

На правах рукописи



ГЕНЕРАЛОВ КОНСТАНТИН ВЛАДИМИРОВИЧ

**ИЗМЕРИТЕЛЬНО-ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ
ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЯХ**

2.2.12 - Приборы, системы и изделия медицинского назначения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Новосибирск 2023

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор».

Научный руководитель: **Сафатов Александр Сергеевич**, доктор технических наук, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», отдел биофизики и экологических исследований, заведующий отделом.

Научный консультант: **Кручинина Маргарита Витальевна**, доктор медицинских наук, доцент, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория гастроэнтерологии, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты: **Новиков Алексей Алексеевич**, доктор технических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный технический университет», кафедра машиностроения и материаловедения, профессор;

Глухов Александр Викторович, кандидат технических наук, Акционерное общество «Новосибирский завод полупроводниковых приборов Восток», дирекция, заместитель генерального директора по научной работе, директор опытно-конструкторского бюро.


Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск.

Защита диссертации состоится «06» февраля 2024 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.347.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный технический университет» по адресу: 630073, г. Новосибирск, пр. К. Маркса, 20, I корпус, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного технического университета и на сайте организации www.nstu.ru

Автореферат разослан «__» декабря 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
д-р техн. наук, доцент

 Максим Андреевич Степанов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. В медицинской практике применяются многочисленные методы и измерительные приборы, в которых электрическое поле используется для зондирования и исследования клеток. В комплексе они предоставляют в распоряжение врачей и исследователей ряд различных измеряемых и рассчитываемых параметров клеток, в том числе и эритроцитов. Среди них, например, радиус, объем, концентрация, жёсткость, вязкость, электрическая ёмкость, проводимость и другие. Именно в своей совокупности параметры эритроцитов наиболее точно отражают состояние здоровья пациента. Одномоментное измерение как можно большего числа параметров эритроцитов из одной пробы предоставляют более ценную информацию, чем совокупность отдельных, полученных в разное время.

Одним из свойств эритроцитов, которое они приобрели в процессе эволюции, является непрерывная адаптация к внешним условиям. Например, объем, радиус, водно-солевой баланс, напряжённость электрического поля на мембране изменяются в ответ на воздействия со стороны вирусов или бактерий, свойств внешней среды. В результате повторные измерения параметров одних и тех же эритроцитов, степень близости их результатов друг к другу, полученные одним и тем же оператором и методом, на идентичном оборудовании могут не совпадать. В последнее десятилетие в области медицины все более востребованными становятся методы диэлектрофореза, электроротации, электроориентации эритроцитов и аппаратные комплексы, построенные для практической реализации этих методов (Pohl H.A., 1978, Мартынова Т.А., 2015, Кручинина М.В., 2016). Они позволяют в короткие сроки с минимальными материальными и временными затратами измерить ряд параметров эритроцитов и дать ответы на вопросы, которые являются важными для верификации диагноза, своевременной диагностики, правильности определения тактики лечения, ведения пациента, фактически – прогноза для больного (Camarda M., 2014, Zhang H., 2019).

В соответствии с Федеральным законом Российской Федерации № 102–ФЗ «Об обеспечении единства измерений», в России с 2008 г. установлены правовые основы обеспечения единства измерений. Согласно указанному закону, сфера государственного регулирования обеспечения единства измерений предусматривает обязательные метрологические требования при осуществлении деятельности в области здравоохранения. Как с позиции метрологии, так и с позиции медицины, величины параметров эритроцитов должны приводиться с указанием неопределённости, которая позволяет метрологу быть уверенным, что измерения осуществляются правильно, а врачу давать объективную оценку динамики течения заболевания, эффективности назначенного лечения. Метрологическое обеспечение сложных технических средств, каким является измерительно-вычислительный комплекс (ИВК), предполагает обязательное наличие системы их контроля, калибровки, которые включают:

теоретические знания; единые методы и способы измерений; опытно-конструкторские решения и технологические процедуры.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время в клиничко-диагностических лабораториях для исследования параметров эритроцитов используют гематологические анализаторы, использующие импедансный метод подсчёта (известный также как счетчик Коултера), позволяющие анализировать перечень показателей клеток крови: количество эритроцитов, уровень гемоглобина, средний объем эритроцитов (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC), гематокрит (Hct), коэффициент вариации объема эритроцитов (RDW), распределение эритроцитов по объёму (Reinhart W.H., 1987). Среди приведённых параметров отсутствуют те, которые характеризуют вязкоупругие характеристики клеток красной крови. В научных целях используется ряд методов и устройств исследования вязкоупругих характеристик эритроцитов. Одним из них служит метод втягивания части мембраны эритроцита в микропипетку, который, однако, не даёт полного представления о вязкости клетки и является достаточно трудоёмким для получения статистически достоверного результата для каждого пациента. Другим способом определения упругости клетки красной крови является метод атомной силовой микроскопии (Grimellec C., 1998). Недостатком этого способа является также большая трудоёмкость измерения для получения статистически достоверного результата. Для измерения локальных упругих характеристик клетки применяется способ использования оптического пинцета, описанный Guillaume L. (2001). Метод заключается в том, что на поверхности клетки приклеиваются кварцевые бусинки, затем к этим бусинкам прикладывается контролируемая диэлектрофоретическая сила и измеряется смещение положения бусинок. Отношение силы прикладываемой к бусинкам к величине деформации позволяет определить упругость отдельных областей клетки. Известен способ и устройство для измерения вязкоупругих характеристик клетки, в электрическом поле (Archer S., 1999). Этот способ включает стадии: пропускание суспензии клеток через рабочий объем камеры с последовательно установленными в ней электродами, наложение неоднородного переменного электрического поля (НПЭП) на суспензию, компьютерное распознавание размеров и формы клеток, притянувшихся к электроду, расчёт силы, растягивающей клетку по модели проводящего эллипсоида. Недостатком описанного способа является низкая точность измерения жёсткости и вязкости клетки, обусловленная погрешностью при расчёте растягивающей силы по модели проводящего эллипсоида и погрешностью, связанной с тем, что клетка имеет непосредственный контакт с поверхностью электрода. Это изменяет физиологическое состояние мембраны клетки. Кроме того, этот способ имеет малую производительность процесса измерения вязкоупругих характеристик клетки.

Целью диссертационной работы является разработка измерительно-вычислительного комплекса для одномоментного изучения совокупности параметров эритроцитов человека в медико-биологических исследованиях.

