

Изобретение относится к медицине, биологии и биофизике и может быть использовано в качестве экспресс-теста путем определения упругопластических свойств клеток крови и других клеточных суспензий в амбулаторных и стационарных условиях.

Известен способ измерения способности к деформации эритроцитов в суспензии крови [Заявка Франции № 2431129, кл. G 01 N 33/48, ИСМ, 1980, № 15-99, с. 110], по которому устанавливают перепад давления при прохождении суспензии крови через калиброванное отверстие. Затем измеряют время истечения всего объема исследуемой пробы.

Недостатком способа является то, что он предусматривает поддержание постоянного разрежения, т.е. заранее заданного постоянного перепада давления, для чего необходима специальная регистрирующая аппаратура. Для осуществления этого способа необходимы дополнительные подготовительные операции (центрифугирование, разведение пробы и т.д.) для получения суспензий с малой концентрацией клеток.

Кроме того, известный способ не позволяет определить минимальное давление, соответствующее началу деформации клетки для каждой исследуемой пробы, что снижает точность и информативность эксперимента.

Известен прибор для измерения деформационной способности эритроцитов [Патент США № 4521729, кл. G 01 N 27/00, 353/18, ИСМ, 1986, № 4 - 106, С. 72] - прототип устройства, содержащий один сосуд с эталонной жидкостью и второй сосуд-отражатель, имеющий отверстие, диаметр которого меньше, чем наибольший диаметр неподвижного эритроцита. На противоположных сторонах отражателя размещены электроды. Благодаря воздействию давления на буферную жидкость эритроциты проходят через указанное калиброванное отверстие. При деформации эритроцитов изменяется напряжение между электродами, что фиксируется изменением времени.

Недостаток конструкции известного устройства заключается в том, что она не обеспечивает постоянного повышения перепада давления при прохождении исследуемой суспензии клеток через калиброванное отверстие, что не позволяет осуществить способ определения деформируемости клеток с высокой точностью и информативностью.

Кроме того, известное устройство не предусматривает поддержание стабильности температурных условий и измерение объема продавливаемой жидкости через калиброванное отверстие.

Цель изобретения - повышение точности, информативности исследования. Эта задача направлена на осуществление общего замысла заявляемой группы изобретений: способа и устройства для его осуществления.

Цель достигается тем, что в способе определения деформируемости клеток, включающем прохождение исследуемой пробы через калиброванное отверстие под воздействием перепада давления с последующим измерением времени ее истечения, прохождение исследуемой пробы через калиброванное отверстие осуществляют путем непрерывного повышения перепада давления в течение всего периода исследования. При этом одновременно измеряют продавливаемый объем исследуемой пробы и поддерживают заранее заданный температурный режим.

Отличительными признаками способа являются:

Прохождение исследуемой пробы через калиброванное отверстие осуществляют путем непрерывного повышения перепада давления в течение всего периода исследования с одновременным измерением продавливаемого объема исследуемой пробы.

Прохождение исследуемой пробы через калиброванное отверстие осуществляют путем поддержания заранее заданного температурного режима.

Устройство для осуществления этого способа содержит измерительную ячейку, связанную с емкостью для рабочей жидкости. На измерительной ячейке выполнено сквозное отверстие, диаметр которого меньше диаметра исследуемой клетки. В емкости с рабочей жидкостью установлен толкатель с возможностью его поступательного движения. Толкатель связан с приводом изменения перепада давления. Емкость для рабочей жидкости снабжена датчиком давления. Измерительная ячейка и емкость для рабочей жидкости разделены между собой упругим элементом, который связан с датчиком линейных перемещений. Емкость для рабочей жидкости снабжена системой термостабилизации, а измерительная ячейка - системой изменения температуры.

Отличительными признаками устройства являются:

Измерительная ячейка и емкость для рабочей жидкости разделены между собой упругим элементом.

Упругий элемент связан с датчиком линейных перемещений.

Емкость для рабочей жидкости снабжена системой термостабилизации.

Измерительная ячейка снабжена системой изменения температуры.

В предложенном способе непрерывное повышение перепада давления позволяет определить значение минимального перепада давления, при котором начинается деформация клетки для каждой исследуемой пробы.

