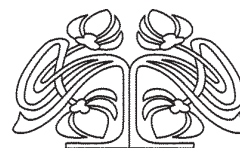




Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

ИЗВЕСТИЯ

САРАТОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА
Новая серия



Научный журнал
2017 Том 17
ISSN 1817-3020 (Print)
ISSN 2542-193X (Online)
Издается с 2005 года

Серия Физика, выпуск 2

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1910–1918 и «Ученых записок СГУ» 1923–1962

СОДЕРЖАНИЕ

Слово редколлегии

69

Научный отдел

Оптика и спектроскопия. Лазерная физика

**Хлебцов Б. Н., Ханадеев В. А.,
Пылаев Т. Е., Хлебцов Н. Г.**

Метод динамического рассеяния света
в исследованиях силикатных и золотых наночастиц

71

Биофизика и медицинская физика

**Семенов А. Н., Луговцов А. Е., Ли К.,
Фабричнова А. А., Ковалева Ю. А., Приезжев А. В.**

Использование методов диффузного рассеяния света
и оптического захвата для исследования
реологических свойств крови: агрегация эритроцитов
при сахарном диабете

85

**Генина Э. А., Башкатов А. Н.,
Семячкина-Глушкова О. В., Тучин В. В.**

Оптическое просветление черепной кости
многокомпонентными иммерсионными растворами
и визуализация церебрального венозного кровотока

98

**Фадюкова О. Е., Луговцов А. Е.,
Приезжев А. В., Кошелев В. Б.**

Оптическое исследование реологических свойств крови
у крыс линии Крушинского – Молодкиной
при сахарном диабете и острых нарушениях
мозгового кровообращения

111

Приложения

Personalia

Романовский Ю. М., Тучин В. В.

К юбилею Александра Васильевича Приезжева

121

Усанов Д. А.

Универсальный универсант
(К 70-летию со дня рождения Валерия Михайловича Аникина)

127

Журнал включен в Перечень рецензи-
руемых научных изданий, в которых
должны быть опубликованы основные
научные результаты диссертаций на
соискание ученой степени кандидата
наук, на соискание ученой степени
доктора наук

Зарегистрировано в Федеральной
службе по надзору в сфере связи,
информационных технологий и мас-
совых коммуникаций.

Свидетельство о регистрации СМИ ПИ
№ ФС77-56150 от 15 ноября 2013 года

Индекс издания в объединенном
каталоге «Пресса России» 36015,
раздел 30 «Научно-технические изда-
ния. Известия РАН. Известия вузов».
Журнал выходит 4 раза в год

Заведующий редакцией

Бучко Ирина Юрьевна

Редактор

Бучко Ирина Юрьевна

Художник

Соколов Дмитрий Валерьевич

Редактор-стилист

Степанова Наталия Ивановна

Верстка

Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор

Ковалева Наталья Владимировна

Корректор

Юдина Инна Геннадиевна

Адрес учредителя, издателя и редакции:

410012, Саратов, ул. Астраханская, 83

Тел.: (845-2) 51-45-49, 52-26-89

E-mail: izvestiya@sgu.ru

Подписано в печать 25.05.2017.

Формат 60×84 1/8.

Усл. печ. л. 8.22 (8.5).

Тираж 500 экз. Заказ 61-Т.

Отпечатано в типографии
Саратовского университета.

Адрес типографии:

410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2017



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует на русском и английском языках научные статьи по физике, содержащие новые результаты исследований, статьи учебно-методического характера, содержащие инновационную компоненту, статьи по методологии разделов физической науки, статьи, отражающие хронику научных мероприятий и важных событий в жизни физического сообщества. Материалы, ранее опубликованные или представленные для публикации в другие журналы, к рассмотрению не принимаются.

Рекомендуемый объем статьи – до 16 страниц текста, 5 рисунков и 4 таблицы, объемом краткого сообщения – до 6 страниц текста, 2 рисунка и 2 таблицы. Таблицы не должны превышать 20% общего объема статьи.

На русском языке статья содержит: УДК, заглавие, инициалы и фамилии авторов, название их места работы, электронный адрес автора, с которым ведётся переписка, аннотацию (150–200 слов), ключевые слова (не более 15), текст, благодарности и ссылки на гранты, список литературы.

На английском языке необходимо продублировать: заглавие, инициалы и фамилии авторов, аннотацию (200–250 слов), ключевые слова, references.

Редколлегия рекомендует авторам структурировать текст, используя подзаголовки. Текст должен быть набран и напечатан через 1,5 интервала на бумаге формата А4 с полями 2,5 см, шрифт Times New Roman, размер шрифта основного текста – 14, второстепенного (аннотация, ключевые слова, сноски, таблицы, подписи к рисункам, приложения, список литературы, примечания) – 12; все страницы рукописи, таблицы, рисунки, следует пронумеровать. Иллюстрации и таблицы предоставляются дополнительно отдельным файлом. Рисунки должны быть в формате TIFF, JPG, CDR, BMP с разрешением не меньше 300 dpi. Нумерация источников в списке литературы должна соответствовать очередности ссылок на них в тексте, ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Для публикации статьи необходимо представить в редакцию:

– подписанный авторами текст статьи, включая резюме и ключевые слова, таблицы, рисунки и подписи к ним (2 экз.);

– сведения об авторах на русском и английском языках: фамилия, имя, отчество, место работы, должность, ученые степень и звание, служебные адреса и телефоны, адреса электронной почты, указать автора, ответственного за переписку с редакцией (1 экз.);

– файлы всех вышеперечисленных материалов в форме документа Microsoft Word doc или Word docx;

– направление от организации (1 экз.).

Адрес редколлегии серии: 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83, СГУ имени Н. Г. Чернышевского, физический факультет.

Тел. / факс: +7(845-2) 51-14-30.

E-mail: fizika.sgu@bk.ru

Website: <http://fizika.sgu.ru>

CONTENTS

From the Editorial Board

69

Scientific Part

Optics and Spectroscopy. Laser Physics

**Khlebtsov B. N., Khanadeev V. A.,
Pylaev T. E., Khlebtsov N. G.**

Dynamic Light Scattering Method
in Studies of Silica and Gold Nanoparticles

71

Biophysics and Medical Physics

**Semenov A. N., Lugovtsov A. E., Lee K.,
Fabrichnova A. A., Kovaleva Yu. A., Priezzhev A. V.**

Applying Methods of Diffuse Light Scattering and Optical Trapping
for Assessing Blood Rheological Parameters:
Erythrocytes Aggregation in Diabetes Mellitus

85

**Genina E. A., Bashkatov A. N.,
Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Tuchin V. V.**

Optical Clearing of Cranial Bone by Multicomponent Immersion
Solutions and Cerebral Venous Blood Flow Visualization

98

**Fadyukova O. E., Lugovtsov A. E.,
Priezzhev A. V., Koshelev V. B.**

Optical Study of Blood Rheological Properties
for Krushinsky – Molodkina Strain Rats with Diabetes Mellitus
and Acute Disturbances of the Cerebral Circulation

111

Appendices

Personalia

Romanovsky Yu. M., Tuchin V. V.

To the Jubilee of Alexander Vasil'evich Priezzhev

121

Usanov D. A.

Universal Universant (To the 70th Anniversary
from Valery M. Anikin Birthday)

127



**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ ЖУРНАЛОВ
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ»**

Главный редактор

Чумаченко Алексей Николаевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Короновский Алексей Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Халова Виктория Анатольевна, кандидат физ.-мат. наук, доцент (Саратов, Россия)

Члены редакционного совета:

Балаш Ольга Сергеевна, кандидат экон. наук, доцент (Саратов, Россия)

Бучко Ирина Юрьевна, директор Издательства Саратовского университета (Саратов, Россия)

Данилов Виктор Николаевич, доктор ист. наук, профессор (Саратов, Россия)

Ивченков Сергей Григорьевич, доктор соц. наук, профессор (Саратов, Россия)

Коссович Леонид Юрьевич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Макаров Владимир Зиновьевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)

Прозоров Валерий Владимирович, доктор филол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Усанов Дмитрий Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Устьянцев Владимир Борисович, доктор филос. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шамионов Раиль Мунирович, доктор психол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биол. наук, профессор (Саратов, Россия)

**EDITORIAL COUNCIL OF THE JOURNALS
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES»**

Editor-in-Chief – Chumachenko A. N. (Saratov, Russia)

Deputy Editor-in-Chief – Koronovskii A. A. (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Khalova V. A. (Saratov, Russia)

Members of the Editorial Council:

Balash O. S. (Saratov, Russia)

Buchko I. Yu. (Saratov, Russia)

Danilov V. N. (Saratov, Russia)

Ivchenkov S. G. (Saratov, Russia)

Kossovich L. Yu. (Saratov, Russia)

Makarov V. Z. (Saratov, Russia)

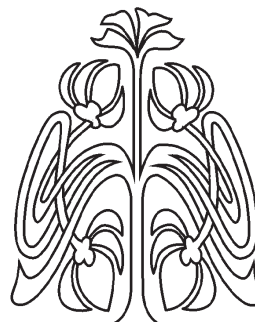
Prozorov V. V. (Saratov, Russia)

Usanov D. A. (Saratov, Russia)

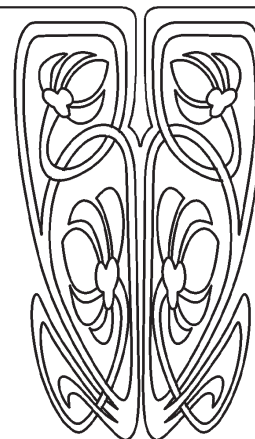
Ustiantsev V. B. (Saratov, Russia)

Shamionov R. M. (Saratov, Russia)

Shlyakhtin G. V. (Saratov, Russia)



**РЕДАКЦИОННЫЙ
СОВЕТ**





**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ.
СЕРИЯ: ФИЗИКА»**

Главный редактор

Усанов Дмитрий Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместители главного редактора

Анищенко Вадим Семенович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

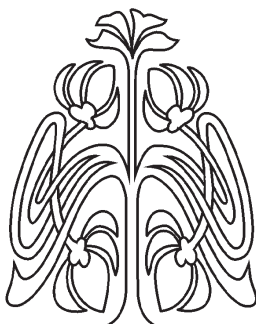
Тучин Валерий Викторович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Скрипаль Анатолий Владимирович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Члены редакционной коллегии:

- Аникин Валерий Михайлович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Бабков Лев Михайлович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Вадивасова Татьяна Евгеньевна, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Вениг Сергей Борисович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Винницкий Сергей Ильич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Дубна, Россия)
 Горохов Александр Викторович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Самара, Россия)
 Грибов Лев Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)
 Давидович Михаил Владимирович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Кузнецов Сергей Петрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Малышев Сергей Александрович, доктор физ.-мат. наук, доцент (Минск, Беларусь)
 Мельников Леонид Аркадьевич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Модельский Иосиф, Ph.D, профессор (Варшава, Польша)
 Нефёдов Игорь Сергеевич, доктор физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник университета Аалто (Хельсинки, Финляндия)
 Никитов Сергей Аполлонович, доктор физ.-мат. наук, профессор, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)
 Пирогов Юрий Андреевич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Москва, Россия)
 Резчиков Александр Фёдорович, доктор техн. наук, профессор, чл.-корр. РАН (Саратов, Россия)
 Скрипаль Александр Владимирович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Сухоруков Глеб Борисович, профессор Университета Королевы Марии (Лондон, Великобритания)
 Трубецков Дмитрий Иванович, доктор физ.-мат. наук, профессор, чл.-корр. РАН (Саратов, Россия)
 Филимонов Юрий Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Хлебцов Николай Григорьевич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Шараевский Юрий Павлович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)
 Шиманский-Гайер Лутц, Ph.D, профессор Гумбольдтского университета (Берлин, Германия)



**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**

**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES.
SERIES: PHYSICS»**

Editor-in-Chief – Usanov D. A. (Saratov, Russia)

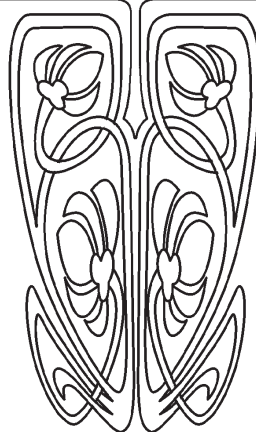
Deputy Editor-in-Chief – Anishchenko V. S. (Saratov, Russia)

Tuchin V. V. (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Skripal An. V. (Saratov, Russia)

Members of the Editorial Board:

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| Anikin V. M. (Saratov, Russia) | Modelski J. (Warsaw, Poland) |
| Babkov L. M. (Saratov, Russia) | Pirogov Yu. A. (Moscow, Russia) |
| Gorokhov A. V. (Samara, Russia) | Rezchikov A. F. (Saratov, Russia) |
| Gribov L. A. (Moscow, Russia) | Schimanski-Geier L. (Berlin, Germany) |
| Davidovich M. V. (Saratov, Russia) | Sharaevsky Yu. P. (Saratov, Russia) |
| Filimonov Yu. A. (Saratov, Russia) | Skripal A. V. (Saratov, Russia) |
| Khlebtsov N. G. (Saratov, Russia) | Sukhorukov G. B. (London, UK) |
| Kuznetsov S. P. (Saratov, Russia) | Trubetskov D. I. (Saratov, Russia) |
| Nefedov I. S. (Helsinki, Finland) | Vadivasova T. E. (Saratov, Russia) |
| Nikitov S. A. (Moscow, Russia) | Vinitzky S. I. (Dubna, Russia) |
| Malyshev S. A. (Minsk, Belarus) | Wenig S. B. (Saratov, Russia) |
| Melnikov L. A. (Saratov, Russia) | |





**Уважаемые читатели и авторы журнала
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
НОВАЯ СЕРИЯ. СЕРИЯ: ФИЗИКА»!**

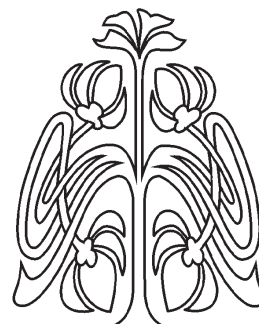
В этом году исполнилось 70 лет Александру Васильевичу Приезжеву, известному советскому и российскому ученому, заведующему лабораторией лазерной биомедицинской фотоники Международного лазерного центра Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, кандидату физико-математических наук, доценту.

А. В. Приезжев – крупный специалист в области биомедицинской оптики и биофотоники, в разработке методов оптических и лазерных измерений в биомедицине и нано-биофотонике и других смежных областях. Основные результаты, по которым опубликованы его многочисленные статьи и монографии, связаны с оптикой и биофизикой крови, ее реологическими свойствами, взаимодействием клеток крови с лазерным излучением, фундаментальными вопросами упругого и квазиупругого рассеяния света при взаимодействии оптического излучения с биологическими клетками и тканями. А. В. Приезжев – выдающийся педагог, подготовивший большое число специалистов мирового уровня, работающих как в России, так и в других странах.

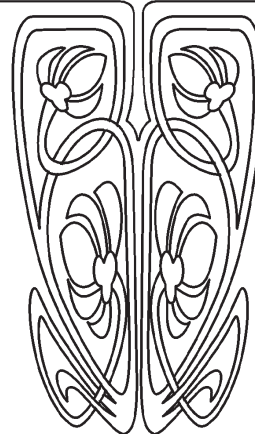
В этом и последующих выпусках журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика» публикуются и будут опубликованы статьи, подготовленные учениками и коллегами А. В. Приезжева. Они в значительной степени, хотя и не полностью, отражают научные направления активной деятельности Александра Васильевича, которые во многом характеризуют вектор развития лазерной биофотоники в нашей стране и за рубежом. Надеемся, что публикация этой подборки статей будет с интересом встречена читателями журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика» и послужит дальнейшему развитию лазерной биофотоники.

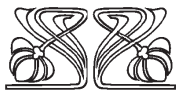
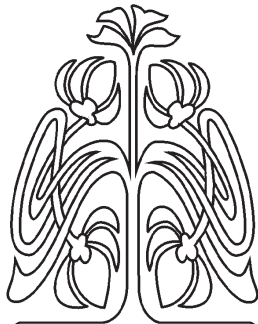
Инициатива отметить заслуги А. В. Приезжева на страницах журнала принадлежит кафедре оптики и биофотоники физического факультета Саратовского университета. Свой вклад в подготовку публикаций внесли профессор В. В. Тучин, доценты А. Н. Башкатов и Э. А. Генина, а также А. Е. Луговцов (Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова) и профессор Martin J. Leahy (National University of Ireland, Galway).

Редколлегия журнала

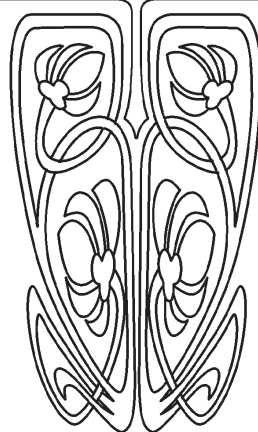


**СЛОВО
РЕДКОЛЛЕГИИ**





**FROM
THE EDITORIAL
BOARD**



FROM THE EDITORIAL BOARD

This year marks the 70th anniversary of Alexander Priezzhev, PhD, Associate Professor, a well-known Soviet and Russian scientist, Head of the Laboratory of Laser Biomedical Photonics of the International Laser Center of Lomonosov Moscow State University.

A. V. Priezzhev is a distinguished expert in the field of biomedical optics and biophotonics, methods of optical and laser measurements in biomedicine and nanobiophotonics and other related fields. The main results on which his numerous papers and monographs are published relate to the optics and biophysics of blood, its rheological properties, the interaction of blood cells with laser radiation, the fundamental questions of elastic and quasi-elastic light scattering when optical radiation interacts with biological cells and tissues. A. V. Priezzhev is an outstanding teacher who has trained a large number of world-class specialists who work both in Russia and all over the world.

In this and subsequent issues of the journal “*Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Physics*” published articles written by PhD students, postdocs and colleagues of A. V. Priezzhev. They largely, though not completely, reflect the research directions of Alexander Vasilyevich’s active work, which in many respects characterize the vector of development of this important area of science and technology in our country and abroad. We hope that publication of this paper collection will be met by readers of “*Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Physics*” with a great interest and will further develop laser biophotonics.

The initiative to celebrate the merits of A.V. Priezzhev in the Journal belongs to the Chair of Optics and Biophotonics of the Physics Department of the Saratov State University. The contribution to the preparation of publications was made by Professor V. V. Tuchin, Associate Professors A. V. Bashkatov and E. A. Genina, as well as by A. E. Lugovtsov (International Laser Center, Moscow State University) and Professor Martin J. Leahy (National University of Ireland, Galway).



ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ. ЛАЗЕРНАЯ ФИЗИКА

ДК 535.36+541.182.535.36

МЕТОД ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА В ИССЛЕДОВАНИЯХ СИЛИКАТНЫХ И ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ

Б. Н. Хлебцов, В. А. Ханадеев, Т. Е. Пылаев, Н. Г. Хлебцов

Хлебцов Борис Николаевич, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (Саратов), khlebtsov_b@ibppm.ru

Ханадеев Виталий Андреевич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (Саратов), khanadeev_v@ibppm.ru

Пылаев Тимофей Евгеньевич, кандидат биологических наук, ученый секретарь Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (Саратов), pylaev_t@ibppm.ru

Хлебцов Николай Григорьевич, доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией нанобиотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (Саратов); профессор кафедры материаловедения, технологии и управления качеством, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, khlebtsov@ibppm.ru

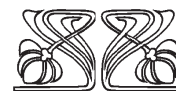
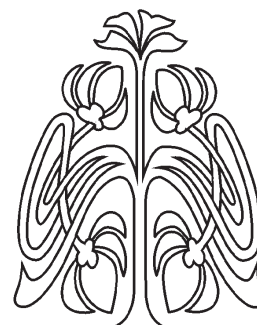
Обсуждается применение метода динамического рассеяния света (ДРС) для определения размеров силикатных и коллоидных золотых наночастиц с использованием приборов Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK) и PhotoCor («PhotoCor», Россия). Показано, что средние ДРС диаметры наносфер диоксида кремния (от 50 до 1000 нм) находятся в хорошем согласии с данными трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ), однако ДРС распределение по размерам обычно уширено по сравнению с данными ТЭМ. Для сильно рассеивающих золотых наночастиц (ЗНЧ) с диаметром более 30–40 нм отличие их формы от сферической и влияние вращательной диффузии приводит к появлению ложного пика в области размеров около 5–10 нм. В этом случае некритическое использование метода ДРС может дать неприемлемые результаты для распределений по объему или числу частиц по сравнению с данными ТЭМ. Для поглощающих ЗНЧ с диаметром менее 20 нм и слабым рассеянием метод ДРС часто дает второй ложный пик в распределении интенсивностей в области больших размеров. Обсуждаются практические методы решения проблемы ложных пиков.

Ключевые слова: наночастицы диоксида кремния, золотые наночастицы, распределение частиц по размерам, динамическое рассеяние света, электронная микроскопия, спектроскопия поглощения.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-71-84

Введение

Метод динамического рассеяния света (ДРС) [1–3] основан на анализе флуктуаций интенсивности светорассеяния, которые содержат информацию о пространственной динамике рассеивателей и временных флуктуациях их индивидуальных оптических



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





свойств. В общем случае метод ДРС может дать информацию не только о размере частиц, но также об их форме, взаимодействии (разбавленные или концентрированные системы), а также о структуре и внутренней динамике частиц [1, 2]. Однако на практике метод ДРС оказался востребованным именно как невозмущающий и оперативный метод определения дисперсного состава коллоидов и суспензий. Первичная экспериментальная информация содержится в автокорреляционной функции фототока $g_2(\tau)$ [1]. Определение распределения по размерам частиц представляет собой типичную некорректную задачу численного решения уравнения Фредгольма 1-го рода [4, 5], которая решается с привлечением различных вариантов метода регуляризации [4]. Возможности достаточно простого определения распределения по размерам частиц и анализа агрегационных процессов стимулировали развитие многочисленных приложений ДРС, отраженных в монографиях [1, 6] и статьях (см., например, ссылки в [7–14]). В последние годы метод ДРС широко используется в работах, связанных с синтезом, функционализацией и биомедицинскими применениями различных наночастиц, включая плазмонно-резонансные ЗНЧ [15–17]. Например, метод ДРС использовался для исследования структуры и взаимодействия биоконъюгатов коллоидного золота (КЗ) с молекулами-мишенями [18–23], разработки гомогенного метода детектирования биомаркеров рака [24, 25] и анализа ассемблирования ДНК-функционализированных ЗНЧ [26].

Разработка фирмой Malvern (Англия) серии приборов для анализа наночастиц [27] привела к широкому их применению (в том числе и в России) в качестве почти рутинного лабораторного теста для определения среднего размера и распределения наночастиц по размерам. Наш опыт применения одной из разработок – прибора Zetasizer Nano ZS – показал, что некритическое использование метода ДРС без контроля с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) может приводить к артефактам [28].

В данной работе мы даем краткий обзор наших результатов по применению метода ДРС для двух типов наноразмерных систем: 1) непоглощающие диэлектрические наночастицы диоксида кремния (силикатные наночастицы) с диаметром от десятков до сотен нанометров [29, 30]; 2) ЗНЧ с доминирующим поглощением (диаметр менее 15 нм) и сильным рассеянием света (диаметр более 30 нм) [28]. В дополнение

к методу ДРС приближенная оценка среднего размера и концентрации ЗНЧ может быть получена с помощью спектроскопии поглощения в широком диапазоне от 3 до 100 нм (более детальное обсуждение можно найти в работах [31–34]). Этот вопрос, а также достоинства и недостатки методов ТЭМ, ДРС и спектроскопии поглощения в оценке размеров ЗНЧ будут рассмотрены в следующей статье.

1. Синтез и характеристика размеров наночастиц диоксида кремния

Наночастицы диоксида кремния были синтезированы с использованием двух различных методов. Классический метод Стёбера [35], разработанный почти сорок лет назад и до сих пор являющийся одним из самых широко используемых методов синтеза наночастиц диоксида кремния, был использован нами с небольшими модификациями, как описано в работе [29]. Другим методом синтеза наночастиц диоксида кремния является двухстадийный зародышевый метод [36], на первом этапе которого происходит синтез «зародышей» – наночастиц диоксида кремния малого размера (около 20 нм) с использованием L-аргинина в качестве основного катализатора в водной среде. На втором этапе происходит доращивание частиц в спиртовой среде с использованием модифицированного метода Стёбера [37] до заданного размера более 100 нм. Стоит отметить, что метод синтеза с использованием L-аргинина является более трудоемким, однако это компенсируется высокой степенью монодисперсности синтезированных наночастиц.

На рис. 1, а представлено ТЭМ изображение образца наночастиц диоксида кремния, синтезированных по методу Стёбера, со средним диаметром 139 нм. Данные электронной микроскопии (ЭМ) хорошо согласуются с измерением среднего размера частиц методом ДРС (138 нм). Однако в случае ДРС измерений (рис. 1, б) ширина распределения частиц по размерам оказывается существенно больше по сравнению с ТЭМ гистограммой (рис. 1, в). Такое уширение ДРС распределений по размерам уже демонстрировалось ранее и было отмечено как недостаток метода динамического светорассеяния [6].

Из рис. 1, в и рис. 1, г можно заметить, что независимо от среднего размера частиц распределение по размерам имеет похожий вид и может быть аппроксимировано гамма-распределением с параметром полидисперсности $\mu=100$ (пара-

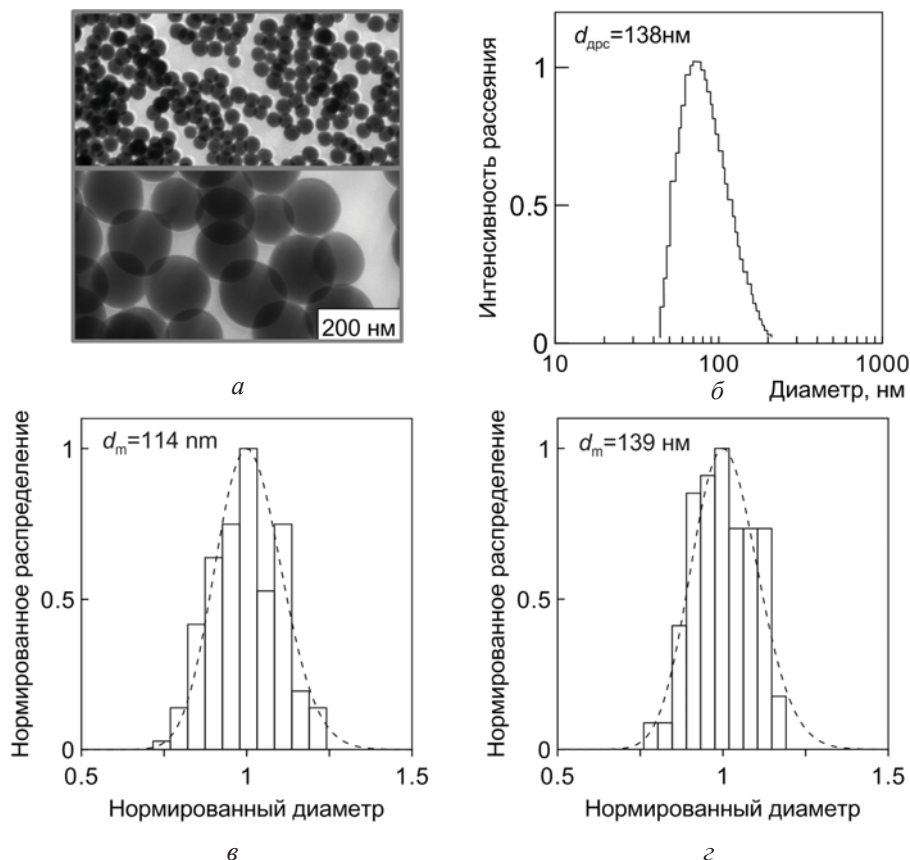


Рис. 1. ТЭМ фотографии частиц диоксида кремния со средним диаметром $d_{\text{ТЭМ}}=139$ нм (а) и ДРС распределение частиц со средним диаметром 138 нм (б). Гистограммы (в) и (г) построены на основе анализа ТЭМ изображений для образцов с размерами $d_{\text{ТЭМ}}=114$ нм и $d_{\text{ТЭМ}}=139$ нм соответственно, штриховой кривой показано гамма-распределение для параметра полидисперсности $\mu=100$ [29]

метр полидисперсности связан с относительной шириной распределения на половине максимума соотношением $\Delta d/d_m = 2.48/\sqrt{\mu}$ [29]). Эти выводы справедливы для всех частиц, полученных методом Стёбера, в диапазоне средних размеров от 80 до 250 нм. Стоит также отметить, что относительная ширина ТЭМ распределения по размерам $\Delta d/d_m \approx 0.2$ значительно меньше, чем данных ДРС $\Delta d/d_m \approx 0.7$.

Рассмотрим теперь наночастицы диоксида кремния, синтезированные по L-аргининовому методу. На рис. 2 представлены сравнительные ТЭМ гистограммы распределения по размерам наночастиц, полученных двумя различными методами. Для количественного сравнения мы выбрали три пары образцов наночастиц диоксида кремния, синтезированных методом Стёбера и L-аргининовым методом со средними диаметрами: 114 ± 13 и 116 ± 2 нм (рис. 2, а), 271 ± 17 и 282 ± 3 нм (рис. 2, б), 327 ± 20 и 305 ± 2 нм

(рис. 2, в) соответственно. ТЭМ гистограммы на рис. 2, а– в демонстрируют значительное преимущество многоступенчатого L-аргининового протокола, который позволяет получить наночастицы с гораздо более узким распределением по размерам по сравнению со стандартным методом Стёбера. В частности, по данным ТЭМ, среднее отклонение диаметра для наночастиц диоксида кремния, синтезированных с использованием L-аргинина, не превышает 2% для средних диаметров в пределах от 116 до 305 нм.

Для визуального сравнения на рис. 2, г, д представлены ТЭМ фотографии наночастиц, синтезированных по L-аргининовому методу (средний диаметр $d_{\text{ТЭМ}}=233 \pm 4$ нм, рис. 2, г) и по методу Стёбера (средний диаметр $d_{\text{ТЭМ}}=343 \pm 20$ нм, рис. 2, д). Можно заметить, что наночастицы диоксида кремния, синтезированные по L-аргининовому методу, имеют более высокую степень монодисперсности и имеют тенден-

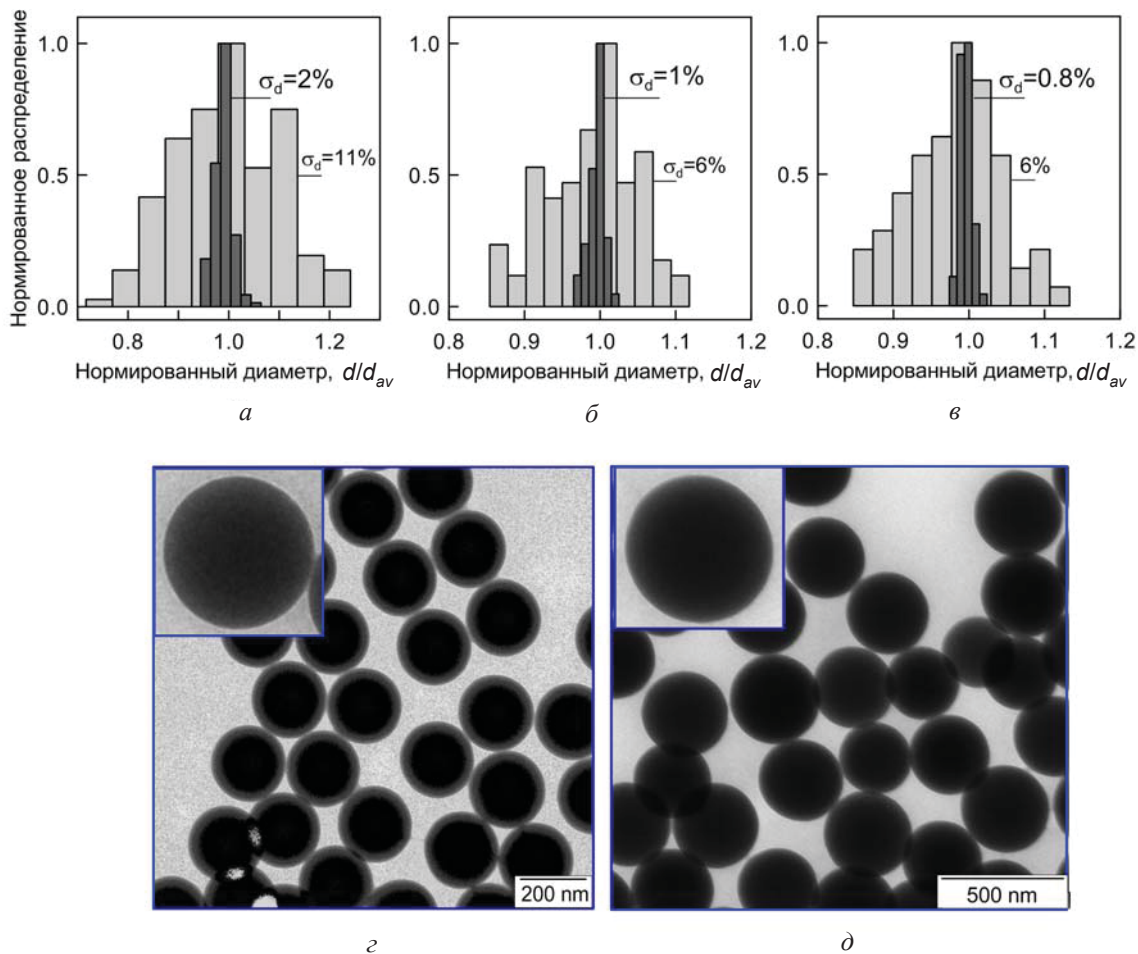


Рис. 2. ТЭМ гистограммы распределения наночастиц диоксида кремния (а, б, в), синтезированных с использованием L-аргинина (темные столбцы) и метода Стёбера (светлые столбцы). Средние диаметры стёберовских и L-аргининовых частиц по данным ТЭМ составляют 114 и 116 нм (а), 271 и 282 нм (б), 327 и 305 нм (в) соответственно. Соответствующие значения стандартного отклонения σ_d (в % от средних значений) приведены на гистограммах. ТЭМ фотографии наночастиц L-аргининовых ($d_{ТЭМ} = 233 \pm 4$ нм) (з) и стёберовских ($d_{ТЭМ} = 343 \pm 20$) (д) частиц диоксида кремния [37]

цию к образованию 2D кристаллов на подложке (рис. 2, з), в то время как наночастицы, синтезированные по методу Стёбера, не обладают этими качествами (рис. 2, д; см. также работу [37] по формированию 2D кристаллов из частиц диоксида кремния).