В диссертационной работе поставлены следующие **задачи**:

1. Составить и решить дифференциальное уравнение поляризуемости эритроцита в неоднородном переменном электрическом поле.

2. На основании решений дифференциального уравнения поляризуемости эритроцита в неоднородном переменном электрическом поле разработать измерительно-вычислительный комплекс для изучения параметров эритроцитов в медико-биологических исследованиях.

3. На базе измерительного вычислительного комплекса: разработать способ определения массы отдельно наблюдаемого эритроцита в неоднородном переменном электрическом поле; создать программное обеспечение одномоментного измерения совокупности параметров эритроцита человека; разработать опытный образец государственного эталона электрической поляризуемости 1-го разряда; исследовать пилотные референтные значения поляризуемости эритроцитов.

Научная новизна работы:

1. Впервые разработан измерительно-вычислительный комплекс для одномоментного исследования совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов.

На базе измерительно-вычислительного комплекса впервые:

2. Разработано программное обеспечение «Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля» свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016618155.

3. Разработан способ определения массы микрочастицы, частицы микронного размера с помощью измерительно-вычислительного комплекса – патент на изобретение № 261435.

4. Создан опытный образец государственного эталона электрической поляризуемости биологических частиц, аттестован государственный эталон единицы величины электрической поляризуемости биологических объектов 1-го разряда (удостоверение государственного эталона физической величины поляризуемости, сертификат калибровки, свидетельство об аттестации государственного эталона единицы электрической поляризуемости). Государственный эталон электрической поляризуемости биологических объектов 1-го разряда позволит создать метрологическую систему передачи величины поляризуемости в России.

5. Экспериментально доказана и теоретически обоснована нелинейность поляризации эритроцита путём анализа частоты его вращения вокруг собственной оси в неоднородном переменном электрическом поле. Впервые установлено, что нелинейная поляризация эритроцитов человека возникает после превышения трансмембранного потенциала клетки 26,2 мВ.

6. Определены пилотные референтные значения поляризуемости эритроцитов человека с учётом половых и возрастных различий с использованием разработанных подходов.

Теоретическая и практическая значимость работы.

1. Теоретически обоснована нелинейность поляризации эритроцита путем анализа частоты его вращения вокруг собственной оси в неоднородном переменном электрическом поле;

2. Впервые установлено, что нелинейная поляризация эритроцитов человека возникает после превышения трансмембранного потенциала 26,2 мВ.

Практическая значимость результатов диссертационной работы:

1. предложенная конструкция измерительной камеры позволяет сформировать область неоднородного переменного электрического поля со стабильными пространственными характеристиками и минимизировать влияние переходного сопротивления на участке электрод измерительной камеры, индуцированных объемных зарядов клеток друг на друга;

2. разработано программное обеспечение «Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля» с возможностью одномоментного получения перечня параметров эритроцитов;

3. разработанный способ определения массы микрочастиц дает возможность использовать данный параметр при проведении медико-биологических исследований с минимальными временными и материальными затратами;

4. определенные пилотные референтные значения поляризуемости эритроцитов человека с учетом половых и возрастных различий обеспечивают перспективы их использования в медицинских целях.

Государственный эталон электрической поляризуемости биологических объектов 1-го разряда позволит реализовать метрологическую систему передачи величины поляризуемости в России. Программное обеспечение «Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля» является неотъемлемой частью первичной методики измерений (ПРМИ) поляризуемости биочастиц (эритроцитов). Свидетельство № 467-RA.RU.311735-2019.

Методы исследования. В диссертационной работе использовались теоретические и экспериментальные исследования, методы численного анализа и статистической обработки результатов.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Разработанный ИВК для одномоментного измерения и изучения параметров эритроцитов в медико-биологических исследованиях, в состав которого входят генератор переменного напряжения; усилитель переменного напряжения, измерительная ячейка, микроскоп с комплексом визуализации, компьютер, осциллограф. В предложенной конструкции измерительной ячейки расстояние между электродами составляет 150 мкм, ширина электродов не менее 4–5 мм. Конструкция

измерительной камеры позволяет сформировать область поля со стабильными пространственными характеристиками НПЭП и минимизировать влияние переходного сопротивления на участке электрод измерительной камеры - электрический разъем со стороны генератора напряжения, индуцированных объёмных зарядов клеток друг на друга.

2. Измерительно-вычислительный комплекс определяет и производит расчет следующих параметров клетки:

– $m_{\text{кл}}$ – массы клетки, стандартная неопределенность типа Б (СНБ) для клетки с массой $2,4 \times 10^{-13}$ кг не превышает 4,4 %;

– $r_{\text{кл}}$ – радиуса клетки в диапазоне от 2 до 5×10^{-6} [м], СНБ для клетки с радиусом 3,8 мкм составляет не более 6,8 %;

– $\dot{x}_{\text{кл}}$ – скорости движения клетки 10^5 – 10^4 [м/с], СНБ для клетки с радиусом 3,8 мкм составляет не более 1,1 %;

– $\alpha_{\text{кл}}$ – коэффициента объёмной поляризуемости клетки (эритроцита) в диапазоне 10^{-16} – 10^{-13} [м³], СНБ для клетки с радиусом 3,8 мкм не превышает 17,3 %;

– $\tau_{\text{рел}}$ – расчётного времени релаксации [с] ($\tau_{\text{изм}}$ – время измерения параметров клетки выбирается в диапазоне $\tau_{\text{изм}}$ от 5 до 10 с);

– $x_{\text{кл}}$ – амплитуды деформации клетки в диапазоне $1,2 \times 10^{-6}$ – $3,0 \times 10^{-6}$ [м], СНБ для клетки с радиусом 3,8 мкм составляет не более 6,8 % ($dr_{\text{кл}}$ – разрешимое расстояние объектива микроскопа не менее 0,26 мкм).

3. Разработанное программное обеспечение для ЭВМ «Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля», позволяющее одномоментно определять совокупность параметров клетки.

4. Нелинейная поляризация эритроцитов человека возникает после превышения трансмембранного потенциала клетки 26,2 мВ. Разработан эталон единицы измерения поляризуемости на основе сферических частиц из полистирола ОГС–09ЛМ со средним диаметром $6,0 \times 10^{-6}$ м утвержденного типа ГСО 10050–2011. Пилотные референтные значения поляризуемости эритроцитов в частотном диапазоне $(0,05 \div 1,00) \times 10^6$ Гц с учётом половых и возрастных различий находятся в пределах от $-1,2 \times 10^{-14}$ до $2,3 \times 10^{-14}$ м³.