Использование дополнительного критерия деформируемости клеток - объема продавливаемой исследуемой пробы через калиброванное отверстие под воздействием непрерывного повышения перепада давления способствует повышению информативности способа за счет получения качественно новых характеристик упругопластических свойств мембран клеток.

Поддержание заранее заданного температурного режима позволяет также повысить точность и информативность исследования и расширить функциональные возможности способа, т.е. он может быть пригоден для реализации новых экспериментальных направлений в медицине и биологии.

В предложенном устройстве введение упругого элемента обеспечивает разделение рабочей жидкости и исследуемой суспензии клеток, а также способствует передаче давления от рабочей жидкости к исследуемой пробе при ее прохождении через калиброванное отверстие.

Датчик упругого элемента необходим для регистрации выдавливаемого объема суспензии клеток через калиброванное отверстие, что характеризует степень деформируемости исследуемой клетки.

Введение системы термостабилизации рабочей жидкости уменьшает погрешность измерений для

получения результатов исследования.

Наличие в предложенной конструкции устройства системы изменения температуры исследуемой пробы обеспечивает выполнение заранее заданного температурного режима эксперимента.

Отличительные признаки заявляемого решения соответствуют критерию "новизна" и требованиям изобретательского уровня.

По данному решению изготовлен опытный образец устройства, и способ определения деформируемости клеток был использован в качестве экспресс-теста для диагностики заболеваний внутренних органов и системы кровообращения. Исследования проведены на базе НПФ "Криокон" и клинике Института терапии АМН Украины (г. Харьков). Достоверность исследований составляет 96%.

Использование заявляемой группы изобретений позволяет повысить точность и информативность эксперимента при его высокой разрешающей способности (10^6 см^3) и возможности работы с микрообъемами исследуемых проб (до $0,01 \text{ см}^3$). Кроме того, предложенный способ исследования позволяет работать с клеточными суспензиями с высокой концентрацией клеток в объеме (до 50%), что не требует подготовительных операций и сокращает продолжительность исследования.

На фиг. 1 представлена схема предложенного устройства; на фиг. 2 - зависимость величины продавливаемого объема исследуемой пробы от перепада давления; на фиг. 3 - зависимость продавливаемого объема исследуемой пробы от времени истечения.

На фиг. 2 и 3 по результатам исследования деформируемости клеток, например эритроцитов крови, кривая 1 характеризует отсутствие патологии в системе кровообращения и принята за эталонную, кривая 2 характеризует наличие патологии в системе кровообращения.

Заявляемый способ осуществляют следующим образом,

1. Для проведения исследования устанавливают в емкости с рабочей жидкостью заранее заданный температурный режим, например температуру 40°C .

2. Помещают исследуемую пробу в виде клеточной суспензии, например суспензии эритроцитов крови, в объеме от $0,05$ до $0,2 \text{ см}^3$ в измерительную ячейку устройства.

3. Устанавливают в измерительной ячейке заранее заданный температурный режим (для охлаждения или нагрева) в пределах от -10° до $+40^\circ\text{C}$.

4. Осуществляют прохождение исследуемой пробы через калиброванное отверстие на измерительной ячейке путем непрерывного повышения в ней перепада давления в пределах от 0 до $5 \cdot 10^5 \text{ Па}$.

5. Постоянно регистрируют величину продавливаемого объема в зависимости от перепада давления (фиг. 2).

6. Одновременно регистрируют продавливаемый объем исследуемой пробы и время ее истечения (фиг. 3).

7. Судят о деформируемости исследуемых суспензий клеток по результатам измерений: минимального перепада давления (ΔP_{\min} на фиг. 2), при котором начинается деформируемость клетки, объема продавливаемой пробы, полного времени истечения (фиг. 3) - сравнивают эти показатели с их эталонными значениями (кривая 1 на фиг. 2 и 3).

