

ISSN 1561-8358 (Print)
ISSN 2524-244X (Online)

РАДИОЭЛЕКТРОНИКА, ПРИБОРОСТРОЕНИЕ RADIOELECTRONICS, INSTRUMENT-MAKING

<https://doi.org/10.29235/1561-8358-2026-71-3-233-242>
УДК 535.8



Оригинальная статья

А. А. Быков^{1*}, Ю.-Д. Д. Коробкина¹, И. А. Ястребов², А. Ю. Белых¹,
А. А. Корнеева¹, А. Н. Свешникова^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН», ул. Средняя Калитниковская, 30, 109029, Москва, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Ленинские горы, 1, 119991, Москва, Российская Федерация

ПОРТАТИВНАЯ ОПТИЧЕСКАЯ МИКРОФЛЮИДНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ АНАЛИЗА АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В ПОТОКЕ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Аннотация. Разработан портативный оптический флуоресцентный микроскоп, который позволяет производить оценку образцов крови для экспресс-диагностики различных заболеваний и определения их стадий путем анализа флуоресцентных маркеров и оптических изображений клеток. К особенностям микроскопа можно отнести возможность наклона оптической оси и предметного столика с проточной камерой. Отклонение оптической оси способствует движению клеток в камере за счет собственной силы тяжести и эмитирует естественное движение потока клеток в организме. Такая постановка эксперимента позволила производить исследование, не прибегая к применению шприцевых и перистальтических насосов, которые могут оказывать влияние на исследуемые клетки, повреждая их и усложняя интерпретацию результатов анализа. Проведена серия исследований проб крови в проточных камерах, в которой показано, что для роста тромбоцитарного тромба на подложке из фибриллярного коллагена разработанная портативная система воспроизводит результаты на уровне полноценного стационарного флуоресцентного микроскопа. Компактность и портативность разработанного прибора позволяет с легкостью производить его транспортировку и выполнять исследования в условиях полевых лабораторий и медицинских учреждений, не имеющих специального оснащения для диагностики малораспространенных и редких заболеваний.

Ключевые слова: флуоресцентная микроскопия, проточная камера, хемотаксис, гранулоциты, тромбоциты, тромбовоспаление

Благодарности: работа выполнялась при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук (125122615105-3).

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах: Быков Алексей Александрович – кандидат технических наук, руководитель отдела разработок и инноваций ЦТП ФХФ РАН, <https://orcid.org/0000-0002-7574-3437>, e-mail: ax.bykov@yandex.ru; Коробкина Юлия-Джессика Дмитриевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории внутриклеточной сигнализации и системной биологии ЦТП ФХФ РАН, <https://orcid.org/0000-0002-2762-5460>, e-mail: juliajessika@gmail.com; Ястребов Иван Александрович – студент физического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, e-mail: vantorio8@gmail.com; Белых Андрей Юрьевич – инженер отдела разработок и инноваций ЦТП ФХФ РАН, <https://orcid.org/0009-0007-9759-7614>, e-mail: andbelix@mail.ru; Корнеева Анастасия Алексеевна – ведущий инженер отдела разработок и инноваций ЦТП ФХФ РАН, <https://orcid.org/0009-0009-9211-7081>, e-mail: aa.korneeva13@yandex.ru; Свешникова Анастасия Никитична – доктор физико-математических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией внутриклеточной сигнализации и системной биологии ЦТП ФХФ РАН, профессор кафедры физики колебаний физического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, <https://orcid.org/0000-0003-4720-7319>, e-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

Вклад авторов: Быков Алексей Александрович – обоснование концепции, разработка оптической схемы прибора, редактирование текста рукописи, формулировка выводов; Коробкина Юлия-Джессика Дмитриевна, Ястребов Иван Александрович – проведение измерений, обработка и анализ изображений; Белых Андрей Юрьевич –

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

разработка процедуры компенсации оптических искажений; *Корнеева Анастасия Алексеевна* – разработка конструкции прибора, апробация прибора на модельных объектах, работа с графическими материалами; *Свешникова Анастасия Никитична* – постановка задачи, анализ и систематизация полученных данных, обобщение результатов исследования, редактирование рукописи, общее администрирование проекта.

Для цитирования: Портативная оптическая микрофлюидная система для анализа агрегации тромбоцитов в потоке цельной крови / А. А. Быков, Ю.-Д. Д. Коробкина, И. А. Ястребов [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя фізіка-тэхнічных навук. – 2026. – Т. 71, № 3. – С. 233–242. <https://doi.org/10.29235/1561-8358-2026-71-3-233-242>

Поступила в редакцию: 12.03.2026

Доработанный вариант: 10.08.2026

Утверждена к публикации: 02.09.2026

Подписана в печать: 16.09.2026

Original article

Alexey A. Bykov^{1*}, Yulia-Jessica D. Korobkina¹, Ivan A. Yastrebov², Andrey Yu. Belykh¹,
Anastasia A. Korneeva¹, Anastasia N. Sveshnikova^{1,2}

¹Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences,
30, Srednyaya Kalitnikovskaya St., 109029, Moscow, Russian Federation

²Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie Gory, 119991, Moscow,
Russian Federation

PORTABLE OPTICAL MICROFLUIDIC SYSTEM FOR ANALYSING TROMBOCITE AGGREGATION IN WHOLE BLOOD FLOW

Abstract. A portable optical fluorescence microscope has been developed for evaluating blood samples to perform rapid diagnostics and staging of various diseases by analyzing fluorescent markers and optical cell images. Distinctive features of the microscope include the ability to tilt both the optical axis and the stage equipped with a flow chamber. Tilting the optical axis enables cell movement within the chamber driven by gravity, mimicking the natural flow of cells in the body. This experimental setup allows investigations to be conducted without syringe or peristaltic pumps, which can affect the studied cells, damage them, and complicate the interpretation of analysis results. A series of blood sample studies in flow chambers demonstrated that the developed portable system reproduces results on par with a full-scale stationary fluorescence microscope for platelet thrombus growth on a fibrillar collagen substrate. The compact and portable design of the device ensures easy transportation, enabling research in field laboratories and medical institutions that lack specialized equipment for diagnosing uncommon and rare diseases.