Сравнительные результаты измерений размеров методами ТЭМ и ДРС для образцов наночастиц диоксида кремния, синтезированных методом Стёбера (образцы S1–S6) и методом на основе L-аргинина (образцы L1–L4), представлены в таблице.

Стоит отметить, что данные ДРС измерений хорошо согласуются с данными ТЭМ, а оперативность измерений методом ДРС для получения статистики по всему ансамблю частиц является его несомненным преимуществом по сравне-

Результаты определения размера наночастиц диоксида кремния методом электронной микроскопии (ТЭМ) и методом динамического рассеяния света (ДРС)

Номер образца	Диаметр ТЭМ, нм	Диаметр ДРС, нм
S1	92±8	86±15
S2	114±12	108±24
S3	119±15	125±35
S4	139±12	138±47
S5	160±17	143±58
S6	217±20	216±100
L1	116±2	142±21
L2	233±4	250±28
L3	282±3	311±34
L4	305±2	345±39



нию с электронной микроскопией. Стоит также отметить и недостаток ДРС метода – завышение ширины распределения по размерам, которое было зафиксировано не только для стёберовских наночастиц, но и для высокомонодисперсных наночастиц, полученных L-аргининовым методом (образцы L1–L4 в таблице). Таким образом, по данным ДРС не представляется возможным сделать достоверный вывод о степени полидисперсности образца, так как даже для высокомонодисперсных наночастиц диоксида кремния ширина распределения более чем в 10 раз выше, чем для ТЭМ измерений. Кроме того, разница в ширине ДРС распределений для случаев монодисперсных и стандартных наночастиц диоксида кремния оказывается не столь существенной, как для данных ТЭМ.

2. Синтез и характеристика размеров золотых наночастиц

Мы исследовали ЗНЧ, получаемые цитратным методом Фрэнка (восстановление HAuCl_4 цитратом натрия при температуре ростового раствора 100°C [15]) в диапазоне размеров 8–100 нм.

Для частиц меньшего размера необходимо использовать другие протоколы и восстановители, например, боргидрид натрия и т.п. [15]. Для характеристики размеров наночастиц использовали оборудование Центра коллективного пользования (ЦКП) научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» ИБФРМ РАН: электронный микроскоп Libra-120 («Carl Zeiss», Germany) и приборы динамического рассеяния Zetasizer Nano ZS (в модах «back scattering» – угол рассеяния равен 173° , и «forward scattering» – угол рассеяния равен 13°) и PhotoCor («Photocor Instruments, Inc.», Россия) при угле рассеяния 90° .

При анализе частиц методом ДРС важно различать случаи малых и больших частиц, определяя, например, границу этой классификации по соотношению между интегральными сечениями рассеяния и экстинкции (рассеяние + поглощение) или рассеяния и поглощения. На рис. 3 [28] приведено отношение средних сечений рассеяния и экстинкции на длине волны He-Ne лазера (используется в обоих приборах) для полидисперсных золотых частиц

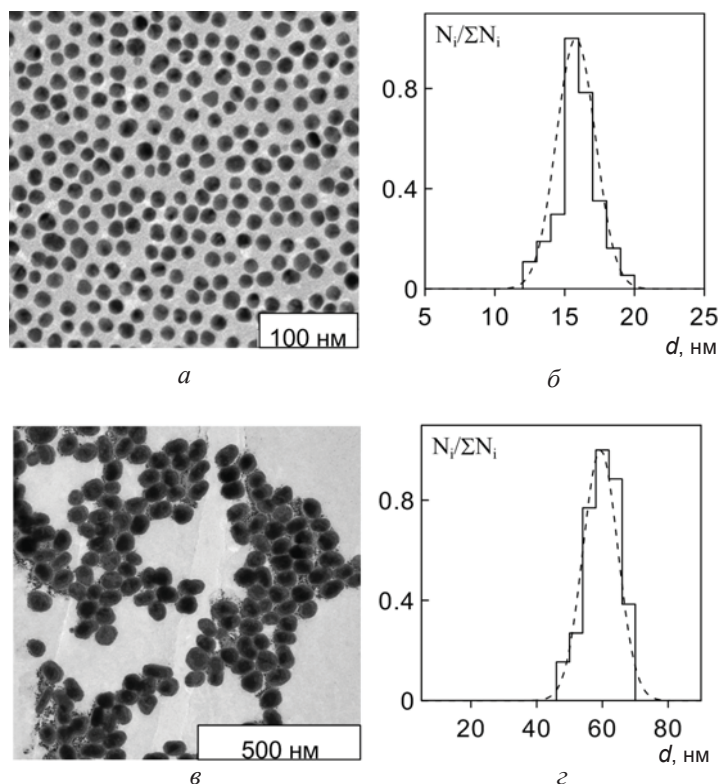


Рис. 3. ТЭМ изображения (*a*, *v*) и гистограммы распределения 16-нм (*б*) и 60-нм частиц (*z*). Штриховые кривые показывают нормальные распределения с параметрами $d_{av} = 15.8$ нм, $\sigma_d = 1.4$ нм (*б*) и $d_{av} = 59.4$ нм, $\sigma_d = 5.3$ нм (*z*). Панель (*v*) иллюстрирует типичную несферическую форму крупных частиц [28]



с нормальным распределением по числу частиц ($\sim \exp[-(d/d_{av} - 1)^2 / 2\sigma^2]$) со среднеквадратическим значением полуширины $\sigma = 30\%$. Начиная примерно со среднего диаметра около 40 нм, среднее сечение рассеяния составляет более 50% от экстинкции, так что такой ансамбль можно считать сильно рассеивающим. Заметим, что для монодисперсных систем граница такого перехода на резонансной длине волны лежит существенно правее, около 80 нм [38]. Для наших экспериментов мы выбрали частицы со средним диаметром около 16 и 60 нм (см. рис. 3) как модели со слабым и сильным рассеянием на длине волны прибора. Далее эти образцы обозначаются как КЗ-16 и КЗ-60.

По данным ТЭМ изображений частиц КЗ-16, их средний диаметр равен $d_{av} = 15.8 \pm 1.4$ нм, среднее осевое отношение $r_{av} = 1.05 \pm 0.05$. Для частиц КЗ-60 ТЭМ средние значения размера и осевого отношения равны $d_{av} = 59.4 \pm 5.3$ нм и $r_{av} = 1.33 \pm 0.22$ соответственно. Средняя относительная полуширина распределения равна $\sigma = \sigma_d / d_{av} = 8.9\%$ для обоих образцов (это совпадение все же случайно и просто указывает на близкую степень полидисперсности). Таким образом, в обоих случаях ТЭМ анализ показывает одномодовые распределения с довольно узкими распределениями числа частиц по размерам, степень полидисперсности которых не превышает 10%. Основное отличие заключается в заметном отклонении формы цитратных 60-нм золотых частиц от сферической. Увеличение степени несферичности частиц с увеличением размера

отмечалось в литературе [31, 39]. В частности, в работе [39] приведены две группы данных по размерной зависимости среднего осевого отношения коллоидных золотых частиц, которые можно приближенно описать соотношениями

$$\begin{aligned} r_1 &= 1.15 + (d_{av} - 20) / 350, \\ r_2 &= 1.18 + (d_{av} - 20) / 160. \end{aligned} \quad (1)$$

Для 16-нм частиц эти соотношения дают оценку осевого отношения 1.14–1.16, которая превышает значение 1.05, полученное нами для образца КЗ-16. В случае 60-нм частиц возможный диапазон значений среднего осевого отношения по формулам (1) равен 1.25–1.43, что вполне согласуется с полученной экспериментальной оценкой 1.33 для образца КЗ-60.

Обратимся теперь к данным ДРС для образца КЗ-60. На рис. 4 показано двухмодовое распределение интенсивностей рассеяния с мажорным максимумом около 59 нм и практически одномодовые распределения по объему и числу частиц с максимумами около 5–6 нм. Эти распределения получены в стандартном (по умолчанию) «back scattering» режиме измерения и обработки данных на приборе Zetasizer Nano ZS. В данном случае положение мажорного пика распределения интенсивностей рассеяния (~60 нм, рис. 4, а) отлично согласуется со среднечисленным ТЭМ диаметром (59.4 ± 5.3), однако относительная ширина распределения на уровне 1/2 от максимума (53%) примерно в 6 раз выше относительной ширины ТЭМ гистограммы (см. рис. 3, з). Поскольку распределение интенсивностей рассеяния не является прямой характе-

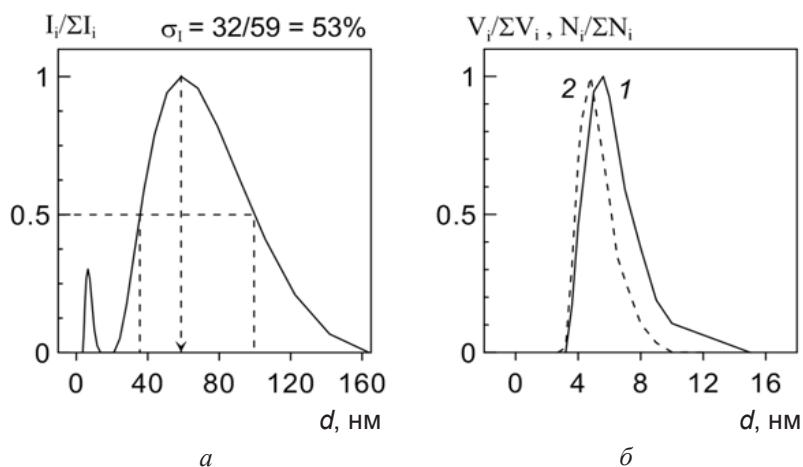


Рис. 4. Распределения интенсивностей рассеяния (а), объема и числа частиц (б, кривые 1 и 2 соответственно) по размерам для образца КЗ-60, полученные методом ДРС при угле рассеяния 173° [28]



ристикой дисперсного состава, то программами обработки данных предусмотрен пересчет в более привычные коллоидные характеристики распределения по объему и числу частиц по размерам. Однако такой пересчет (рис. 4, б) и сравнение с ТЭМ гистограммой по числу частиц (см. рис. 3, з) показывают, что результаты ДРС анализа по объему и числу частиц явно ошибочны: ни на одном из ТЭМ изображений препарата КЗ-60 не зафиксировано наличие сколь-нибудь заметного количества золотых частиц с диамет-

ром менее 10 нм. Очевидно, что в данном случае мы имеем дело с появлением ложного минорного пика в распределении интенсивностей для частиц КЗ-60, форма которых заметно отличается от сферической.

Причина появления ложного пика в области малых размеров становится понятной, если мы обратимся к рис. 3 и рис. 5, а, на которых представлены корреляционные функции фототока $g_2(\tau)$, измеренные для двух углов рассеяния (назад и вперед).

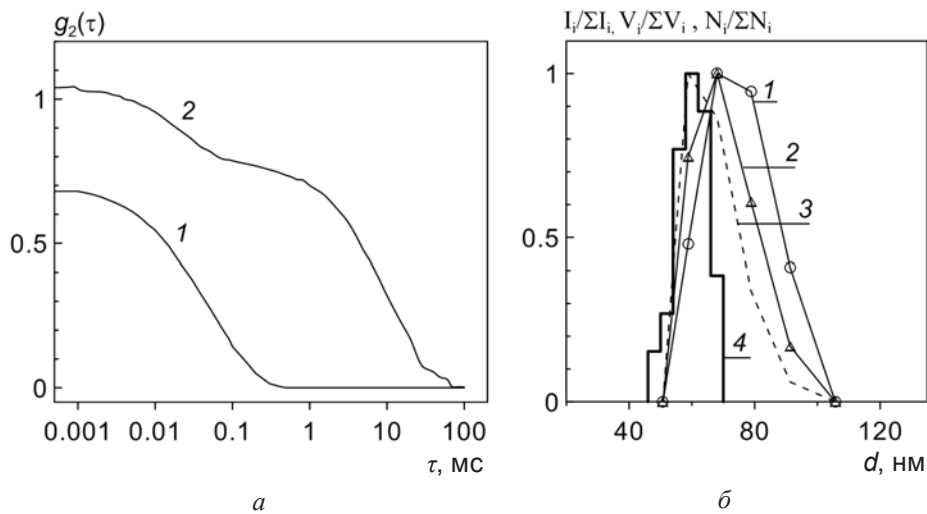


Рис. 5. Корреляционные функции фототока (а) образца КЗ-60, измеренные для углов рассеяния назад (1, 173°) и вперед (2, 13°) и распределения (б) интенсивностей рассеяния (1), объема (2) и числа частиц (3), полученные из рассеяния вперед. Для сравнения показана гистограмма числового распределения по данным ТЭМ (4) [28]

Две релаксационные моды на кривой 1 соответствуют вращательной и трансляционной броуновской диффузии несферических золотых частиц согласно уравнению монодисперсного приближения [6]:

$$g_2(\tau) = A + B_{vv}g_{vv}(\tau) + B_{vh}g_{vh}(\tau), \quad (2)$$

$$g_{vv}(\tau) = \exp(-2q^2 D_T \tau), \quad (3)$$

$$g_{vh}(\tau) = \exp(-2q^2 D_T \tau - 12D_R \tau),$$

где константы B_{vv} и B_{vh} зависят от анизотропии формы частиц, g_{vv} и g_{vh} соответственно обозначают вклады ко- и кроссполяризованной компонент рассеянного света в полную корреляционную функцию, измеряемую для перпендикулярно (по отношению к плоскости рассеяния) поляризованного света в отсутствие анализатора (как в приборе Zetasizer Nano ZS), D_T и D_R суть коэффициенты трансляционной и вращательной

диффузии, $q = (4\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$ есть длина вектора рассеяния в среде. В стандартном режиме обработки данных первая высокочастотная мода на кривых 1 и 2 (см. рис. 5) интерпретируется как вклад от фракции малых (на самом деле – фантомных) частиц, диаметр которых, как легко показать, дается выражением

$$d_{\min} = (1/18)q^2 f(r)d^3, \quad (4)$$

где для наших частиц функция фактора формы $f(r)$ примерно равна единице. Для рассеяния назад модуль q равен 0.026 нм^{-1} , средний ТЕМ диаметр частиц равен 59.4 нм, откуда $d_{\min} \approx 8 \text{ нм}$ в отличном согласии с данными рис. 3, а для минорного пика.

Переход от режима рассеяния назад к рассеянию вперед соответствует уменьшению q от 2.6×10^{-2} до $3 \times 10^{-3} \text{ 1/нм}$. Поэтому трансляционная релаксационная мода на кривой 2 (см. рис. 3)



сдвинута в низкочастотную область и хорошо разрешается коррелятором. При этом пересчет вкладов от вращательной диффузии сдвигает соответствующие размеры частиц в нефизическую область менее 1 нм, которая игнорируется прибором. Соответственно решение обратной задачи для корреляционной функции I (рассеяние вперед) дает одномодовые распределения по интенсивностям рассеяния, объему и числу частиц (рис. 5, б) со средними диаметрами 73.4, 69.5 и 66.2 нм соответственно. В последнем случае среднее значение довольно близко к среднечисленному размеру по данным ТЭМ (59.4 нм), хотя полуширина (16.3%) примерно в два раза больше полуширины ТЭМ гистограммы (8.9%).

Таким образом, имеется несколько возможных решений проблемы ложного пика, связанного с вращательной диффузией. Во-первых, в режиме рассеяния назад (предпочтителен с точки зрения исключения паразитного рассеяния от примесей и т.п.) имеет смысл установить задержку порядка 10 μ s, исключив несколько первых каналов коррелятора. Во-вторых, при решении обратной задачи можно поставить просто принудительную отсечку минимального размера исходя из ожидаемого диапазона. Скажем, для КЗ-60 (см. рис. 3, г и рис. 4, а) такая отсечка соответствует 20 нм. Отметим, что первый способ кажется предпочтительным, потому что информация первых каналов коррелятора все же влияет на трансляционную моду корреляционной функции через нормировку. Для примера на рис. 6 приведены распределения по объему и числу частиц, полученные пересчетом распределения по интенсивностям (см. рис. 4, а, рассеяние назад) с отсечкой минимального размера 20 нм. Видно заметное приближение к данным ТЭМ (по сравнению с рис. 4, б), но все же и средние размеры и ширина распределения 2 плохо согласуются с ТЭМ гистограммой (3). Таким образом, в данном случае оптимальным решением нам представляется измерение ДРС распределения в режиме рассеяния вперед.

Идентификация вращательного движения в случае малых анизотропных частиц может быть проведена на основе сопоставления измерений в режиме рассеяния назад и вперед. Как очевидно из предыдущего, решение для трансляционной моды не должно зависеть от угла рассеяния, тогда как минорный пик в случае рассеяния вперед смещается в нефизическую область (доли нано-

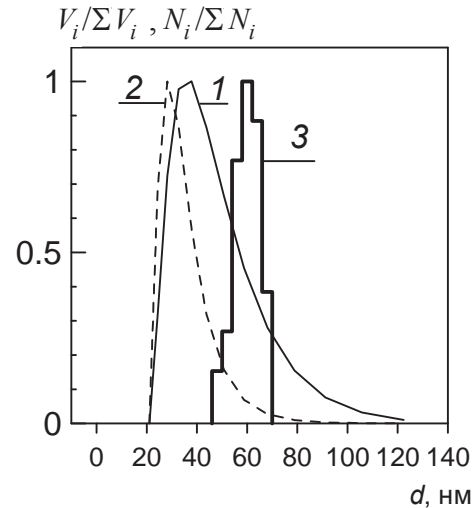


Рис. 6. Распределения по объему (1) и числу частиц (2), полученные из распределения по интенсивностям для образца КЗ-60 (рассеяние назад, см. рис. 3, а) с отсечкой минимального размера 20 нм. Средние диаметры и среднеквадратические отклонения (в терминах полуширины распределения) равны $d_{av,V} = 42 \pm 15$ нм и $d_{av,N} = 32 \pm 8$ нм для распределений по объему и числу частиц соответственно. Для сравнения приведена ТЭМ гистограмма (3) [28]

метра). Напротив, распределение характерного времени релаксации для вращательной моды не должно зависеть от угла, а для трансляционной моды масштаб времени изменяется как $1/(q^2 D_T)$. Эти возможности были продемонстрированы на примере частиц коллоидного серебра (детали см. в [28]).

Из уравнений (2) и (3) видно, что раздельное измерение автокорреляционных функций фототока для ко- и кроссполаризованной компонент рассеянного света при нескольких углах позволяет более или менее аккуратно определить коэффициенты вращательной и трансляционной диффузии, т.е. оценить средний размер и форму частиц. Примеры применения этого подхода приведены в литературе для длинных [40] и коротких [41] золотых наностержней.

Рассмотрим теперь измерение распределения по размерам для слабо рассеивающих частиц КЗ-16. На рис. 7, а показано типичное двухмодовое распределение интенсивностей рассеяния, которое получается для слабо рассеивающих наночастиц КЗ с диаметрами менее 20–25 нм. Пик первой моды расположен при 25 нм, его относительная полуширина равна 51%. Сравнение

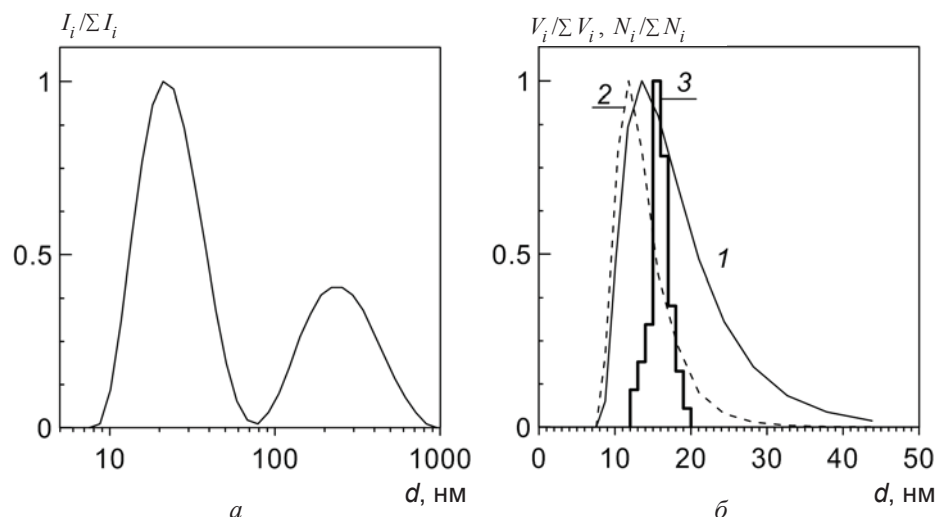


Рис. 7. Распределения по интенсивностям рассеяния (а), объему (1) и числу частиц (2) (б), полученные из измерений корреляционной функции образца КЗ-16 для рассеяния назад. Для сравнения показана гистограмма числового распределения по данным ТЭМ (3) [28]

с гистограммой рис. 3, б и тщательный анализ большого количества ТЭМ изображений показывает, что второй пик распределения не относится к индивидуальным частицам КЗ. Слабое рассеяние 16-нм частиц на длине волны 633 нм приводит к появлению двухмодовой корреляционной функции также и в случае измерений в малых углах. Вид этой функции (здесь не представлен) аналогичен кривой 1 на рис. 5, а, но с основным вкладом в первой, среднечастотной части и с минорным вкладом во второй низкочастотной области. Подчеркнем, что наличие второго пика в распределении рис. 7, а не связано с особенностями прибора. Наши данные (здесь не представлены) показывают, что примерно такой же результат получается для другого распространенного в России прибора PhotoCor с системами счета фотонов с одним (PhotoCor PC-1, автокорреляционный режим) или двумя ФЭУ (PhotoCor PC-2, кросс-корреляционный режим). То, что вклад во вторую моду обусловлен небольшой долей сильно рассеивающих частиц, показывает сильная зависимость корреляционной функции от условий измерения и пересчет распределения интенсивностей в объемное или числовое (рис. 7, б). Средние по распределениям диаметры и относительные полуширины распределения равны 16.4 нм (33%) и 13.2 нм (23%) соответственно, что довольно близко к ТЭМ среднему 15.8 нм. Таким образом, в данном случае, в отличие от препарата КЗ-60, вклад вращательной диффузии не создает никаких проблем, но

требуется аккуратный анализ данных в отношении возможного присутствия небольшой доли агрегатов. В любом случае, вторую моду в распределении интенсивностей следует рассматривать как полезное указание метода на возможное присутствие примесей, природа которых должна быть выявлена в дополнительных исследованиях. То, что вторая мода имеет только заметный оптический, но не массовый вес, доказывается переходом к объемному и числовому распределениям. В этом случае средние по объему и числу частиц неплохо согласуются со среднечисленным ТЭМ размером с отклонениями порядка 5–15%. Единственная остающаяся серьезная проблема – это сама ширина распределения. Действительно, относительные полуширины всех трех распределений на рис. 7 (51, 33 и 23%) оказываются во много раз больше получаемых по ТЭМ анализу размеров *индивидуальных* частиц (8.9%).

Заключение

Средние ТЭМ и ДРС размеры силикатных частиц, синтезированных по методу Стёбера [29] и по «L-аргининовому» протоколу [30], в пределах статистических погрешностей совпадают с небольшим превышением гидродинамического ДРС диаметра за счет сольватации молекул растворителя. Ширина ДРС распределения стёберовских частиц на уровне половины максимума функции распределения равна $(\Delta d_{\max/2} / d_{av})_{DLS} \approx 0.7$, что примерно в три с половиной раза больше ширины ТЭМ распределе-



ния ($\Delta d_{\max/2}/d_{av})_{TEM} \approx 0.2$. Для «L-аргининовых» наночастиц диоксида кремния ширина распределения обычно менее 3–5%, т.е. в несколько раз меньше, чем для стёберовских частиц. Стоит отметить, что метод динамического рассеяния света не позволяет достоверно судить о степени полидисперсности образца, в особенности для образцов с узким распределением по размерам.

Для ЗНЧ имеются два случая слабого (диаметр ЗНЧ менее 15–20 нм) и сильного (диаметр ЗНЧ более 40 нм) рассеяния, важных для интерпретации данных ДРС. В случае сильно рассеивающих частиц с диаметром более 40 нм влияние вращательной диффузии приводит к появлению ложного пика в области размеров, определяемых соотношением (4). Для таких частиц программный пересчет распределения интенсивностей в распределения по объему или числу частиц дает ложный пик в области малых размеров, обусловленный вращательной диффузией несферических частиц. Решение проблемы заключается в одновременном измерении корреляционной функции при больших и малых углах рассеяния с целью выделения распределения, которое не зависит от угла измерения. Это позволяет также установить границу отсеки малых размеров при обращении данных эксперимента и, что более важно, установить правильную задержку первых каналов коррелятора, чтобы исключить вклад вращательной диффузии при измерении рассеяния назад.

В случае частиц с диаметром менее 20 нм и слабым рассеянием на длине волны гелий-неонового лазера 633 нм испытанные нами приборы (Zetasizer Nano ZS и PhotoCor) дают для обычных цитратных препаратов второй пик в распределении интенсивностей в области больших размеров. Это пик обычно не имеет никакого отношения к основной фракции наночастиц и должен игнорироваться при интерпретации данных измерений. Пересчет распределения по интенсивностям в распределения по объему и числу частиц дает сильные различия в средних значениях. Наиболее близким ДРС средним в среднечисленному ТЭМ размеру является z-средний размер, усредненный по интенсивностям фракций.

Ширина ДРС распределений числа или объемов частиц по размерам в обоих случаях слабого и сильного рассеяния всегда завышена по сравнению с ТЭМ гистограммами. В тех

случаях, когда нужна быстрая качественная оценка среднего размера в диапазоне 15–100 нм, разумные значения дает обычная спектроскопия поглощения.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-02-00054, 16-52-45026, 17-02-00075).

Исследования В. А. Ханадеева поддержаны грантом Президента РФ для поддержки молодых российских ученых-кандидатов наук (проект № МК-2617.2017.2).

Список литературы

1. Cummins H. Z., Pike E. R. Photon Correlation and Light Beating Spectroscopy. NATO Advanced Study Institutes Series. New York : Plenum Press, 1974. 584 p.
2. Pecora R. Dynamic Light Scattering. Applications of Photon Correlation Spectroscopy. N. Y. ; L. : Plenum Press, 1985. 420 p.
3. Meyer W. V., Smart A. E., Wegdam G. H., Brown R. G. W. Photon correlation and scattering : introduction to the feature issue // Appl. Opt. 2006. Vol. 45. P. 2149–2154.
4. Tikhonov A. N., Goncharsky A. V., Stepanov V. V., Yagola A. G. Numerical Methods for the Solution of Ill-Posed Problems. Dordrecht : Kluwer Academic Publ., 1995. 254 p.
5. Khlebtsov N. G. On the dependence of the light scattering intensity on the averaged size of polydisperse particles : comments on the paper by M. S. Dyuzheva *et al.* (Colloid J. 2002. Vol. 64, no. 1, p. 39) // Colloid J. 2003. Vol. 65, № 5. P. 652–655. URL: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1026148512418>.
6. Berne B. J., Pecora R. Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology, and Physics. Mineola. N. Y. : Dover Publ., 2000. 384 p.
7. Roebben G., Ramirez-Garcia S., Hackley V. A., Roesslein M., Klaessig F., Kestens V., Lynch I., Garner C. M., Rawle A., Elder A., Colvin V. L., Kreyling W., Krug H. F., Lewicka, Z. A., McNeil S., Nel A., Patri A., Wick P., Wiesner M., Xia T., Oberdörster G., Dawson K. A. Interlaboratory comparison of size and surface charge measurements on nanoparticles prior to biological impact assessment // J. Nanopart. Res. 2011. Vol. 13. P. 2675–2687.
8. Lamberty A., Franks K., Braun A., Kestens V., Roebben G., Linsinger T. P. J. Interlaboratory comparison for the measurement of particle size and zeta potential of silica nanoparticles in an aqueous suspension // J. Nanopart. Res. 2011. Vol. 13. P. 7317–7329.
9. Pierre-Pierre N., Huo Q. Dynamic light scattering coupled with gold nanoparticle probes as a powerful sensing technique for chemical and biological target detection // ACS Symp. Ser. 2015. Vol. 1215. P. 157–179.
10. Speed D., Westerhoff P., Sierra-Alvarez R., Draper R., Pantano P., Aravamudhan S., Chen K.L., Hristovski K.,



- Herckes P., Bi X., Yang Y., Zeng C., Otero-Gonzalez L., Mikoryak C., Wilson B.A., Kosaraju K., Tarannum M., Crawford S., Yi P., Liu X., Babu S. V., Moinpour M., Ranville J., Montano M., Corredor C., Posner J., Shadman F.* Physical, chemical, and *in vitro* toxicological characterization of nanoparticles in chemical mechanical planarization suspensions used in the semiconductor industry: Towards environmental health and safety assessments // *Environ. Sci. : Nano*. 2015. Vol. 2. P. 227–244.
11. *Gambinossi F., Mylon S. E., Ferri J. K.* Aggregation kinetics and colloidal stability of functionalized nanoparticles // *Adv. Colloid Interfac.* 2015. Vol. 222. P. 332–349.
 12. *Zhu X., Li J., He H., Huang M., Zhang X., Wang S.* Application of nanomaterials in the bioanalytical detection of disease-related genes // *Biosens. Bioelectron.* 2015. Vol. 74. P. 113–133.
 13. *Zheng T., Bott S., Huo Q.* Techniques for accurate sizing of gold nanoparticles using dynamic light scattering with particular application to chemical and biological sensing based on aggregate formation // *ACS Appl. Mater. Inter.* 2016. Vol. 8. P. 21585–21594.
 14. *Siddiqi K. S., Husen A.* Recent advances in plant-mediated engineered gold nanoparticles and their application in biological system // *J. Trace Elem. Med. Bio.* 2017. Vol. 40. P. 10–23.
 15. *Дыкман Л. А., Богатырев В. А., Щеголев С. Ю., Хлебцов Н. Г.* Золотые наночастицы: Синтез, свойства, биомедицинское применение. М.: Наука, 2008. 128 с.
 16. *Khlebtsov N. G., Dykman L. A.* Optical properties and biomedical applications of plasmonic nanoparticles // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2010. Vol. 111. P. 1–35.
 17. *Dykman L., Khlebtsov N.* Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspectives // *Chem. Soc. Rev.* 2012. Vol. 41. P. 2256–2282.
 18. *Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A., Dykman L. A., Khlebtsov B. N., Englebienne P.* A multilayer model for gold nanoparticle bioconjugates: application to study of gelatin and human IgG adsorption using extinction and light scattering spectra and the dynamic light scattering method // *Colloid J.* 2003. Vol. 65. P. 622–635.
 19. *Jans H., Liu X., Austin L., Maes G., Huo Q.* Dynamic light scattering as a powerful tool for gold nanoparticle bioconjugation and biomolecular binding studies // *Anal. Chem.* 2009. Vol. 81. P. 9425–9432.
 20. *Kalluri J. R., Arbneshi T., Khan S. A., Neely A., Candice P., Varisli B.* Use of gold nanoparticles in a simple colorimetric and ultrasensitive dynamic light scattering assay: Selective detection of arsenic in groundwater // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009. Vol. 48. P. 9668–9671.
 21. *Bell N. C., Minelli C., Shard A. G.* Quantitation of IgG protein adsorption to gold nanoparticles using particle size measurement // *Anal. Methods.* 2013. Vol. 5. P. 4591–4601.
 22. *Alex S. A., Chakraborty D., Chandrasekaran N., Mukherjee A.* A comprehensive investigation of the differential interaction of human serum albumin with gold nanoparticles based on the variation in morphology and surface functionalization // *RSC Adv.* 2016. Vol. 6. P. 52683–52694.
 23. *Sutariya P. G., Pandya A., Lodha A., Menon S. K.* A simple and rapid creatinine sensing via DLS selectivity, using calix[4]arene thiol functionalized gold nanoparticles // *Talanta.* 2016. Vol. 147. P. 590–597. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.029>
 24. *Liu X., Huo Q.* A washing-free and amplification-free one-step homogeneous assay for protein detection using gold nanoparticle probes and dynamic light scattering // *J. Immunol. Methods.* 2009. Vol. 349. P. 38–44.
 25. *Miao X., Zou S., Zhang H., Ling L.* Highly sensitive carcinoembryonic antigen detection using Ag@Au core-shell nanoparticles and dynamic light scattering // *Sens. Actuators, B.* 2014. Vol. 191. P. 396–400.
 26. *Witten K. G., Bretschneider J. C., Eckert T., Richtering W., Simon U.* Assembly of DNA-functionalized gold nanoparticles studied by UV/Vis-spectroscopy and dynamic light scattering // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2008. Vol. 10, № 14. P. 1870–1875.
 27. *Dynamic Light Scattering (DLS)*, Malvern, UK. URL: <http://www.malvern.com/en/products/technology/dynamic-light-scattering/default.aspx> (дата обращения: 04.01.2017).
 28. *Khlebtsov B. N., Khlebtsov N. G.* On the measurement of gold nanoparticle sizes by the dynamic light scattering method // *Colloid J.* 2011. Vol. 73. P. 118–127.
 29. *Khlebtsov B. N., Khanadeev V. A., Khlebtsov N. G.* Determination of the size, concentration, and refractive index of silica nanoparticles from turbidity spectra // *Langmuir.* 2008. Vol. 24. P. 8964–8970.
 30. *Khanadeev V. A., Khlebtsov B. N., Khlebtsov N. G.* Optical properties of gold nanoshells on monodisperse silica cores: experiment and simulations // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2017. Vol. 187. P. 1–9.
 31. *Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A., Dykman L. A., Melnikov A. G.* Spectral extinction of colloidal gold and its biospecific conjugates // *J. Colloid Interface Sci.* 1996. Vol. 180. P. 436–445.
 32. *Haiss W., Thanh N. T. K., Aveard J., Fernig D. G.* Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra // *Anal. Chem.* 2007. Vol. 79. P. 4215–4221.
 33. *Njoki P. N., Lim I.-I. S., Mott D., Park H.-Y., Khan B., Mishra S., Sujakumar R., Luo J., Zhong C.-J.* Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles // *J. Phys. Chem. B.* 2007. Vol. 111. P. 14664–14669.
 34. *Khlebtsov N. G.* Determination of size and concentration of gold nanoparticles from extinction spectra // *Anal. Chem.* 2008. Vol. 80, № 17. P. 6620–6625.
 35. *Stöber W., Fink A., Bohn E.* Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range // *J. Colloid Interfac. Sci.* 1968. Vol. 26. P. 62–69.
 36. *Hartlen K. D., Athanasopoulos A. P. T., Kitaev V.* Facile preparation of highly monodisperse small silica spheres (15 to >200 nm) suitable for colloidal templating and formation of ordered arrays // *Langmuir.* 2008. Vol. 24. P. 1714–1720.