5. Разработан способ определения массы эритроцита на основании данных о радиусе клетки, частоте и амплитуде ее колебания между электродами, скорости ее возвратно-поступательного движения.

Личный вклад автора. Автору принадлежит идея анализа вращения эритроцитов вокруг собственной оси как доказательство нелинейной поляризации в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП), использования ИВК для измерения массы поляризуемых частиц микронного размера с помощью НПЭП. Автором произведена интерпретация полученных результатов, подготовка материалов к публикации в отечественных и зарубежных изданиях, разработка программы анализа результатов поведения клетки в НПЭП и его регистрации в государственных органах. Автором

лично представлены полученные результаты на международных и Российских конференциях и конгрессах.

Научная специальность, которой соответствует диссертация. Диссертация соответствует паспорту специальности 2.2.12 – «Приборы, системы и изделия медицинского назначения», а именно направлениям исследования: п. 2 «Приборы, системы и аппаратно-программные комплексы для оценки текущего состояния, скринингового обследования, мониторинга, прогнозирования и диагностики состояния здоровья человека», п. 6 «Приборы и аппаратно-программные комплексы лабораторного анализа», п. 10 «Технические средства и системы, обеспечивающие повышение точности медицинской диагностики, воспроизводимости и сопоставимости результатов биомедицинских исследований».

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационная работа обобщает результаты научных исследований, выполненных в рамках реализации мероприятий федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.:

– «Разработка метода неинвазивной диагностики и оценки эффективности лечения диффузной патологии печени». Контракт № 8041/1 от 30 ноября 2012 г. между Министерством образования и науки Российской Федерации, Российской академией медицинских наук и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Научно-исследовательский институт терапии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук;

– Комплекс работ, выполненных в рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 гг.)»: «Разработка комплекса средств индикации патогенных биологических агентов для оснащения мобильных постов контроля окружающей среды». Контракт № 52–Д/1 от 26 июня 2012 г.;

– «Разработка и апробация систем обнаружения возбудителей особо опасных бактериальных и вирусных инфекций на основе модуля индикации патогенных биологических агентов». Контракт № 25–Д/1 от 9 сентября 2013 г.;

– Государственная подпрограмма «Развитие системы технического регулирования, стандартизации и обеспечения единства измерений» ГК № 120-108 от 13 мая 2015 г. «Разработка государственного стандарта для метрологического обеспечения биофизических измерений» (Шифр «Биофизик»);

– Государственная программа «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространённых терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» ГЗ № 0324-2018-0001, рег. № АААА-А17-117112850280-2 (2018–2022 гг.).

Достоверность и апробация результатов. Достоверность результатов, выводов и научных положений диссертационной работы подтверждается экспериментальными

исследованиями; согласованностью экспериментальных и теоретических результатов между собой, их соответствием фундаментальным законам поляризации и теории электродинамики сплошных сред; публикациями результатов в рецензируемых научных изданиях и их обсуждением на Российских и международных конференциях; апробацией и внедрением измерительно-вычислительного комплекса в практическую медицину, метрологию; использованием современных методов статистической обработки результатов исследований, отвечающих поставленным задачам. Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на международных и отечественных конференциях: на практической конференции «Проблемы и пути совершенствования гражданской обороны в субъектах Российской Федерации Сибирского федерального округа» (Новосибирск, 2012); на первом Международном форуме технологического развития «Технопром–2013» (Новосибирск, 2013); Medical Biodefense Conference (Munich, 2013); на Международном Форуме Технологического развития «ТЕХНОПРОМ–2014» и 8-й Сибирской венчурной ярмарке (Новосибирск, 2014); International Aerosol Conference (Korea, 2014); на 2-й международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицины в современных условиях» (Санкт-Петербург, 2015); на 5-й Всероссийской конференции «Проблемы метрологического обеспечения в области здравоохранения и производства медицинской техники» (Сочи, 2015); на 13-м Всероссийском Конгрессе с международным участием «Профессия и здоровье» (Новосибирск, 2015); на Всероссийской выставке «Точные измерения – основа качества и безопасности» (Москва, 2016); на 13-й международной научно-технической конференции по актуальным проблемам электронного приборостроения (Новосибирск, 2016); на 12-й ежегодной международной конференции по информационным технологиям и информатике (Афины, 2016); на 7-й Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы радиофизики» (Томск, 2017); на 8-й Всероссийской научно-технической конференции «Проблемы метрологического обеспечения в здравоохранении и производстве медицинской техники» (Сочи, 2018); на 21-м Международном медицинском Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро–2019» и 21-м Съезде Научного общества гастроэнтерологов России (НОГР) (Санкт-Петербург, 2019); на Секции молодых учёных Российской научно-практической конференции, посвящённой 40-летию НИИ онкологии Томского НИМЦ «Фундаментальная и клиническая онкология: достижения и перспективы развития» (Томск, 2019).

Реализация и внедрение результатов работы. Разработанный в диссертационной работе ИВК исследования клеток используется: в Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (разработка новых медицинских технологий: «Способ

диагностики резистентной артериальной гипертензии методом диэлектрофореза эритроцитов» (2014), «Способ комплексной оценки степени фиброза печени: сопоставление оптического метода исследования эритроцитов и непрямой эластометрии печени» (2016); «Способ диагностики нарушений реологии у больных сахарным диабетом 2 типа» (2016); «Метод оценки степени тяжести гемореологических нарушений у больных кардиологического профиля» (2018); – в Центре профилактики тромбозов г. Новосибирска; в учебном процессе кафедры пропедевтики внутренних болезней, факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей Новосибирского государственного медицинского университета (ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России); в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственном научном центре вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора для исследования вирус-клеточного взаимодействия; в Федеральном государственном унитарном предприятии Сибирском научно-исследовательском институте метрологии для организации государственной системы поверки лабораторных измерительных комплексов физической величины поляризуемости медицинского назначения. Результаты работы в целом могут использоваться учреждениями занимающиеся диагностикой заболевания человека.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 33 печатных работы, из них 4 – в изданиях из списка ВАК РФ, 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus / Web of Science.

Получено 6 патентов на изобретение РФ, одно свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка терминов, списка литературы, состоящего из 132 наименований; содержит 27 рисунков; 13 таблиц, десять приложений и изложена на 150 страницах машинописного текста.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность работы, указаны цель и основные задачи, представлена научная новизна и практическая ценность диссертации. Сформулированы положения диссертации, выносимые на защиту, сведения о достоверности результатов, об апробации работы и личном вкладе автора.