Keywords: fluorescence microscopy, flow chamber, chemotaxis, granulocytes, platelets, thromboinflammation

Acknowledgments: the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (125122615105-3).

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Information about the authors: *Alexey A. Bykov* – Cand. Sci. (Engineering), Head of the Development and Innovation Department at CTP PCP RAS, <https://orcid.org/0000-0002-7574-3437>, e-mail: ax.bykov@yandex.ru; *Yulia-Jessica D. Korobkina* – Cand. Sci. (Biology), Researcher of the Laboratory of Intracellular Signaling and Systems Biology at CTP PCP RAS, <https://orcid.org/0000-0002-2762-5460>, e-mail: juliajessika@gmail.com; *Ivan A. Yastrebov* – Student of the Physics Department at Lomonosov Moscow State University, e-mail: vantorio8@gmail.com; *Andrey Yu. Belykh* – Engineer of the Development and Innovation Department at CTP PCP RAS, <https://orcid.org/0009-0007-9759-7614>, e-mail: andbelix@mail.ru; *Anastasia A. Korneeva* – Leading Engineer of the Development and Innovation Department at CTP PCP RAS, <https://orcid.org/0009-0009-9211-7081>, e-mail: aa.korneeva13@yandex.ru; *Anastasia N. Sveshnikova* – Dr. Sci. (Physics and Mathematics), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Intracellular Signaling and Systems Biology of the Central Research Institute of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Oscillation Physics, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, <https://orcid.org/0000-0003-4720-7319>, e-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

Contribution of the authors: *Alexey A. Bykov* – conceptual justification, development of the optical design of the device, editing of the manuscript, formulation of conclusions; *Yulia-Jessica D. Korobkina*, *Ivan A. Yastrebov* – measurements, image processing and analysis; *Andrey Yu. Belykh* – development of the procedure for compensation of optical distortions; *Anastasia A. Korneeva* – development of the device design, testing of the device on model objects, work with graphic materials; *Anastasia N. Sveshnikova* – setting the goal of research, analysis and systematization of the obtained data, generalization of the research results, manuscript editing, general project administration.

For citation: Bykov A. A., Korobkina Yu.-J. D., Yastrebov I. A., Belykh A. Yu., Korneeva A. A., Sveshnikova A. N. Portable optical microfluidic system for analysing trombocyte aggregation in whole blood flow. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya fizika-tekhnichnykh nauk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physical-technical series*, 2026, vol. 71, no. 3, pp. 233–242 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8358-2026-71-3-233-242>

Received: 12.03.2026

Modified: 10.08.2026

Approved for publication: 02.09.2026

Signed to the press: 16.09.2026

Введение. Определение агрегационной способности форменных элементов крови, тромбоцитов, в симулирующих кровеносный сосуд условиях критично для корректного назначения анти-тромботической терапии, например препаратов ацетилсалициловой кислоты. Несмотря на грубость методики, для определения агрегационной способности тромбоцитов в клинической практике используется только агрегометрия, позволяющая наблюдать агрегацию при перемешивании образца крови или плазмы крови. Более точные исследования требуют микрофлюидных систем и флуоресцентных микроскопов. Однако стоимость качественных микроскопов для медицинского применения высока, и лишь крупные медицинские учреждения имеют возможность приобрести и применять такое оборудование. Настоящая работа направлена на создание простого и доступного диагностического аппаратно-программного комплекса, способного работать с точными микрофлюидными камерами.

Современные исследования функционирования живых клеток невозможны без применения методов микроскопии. Изучение клеток организма с патологией позволяет получить знания о том, какие меры необходимо предпринять для лечения различных заболеваний. Для визуальной оценки состояния клеток на разных этапах исследований используется оптическая микроскопия. Существует ряд различных специализированных флуоресцентных красителей, которые позволяют окрашивать и детектировать больные клетки в видимом спектральном диапазоне.

При работе с живыми клетками – крайне чувствительными к внешним воздействиям объектами – принципиальное значение имеет выбор красителей, оказывающих минимальное влияние на метаболизм клеток и сохраняющих их нативные свойства и функции. Применяемые красители также не должны взаимодействовать с другими реагентами, используемыми в эксперименте, в частности подавлять транспортные системы либо другие исследуемые явления или иным образом влиять на нормальные функции клеток. Для получения достаточной информации оптическими методами необходимо, чтобы красители обладали высоким коэффициентом экстинкции, высоким квантовым выходом, большим стоксовым сдвигом и высокой растворимостью в среде, в которой они применяются. Они должны быть специфичными и селективными для исследуемых органелл клеток. Такие условия позволяют успешно применять оптические флуоресцентные методы анализа клеток и стимулируют создание собственного узкоспециализированного прибора.

Такие маркеры, как DAPI, а также флуоресцентные краски, в частности FITC [1–5], стали незаменимым инструментом для изучения морфологии и функциональной активности клеток. Например, липофильный краситель DiOC₆ широко применяется для визуализации клеток и оценки состояния митохондрий, так как быстро проникает в поляризованные мембраны, практически не влияя на их потенциал.

Форменные элементы крови – тромбоциты, являются клеточными фрагментами размером 2–4 мкм, отвечающими за тромбообразование. Патологическое тромбообразование сопровождается множеством заболеваний и становится причиной ишемических инфарктов и инсультов, поэтому антитромботическая терапия, прежде всего прием аспирина (ацетилсалициловой кислоты), очень распространена в практике. Однако дозы антитромботических препаратов требуют точного подбора, так как прием высоких доз данных лекарственных средств приводит к геморрагиям. Нарушения функционирования тромбоцитов могут успешно выявляться при помощи флуоресцентной микроскопии. В частности, визуализация агрегации тромбоцитов в потоке цельной крови может успешно производиться с помощью красителя DiOC₆ [6; 7].