37. Khanadeev V. A., Khlebtsov B. N., Klimova S. A., Tsvetkov M. Y., Bagratashvili V. N., Sukhorukov G. B., Khlebtsov N. G. Large-scale high-quality 2D silica crystals : dip-drawing formation and decoration with gold nanorods and nanospheres for SERS analysis // *Nanotechnology*. 2014. Vol. 25. P. 405602 (13 p).
38. Khlebtsov N. G. Optics and biophotonics of nanoparticles // *Quantum Electron*. 2008. Vol. 38. P. 504–529.
39. Brown K. R., Walter D. G., Natan M. Seeding of colloidal Au nanoparticle solutions. 2. Improved control of particle size and shape // *J. Chem. Mater.* 2000. Vol. 12. P. 306–313.
40. Van der Zande B. M. I., Dhont Jan K. G., Bohmer Marcel R., Philipse A. P. Colloidal dispersions of gold rods characterized by dynamic light scattering and electrophoresis // *Langmuir*. 2000. Vol. 16. P. 459–464.
41. Rodríguez-Fernández J., Pérez-Juste J., Liz-Marzán L. M., Lang P. R. Dynamic light scattering of short Au rods with low aspect ratios // *J. Phys. Chem. C*. 2007. Vol. 111. P. 5020–5025.

Образец для цитирования:

Хлебцов Б. Н., Ханадеев В. А., Пылаев Т. Е., Хлебцов Н. Г. Метод динамического рассеяния света в исследованиях силикатных и золотых наночастиц // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика*. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 71–84. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-71-84.

Dynamic Light Scattering Method in Studies of Silica and Gold Nanoparticles

B. N. Khlebtsov, V. A. Khanadeev,
T. E. Pylaev, N. G. Khlebtsov

Boris N. Khlebtsov, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, khlebtsov_b@ibppm.ru

Vitaly A. Khanadeev, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, khanadeev_v@ibppm.ru

Timofey E. Pylaev, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, pylaev_t@ibppm.ru

Nikolai G. Khlebtsov, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, khlebtsov@ibppm.ru

Background and Objectives: It is well known, that uncritical use of the dynamic light scattering (DLS) method may give unacceptable results for the volume or number distributions of particles as compared with transmission electron microscopy (TEM) data. The purpose of this study is to investigate application of the DLS method for determining the size of colloidal silica and gold nanoparticles and to compare results of three methods: DLS, TEM, and absorption spectroscopy (see next paper). **Materials and Methods:** Silica nanoparticles were synthesized by the Stöber method and by the L-arginine method. Gold nanoparticles were synthesized by the Frens method. A Zetasizer Nano ZS instrument (Malvern, UK) and Photocor (Russia) were utilized for DLS measurements. Libra-120 transmission electron microscope (Carl Zeiss, Jena, Germany) at the Simbioz Center for the Collective Use of Research Equipment in the Field of Physical-Chemical Biology and Nanobiotechnology at the IBPPM RAS was utilized for obtaining the TEM images. **Results:** The average DLS diameters of the silica nanospheres (from 50 to 1000 nm) are shown to be in good agreement with TEM data, whereas DLS size distribution is usually broadened in comparison with TEM data. For strongly scattering gold nanoparticles (GNPs) with a diameter higher than 30–40 nm, deviation of their shape from spherical one and the impact of the rotational diffusion lead to false size peak at

about 5–10 nm. For absorbing GNPs with diameters less than 20 nm and weak scattering particles, DLS method often gives a false second peak with larger size in the intensity distribution. The practical methods of solving the problem of false peaks are discussed. For fast estimation of the average size of GNPs in the range of 15–100 nm, the absorption spectroscopy can give reasonable sizes derived from analytical and graphical calibrations (see next paper). For GNPs with a diameter of 3–15 nm, the calibration curve for the size determination is based on the measurement of the ratio between the absorption intensities at the plasmon resonance wavelength and at 450 nm. **Conclusion:** The relative advantages and drawbacks of three methods (TEM, DLS, and absorption spectroscopy) for silica and gold nanoparticle sizing have been discussed. For spherical particles, the average DLS size are in good agreement with TEM data, whereas the DLS size distribution is typically much broader than that derived from TEM histograms. What is more, DLS size distribution can be greatly affected by the rotational diffusion even for slightly nonspherical particles

Key words: silica nanoparticles, gold nanoparticles, particle size distribution, dynamic light scattering, electron microscopy, absorption spectroscopy.

Acknowledgements: *This work was supported by Russian Foundation for Basic Research (projects no. 16-02-00054, 16-52-45026, and 17-02-00075).*

The work by Vitaly A. Khanadeev was also supported by a grant from the President of Russian Federation (project no. MK-2617.2017.2).

References

1. Cummins H. Z., Pike E. R. *Photon Correlation and Light Beating Spectroscopy*. NATO Advanced Study Institutes Series. New York, Plenum Press, 1974. 584 p.
2. Pecora R. *Dynamic light scattering. Applications of photon correlation spectroscopy*. New York, London, Plenum Press, 1985. 420 p.
3. Meyer W. V., Smart A. E., Wegdam G. H., Brown R. G. W. Photon correlation and scattering: introduction to the feature issue. *Appl. Opt.*, 2006, vol. 45, pp. 2149–2154.
4. Tikhonov A. N., Goncharsky A. V., Stepanov V. V., Yagola A. G. *Numerical Methods for the Solution of*



- III-Posed Problems*. Dordrecht, Kluwer Academic Publ., 1995. 254 p.
5. Khlebtsov N. G. On the dependence of the light scattering intensity on the averaged size of polydisperse particles: comments on the paper by M. S. Dyuzheva et al. (*Colloid J.*, 2002, Vol. 64, no. 1, p. 39). *Colloid J.*, 2003, vol. 65, no. 5, pp. 652–655. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1026148512418>.
 6. Berne B. J., Pecora R. *Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. Mineola, New York, Dover Publ., 2000. 384 p.
 7. Roebben G., Ramirez-Garcia S., Hackley V. A., Roesslein M., Klaessig F., Kestens V., Lynch I., Garner C. M., Rawle A., Elder A., Colvin V. L., Kreyling W., Krug H. F., Lewicka, Z. A., McNeil S., Nel A., Patri A., Wick P., Wiesner M., Xia T., Oberdörster G., Dawson K. A. Interlaboratory comparison of size and surface charge measurements on nanoparticles prior to biological impact assessment. *J. Nanopart. Res.*, 2011, vol. 13, pp. 2675–2687.
 8. Lamberty A., Franks K., Braun A., Kestens V., Roebben G., Linsinger T. P. J. Interlaboratory comparison for the measurement of particle size and zeta potential of silica nanoparticles in an aqueous suspension. *J. Nanopart. Res.*, 2011, vol. 13, pp. 7317–7329.
 9. Pierre-Pierre N., Huo Q. Dynamic Light Scattering Coupled with Gold Nanoparticle Probes as a Powerful Sensing Technique for Chemical and Biological Target Detection. *ACS Symposium Series*, 2015, vol. 1215, pp. 157–179.
 10. Speed D., Westerhoff P., Sierra-Alvarez R., Draper R., Pantano P., Aravamudan S., Chen K. L., Hristovski K., Herckes P., Bi X., Yang Y., Zeng C., Otero-Gonzalez L., Mikoryak C., Wilson B.A., Kosaraju K., Tarannum M., Crawford S., Yi P., Liu X., Babu S. V., Moynour M., Ranville J., Montano M., Corredor C., Posner J., Shadman F. Physical, chemical, and *in vitro* toxicological characterization of nanoparticles in chemical mechanical planarization suspensions used in the semiconductor industry: Towards environmental health and safety assessments. *Environ. Sci.:Nano*, 2015, vol. 2, pp. 227–244.
 11. Gambinossi F., Mylon S. E., Ferri J. K. Aggregation kinetics and colloidal stability of functionalized nanoparticles. *Adv. Colloid Interfac.*, 2015, vol. 222, pp. 332–349.
 12. Zhu X., Li J., He H., Huang M., Zhang X., Wang S. Application of nanomaterials in the bioanalytical detection of disease-related genes. *Biosens. Bioelectron.*, 2015, vol. 74, pp. 113–133.
 13. Zheng T., Bott S., Huo Q. Techniques for accurate sizing of gold nanoparticles using dynamic light scattering with particular application to chemical and biological sensing based on aggregate formation. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2016, vol. 8, pp. 21585–21594.
 14. Siddiqi K. S., Husen A. Recent advances in plant-mediated engineered gold nanoparticles and their application in biological system. *J. Trace Elem. Med. Bio.*, 2017, vol. 40, pp. 10–23.
 15. Dykman L. A., Bogatyrev V. A., Shchyogolev S. Yu., Khlebtsov N. G. *Zolotyie nanochastitsy: Sintez, svoystva, biomeditsinskoe primeneniye* [Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Biomedical Applications]. Moscow, Nauka Publ., 2008. 319 p. (in Russian).
 16. Khlebtsov N. G., Dykman L. A. Optical properties and biomedical applications of plasmonic nanoparticles. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*, 2010, vol. 111, pp. 1–35.
 17. Dykman L., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspectives. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, vol. 41, pp. 2256–2282.
 18. Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A., Dykman L. A., Khlebtsov B. N., Englebienne P. A multilayer model for gold nanoparticle bioconjugates: application to study of gelatin and human IgG adsorption using extinction and light scattering spectra and the dynamic light scattering method. *Colloid J.*, 2003, vol. 65, pp. 622–635.
 19. Jans H., Liu X., Austin L., Maes G., Huo Q. Dynamic light scattering as a powerful tool for gold nanoparticle bioconjugation and biomolecular binding studies. *Anal. Chem.*, 2009, vol. 81, pp. 9425–9432.
 20. Kalluri J. R., Arbneshi T., Khan S. A., Neely A., Candice P., Varisli B. Use of gold nanoparticles in a simple colorimetric and ultrasensitive dynamic light scattering assay: Selective detection of arsenic in groundwater. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, vol. 48, pp. 9668–9671.
 21. Bell N. C., Minelli C., Shard A. G. Quantitation of IgG protein adsorption to gold nanoparticles using particle size measurement. *Anal. Methods*, 2013, vol. 5, pp. 4591–4601.
 22. Alex S. A., Chakraborty D., Chandrasekaran N., Mukherjee A. A comprehensive investigation of the differential interaction of human serum albumin with gold nanoparticles based on the variation in morphology and surface functionalization. *RSC Adv.*, 2016, vol. 6, pp. 52683–52694.
 23. Sutariya P. G., Pandya A., Lodha A., Menon S. K. A simple and rapid creatinine sensing via DLS selectivity, using calix[4]arene thiol functionalized gold nanoparticles. *Talanta*, 2016, vol. 147, pp. 590–597.
 24. Liu X., Huo Q. A washing-free and amplification-free one-step homogeneous assay for protein detection using gold nanoparticle probes and dynamic light scattering. *J. Immunol. Methods*, 2009, vol. 349, pp. 38–44.
 25. Miao X., Zou S., Zhang H., Ling L. Highly sensitive carcinoembryonic antigen detection using Ag@Au core-shell nanoparticles and dynamic light scattering. *Sens. Actuat. B*, 2014, vol. 191, pp. 396–400.
 26. Witten K. G., Bretschneider J. C., Eckert T., Richtering W., Simon U. Assembly of DNA-functionalized gold nanoparticles studied by UV/Vis-spectroscopy and dynamic light scattering. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2008, vol. 10, pp. 1870–1875.
 27. *Dynamic Light Scattering (DLS)*, Malvern, UK. Available at: <http://www.malvern.com/en/products/technology/dynamic-light-scattering/default.aspx> (accessed 04 January 2017).



28. Khlebtsov B. N., Khlebtsov N. G. On the Measurement of Gold Nanoparticle Sizes by the Dynamic Light Scattering Method. *Colloid J.*, 2011, vol. 73, pp. 118–127.
29. Khlebtsov B. N., Khanadeev V. A., Khlebtsov N. G. Determination of the size, concentration, and refractive index of silica nanoparticles from turbidity spectra. *Langmuir*, 2008, vol. 24, pp. 8964–8970.
30. Khanadeev V. A., Khlebtsov B. N., Khlebtsov N. G. Optical properties of gold nanoshells on monodisperse silica cores: experiment and simulations. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*, 2017, vol. 187, pp. 1–9.
31. Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A., Dykman L. A., Melnikov A. G. Spectral extinction of colloidal gold and its biospecific conjugates. *J. Colloid Interface Sci.*, 1996, vol. 180, pp. 436–445.
32. Haiss W., Thanh N. T. K., Aveyard J., Fernig D. G. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra. *Anal. Chem.*, 2007, vol. 79, pp. 4215–4221.
33. Njoki P. N., Lim I.-I. S., Mott D., Park H.-Y., Khan B., Mishra S., Sujakumar R., Luo J., Zhong C.-J. Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles. *J. Phys. Chem. B*, 2007, vol. 111, pp. 14664–14669.
34. Khlebtsov N. G. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from extinction spectra. *Anal. Chem.*, 2008, vol. 80, no. 17, pp. 6620–6625.
35. Stöber W., Fink A., Bohn E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J. Colloid Interface Sci.*, 1968, vol. 26, pp. 62–69.
36. Hartlen K. D., Athanasopoulos A. P. T., Kitaev V. Facile preparation of highly monodisperse small silica spheres (15 to >200 nm) suitable for colloidal templating and formation of ordered arrays. *Langmuir*, 2008, vol. 24, pp. 1714–1720.
37. Khanadeev V. A., Khlebtsov B. N., Klimova S. A., Tsvetkov M. Y., Bagratashvili V. N., Sukhorukov G. B., Khlebtsov N. G. Large-scale high-quality 2D silica crystals: dip-drawing formation and decoration with gold nanorods and nanospheres for SERS analysis. *Nanotechnology*, 2014, vol. 25, 405602 (13 pp.).
38. Khlebtsov N. G. Optics and biophotonics of nanoparticles. *Quantum Electron.*, 2008, vol. 38, pp. 504–529.
39. Brown K. R., Walter D. G., Natan M. Seeding of colloidal Au nanoparticle solutions. 2. Improved control of particle size and shape. *J. Chem. Mater.*, 2000, vol. 12, pp. 306–313.
40. Van der Zande B. M. I., Dhont Jan K. G., Bohmer Marcel R., Philipse A. P. Colloidal dispersions of gold rods characterized by dynamic light scattering and electrophoresis. *Langmuir*, 2000, vol. 16, pp. 459–464.
41. Rodríguez-Fernández J., Pérez-Juste J., Liz-Marzán L. M., Lang P. R. dynamic light scattering of short Au rods with low aspect ratios. *J. Phys. Chem. C*, 2007, vol. 111, pp. 5020–5025.

Cite this article as:

Khlebtsov B. N., Khanadeev V. A., Pylaev T. E., N. G. Khlebtsov N. G. Dynamic Light Scattering Method in Studies of Silica and Gold Nanoparticles. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 71–84 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-71-84.



БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

УДК 53.06; 612.117; 76.03.29

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИФФУЗНОГО РАСSEЯНИЯ СВЕТА И ОПТИЧЕСКОГО ЗАХВАТА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ: АГРЕГАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

А. Н. Семенов, А. Е. Луговцов, К. Ли, А. А. Фабричнова,
Ю. А. Ковалева, А. В. Приезжев

Семенов Алексей Николаевич, аспирант кафедры общей физики и волновых процессов; младший научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, semenov@physics.msu.ru

Луговцов Андрей Егорович, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, anlug1@gmail.com

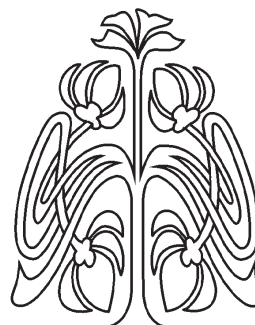
Ли Кисун, кандидат физико-математических наук, стажер-исследователь, физический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова; научно-технологический факультет, Саарский университет, Саарбрюкен, Германия, leekisung1991@gmail.com

Фабричнова Анастасия Анатольевна, аспирант кафедры физиологии и общей патологии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, anastasia.fabrichnova@mail.ru

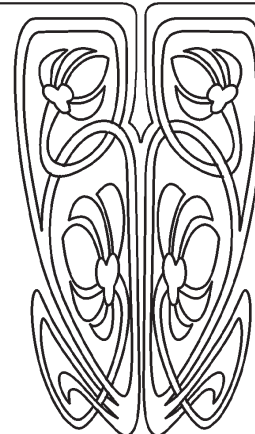
Ковалева Юлия Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения терапевтической эндокринологии, Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского, yulia.kovaleva@mail.ru

Приезжев Александр Васильевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры общей физики и волновых процессов; старший научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, avr2@mail.ru

Параметры, характеризующие взаимодействие эритроцитов при их агрегации и дезагрегации, называемые агрегационными параметрами (АП), несут информацию о реологическом состоянии крови и могут служить диагностическими индикаторами различных патологических процессов в организме. Данные параметры могут использоваться для мониторинга общего состояния организма и эффективности лекарственной терапии сосудистых заболеваний. Использование оптических методов для исследования реологических свойств крови, в частности, для оценки способности эритроцитов агрегировать в покое и в потоке, позволяет проводить быстрые и точные измерения *in vitro* как на уровне большого числа клеток, так и на клеточном уровне. На макроуровне для измерения АП на ансамбле большого числа эритроцитов использовались диффузные методы светорассеяния, при которых анализировалась временная зависимость интенсивности лазерного излучения, рассеянного от образца цельной крови. На микроуровне исследования АП при взаимодействии отдельных клеток заключались в измерении сил агрегации и дезагрегации с помощью двухканальной системы оптического захвата. Были исследованы АП крови здоровых доноров и больных сахарным диабетом (СД). Показано, что характерное время образования агрегатов эритроцитов в случае СД достоверно уменьшается, количество проагрегировавших клеток и гидродинамическая прочность агрегатов увеличиваются по сравнению с нормой. Достоверных отличий в способности эритроцитов деформироваться обнаружено не было.



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Сила агрегации, возникающая при взаимодействии пары эритроцитов при их агрегации, в случае СД в 1.5 раза больше, чем у здоровых людей, при этом силы дезагрегации, которые необходимо приложить к агрегированному дублету клеток для их разделения, достоверно не отличаются. На основе результатов, полученных на макро- и микроуровне, сделан однозначный вывод о повышенной агрегации эритроцитов при сахарном диабете.

Ключевые слова: диффузионное светорассеяние, лазерный захват, агрегометрия эритроцитов при диабете, силы агрегации и дезагрегации, микрореологический статус при патологии.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-85-97

Введение

Изменения реологии крови на микро- и макроуровнях часто являются причиной и следствием многочисленных сосудистых заболеваний и в отдельных случаях могут привести к летальному исходу [1]. Наличие быстрого и простого метода измерения реологических свойств крови крайне важно для клинического использования, поскольку эти свойства в основном определяют течение крови в микрососудах (микроциркуляцию), а также могут служить количественными индикаторами общего состояния организма и использоваться для контроля эффективности терапии. Их изменения могут привести к нарушениям транспортных функций крови, что отрицательно отразится на снабжении органов и тканей кислородом и другими питательными веществами. Одним из важнейших свойств эритроцитов является их способность агрегировать [2].

Агрегационные параметры (АП) крови, характеризующие взаимодействие эритроцитов между собой, с другими клетками, а также со стенками кровеносных сосудов, могут существенно изменяться при возникновении различных социально значимых заболеваний, в частности сахарного диабета (СД) [3–6]. В качестве АП рассматривались характерное время образования агрегатов, индекс агрегации (доля эритроцитов, участвовавших в агрегационном взаимодействии), гидродинамическая прочность агрегатов, силы взаимодействия эритроцитов при их спонтанной агрегации и дезагрегации. Попытка классификации гемореологических нарушений по проценту неагрегированных эритроцитов приведена в работе [7]. Взаимодействие эритроцитов между собой заключается в двух обратимых процессах [8, 9]. При возникновении контакта между клетками происходит спонтанная агрегация эритроцитов, приводящая к образованию особых структур – так называемых «монетных столбиков». Под действием сдвигового напряжения в потоке крови образовавшиеся агрегаты

распадаются, происходит процесс дезагрегации. Динамика процессов агрегации и дезагрегации играет ключевую роль в микроциркуляции крови [10–12], в результате которой обеспечивается эффективный транспорт кислорода в клетки тканей и органов.

Оптические методы позволяют оперативно и эффективно исследовать АП на основе закономерности диффузного рассеяния лазерного излучения плотной суспензией эритроцитов [13, 14]. Для исследования АП на большом ансамбле клеток используются методы, основанные на измерении и последующем анализе интенсивности лазерного излучения, рассеянного от слоя цельной крови. Данный метод диффузного светорассеяния используется в ряде коммерчески доступных систем: лазерный оптический ротационный анализатор клеток LORCA («Mechatronics», Нидерланды) [15], лазерный агрегометр и деформометр эритроцитов LADE («Реомедлаб», Россия) [16], анализатор агрегации эритроцитов RheoScan («RheoScan-AnD300», «RheoMeditech», Республика Корея) [17], автоматический агрегометр эритроцитов FAEA (Mugenne, Германия) [18]. Для исследования АП на уровне отдельных клеток также разработан ряд методик, среди которых наиболее распространенными являются захват и удержание клеток с помощью микропипеток и атомно-силовая микроскопия [19, 20]. Следует отметить, что в этих методиках объекты для исследования подвергаются непосредственному механическому воздействию со стороны измерительного прибора.

Системы оптического захвата – так называемые лазерные пинцеты (ЛПП) – представляют собой альтернативный подход для выявления характеристик эритроцитов и их взаимодействия между собой [21–23]. Отличительной особенностью ЛПП является возможность измерения сил взаимодействия отдельных клеток без непосредственного механического контакта со стороны измерительной техники [21]. Возможность манипулирования клетками с помощью оптической ловушки позволяет измерять силы межклеточного взаимодействия в диапазоне значений 0,1–100 пН, в котором, в частности, представлены силы взаимодействия эритроцитов. Взаимодействие двух эритроцитов между собой с точки зрения возникающих между ними сил можно охарактеризовать с помощью двух сил: силы спонтанной агрегации, действующей на один эритроцит со стороны другого и приводящей к образованию агрегата (сила агрегации F_A); силы,



возникающей при разделении клеточного агрегата (сила дезагрегации F_D). Значения этих сил, которые могут служить важными диагностическими параметрами процессов агрегации эритроцитов при диагностике и мониторинге различных заболеваний, находятся в диапазоне 1–10 пН, что дает возможность их измерения с помощью ЛП.

На сегодняшний день задача измерения АП с целью уточнения реологического состояния крови в норме и при СД является крайне актуальной. Измерения, проведенные на больших группах здоровых людей и больных СД, позволят выявить новые биофизические индикаторы состояния болезни и эффективности лечения, которые прежде не были задействованы в медицинской практике.

Целью данной работы является оценка изменений АП крови больных СД в сравнении с нормой методами диффузного светорассеяния на ансамбле клеток и с помощью системы оптического захвата на клеточном уровне.

1. Материалы и методы

Измерения реологических свойств крови, которые характеризуют агрегацию эритроцитов, проводились на уровне ансамбля эритроцитов, где измерения выполнялись на цельной крови (макроуровень), а также на уровне взаимодействия двух клеток (клеточный микроуровень) в сильноразбавленной суспензии эритроцитов в плазме крови. Преимущества такого подхода заключаются в том, что, с одной стороны, макроуровневые измерения дают усредненные по большому числу клеток величины параметров агрегации крови без учета индивидуальных особенностей эритроцитов по форме и возрасту. С другой стороны, измерения на клеточном уровне позволяют учесть различия в форме клеток, их возрасте, проследить в режиме реального времени образование дублета клеток, выявить механизмы и факторы изменения агрегации.

Измерение диффузного рассеяния света на цельной крови позволяет получать усредненные параметры агрегации эритроцитов, характеризующие среднее время образования агрегатов, их гидродинамическую прочность, способность клеток деформироваться в сдвиговом потоке, а также определять процентное соотношение клеток, участвующих в агрегации. Метод оптического захвата позволяет манипулировать отдельными клетками, измеряя силы взаимодействия эритроцитов, возникающих при их агрегации и дезагрегации. Совокупность полученных параметров агрегации и дезагрегации эритроцитов на обоих уровнях позволяет оценить полную

картину протекающих при агрегации и дезагрегации клеток процессов, выявить факторы, способствующие усилению или ослаблению межклеточного взаимодействия.

1.1. Измерения реологических параметров крови человека в норме и при сахарном диабете

Все измерения на образцах цельной человеческой крови и суспензии эритроцитов были выполнены *in vitro*. При проведении исследований учитывались последние рекомендации для гемореологических лабораторий, разработанные международной экспертной группой, созданной для стандартизации гемореологических методов [24]. Измерения агрегационных параметров эритроцитов проводились в течение первых трех часов после забора крови из локтевой вены добровольцев натощак. Во всех пробах крови в качестве антикоагулянта применялся ЭДТА (EDTA) для предотвращения свертываемости крови и образования тромбов. Измерения проводились при температуре 37°C, что соответствует физиологическим условиям в организме человека.

Всего было выделено 2 группы: добровольцы в возрасте 20–35 лет без хронических заболеваний и СД (контрольная группа, 10 человек) и пациенты с СД в возрасте 50–70 лет (экспериментальная группа, 10 человек).

Доноры крови были в полной мере проинформированы о целях исследования, им были разъяснены ожидаемые результаты, они подписали добровольное согласие на взятие у них крови и проведение испытаний.

Статистическая обработка полученных результатов испытаний была проведена с использованием программного обеспечения Statistica. Для анализа использовался непараметрический статистический U-критерий Манна–Уитни, который пригоден для оценки достоверности различий между двумя независимыми выборками – между контрольной группой здоровых доноров и группой больных СД [25, 26]. Различия между измеренными значениями параметров агрегации считались статистически достоверными при уровне статистической значимости $p < 0.05$.

1.2. Измерение сил взаимодействия эритроцитов в норме и при сахарном диабете с помощью системы оптического захвата

Для проведения измерений сил взаимодействия эритроцитов была собрана двухканальная система оптического захвата. Схема экспериментальной установки приведена на рис. 1.

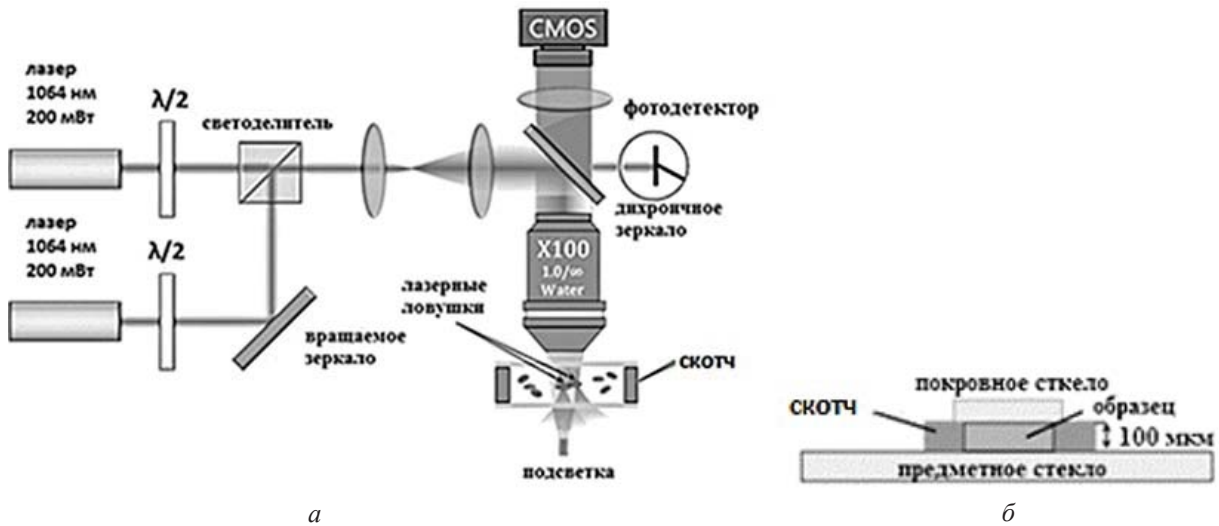


Рис. 1. Схема экспериментальной установки: *а* – двухканальная система оптического захвата, *б* – кювета с образцом

В качестве источников излучения использовались два Nd:YAG лазера с длиной волны 1064 нм и мощностью 200 мВт каждый. Положение лазеров, светоделительный куб и система линз на пути распространения пучков были отъюстированы с высокой точностью для достижения высокого градиента интенсивности в области фокусировки пучка (расположение лазерных ловушек на рис. 1, *а* указано стрелками). На выходе пучка из системы линз установлено дихроичное зеркало, с помощью которого пучок подается на заднюю входную апертуру объектива Olympus ($\times 100$, N.A. = 1, водная иммерсия), а также частично пропускается на фотодетектор для измерения мощности. Регулировка мощности пучков происходит с помощью полуволновых пластинок, установленных непосредственно после лазеров. К пластинкам подключены электрические моторы, способные прецизионно вращать их с малым шагом вращения. Один пучок всегда неподвижен, на пути второго пучка установлено зеркало, вращение которого позволяет перемещать область фокусировки пучка, меняя тем самым положение точки захвата. Таким образом используются 2 области захвата (2 ловушки): одна неподвижная, другая может перемещаться в кювете с образцом. В вертикальной части системы установлены линза и CMOS-камера, освещаемые белым светом лампы, установленной за объективом и кюветой с образцом.

Кювета, схема которой изображена на рис. 1, *б*, размещается на моторизированной платформе. Кювета состоит из предметного и покровного стекол, помещенных одно над другим, расстояние между которыми равно 100 мкм за счет двух-

сторонней клейкой лентой Scotch между стеклами по двум краям. Образец помещается в полость кюветы между стеклами с помощью микродозатора. После этого полость герметизируется с помощью вазелина с двух незакрытых скотчем краев для предотвращения возникновения нежелательных потоков и испарения образца.

Перед проведением измерений сил взаимодействия была выполнена процедура калибровки установки, необходимая для определения однозначной взаимосвязи значений силы оптического захвата $F_{\text{ОПТ}}$ с мощностью лазерного пучка. Калибровка проводилась путем сопоставления $F_{\text{ОПТ}}$ с силой вязкого трения, действующей на захваченную ловушкой клетку со стороны жидкости при перемещении платформы с кюветой с заданной скоростью относительно неподвижной ловушки, для различных значений мощности лазерного пучка. Более подробно эта процедура описана в работе [27]. Максимальная сила захвата составляла 12 пН при мощности лазерного пучка в области фокуса 25 мВт. В этих условиях нагреванием клетки от лазерного захватывающего пучка можно пренебречь ввиду очень низкого поглощения эритроцита на длине волны лазера, используемого для захвата (коэффициент поглощения гемоглобина $\mu_a = 10 \text{ см}^{-1}$), и наличия большого объема теплоотводящей жидкости (плазмы) вокруг клетки. Теоретические оценки показывают, что нагрев захваченных клеток не превышает 1°C на каждые 10 мВт мощности лазерного пучка [28].

Для проведения измерений сил взаимодействия с помощью ЛП требуется сильноразбавленная суспензия эритроцитов с малым содержанием клеток. Разбавление осуществлялось в



аутологичной плазме с концентрацией клеток в объеме конечной пробы около 0.05%. Плазма была получена при помощи центрифугирования по следующей схеме: 1 – центрифугирование в

течение 5 мин при 600 g; 2 – двукратное центрифугирование по 5 мин при 11 000 g.

Процедура измерения силы F_A состояла из трех последовательных операций (рис. 2).

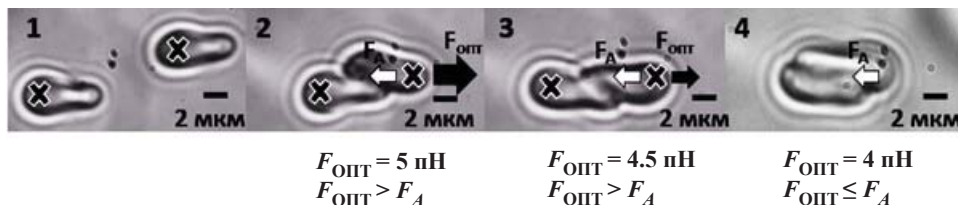


Рис. 2. Набор микрофотографий, иллюстрирующих пошаговую методику измерения силы агрегации эритроцитов. Крестовыми метками указаны положения оптических ловушек, стрелки указывают направления приложенных сил (F_A – белая стрелка, $F_{\text{ОПТ}}$ – черная стрелка)

В ходе первой операции два эритроцита захватывались с помощью ЛП и ориентировались параллельно путем передвижения платформы, на которой расположена кювета с суспензией эритроцитов. Один из эритроцитов захватывался неподвижной ловушкой (пучком), а второй – подвижной ловушкой. Силы взаимодействия при агрегации и дезагрегации зависят от площади изначального соприкосновения [29], поэтому для достижения адекватной повторяемости результатов выполнялся визуальный контроль неизменности площади перекрытия при первичном контакте клеток в процессе всех измерений. На 2-м шаге клетки с помощью подвижной ловушки приводятся в контакт таким образом, чтобы площадь взаимодействия составила порядка 40% от площади поверхности каждой клетки. Далее, на 3-м шаге, мощность подвижного лазерного пучка уменьшается, тем самым уменьшается сила оптического захвата $F_{\text{ОПТ}}$, удерживающая эритроцит в ловушке. Мощность пучка уменьшается до тех пор, пока удерживающей силы со стороны ловушки (черная стрелка на рис. 2) становится недостаточно для препятствия спонтанной агрегации эритроцитов (сила обозначена белой стрелкой на рис. 2), клетка вырывается из ловушки, и начинается процесс агрегации – наплзание одной клетки на другую (выполнение неравенства $F_{\text{ОПТ}} \leq F_A$). В этот момент фиксируется значение мощности пучка, вычисляется значение силы оптического захвата, которое приравнивается к силе агрегации F_A .

