую линзу (12) и светоделительный элемент (13), выполненный с обеспечением возможности разделения лазерного излучения на возбуждающий луч и опорный луч. Фокусирующая линза (12) размещена у дна соответствующей кюветы (3) на одной оптической оси с основным приемником (10) лазерного излучения, совпадающей с продольной осью соответствующей кюветы (3) и направлением возбуждающего луча. Дополнительный приемник (11) лазерного излучения размещен на одной оптической оси с источником (9) лазерного излучения, совпадающей с направлением опорного луча. Такое выполнение устройства обеспечивает повышение воспроизводимости результатов измерения кинетики агрегации тромбоцитов. 2 з.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл.

RU 226028 U1

RU 226028 U1



Полезная модель относится к области медицинской техники и может использоваться в устройствах для анализа агрегации тромбоцитов.

Тромбоциты - это форменные элементы крови, играющие важную роль в механизмах тромбообразования. Под воздействием различных внешних факторов эти клетки могут активироваться, что проявляется в изменении их формы (например, при механическом воздействии) и приобретении способности слипаться между собой - агрегировать (например, под воздействием аденозина, тромбина, коллагена и других индукторов) или с другими форменными элементами крови (например, с моноцитами при воспалении). Способность тромбоцитов агрегировать между собой имеет важное клиничко-диагностическое значение. Поэтому является актуальным создание устройств, обеспечивающих получение надежных результатов анализа агрегации тромбоцитов, в том числе измерение кинетики агрегации тромбоцитов с высокой воспроизводимостью.

Исследование агрегации тромбоцитов, измерение их чувствительности к различным индукторам агрегации выполняется в научной и клинической практике обычно посредством тромбоцитарных агрегометров, работа которых основана на регистрации кинетики изменения оптических свойств суспензии тромбоцитов в присутствии индуктора агрегации. Известны, например, устройства, использующие оптический турбидиметрический метод, заключающийся в измерении интенсивности светового пучка, прошедшего через исследуемый образец и претерпевшего светорассеяния на оптических неоднородностях, при этом световой пучок от источника излучения проходит через прозрачную емкость с исследуемым образцом плазмы крови вдоль оси, совпадающей с нормалью к фотоприемной поверхности (G.V.R.Born, M.J.Kross. The aggregation of blood platelets «The Journal of Physiology», 1963, v. 168, p.178-195). Работа таких устройств основана на регистрации светопропускания суспензии тромбоцитов. Они содержат термостатированный (термостабилизированный) кюветодержатель, кювету с магнитной мешалкой, источник освещения, фотоприемник, расположенный на одной линии с источником освещения, и блок регистрации оптической плотности суспензии тромбоцитов. Однако такие устройства не обеспечивают высокую информативность исследований, особенно при воздействии на плазму крови индукторов с низкой концентрацией. Использование магнитной мешалки снижает воспроизводимую и точность результатов исследований. Сигнал, снимаемый с фотоприемника в этих устройствах, всегда содержит шумовую составляющую, доля которой растет по мере укрупнения тромбоцитарных агрегатов и уменьшения концентрации свободных клеток в исследуемом образце. При этом шумовая составляющая в основном отсекается фильтром низких частот, что при временном анализе сигнала не позволяет выявить всю полезную информацию.

Известно также устройство для измерения кинетики агрегации тромбоцитов, содержащее основание с прозрачной ячейкой для исследуемого образца плазмы крови, узел перемешивания, включающий магнитную мешалку и электродвигатель с магнитом, выполненным с обеспечением возможности вращения вокруг вертикальной оси, совпадающей с продольной осью прозрачной ячейки, источник и приемник лазерного излучения, оптические оси которых совпадают и перпендикулярны продольной оси прозрачной ячейки, входную и выходную диафрагмы и блок обработки, включающий фильтры высоких и низких частот и блок измерения параметров агрегации (US 5071247 А, 1991). Работа устройства основана на анализе флуктуаций светопропускания, вызванных случайным изменением числа частиц в оптическом канале. К недостатку устройства относится низкая воспроизводимая результатов измерений и их невысокая точность, что во многом обусловлено использованием магнитных мешалок. Это связано

с тем, что мембрана тромбоцитов чувствительна к внешнему механическому воздействию, при этом даже небольшие сдвиговые напряжения в суспензии способны вызвать спонтанную агрегацию тромбоцитов. Расположенная в прозрачной ячейке (рабочей емкости) магнитная мешалка является основным источником нестабильности в процессах агрегации и дезагрегации тромбоцитов, она дает очень грубое перемешивание суспензии, которое практически невозможно стандартизовать. Другой недостаток связан с использованием дискретной рабочей емкости (прозрачной ячейки), что не позволяет обеспечить высокую производительность при эксплуатации устройства. Значительно снижает воспроизводимость результатов измерений боковой ввод и вывод лазерного излучения, поскольку лазерное излучение дважды проходит через боковые цилиндрические стенки прозрачной ячейки, геометрию которых трудно стандартизовать. Соответственно затруднительно обеспечить воспроизводимые условия для реализации анализа флуктуаций светопропускания. Еще одним недостатком устройства является относительно большой объем пробы, требуемой для заполнения кюветы.