В настоящей работе, основываясь на опыте применения DiOC₆ и его достаточном квантовом выходе, разработана собственная конструкция микрофлюидной системы, основанная на классической оптической схеме с осветительной системой Келера, описанной в [8–10]. Рассчитаны базовые оптические характеристики проектируемого прибора, а именно разрешающая способность, глубина изображаемого пространства микроскопа. Основными особенностями данного прибора являются доступность используемых в конструкции оптических элементов, а также его компактность, мобильность, наклон оптической оси, что открывает множество возможностей его применения. Образцы крови перед исследованием окрашивают флуоресцентным красителем

и закачивают в специальную проточную камеру, поток крови в которой происходит под собственной силой тяжести без приложения внешнего давления либо вакуумации. Это позволило минимизировать внешнее физическое воздействие на исследуемые клетки и произвести ряд успешных экспериментов, показавших эффективность применения такой конструкции микроскопа для оценки динамики формирования агрегата тромбоцитов в условиях, имитирующих физиологический ток крови согласно ранее описанной методике [11].

Экспериментальная установка и методика измерений. Разработана компактная и легкая конструкция классического микроскопа, позволяющая работать с проточными камерами. Ее особенность заключается в возможности наклона оптической оси и предметного столика с образцом.

На рис. 1 представлена принципиальная схема микроскопа и построения оптического изображения на приемнике. В конструкции применяется камера (C) производителя The Imaging Source DMM37UX290 (The Imaging Source, Германия) с монохроматическим КМОП-приемником Sony IMX290 (Sony, Япония). Динамический диапазон камеры 12 бит, что достаточно для реги-

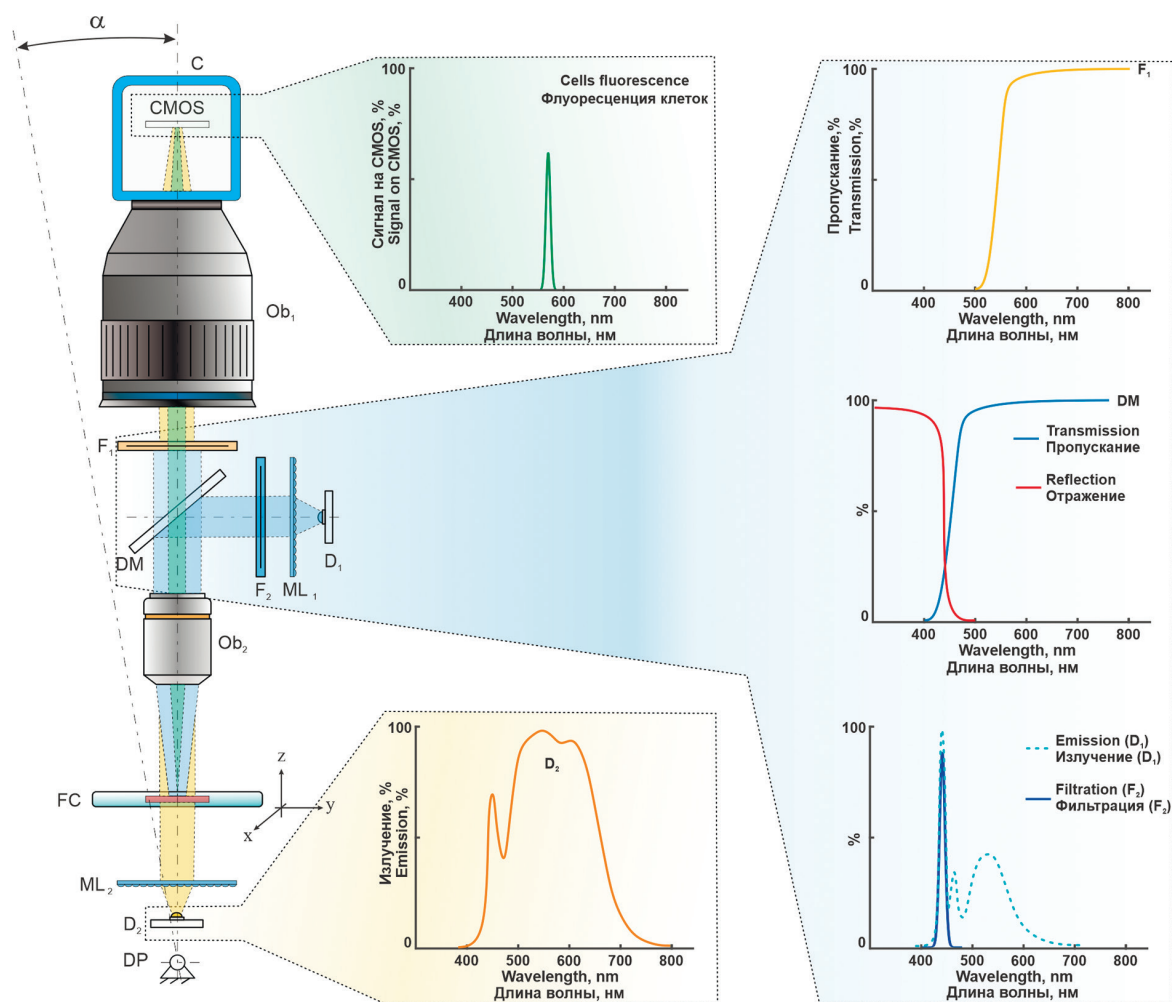


Рис. 1. Принципиальная оптическая схема микроскопа (α – угол отклонения; C – камера, CMOS – КМОП-приемник, Ob₁ – светосильный объектив; Ob₂ – микрообъектив; F₁, F₂ – выходные отрезающие фильтры; D₁, D₂ – светодиоды; ML₁, ML₂ – растры из микролинз; DM – дихроичное зеркало; FC – проточная камера; DP – точка отклонения, устройство наклона с микрометрическим винтом) и спектральные характеристики составных частей