Для осуществления предложенного способа используют устройство, конструкция которого предложена авторами изобретения. Заявляемое устройство содержит измерительную ячейку 1 (фиг. 1), на которой выполнено сквозное калиброванное отверстие 2. Диаметр этого отверстия должен быть меньше диаметра исследуемой клетки (от 3 до 8 мкм). Измерительная ячейка 1 снабжена системой изменения температуры, состоящей из датчика 3 температуры, блока 4 сканирования температуры, например термоэлектрических элементов, и блока 5 управления. Ячейка 1 имеет упругий элемент 6, например сильфон или мембрану, который отделяет ее от емкости 7 с рабочей жидкостью. В емкости 7 установлен толкатель 8, например сильфон или поршень, с возможностью его поступательного движения.

Толкатель 8 связан с приводом 9 изменения перепада давления. Емкость 7 снабжена датчиком давления 10 и системой термостабилизации, состоящей из нагревателя 11, датчика температуры 12 и блока управления 13. Упругий элемент 6 связан с датчиком линейных перемещений 14.

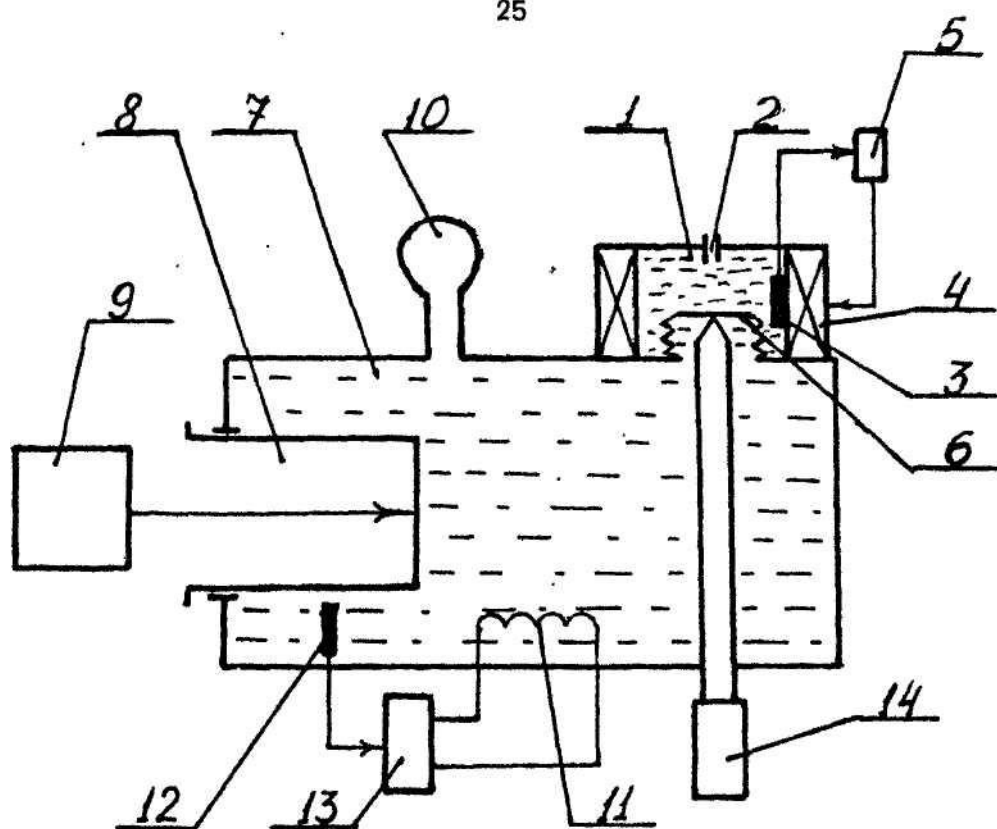
Устройство работает следующим образом.

Для обеспечения термостабилизации емкости 7 включают нагреватель 11 и после достижения рабочей температуры 40°C , что регистрируется датчиком 12, блок 13 отключает нагреватель 11. В течение всего периода эксперимента температура рабочей жидкости в емкости 7 поддерживается на уровне $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