Процедура измерения силы дезагрегации F_D также состояла из трех последовательных операций, при этом 1-й и 2-й шаги были идентичны процессу измерения F_A . На 3-м шаге положение подвижного лазерного пучка (ловушки)

изменялось в попытке разделить образовавшийся на предыдущем шаге агрегат. Силу оптического захвата подвижного пучка при этом постепенно уменьшали с небольшим шагом для нахождения минимальной силы, необходимой для разделения агрегата. Это значение оптической силы фиксировалось и считалось равным силе дезагрегации F_D .

Для каждого образца измерения сил F_A и F_D проводились на не менее чем 15 парах различных эритроцитов. Итоговые результаты были получены после усреднения измеренных значений для исключения субъективных погрешностей при проведении эксперимента.

В работе [30] было показано, что свойства агрегации эритроцитов не изменяются при температурах 20 и 37°C. Поэтому измерения с помощью лазерных пинцетов проводились при комнатной температуре.

1.3. Измерение реологических параметров агрегации эритроцитов методом диффузного рассеяния света

Измерения АП крови на большом ансамбле клеток проводились методом диффузного рассеяния лазерного излучения (лазерная агрегометрия). Для этих целей использовался лазерный агрегометр эритроцитов RheoScan [16, 17] (рис. 3).



Рис. 3. Лазерный агрегометр RheoScan



При измерениях на RheoScan использовались одноразовые кюветы двух типов, изготовленные из прозрачного пластика.

Для измерения таких АП, как характерное время агрегации клеток, амплитуда и индекс агрегации, использовались кюветы первого типа (рис. 4). Кювета представляет собой небольшой плоский тонкий резервуар для цельной крови диаметром 0.5 см, в котором находится тонкий металлический перемешивающий стержень, способный вращаться под действием внешнего магнитного поля, создаваемого внутри кюветы, и перемешивать ее содержимое. В кювету с помощью микродозатора помещается цельная кровь в объеме 8 мкл.

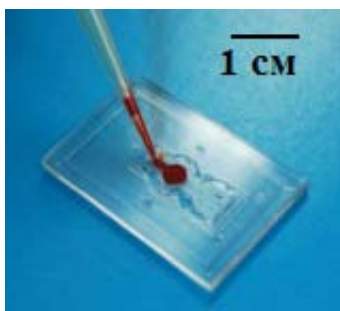


Рис. 4. Одноразовая микрокювета с магнитным перемешивающим стержнем для измерения параметров агрегации эритроцитов на приборе RheoScan

После помещения микрокюветы с кровью в прибор начинается процесс измерения. Прибор регистрирует зависимость интенсивности рассеянного вперед образцом крови лазерного излучения (длина волны 633 нм) от времени – агрегационную кинетику (рис. 5). В самом начале измерения стержень начинает вращаться с большой скоростью и тем самым разрушает все образовавшиеся в образце крови агрегаты. В этих условиях полностью дезагрегированные эритроциты испытывают деформацию, а интенсивность света, рассеянного кровью вперед, близка к минимальной (на агрегационной кинетике область времени $t < 0$, значение сигнала близко к нулю). Затем вращение стержня резко останавливается ($t = 0$). В момент остановки вращения наблюдается мгновенный скачок сигнала вниз, что связано со снижением интенсивности рассеянного вперед излучения, соответствующий восстановлению формы деформированных эритроцитов (изменяется средняя площадь рассеивающих частиц). Величина скачка интенсивности – параметр

АМР (измеряется в относительных единицах) – характеризует вытянутость эритроцитов при вращающемся стержне, их способность деформироваться (менять свою форму при действии на них сдвигового напряжения). Затем в образце крови начинается процесс спонтанной агрегации эритроцитов в покое (без внешнего напряжения сдвига). Лазерный пучок, падающий на резервуар с кровью, рассеивается на эритроцитах и вновь образующихся во времени агрегатах (идет процесс агрегации). Со временем интенсивность прошедшего вперед света увеличивается, так как за счет образования агрегатов увеличивается средний размер рассеивающих излучение центров. Процесс спонтанной агрегации занимает примерно 2 минуты, после чего интенсивность достигает максимального значения, указывающего на то, что в образце практически все эритроциты проагрегировали (см. рис. 5).

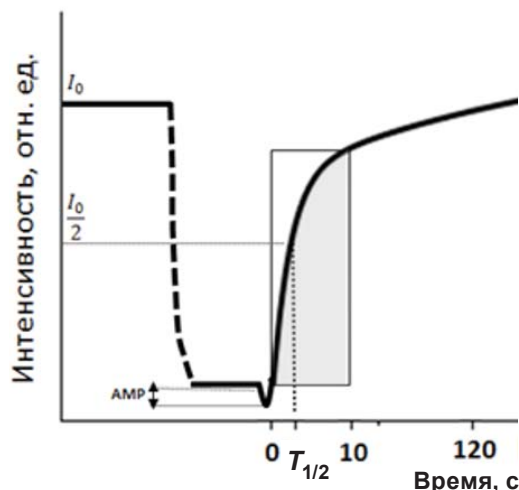


Рис. 5. Кинетика спонтанной агрегации эритроцитов, регистрируемая RheoScan: I_0 – интенсивность света, рассеянного вперед от слоя цельной крови, при максимальной агрегации эритроцитов; АМР – параметр, характеризующий деформируемость эритроцитов; $T_{1/2}$ – характерное время образования агрегатов

По агрегационной кинетике определяется характерное время образования агрегатов $T_{1/2}$ в секундах (время, за которое интенсивность света, рассеянного вперед, достигает половинного значения интенсивности при максимальной агрегации спустя 120 с), характеризующее скорость образования агрегатов, и индекс агрегации AI . AI характеризует количество агрегированных за 10 с эритроцитов в процентах. Данная величина вычисляется как отношение площади под кривой, описывающей агрегационную кинетику, к



суммарной площади над и под кривой за первые 10 с процесса спонтанной агрегации.

Кюветы второго типа (рис. 6), которые были использованы для оценки гидродинамической прочности агрегатов, содержат в себе микроканал (0.2 мм высота × 4,0 мм ширина × 40 мм длина) и резервуары для цельной крови на обоих его концах (0.5 мл). Данный тип кювет используется для измерения критического сдвигового напряжения (critical shear stress, CSS).



Рис. 6. Одноразовая кювета с двумя резервуарами и микроканалом для измерения деформируемости эритроцитов на приборе RheoScan

Цельная кровь в микроканале подвергается изменяющемуся сдвиговому напряжению под действием градиента давления. Для измерения CSS, которое характеризует гидродинамическую прочность образованных в крови агрегатов, в кювету помещали цельную кровь в объеме 0.5 мл. Силы вязкого трения, возникающие в микроканале, приводят к разрушению агрегатов эритроцитов под действием сдвиговых напряжений от 0 до 20 Па. Параметр CSS измеряется в единицах сдвигового напряжения – Паскалях (Па). Схематическое изображение процесса измерения приведено на рис 7. Измерения CSS проводятся следующим образом. В процессе измерений кровь пропускается через микроканал с напряжением сдвига, которое монотонно уменьшается со временем (первоначальное напряжение сдвига равно 20 Па). Поскольку сдвиговое напряжение в начале измерений (в первые 10 с) велико, интенсивность света, рассеянного в обратном направлении, увеличивается (образовавшиеся ранее и в текущий момент времени агрегаты разрушаются). Однако при достижении некоторого напряжения сдвига, равного CSS, возникающего в микроканале напряжения, будет уже недостаточно для разрушения образующихся агрегатов. Интенсивность рассеянного назад света при этом начинает уменьшаться. Таким образом, значение напряжения CSS может использоваться для характеристики гидродинамической прочности агрегатов эритроцитов в потоке. Другими словами, CSS – это минимальное напряжение сдвига, которое нужно приложить к потоку агрегатов для того, чтобы они начали разрушаться (инициировать процесс вынужденной дезагрегации).

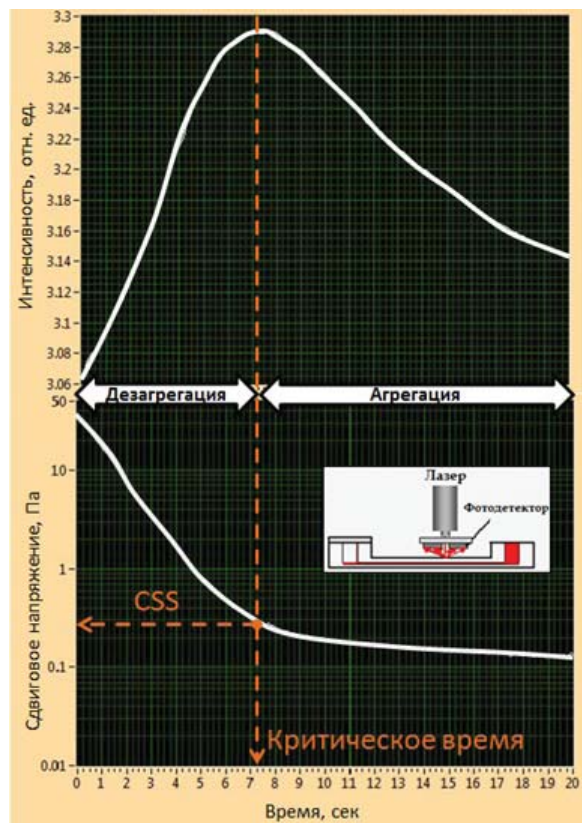


Рис. 7. Схематическое изображение процесса измерения критического сдвигового напряжения (critical shear stress, CSS)

2. Результаты и их обсуждение

Результаты измерений на ансамбле клеток методами диффузного светорассеяния представлены на рис. 8. Характерное время образования агрегатов эритроцитов достоверно уменьшается от значения 8.8 ± 2.1 с в случае контрольной группы до значения 5.3 ± 1.2 с при СД (рис. 8, а). Это свидетельствует об ускоренной агрегации эритроцитов в крови пациентов с СД. Количество красных клеток крови, которые участвуют в процессе агрегации, при СД растет по сравнению с нормой. Об этом можно судить



по достоверному увеличению значения индекса агрегации AI от $33.8 \pm 6.2\%$ в норме до $44.3 \pm 5.4\%$ при СД (рис. 8, б). Показано, что CSS эритроцитов больше в случае СД (270.7 ± 78.5 мПа) по сравнению с нормой (211.9 ± 48.6 мПа) (рис. 8, г). Таким образом, можно заключить, что при сахарном диабете скорость образования агрегатов, их количество и прочность увеличи-

ваются. Это говорит о повышенной способности эритроцитов к агрегации у таких пациентов. Поскольку данные свойства агрегации напрямую определяют течение крови в организме, то это может привести к нарушению циркуляции крови и, как следствие, к ухудшению снабжения органов и тканей кислородом и питательными веществами.

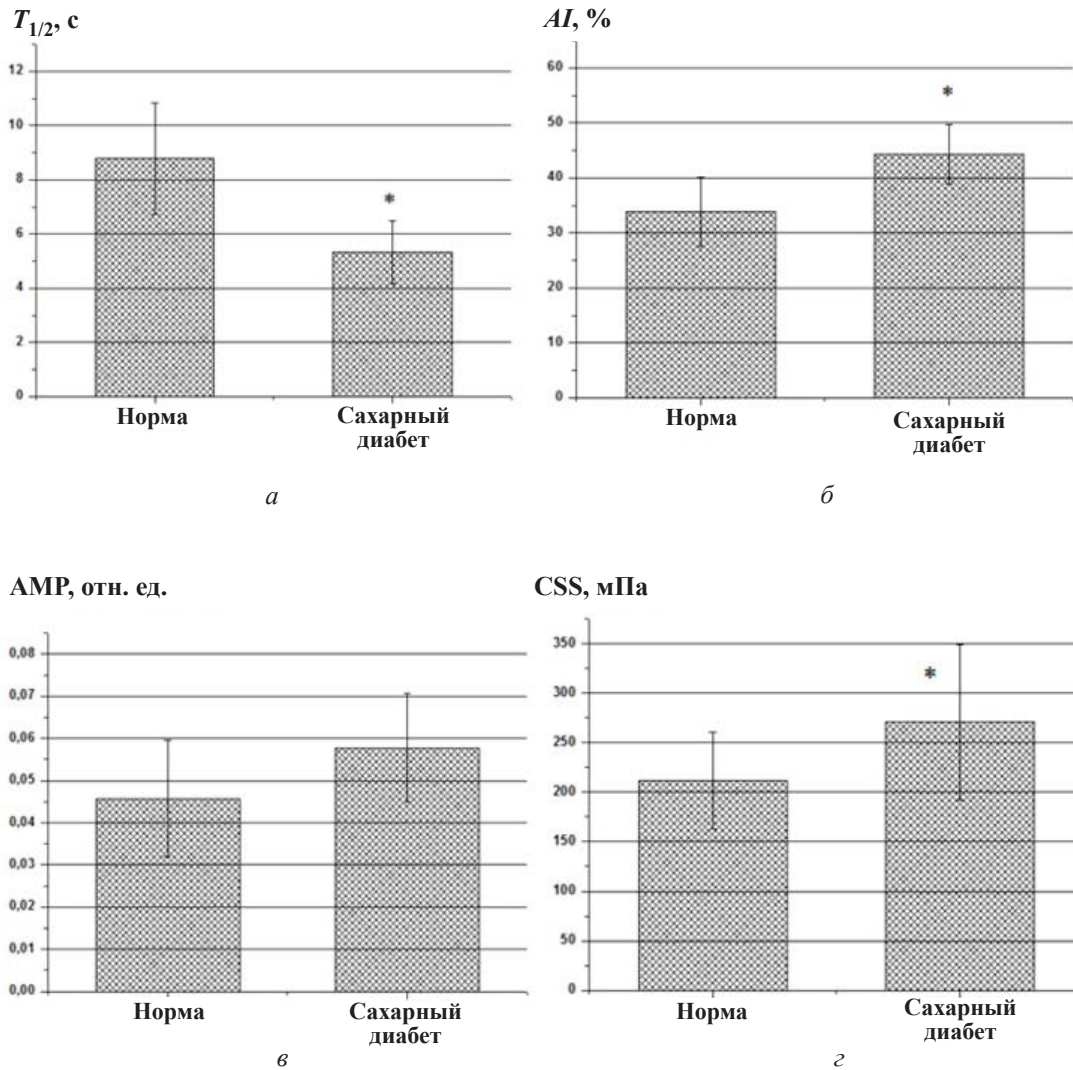


Рис. 8. Параметры агрегации крови, измеренные методом диффузного рассеяния света с помощью прибора RheoScan в норме ($n = 10$) и при СД ($n = 10$): а – характерное время образование агрегатов $T_{1/2}$, б – индекс агрегации эритроцитов AI , в – амплитуда агрегации AMP, г – критическое сдвиговое напряжение CSS; * $p < 0.05$ (непараметрический критерий Манна–Уитни)

В свою очередь, мы не обнаружили достоверных отличий в параметре AMP, который характеризует способность эритроцитов менять свою форму (деформироваться) в сдвиговом потоке (рис. 8, в).

Таким образом, измерения АП на макроуровне на большом ансамбле клеток показали

увеличение агрегации эритроцитов при СД. Показано, что метод диффузного светорассеяния и функционирующий на его основе прибор RheoScan позволяют проводить мониторинг агрегационных параметров при СД.

Результаты измерений методом оптического захвата показали (рис. 9), что величина силы



агрегации эритроцитов F_A у больных СД составляет 4.2 ± 1.2 пН ($n = 10$), что статистически достоверно ($p < 0.05$) превышает величину F_A в контрольной группе 2.7 ± 1.5 пН ($n = 10$). Дан-

ные результаты, полученные на дублетах клеток, коррелируют с результатами гидродинамической прочности агрегатов, полученными на цельной крови (см. рис. 8, з).

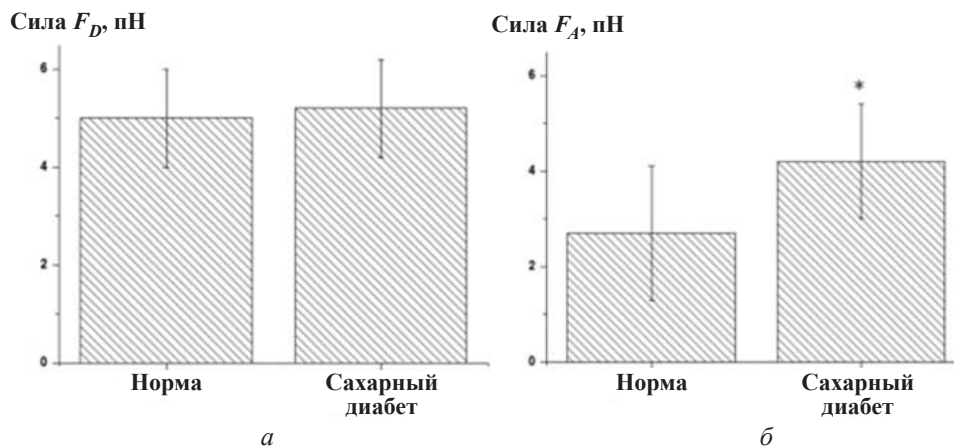


Рис. 9. Результаты измерений сил взаимодействия эритроцитов при их disaggregation (а) и агрегации (б) в норме ($n=10$) и при СД ($n=10$). Для каждой величины на диаграмме указано среднее квадратичное отклонение; * $p < 0.05$ (непараметрический критерий Манна–Уитни)

Достоверных отличий между группами при измерении силы disaggregation обнаружить не удалось ($p > 0.05$): $F_D = 5.2 \pm 1.0$ пН в группе СД и $F_D = 5.0 \pm 1.0$ пН в контрольной группе. При этом было показано, что для каждой из групп сила disaggregation статистически достоверно ($p < 0.05$) превышает силу агрегации.

Можно ввести параметр взаимодействия двух эритроцитов, задаваемый отношением средних величин сил при их disaggregation и агрегации:

$$R = \frac{\langle F_D \rangle}{\langle F_A \rangle}. \quad (1)$$

Этот параметр рассчитывается для каждого образца крови и далее усредняется по всей группе. Полученные средние значения R сравнивались между контрольной группой и группой с СД (рис. 10). Показано, что значение параметра R в норме статистически достоверно ($p \ll 0.05$) почти в 2 раза превышает величину, измеренную в группе с СД: норма – $R = 2.1 \pm 0.7$, СД – $R = 1.3 \pm 0.1$.

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что параметр взаимодействия клеток крови при их агрегации и disaggregation перспективен для использования в качестве индикатора наличия в организме патологического процесса, связанного с СД, или предрасположенности к нему. Использование данного параметра для

R , отн. ед

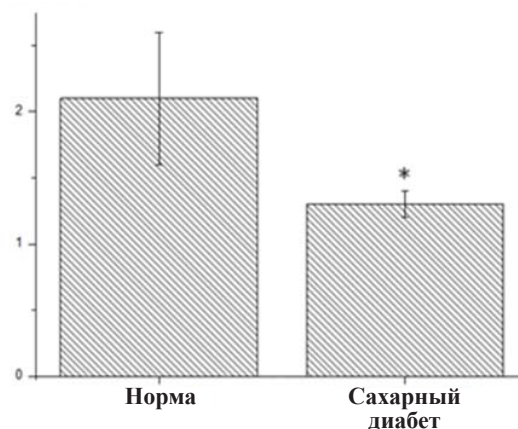


Рис. 10. Значения параметра взаимодействия $R = \langle F_D \rangle / \langle F_A \rangle$ в норме ($n=10$) и при СД ($n=10$). Для каждой величины указано среднее квадратичное отклонение; * $p < 0.05$ (непараметрический критерий Манна–Уитни)

диагностики и мониторинга эффективности терапии СД и возможных прочих патологий, в частности, сердечно-сосудистых заболеваний, требует дополнительных исследований и тщательной верификации.

Заключение

Метод диффузного рассеяния света позволяет проводить измерения агрегационных параметров на большом ансамбле клеток, а также



чувствителен к изменениям этих параметров в случае СД. В работе показано, что в случае СД эритроциты обладают повышенной способностью к агрегации по сравнению с нормой, при этом деформируемость эритроцитов достоверно не изменяется. Было показано, что силы взаимодействия эритроцитов при агрегации при СД существенно больше, чем в норме. Силы, возникающие при разделении агрегата при СД статистически достоверно не отличаются от контроля, при этом сила дезагрегации больше силы агрегации во всех группах. Это статистически значимое различие позволило ввести новый параметр количественной оценки взаимодействия эритроцитов при агрегации и дезагрегации, который перспективен для использования в диагностике и контроле эффективности терапии как сахарного диабета, так и других сосудистых патологий.

Системы оптического захвата показали себя в качестве удобного и многообещающего инструмента для проведения исследований на уровне отдельных клеток, позволяя отслеживать кинетику взаимодействия эритроцитов при агрегации и дезагрегации и с высокой точностью измерять силы, возникающие при этих процессах.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Кошелеву Владимиру Борисовичу за полезные обсуждения при подготовке статьи.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-52-51050).

Список литературы

1. Левтов В. А., Перигер С. А., Шадрин Н. Х. Реология крови. М.: Медицина, 1982. 272 с.
2. Соколова И. А. Агрегация эритроцитов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2010. Т. 9, № 4. С. 4–26.
3. Le Devehat, Vimeux M., Bondoux G., Bertrand A. Red blood cells aggregation and disaggregation in diabetes mellitus // Clinical Hemorheology. 1989. Vol. 9. P. 845–854.
4. Singh M., Shin S. Hemorheological Disorders in Diabetes Mellitus // Indian J. Exp. Biol. 2009. Vol. 47. P. 7–15.
5. Муравьев А. В., Замышляев А. В., Тихомирова И. А., Чучканов Ф. А., Булаева С. В., Маймистова А. А. Изменение реологического профиля у больных диабетом 1 и 2 типа при лечении Тренталом // Клиническая фармакология и терапия. 2009. № 2 С. 87–90.
6. Кузник Б. И., Витковский Ю. А., Захарова М. Ю., Ключерева Н. Н., Роднина О. С., Солтов А. В. Агрегационная активность форменных элементов крови у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа // Сахарный диабет. 2012. Т. 2. С. 49–53.
7. Фирсов Н. Н., Коротаева Т. В., Вышлова М. А. Классификация тяжести гемореологических расстройств // Реологические исследования в медицине. М., 2000. Вып. 2. С. 136–141.
8. Baskurt K., Meiselman H. J. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation // Indian J. of Exp. Biol. 2007. Vol. 45, № 1. P. 25–31.
9. Baskurt K., Meiselman H. J. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013. Vol. 53, № 1–2. P. 23–37.
10. Муравьев А. В., Чепоров С. В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови). Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2009. 178 с.
11. Муравьев А. В., Тихомирова И. А., Булаева С. В., Вдовин В. А., Муравьев А. А. Исследование роли отдельных реологических характеристик крови в изменении ее текучести и транспортного потенциала // Российский журнал биомеханики. 2012. Т. 16, № 3 (57). С. 32–41.
12. Соколова И. А., Кошелев В. Б. Синдром повышенной вязкости крови // Технологии живых систем. 2011. Т. 8, № 6. С. 78–81.
13. Baskurt O. K., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Nemeth N., Alexy T., Shin S., Hardeman M., Meiselman H. J. Comparison of three instruments for measuring red blood cell aggregation // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009. Vol. 43, № 4. P. 283–298.
14. Лопатин В. Н., Приезжев А. В., Анонасенко А. Д., Шепелевич Н. В., Пожиленкова П. В., Простакова И. В. Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред. М.: Физматлит, 2004. 384 с.
15. Hardeman M. R., Dobbe J. G. G., Ince C. The laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2001. Vol. 25, № 1. P. 1–11.
16. Priezzhev A. V., Lee K., Firsov N. N., Lademann J. Optical study of RBC aggregation in whole blood samples and single cells. Chapter 1 // Handbook of Optical Biomedical Diagnostics / ed. V. V. Tuchin. 2nd ed. : in 2 vol. Vol. 2 : Methods Bellingham : SPIE Press, 2016. P. 5–36.
17. Shin S., Yang Y., Suh J. S. Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip-based stirring system by light transmission // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009. Vol. 41. P. 197–207.
18. Kiesewetter H., Radtke H., Schneider R., Mussler K., Scheffler A., Schmid-Schonbein H. The mini erythrocyte aggregometer: a new apparatus for the rapid quantification of the extent of erythrocyte aggregation // Biomed. Tech. (Berlin). 1982. Vol. 27, № 9. P. 209–213.
19. Steffen P., Verdier C., Wagner C. Quantification of depletion-induced adhesion of red blood cells // Phys. Rev. Lett. 2013. Vol. 110. P. 018102-1–018102-5.
20. Buxbaum K., Evans E., Brooks D. E. Quantitation of surface affinities of red blood cells in dextran solutions and plasma // Biochemistry. 1982. Vol. 21. P. 3235–3239.



21. Lee K., Kinnunen M., Khokhlova M.D., Lyubin E. V., Priezhev A.V., Meglinski I., Fedyanin A. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions // J. Biomed. Opt. 2016. Vol. 21, № 3. 035001.
22. Silva D. C., Jovino C. N., Silva C. A., Fernandes H. P., Milton Filho M., Lucena S. C., Costa A. M., Cesar C. L., Barjas-Castro M. L., Santos B. S., Fontes A. Optical tweezers as a new biomedical tool to measure zeta potential of stored red blood cells // PloS ONE. 2012. Vol. 7, № 2. e31778.
23. Fernandes P. H., Fontes A., Thomaz A., Castro V., Cesar C. L., Barjas-Castro M. L. Measuring red blood cell aggregation forces using double optical tweezers // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2013. Vol. 73, № 3. P. 262–264. DOI: 10.3109/00365513.2013.765961.
24. Baskurt O. K., Boynard M., Cokeletetal G. C. New guidelines for hemorheological laboratory techniques // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009. Vol. 42, № 2. P. 75–97.
25. Mann H. B., Whitney D. R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other // The Annals of Mathematical Statistics. 1947. Vol. 18, № 1. P. 50–60.
26. Arcuri A., Briand L. A Hitchhiker's guide to statistical tests for assessing randomized algorithms in software engineering // Softw. Test. Verif. Reliab. 2014. Vol. 24. P. 219–250. DOI: 10.1002/stvr.1486.
27. Маклыгин А. Ю., Приезжев А. В., Карменян А. В., Никитин С. Ю., Оболенский И. С., Луговцов А. Е., Кисун Ли Измерение силы взаимодействия между эритроцитами в агрегате с помощью лазерного пинцета // Квантовая электроника. 2012. Т. 42, № 6. С. 500–504.
28. Liu Y., Cheng D. K., Sonek G. J., Berns M. W., Chapman C. F., Tromberg B. J. Evidence for localized cell heating induced by infrared optical tweezers // Biophys. J. 1985. Vol. 68. P. 2137–2144.
29. Lee K., Kinnunen M., Danilina A. V., Ustinov V. D., Shin S., Meglinski I., Priezhev A. V. Characterization at the individual cell level and in whole blood samples of shear stress preventing red blood cells aggregation // J. Biomech. 2016. Vol. 3, iss. 7. P. 1021–1026.
30. Lee K., Priezhev A., Shin S., Yaya F., Meglinski I. Characterization of shear stress preventing red blood cells aggregation at the individual cell level : The temperature dependence // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016. Vol. 64. P. 853–857.

Образец для цитирования:

Семенов А. Н., Луговцов А. Е., Ли К., Фабричнова А. А., Ковалева Ю. А., Приезжев А. В. Использование методов диффузного рассеяния света и оптического захвата для исследования реологических свойств крови: агрегация эритроцитов при сахарном диабете // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 85–97. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-85-97.

Applying Methods of Diffuse Light Scattering and Optical Trapping for Assessing Blood Rheological Parameters: Erythrocytes Aggregation in Diabetes Mellitus

A. N. Semenov, A. E. Lugovtsov, K. Lee,
A. A. Fabrichnova, Yu. A. Kovaleva, A. V. Priezhev

Alexey N. Semenov, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, Semenov@physics.msu.ru.

Andrey E. Lugovtsov, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, anlug1@gmail.com

Lee Kisung, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia; University of Saarland, Campus building E2-6, Saarbrücken, 66123, Germany, leekisung1991@gmail.com

Anastasia A. Fabrichnova, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, anastasia.fabrichnova@mail.ru

Yulia A. Kovaleva, Moscow Regional Research and Clinical Institute ("MONIKI"), 61/2, Shepkin str., Moscow, 129110, Russia, yulia.kovaleva@mail.ru

Alexander V. Priezhev, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, avp2@mail.ru

Background and Objectives: Aggregation parameters of blood characterize red blood cells interaction processes which play a major role in the microcirculation regulation. It was shown that these parameters are significantly different in case of Diabetes Mellitus (DM) and therefore can be proposed as a novel parameter of the disease state and therapy efficiency. Usage of diffuse methods of measuring aggregation properties in whole blood combined with the single cell level measuring technique will allow creating a new complete approach to investigate the hemorheological state of the blood in various socially important disease. **Materials and Methods:** For assessing the time of spontaneous aggregation, hydrodynamic strength, aggregation index and deformability properties of ensemble of RBCs in whole blood we used commercially available aggregometer Rheoscan-AnD300 (Rheomeditech, Korea). Operation of this device is based on measuring the intensity of laser light scattered by whole blood samples. Measurements of RBC aggregating/disaggregating forces were performed using home-made 2-channelled optical tweezer (OT) in high-diluted autologous plasma. Two cells were manipulated and brought to the 40% of cell surface contact forming an aggregate. The minimal trapping force required to prevent the complete aggregation (aggregating force F_A) was measured. The minimal trapping force required to disassemble the aggregate completely (disaggregating force F_D) was also measured. **Results:** The measurements of RBC interaction forces were performed in groups of healthy donors and patients suffering from DM. The measured value of the aggregation force in DM was $F_A = 4.2 \pm 1.2$ pN which 1.5 times exceeds the aggregating force in norm ($F_A = 2.7 \pm 1.5$ pN) while the disaggregating forces F_D were found to be nearly the same. DM is characterized by enhanced aggregation. It was shown that the



characteristic time of aggregates formation is reduced in whole blood of patients with DM relative to the control group. **Conclusions:** The statistically significant difference in aggregating forces in norm and DM allowed to propose a novel aggregating parameter $R = F_D / F_A$ which can diagnose the microrheological state of the pathological blood in case of DM. Information about alterations of the time of aggregates formation can be considered as an indication of DM as well as for monitoring the patients treatment efficiency.

Key words: red blood cells aggregation, diffuse light scattering, optical tweezers, diabetes mellitus.

Acknowledgements: Authors also want to thank Vladimir B. Koshelev for the assistance in the article discussion.

This work was supported by the Russian foundation for basic research (project no. 16-52-51050).

References

1. Levto V. A., Reriger S. A., Shadrina N. Ch. *Reologia krovi* [Blood rheology]. Moscow, Medicine Publ., 1982. 272 p. (in Russian).
2. Sokolova I. A. Erythrocyte aggregation. *Regional Haemodynamics and Microcirculation*, 2010, vol. 9, no. 4, pp. 4–26 (in Russian).
3. Le Devehat, Vimeux M., Bondoux G., Bertrand A. Red blood cells aggregation and disaggregation in diabetes mellitus. *Clinical Hemorheology*, 1989, vol. 9, pp. 845–854.
4. Singh M., Shin S. Hemorheological Disorders in Diabetes Mellitus. *Indian J. Exp. Biol.*, 2009, vol. 47, pp. 7–15.
5. Muravyov A. V., Zamushlyayev A. V., Tikhomirova I. A., Chuchkanov F. A., Bulaeva S. V., Maimistova A. A. Izmenenie reologicheskogo profilia u bol'nykh diabetom 1 i 2 tipa pri lechenii Trentalom [Rheological profile change in patients suffering from Diabetes Mellitus types 1 and 2 during Trental therapy]. *Klinicheskaya Farmakologiya i Terapiya* [Clinical Pharmacology and Therapy], 2009, no. 2, pp.87–90 (in Russian).
6. Kuznik B. I., Vitkovskii Yu. A., Zakharova M. Yu., Klyuchereva N. N., Rodnina O. S., Solpov A. V. Aggregation activity of blood formed elements in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus Journal*, 2012, vol. 2, pp. 49–53 (in Russian).
7. Firsov N. N., Korotaeva T. V., Vishlova V. A. Klasifikatsiia tiazhesti gemoreologicheskikh rasstroistv [Hemorheological disorders gravity classification]. In: *Rheologicheskie issledovania v medicine* [Rheological investigations in medicine]. Moscow, 2000, iss. 2, pp. 136–141 (in Russian).
8. Baskurt K., Meiselman H. J. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation. *Indian J. of Exp. Biol.*, 2007, vol. 45, no. 1, pp. 25–31.
9. Baskurt K., Meiselman H. J. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2013, vol. 53, no. 1–2, pp. 23–37.
10. Muravyov A. V., Cheporov S. V. *Gemoreologiya (eksperimental'nye i klinicheskie aspekty reologii krovi)* [Hemorheology (experimental and clinical aspects of blood rheology)]. Yaroslavl', 2009, YSPU Publ. 178 p. (in Russian).
11. Muravyov A. V., Tikhomirova I. A., Bulaeva S. V., Vdovin V. A., Muravyov A. A. The study of the role of individual blood characteristics in its fluidity alteration and transport efficiency. *Russian Journal of Biomechanics*, 2012, vol. 16, no. 3 (57), pp. 32–41.
12. Sokolova I. A., Koshelev V. B. Syndrom of increased blood viscosity. *Tekhnologii Zhivyykh Sistem* [Living Systems Technologies], 2011, vol. 8, no. 6, pp. 78–81 (in Russian).
13. Baskurt O. K., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Nemeth N., Alexy T., Shin S., Hardeman M., Meiselman H. J. Comparison of three instruments for measuring red blood cell aggregation. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2009, vol. 43, no. 4, pp. 283–298.
14. Lopatin V. N., Priezzhev A. V., Aponasenko A. D., Shepelevich N. V., Pozilenkova P. V., Prostakova I. V. *Metody svetorasseianiia v analize dispersnykh biologicheskikh sred* [Light scattering methods in disperse biological environments analysis]. Moscow, PhysMatLit, 2004. 384 p. (in Russian).
15. Hardeman M.R., Dobbe J.G.G, Ince C. The laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2001, vol. 25, no. 1, pp. 1–11.
16. Priezzhev A. V., Lee K., Firsov N. N., Lademann J. Optical study of RBC aggregation in whole blood samples and single cells. Chapter 1. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. Ed. Valery V. Tuchin. 2nd ed.: in 2 vol. Vol. 2: Methods. Bellingham, SPIE Press, 2016, pp. 5–36.
17. Shin S., Yang Y., Suh J. S. Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip-based stirring system by light transmission. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2009, vol. 41, pp. 197–207.
18. Kiesewetter H., Radtke H., Schneider R., Mussler K., Scheffler A., Schmid-Schonbein H. The mini erythrocyte aggregometer: a new apparatus for the rapid quantification of the extent of erythrocyte aggregation. *Biomed. Tech.* Berlin, 1982, vol. 27, no. 9, pp. 209–213.
19. Steffen P., Verdier C., Wagner C. Quantification of depletion-induced adhesion of red blood cells. *Phys. Rev. Lett.*, 2013, vol. 110. pp. 018102-1–018102-5.
20. Buxbaum K., Evans E., Brooks D. E. Quantitation of surface affinities of red blood cells in dextran solutions and plasma. *Biochemistry*, 1982, vol. 21, pp. 3235–3239.
21. Lee K., Kinnunen M., Khokhlova M. D., Lyubin E. V., Priezzhev A. V., Meglinski I., Fedyanin A. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions. *J. Biomed. Opt.*, 2016, vol. 21, no. 3, 035001.
22. Silva D. C., Jovino C. N., Silva C. A., Fernandes H. P., Milton Filho M., Lucena S. C., Costa A. M., Cesar C. L., Barjas-Castro M. L., Santos B. S., Fontes A. Optical tweezers as a new biomedical tool to measure zeta potential of stored red blood cells. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 2, e31778.