Fig. 1. Optical schematic diagram of a microscope (α – deflection angle; C – camera, CMOS – CMOS sensor, Ob₁ – fast objective lens; Ob₂ – microscope objective; F₁, F₂ – output cut-off filters; D₁, D₂ – LEDs; ML₁, ML₂ – microlens arrays; DM – dichroic mirror; FC – flow cell; DP – deviation point, tilt device with micrometric screw) and spectral characteristics of components

страции слабого флуоресцентного сигнала от окрашенных органелл клеток. Формирующая изображение на приемнике оптическая система представляет собой светосильный объектив (Ob_1) производителя ZLKC HM10035MPC (Китай) с фокальным расстоянием 100 мм и изменяемой диафрагмой от $f/1,4$ до $f/3,5$. Перед объективом установлена эпифлуоресцентная приставка в виде светоделительного куба с выходным отрезающим фильтром (F_1) из стекла марки ОС-11 с областью пропускания в оптическом диапазоне 540–2700 нм [12]. Данный фильтр предназначен для поглощения спектральной составляющей до 540 нм, отраженной от образца и прошедшей через дихроичное зеркало (DM) на камеру. Это зеркало, установленное в светоделительном кубе, предназначено для корректировки направления светового пучка от возбуждающего светодиода с длиной волны 445 нм (D_1).

Измеренные спектральные характеристики оптических элементов приведены также на рис. 1. Для того чтобы собрать излучение светодиода, применен растр из микролинз (ML_1) с диаметром сферической поверхности $0,6 \pm 0,2$ мм. Это позволило собрать излучение от светодиода с минимальными потерями на поглощение и передать излучение на DM. Такое решение дало возможность избежать установки классических линзовых коллимирующих систем, увеличивающих габариты микроскопа и усложняющих конструкцию разработанного прибора. В связи с тем, что светодиод излучает достаточно широкий спектр, после растра установлен узкополосный спектральный фильтр (F_2) для выделения основной линии возбуждения флуоресцентной краски. Возбуждающее излучение от светодиода D_1 передается в микрообъектив L Plan 40X (Китай) (Ob_2) с рабочим отрезком 2,8 мм и фокусируется на поверхности потока клеток внутри проточной камеры (FC). В качестве вспомогательной системы подсветки в приборе предусмотрен широкополосный светодиод (D_2) с аналогичным растром из микролинз (ML_2) для коллимации пучка света. Все элементы микроскопа собраны на базовой плите, которая установлена на шарнирной опоре и позволяет обеспечить отклонение микроскопа на угол $\alpha = 10^\circ$. Результирующее линейное увеличение оптической системы равно $20\times$.

Для обработки получаемых изображений клеток необходимо учесть характеристики оптической системы для компенсации искажений. В микроскопе используется приемник КМОП форматом 1/2.8", разрешением 1945×1097 пикселей, размер пикселя 2,9 мкм. Для проверки оптического качества в фокус оптической системы устанавливались следующие эталонные тестовые объекты (рис. 2): микрометрическая линейка Meiji Techno MA292 1/100 (Meiji, Япония) со 100 штрихами на 1 мм, толщина линии – 5 мкм, применялась для оценки масштаба; Thorlabs R1L3S3P (Thorlabs, США) с шагом сетки 50 мкм, использовалась для корректировки геометрических искажений системы; Thorlabs USAF 1951 (Thorlabs, США) – для определения разрешающей способности собранной оптической системы.

Полученная информация позволила скорректировать геометрические искажения регистрируемых камерой изображений. Для оценки оптического качества микроскопа посчитана модуляционная передаточная функция (МПФ), отражающая контраст, с которым простран-

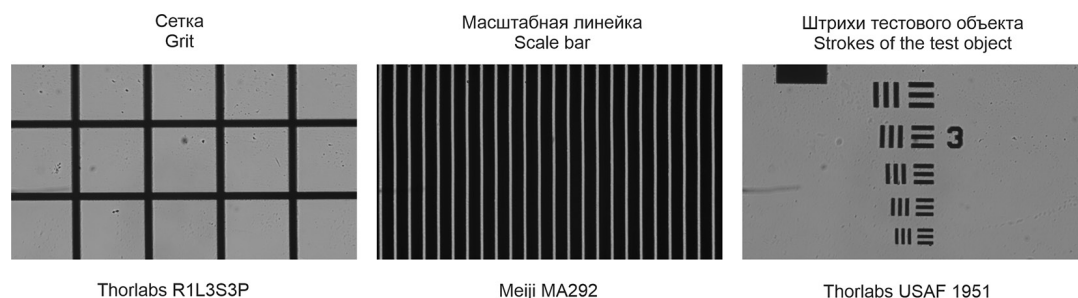


Рис. 2. Изображения тестовых объектов для оценки оптического качества изображения и корректировки пространственных искажений поля зрения

Fig. 2. Images of test objects for evaluating optical image quality and correcting spatial distortions of the visual field

ственные частоты (объекты разного размера) изображаются в плоскости приемника (рис. 3). Анализ полученных изображений показал равенство качества каждого изображения в центре и на краю поля. Модуль МПФ 0,2 наблюдается для пространственной частоты 25 лин/мм; эта величина соответствует частоте 1000 лин/мм, что позволяет различать объекты размером порядка 1 мкм.