В первой главе - литературном обзоре, подробно излагаются основы современной теории диэлектрофореза, электроориентации, электроротации клетки. Приведены примеры практического использования диэлектрофореза в микробиологии, вирусологии, медицине, диагностике заболеваний человека. Кратко обсуждается проблема в области метрологии, связанная с обеспечением единства измерений параметров клетки в области здравоохранения.

Во второй главе представлен перечень оборудования и материалов. Описана методика подготовки проб эритроцитов, латексных частиц микронного размера к проведению измерений с помощью ИВК.

На основании литературных данных в развернутом виде указана усредненная по времени вынуждающая сила, действующая на клетку со стороны НПЭП:

$$F_{\text{кл}} = 2 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_{\text{кл}} \cdot r_{\text{кл}}^3 \cdot \text{Re}[K^*(\omega)] \cdot \nabla E_{\text{ср}}^2$$

где: $\varepsilon_{\text{ср}}$ - диэлектрическая проницаемость среды; $\varepsilon_{\text{кл}}$ - диэлектрическая проницаемость клетки; $r_{\text{кл}}$ - радиус клетки; $\nabla E_{\text{ср}}^2$ - градиент квадрата напряженности электрического поля среды [$\text{В}^2/\text{м}^3$].

Представлен анализ поступательного, вынужденного возвратно-поступательного движения клетки, деформации клеточного объема, вращения клетки вокруг собственной оси в НПЭП.

Приводится решение относительно амплитуды колебания клетки, как механической системы с одной степенью свободы, имеет вид:

$$x = e^{-h \cdot t} \cdot (C_1 \cdot \sin(\omega t) + C_2 \cos(\omega t)) + \frac{|F_{\text{эл}}|}{m_{\text{кл}} \sqrt{\left(\frac{C_{\text{кл}}}{m_{\text{кл}}} - \omega^2\right)^2 + 4 \cdot h^2 \cdot \omega^2}} \cdot \sin(\omega t - \gamma) \quad (1)$$

где: $\omega = 2 \cdot \pi \cdot f$ - круговая частота внешней вынуждающей силы НПЭП; γ - угол отставания фазы реакции клетки от фазы действия вынуждающей силы; $h_{\text{кл}} = (6 \cdot \pi \cdot \eta_{\text{кл}} r_{\text{кл}}) / 2 \cdot m_{\text{кл}}$ - коэффициент пропорциональности вязкого трения клетки; C_1, C_2 - постоянные, определяются из начальных условий колебания.

Первое слагаемое уравнения (1) описывает свободные колебания клетки, второе - вынужденные под действием внешней силы $|F_{\text{эл}}|$. Анализ выражения (1) показал, из второго слагаемого на частоте $\omega=0$ находится параметр статической жесткости $c_{\text{кл}}$.

$$c_{\text{кл}} = \frac{|F_{\text{эл}}|}{x_m}$$

Решение уравнения (1) на частоте $\omega=0$ относительно жесткости $c_{\text{кл}}$, и с учетом фазовых зависимостей, амплитуды колебания (деформации), скорости и ускорения движения клетки в НПЭП, позволили составить частные уравнения для поиска значений вязкости и массы клетки.

Третья глава посвящена разработке аппаратно-методической базы исследования параметров эритроцитов человека с помощью измерительно вычислительного комплекса. Обоснован список необходимого оборудования необходимого для создания ИВК. В состав включены: генератор и усилитель переменного напряжения, оригинальная измерительная ячейка, микроскоп для

наблюдения за клетками и их реакциями в измерительной камере в ответ на воздействия со стороны НПЭП; видеокамера для трансляции потока изображений в компьютер. На рисунке 1 представлена функциональная схема ИВК.

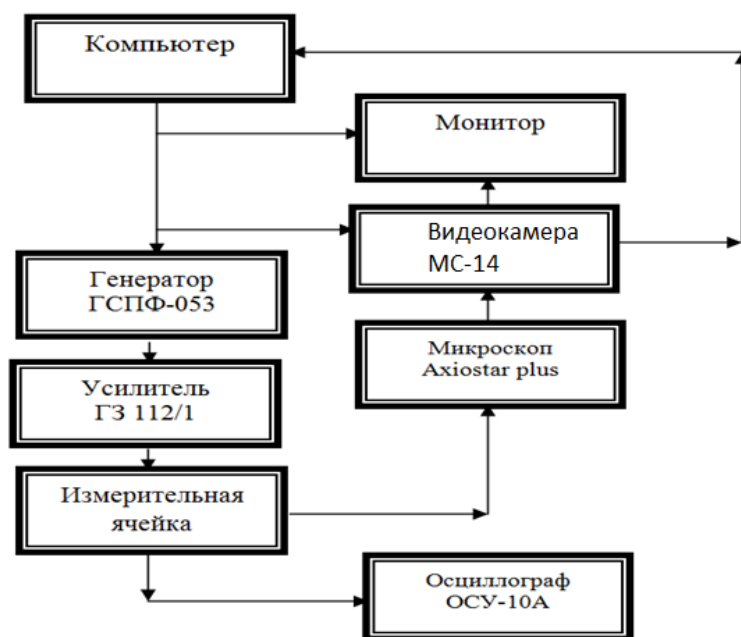


Рисунок 1 – Функциональная схема измерительно-вычислительного комплекса

Суммарная стандартная неопределенность по типу Б (СНБ) измерений поляризуемости $\left| \frac{da}{a} \right|$ находится через частное дифференцирование функции по всем ее переменным.

$$a_{\text{кл}} = \frac{12 \cdot \pi \cdot \eta_{\text{ср}} \cdot \dot{x}_{\text{кл}} \cdot r_{\text{кл}}}{\varepsilon_0 \cdot |\nabla E_{\text{ср}}^2|}$$

$$\delta(\alpha_{\text{кл}}) \leq \left| \frac{d\eta_{\text{ср}}}{\eta_{\text{ср}}} \right| + \left| \frac{dr_{\text{кл}}}{r_{\text{кл}}} \right| + \left| \frac{d\dot{x}_{\text{кл}}}{\dot{x}_{\text{кл}}} \right| + \left| \frac{d(\nabla E_{\text{ср}}^2)}{\nabla E_{\text{ср}}^2} \right|$$

Численные оценки слагаемых СНБ показали, что основную долю в ошибку величины поляризуемости вносят измерения радиуса клетки. Это послужило основанием сделать выбор в пользу объектива с большой кратностью увеличения и числовой апертурой, например, 60×0,85 и разрешающей способностью 0,26 10⁻⁶ м. В результате, относительная СНБ измерений поляризуемости клетки с помощью ИВК не превышает $\delta(\alpha_{\text{кл}}) \leq 17,3\%$. Приводится обоснование необходимого и достаточного времени измерения поступательного движения клеток с помощью ИВК. Выбор времени измерения $\tau_{\text{изм}}$ осуществляется из условия:

$$\tau_{\text{изм}} > 10 \cdot \tau_{\text{рел}},$$

где: $\tau_{\text{рел}}$ - время релаксации клетки [с].