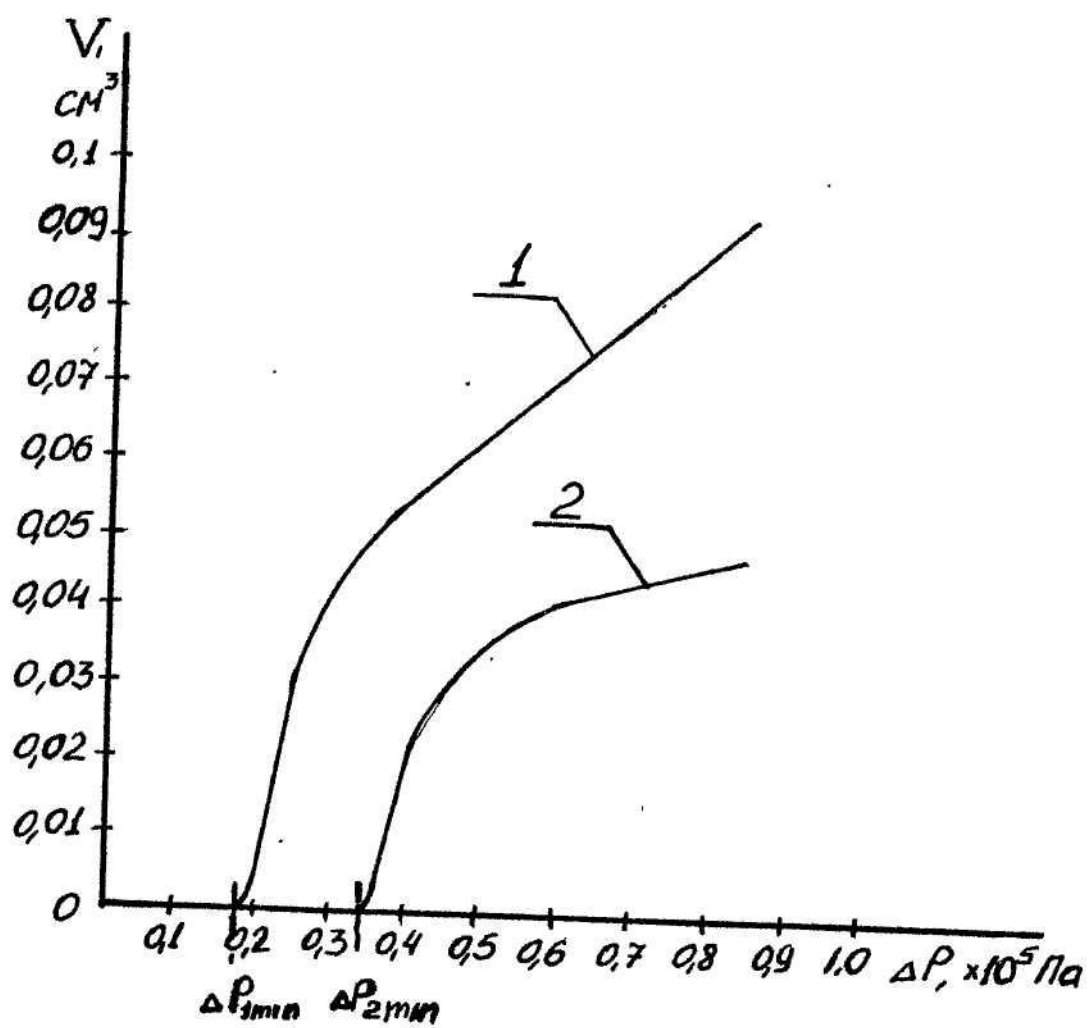
После этого в измерительную ячейку 1 помещают исследуемые клетки, например эритроциты, задают температурный режим исследования с помощью блока 5, после чего включают блок 4 сканирования температуры.

В ячейке 1 температура регистрируется датчиком 3. Система изменения температуры позволяет поддерживать ее в диапазоне от -10° до $+40^\circ\text{C}$ с точностью $\pm 0,5^\circ\text{C}$. После достижения заданной температуры в ячейке 1 включают привод 9, который заставляет толкатель 8 совершать поступательное движение в емкости 7, сжимая рабочую жидкость, что приводит к повышению давления, регистрируемого датчиком 10 (фиг. 1).