23. Fernandes P. H., Fontes A., Thomaz A., Castro V., Cesar C. L., Barjas-Castro M. L. Measuring red blood cell aggregation forces using double optical tweezers. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2013, vol. 73, no. 3, pp. 262–264. DOI: 10.3109/00365513.2013.765961.
24. Baskurt O. K., Boynard M., Cokeletetal G. C. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 75–97.
25. Mann H. B., Whitney D. R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The Annals of Mathematical Statistics*, 1947, vol. 18, no. 1, pp. 50–60.
26. Arcuri A., Briand L. A Hitchhiker’s guide to statistical tests for assessing randomized algorithms in software engineering. *Softw. Test. Verif. Reliab*, 2014, vol. 24, pp. 219–250. DOI: 10.1002/stvr.1486.
27. Maklygin A. Yu., Priezzhev A.V., Karmenyan A. V., Nikitin S. Yu., Obolenskii I. S., Lugovtsov A. E., Kisun Li. Measurement of interaction forces between red blood cells in aggregates by optical tweezers. *Quantum Electronics*, 2012, vol. 42, no. 6, pp. 500–504.
28. Liu Y., Cheng D. K., Sonek G. J., Berns M. W., Chapman C. F., Tromberg B. J. Evidence for localized cell heating induced by infrared optical tweezers. *Biophys. J.*, 1985, vol. 68, pp. 2137–2144.
29. Lee K., Kinnunen M., Danilina A. V., Ustinov V. D., Shin S., Meglinski I., Priezzhev A. V. Characterization at the individual cell level and in whole blood samples of shear stress preventing red blood cells aggregation. *J. Biomech.*, 2016, vol. 3, iss. 7, pp. 1021–1026.
30. Lee K., Priezzhev A., Shin S., Yaya F., Meglinski I. Characterization of shear stress preventing red blood cells aggregation at the individual cell level: The temperature dependence. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2016, vol. 64, pp. 853–857.

Cite this article as:

Semenov A. N., Lugovtsov A. E., Lee K., Fabrichnova A. A., Kovaleva Yu. A., Priezzhev A. V. Applying Methods of Diffuse Light Scattering and Optical Trapping for Assessing Blood Rheological Parameters: Erythrocytes Aggregation in Diabetes Mellitus. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 85–97 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-85-97.



УДК 535.3; 53.06; 612.1

ОПТИЧЕСКОЕ ПРОСВЕТЛЕНИЕ ЧЕРЕПНОЙ КОСТИ МНОГОКОМПОНЕНТНЫМИ ИММЕРСИОННЫМИ РАСТВОРАМИ И ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ВЕНОЗНОГО КРОВОТОКА



Э. А. Генина, А. Н. Башкатов, О. В. Семячкина-Глушковская, В. В. Тучин

Генина Элина Алексеевна, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры оптики и биофотоники; старший научный сотрудник лаборатории биомедицинской оптики Научно-образовательного института оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; ведущий научный сотрудник междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет, eagenina@yandex.ru

Башкатов Алексей Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры оптики и биофотоники, заведующий лабораторией биомедицинской оптики Научно-образовательного института оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; ведущий научный сотрудник междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет, a.n.bashkatov@mail.ru

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, заведующая кафедрой физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, glushkovskaya@mail.ru

Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой оптики и биофотоники; директор Научно-образовательного института оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; научный руководитель междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет; заведующий лабораторией лазерной диагностики технических и живых систем, Институт проблем точной механики и управления РАН (Саратов), tuchinv@mail.ru

Большой практический интерес вызывает оптическое просветление костных тканей, что открывает возможность развития минимально инвазивных методов лазерной диагностики и терапии мозга. Целью данной работы является исследование оптического просветления черепной кости при использовании многокомпонентных оптических просветляющих агентов и возможности измерения церебрального кровотока. В работе исследовано оптическое просветление кости черепа крысы *ex vivo* и *in vivo* с помощью двух растворов, различающихся составом и показателями преломления и включающих этанол или тиазон в качестве усилителей проницаемости биоткани. Измерена кинетика коллимированного пропускания образцов кости в спектральном диапазоне 600–900 нм под действием данных растворов и проведена доплеровская оптическая когерентная томография (ДОКТ) сосудов головного мозга крысы. В течение 4 часов получено относительное увеличение коэффициента коллимированного пропускания под действием иммерсионных растворов с вклю-

чением этанола и тиазона соответственно на 15% и 80%. Эффективность оптического просветления костной ткани составила соответственно 4.5 ± 0.4 и $13.2 \pm 3.4\%$. Использование растворов способствовало значительному улучшению визуализации крупной церебральной вены с помощью ДОКТ без повреждения черепной кости и позволило определить скорость кровотока в вене в нормальном состоянии (7 мм/с) и при воздействии адреналина (5.5 мм/с). Таким образом, показано, что применение данных растворов способствует увеличению глубины зондирования ДОКТ и улучшению визуализации сосудов мозга и может быть использовано при диагностике различных патологических изменений, в том числе нарушений кровоснабжения.

Ключевые слова: черепная кость, многокомпонентные иммерсионные растворы, коллимированное пропускание, доплеровская оптическая когерентная томография, эффективность оптического просветления, церебральный венозный кровоток.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-98-110

Введение

В течение последних 25 лет наблюдается всё возрастающий интерес к разработке и применению оптических методов визуализации тканей и структур мозга для диагностики различных патологических изменений, в том числе нарушений кровоснабжения [1–4]. Такой интерес обусловлен уникальной информативностью, относительной простотой, безопасностью и достаточно низкой стоимостью оптических устройств по сравнению, например, с рентгеновской компьютерной томографией или магниторезонансной томографией.

Одним из самых простых и эффективных методов решения проблемы увеличения глубины и качества изображений внутритканевых структур, а также повышения точности спектроскопической информации от глубоких слоёв биотканей и крови является временное снижение светорассеяния в биотканях (оптическое просветление) [5, 6]. Оптическое иммерсионное просветление основывается на пропитывании (иммерсировании) ткани биосовместимым химическим агентом – оптическим просветляющим агентом (ОПА) – обладающим достаточно высоким показателем преломления, чтобы, проникая во внутритканевую жидкость биоткани, он мог согласовать показатели преломления рассеи-



вателей и окружающей их среды. Для мягких насыщенных водой тканей важна еще осмолярность агентов, которая способствует временной дегидратации ткани, более плотной упаковке ее составляющих и соответственно меньшему рассеянию ткани [5, 6].

Большой практический интерес вызывает оптическое просветление не только мягких, но и твердых биотканей, таких как кость. В последние годы всё больше появляется работ, посвящённых оптическому просветлению костных тканей [7–11]. Целью этих работ является как визуализация клеточной архитектуры самой костной ткани, так и объектов, скрытых под ней, что открывает возможность развития минимально инвазивных методов лазерной диагностики и терапии мозга и других глубоколежащих тканей. Например, в работе [12] показано, что оптическое просветление кости с помощью глицерина наиболее эффективно в ИК диапазоне выше 1400 нм. Под действием пропиленгликоля, который помимо достаточно высокого показателя преломления обладает ещё и свойствами усилителя проницаемости ткани, оптическое просветление кости наблюдается и в видимом диапазоне. Однако для достижения существенного оптического просветления кости с помощью глицерина и других однокомпонентных иммерсионных агентов требуется достаточно длительный промежуток времени, что неприемлемо при исследованиях *in vivo*.

Разработка состава многокомпонентных ОПА для ускорения диффузии и обеспечения повышения эффективности оптического просветления различных биотканей является наиболее актуальной задачей развития этого направления [7, 11, 13–19]. Так, например, Wang с соавт. [7] показали, что минимальный диаметр микрососуда мозга мыши *in vivo*, разрешаемый при наблюдении через костную ткань после 25-минутного воздействия на поверхность черепа многокомпонентного ОПА (SOCS – skull optical clearing solution), составляет 14.4 ± 0.8 мкм [7]. Среди химических усилителей диффузии ОПА в соединительные ткани упоминаются также диметилсульфоксид (ДМСО) [13], тиазон [14], пропиленгликоль [15], этанол [16] и другие [17–19].

Тиазон ($C_{11}H_{13}O_3SN$, молекулярная масса 239.29, нерастворим в воде) является веществом, используемым в медицине и косметологии для усиления диффузии медицинских препаратов в коже [14, 20–22]. Однако в работе [23] авторы отмечают снижение эффективности оптического просветления мышечной ткани при использо-

вании тиазона в смеси с пропиленгликолем за счёт появления в биоткани кристаллов тиазона, увеличивающих рассеяние.

Этанол также является растворителем, модифицирующим свойства барьера кожи. При достаточно высокой концентрации (~40%) этанол способствует образованию пор и существенно увеличивает транспорт веществ через поры, благодаря увеличению размера и/или плотности пор в эпидермальной мембране [16, 24]. В работах [25, 26] показано значительное увеличение скорости диффузии красителей через эпидермис при включении в состав раствора 40–50%-ного этанола.

Целью данной работы является исследование оптического просветления черепной кости при использовании ОПА, включающих этанол и тиазон в качестве усилителей проницаемости биоткани, и возможности измерения церебрального кровотока.

1. Строение и оптические свойства костной ткани

Костная ткань – особый вид соединительной ткани. Она является главной составной частью кости, образуя костные пластинки. В пластинчатой кости коллагеновые фибриллы межклеточного вещества, располагаясь параллельно, формируют слои – костные пластинки толщиной 3–7 мкм. Смежные пластинки всегда имеют различную ориентацию фибрилл. В пластинках расположены клеточные полости – лакуны – и соединяющие их костные каналы, в которых лежат костные клетки – остециты и их отростки. По системе лакун и костных каналов циркулирует тканевая жидкость, обеспечивающая обмен веществ в ткани [27]. В зависимости от плотности и расположения пластинок различают компактное и губчатое костное вещество. Плоские кости черепа построены из тонких пластинок компактного вещества, между которыми находится губчатое вещество, содержащее каналы для вен.

Структурные компоненты костной ткани состоят из неорганических компонентов и органического матрикса [28, 29]. Кристаллы костной ткани относятся к гидроксиапатитам, имеют форму пластинок или палочек. Они отвечают за компрессионную прочность кости. Другая часть минеральной фазы костной ткани представлена аморфным фосфатом кальция. Содержание аморфного фосфата кальция подвержено значительным колебаниям в зависимости от возраста [30].



Приблизительно 95% органического матрикса приходится на коллаген. Кроме коллагена в состав органического матрикса входят другие протеины, клетки крови и липиды [31]. Межклеточный органический матрикс компактной кости составляет около 20–40%, неорганические вещества – 50–70%, вода – 5–10% и липиды <3% [32]. В губчатой кости преобладают органические компоненты, которые составляют более 50%, на долю неорганических соединений приходится 33–40%. Количество воды сохраняется в тех же пределах, что и в компактной кости [30, 32]. По данным А. Уайта с соавт. [33], неорганические компоненты составляют около 1/4 объёма кости; остальную часть занимает органический матрикс. Вследствие различий в относительной удельной массе органических и неорганических компонентов на долю нерастворимых минералов приходится половина массы кости. Пористость костной ткани составляет от 5 до 10% [33].

Одним из главных компонентов живой кости является вода. Вода в кости находится в связанном состоянии с минеральной фазой, с органической фазой (коллаген и цементное вещество) или в свободном состоянии (объёмная вода) [34, 35]. Наиболее сильно связанная вода удерживается апатитоподобными кристаллами (около 35 мг воды/г минерала) [36]. Существенно менее сильно связанная фракция – это вода, удерживаемая коллагеновыми фибриллами. В неминерализованном состоянии коллагеновые волокна связывают большую объёмную фракцию воды (до 60%) [37]. Во время процесса кальцификации кристаллы апатита депонируются в органическом матриксе, постепенно замещая остеоидную воду и снижая её объёмную фракцию до 20%.

Показатель преломления цельной черепной кости оценивался Ascenzi и Fabry [38] при различных стадиях минерализации в диапазоне от 1.555 до 1.564. Компоненты этой ткани имеют следующие показатели преломления: апатиты – 1.604–1.650, остеоны – 1.559, гидратированный коллаген (I типа) – 1.43 и липиды ~ 1.45 [38, 39].

В видимой области спектра поглощение костной ткани очень мало; в ближнем инфракрасном диапазоне коэффициент поглощения не превышает 4 см^{-1} и определяется полосами поглощения воды и липидов [12, 40, 41]. Рассеяние костной ткани снижается с увеличением длины волны, что соответствует спектральному поведению рассеивающих характеристик большинства тканей [12, 42–44].

2. Материалы и методы

Поскольку ранее было показано, что оптическое просветление черепной кости с помощью однокомпонентных иммерсионных агентов требует длительного периода времени [12], при разработке составных иммерсионных растворов учитывались результаты исследований, представленных в работах [14, 20, 25, 26], где показано, что тиазон и этанол за счет частичного разрушения липидного слоя способствуют усилению проницаемости эпидермиса для глицерина и полиэтиленгликоля.

Для приготовления составных ОПА использовались этиловый спирт, дегидратированный глицерин («База № 1 Химреактивов», Россия), полиэтиленгликоль с молекулярной массой 300 Да (Sigma-Aldrich, Германия), тиазон ($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{SN}$, Guangzhou Heming Trading Co., Китай) и дистиллированная вода.

В состав раствора № 1 вошли: этиловый спирт (45%), дегидратированный глицерин (25%), ПЭГ-300 (10%) и вода (20%). Показатель преломления раствора, измеренный с помощью рефрактометра Аббе ИРФ454Б2М (КОМЗ, Россия) на длине волны 589 нм составил $n = 1.384$.

В состав раствора № 2 вошли: ПЭГ-300 (80%) и тиазон (20%). Показатель преломления раствора на длине волны 589 нм составил $n = 1.467$.

Материалом для *ex vivo* исследования послужили 8 образцов верхней части черепной кости крысы *ex vivo*. Средняя толщина образцов составляла 0.64 ± 0.4 мм, длина – 13.1 ± 2.2 мм и ширина – 10.5 ± 0.6 мм. Все образцы разделялись на 2 группы: I группа подвергалась воздействию раствора № 1, II группа – раствора № 2.

Измерение спектров коллимированного пропускания образцов черепной кости проводилось каждые 10–20 мин с помощью многоканального спектрометра USB4000-Vis-NIR (Ocean Optics, США) в течении 4–5 часов. Образец ткани закреплялся на пластиковой пластине площадью $3.5 \times 1.5 \text{ см}^2$ с отверстием в центре площадью $8 \times 8 \text{ мм}^2$ и помещался в стеклянную кювету объемом 5 мл с раствором исследуемого ОПА. Кювета устанавливалась между двумя волоконно-оптическими кабелями QP400-1-VIS-NIR (Ocean Optics, США) с внутренним диаметром 400 мкм. Для обеспечения коллимированности пучка на торцах волокон с помощью стандартных разъемов SMA-905 закреплялись коллиматоры 74-ACR (Ocean Optics, США). В качестве источника излучения использовалась галогенная лампа HL-2000 (Ocean Optics, США).



После каждого измерения коллимированного пропускания образцы извлекались из кюветы и взвешивались на электронных весах SA210 (Scientech, USA) с точностью ± 1 мг, затем помещались обратно в кювету. Все измерения проводились при комнатной температуре ($\sim 20^\circ\text{C}$).

Коэффициент ослабления μ_t рассчитывался на основе закона Бугера–Ламберта:

$$T_c(t) = \exp[-\mu_t(t)l], \quad (1)$$

где $T_c(t)$ – временная зависимость коллимированного пропускания образца биоткани, l – толщина биоткани.

Эффективность оптического просветления (ЭОП) оценивалась с помощью выражения

$$\Delta\mu_t = \frac{\mu_t(t=0) - \mu_t(t)}{\mu_t(t=0)} \times 100\%, \quad (2)$$

где $\mu_t(t=0)$ – начальный коэффициент ослабления интактного образца биоткани, $\mu_t(t)$ – значение коэффициента ослабления в каждый момент времени измерений.

ЭОП рассчитывалась для каждого образца отдельно для всех длин волн в исследуемом спектральном диапазоне и усреднялась. Затем

значения ЭОП усреднялись по группе, и рассчитывалось стандартное отклонение.

Для демонстрации возможности транскраниальной визуализации сосудов головного мозга при оптическом просветлении черепной кости *in vivo* с помощью данных многокомпонентных растворов использовались 4 молодые здоровые беспородные лабораторные крысы (возраст 4 недели, вес 50–60 г). Крысы подвергались анестезии с помощью внутривенной инъекции кетамина (Sigma, США) 0.4 мг/кг. Слой кожи и мышечной ткани с верхней части головы на участке приблизительно 5×5 мм² хирургически удалялся. Крысы были разделены на две группы. На поверхность черепа крысам из I и II групп наносился иммерсионный раствор № 1 и № 2 соответственно.

Для одной из крыс из I группы церебральный кровоток дополнительно исследовался до и после внутривенного введения адреналина (Sigma, США) 0.1 мг/кг, способствующего вазодилатации (расширению церебральных сосудов).

Для исследования крупной церебральной вены (*vena magna cerebri*) крысу помещали под углом 120° для лучшей визуализации вены (рис. 1).

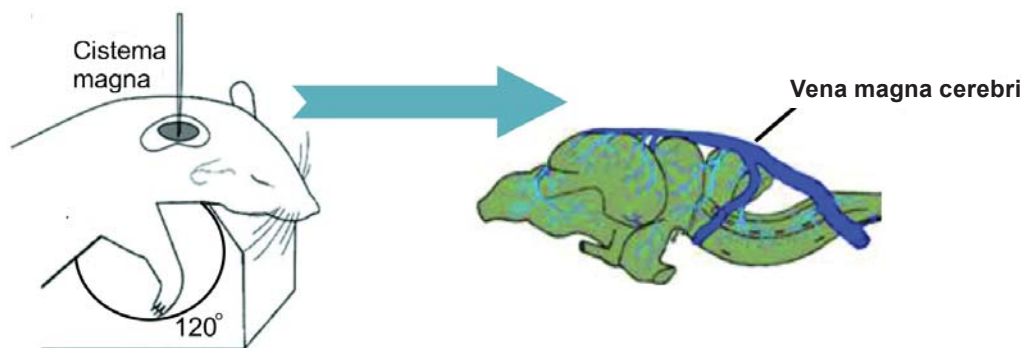


Рис. 1. Расположение крупной поверхностной вены мозга (*vena magna cerebri*) у крысы

Транскраниальное исследование церебрального венозного кровотока проводилось с помощью спектрального оптического доплеровского когерентного томографа OCS1300SS (Thorlabs, США). В качестве источника излучения в установке использовался суперлюминесцентный диод с центральной длиной волны 1325 нм и спектральной шириной полосы на полувысоте 100 нм. Оптическая глубина зондирования составляла до 3 мм, продольное разрешение – 12 мкм и поперечное разрешение – 25 мкм на воздухе.

Для оценки скорости кровотока в режиме доплеровской ОКТ (ДОКТ) использовалась методика, подробно описанная в работе [45]. На ДОКТ-изображениях распределение скорости потока маркировалось цветом.

3. Результаты и их обсуждение

На рис. 2 представлены типичные спектральная (*a*) и временная (*b*) зависимости изменения коллимированного пропускания образца черепной кости крысы. Данный образец принадлежал I группе, толщина его составляла 0.53 ± 0.01 мм.



Хорошо видно, что с течением времени значение T_c во всём исследуемом спектральном диапазоне возрастает. Это связано с увеличением прозрачности биоткани за счёт, во-первых, удаления свободной воды из органического матрикса и, во-вторых, замещения её на иммерсионный агент. Показатель преломления используемого раствора № 1 (1.384) меньше, чем показатели преломления основных органических и неорганических компонентов ткани, вследствие этого полного согласования показателей преломления рассеивателей и внутритканевого матрикса не происходило, тем не менее, увеличение коллимированного пропускания за время наблюдения в спектральном диапазоне 600–900 нм в среднем составило $15 \pm 1\%$.

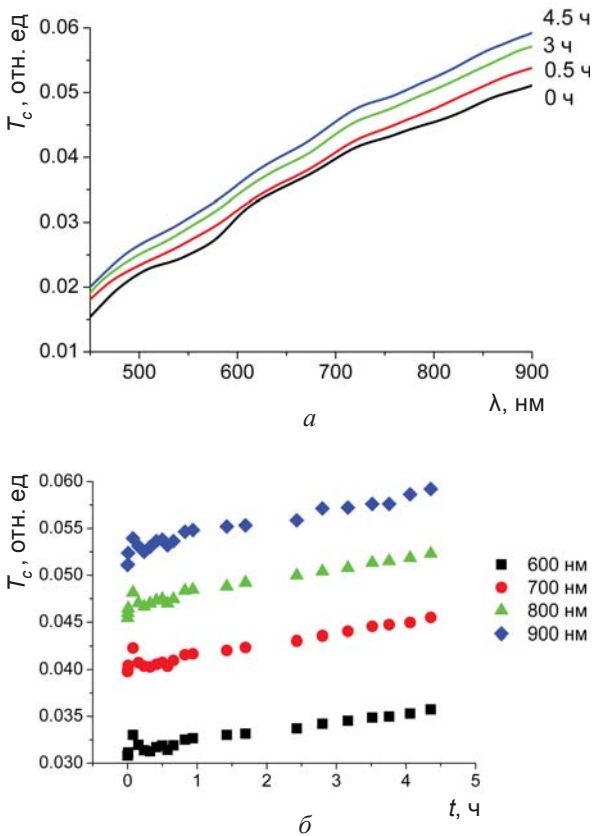


Рис. 2. Типичные спектральная (а) и временная (б) зависимости изменения значения коллимированного пропускания образца черепной кости крысы *ex vivo* в процессе воздействия многокомпонентного иммерсионного агента (этиловый спирт – 45%, дегидратированный глицерин – 25%, ПЭГ-300 – 10% и вода – 20%)

При использовании в качестве ОПА раствора № 2, обладающего более высоким показателем преломления (1.467), среднее увеличение значения коллимированного пропускания за время наблюдения составило более чем 1.8 раз.

Верке с соавт. [11] проанализировали относительное увеличение коллимированного пропускания (RT) в спектральном диапазоне 360–1090 нм при просветлении трубчатых костей мыши *in vitro* под действием водорастворимых и водонерастворимых иммерсионных агентов, использующихся в стереомикроскопии, проекционной оптической спектрофотометрии и конфокальной микроскопии: Visikol ($n = 1.44$, $RT = 1.25 \pm 0.41$), ClearT2 (50% формамид + 20% PEG-8000, $n = 1.45$, $RT = 2.77 \pm 1.68$), FocusClear ($n = 1.46$, $RT = 2.29 \pm 1.17$), TDE (2, 2'-тиоидиэтанол, $n = 1.47$, $RT = 5.17 \pm 1.94$), SeeDB (80.2% водный раствор D-фруктозы, $n = 1.5$, $RT = 3.17 \pm 1.23$), MS (метилсалицилат, $n = 1.51$, $RT = 7.04 \pm 1.85$), BABB (25% бензилового спирта + 75% бензилбензоата, $n = 1.53$, $RT = 4.81 \pm 1.08$), THF-DBE (эфир тетрагидрофурандибензила, $n = 1.56$, $RT = 7.19 \pm 0.42$). Образцы костных сегментов перед началом исследований в течение 48 ч находились в растворе формалина. Средняя толщина образцов составляла 2.5 мм. Авторы добивались максимального оптического просветления, которое наступало за время воздействия ОПА от 24 ч до 4 дней.

Несмотря на различия в исследуемых объектах, а также времени и методах измерений, видно, что в целом значения, полученные в нашей работе, согласуются с данными, представленными в [11].

На основе результатов измерения кинетики изменения значений коллимированного пропускания с помощью уравнения (1) рассчитывались значения коэффициента ослабления. На рис. 3 представлена кинетика изменения значения μ_t на нескольких длинах волн для образцов из I (а) и II (б) групп.

Изменение коэффициента ослабления биоткани вызвано встречной диффузией свободной воды из внутритканевого пространства и ОПА во внутритканевое пространство [6, 46, 47]. Величина коэффициента пропускания в основном определяется коэффициентом рассеяния [44]. В свою очередь, коэффициент рассеяния определяется в основном отношением показателей преломления рассеивателей биоткани и окружающей их среды [48], т.е. внутритканевой жидкости. Показатель преломления внутритканевой жидкости в каждый момент времени определяется концентрацией в ней просветляющего агента, а значение концентрации пропорционально $\exp(-t/\tau_{осл})$, где $\tau_{осл}$ – характеристическое время диффузии каждого из компонентов просветляющих растворов, используемых в данных

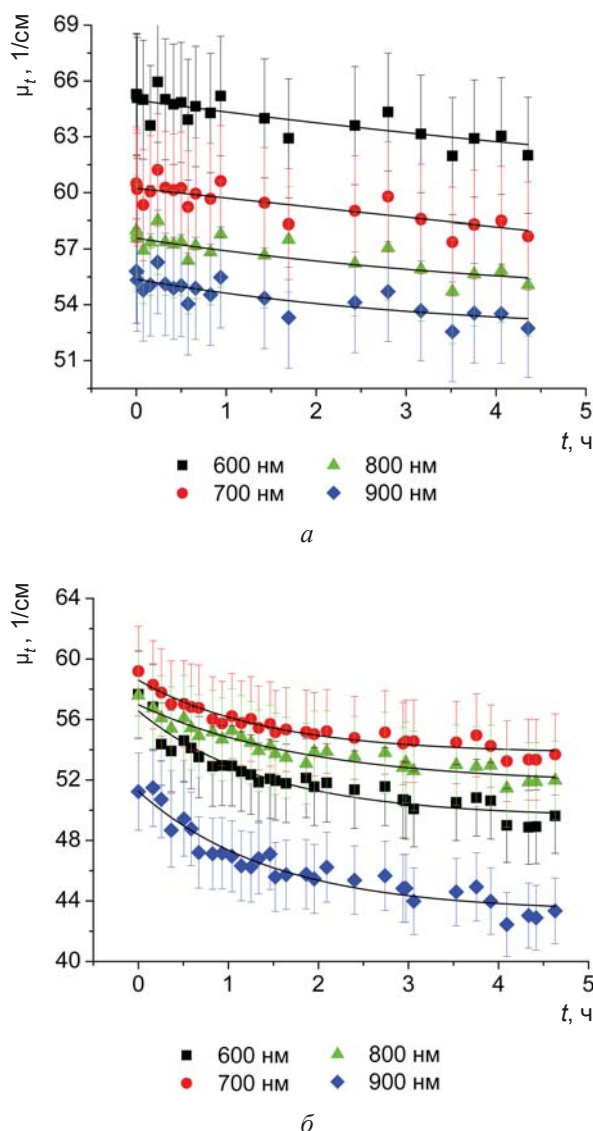


Рис. 3. Кинетика изменения значения коэффициента ослабления на нескольких длинах волн, усреднённая для образцов групп I (а) и II (б) под действием многокомпонентных иммерсионных агентов. Вертикальные отрезки обозначают среднеквадратическое отклонение

экспериментах для просветления костной ткани. Кроме того, скорость диффузии воды из костной ткани пропорциональна величине $\exp(-t/\tau_w)$, где τ_w – характеристическое время диффузии воды [49, 50]. В силу этого временная зависимость $\mu_t(t)$ аппроксимировалась выражением

$$\mu_t(t) = A \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) + \mu_t^0, \quad (3)$$

где A – эмпирическая константа, характеризующие величину оптического просветления, причем $A + \mu_t^0 = \mu_t(t=0)$ – значение коэффициента ослабления в начальный момент времени, μ_t^0 – оста-

точное значение коэффициента ослабления после завершения процесса просветления, τ – характеристическое время процесса, характеризующее как скорость проникновения в костную ткань каждого компонента просветляющих растворов, так и скорость выхода воды из биоткани. После усреднения по группам характеристическое время процесса просветления τ составило 4.0 ± 0.7 ч и 1.5 ± 0.2 ч для I и II групп соответственно. Такое различие во временных характеристиках процесса оптического просветления может быть связано с тем, что тиазон является более эффективным усилителем проницаемости костной ткани, чем этанол.

Средняя ЭОП образцов через 4 ч, оцененная по формуле (2) и усреднённая по группам, составила $4.5 \pm 0.4\%$ (I группа) и $13.2 \pm 3.4\%$ (II группа).

ЭОП черепной кости человека *in vitro* под действием дегидратированного глицерина в течение часа, оценённая в спектральном диапазоне 1400–2000 нм по данным работы [12], составила $16 \pm 11\%$. Показатель преломления глицерина (1.47) более близок к значению показателя преломления цельной черепной кости (1.555), при этом дегидратированный глицерин вызывает значительную осмотическую дегидратацию тканей, что может объяснить достаточно высокое значение ЭОП.

В процессе оптического просветления наблюдалось снижение веса образцов, представленное на рис. 4, что связано, на наш взгляд, с их дегидратацией под действием гиперосмотических компонентов (глицерина и ПЭГ-300), входящих в состав ОПА. Кинетика дегидратации образцов биоткани анализировалась с помощью выражения [49]:

$$H_D(t) = \frac{M(t=0) - M(t)}{M(t=0)}, \quad (4)$$

где H_D – степень дегидратации биоткани; $M(t=0)$ – масса образца биоткани в начальный момент времени, г; $M(t)$ – масса образца биоткани в момент измерения, г.

Концентрация гиперосмотических ОПА во втором растворе (ПЭГ-300 – 80%) значительно превышает концентрацию ОПА в первом растворе (глицерин – 25% и ПЭГ-300 – 10%), вследствие чего и дегидратация в I группе ($H_D = 0.05$) значительно меньше дегидратации во II группе ($H_D = 0.13$) исследуемых образцов. Характеристическое время, рассчитанное с помощью аппроксимации экспоненциальной



зависимостью аналогичной выражению (2), в этих группах также различается: для группы I t составляет 0.3 ± 0.1 ч, для группы II – 1.1 ± 0.4 ч. Через 24 ч нами были проведены контрольные взвешивания образцов. В группе I заметного изменения веса образцов не происходило. Вес образцов из группы II увеличился по сравне-

нию с начальным приблизительно на 35%, что свидетельствует о замещении свободной воды во внутритканевом пространстве кости на иммерсионный раствор и также подтверждает более эффективное усиление проницаемости костной ткани тиазоном как для воды, так и для ПЭГ-300.

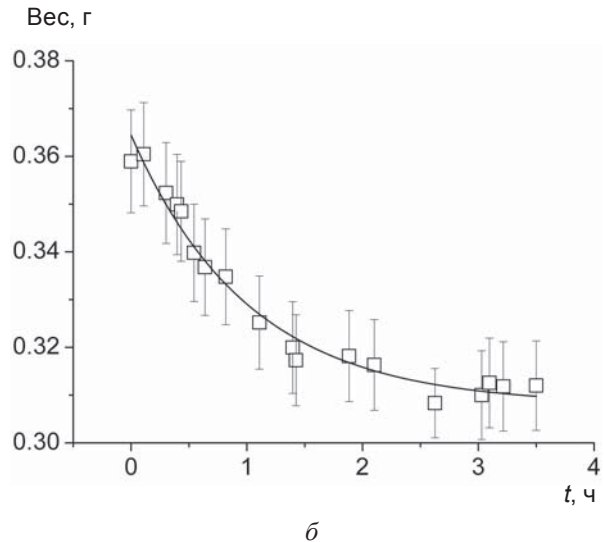
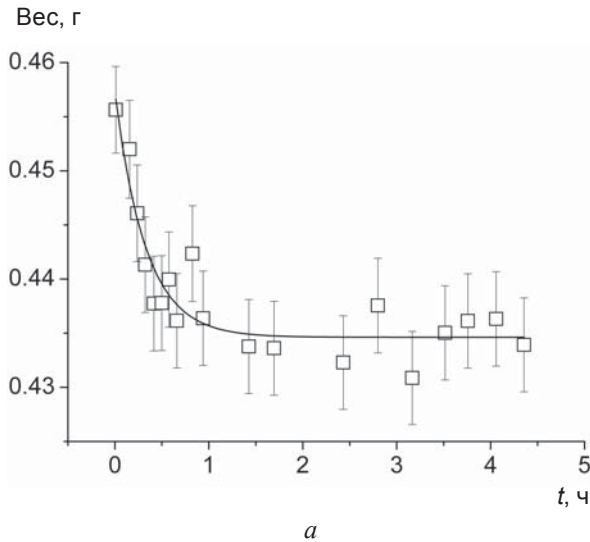


Рис. 4. Усреднённая кинетика изменения веса образцов из групп I (а) и II (б) под действием многокомпонентных иммерсионных агентов. Вертикальные отрезки обозначают среднеквадратическое отклонение

На рис. 5 представлены ДОКТ изображения крупной церебральной вены под неповреждённой черепной костью крысы из группы I без предварительного оптического просветления (а), через час после нанесения ОПА № 1 (б) и после внутривенной инъекции адреналина (в). На рис. 5, а видна *vena cerebri magna*, расположенная в центре изображения под черепной костью. Диаметр вены составляет 0.12 мм, оптическая толщина черепной кости над веной – 0.53 ± 0.03 мм.