Для работы с клеточными культурами принято применять проточные микрофлюидные камеры. Коммерческие варианты камер не всегда бывают доступны, могут возникать сложности с их приобретением, поэтому разработана собственная достаточно простая конструкция (рис. 4), использованная в данной работе для исследования тромбоцитов. Камера состоит из пластикового

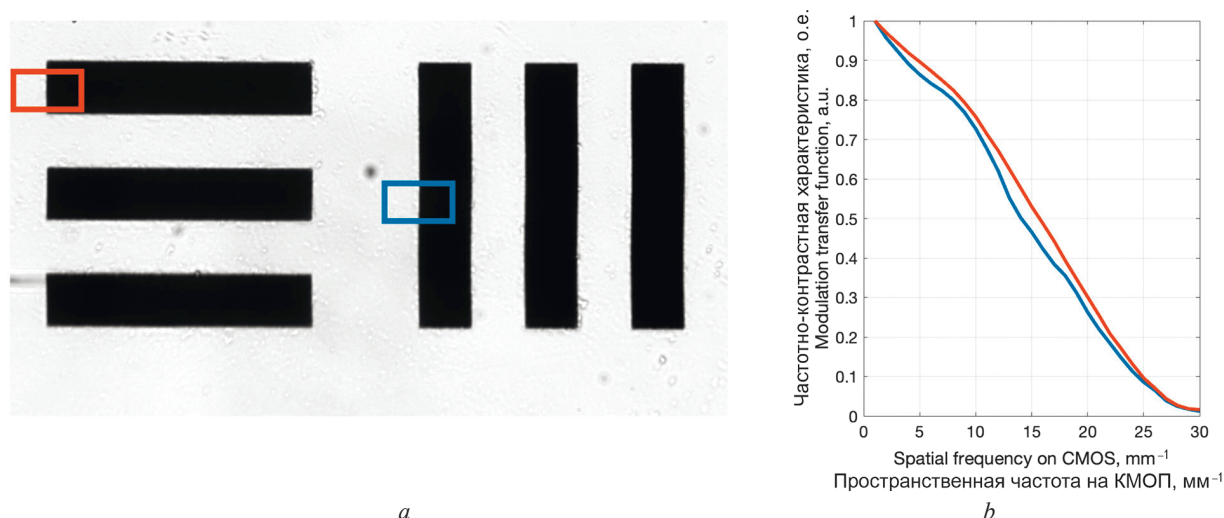


Рис. 3. Thorlabs USAF1951 (a) и полученная модуляционная передаточная функция (b); красным и синим цветом обозначены области на краю и в центре кадра с контрастным изображением по которым рассчитывались модуляционные передаточные функции соответствующего цвета

Fig. 3. Thorlabs USAF1951 (a) and the resulting modulation transfer function (b); red and blue indicate regions at the edge and center of the frame with high-contrast image content, used to calculate the modulation transfer functions of the corresponding colors shown on the graph

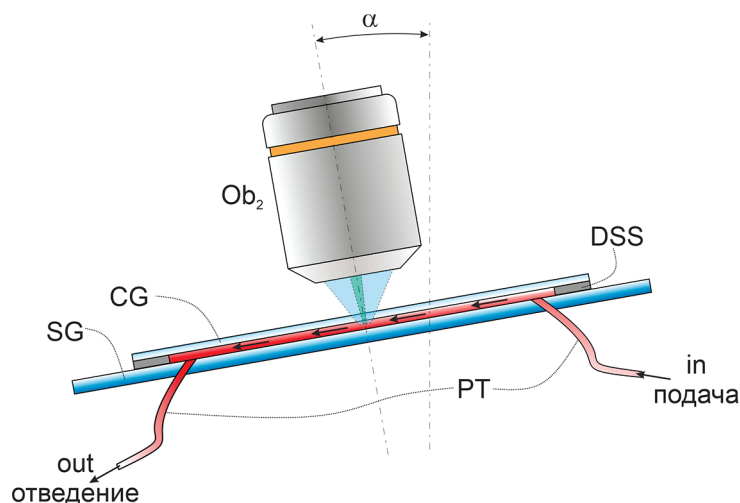


Рис. 4. Схематическое расположение проточной камеры относительно микрообъектива и отклонение всей системы на угол α для обеспечения разности гидростатического давления; SG – пробное стекло, CG – покровное стекло, Ob₂ – микрообъектив, DSS – двусторонний скотч, PT – полимерная медицинская трубка

Fig. 4. Schematic arrangement of the flow chamber relative to the microobjective and deflection of the entire system to ensure a difference in hydrostatic pressure; SG – specimen glass, CG – cover glass, Ob₂ – microscope objective, DSS – double-sided scotch tape, PT – medical polymer tube

пробного стекла (SG) с предварительно засверленными отверстиями для ввода и вывода клеток и наклеенного на поверхность двустороннего скотча (DSS) толщиной ~ 90 – 100 мкм с прорезью по центру шириной 3 мм и длиной 25–40 мм. Скотч клеится таким образом, чтобы отверстия ввода/вывода были в замкнутом канале на максимальном расстоянии друг от друга, затем на поверхность скотча крепится покровное стекло (CG), образуя замкнутый изолированный канал. Для ввода/вывода клеток в отверстия устанавливается полимерная медицинская трубка (PT) с внутренним диаметром 0,6 мм и толщиной стенки 0,15 мм.