Время релаксации клетки является характеристикой запаздывания формирования ее индуцированного дипольного момента. Комплекс визуализации МС-14 в составе ИВК в режиме 33 кадра в секунду обеспечивает интервал времени между двумя

соседними кадрами в видеофайле $\tau_{\text{BK}}=0,33 \cdot 10^{-2}$ с. За этот интервал времени ИВК определяет координаты (X, Y) местоположения частицы в плоскости измерительной камере, производит расчет пройденной дистанции, а также величину ее поступательной скорости. Через программное обеспечение ИВК осуществляется управление оборудованием комплекса, распознавание образа клетки, измерения и расчет их параметров, а также вывод результатов в Excel файл.

Дается описание разработанного **государственного эталона физической величины поляризуемости**. Эталон выполнен из полистирола на базе латексных частиц сферической формы диаметром $\varnothing=5,7 \pm 1,5 \cdot 10^{-6}$ м. Он не токсичен, не растворим в воде, обладает высокой влагостойкостью, химически стоек к разбавленным кислотам, спиртам, щелочам, имеет плотность, близкую к плотности эритроцитов человека (1050 кг/м^3), устойчив к воздействию электрического поля, имеет высокое удельное сопротивление, низкий температурный коэффициент линейного расширения. С помощью эталона предложено осуществлять калибровку ИВК.

Приведен способ определения массы клетки. Искомая масса клетки находится из уравнения

$$m_{\text{кл}} = \left| \frac{6 \cdot \pi \cdot \eta_{\text{ср}} \cdot r_{\text{кл}}}{f_p} - \frac{2}{3} \cdot \pi \cdot r_{\text{кл}} \cdot \rho_{\text{кл}} \right|$$

где: f_p – равновесная частота [Гц]. Равновесная частота – частота зондирующего сигнала, при которой $\varepsilon_{\text{ср}} = \varepsilon_{\text{кл}}$. и сила НПЭП $F_{\text{эл}} = 0$.

Суммарная СНБ массы клетки находится через частное дифференцирование функции по каждой переменной и не превышает суммы отдельно взятых СНБ: вязкости суспензии, радиуса клетки и равновесной частоты клетки

$$\delta(m_{\text{кЛ}}) \leq \left| \frac{d\eta_{\text{ср}}}{\eta_{\text{ср}}} \right| + \left| \frac{dr_{\text{кЛ}}}{r_{\text{кЛ}}} \right| + \left| \frac{df_p}{f_p^2} \right|$$

здесь: $d\eta_{\text{кЛ}}$ – СНБ [Па с]; $dr_{\text{кЛ}}$ - неопределённость типа Б измерений радиуса клетки с помощью ИВК [м]; df_p – неопределённость типа Б измерений равновесной частоты клетки $5 \cdot 10^{-7}$ Гц с помощью частотомера ЧЗ- 63/1 из состава ИВК.

Итоговое значение СНБ измерения массы с помощью ИВК составило:

$$\delta(m_{\text{кЛ}}) \leq (1+3,4) \% \leq 4,4 \%$$

Четвертая глава посвящена исследованию нелинейной поляризуемости эритроцитов в НПЭП. На частоте, близкой к равновесной, наблюдается вращение клетки. Частота вращения индуцированного дипольного момента клетки формирует подход для анализа нелинейной поляризации эритроцитов. Собственные экспериментальные наблюдения показали - в области частот $10^5 < f < 4 \cdot 10^5$ Гц и напряженности электрического поля $E \sim 10^5$ В/м наблюдается медленное вращение эритроцитов вокруг собственной оси с частотой более, чем 1 Гц. В НПЭП вектор напряженности электрического поля клетки $E_{\text{кл}}$ следует с частотой $\omega_{\text{кЛ}}$ и фазой $\varphi_{\text{кЛ}}$ за

вектором среды E_{cp} . Наложение двух гармонических колебаний $\omega_{кл}$ и ω_{cp} друг на друга приводит к возникновению комбинаций частот $(\omega_{cp}-\omega_{кл})$, $(\omega_{cp}+\omega_{кл})$

$$\begin{aligned} & \mathbf{E}_m^{cp} \cdot \sin(\omega_{cp} \cdot t_{cp}) - \mathbf{E}_m^{кл} \cdot \sin(\omega_{кл} \cdot t_{кл}) = \\ & = 2 \cdot \mathbf{E}_m^{cp} \cdot \mathbf{E}_m^{кл} \cdot \cos\left(\frac{(\omega_{cp} \cdot t_{cp}) + (\omega_{кл} \cdot t_{кл})}{2}\right) \cdot \sin\left(\frac{(\omega_{cp} \cdot t_{cp}) - (\omega_{кл} \cdot t_{кл})}{2}\right) \end{aligned} \quad (2)$$

Результирующее колебание не является гармоническим, оно характеризует возникающие биения между двумя колебаниями. В общем случае значения косинуса в уравнении (2) характеризует биения результирующего колебания. Для частного случая, при котором $\omega_{кл}=\omega_{cp}$ и $\varphi_{кл}=\varphi_{cp}$, синус принимает значение, равное нулю, что означает отсутствие амплитуды биений, и частоты вращений. Множитель синуса с учетом $\omega_{кл}=\omega_{cp}$ и $\varphi_{кл}=\varphi_{cp}$, так же принимает значение равное нулю. Полученное уравнение означает - вращение векторов напряженности клетки и среды происходит синхронно с точностью до фазы. В результате, клетка и среда вращаются с одинаковой частотой. Относительного вращения между ними нет. Для модели линейной поляризации клетки может выполняться только единственное условие $\omega_{кл}=\omega_{cp}$ и $|\varphi_{cp}| - |\varphi_{кл}| \leq 90^\circ$. Реактивный элемент, конденсатор клетки запасает энергию НПЭП. Активный элемент (сопротивление, проводимость клетки) всю подведенную энергию преобразует в тепловую. На рисунке 2 представлена диаграмма треугольника сопротивлений, подключенного к переменному электрическому напряжению, описанная уравнением 2.