На рис. 5, б хорошо видно, что после воздействия ОПА продольный и поперечный размер изображения вены увеличился более чем в 1.6 раза. Оптическое просветление позволило повысить разрешение ДОКТ-изображения объекта. Скорость кровотока в крупной церебральной вене, оцененная по данным ДОКТ, составила 7 мм/с.

Внутривенная инъекция адреналина вызвала значительное увеличение диаметра *vena cerebri magna* (до 0.22 мм), что наблюдается на рис. 5, в, и снижение скорости церебрального кровотока (до 5.5 мм/с).

Рис. 6 демонстрирует ДОКТ-изображения черепной кости крысы из группы II до (а) и после (б) 20-минутного воздействия раствора № 2. На рис. 6, а крупная церебральная вена не визуализируется, что свидетельствует о сильном рассеянии костной ткани. Оптическая толщина черепной кости на участке наблюдения составляет 1.2 ± 0.2 мм. Воздействие ОПА в течение 20 мин позволило визуализировать фрагмент вены, расположенный под неповреждённой черепной костью (см. рис. 6, б).

Время регистрации ДОКТ-изображений сосудов, представленных на рис. 5 и 6, соответствует времени их оптимальной визуализации.

В ряде работ показано, что ДОКТ в исследовании мозгового кровотока является достаточно эффективным оптическим методом анализа кровотока в норме и при патологии [51, 52], однако использование оптического просветления позволит значительно увеличить разрешающую способность при визуализации сосудов под неповреждённой черепной костью, что может повысить эффективность ранней диагностики инсульта и других нарушений мозговой гемодинамики.

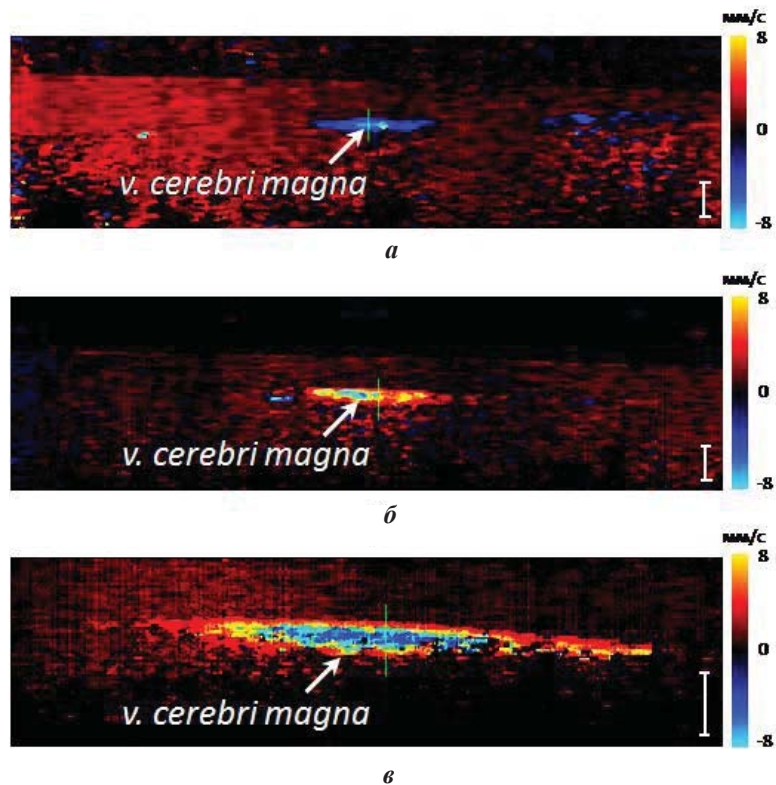


Рис. 5. ДОКТ-изображения черепной кости крысы из группы I: без предварительного оптического просветления (а), через час после нанесения многокомпонентного иммерсионного агента (этиловый спирт – 45%, дегидратированный глицерин – 25%, ПЭГ-300 – 10% и вода – 20%) (б) и последующей инъекции адреналина для увеличения диаметра вены с целью улучшения её визуализации (в). На изображениях видна крупная церебральная вена (*v. cerebri magna*). Вертикальные отрезки соответствуют оптической толщине 500 мкм. В правой части изображений показана шкала распределения скорости кровотока

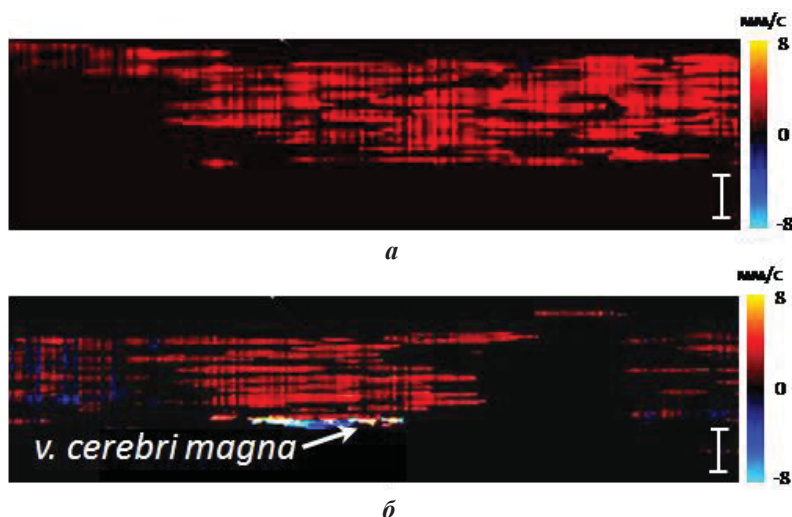


Рис. 6. ДОКТ-изображения черепной кости крысы из группы II: без предварительного оптического просветления (а), через 20 мин после нанесения иммерсионного агента (ПЭГ-300 – 80% и тиазон – 20%) (б). На рисунке видна крупная церебральная вена (*v. cerebri magna*). Вертикальные отрезки соответствуют оптической толщине 500 мкм. В правой части изображений показана шкала распределения скорости кровотока



Заключение

В работе исследованы многокомпонентные иммерсионные растворы для оптического просветления костей черепа. В состав растворов помимо иммерсионных жидкостей с высоким показателем преломления (глицерин и ПЭГ-300) входили усилители проницаемости биотканей (этанол и тиазон), которые способствовали повышению скорости и эффективности оптического просветления. Исследования проводились *ex vivo* на образцах черепной кости крысы и *in vivo* на лабораторных животных. Измерена кинетика изменения коллимированного пропускания образцов кости в спектральном диапазоне 600–900 нм под действием данных растворов и проведена доплеровская оптическая когерентная томография сосудов головного мозга крысы. В течение 4 ч получено относительное увеличение коэффициента коллимированного пропускания под действием иммерсионных растворов с включением этанола и тиазона соответственно на 15 и 80%. Эффективность оптического просветления костной ткани составила соответственно 4.5 ± 0.4 и $13.2 \pm 3.4\%$. Использование растворов способствовало значительному улучшению визуализации крупной церебральной вены без повреждения черепной кости и позволило оценить изменение диаметра вены и скорости кровотока в ней при медикаментозном воздействии.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Лычагову Владиславу Валерьевичу за помощь в работе с ДОКТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 12.1223.2017/ПЧ) и гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации НШ-7898.2016.2.

Список литературы

1. Myllylä T., Toronov V., Claassen J., Kiviniemi V., Tuchin V. Near-infrared spectroscopy in multimodal brain research. Chapter 10 // Handbook of Optical Biomedical Diagnostics / ed. V. V. Tuchin. 2nd ed. : in 2 vol. Vol. 1: Light – Tissue Interaction. Bellingham : SPIE Press, 2016. P. 687–735.
2. Alderliesten T., De Vis J. B., Lemmers P. M. A., van Bel F., Benders M. J. N. L., Hendrikse J., Petersen E. T. Simultaneous quantitative assessment of cerebral physiology using respiratory-calibrated MRI and near-infrared spectroscopy in healthy adults // NeuroImage. 2014. Vol. 85, pt. 1. P. 255–263.
3. Tong Y., Bergethon P. R., Frederick B. D. An improved method for mapping cerebrovascular reserve using concurrent fMRI and near-infrared spectroscopy with Regressor Interpolation at Progressive Time Delays (RIP-TiDe) // NeuroImage. 2011. Vol. 56, № 4. P. 2047–2057.
4. Hoge R. D., Franceschini M. A., Covolan R. J. M., Huppert T., Mandeville J. B., Boas D. A. Simultaneous recording of task-induced changes in blood oxygenation, volume, and flow using diffuse optical imaging and arterial spin-labeling MRI // NeuroImage. 2005. Vol. 25, № 3. P. 701–707.
5. Zhu D., Larin K., Luo Q., Tuchin V. V. Recent progress in tissue optical clearing // Laser & Photonics Reviews. 2013. Vol. 7, № 5. P. 732–757.
6. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Yanina I. Yu., Tuchin V. V. Optical clearing of biological tissues: prospects of application in medical diagnostics and phototherapy // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. 2015. Vol. 1, № 1. P. 22–58.
7. Wang J., Zhang Y., Xu Th., Luo Qm., Zhu D. An innovative transparent cranial window based on skull optical clearing // Laser Phys. Lett. 2012. Vol. 9. P. 469–473.
8. Bykov A., Hautala T., Kinnunen M., Popov A., Karhula S., Saarakkala S., Nieminen M.T., Tuchin V., Meglinski I. Imaging of subchondral bone by optical coherence tomography upon optical clearing of articular cartilage // J. Biophotonics. 2016. Vol. 9, № 3. P. 270–275.
9. Neu C. P., Novak T., Gilliland K. F., Marshall P., Calve S. Optical clearing in collagen- and proteoglycan-rich osteochondral tissues // Osteoarthritis. 2015. Vol. 23. P. 405–413.
10. Calve S., Ready A., Huppenbauer C., Main R., Neu C. P. Optical clearing in dense connective tissues to visualize cellular connectivity *in situ* // PLoS ONE. 2015. Vol. 10. e0116662.
11. Berke I. M., Miola J. P., David M. A., Smith M. K., Price C. Seeing through musculoskeletal tissues : improving *in situ* imaging of bone and the lacunar canalicular system through optical clearing // PLoS ONE. 2016. Vol. 11, № 3. e0150268.
12. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of cranial bone // Advanced Optical Technologies. 2008. Vol. 2008. 267867.
13. Karma S., Homan J., Stoianovic C., Choi B. Enhanced fluorescence imaging with DMSO-mediated optical clearing // Journal of Innovative Optical Health Sciences. 2010. Vol. 3, № 3. P. 153–158.
14. Zhu D., Wang J., Zhi Z., Wen X., Luo Q. Imaging dermal blood flow through the intact rat skin with an optical clearing method // J. Biomed. Opt. 2010. Vol. 15. 026008.
15. Zhi Z., Han Z., Luo Q., Zhu D. Improve optical clearing of skin *in vitro* with propylene glycol as a penetration enhancer // Journal of Innovative Optical Health Sciences. 2009. Vol. 2, № 3. P. 269–278.
16. Sznitowska M. The influence of ethanol on permeation behavior of the porous pathway in the stratum corneum // Intern. J. Pharmacol. 1996. Vol. 137. P. 137–140.



17. Xu X., Zhu Q. Evaluation of skin optical clearing enhancement with Azone as a penetration enhancer // *Optics Communications*. 2007. Vol. 279. P. 223–228.
18. Jiang J., Wang R. K. How different molarities of oleic acid as enhancer exert its effect on optical clearing of skin tissue *in vitro* // *Journal of X-Ray Science and Technology*. 2005. Vol. 13. P. 149–159.
19. Chen K., Liang Y., Zhang Y. Study on reflection of human skin with liquid paraffin as the penetration enhancer by spectroscopy // *J. Biomed. Opt.* 2013. Vol. 18, № 10. 105001.
20. Zhong H., Guo Z., Wei H., Guo L., Wang C., He Y., Xiong H., Liu S. Synergistic effect of ultrasound and Thiazone - PEG 400 on human skin optical clearing *in vivo* // *Photochemistry and Photobiology*. 2010. Vol. 86. P. 732–737.
21. Wen X., Jacques S. L., Tuchin V. V., Zhu D. Enhanced optical clearing of skin *in vivo* and optical coherence tomography in-depth imaging // *J. Biomed. Opt.* 2012. Vol. 17, № 6. 066022.
22. Liu Y., Yang X., Zhu D., Luo Q. Optical clearing agents improve photoacoustic imaging in the optical diffusive regime // *Optics Letters*. 2013. Vol. 38, № 20. P. 4236–4239.
23. Jin X., Deng Z., Wang J., Ye Q., Mei J., Zhou W., Zhang C., Tian J. Study of the inhibition effect of thiazone on muscle optical clearing // *J. Biomed. Opt.* 2016. Vol. 21, № 10. 105004.
24. Kurihara-Bergstrom T., Knutson K., de Noble L. J., Goates C. Y. Percutaneous absorption enhancement of an ionic molecule by ethanol–water system in human skin // *Pharm. Res.* 1990. Vol. 7. P. 762–766.
25. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Effect of ethanol on the transport of methylene blue through stratum corneum // *Medical Laser Application*. 2008. Vol. 23, № 1. P. 31–38.
26. Генина Э. А., Башкатов А. Н., Тучин В. В. Исследование влияния этанола на трансэпидермальный транспорт индоцианинового зелёного с помощью спектроскопии обратного рассеяния // *Изв. Сарат. ун-та, Нов. сер. Сер. Физика*. 2016. Т. 16, вып. 2. С. 91–96.
27. Гистология. Костная ткань. URL: http://histologybook.ru/kostnaja_tkan.html (дата обращения: 27.01.2017).
28. Boskey A., Mendelsohn R. Infrared analysis of bone in health and disease // *J. Biomed. Opt.* 2005. Vol. 10, № 3. 031102.
29. Ager III J. W., Nalla R. K., Breeden K. L., Ritchie R. O. Deep-ultraviolet Raman spectroscopy study of the effect of aging on human cortical bone // *J. Biomed. Opt.* 2005. Vol. 10, № 3. 034012.
30. Берёзов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. М. : Медицина, 1990. 543 с.
31. Pifferi A., Torricelli A., Taroni P., Bassi A., Chikoidze E., Giambattistelli E., Cubeddu R. Optical biopsy of bone tissue: a step toward the diagnosis of bone pathologies // *J. Biomed. Opt.* 2004. Vol. 9, № 3. P. 474–480.
32. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 3. P. S131–S139.
33. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии : в 3 т. М. : Мир, 1981. Т. 1, 539 с. ; Т. 2, 619 с. ; Т. 3, 731 с.
34. Fernández-Seara M. A., Wehrli S. L., Wehrli F. W. Diffusion of exchangeable water in cortical bone studied by nuclear magnetic resonance // *Biophysical Journal*. 2002. Vol. 82, № 1. P. 522–529.
35. Wilson E. E., Awonusi A., Morris M. D., Kohn D. H., Tecklenburg M. M. J., Beck L. W. Three structural roles for water in bone observed by solid-state NMR // *Biophysical Journal*. 2006. Vol. 90, № 10. P. 3722–3731.
36. Neuman W. F., Neuman M. W. The chemical dynamics of bone mineral. Chicago : University of Chicago Press, 1958. 209 p.
37. Wehrli F. W., Fernández-Seara M. A. Nuclear magnetic resonance studies of bone water // *Annals of Biomedical Engineering*. 2005. Vol. 33, № 1. P. 79–86.
38. Ascenzi A., Fabry C. Technique for dissection and measurement of refractive index of osteones // *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. 1959. Vol. 6. P. 139–143.
39. Bourne G. H. The biochemistry and physiology of bone. N.Y. : Academic Press, 1956. 888 p.
40. Kou L., Labrie D., Chylek P. Refractive indices of water and ice in the 0.65–2.5 μm spectral range // *Appl. Opt.* 1993. Vol. 32. P. 3531–3540.
41. Martin K. A. Direct measurement of moisture in skin by NIR spectroscopy // *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1993. Vol. 44. P. 249–261.
42. Ugryumova N., Matcher S. J., Attenburrow D. P. Measurement of bone mineral density via light scattering // *Phys. Med. Biol.* 2004. Vol. 49. P. 469–483.
43. Firbank M., Hiraoka M., Essenpreis M., Delpy D. T. Measurement of the optical properties of the skull in the wavelength range 650–950 nm // *Phys. Med. Biol.* 1993. Vol. 38. P. 503–510.
44. Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Tissue Optical Properties. Chapter 5 // *Handbook of Biomedical Optics* / eds. D. A. Boas, C. Pitris, N. Ramanujam. Boca Raton : Taylor & Francis Group ; L. : LLC ; N.Y. : CRC Press Inc., 2011. P. 67–100.
45. Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Lychagov V. V., Bibikova O. A., Semyachkin-Glushkovskiy I. A., Sindeev S. S., Zinchenko E. M., Kassim M. M., Ali A.-F.F., Leith A. H., Ulanova M. V., Tuchin V. V. The experimental study of stress-related pathological changes in cerebral venous blood flow in newborn rats assessed by DOCT // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. 2013. Vol. 6, № 3. 1350023.
46. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Tissue optical immersion clearing // *Expert Review of Medical Devices*. 2010. Vol. 7, № 6. P. 825–842.
47. Genina E. A., Bashkatov A. N., Larin K. V., Tuchin V. V. Light-tissue interaction at optical clearing. Chapter 7 // *Laser Imaging and Manipulation in Cell Biology* /



- ed. F. S. Pavone. Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2010. P. 115–164.
48. Борен К., Хафмен Д. Поглощение и рассеяние света малыми частицами. М. : Мир, 1986, 664 с.
49. Genina E. A., Bashkatov A. N., Korobko A. A., Zubkova E. A., Tuchin V. V., Yaroslavsky I. V., Altshuler G. B. Optical clearing of human skin: comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin // *J. Biomed. Opt.* 2008. Vol. 13, № 2. 021102.
50. Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. М. : Мир, 1980. 341 с.
51. Синдеев С. С., Лычагов В. В., Бибикина О. А., Уланова М. В., Гекалюк А. С., Разубаева В. И., Агранович И. М., Аль Хассани Л., Аль-Фатле Ф., Тучин В. В., Семьячкина-Глушковская О. В. Характеристика патологических изменений мозгового кровотока при развитии инсульта у гипертензивных крыс с помощью оптической когерентной томографии // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2014. Т. 14, вып. 3. С. 76–80.
52. Srinivasan V. J., Jiang J. Y., Yaseen M. , Radhakrishnan H., Wu W., Barry S., Cable A. E., Boas D. A. Rapid volumetric angiography of cortical microvasculature with optical coherence tomography // *Opt. Lett.* 2010. Vol. 35, № 1. P. 43–45.

Образец для цитирования:

Генина Э. А., Башкатов А. Н., Семьячкина-Глушковская О. В., Тучин В. В. Оптическое просветление черепной кости многокомпонентными иммерсионными растворами и визуализация церебрального венозного кровотока // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика.* 2017. Т. 17, вып. 2. С. 98–110. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-98-110.

Optical Clearing of Cranial Bone by Multicomponent Immersion Solutions and Cerebral Venous Blood Flow Visualization

E. A. Genina, A. N. Bashkatov,
O. V. Semyachkina-Glushkovskaya, V. V. Tuchin

Elina A. Genina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, eagenina@yandex.ru

Alexey N. Bashkatov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, a.n.bashkatov@mail.ru

Oxana V. Semyachkina-Glushkovskaya, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, glushkovskaya@mail.ru

Valery V. Tuchin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, tuchinvv@mail.ru

Background and Objectives: Optical clearing of bone tissue is of great practical interest, which opens up the possibility of the development of minimally invasive laser diagnostics and brain therapy. The aim of this work is the study of the optical clearing of cranial bone using multicomponent optical clearing agents, and the possibility of the measurement of cerebral blood flow. **Materials and Methods:** Optical clearing of rat skull bone *ex vivo* and *in vivo* using two solutions with different compositions and refractive indices comprising ethanol or thiasone as biological tissue permeability enhancers, has been studied in the paper. Kinetics of collimated transmission of the bone samples under the influence of these solutions has been measured in the spectral range of 600–900 nm, and Doppler optical coherence tomography (DOCT) of rat cerebral vessels has been carried out. **Results:** Within 4 hours, a relative increase in the collimated transmittance under the action of the immersion solutions with inclusion of ethanol and thiasone by 15% and 80%, respectively, has been obtained. The effectiveness of optical clearing of bone tissue has been 4.5±0.4% and 13.2±3.4%, respectively. The use of the solutions has contributed to significant improvement of visualization of vena cerebri magna using DOCT without damage of the cranial bone and allowed determining the velocity of blood flow in the vein in the normal

state (7 mm/sec) as well as under the action of adrenaline (5.5 mm/sec). **Conclusion:** Thus, it is shown that the use of these solutions increases the probing depth of DOCT and improves the imaging of cerebral blood vessels, which can be used in the diagnosis of various pathological changes, including blood disorders.

Key words: cranial bone, multicomponent immersion solutions, collimated transmittance, Doppler optical coherence tomography, effectiveness of optical clearing, cerebral blood flow.

Acknowledgements: Authors also want to thank Vladislav V. Lychagov for his help with DOCT.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of Russian Federation (project no. 12.1223.2017/PC) and grant of President of Russian Federation for the State support of leading scientific schools of the Russian Federation NSh-7898.2016.2.

References

1. Myllylä T., Toronov V., Claassen J., Kiviniemi V., Tuchin V. Near-infrared spectroscopy in multimodal brain research. Chapter 10. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. Ed. Valery V. Tuchin. 2nd ed.: in 2 vol. Vol. 1: Light – Tissue Interaction. Bellingham, SPIE Press, 2016, pp. 687–735.
2. Alderliesten T., De Vis J. B., Lemmers P. M. A., van Bel F., Benders, M.J.N.L., Hendrikse J., Petersen E. T. Simultaneous quantitative assessment of cerebral physiology using respiratory-calibrated MRI and near-infrared spectroscopy in healthy adults. *NeuroImage*, 2014, vol. 85, part 1, pp. 255–263.
3. Tong Y., Bergethon P. R., Frederick B. D. An improved method for mapping cerebrovascular reserve using concurrent fMRI and near-infrared spectroscopy with Regressor Interpolation at Progressive Time Delays (RIPTiDe). *NeuroImage*, 2011, vol. 56, no. 4, pp. 2047–2057.



4. Hoge R. D., Franceschini M. A., Covolan R. J. M., Huppert T., Mandeville J. B., Boas D. A. Simultaneous recording of task-induced changes in blood oxygenation, volume, and flow using diffuse optical imaging and arterial spin-labeling MRI. *NeuroImage*, 2005, vol. 25, no. 3, pp. 701–707.
5. Zhu D., Larin K., Luo Q., Tuchin V. V. Recent progress in tissue optical clearing. *Laser & Photonics Reviews*, 2013, vol. 7, no. 5, pp. 732–757.
6. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Yanina I. Yu., Tuchin V. V. Optical clearing of biological tissues: prospects of application in medical diagnostics and phototherapy. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*, 2015, vol. 1, no. 1, pp. 22–58.
7. Wang J., Zhang Y., Xu Th., Luo Qm., Zhu D. An innovative transparent cranial window based on skull optical clearing. *Laser Phys. Lett.*, 2012, vol. 9, pp. 469–473.
8. Bykov A., Hautala T., Kinnunen M., Popov A., Karhula S., Saarakkala S., Nieminen M. T., Tuchin V., Meglinski I. Imaging of subchondral bone by optical coherence tomography upon optical clearing of articular cartilage. *J. Biophotonics*, 2016, vol. 9, no. 3, pp. 270–275.
9. Neu C. P., Novak T., Gilliland K. F., Marshall P., Calve S. Optical clearing in collagen- and proteoglycan-rich osteochondral tissues. *Osteoarthr. Cartil.*, 2015, vol. 23, pp. 405–413.
10. Calve S., Ready A., Huppenbauer C., Main R., Neu C. P. Optical clearing in dense connective tissues to visualize cellular connectivity *in situ*. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, e0116662.
11. Berke I. M., Miola J. P., David M. A., Smith M. K., Price C. Seeing through musculoskeletal tissues: improving *in situ* imaging of bone and the lacunar canalicular system through optical clearing. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 3, e0150268.
12. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of cranial bone. *Advanced Optical Technologies*, 2008, vol. 2008, 267867.
13. Karma S., Homan J., Stoianovic C., Choi B. Enhanced fluorescence imaging with DMSO-mediated optical clearing. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2010, vol. 3, no. 3, pp. 153–158.
14. Zhu D., Wang J., Zhi Z., Wen X., Luo Q. Imaging dermal blood flow through the intact rat skin with an optical clearing method. *J. Biomed. Opt.*, 2010, vol. 15, 026008.
15. Zhi Z., Han Z., Luo Q., Zhu D. Improve optical clearing of skin *in vitro* with propylene glycol as a penetration enhancer. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2009, vol. 2, no. 3, pp. 269–278.
16. Sznitowska M. The influence of ethanol on permeation behavior of the porous pathway in the stratum corneum. *Int. J. Pharmacol.*, 1996, vol. 137, pp. 137–140.
17. Xu X., Zhu Q. Evaluation of skin optical clearing enhancement with Azone as a penetration enhancer. *Optics Communications*, 2007, vol. 279, pp. 223–228.
18. Jiang J., Wang R. K. How different molarities of oleic acid as enhancer exert its effect on optical clearing of skin tissue *in vitro*. *Journal of X-Ray Science and Technology*, 2005, vol. 13, pp. 149–159.
19. Chen K., Liang Y., Zhang Y. Study on reflection of human skin with liquid paraffin as the penetration enhancer by spectroscopy. *J. Biomed. Opt.*, 2013, vol. 18, no. 10, 105001.
20. Zhong H., Guo Z., Wei H., Guo L., Wang C., He Y., Xiong H., Liu S. Synergistic effect of ultrasound and Thiazone - PEG 400 on human skin optical clearing *in vivo*. *Photochemistry and Photobiology*, 2010, vol. 86, pp. 732–737.
21. Wen X., Jacques S.L., Tuchin V. V., Zhu D. Enhanced optical clearing of skin *in vivo* and optical coherence tomography in-depth imaging. *J. Biomed. Opt.*, 2012, vol. 17, no. 6, 066022.
22. Liu Y., Yang X., Zhu D., Luo Q. Optical clearing agents improve photoacoustic imaging in the optical diffusive regime. *Optics Letters*, 2013, vol. 38, no. 20, pp. 4236–4239.
23. Jin X., Deng Z., Wang J., Ye Q., Mei J., Zhou W., Zhang C., Tian J. Study of the inhibition effect of thiazone on muscle optical clearing. *J. Biomed. Opt.*, 2016, vol. 21, no. 10, 105004.
24. Kurihara-Bergstrom T., Knutson K., de Noble L. J., Goates C. Y. Percutaneous absorption enhancement of an ionic molecule by ethanol–water system in human skin. *Pharm. Res.*, 1990, vol. 7, pp. 762–766.
25. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Effect of ethanol on the transport of methylene blue through stratum corneum. *Medical Laser Application*, 2008, vol. 23, no. 1, pp. 31–38.
26. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Study of ethanol impact on the transepidermal transport of indocyanine green with backscattering spectroscopy. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2016, vol. 16, iss. 2, pp. 91–96. DOI: 10.18500/1817-3020-2016-16-2-91-96.
27. Histology. Bone tissue. Available at: http://histologybook.ru/kostnaja_tkan.html (accessed 27 January 2017) (in Russian).
28. Boskey A., Mendelsohn R. Infrared analysis of bone in health and disease. *J. Biomed. Opt.*, 2005, vol. 10, no. 3, 031102.
29. Ager III J. W., Nalla R. K., Breeden K. L., Ritchie R. O. Deep-ultraviolet Raman spectroscopy study of the effect of aging on human cortical bone. *J. Biomed. Opt.*, 2005, vol. 10, no. 3, 034012.
30. Berezov T. T., Korovkin B. F. *Biologicheskaya khimiya* [Biological chemistry]. Moscow, Medicine, 1990. 543 p. (in Russian).
31. Pifferi A., Torricelli A., Taroni P., Bassi A., Chikoidze E., Giambattistelli E., Cubeddu R. Optical biopsy of bone tissue: a step toward the diagnosis of bone pathologies. *J. Biomed. Opt.*, 2004, vol. 9, no. 3, pp. 474–480.
32. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008, vol. 3, pp. S131–S139.
33. White A., Hendler F., Smith E., Hill R., Leman I. *Osnovy biochimii* [Principles of biochemistry]: in 3th vol.



- Moscow, Mir, 1981, vol. 1, 539 p.; vol. 2, 619 p.; vol. 3, 731 p. (in Russian).
34. Fernández-Seara M.A., Wehrli S.L., Wehrli F.W. Diffusion of exchangeable water in cortical bone studied by nuclear magnetic resonance. *Biophysical Journal*, 2002, vol. 82, no. 1, pp. 522–529.
35. Wilson E. E., Awonusi A., Morris M. D., Kohn D. H., Tecklenburg M. M. J., Beck L. W. Three structural roles for water in bone observed by solid-state NMR. *Biophysical Journal*, 2006, vol. 90, no. 10, pp. 3722–3731.
36. Neuman W. F., Neuman M. W. *The chemical dynamics of bone mineral*. Chicago, University of Chicago Press, 1958. 209 p.
37. Wehrli F. W., Fernández-Seara M. A. Nuclear magnetic resonance studies of bone water. *Annals of Biomedical Engineering*, 2005, vol. 33, no. 1, pp. 79–86.
38. Ascenzi A., Fabry C. Technique for dissection and measurement of refractive index of osteones. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 1959, vol. 6, pp. 139–143.
39. Bourne G. H. *The biochemistry and physiology of bone*. New York, Academic Press, 1956. 888 p.
40. Kou L., Labrie D., Chylek P. Refractive indices of water and ice in the 0.65–2.5 μm spectral range. *Appl. Opt.*, 1993, vol. 32, pp. 3531–3540.
41. Martin K. A. Direct measurement of moisture in skin by NIR spectroscopy. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1993, vol. 44, pp. 249–261.
42. Ugryumova N., Matcher S.J., Attenburrow D. P. Measurement of bone mineral density via light scattering. *Phys. Med. Biol.*, 2004, vol. 49, pp. 469–483.
43. Firbank M., Hiraoka M., Essenpreis M., Delpy D. T. Measurement of the optical properties of the skull in the wavelength range 650–950 nm. *Phys. Med. Biol.*, 1993, vol. 38, pp. 503–510.
44. Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Tissue Optical Properties. Chapter 5. *Handbook of Biomedical Optics*. Eds. D. A. Boas, C. Pitris, N. Ramanujam. Boca Raton, London, New York, Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press Inc., 2011, pp. 67–100.
45. Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Lychagov V. V., Bibikova O. A., Semyachkin-Glushkovskiy I. A., Sindeev S. S., Zinchenko E. M., Kassim M. M., Ali A.-F. F., Leith A. H., Ulanova M. V., Tuchin V. V. The experimental study of stress-related pathological changes in cerebral venous blood flow in newborn rats assessed by DOCT. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2013, vol. 6, no. 3, 1350023.
46. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Tissue optical immersion clearing. *Expert Review of Medical Devices*, 2010, vol. 7, no. 6, pp. 825–842.
47. Genina E. A., Bashkatov A. N., Larin K. V., Tuchin V. V. Light-tissue interaction at optical clearing, Chapter 7. *Laser Imaging and Manipulation in Cell Biology*. Ed. F. S. Pavone. Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2010, pp. 115–164.
48. Bohren C. F., Huffman D. R. *Absorption and scattering of light by small particles*. New York, John Wiley & Sons Inc., 1983, 530 p.
49. Genina E. A., Bashkatov A. N., Korobko A. A., Zubkova E. A., Tuchin V. V., Yaroslavsky I. V., Altshuler G. B. Optical clearing of human skin: comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin. *J. Biomed. Opt.*, 2008, vol. 13, no. 2, 021102.
50. Kotyk A., Yanacek K. *Membranny transport* [Membrane transport]. Moscow, Mir, 1980, 341 p. (in Russian).
51. Sindeev S. S., Lychagov V. V., Bibikova O. A., Ulanova M. V., Gekaluk A. S., Razubaeva V. I., Agranovich I. M., Al Hassani L., Al-Fatle F., Tuchin V. V., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Characteristics of pathological changes in cerebral blood flow following stroke in hypertensive rats. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2014, vol. 14, iss. 3. pp. 76–80 (in Russian).
52. Srinivasan V. J., Jiang J. Y., Yaseen M., Radhakrishnan H., Wu W., Barry S., Cable A. E., Boas D. A. Rapid volumetric angiography of cortical microvasculature with optical coherence tomography. *Opt. Lett.*, 2010, vol. 35, no. 1, pp. 43–45.

Cite this article as:

Genina E. A., Bashkatov A. N., Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Tuchin V. V. Optical Clearing of Cranial Bone by Multicomponent Immersion Solutions and Cerebral Venous Blood Flow Visualization. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 98–110 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-98-110.



УДК 535.8, 612.111.6

ОПТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО – МОЛОДКИНОЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ОСТРЫХ НАРУШЕНИЯХ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ



О. Е. Фадюкова, А. Е. Луговцов, А. В. Приезжев, В. Б. Кошелев

Фадюкова Ольга Евгеньевна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии и общей патологии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, olefa@hotmail.ru

Луговцов Андрей Егорович, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, anlug@bmp.ilc.edu.ru

Приезжев Александр Васильевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры общей физики и волновых процессов; старший научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, avp2@mail.ru

Кошелев Владимир Борисович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и общей патологии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, vkoshelev@fbm.msu.ru

Анализовали гемореологические параметры при экспериментальном сахарном диабете (СД) и острых нарушениях мозгового кровообращения (ОНМК) у крыс с использованием лазерного агрегометра-деформометра эритроцитов и вискозиметра Брукфильд. Микрореологические параметры вычисляли путем анализа дифракционных картин от суспензии эритроцитов в сдвиговом потоке, а также при обработке зависимости интенсивности обратно рассеянного света от времени в процессе спонтанной агрегации и дезагрегации эритроцитов. У крыс с СД по сравнению с контролем на 21% уменьшалось время образования линейных агрегатов эритроцитов, и на 47% возрастала скорость образования линейных агрегатов. ОНМК снижали размер агрегатов на 20% по сравнению с контролем. Вязкость крови и деформируемость эритроцитов не изменялись, однако вязкость плазмы крови увеличилась на 7% у крыс с СД. Таким образом, СД ухудшает некоторые параметры гемореологии. Сопутствующие сахарному диабету ОНМК могут приводить к неоднозначным изменениям этих показателей реологии.