Из известных устройств наиболее близким к предложенному является устройство для измерения кинетики агрегации тромбоцитов, содержащее размещенные в корпусе кюветодержатель, закрепленный на упругих опорах и выполненный подвижным с обеспечением возможности совершать гармонические колебания в горизонтальной плоскости по взаимно перпендикулярным осям со сдвигом фаз в 90 градусов, размещенные в кюветодержателе кюветы, каждая из которых выполнена из оптически прозрачного материала и образует рабочую емкость для исследуемого образца плазмы крови, электронный блок управления и связанные с ним модуль термостабилизации, узел перемешивания плазмы крови, выполненный в виде вибродвигателя, и оптический узел, включающий оптические модули, каждый из которых содержит источник лазерного излучения и основной приемник лазерного излучения (RU 2749767 C1, 2021). Это устройство предназначено для определения агрегационной активности тромбоцитов и может использоваться для измерения кинетики агрегации тромбоцитов. В устройстве применен орбитальный принцип перемешивания плазмы крови с использованием двигателя с эксцентриком в качестве привода узла перемешивания. Особенностью конструкции устройства является размещение источника лазерного излучения и фотоприемника по разные стороны и зондирование плазмы крови «на просвет». Существенным недостатком этого устройства является нестабильность оптического пути лазерного излучения, что связано с наличием в кювете подвижной оптической границы в виде мениска суспензии тромбоцитов, который непрерывно колеблется. Рассеивающее и отражающее действие мениска, а также образующиеся в кювете флотирующие микропузырьки воздуха сказываются отрицательно на воспроизводимости результатов измерения оптической плотности исследуемого образца. Другим фактором, влияющим на воспроизводимость, является почти линейная зависимость длины оптического пути от объема исследуемого образца в кювете. Чем меньше этот объем, тем меньше оптическая плотность и тем выше относительная погрешность измерения. Сильная зависимость оптических свойств суспензии тромбоцитов от объема исследуемого образца в кювете, а также амплитуды и частоты перемешивания снижает воспроизводимость получаемых результатов измерений. Для работы этого устройства требуется достаточно большой объем (200-250 мкл) исследуемых образцов плазмы крови. Таким образом, это устройство не обеспечивает высокой воспроизводимости результатов измерения кинетики агрегации тромбоцитов.

Техническая проблема, решаемая полезной моделью, заключается в создании устройства для измерения кинетики агрегации тромбоцитов, лишенного недостатков

прототипа. Технический результат, обеспечиваемый полезной моделью, состоит в повышении воспроизводимости результатов измерения кинетики агрегации тромбоцитов.

Это достигается тем, что в устройстве для измерения кинетики агрегации тромбоцитов, содержащем размещенные в корпусе кюветодержатель, закрепленный на упругих опорах и выполненный подвижным с обеспечением возможности совершать гармонические колебания в горизонтальной плоскости по взаимно перпендикулярным осям со сдвигом фаз в 90 градусов, размещенные в кюветодержателе кюветы, каждая из которых выполнена из оптически прозрачного материала и образует рабочую емкость для исследуемого образца плазмы крови, электронный блок управления и связанные с ним модуль термостабилизации, узел перемешивания плазмы крови, выполненный в виде вибродвигателя, и оптический узел, включающий оптические модули, каждый из которых содержит источник лазерного излучения и основной приемник лазерного излучения, оптический узел размещен под кюветодержателем, а в каждый из оптических модулей введены дополнительный приемник лазерного излучения, фокусирующая линза и светоделительный элемент, выполненный с обеспечением возможности разделения лазерного излучения на возбуждающий луч и опорный луч, при этом фокусирующая линза размещена у дна соответствующей кюветы на одной оптической оси с основным приемником лазерного излучения, совпадающей с продольной осью соответствующей кюветы и направлением возбуждающего луча, а дополнительный приемник лазерного излучения размещен на одной оптической оси с источником лазерного излучения, совпадающей с направлением опорного луча. Каждый из светоделительных элементов может быть выполнен в виде светоделительного кубика или светоделительной пластины.