$$\operatorname{tg} \delta = \frac{R_{кл}}{\left(\frac{1}{\omega C_{кл}}\right)} = \frac{R_{кл}}{X_{кл}} \quad (3)$$

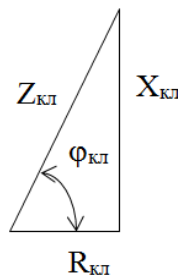


Рисунок 2 - Сопротивление клетки. $Z_{кл}$ - полное сопротивление, $R_{кл}$ - активное сопротивление, $X_{кл}$ - реактивное сопротивление

Как следует из рисунка 2 и уравнения (3), какие бы значения не принимали величины $R_{кл}$ и $X_{кл}$, угол φ будет находиться в диапазоне $0-90^\circ$. Так как $\operatorname{tg} \varphi = \sin \varphi / \cos \varphi$, то угол φ и для множителей синуса и косинуса уравнения (2) будет находиться также в указанном диапазоне. Вращение клетки с линейными компонентами R и C вокруг собственной оси с частотой более, чем один герц, невозможно.

Равенство частоты вращения клетки и среды $\omega_{кл}=\omega_{cp}$, а также фазовый сдвиг между ними, не превышающий $|\varphi_{cp}| - |\varphi_{кл}| \leq 90^\circ$, указывают на линейную поляризацию

клетки. Собственные экспериментальные наблюдения показали наличие вращения клетки вокруг собственной оси с частотой $\approx 2,5$ Гц и более, что свидетельствует о ее нелинейной поляризации с учетом теоретических выводов.

По результатам исследования¹ предложена оригинальная эквивалентная электрическая схема клетки с нелинейным элементом на мембране в виде диода V1 (с квадратичной зависимостью тока, проходящего через мембрану), рисунок 3.

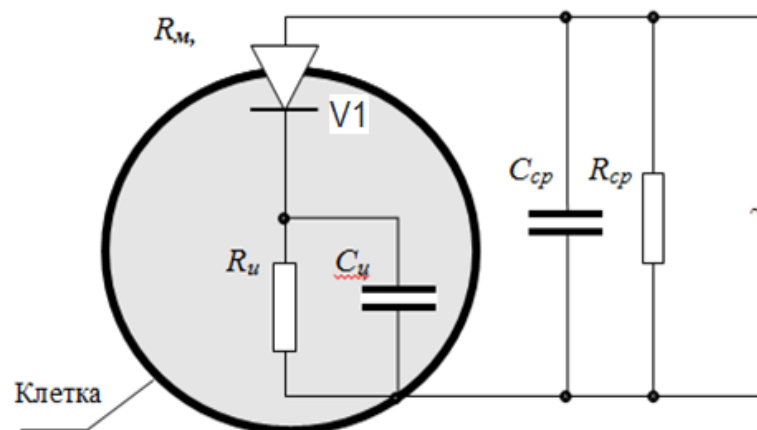


Рисунок 3 - Нелинейная эквивалентная электрическая схема клетки. V1- нелинейное сопротивление; C_u , C_{cp} - емкость, цитоплазмы и среды (клеточной суспензии); R_u , R_{cp} , R_m - сопротивление цитоплазмы, среды, мембраны

В пятой главе предложены пилотные референтные интервалы поляризуемости. Практическая медицина основана на сравнении, т.е. результат исследования всегда сопоставляется с нормальными величинами, поэтому очень важно определить, что такое “норма”. Понятия “норма” дает возможность клиническим врачам разделять пациентов на “здоровых” и “больных”. Термин “нормальные значения” в настоящее время заменен более корректным – “референтные значения” (или референтный² интервал – reference range).

С целью определения референтных интервалов поляризуемости эритроцитов для условно здорового населения проводились исследования с привлечением жителей Октябрьского района г. Новосибирска (347 мужчин и 453 женщины). Измерения и вычисления параметров эритроцитов проводились с помощью ИВК. Анализ данных показал, величины поляризуемости увеличиваются с ростом частоты во всех возрастных группах и при этом меняют знак с отрицательного на положительный. Поляризуемость эритроцитов для детей и подростков на низких и высоких частотах меньше, чем для людей старшего возраста. На основании полученных данных предложен пилотный референтный интервал поляризуемости эритроцитов (ПЭ) для условно здорового населения октябрьского района г. Новосибирска с учетом половых и возрастных различий приведены в таблице 1.

¹ Проводимость электролита определяется многочисленными положительными и отрицательными ионами химических элементов и соединений.

² В метрологии используется термин – референтный. См. приказ МЗ РФ №45/2000

Таблица 1 - Пилотные установленные значения (УЗ) поляризуемости эритроцитов (ПЭ) для условно здорового населения октябрьского района г. Новосибирска с учетом половых и возрастных различий