Для валидации результатов, полученных с помощью разработанной портативной системы (PS), было проведено сравнительное исследование с использованием стационарного флуоресцентного микроскопа (FM) класса Nikon Ni-U Eclipse (Nikon, Япония), с помощью которого уже наблюдалась активность гранулоцитов *ex vivo* во время образования тромба [11]. Для исследования¹ использовались образцы крови здоровых взрослых доноров. Кровь бралась у добровольцев ($n = 5$, мужчины и женщины 18–35 лет) в вакуумные пробирки Sarstedt-Monovette[®] с гирудином (525 АТЕ/мл крови). Контрольная система была оснащена цифровой камерой DS-R1i и объективом Plan Fluor 20x/0.50. Возбуждение флуоресценции красителя DiOC₆ в контрольных экспериментах осуществлялось светодиодным осветителем CoolLED re-4000. Для индукции тромбообразования использовался коллаген. Стеклопосуды покрывали фибриллярным коллагеном I типа (0,2 мг/мл, Chrono-Log Corporation; США) в течение 1 ч 30 мин при 37 °С, промывали дистиллированной водой, а затем помещали в проточные камеры. После добавления DiOC₆ (1 мкМ, Sigma-Aldrich, США) кровь прокачивали через проточные камеры с пристеночной скоростью сдвига 100 с^{-1} . Важным отличием методик являлся способ формирования потока: в референсной системе (FM) ток крови обеспечивался прецизионным шприцевым насосом. В разработанной портативной системе (PS) аналогичная скорость потока (соответствующая 100 с^{-1}) достигалась за счет разности гидростатического давления, обусловленной наклоном всей оптической системы и разницей в высоте трубок входа и выхода. Местоположение тромбоцитарных тромбов определялось с помощью пиксельного классификатора ilastik². Площадь тромбоцитарных агрегатов рассчитывалась как процент площади экрана, покрытой агрегатами. Листинг кода и примеры работы программы доступны на платформе GitHub³. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение. Ключевым этапом работы стала верификация точности измерений разработанного устройства в сравнении со стационарным микроскопом Nikon Ni-U (Nikon, Япония) и проверка воспроизводимости экспериментальных результатов при смене способа формирования потока крови. На рис. 5 представлены результаты сопоставления наблюдаемых площадей тромбоцитарных агрегатов на 300-й и 600-й секундах эксперимента для обеих систем.

При анализе данных установлено, что значимых различий между площадями, зафиксированными при помощи FM (поток через шприцевой насос) и PS (гравитационный поток), не наблюдалось ($p > 0,05$ по критерию Манна–Уитни). Полученные результаты свидетельствуют о том, что портативная система и выбранный метод организации потока позволяют корректно воспроизводить условия для формирования тромба и обеспечивают точность визуализации, сопоставимую с дорогостоящим лабораторным оборудованием, а приведенный разброс значений может быть напрямую связан с качеством применяемых оптических фильтров в эпифлуоресцентных модулях.

На рис. 6 представлены примеры получаемых изображений на портативной системе. На широкополосных изображениях в проходящем свете достаточно хорошо видны эритроциты, тромбоциты и фибриновые нити (выделены на рис. 6, с квадратом, на нити указывают стрелки), что в достаточной степени говорит об оптическом качестве разработанной системы.

¹ Исследование проведено в соответствии с Хельсинской декларацией и одобрено этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН» (№4/1-21(НЭК) от 16.11.2021). От всех доноров получено письменное информированное согласие на использование образцов и публикацию результатов исследования.

² ilastik the interactive learning and segmentation toolkit. URL: <http://ilastik.org> (date of access: 06.03.2026).

³ Leukocytes2023 // GitHub. URL: <https://github.com/juliajessika/Leukocytes2023> (date of access: 06.03.2026).

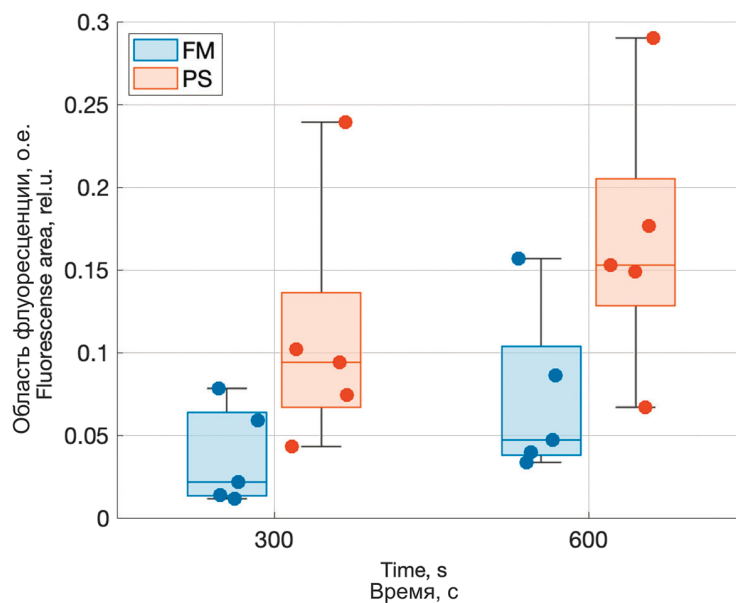


Рис. 5. Сравнение наблюдаемых площадей тромбоцитарных агрегатов на 300-й и 600-й секундах съемки для референтного флуоресцентного микроскопа при токе крови, создаваемом шприцевым насосом (FM) с разработанной портативной системой (PS). Значимых различий между наблюдаемыми площадями агрегатов не наблюдалось. Для сравнения выборки использовался критерий Манна–Уитни

Fig. 5. Comparison of the observed thrombus areas at 300th and 600th seconds for a reference fluorescence microscope with blood flow generated by a syringe pump (FM) with a developed portable system (PS). There were no significant differences between the observed blood clot areas. The Mann–Whitney test was used to compare the samples