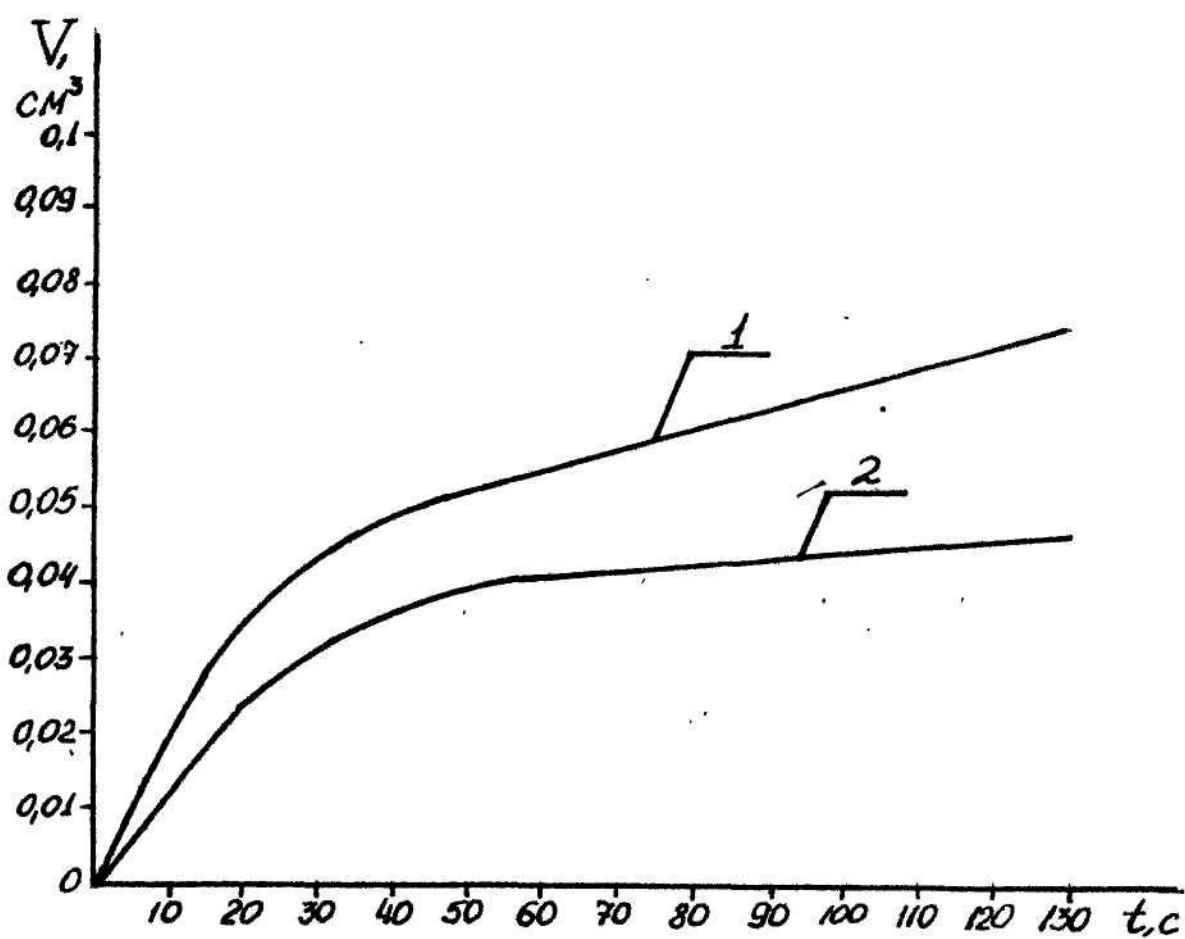
С помощью упругого элемента 6 давление рабочей жидкости в емкости 7 передается на исследуемую пробу в ячейке 1, создавая избыточное давление в измерительной ячейке 1. Под действием этого давления исследуемые клетки продавливаются через отверстие 2, причем занимаемый ими объем в измерительной ячейке 1 уменьшается, а упругий элемент 6 вдавливается в ячейку 1. Перемещение упругого элемента 6, регистрируемое датчиком 14, пропорционально выдавливаемому объему клеток. Деформируемость исследуемых клеток определяется характером изменений продавливаемого объема по показаниям датчика 14, минимального перепада давления податнику 10, а также по величине времени истечения, что отражено на фиг. 2 и 3. Средство для измерения времени на фиг. 1 не указано.



$\phi_{u2.1}$



Фиг. 2.2



$\Phi_{u2.3}$