Пол возраст	ПЭ [м ³]				УЗ ПЭ [м ³]		CV _i УЗ %		
	0,05·10 ⁶ Гц	0,1·10 ⁶ Гц	0,5·10 ⁶ Гц	10 ⁶ Гц	0,05·10 ⁶ Гц	0,1·10 ⁶ Гц	0,5·10 ⁶ Гц	1·10 ⁶ Гц	
Дети <1 года	-(0,8÷1,1) ·10 ⁻¹⁴	-(0,9÷1,2) ·10 ⁻¹⁴	(1,2-1,4) ·10 ⁻¹⁴	(1,7÷2,2) ·10 ⁻¹⁴	-0,98·10 ⁻¹⁴	-1,1·10 ⁻¹⁴	1,3·10 ⁻¹⁴	1,9 ·10 ⁻¹⁴	17
Дети 10-13 лет	-(0,8÷1,1) ·10 ⁻¹⁴	-(0,9÷1,2) ·10 ⁻¹⁴	(1,2-1,4) ·10 ⁻¹⁴	(1,7÷2,2) ·10 ⁻¹⁴	-0,98·10 ⁻¹⁴	-1,10 ⁻¹⁴	1,3·10 ⁻¹⁴	1,9 ·10 ⁻¹⁴	17
Дети 13-15 лет	-(0,9÷1,1) ·10 ⁻¹⁴	-(1,0÷1,2) ·10 ⁻¹⁴	(1,2-1,4) ·10 ⁻¹⁴	(1,8÷2,2) ·10 ⁻¹⁴	-1,0·10 ⁻¹⁴	-1,110 ⁻¹⁴	1,3·10 ⁻¹⁴	2,0 ·10 ⁻¹⁴	16
Мужчины > 15 лет	-(1,0÷1,2) ·10 ⁻¹⁴	-(1,1÷1,3) ·10 ⁻¹⁴	(1,3-1,6) ·10 ⁻¹⁴	(2,0÷2,4) ·10 ⁻¹⁴	-1,1·10 ⁻¹⁴	-1,2·10 ⁻¹⁴	1,4·10 ⁻¹⁴	2,2 ·10 ⁻¹⁴	17
Женщины 15-50 лет	-(1,0÷1,2) ·10 ⁻¹⁴	-(1,1÷1,3) ·10 ⁻¹⁴	(1,3-1,6) ·10 ⁻¹⁴	(2,0÷2,4) ·10 ⁻¹⁴	-1,1·10 ⁻¹⁴	-1,2·10 ⁻¹⁴	1,4·10 ⁻¹⁴	2,2 ·10 ⁻¹⁴	17
Женщины > 50 лет	-(1,0÷1,2) ·10 ⁻¹⁴	-(1,1÷1,3) ·10 ⁻¹⁴	(1,3-1,6) ·10 ⁻¹⁴	(2,0÷2,4) ·10 ⁻¹⁴	-1,1 ·10 ⁻¹⁴	-1,2 ·10 ⁻¹⁴	1,4 ·10 ⁻¹⁴	2,2 ·10 ⁻¹⁴	17
CV _G %	11	6	6	6					
<p>Примечания 1 CV_i - коэффициент внутри-индивидуальной вариации. 2 CV_G - коэффициент групповой вариации</p>									

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении приведены основные результаты диссертации и сформулированы выводы о перспективах практического применения измерительно-вычислительного комплекса в медико-биологических исследованиях.

1. Создан измерительно-вычислительный комплекс одномоментного измерения и исследования комплекса параметров эритроцитов человека в целях медицинской диагностики. Суммарная неопределенность типа Б измерения поляризуемости частиц с помощью ИВК (погрешность измерения) не превышает ($\delta(\alpha) \leq 17,3 \%$).

2. Разработан оригинальный пакет программного обеспечения для измерительно-вычислительного комплекса исследования клетки. Свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2016618155; 25 мая 2016 г.

3. Разработан способ определения массы мелкодисперсных частиц с помощью измерительно-вычислительного комплекса. Патент РФ № 2614735. Оpubл. 28.03.2017, Бюл. № 10.

4. Установлено, что поляризация клетки становится нелинейной в случае превышения напряжения на её мембране, равного 26,2 мВ.

5. Разработан образец государственного эталона величины поляризуемости 1-го разряда. Эталон принят межведомственной комиссией, созданной по приказу Росстандарта от 24.11.2016 г. № 1724.

6. Определены пилотные референтные значения поляризуемости эритроцитов с учётом половых и возрастных различий с использованием разработанных подходов.

Созданный измерительно-вычислительный комплекс (ИВК) даёт возможность одномоментного исследования перечня электрических, вязкоупругих характеристик эритроцитов, значимых для клинической практики. Он имеет ряд существенных преимуществ перед используемыми в научных целях устройствами на основе микропипеточных, эктацитометрических и фильтрационных методов для изучения вязкоупругих показателей эритроцитов. Разработанное программное обеспечение для ЭВМ «Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля», позволяет одномоментно измерять и исследовать: объёмный коэффициент поляризуемости, массу, радиус, амплитуду деформации, вязкость, жесткость, скорость поступательного движения, время релаксации клетки.

Внедрение ИВК в практику позволит изучать влияние биологических, физических и химических воздействий на эритроциты с учётом их нелинейных свойств, в перспективе – исследовать взаимодействие клеток между собой. ИВК был использован в научных медицинских исследованиях и оказался перспективным для изучения особенностей параметров эритроцитов при ряде патологий: ишемической болезни сердца; артериальной гипертензии; цереброваскулярной патологии; диффузной патологии печени различного генеза (вирусный, алкогольный, метаболический); воспалительных заболеваниях кишечника; колоректальном раке;

аутоиммунном гастрите и др. Неоценимым преимуществом разработанного ИВК является возможность создания метрологического обеспечения, воспроизводимости, единства измерений.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ:

1. Относительная погрешность измерений коэффициента поляризуемости клеток / **К.В. Генералов**, В.М. Генералов, М.В. Кручинина, Г.В. Шувалов, Г.А. Буряк, А.С. Сафатов // Измерительная техника. - 2016. - № 9. - С. 64-67.

Переводная версия: Generalov K.V. Relative Error of Measurement of the Polarizability Coefficient of Cells / K.V. Generalov, V.M. Generalov, M.V. Kruchinina, G.V. Shuvalov, G.A. Buryak, A.S. Safatov // Measurement Techniques. - 2016.-Vol. 59, N 9.- P. 1002-1006. <https://doi.org/10.1007/s11018-016-1083-1>

2. Методика измерений поляризуемости клеток в неоднородном переменном электрическом поле / **К.В. Генералов**, В. М. Генералов, М.В. Кручинина, Г.В. Шувалов, Г.А. Буряк, А.С. Сафатов А.С. // Измерительная техника. – 2017. - №1. – С. 56-59.

Переводная версия: Generalov K.V. Method for Measuring the Polarizability of Cells in an Inhomogeneous Alternating Electric Field / K.V. Generalov, V.M. Generalov, M.V. Kruchinina, G.V. Shuvalov, G.A. Buryak, A.S. Safatov // Measurement Techniques. - 2017. - Vol. 60, N 1.- P. 82-86. <https://doi.org/10.1007/s11018-017-1153-z>

3. Методика измерений массы эритроцита в переменном электрическом поле / **К.В. Генералов**, Г.В. Шувалов, В.М. Генералов, М.В. Кручинина, А.Г. Дурьманов, Г.А. Буряк, А.С. Сафатов // Измерительная техника. - 2018. - № 2. - С. 28-31.