Указанный технический результат обеспечивается всей совокупностью существенных признаков, представленной в независимом пункте формуле полезной модели, каждый признак которой необходим, а вместе они достаточны для решения указанной технической проблемы и для достижения указанного технического результата. Конструктивные элементы заявленного устройства, характеризуемые соответствующими существенными признаками, находятся в конструктивном единстве и функционально взаимосвязаны (находятся в конструктивно-функциональном единстве). Их совместное использование привело к созданию нового устройства с указанным техническим результатом. Все конструктивные элементы устройства объединены в единую конструкцию и при его изготовлении соединяются между собой на предприятии-изготовителе.

На чертеже показана структурная схема устройства для измерения кинетики агрегации тромбоцитов.

Оно содержит корпус 1, в котором размещены все элементы и узлы устройства. Корпус 1 преимущественно снабжен съемной или откидной крышкой. Устройство содержит кюветодержатель 2 с размещенными в нем кюветами 3, каждая из которых имеет преимущественно цилиндрическую форму, выполнена из оптически прозрачного материала и образует рабочую емкость для исследуемого образца 4 плазмы крови. Дно кювет 3 выполнено преимущественно плоским. Количество кювет 3 может составлять, например, до восьми. Кюветодержатель 2 выполнен преимущественно из легкого и хорошо проводящего тепло материала, например, дюралюминия и снабжен электроизоляционным покрытием. Кюветодержатель 2 закреплен на упругих опорах 5 и выполнен подвижным с обеспечением возможности совершать гармонические колебания в горизонтальной плоскости по взаимно перпендикулярным осям со сдвигом фаз в 90 градусов. Устройство содержит модуль 6 термостабилизации, который может

быть выполнен, например, в виде снабженного датчиком температуры резистивного нагревателя, преимущественного встроенного в кюветодержатель 2. Устройство содержит узел 7 перемешивания плазмы крови, выполненный в виде вибродвигателя, преимущественно в виде снабженного эксцентриком электродвигателя, встроенного в кюветодержатель 2. Частота возбуждаемых вибродвигателем колебаний выбрана преимущественно равной собственной частоте механической колебательной системы, образованной кюветодержателем 2 с кюветами 3 и упругими опорами 5. Устройство содержит также оптический узел, включающий оптические модули 8, каждый из которых содержит источник 9 лазерного излучения, основной 10 и дополнительный 11 приемники лазерного излучения, фокусирующую линзу 12 и светоделительный элемент 13. Оптический узел размещен под кюветодержателем 2, т.е. каждый из оптических модулей 8 размещен под соответствующей кюветой 3. При этом обеспечивается возможность оптического зондирования исследуемого образца 4 плазмы крови со стороны ее контакта с нижней частью кюветы 3. Источник 9 лазерного излучения в каждом оптическом модуле 8 выполнен, например, в виде снабженного диафрагмой лазерного излучателя возбуждающего луча с длиной волны 650 нм и диаметром 0,3 мм. Приемники 10, 11 лазерного излучения в каждом оптическом модуле 8 выполнены каждый, например, в виде фотодиода и могут быть снабжены на своем выходе усилителем аналогового сигнала, а основные приемники 10 лазерного излучения - дополнительно режекторным фильтром. Каждый из основных приемников 10 преимущественно оснащен диафрагмой с апертурой 0,1-0,5 мм. Фокусирующая линза 12 в каждом оптическом модуле 8 размещена у дна соответствующей кюветы 3 на одной оптической оси с основным приемником 10 лазерного излучения, совпадающей с продольной осью соответствующей кюветы 3 и направлением возбуждающего луча. Фокусирующие линзы 12 выполнены преимущественно с фокусным расстоянием 5-10 мм. Каждый из светоделительных элементов 13 может быть выполнен в виде светоделительного кубика или светоделительной пластины. Модуль термостабилизации 6, узел 7 перемешивания плазмы крови и оптический узел (оптические модули 8) связаны с электронным блоком 13 управления, который выполнен преимущественно в виде микроконтроллера с обеспечением возможности его связи с внешним компьютером. Электропитание устройства может осуществляться, например, посредством размещенного в корпусе 1 источника постоянного тока или от USB разъема внешнего компьютера.