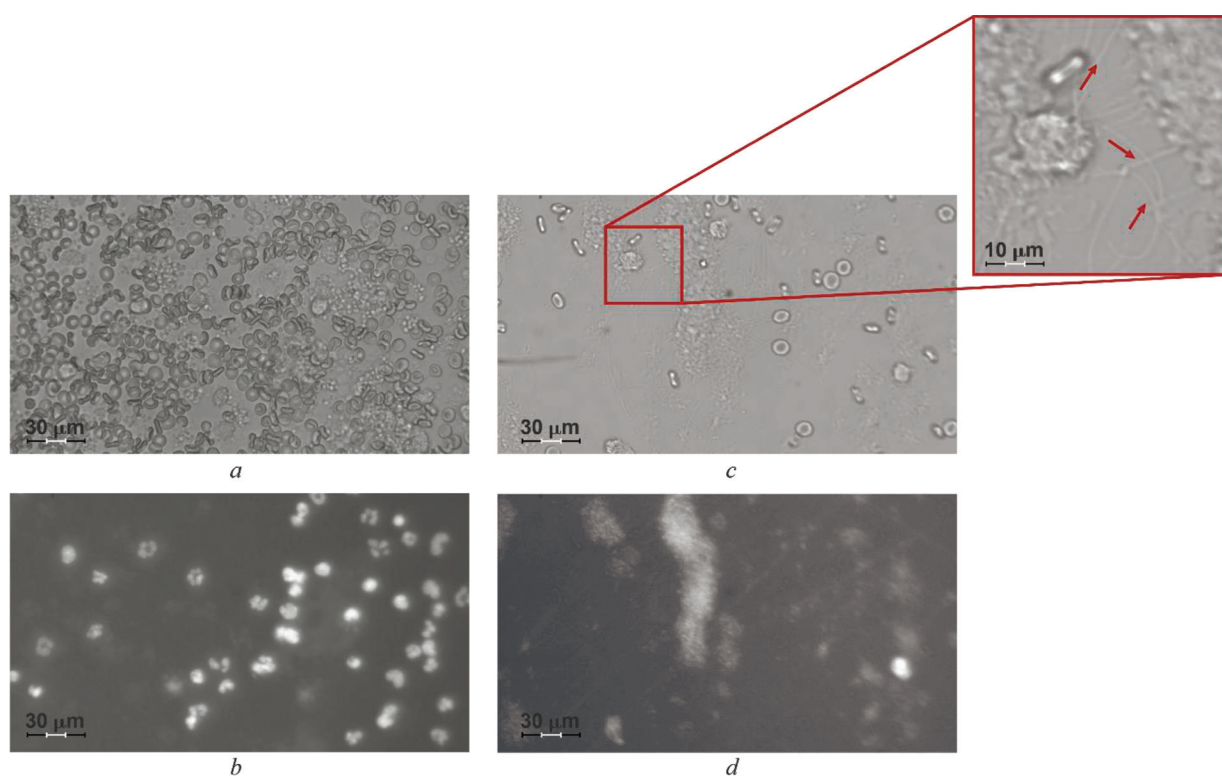


Рис. 6. Примеры изображений, получаемых на портативной системе: *a, c* – эритроциты в проходящем широкополосном свете; *b, d* – флуоресцирующие клетки

Fig. 6. Examples of images obtained on a portable system: *a, c* – erythrocytes in transmitted broadband light; *b, d* – fluorescent cells

Заклучение. В работе описаны технические решения, способствующие созданию микро-скопической системы с расширенными функциями. Показано, что разработанная оптическая микрофлюидная система (микроскоп) портативна, что допускает его использование в полевых условиях и перемещение в компактном кейсе либо рюкзаке. Особенностью этого микроскопа является его конструкция с возможностью наклона оптической оси одновременно с проточной камерой, это открывает возможность прокачивать биологические жидкости гравитационным методом – «самотеком», снижая внешнее влияние на клетки и минимизируя их повреждение. Разработанный компактный портативный прибор наделен основными функциями стационарного флуоресцентного микроскопа, поэтому предоставляет возможность регистрации возбуждаемой флуоресценции в клетках и анализа их геометрии.

Проведена серия экспериментов с образцами крови, прокачиваемой через проточную камеру на двух микроскопах – Nikon Ni-U Eclipse и разработанной портативной системе. Эксперименты показали хорошую воспроизводимость образования тромбоцитарных агрегатов в потоке крови для разработанной портативной системы по сравнению с существующими стационарными решениями.

Полученные результаты можно успешно использовать для экспресс-тестов активности гранулоцитов *ex vivo* во время образования тромбов. Применение разработанного микроскопа совместно с проточной камерой позволяет одновременно наблюдать рост тромба и поведение гранулоцитов в цельной крови в условиях, близких к физиологическим. Это делает доступным проведение клинической диагностики синдрома Вискотта–Олдрича, хронической сердечной недостаточности, ANKRD26-ассоциированной тромбоцитопении и синдрома Швахмана–Даймонда.