Переводная версия: Generalov K.V. A Procedure of Measurement of the Mass of Erythrocytes in Variable Electric Fields / K.V. Generalov, G.V. Shuvalov, V.M. Generalov, M.V. Kruchinina, A. G. Durymanov, G. A. Buryak, A. S. Safatov // Measurement Techniques. - 2018.-Vol. 61, N 2.-P. 127-131. <https://doi.org/10.1007/s11018-018-1398-1>

4. Physical principles of development of the state standard of biological cell polarizability / G.V. Shuvalov, **K.V. Generalov**, V.M. Generalov, M.V. Kruchinina, E.S. Koptev, O.V. Minin, I.V. Minin // Russian Physics Journal. - 2018. - Vol. 60, N 11. - P. 1901-1904.

Другие основные журнальные публикации по теме диссертации, в т.ч. в зарубежных изданиях, входящих в базы Scopus / Web of Science:

1. Физические основы разработки государственного эталона поляризуемости биологических клеток / Г.В. Шувалов, **К.В. Генералов**, В.М. Генералов, М.В. Кручинина, Е.С. Коптев, О.В. Минин, И.В. Минин // Известия высших учебных заведений. Физика. - 2017. - Т. 60. - № 11. - с. 47-50.

2. Новые возможности диагностики колоректального рака с помощью оптической системы детекции клеток на основе диэлектрофореза / М.В. Кручинина, Я.И. Прудникова, А.А. Громов, В.М. Генералов, **К.В. Генералов**, В.Н. Кручинин, Э.В. Кручинина, Г.В. Шувалов, И.Н. Яковина, Н.А. Баннова., О.В. Минин, И.В. Минин // Оптика и спектроскопия – 2019. – Том 126. - Выпуск 5 – с. 652-657. DOI: 10.21883/00000000000

Переводная версия: Kruchinina M.V. New opportunities for colorectal cancer diagnostics using an optical cell detection system based on dielectrophoresis / M.V. Kruchinina, Ya.I Prudnikova., A.A. Gromov, V.M. Generalov, K.V. Generalov, V.N. Kruchinin, E.V. Kruchinina, G.V. Shuvalov, I. N. Yakovina, N.A. Bannova, O.V. Minin, I.V. Minin // Optics and Spectroscopy, 2019, Vol. 126, No. 5, pp. 568–573.

3. Современные методы физико-химических исследований в гастроэнтерологической практике: опыт взаимодействия / М.В. Кручинина, С.А. Курилович, М.И. Воевода, А.А. Громов, Е.Г. Немцова, В.М. Генералов, А.С. Сафатов, **К.В. Генералов**, Г.А. Буряк, В.Н. Кручинин, С.В. Рыхлицкий, Е.В. Спесивцев, В.А. Володин, К.П. Могильников, В.Д. Анцыгин, С.Е. Пельтек, С.В. Шеховцов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – Выпуск 115. -N 3. – с. 74-82.

4. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в моделях для диагностики аденоматозных полипов и стадий колоректального рака при оптической детекции клеток в неоднородном переменном электрическом поле / М.В. Кручинина, А.А. Громов, Л.В. Щербакова, Э.В. Кручинина, В.М. Генералов, **К.В. Генералов**, В.Н. Кручинин, С.В. Рыхлицкий, И.Н. Яковина, М.В. Яковлев, О.В. Минин, И.В. Минин // Оптика и Спектроскопия, 2021, том 129, вып. 6, с. 684-697. DOI: 10.21883/OS.2021.06.50978.2-21

Переводная версия: Kruchinina M.V. Electric and viscoelastic parameters of erythrocytes in models for diagnostics of adenomatous polyps and stages of colorectal cancer in optical detection of cells in an inhomogeneous alternating electric field / M.V. Kruchinina, A.A. Gromov, L.V. Shcherbakova, E.V. Kruchinina, V.M. Generalov, K.V. Generalov, V.N. Kruchinin, S.V. Rykhlytskii, I.N. Yakovina, M.V. Yakovlev, O.V. Minin, I.V. Minin // Optics and Spectroscopy, 2021, Vol. 129, No. 6, pp. 772–785. DOI: 10.1134/S0030400X21060060

Патенты на изобретения РФ и свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ:

1. Неинвазивный способ диагностики степени фиброза печени: пат. РФ № 2567846 С2 / Кручинина М.В., Воевода М.И., Курилович С.А., Громов А.А., Генералов В.М., **Генералов К.В.**, Сафатов А.С., Буряк Г.А. - опубл. 10.11.2015; Бюл. № 31.

2. Способ определения массы микрочастицы в переменном электрическом поле: пат. РФ № 2614735 С1 / **Генералов К.В.**, Сафатов А. С., Буряк Г. А., Кручинина М.В., Генералов В.М., Шувалов Г.В. - опубл. 28.03.2017; Бюл. № 10.

3. Измерительная ячейка для диэлектрфоретических исследований: пат. на полезную модель РФ № 174320 / Шувалов Г.В., Генералов В.М., **Генералов К.В.**, Буряк Г.А., Сафатов А.С., Кручинина М.В., Байкалов А.В., Клековкина М.Г., Коптев Е.С. - опубл. Бюл. 2017. №29.

4. Способ определения комплексной диэлектрической проницаемости биологической клетки в суспензии: пат. РФ № 2706429 / Генералов В.М., Сафатов А.С., Наумова О.В., **Генералов К.В.**, Фомин Б.И., Кручинина М.В., Громов А.А., Буряк Г.А. - опубл. Бюл. 2019. №32.

5. Способ дифференциальной диагностики жировой болезни печени алкогольного и неалкогольного генеза: пат. РФ № 2697202 / Кручинина М.В., Генералов В.М., Паруликова М.В., Курилович С.А., Громов А.А., **Генералов К.В.**, Сафатов А.С., Буряк Г.А., Шувалов Г.В. - опубл. Бюл. 2019. №23.

6. Способ диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов: пат. РФ № 2764870 / Кручинина М.В., Азгалдян А.В., Курилович С.А., Громов А.А., Генералов В.М., **Генералов К.В.**, Сафатов А.С. Кручинин В.Н., Яковина И.Н. - опубл. Бюл. 2022. №3.

7. Свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ: RU № 2016618155 / **Генералов К.В.**, Кручинина М.В., Генералов В.М., Шувалов Г.В. - Дата гос. регистрации 22.07.2016.

Отпечатано в типографии

Новосибирского государственного технического университета
630073, г. Новосибирск, пр. К. Маркса, 20, Тел./факс (383) 346-08-57
Формат 60 x 84/16. Объем 1 п.л. Тираж 100 экз.
Заказ №2039. Подписано в печать 28.11.2023 г.