Устройство в преимущественном исполнении работает следующим образом. При включении электропитания прогревается кюветодержатель 2 за счет тепла, выделяемого модулем 6 термостабилизации. После прогрева кюветодержателя 2 до заданной температуры в него устанавливаются кюветы 3, которые заполняются исследуемыми образцами 4 плазмы крови. В кюветы 3 вводятся порции индуктора агрегации, например, коллагена, и включается рабочий режим устройства. При этом в автоматическом режиме, обеспечиваемым электронным блоком управления 14, включается электродвигатель узла 7 перемешивания плазмы крови и происходит перемешивание содержимого каждой кюветы 3. Одновременно включаются источники 9 и приемники 10, 11 лазерного излучения. В каждом оптическом модуле 8 лазерное излучение от источника 9 лазерного излучения, попадая на светоделительный элемент 13, разделяется на два луча (потока) - возбуждающий и опорный. Возбуждающий луч, проходя через фокусирующую линзу 12, фокусируется в точку (лазерная перетяжка), расположенную чуть выше внутренней плоскости дна соответствующей кюветы 3. При попадании оптически неоднородных объектов в эту точку происходит интенсивное рассеивание лазерной энергии во всех направлениях. Поскольку для тромбоцитов и их агрегатов

лазерное излучение рассеивается преимущественно в направлении, обратном направлению возбуждающего луча, рассеянное (отраженное) лазерное излучение последовательно проходит через фокусирующую линзу 12, светоделительный элемент 13 и достигает основного приемника 10 лазерного излучения. Электрический сигнал с основных приемников 10 лазерного излучения через усилители аналогового сигнала и режекторные фильтры поступает в электронный блок 14 управления. Режекторные фильтры позволяют уменьшить искажение электрического сигнала за счет удаления из его спектра составляющих, совпадающих с частотой вынужденных колебаний кюветодержателя 2 и высших гармоник этих колебаний. Так как измерение кинетики агрегации может длиться продолжительное время, требуется обеспечить высокую временную стабильность лазерного излучения. Для этого в качестве элемента отрицательной обратной связи, стабилизирующей интенсивность возбуждающего луча, использованы дополнительные приемники 11 лазерного излучения, на которые попадает опорный луч. Электрический сигнал с дополнительных приемников 11 лазерного излучения также усиливается и поступает в электронный блок 14 управления. Таким образом, осуществляется измерение кинетики агрегации тромбоцитов в реальном времени, определяемой зависимостью оптических свойств суспензии тромбоцитов в присутствии или отсутствии индуктора агрегации. При этом в качестве характеристики оптических свойств суспензии тромбоцитов используется светорассеяние. В электронном блоке 14 управления через равные промежутки времени происходит дискретизация поступающих аналоговых сигналов и формируется массив данных в виде набора пар значений «интенсивность аналогового сигнала/время», отражающих кинетику агрегации тромбоцитов. Поскольку почти вся энергия возбуждающего луча сосредоточена в фокусе, то точка фокуса выполняет роль своеобразного зонда, «прощупывающего» содержимое жидкой фазы, при этом объем суспензии тромбоцитов может быть существенно уменьшен (до 60 мкл). Размещение в каждом оптическом модуле 8 фокусирующей линзы 12 вблизи дна кюветы 3 позволяет сформировать в исследуемом образце 4 зону с высокой плотностью энергии лазерного излучения, максимум которой лежит в фокальной плоскости. По мере удаления от фокальной плоскости интенсивность лазерного излучения быстро снижается (пропорционально квадрату расстояния), так что плотность потока лазерного излучения, отражающегося от мениска исследуемого образца 4 и достигающего соответствующего основного приемника 10 лазерного излучения становится пренебрежимо малой. Поэтому колебания мениска исследуемого образца 4 в процессе перемешивания практически не оказывают нежелательного влияния на результаты измерений. Указанные свойства устройства обеспечивают повышение воспроизводимости измерения кинетики агрегации тромбоцитов.

Пример осуществления. Опытный образец устройства выполнен в соответствии с заявленной полезной моделью. В качестве основных узлов устройства использованы следующие. Модуль 6 термостабилизации - чип-резистор, рассчитанный на мощность 2 Вт. Узел перемешивания выполнен на основе вибромотора типа QS-6A-3V. Источник 9 лазерного излучения - лазерный модуль типа DSP6505-0415 с диафрагмой, обеспечивающей диаметр выходящего лазерного луча 2 мм. Основной приемник 10 лазерного излучения - фотодиод типа BPW24R с диафрагмой, имеющей в центре отверстие диаметром 300 мкм. Дополнительный приемник 11 лазерного излучения - фотодиод типа BPW34. Фокусирующая линза 12 - односторонне-выпуклая стеклянная линза диаметром 8 мм и фокусным расстоянием 6 мм. Светоделительный элемент 13 - светоделительная пластина размером 10×10 мм с интерференционным покрытием. Применены также усилители сигналов приемников 10, 11 лазерных сигналов типа

ОРА111 и режекторный фильтр типа LTC1059. В качестве параметров для сравнения результатов измерений в заявленном устройстве и устройстве-прототипе выбраны три дискретные величины (см. Таблицу): $\lg(J_0/J)$ - оптическая плотность исследуемого образца 4 плазмы крови (пробы), где J_0 и J - интенсивности возбуждающего и измеряемого лазерного излучения соответственно;

C - концентрация тромбоцитов/агрегатов в пробе, клеток/мкл;

R - средний относительный радиус агрегата.