Ключевые слова: лазерная агрегометрия, лазерная дифрактометрия, агрегация эритроцитов, деформируемость эритроцитов, вязкость крови, сахарный диабет, острые нарушения мозгового кровообращения.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-111-120

Введение

Ток крови по сосудам микроциркуляторного русла зависит в большой степени от реологических свойств крови, а именно от вязкости крови,

которая определяется вязкостью плазмы крови, гематокритом, агрегационными свойствами и деформируемостью эритроцитов (ДЭ) [1–3]. Развитие сахарного диабета сопровождается нарушением макро- и микрореологических свойств крови [1, 2, 4]. Роль гемореологических факторов в адекватной перфузии органов и тканей активно изучается. Однако их роль в патогенезе заболеваний, связанных с нарушением углеводного обмена и регуляцией артериального давления, недостаточно ясна и находится на начальном этапе изучения.

Сахарный диабет (СД) – серьезное хроническое системное заболевание, которое развивается, когда поджелудочная железа не вырабатывает достаточно инсулина или когда организм не может эффективно использовать выработанный им инсулин. По данным Государственного регистра сахарного диабета в Российской Федерации, на 1 января 2015 г. число больных СД в России составило более 4 млн человек. При этом количество больных СД выросло за 5 лет на 23% [5]. СД является социально значимым заболеванием, и исследование всех аспектов патогенеза этого заболевания является актуальным. В большинстве случаев СД сопутствуют другие заболевания, в первую очередь артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз [5, 6].

При заболеваниях разного генеза, таких как артериальная гипертензия, СД, инсульт, инфаркт и другие, обнаруживают синдром повышенной вязкости крови [1–3, 7, 8]. Проблема гипервязкости крови и гиперагрегации эритроцитов при сахарном диабете, существенно определяющая тяжесть болезни и многие осложнения у пациентов с СД, является еще далеко не решенной и актуальной. Любой прогресс в ее решении поможет улучшить качество и увеличить продолжительность жизни большого числа людей.

Целью нашей работы было исследовать реологические свойства крови на экспериментальной модели сахарного диабета у лабораторных крыс. В связи с тем, что СД часто сопровождается



сердечно-сосудистыми заболеваниями, в наши исследования мы также включили анализ реологических параметров у животных, у которых моделировали и СД, и ОНМК. Поскольку и при СД, и при ОНМК имеются нарушения гемореологии [7–9], мы ожидали, что при их сочетании такие изменения должны быть более выраженными.

Материалы и методы

В опытах использовали самцов крыс массой 330 ± 4 г линии Крушинского–Молодкиной (КМ), генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. При действии сильного звука у крыс линии КМ развивается судорожный припадок, в подавляющем большинстве случаев заканчивающийся тоническими судорогами [10, 11]. При длительной звуковой экспозиции по специально разработанной схеме у крыс линии КМ развивается гипертензивная энцефалопатия и возникают ОНМК преимущественно геморрагического типа [10, 11]. Животных содержали при свободном доступе к пище и воде. Эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также рекомендациями, изложенным в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [12].

Животных разделили на четыре группы: 1) «контроль» ($n=8$); 2) крысы, которых подвергали аудиогенному стрессу (группа «ОНМК») ($n=7$); 3) крысы с СД (группа «СД») ($n=11$); 4) крысы с СД, которых подвергали аудиогенному стрессу (группа «СД+ОНМК», $n=11$). В начале эксперимента у всех животных оценивали концентрацию глюкозы в крови с помощью глюкометра Айчек (iCheck, UK). Пробы крови получали через разрез кожи на кончике хвоста при локальной анестезии лидокаином. Экспериментальный СД моделировали с помощью стрептозотоцина, избирательно токсичного для продуцирующих инсулин β -клеток островков Лангерганса [13]. Часть животных (группа «СД» и группа «СД+ОНМК») получала инъекцию стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг интраперитонеально. Стрептозотоцин разводили в 0.1 М цитратном буфере (рН=4.5), охлаждали до $+4^\circ\text{C}$ и быстро вводили животному. Другой части крыс (группа «контроль» и группа «ОНМК») вводили 0.1 М цитратный буфер, охлажденный до $+4^\circ\text{C}$. Через 3 дня контролиро-

вали концентрацию глюкозы в крови для оценки эффективности действия введенного препарата. Животных брали в острый опыт через 6 недель после введения стрептозотоцина. Перед началом острого эксперимента у животных измеряли концентрацию глюкозы в крови.

Крыс групп ОНМК и СД+ОНМК за 2.5 ч до получения проб крови для гемореологических исследований подвергали звуковому воздействию по стандартной схеме [10, 11]. Через 2.5 ч после звукового воздействия животных наркотизировали (хлоралгидрат, 450 мг/кг), получали пробы крови из нижней полой вены. Затем животных умертвляли передозировкой наркоза и оценивали внутричерепные кровоизлияния. В качестве антикоагулянта использовали EDTA (2 мг/мл). Кровь центрифугировали при 1500 g в течение 5 мин при комнатной температуре [14]. Определяли гематокрит с использованием гематокритной центрифуги СМ-70 и доводили его до стандартного значения 40% для измерения агрегации эритроцитов [2, 14]. Полученную таким же образом плазму крови использовали для определения ее вязкости. Для оценки кажущейся вязкости крови использовали цельную кровь.

Кажущуюся вязкость цельной крови и вязкость плазмы крови определяли с помощью ротационного вискозиметра Брукфильд (Brookfield, США) для неньютоновских жидкостей LV DV-II+ с измерительной системой конус/плита для малых образцов (шпиндель СРЕ-40) при температуре 37°C . Агрегацию и деформируемость эритроцитов оценивали оптическим методом с помощью автоматического коаксиально-цилиндрического лазерного агрегометра-деформометра эритроцитов «РеоАДВ-КФ» (ООО «РеоМедЛаб», Россия); реологический зазор – 1.0 мм, $\lambda = 630$ нм).

Кинетику агрегации и дезагрегации эритроцитов исследовали путем измерения интенсивности обратного светорассеяния. Процесс спонтанной агрегации эритроцитов в цельной крови регистрировали в течение 2 мин после остановки вращения наружного цилиндра ($\dot{\gamma} = 4500$ с $^{-1}$). Процесс дезагрегации эритроцитов оценивали при пошаговом увеличении скорости сдвига от ~ 2.5 до ~ 130 с $^{-1}$. Полученная при исследовании агрегации эритроцитов кривая светорассеяния (I) в полулогарифмических координатах может быть представлена как сумма двух экспонент [15]: $I(t) = I_1 e^{-t/T_1} + I_2 e^{-t/T_2}$, где T_1 – характерное время образования линейных



агрегатов, а T_2 – характерное время образования трехмерных агрегатов. Для оценки характерного размера эритроцитарных агрегатов используют параметр A , представляющий собой разность сигнала обратного рассеяния I_a , измеренного в момент начала процесса агрегации и в момент ее окончания. Полученная при дезагрегации эритроцитов кривая зависимости интенсивности обратного светорассеяния (I_d) от скорости сдвига ($\dot{\gamma}$) спрямляется в полулогарифмических координатах. Процесс распада агрегатов эритроцитов при пошаговом увеличении скорости сдвига от 2.5 до $\sim 130 \text{ c}^{-1}$ описывается с использованием параметра β (показатель гидродинамической прочности агрегатов) – котангенса угла наклона прямой $\ln I_d(\dot{\gamma})$, где I_d – интенсивность обратного светорассеяния, измеряемая в процессе дезагрегации (d), $\dot{\gamma}$ – скорость сдвига.

Прочность крупных агрегатов оценивали, используя параметр $I_{2.5} = 100\% \cdot (I_0 - I_{2.5})/I_0$, где $I_{2.5}$ – интенсивность обратного светорассеяния, соответствующая скорости сдвига 2.5 c^{-1} , а I_0 – разность между I , характеризующей состояние максимальной агрегации эритроцитов, и I , характеризующей конечный результат последующей дезагрегации в сдвиговом потоке. Параметру $I_{2.5}$ присваивается отрицательный знак для соблюдения соответствия увеличения его значения при возрастании прочности агрегатов [16].

Деформируемость эритроцитов в сдвиговом потоке (при скоростях сдвига от 5 до 4500 c^{-1}) исследовали методом эктацитометрии [17]. Образцы крови разбавляли в 500 раз 1.5%-ным раствором высокомолекулярного полиэтиленоксида (ММ = $4 \cdot 10^6$) до получения суспензии. Луч лазера, проходящий через взвесь эритроцитов, испытывает дифракцию Фраунгофера, и на чувствительный элемент видеокамеры, установленный в фокальной плоскости линзы, проецируется дифракционная картина, усредняемая по большому числу эритроцитов, попадающих в лазерный пучок при движении в потоке суспензии за единицу времени. Индекс деформируемости (вытянутости под действием сдвигового напряжения в потоке) эритроцитов определяли как $P = (a - b)/(a + b)$, где a и b – большая и малая полуоси эллипсов, которыми моделируются уровни одинаковой интенсивности. Графики зависимости усреднённого индекса деформируемости эритроцитов от скорости сдвига в полулогарифмической шкале аппроксимировали прямой по методу наименьших квадратов

и определяли точку перегиба $\dot{\gamma}_0$ графика $P(\ln \dot{\gamma})$, соответствующую пределу текучести мембраны эритроцитов, и тангенс угла наклона $\text{tg} \alpha$ этого графика, характеризующий вязкость внутреннего наполнения эритроцитов. Предельную деформацию эритроцитов в потоке оценивали с помощью индекса деформируемости, P_{max} – при максимальной скорости сдвига $\dot{\gamma}_{\text{max}} = 4500 \text{ c}^{-1}$ [18].

Статистический анализ данных выполнен с использованием непараметрических критериев: парного критерия Вилкоксона для оценки внутригрупповых различий и критерия Манна – Уитни для анализа межгрупповых отличий. Различия считали значимыми при $p < 0.05$. Данные представлены в виде среднее \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты исследования

Исходная концентрация глюкозы в крови крыс линии КМ контрольной группы была 6.1 ± 0.2 ммоль/л и была практически такой же во всех остальных группах. Инъекция 0.1 М цитратного буфера не вызывала изменения уровня глюкозы в крови (6.1 ± 0.3 ммоль/л, $p > 0.05$). Инъекция стрептозотоцина приводила к развитию стойкой гипергликемии и значимому увеличению концентрации глюкозы в крови до 34 ± 2 ммоль/л в группе «СД» и до 34.7 ± 2.5 ммоль/л в группе «СД + ОНМК» ($p < 0.05$ по сравнению с контролем). Гематокрит в контрольной группе составлял $45 \pm 1.5\%$, практически таким же был и в других группах.

У крыс линии КМ как с сахарным диабетом так и без него, подвергнутых звуковому воздействию, оценивали параметры, характеризующие возбудимость ЦНС и ОНМК. Латентный период до начала судорожного припадка, характеризующий судорожную готовность, значимо не изменился у крыс линии КМ с диабетом, однако интенсивность судорожного припадка у них была снижена (рис. 1, а, б). Если у большинства крыс без СД развивались эпилептиформные судороги максимальной интенсивности (тонические судороги с остановкой дыхания и цианозом – 4 балла по балльной шкале), то у большинства животных с СД развивался судорожный припадок меньшей интенсивности (клонические судороги на брюшке или на боку – 2 или 3 балла) (рис. 1, б). Вместе с тем итоговые нарушения движений при длительной звуковой

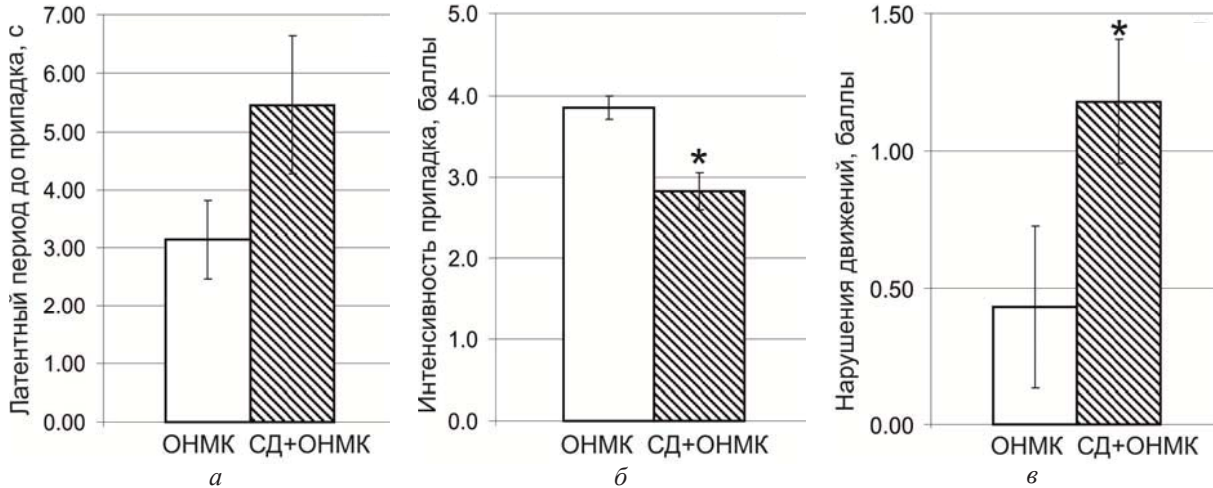


Рис. 1. Латентный период до судорожного припадка (а), интенсивность судорожного припадка (б), степень нарушения движений (в) у крыс линии КМ с сахарным диабетом во время звуковой экспозиции; * $p < 0.05$ по сравнению с контролем

экспозиции, отражающие ОНМК, были сильнее выражены у крыс с сахарным диабетом ($p < 0.05$, рис. 1, в). При морфологическом исследовании у части животных обнаружили кровоизлияния, однако различий между группами не выявили.

Вязкость плазмы крови была значимо выше в группе крыс линии КМ с СД. При этом в группе СД+ОНМК вязкость плазмы крови не отличалась от контроля (рис. 2).

При СД и ОНМК кажущаяся вязкость крови не изменилась (рис. 3).

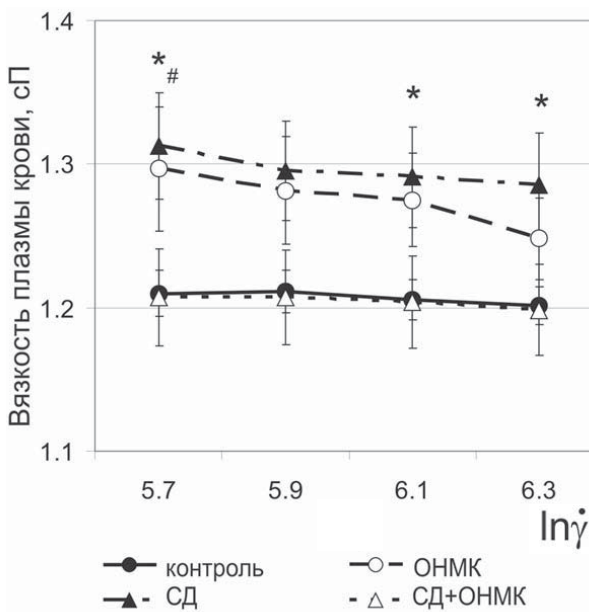


Рис. 2. Вязкость плазмы крови у крыс линии КМ с сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения; * $p < 0.05$ по сравнению с контролем, # $p < 0.05$ – СД по сравнению СД + ОНМК

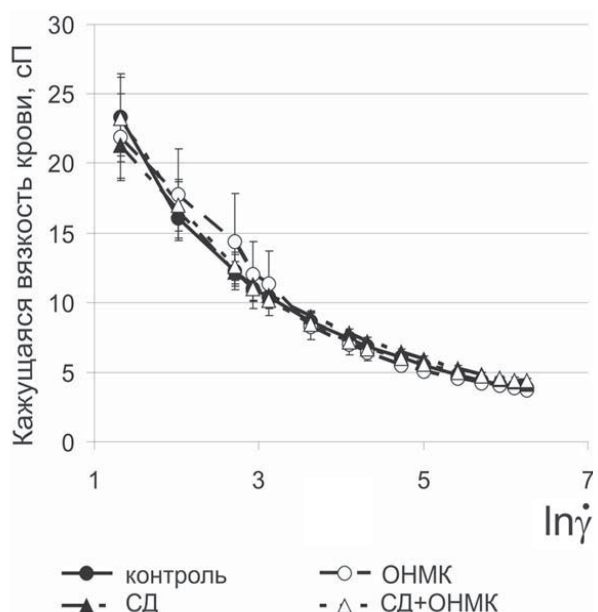


Рис. 3. Кажущаяся вязкость крови у крыс линии КМ с сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения

Показатели деформируемости эритроцитов у крыс с экспериментальным СД и ОНМК значимо не изменились (таблица).

При анализе параметров агрегации мы обнаружили, что у крыс с СД по сравнению с контролем уменьшилось характерное время



Показатели деформируемости эритроцитов у крыс линии КМ с сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения

Группы	P_{\max} , отн.ед.	$tg\alpha$, отн.ед.	$\ln(\check{Y}_0)$, отн.ед.
Контроль	0.44 ± 0.01	0.07 ± 0.002	3.04 ± 0.16
ОНМК	0.46 ± 0.01	0.07 ± 0.002	2.79 ± 0.13
СД	0.45 ± 0.01	0.07 ± 0.002	2.98 ± 0.11
СД+ОНМК	0.45 ± 0.01	0.08 ± 0.001	3.17 ± 0.11

образования линейных агрегатов T_1 на 21% и увеличилась скорость образования линейных агрегатов K_t на 47% ($p < 0.05$). ОНМК вызывали снижение характерного размера агрегатов A на

20% по сравнению с контролем ($p < 0.05$, рис. 4). Однако у крыс линии КМ с СД + ОНМК параметры агрегации не отличались от контрольных значений (см. рис. 4).

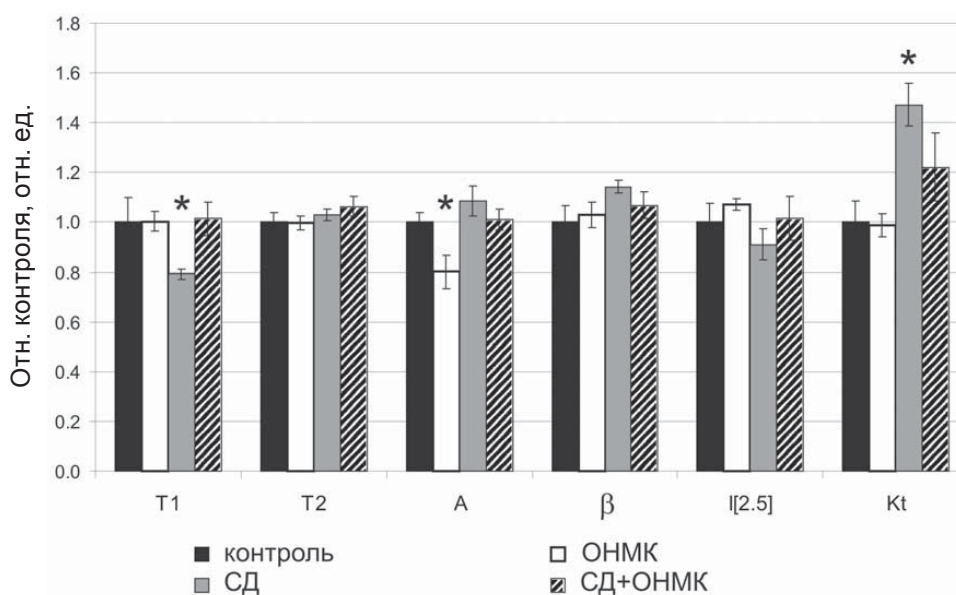


Рис. 4. Агрегация эритроцитов у крыс КМ с экспериментальным сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения. T_1 – характерное время спонтанного образования линейных агрегатов; T_2 – характерное время образования трехмерных агрегатов; A – характерный размер эритроцитарных агрегатов; β – показатель общей гидродинамической прочности агрегатов; $I_{2.5}$ – параметр, характеризующий прочность самых крупных агрегатов; K_t – скорость образования линейных агрегатов. Результаты нормированы относительно контрольной пробы; * $p < 0.05$ по сравнению с контролем

Результаты и их обсуждение

В наших опытах через 6 недель после введения стрептозотоцина у крыс линии КМ развивалась стойкая гипергликемия: концентрация глюкозы в крови была увеличена в 5.8–6 раз по сравнению с исходными значениями. У животных развился инсулинзависимый диабет. Для экспериментального моделирования острой артериальной гипертензии, сопровождающейся ОНМК, крыс линии КМ подвергали звуковому воздействию. В группе крыс с экспериментальным сахарным диабетом практически не изме-

нился латентный период до начала судорожного припадка, однако на 27% снижалась интенсивность судорожного припадка по сравнению с таковой в группе крыс без диабета. Такое снижение возбудимости ЦНС у крыс с СД мы связываем с проявлением диабетической невропатии, которая, по данным литературы, возникает значительно раньше при развитии гипергликемии у животных со стрептозотоциновым диабетом, чем нарушения в органах-мишенях [19]. В условиях гипергликемии увеличивается концентрация побочного продукта гликолиза метилглиоксаля.



Это вещество и ряд других соединений обладают высокой гликирующей активностью, что способствует образованию конечных продуктов усиленного гликирования (advanced glycation end-products), участвующих в развитии диабетических осложнений [20]. Интересно, что в норме метилглиоксаль в ЦНС является конкурентным частичным агонистом ГАМК(А) рецепторов и поэтому его накопление при гипергликемии, вероятно, также может способствовать снижению возбудимости ЦНС у крыс КМ с СД [21]. В группе крыс с диабетом при финальном звуковом воздействии нарушения движений в баллах в среднем были в 2.7 раза выше, чем в группе без диабета. Во время эпилептиформных судорог происходит многократное увеличение мозгового кровотока [11]. Однако возросшие метаболические потребности возбужденных нейронов в кислороде и глюкозе не удовлетворяются [22]. Это позволяет заключить, что нарушения движений, которые регистрируются во время длительной звуковой экспозиции, отражают не только нарушения мозгового кровообращения геморрагического типа, возникающие вследствие разрывов венозных сосудов при повышении артериального давления выше верхней границы ауторегуляции мозгового кровотока, но и прогрессирующую гипоксию нервной ткани [10, 11]. В связи с этим в наших опытах более выраженные нарушения движения у крыс линии КМ с сахарным диабетом по сравнению с крысами без диабета, по-видимому, отражают более высокую кислородную недостаточность нейронов мозга при сильном возбуждении. Это может быть обусловлено не только изменением гемореологии, определяющей кровоток в сосудах микроциркуляторного русла, но и вызванными СД изменениями на уровне самих кровеносных сосудов и их регуляции. Как следствие, развивается ухудшение адекватного кровоснабжения нервной ткани при диабете [23].

В наших экспериментах у крыс линии КМ со стрептозотоциновым СД кажущаяся вязкость крови не изменилась, однако увеличилась вязкость плазмы крови на 7% у крыс с СД по сравнению с контролем. Согласно литературным данным, при СД обычно регистрируют увеличение вязкости плазмы [1, 4], тогда как не всегда обнаруживают изменение вязкости крови при инсулинзависимом диабете, но находят ее увеличенной при инсулиннезависимом диабете [7].

Мы не обнаружили изменения деформируемости эритроцитов при СД и ОНМК у крыс линии КМ. Эритроциты, деформируясь при

прохождении через микрососуды и регионы с низким парциальным давлением кислорода, выделяют такие важные регуляторные вещества, как АТФ и оксид азот, и способствуют расширению сосудов и гиперемии [24, 25]. В литературе имеются данные о снижении деформируемости эритроцитов при СД, которое четко коррелирует с развитием таких осложнений диабета, как микроангиопатии [9].

У крыс с ОНМК снижение характерного размера агрегатов эритроцитов на 20% по сравнению с контролем могло быть обусловлено изменением формы клеток при ОНМК, что послужило препятствием к образованию агрегатов.

При стрептозотоциновом СД у крыс увеличилась агрегация эритроцитов по сравнению с контролем: уменьшилось характерное время образования линейных агрегатов T_1 на 21% и увеличилась скорость образования линейных агрегатов K_1 на 47%. В литературе есть данные о росте агрегации эритроцитов и увеличении кинетики агрегации при СД [7, 26]. Ускоренное образование агрегатов при СД, по-видимому, может способствовать нарушению микроциркуляции.

При СД на протяжении 100–120 дней своей жизни эритроциты находятся в гипергликемических условиях и подвергаются модификации, изменяющей их агрегационные и деформационные свойства и, как следствие, их поведение в сосудах [1, 4, 7, 9]. В патогенезе СД имеет значение неферментативное гликозилирование белков плазмы и мембраны эритроцитов, которое может приводить к изменению их функции и увеличивает иммуногенность [27]. Гликированный гемоглобин (HbA1c) является предвестником сосудистых осложнений диабета и смертности [28]. Гликирование поверхностных и цитоплазматических белков эритроцитов, белков плазмы крови, по-видимому, может изменять взаимодействие эритроцитов и приводить к усилению их агрегации. При СД в плазме крови повышается концентрация фибриногена и понижается уровень альбумина – важных компонентов агрегации эритроцитов согласно «мостиковой» модели [1, 29]. Повышенная концентрация фибриногена при СД увеличивает вязкость плазмы и может способствовать повышенной агрегации эритроцитов [1, 2]. Патологическая агрегация сопровождается перераспределением эритроцитов в прекапиллярных сетях и уменьшением плотности содержащих эритроциты («функциональных») капилляров. Выраженная патологическая агрегация эритроцитов, особенно в сочетании с



другими процессами, создает основу для развития микроциркуляторной патологии [3].

В группе СД с ОНМК мы ожидали обнаружить увеличение выраженности гемореологических нарушений по сравнению с группой СД и группой ОНМК. Однако, напротив, в этой группе все нарушения гемореологии, обнаруженные при СД, нивелировались: параметры агрегации эритроцитов и вязкость плазмы не отличались от значений в контроле. Механизм этого явления требует дополнительных исследований.

Заключение

Таким образом, у крыс с экспериментально вызванным сахарным диабетом мы обнаружили увеличение агрегации эритроцитов преимущественно за счет ускорения образования линейных агрегатов и увеличение вязкости плазмы крови. Эти изменения могут быть не только следствием патологического состояния, но могут способствовать его прогрессированию, а также развитию осложнений. Эксперименты на животных расширяют аналитические возможности, так как в клинической практике зачастую трудно точно определить начало развития патологического процесса, адекватно подобрать контрольную группу пациентов, а также для больных недопустима отмена терапевтического лечения и применения фармакологических средств. Анализ изменений реологических параметров у людей с СД, механизмов этих изменений, направленный подбор адекватной терапии могут снизить прогрессирование осложнений и улучшить уровень жизни пациентов с СД.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-15-00602).

Список литературы

1. Муравьев А. В., Чепоров С. В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови). Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. 178 с.
2. Фирсов Н. Н., Джанашия П. Х. Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию. М. : Изд-во РГМУ, 2008. 274 с.
3. Соколова И. А. Агрегация эритроцитов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2010. Т. 9, № 4. С. 4–26.
4. Муравьев А. В., Замышляев А. В., Тихомирова И. А., Чучканов Ф. А., Булаева С. В., Маймистова А. А. Изменение реологического профиля у больных диабетом 1 и 2 типа при лечении Тренталом // Клиническая фармакология и терапия. 2009. № 2. С. 87–90.
5. Дедов И. И., Шестакова М. В., Викулова О. К. Государственный регистр сахарного диабета в Российской Федерации : статус 2014 г. и перспективы развития // Сахарный диабет. 2015. Т. 18, № 3. С. 5–23. DOI: 10.14341/DM201535-22.
6. Sowers J. R., Epstein M. Risk factors for arterial disease in diabetes : hypertension // Diabetic Angiopathy / ed. J. E. Tooke. L. : Arnold Publ., 1999. P. 45–63.
7. Le Devehat C., Vimeux M., Khodabandehlou T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004. Vol. 30. P. 97–300.
8. Fisher M., Meiselman H. J. Hemorheological factors in cerebral ischemia // Stroke. 1991. Vol. 22. P. 1164–1169.
9. Cahn A., Livshits L., Srulevich A., Raz I., Yedgar S., Barshtein G. Diabetic foot disease is associated with reduced erythrocyte deformability // Intern. Wound J. 2016. Vol. 13, № 4. P. 500–504.
10. Крушинский Л. В. Формирование поведения животных в норме и патологии. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1960. 264 с.
11. Фадюкова О. Е., Кузнецов В. С., Крушинский А. Л., Кошелев В. Б. Крысы Крушинского – Молодкиной – модель нарушений мозгового кровообращения : ишемическое прекондиционирование и устойчивость к звуковому стрессу // Формирование поведения животных в норме и патологии : К 100-летию со дня рождения Л. В. Крушинского (1911–1984) : сб. науч. ст. М. : Изд-во «Языки славянской культуры», 2013. С. 392–402.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств : в 2 ч. / отв. ред. А. Н. Миронов. М. : Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.
13. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // Diabetologia. 2008. Vol. 51, № 2. P. 216–226.
14. Baskurt O. K., Boynard M., Cokelet G. C., Connes P., Cooke B. M., Forconi S., Liao F., Hardeman M. R., Jung F., Meiselman H. J., Nash G., Nemeth N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. L. New guidelines for hemorheological laboratory techniques // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009. Vol. 42, № 2. P. 75–97.
15. Priezzhev A. V., Firsov N. N., Lademann J. Light Scattering Diagnostics of Red Blood Cell Aggregation in Whole Blood Samples. Chapter 11 // Handbook of Optical Biomedical Diagnostics / ed. V. V. Tuchin. First ed. Bellingham : SPIE Press, WA, 2002. P. 651–674.
16. Korotaeva T. V., Firsov N. N., Bjelle A., Vishlova M. A. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2007. Vol. 36, № 4. P. 335–343.
17. Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E. Diffraction by the Erythrocytes and Deformability Measurements // Advanced Optical Flow Cytometry : Methods and Disease Diagnoses / ed. V. V. Tuchin. First ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2011. P. 133–154. DOI: 10.1002/9783527634286.ch6.



18. Фирсов Н. Н., Приезжев А. В., Климова Н. В., Тюрина А. Ю. Основные закономерности деформационного поведения эритроцитов в сдвиговом потоке // Инженерно-физический журн. 2006. Т. 79, № 1. С. 114–120.
19. Kalichman M. W., Dines K. C., Bobik M., Mizisin A. P. Nerve conduction velocity, laser Doppler flow, and axonal caliber in galactose and streptozotocin diabetes // Brain Res. 1998. Vol. 810, № 1–2. P. 130–137.
20. Allaman I., Bélanger M., Magistretti P. J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis // Front. Neurosci. 2015. Vol. 9. P. 1–12.
21. Distler M. G., Plant L. D., Sokoloff G., Hawk A. J., Aneas I., Wuenschell G. E., Termini J., Meredith S. C., Nobrega M. A., Palmer A. A. Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABAA receptor agonist methylglyoxal // J. Clin. Invest. 2012. Vol. 122, № 6. P. 2306–2315.
22. Zhao M., Ma H., Suh M., Schwartz T. H. Spatio-temporal dynamics of perfusion and oximetry during ictal discharges in the rat neocortex // J. Neurosci. 2009. Vol. 29, № 9. P. 2814–2823.
23. Huang J. Y., Li L. T., Wang H., Liu S. S., Lu Y. M., Liao M. H., Tao R. R., Hong L. J., Fukunaga K., Chen Z., Wilcox C. S., Lai E. Y., Han F. In vivo two-photon fluorescence microscopy reveals disturbed cerebral capillary blood flow and increased susceptibility to ischemic insults in diabetic mice // CNS Neurosci. Ther. 2014. Vol. 20, № 9. P. 816–822.
24. González-Alonso J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans // J. Physiol. 2012. Vol. 590, № 20. P. 5001–5013.
25. Ulker P., Yaras N., Yalcin O., Celik-Ozenci C., Johnson P. C., Meiselman H. J., Baskurt O. K. Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells // Nitric Oxide. 2011. Vol. 24, № 4. P. 184–191.
26. Cloutier G., Zimmer A., Yu F. T., Chiasson J. L. Increased shear rate resistance and fastest kinetics of erythrocyte aggregation in diabetes measured with ultrasound // Diabetes Care. 2008. Vol. 31, № 7. P. 1400–1402.
27. Wu W. C., Ma W. Y., Wei J. N., Yu T. Y., Lin M. S., Shih S. R., Hua C. H., Liao Y. J., Chuang L. M., Li H. Y. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus // PLoS One. 2016. Vol. 11, № 1: e0146780. DOI: 10.1371/journal.pone.0146780.
28. Вельков В.В. Гликозилированный гемоглобин в диагностике сахарного диабета и в оценке риска его осложнений // Клинико-лабораторный консилиум. 2008. № 4. С. 32–45.
29. Jain A., Gupta H. L., Narayan S. Hyperfibrinogenemia in patients of diabetes mellitus in relation to glycemic control and urinary albumin excretion rate // J. Assoc. Physicians India. 2001. Vol. 49. P. 227–230.

Образец для цитирования:

Фадюкова О. Е., Луговцов А. Е., Приезжев А. В., Кошелев В. Б. Оптическое исследование реологических свойств крови у крыс линии Крушинского – Молодкиной при сахарном диабете и острых нарушениях мозгового кровообращения // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 111–120. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-111-120.

Optical Study of Blood Rheological Properties for Krushinsky – Molodkina Strain Rats with Diabetes Mellitus and Acute Disturbances of the Cerebral Circulation

O. E. Fadyukova, A. E. Lugovtsov,
A. V. Priezzhev, V. B. Koshelev

Olga E. Fadyukova, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, olefa@hotmail.ru

Andrei E. Lugovtsov, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, anlug@bmp.ilc.edu.ru.