Список использованных источников

1. Alexa Dyes, a Series of New Fluorescent Dyes that Yield Exceptionally Bright, Photostable Conjugates / N. Panchuk-Voloshina, R. P. Haugland, J. Bishop-Stewart [et al.] // *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. – 1999. – Vol. 47, iss. 9. – P. 1179–1188. <https://doi.org/10.1177/002215549904700910>
2. DiOC₆(3): a Useful Dye for Staining the Endoplasmic Reticulum / R. W. Sabnis, T. D. Deligeorgiev, M. N. Jachak, T. S. Dalvi // *Biotechnic & Histochemistry*. – 1997. – Vol. 72, iss. 5. – P. 253–258. <https://doi.org/10.3109/10520299709082249>
3. Structural Characterization of B-DNA d(CGTGAATTCACG)₂ in Complex with the Specific Minor Groove Binding Fluorescent Marker Hoechst 33342 / H. Sbirikova-Dimitrova, R. Rusew, H. Gerginov [et al.] // *Crystals*. – 2025. – Vol. 15, iss. 1. – Art. ID 20. <https://doi.org/10.3390/cryst15010020>
4. Interaction of diamidino-2-phenylindole (DAPI) with natural and synthetic nucleic acids / G. Manzini, M. L. Barcellona, M. Avitabile, F. Quadrifoglio // *Nucleic Acids Research*. – 1983. – Vol. 11, iss. 24. – P. 8861–8876. <https://doi.org/10.1093/nar/11.24.8861>
5. Lippincott-Schwartz, J. Development and Use of Fluorescent Protein Markers in Living Cells / J. Lippincott-Schwartz, H. G. Patterson // *Science*. – 2023. – Vol. 300, iss. 5616. – P. 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.1082520>
6. Imaging Platelet Processes and Function-Current and Emerging Approaches for Imaging *in vitro* and *in vivo* / S. J. Montague, Y. J. Lim, W. M. Lee, E. E. Gardiner // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – Art. ID 78. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00078>
7. Dissecting thrombus-directed chemotaxis and random movement in neutrophil near-thrombus motion in flow chambers / J.-J. D. Korobkin, E. A. Deordieva, I. P. Tesakov [et al.] // *BMC Biology*. – 2024. – Vol. 22, iss. 1. – Art. ID 115. <https://doi.org/10.1186/s12915-024-01912-2>
8. Заказнов, Н. П. Лупа и микроскоп / Н. П. Заказнов, С. П. Кирюшин, В. И. Кузичев // *Теория оптических систем* / Н. П. Заказнов, С. П. Кирюшин, В. И. Кузичев. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Машиностроение, 1992. – Гл. 13. – С. 190–204.
9. Fluorescence Microscopy / A. Diaspro, P. Bianchini, F. Cella Zanacchi [et al.] // *Springer Handbook of Microscopy* / eds.: P. W. Hawkes, J. C. H. Spence. – Cham: Springer, 2019. – P. 1039–1088. https://doi.org/10.1007/978-3-030-00069-1_21
10. Stephens, D. J. Light Microscopy Techniques for Live Cell Imaging / D. J. Stephens, V. J. Allan // *Science*. – 2003. – Vol. 300, iss. 5616. – P. 82–86. <https://doi.org/10.1126/science.1082160>
11. *Ex vivo* observation of granulocyte activity during thrombus formation / D. S. Morozova, A. A. Martyanov, S. I. Obyednyy [et al.] // *BMC Biology*. – 2022. – Vol. 20, iss. 1. – Art. ID 32. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01238-x>
12. Вейнберг, Т. И. Каталог цветного стекла / Т. И. Вейнберг. – М.: Машиностроение, 1967. – 62 с.

References

1. Panchuk-Voloshina N., Haugland R. P., Bishop-Stewart J., Bhargat M. K., Millard P. J., Mao F., Leung W.-Y., Haugland R. P. Alexa Dyes, a Series of New Fluorescent Dyes that Yield Exceptionally Bright, Photostable Conjugates. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 1999, vol. 47, iss. 9, pp. 1179–1188. <https://doi.org/10.1177/002215549904700910>

2. Sabnis R. W., Deligeorgiev T. D., Jachak M. N., Dalvi T. S. DiOC₆(3): a Useful Dye for Staining the Endoplasmic Reticulum. *Biotechnic & Histochemistry*, 1997, vol. 72, iss. 5, pp. 253–258. <https://doi.org/10.3109/10520299709082249>
3. Sbirkova-Dimitrova H., Rusew R., Gerginov H., Heroux A., Shivachev B. L. Structural Characterization of B-DNA d(CGTGAATTCACG)₂ in Complex with the Specific Minor Groove Binding Fluorescent Marker Hoechst 33342. *Crystals*, 2025, vol. 15, iss. 1, art. ID 20. <https://doi.org/10.3390/cryst15010020>
4. Manzini G., Barcellona M. L., Avitabile M., Quadrifoglio F. Interaction of diamidino-2-phenylindole (DAPI) with natural and synthetic nucleic acids. *Nucleic Acids Research*, 1983, vol. 11, iss. 24, pp. 8861–8876. <https://doi.org/10.1093/nar/11.24.8861>
5. Lippincott-Schwartz J., Patterson H. G. Development and Use of Fluorescent Protein Markers in Living Cells. *Science*, 2023, vol. 300, iss. 5616, pp. 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.1082520>
6. Montague S. J., Lim Y. J., Lee W. M., Gardiner E. E. Imaging Platelet Processes and Function-Current and Emerging Approaches for Imaging *in vitro* and *in vivo*. *Frontiers in Immunology*, 2020, vol. 11, art. ID 78. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00078>
7. Korobkin J.-J. D., Deordieva E. A., Tesakov I. P., Adamanskaya E.-I. A., Boldova A. E., Boldyreva A. A., Galkina S. V. [et al.]. Dissecting thrombus-directed chemotaxis and random movement in neutrophil near-thrombus motion in flow chambers. *BMC Biology*, 2024, vol. 22, iss. 1, art. ID 115. <https://doi.org/10.1186/s12915-024-01912-2>
8. Zakaznov N. P., Kiryushin S. P., Kuzichev V. I. *Theory of Optical Systems. Ch. 13. Magnifier and Microscope*. Moscow, Mashinostroenie Publ., 1992, pp. 190–204 (in Russian).
9. Diaspro A., Bianchini P., Cella Zanacchi F., Lanzanò L., Vicidomini G., Oneto M., Pesce L., Cainero I. Fluorescence Microscopy. Hawkes P. W., Spence J. C. H. (eds.). *Springer Handbook of Microscopy*. Cham, Springer Publ., 2019, pp. 1039–1088. https://doi.org/10.1007/978-3-030-00069-1_21
10. Stephens D. J., Allan V. J. Light Microscopy Techniques for Live Cell Imaging. *Science*, 2003, vol. 300, iss. 5616, pp. 82–86. <https://doi.org/10.1126/science.1082160>
11. Morozova D. S., Martyanov A. A., Obyednyy S. I., Korobkin J.-J. D., Sokolov A. V., Shamova E. V., Gorudko I. V. [et al.]. *Ex vivo* observation of granulocyte activity during thrombus formation. *BMC Biology*, 2022, vol. 20, iss. 1, art. ID 32. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01238-x>
12. Veinberg T. I. *Colored Glass Catalog*. Moscow, Mashinostroenie Publ., 1967. 62 p. (in Russian).