Для проведения сравнительных измерений использована плазма крови, обогащенная тромбоцитами (PRP, $\sim 10^5$ клеток/мкл). Концентрация тромбоцитов в пробе (C) измерялась через 5 минут (± 10 сек) после внесения пробы в кювету 3. Затем добавлялся индуктор агрегации (АДФ, 10 мкМ) и спустя еще ровно через 5 минут измерялись величины $\lg(J_0/J)$ и R . Измерения проводились одновременно на заявленном устройстве (I) и устройстве-прототипе (II) с использованием одного и того же образца PRP.

Таблица. Воспроизводимость основных параметров кривой агрегации тромбоцитов

| V, мкл | Коэффициент вариации CV (%) | | | | | |
|-----------|-----------------------------|------|-------|------|--------|------|
| | $\lg(J_0/J)$ | | C | | R | |
| | I | II | I | II | I | II |
| 240 (0,4) | 8,8 | 10,5 | 9,1 | 9,8 | 13,1* | 15,9 |
| 120 (1,2) | 9,5* | 13,5 | 8,5* | 12,8 | 12,9** | 18,1 |
| 60 (1,1) | 8,1** | 25,1 | 9,8** | 22,9 | 14,2** | 42,1 |

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; V – объем пробы в мкл (в скобках для нее указаны CV %).

Результаты измерений показывают, что параметры устройства I практически не чувствительны к изменению объема пробы в диапазоне 60-240 мкл (различие CV (%) по индивидуальному параметру не достоверно). Параметры устройства II имеют достоверную тенденцию к снижению воспроизводимости (т.е. к увеличению CV%) по мере уменьшения объема пробы. Попарное сравнение устройств I и II для каждого из параметров показало, что для объема пробы в 240 мкл (почти полная кювета 3) два параметра $\lg(J_0/J)$ и C демонстрируют отсутствие статистически значимой разницы. Во всех остальных случаях воспроизводимость параметров, измеренных на устройстве I, существенно выше, чем на устройстве II. Таким образом, экспериментально подтверждено, что заявляемое устройство обеспечивает измерение кинетических параметров с более высокой воспроизводимостью (зависящей от объема пробы), чем устройство-прототип.

Устройство для измерения кинетики агрегации тромбоцитов, выполненное в соответствии с полезной моделью, обеспечивает более высокую воспроизводимость результатов измерения по сравнению с известными аналогичными устройствами. Высокая воспроизводимость измеряемых параметров обеспечивается в том числе при использовании небольших по объему исследуемых образцов 4 плазмы крови (до 60 мкл).

(57) Формула полезной модели

1. Устройство для измерения кинетики агрегации тромбоцитов, содержащее размещенные в корпусе кюветодержатель, закрепленный на упругих опорах и выполненный подвижным с обеспечением возможности совершать гармонические колебания в горизонтальной плоскости по взаимно перпендикулярным осям со сдвигом фаз в 90 градусов, размещенные в кюветодержателе кюветы, каждая из которых выполнена из оптически прозрачного материала и образует рабочую емкость для исследуемого образца плазмы крови, электронный блок управления и связанные с ним модуль термостабилизации, узел перемешивания плазмы крови, выполненный в виде вибродвигателя, и оптический узел, включающий оптические модули, каждый из которых содержит источник лазерного излучения и основной приемник лазерного излучения, отличающееся тем, что оптический узел размещен под кюветодержателем, а в каждый из оптических модулей введены дополнительный приемник лазерного излучения, фокусирующая линза и светоделительный элемент, выполненный с обеспечением возможности разделения лазерного излучения на возбуждающий луч и опорный луч, при этом фокусирующая линза размещена у дна соответствующей кюветы на одной оптической оси с основным приемником лазерного излучения, совпадающей с продольной осью соответствующей кюветы и направлением возбуждающего луча, а дополнительный приемник лазерного излучения размещен на одной оптической оси с источником лазерного излучения, совпадающей с направлением опорного луча.

2. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что каждый из светоделительных элементов выполнен в виде светоделительного кубика.

3. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что каждый из светоделительных элементов выполнен в виде светоделительной пластины.

30

35

40

45