Alexander V. Priezzhev, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, avp2@mail.ru.

Vladimir B. Koshelev, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, vkoshelev@fbm.msu.ru

Background and Objectives: The aim of the study was to assess the hemorheological parameters for rats with experimental diabetes and acute disturbances of the cerebral circulation. **Materials and Methods:** For modeling of the acute cerebral circulation disturbances (ACCD) the epilepsy-prone rats of Krushinsky–Molodkina strain were used. During the application of the

specifically elaborated standard procedure of sound stimulation a strong sound impact leads to ACCD predominantly of the hemorrhagic type. Hemorheologic study was performed six weeks after streptozotocin administration used for modeling diabetes mellitus (DM). **Results:** Characteristic time of linear aggregates formation T_1 decreases by 21% and the rate of linear aggregates formation K_f increases by 47% ($p < 0.05$) for DM rats in comparison with the control group. ACCD lead to decreasing of the characteristic size of the aggregates by 20% in comparison to the control group ($p < 0.05$). The erythrocyte deformability and whole blood viscosity were not changed, but the blood plasma viscosity was increased by 7% in diabetic rats compared to controls. **Conclusion:** Thus, DM impairs some of hemorheological parameters. However, ACCD associated with DM can lead to different changes in these parameters. Analysis of rheological parameters and the selection of adequate therapy can reduce the progression of complications and improve the quality of living with diabetes.

Key words: laser aggregometry, laser diffractometry, red blood cells aggregation and deformability, blood viscosity, diabetes mellitus, acute stroke.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Scientific Foundation (project no. 14-15-00602).



References

- Muravyov A. V., Cheporov S. V. *Gemoreologiya (eksperimental'nye i klinicheskie aspekty reologii krovi)* [Hemorheology (experimental and clinical aspects of blood rheology)]. Iaroslavl': Izd-vo IaGPU, 2009. 178 p. (in Russian).
- Firsov N. N., Dzhanashia P. H. *Vvedenie v eksperimental'nuiu i klinicheskuiu gemoreologiyu* [Introduction into experimental and clinical hemorheology]. Moscow, Izd-vo RGMU, 2008. 274 p. (in Russian).
- Sokolova I. A. Agregatsiya eritrotsitov [Erythrocyte aggregation]. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya* [Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya], 2010, vol. 9, no. 4. pp. 4–26 (in Russian).
- Muravyov A. V., Zamishlayev A. V., Tikhomirova I. A., Chuchkanov F. A., Bulaeva S. V., Maimistova A. A. Izmenenie reologicheskogo profilya u bol'nykh diabetom 1 i 2 tipa pri lechenii Trentalom [Alteration in rheological profile in patients with diabetes melitus type I and II under treatment with Trental]. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya [Klinicheskaya farmakologiya i terapiya]*. 2009, no. 2, pp. 87–90 (in Russian).
- Dedov I. I., Shestakova M. V., Vikulova O. K. Gosudarstvennyi registr sakharnogo diabeta v Rossiiskoi Federatsii: status 2014 g. i perspektivy razvitiya [National register of diabetes mellitus in Russian Federation: status on 2014]. *Sakharnyi diabet [Sakharnyi diabet]*, 2015, vol. 18, no. 3, pp. 5–23. DOI: 10.14341/DM201535-22 (in Russian).
- Sowers J. R., Epstein M. Risk factors for arterial disease in diabetes: hypertension. In: *Diabetic Angiopathy*. Ed. J. E. Tooke. London, U.K., Arnold Publ., 1999, pp. 45–63.
- Le Devehat C., Vimeux M., Khodabandehlou T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2004, vol. 30, pp. 97–300.
- Fisher M., Meiselman H. J. Hemorheological factors in cerebral ischemia. *Stroke*, 1991, vol. 22, pp. 1164–1169.
- Cahn A., Livshits L., Srulovich A., Raz I., Yedgar S., Barshtein G. Diabetic foot disease is associated with reduced erythrocyte deformability. *Int. Wound J.*, 2016, vol. 13, no. 4, pp. 500–504.
- Krushinsky L. V. *Formirovanie povedeniya zivotnykh v norme i patologii* [Formation of animal behaviour in norm and in pathology]. Moscow, Moscow University Press, 1960. 264 p. (in Russian).
- Fadyukova O. E., Kuzenkov V. S., Krushinsky A. L., Koshelev V. B. Krysy Krushinskogo–Molodkinoi – model' narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya: ishemicheskoe prekonditsionirovanie i ustoichivost' k zvukovomu stressu [Rats of Krushinsky–Molodkina strain – the model of cerebral circulation disturbances: ischemic preconditioning and the resistance to acoustic stress]. *Formirovanie povedeniya zivotnykh v norme i patologii: K 100-letiyu so dnya rozhdeniya L. V. Krushinskogo (1911–1984)* [Formation of the animal behaviour in norm and pathology: on the 100th anniversary of the birth of L. V. Krushinsky (1911–1984)]. Moscow, Izd-vo «Zyazyki slavianskoi kul'tury», 2013, pp. 392–402 (in Russian).
- Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for preclinical studies of drugs]: in 2 pt. Ed. A. N. Mironov. Moscow, Grif i K, 2012, part 1. 944 p. (in Russian).
- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 2008, vol. 51, no. 2, pp. 216–226.
- Baskurt O. K., Boynard M., Cokelet G. C., Connes P., Cooke B. M., Forconi S., Liao F., Hardeman M. R., Jung F., Meiselman H. J., Nash G., Nemeth N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. L. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 75–97.
- Priezzhev A. V., Firsov N. N., Lademann J. Light Scattering Diagnostics of Red Blood Cell Aggregation in Whole Blood Samples, Chapter 11. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. Ed. Valery V. Tuchin. First ed. Bellingham, SPIE Press, WA, 2002, pp. 651–674.
- Korotaeva T. V., Firsov N. N., Bjelle A., Vishlova M. A. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2007, vol. 36, no. 4, pp. 335–343.
- Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E. Diffraction by the Erythrocytes and Deformability Measurements. *Advanced Optical Flow Cytometry: Methods and Disease Diagnoses*. Ed. Valery V. Tuchin. First ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2011, pp. 133–154. DOI: 10.1002/9783527634286.ch6.
- Firsov N. N., Priezzhev A. V., Klimova N. V., Tyurina A. Yu. Fundamental laws of the deformational behavior of erythrocytes in shear flow. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2006, vol. 79, no. 1, pp. 118–124.
- Kalichman M. W., Dines K. C., Bobik M., Mizisin A. P. Nerve conduction velocity, laser Doppler flow, and axonal caliber in galactose and streptozotocin diabetes. *Brain Res.*, 1998, vol. 810, no. 1–2, pp. 130–137.
- Allaman I., Bélanger M., Magistretti P.J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. *Front. Neurosci.*, 2015, vol. 9, pp. 1–12.
- Distler M. G., Plant L. D., Sokoloff G., Hawk A. J., Aneas I., Wuenschell G. E., Termini J., Meredith S. C., Nobrega M. A., Palmer A. A. Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABAA receptor agonist methylglyoxal. *J. Clin. Invest.*, 2012, vol. 122, no. 6, pp. 2306–2315.
- Zhao M., Ma H., Suh M., Schwartz T. H. Spatio-temporal dynamics of perfusion and oximetry during ictal discharges in the rat neocortex. *J. Neurosci.*, 2009, vol. 29, no. 9, pp. 2814–2823.



23. Huang J. Y., Li L. T., Wang H., Liu S. S., Lu Y. M., Liao M. H., Tao R. R., Hong L. J., Fukunaga K., Chen Z., Wilcox C. S., Lai E. Y., Han F. *In vivo* two-photon fluorescence microscopy reveals disturbed cerebral capillary blood flow and increased susceptibility to ischemic insults in diabetic mice. *CNS Neurosci. Ther.*, 2014, vol. 20, no. 9, pp. 816–822.
24. González-Alonso J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans. *J. Physiol.*, 2012, vol. 590, no. 20, pp. 5001–5013.
25. Ulker P., Yaras N., Yalcin O., Celik-Ozenci C., Johnson P. C., Meiselman H. J., Baskurt O. K. Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells. *Nitric Oxide*, 2011, vol. 24, no. 4, pp. 184–191.
26. Cloutier G., Zimmer A., Yu F. T., Chiasson J. L. Increased shear rate resistance and fastest kinetics of erythrocyte aggregation in diabetes measured with ultrasound. *Diabetes Care*, 2008, vol. 31, no. 7, pp. 1400–1402.
27. Wu W. C., Ma W. Y., Wei J. N., Yu T. Y., Lin M. S., Shih S. R., Hua C. H., Liao Y. J., Chuang L. M., Li H. Y. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 1, e0146780. DOI: 10.1371/journal.pone.0146780.
28. Vel'kov V. V. Glikozilirovannyi gemoglobin v diagnostike sakharnogo diabeta i v otsenke riska ego oslozhnenii [Glycosylated hemoglobin in diagnosis of diabetes mellitus and evaluation of the risks of its complications]. *Kliniko-Laboratornyj Konsilium*, 2008, no. 4, pp. 32–45 (in Russian).
29. Jain A., Gupta H. L., Narayan S. Hyperfibrinogenemia in patients of diabetes mellitus in relation to glycemic control and urinary albumin excretion rate. *J. Assoc. Physicians India*, 2001, vol. 49, pp. 227–230.

Cite this article as:

Fadyukova O. E., Lugovtsov A. E., Priezzhev A. V., Koshelev V. B. Optical Study of Blood Rheological Properties for Kruhinsky – Molodkina Strain Rats with Diabetes Mellitus and Acute Disturbances of the Cerebral Circulation. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 111–120 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-111-120.



PERSONALIA

УДК 53(091), 53(092)

К ЮБИЛЕЮ АЛЕКСАНДРА ВАСИЛЬЕВИЧА ПРИЕЗЖЕВА

Ю. М. Романовский, В. В. Тучин

Романовский Юрий Михайлович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры общей физики и волновых процессов, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, yurromanovsky@yandex.ru

Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; научный руководитель междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет; заведующий лабораторией лазерной диагностики технических и живых систем, Институт проблем точной механики и управления РАН (Саратов), tuchinvv@mail.ru

В статье представлена краткая биография и описание научной и научно-организационной деятельности в России и за рубежом заведующего лабораторией лазерной биомедицинской фотоники Международного лазерного центра Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова Александра Васильевича Приезжева. Статья написана по случаю юбилея А. В. Приезжева, которому 3 апреля 2017 г. исполнилось 70 лет. Авторы статьи демонстрируют высокие достижения юбиляра, характеризующие его как крупного специалиста-биофизика, активно работающего в областях биофотоники, биомедицинской оптики и нанобиофотоники.

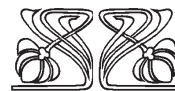
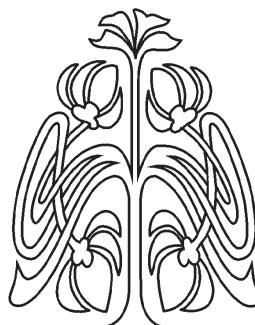
Ключевые слова: биофотоника, биомедицинская оптика, нанобиофотоника, квазиупругое рассеяние, лидары.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-121-126

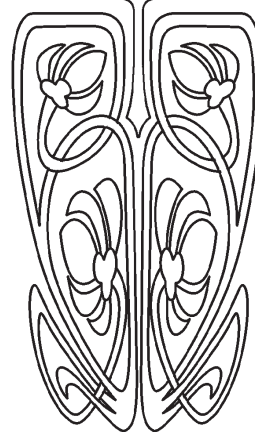
3 апреля 2017 г. исполнилось 70 лет заведующему лабораторией лазерной биомедицинской фотоники Международного лазерного центра Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова (МГУ) доценту Александру Васильевичу Приезжеву, крупному специалисту-биофизику, активно работающему в областях биофотоники, биомедицинской оптики и нанобиофотоники.

А. В. Приезжев возглавляет лабораторию лазерной биомедицинской фотоники в МГУ. Под его руководством и при его участии выполнялось множество национальных и международных исследовательских проектов по медицинской физике и биомедицинской оптике, им опубликовано более 350 статей в рецензируемых журналах, книгах и трудах конференций. Он многие годы сотрудничает с физическим факультетом Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского (СГУ), долгое время был членом диссертационного совета СГУ, участвовал и продолжает участвовать в выполнении крупных научных, образовательных и издательских проектов совместно с кафедрой оптики и биофотоники СГУ [1–4].

Александр Васильевич Приезжев (АВП) родился в семье известного в СССР гидростроителя, который долгие годы работал в



ПРИЛОЖЕНИЯ





системе Главсевморпути, строил порты на побережье Северного Ледовитого океана (Игарка, Дудинка и др.), работал во Вьетнаме.

АВП увлёкся физикой еще в школе, поступил в вечернюю физико-математическую школу при МГУ, где читали лекции Буховцев, Кривченков, Зубов, Леонтович. Будучи студентом АВП уже со 2-го курса физического факультета МГУ начал заниматься исследовательской работой на кафедре, возглавляемой проф. С. П. Стрелковым, которая неофициально называлась тогда кафедрой кибернетики. После 3-го курса стал работать с В. И. Шмальгаузенем, под руководством которого выполнил дипломную работу, а затем поступил к нему в аспирантуру. Дипломная работа была посвящена решению теоретических и прикладных задач оптимального управления. Этой же темой он продолжал заниматься в аспирантуре и защитил кандидатскую диссертацию (1975).

С приходом нового заведующего кафедрой проф. С. А. Ахманова начался процесс сближения научных интересов и тематик. Сразу после защиты диссертации Ю. М. Романовский (ЮМР) пригласил АВП присоединиться к его группе математической биофизики и поискать возможности применения лазеров в биофизике. Как-то С. А. Ахманов вызвал ЮМР и АВП и поручил им ознакомиться со статьями американских ученых, в которых сообщалось об экспериментах по измерению скорости движения протоплазмы в единичных живых клетках методом лазерной доплеровской анемометрии. Это послужило началом большого цикла работ АВП по математическому моделированию и экспериментальным исследованиям внутриклеточной гидродинамики, которые были выполнены в сотрудничестве с разными группами биологов и биофизиков, но наиболее тесное взаимодействие возникло с группой В. А. Теплова, С. И. Бейлиной, Н. Б. Матвеевой и др. из Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (г. Пущино). Следует отметить, что «благословил» АВП на занятие лазерной доплеровской анемометрией в приложении к биофизике Б. С. Ринкевичюс, ныне профессор НИУ-МЭИ – один из отцов-разработчиков этого метода в нашей стране, с которым АВП дружит и сотрудничает поныне. Первые результаты лазерных измерений скорости движения протоплазмы в живых клетках были опубликованы в 1978 г. в журналах «Биофизика» и «Квантовая электроника».

ЮМР и АВП совместно разработали и начиная с 1980 г. многие годы читали новый учебный

курс «Лазерный и компьютерный эксперимент в современной биофизике». Эти занятия лазерными методами измерения скоростей заинтересовали проф. Ю. Л. Климонтовича, который в то время занимался разработкой теории хаоса и турбулентности и читал курс на эту тему. Он пригласил АВП дополнить его курс экспериментальными методами исследования турбулентности и взять на себя чтение этих лекций. В результате с 1982 по 1987 г. АВП читал курс «Турбулентность (теория и измерение)».

На кафедре АВП проводил и многоточечные доплеровские измерения, которые вместе с математическим моделированием дали возможность изучать не только автоколебательные, но и автоволновые движения в клетках, в том числе обнаружить существование режима стоячих волн в автоволновом процессе амебоидной подвижности плазмодия миксомицета *Physarum*. Эти результаты соответствовали международному уровню и, в частности, заинтересовали известного специалиста в области биофизики клетки профессора Боннского университета К.-Э. Вольфарта-Боттермана.

В 1988 г. был разработан один из первых лазерных доплеровских микроскопов для исследования немышечной биологической подвижности, чему была посвящена быстрая публикация препринта физфака МГУ. Этот микроскоп выставлялся экспонатом на выставке научных разработок стран СЭВ и был отмечен грамотой.

В 1989–1990 гг. с подачи С. А. Ахманова и в сотрудничестве с В. М. Гордиенко АВП начал работать над созданием доплеровских лидаров для дистанционного измерения скорости ветра в атмосфере. Были сделаны лидары на основе твердотельного Nd:YAG лазера, непрерывного CO₂ и импульсного ТЕА-CO₂ лазеров. С созданными лидарами АВП выезжал в командировки для натуральных измерений с высотной метеорологической вышки в г. Обнинске и с морской платформы, установленной в Чёрном море.

Наиболее плодотворная научная и научно-организационная деятельность АВП началась в конце 1980 – начале 1990-х гг. и связана с решением проблем лазерной биомедицинской диагностики и началом активного международного сотрудничества. Еще в 1986 г. по инициативе С. А. Ахманова была организована первая международная конференция по применению лазеров в науках о жизни (LALS) в Праге, Чехословакия, одним из главных организаторов которой стал АВП. Все последующие конферен-



А. В. Приезжев выступает с докладом на конференции «Saratov Fall Meeting-2016»

ции LALS были проведены более чем в десяти странах мира при самом активном его участии как одного из ключевых организаторов, а ряд последних – по его инициативе и благодаря его огромной энергии.

Глубокие исследования, проводимые АВП по оптике и биофизике крови, ее реологическим свойствам, взаимодействию клеток крови с лазерным излучением, фундаментальным вопросам упругого и квазиупругого рассеяния света при взаимодействии оптического излучения с биологическими клетками и тканями, делают его одним из мировых лидеров в области биомедицинской оптики. Это определило его востребованность как блестящего лектора и ученого с многочисленными приглашениями для чтения лекций в ведущие мировые центры и участия в программных и организационных комитетах большого количества ведущих международных конференций. В период с 1983 по 2016 г. он получил около 70 научных и профессорских грантов для проведения научных исследований и чтения лекций в ведущих университетах мира.

С самого начала работы в России Международного общества оптической инженерии – SPIE, членом которого АВП является с 1990 г. по настоящее время, АВП – один из основателей сейчас хорошо известного в мире SPIE Симпо-

зиума в США по биомедицинской оптике BiOS и его европейского собрата EurBiOS. В работе европейского симпозиума, благодаря в том числе и его усилиям, принимали участие до 100 ученых из России в один год.

Начиная с 1996 г. и по настоящее время АВП является душой и идейным вдохновителем Саратовской ежегодной международной школы и конференции по оптике, лазерной физике и биофотонике (Saratov Fall Meeting) <http://sfm.eventry.org/2016/>.

Трудно перечислить все те конференции, в организации которых принял участие АВП, упомянем еще лишь одну – это международная ежегодная конференция по передовым лазерным технологиям (Advanced Laser Technologies), где он отвечает уже многие годы за направление по биофотонике.

Следует отметить чрезвычайно высокую активность и ответственность АВП в подготовке молодых кадров международного класса и умение построить безупречное и взаимовыгодное международное сотрудничество. Приведем только три примера. Первый – это многолетнее сотрудничество с профессором Ю. Ладеманном из Университетской клиники Шарите Гумбольдтского университета (Германия). Второй замечательный пример – это плодотворное сотрудниче-



ство в течение последних 15 лет с профессором Р. Мюлляля из университета Оулу (Финляндия), где сейчас работают два ученика. Одним из важных результатов совместных исследований стала известная монография [5]. И третий пример – это успешное и также многолетнее сотрудничество с профессором Ч. Ченом (Chia-Liang Cheng) из Национального университета Донг Хва, Хуалянь, Тайвань.

Научная и научно-организационная деятельность АВП высоко оценивается в России и за рубежом. Он, к примеру, с 1997 г. занимает должность адъюнкт-профессора Школы биомедицинской инженерии, науки и систем здравоохранения Дрексель университета, США. Накануне юбилея АВП удостоен первой премии МГУ за научные публикации, внесенные в Программу развития МГУ (2016). Эта награда очень хорошо характеризует научные достижения, широту и перспективность той научной тематики, которую развивает АВП в настоящее время, достаточно прочитать только названия некоторые из тех статей, за которые получена эта премия [6–17].

Под руководством АВП было защищено 19 кандидатских диссертаций. Главной тематикой этих работ являлась лазерная биомедицина и биофотоника. Много сил и внимания АВП отдает важной работе в российских и зарубежных журналах как член редколлегии, приглашенный редактор или рецензент, в том числе в журналах «Квантовая электроника» (с 2000 г.), «Biomedical Optics» (1997 – 2010 гг.), «Лазерная медицина» (с 1997 г.), Journal of Biomedical Photonics & Engineering (Russia) (с 2014 г.), Journal of Physics D: Applied Physics (2005 г.) и многих других.

Авторы поздравляют своего дорогого друга и коллегу по совместным научным и научно-организационным проектам Александра Васильевича Приезжева со славным 70-летним юбилеем и желают ему новых интересных проектов, хороших учеников и крепкого здоровья.

Список литературы

1. Приезжев А. В., Тучин В. В., Шубочкин Л. П. Лазерная диагностика в биологии и медицине. М.: Наука, 1989. 238 с.
2. Тучин В. В., Хлебцов Н. Г., Максимова И. Л., Ванг Л. В., Ярославская А. Н., Приезжев А. В., Родригес Х., Ярославский И. В., Баттарби Г., Зимняков Д. А., Правдин А. Б., Чернова С. П., Папазоглу Т. Г., Фантини С., Францечини М. А., Ло Ш., Ценг Ш., Чанс Б., Ниока Ш., Матчер С. Дж., Карабутов А. А., Ораевский А. А. Оптическая биомедицинская диагностика: учеб. пособие с грифом Минобразования РФ : в 2 т. М.: Физматлит, 2007. Т. 1. 600 с.
3. Приезжев А. В., Фирсов Н. Н., Ладеманн Ю., Перельман Л. Т., Бекман В., Синичкин Ю. П., Коллиас Н., Зониос Г., Утц С. Р., Тучин В. В., Лукассен Г. В., Касперс П. Дж., Панпелс Х. Дж., Шнекенбургер Г., Штайнер Р., Штраус В., Шайлер Р., Галанжа Е. И., Бриль Г. Е., Айзу Й., Ульянов С. С., Роллинз Э. М., Язданфар С., Радакришнан С., Вестфал В., Сайвек М. В., Изатт Дж. А., Зимняков Д. А., Брайерс Дж. Д., Киркпатрик Ш. Дж., Дункан Д. Д. Оптическая биомедицинская диагностика : учеб. пособие с грифом Минобразования РФ : в 2 т. М.: Физматлит, 2007. Т. 2. 365 с.
4. Priezzhev A. V., Lee K., Firsov N. N., Lademann J., Perelman L. T., Backman V., Sinichkin Yu. P., Kollias N., Zonios G. I., Utz S. R., Tuchin V. V., Lucassen G. W., Caspers P. J., Puppels G. J., Darwin M. E., Schneck-enburger H., Strauss W. S. L., Stock K., Steiner R., Fedosov I. V., Aizu Y., Yokoi N., Nishidate I., Zharov V. P., Galanzha E. I., Hendon C. P., Rollins A. M., Zimnyakov D. A., Ushakova O. V., Briers D. J., Kirkpatrick S. J., Duncan D. D., Kennedy B. F., Sampson D. D., Genina E. A., Bashkatov A. N., Yanina I. Yu. Handbook of Optical Biomedical Diagnostics / ed. V. V. Tuchin. 2nd ed. : in 2 vol. Vol. 2 : Methods. Bellingham, WA, USA : SPIE Press, 2016. 642 p.
5. Peiponen K.-E., Myllyla R., Priezzhev A. V. Optical Measurement Techniques : Innovations for Industry and the Life Sciences. Berlin ; Heidelberg : Springer-Verlag, 2009. 155 p.
6. Priezzhev A. V., Schneck-enburger H., Tuchin V. V. Special Section Guest Editorial : Laser Applications in Life Sciences // J. Biomed. Opt. 2015. Vol. 20. P. 051001. DOI: 10.1117/1.JBO.20.5.051001.
7. Shirshin E., Cherkasova O., Tikhonova T., Berlovskaya E., Priezzhev A., Fadeev V. Native fluorescence spectroscopy of blood plasma of rats with experimental diabetes: identifying fingerprints of glucose-related metabolic pathways // J. Biomed. Opt. 2015. Vol. 20. P. 051033. DOI: 10.1117/1.JBO.20.5.051033.
8. Svetlakova A. S., Brandt N. N., Priezzhev A. V., Chikishv A. Yu. Raman microspectroscopy of nanodiamond-induced structural changes in albumin // J. Biomed. Opt. 2015. Vol. 20. P. 047004. DOI: 10.1117/1.JBO.20.4.047004.
9. Nikitin S. Yu., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D., Lin M. D., Priezzhev A. V. Study of laser beam scattering by inhomogeneous ensemble of red blood cells in a shear flow // J. Innov. Opt. Health Sci. 2015. Vol. 8. P. 1550031. DOI: 10.1142/S1793545815500315.
10. Lee K., Kinnunen M., Danilina A. V., Ustinov V. D., Shin S., Meglinski I., Priezzhev A. V. Characterization at the individual cell level and in whole blood samples of shear stress preventing red blood cells aggregation // J. Biomechanics. 2016. Vol. 49. P. 1021–1026. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2016.02.011.
11. Lee K., Priezzhev A., Shin S., Francois Y., Meglinski I. Characterization of shear stress preventing red blood cells



- aggregation at the individual cell level : The temperature dependence // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016. Vol. 64. P. 853–857. DOI: 10.3233/CH-168020.
12. Tsai L.-W., Lin Y.-C., Perevedentseva E., Lugovtsov A., Priezhev A., Cheng C.-L. Nanodiamonds for medical applications: interaction with blood *in vitro* and *in vivo* // Intern. J. Mol. Sci. 2016. Vol. 17. P. 1111. DOI: 10.3390/ijms17071111.
 13. Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Yurchuk Yu. S., Lugovtsov A. E., Lin M. D., Priezhev A. V. New diffractometric equations and data processing algorithm for laser ektacytometry of red blood cells // J. Quant. Spectr. Radiat. Trans. 2016. Vol. 178. P. 315–324. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2016.02.024.
 14. Lee K., Kinnunen M., Khokhlova M., Lyubin E., Priezhev A., Meglinski I., Fedyanin A. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions // J. Biomed. Opt. 2016. Vol. 21. P. 035001. DOI: 10.1117/1.JBO.21.3.035001.
 15. Priezhev A., Lee K. Potentialities of laser trapping and manipulation of blood cells in hemorheologic research // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016. Vol. 64. P. 587–592. DOI: 10.3233/CH-168030.
 16. Lee K., Danilina A. V., Kinnunen M., Priezhev A., Meglinski I. Probing the red blood cells aggregating force with optical tweezers // IEEE J. Select. Tops. Quant. Electr. 2016. Vol. 22. P. 7000106. DOI: 10.1109/JSTQE.2015.2477396.
 17. Юрчук Ю. С., Устинов В. Д., Никитин С. Ю., Приезжев А. В. Рассеяние лазерного пучка на влажном мазке крови и измерение распределения эритроцитов по размерам // Квант. электроника. 2016. Т. 46. С. 515–520. DOI: 10.1070/QEL16108.

Образец для цитирования:

Романовский Ю. М., Тучин В. В. К юбилею Александра Васильевича Приезжева // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 121–126. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-121-126.

To the Jubilee of Alexander Vasil'evich Priezhev

Yu. M. Romanovsky, V. V. Tuchin

Yuri M. Romanovsky, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, yuromanovsky@yandex.ru

Valery V. Tuchin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, tuchinv@mail.ru

The paper presents a brief biography and description of scientific and scientific-organizational activities in Russia and abroad by the Head of the Laboratory of the Laser Biomedical Photonics of the International Laser Center of the Lomonosov Moscow State University Alexander Priezhev. The article is written on the occasion of the anniversary of A. V. Priezhev, who turned 70 on April 3, 2017. The authors of the article demonstrate the high achievements of the jubilee, characterizing him as a major expert in biophysics, actively working in the fields of biophotonics, biomedical optics and nanobiophysics.

Key words: biophotonics, biomedical optics, nanobiophysics, quasi-elastic scattering, lidars.

References

1. Priezhev A. V., Tuchin V. V., Shubochkin L. P. *Lazernaya Diagnostika v Biologii i Meditsine* [Laser Diagnostics in Biology and Medicine]. Moscow, Nauka, 1989. 238 p. (in Russian).
2. Tuchin V. V., Khlebtsov N. G., Maksimova I. L., Wang L. V., Yaroslavsky A. N., Priezhev A. V., Rodriguez J., Yaroslavsky I. V., Battarbee H., Zimnyakov D. A., Pravdin A. B., Chernova S. P., Papazoglou T. G., Fantini S., Franceschini M. A., Luo Q., Zeng Sh., Chance B., Nioka Sh., Matcher S. J., Karabutov A. A., Oraevsky A. A. *Opticheskaya Biomeditsinskaya Diagnostika* [Optical Biomedical Diagnostics]: Textbook with the stamp of the Ministry of Education of the Russian Federation: in 2 vol. Vol. 1. Moscow, Fizmatlit, 2007. 600 p. (in Russian).
3. Priezhev A. V., Firsov N. N., Lademann J., Perelman L. T., Backman V., Sinichkin Yu. P., Kollias N., Zonios G. I., Utz S. R., Tuchin V. V., Lucassen G. W., Caspers P. J., Puppels G. J., Schneckenburger H., Stock K., Steiner R., Strauss W., Sailer R., Galanzha E. I., Brill G. E., Aizu Y., Ulyanov S. S., Rollins A. M., Yazdanfar S., Radhakrishnan S., Westphal V., Sivak M. V., Izatt J. A., Zimnyakov D. A., Briers D. J., Kirkpatrick S. J., Duncan D. D. *Opticheskaya Biomeditsinskaya Diagnostika* [Optical Biomedical Diagnostics]: Textbook with the stamp of the Ministry of Education of the Russian Federation: in 2 vol. Vol. 2. Moscow, Fizmatlit, 2007. 365 p. (in Russian).
4. Priezhev A. V., Lee K., Firsov N. N., Lademann J., Perelman L. T., Backman V., Sinichkin Yu. P., Kollias N., Zonios G. I., Utz S. R., Tuchin V. V., Lucassen G. W., Caspers P. J., Puppels G. J., Darvin M. E., Schneckenburger H., Strauss W. S. L., Stock K., Steiner R., Fedosov I. V., Aizu Y., Yokoi N., Nishidate I., Zharov V. P., Galanzha E. I., Hendon C. P., Rollins A. M., Zimnyakov D. A., Ushakova O. V., Briers D. J., Kirkpatrick S. J., Duncan D. D., Kennedy B. F., Sampson D. D., Genina E. A., Bashkatov A. N., Yanina I. Yu. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. Vol. 2. Methods. 2nd ed.: in 2 vol. Bellingham, WA, USA, SPIE Press, 2016. 642 p.
5. Peiponen K.-E., Myllyla R., Priezhev A. V. *Optical Measurement Techniques: Innovations for Industry and the Life Sciences*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 2009. 155 p.
6. Priezhev A. V., Schneckenburger H., Tuchin V. V. Special Section Guest Editorial: Laser Applications in Life Sciences. *J. Biomed. Opt.*, 2015, vol. 20, pp. 051001. DOI: 10.1117/1.JBO.20.5.051001.



7. Shirshin E., Cherkasova O., Tikhonova T., Berlovskaya E., Priezzhev A., Fadeev V. Native fluorescence spectroscopy of blood plasma of rats with experimental diabetes: identifying fingerprints of glucose-related metabolic pathways. *J. Biomed. Opt.*, 2015, vol. 20, 051033. DOI: 10.1117/1.JBO.20.5.051033.
8. Svetlakova A. S., Brandt N. N., Priezzhev A. V., Chikishev A. Yu. Raman microspectroscopy of nanodiamond-induced structural changes in albumin. *J. Biomed. Opt.*, 2015, vol. 20, 047004. DOI: 10.1117/1.JBO.20.4.047004.
9. Nikitin S. Yu., Lugovtsov A. E., Ustinov V. D., Lin M. D., Priezzhev A. V. Study of laser beam scattering by inhomogeneous ensemble of red blood cells in a shear flow. *J. Innov. Opt. Health Sci.*, 2015, vol. 8, 1550031. DOI: 10.1142/S1793545815500315.
10. Lee K., Kinnunen M., Danilina A. V., Ustinov V. D., Shin S., Meglinski I., Priezzhev A. V. Characterization at the individual cell level and in whole blood samples of shear stress preventing red blood cells aggregation. *J. Biomechanics*, 2016, vol. 49, pp. 1021–1026. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2016.02.011.
11. Lee K., Priezzhev A., Shin S., Francois Y., Meglinski I. Characterization of shear stress preventing red blood cells aggregation at the individual cell level : The temperature dependence. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2016, vol. 64, pp. 853–857. DOI: 10.3233/CH-168020.
12. Tsai L.-W., Lin Y.-C., Perevedentseva E., Lugovtsov A., Priezzhev A., Cheng C.-L. Nanodiamonds for medical applications: interaction with blood *in vitro* and *in vivo*. *Intern. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, 1111. DOI: 10.3390/ijms17071111.
13. Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Yurchuk Yu. S., Lugovtsov A. E., Lin M. D., Priezzhev A. V. New diffractometric equations and data processing algorithm for laser ektacytometry of red blood cells. *J. Quant. Spectr. Radiat. Trans.*, 2016, vol. 178, pp. 315–324. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2016.02.024.
14. Lee K., Kinnunen M., Khokhlova M., Lyubin E., Priezzhev A., Meglinski I., Fedyanin A. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions. *J. Biomed. Opt.*, 2016, vol. 21, 035001. DOI: 10.1117/1.JBO.21.3.035001.
15. Priezzhev A., Lee K. Potentialities of laser trapping and manipulation of blood cells in hemorheologic research. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2016, vol. 64, pp. 587–592. DOI: 10.3233/CH-168030.
16. Lee K., Danilina A. V., Kinnunen M., Priezzhev A., Meglinski I. Probing the red blood cells aggregating force with optical tweezers. *IEEE J. Select. Tops. Quant. Electr.*, 2016, vol. 22, pp. 7000106. DOI: 10.1109/JSTQE.2015.2477396.
17. Yurchuk Yu. S., Ustinov V. D., Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V. Scattering of a laser beam on a wet blood smear and measurement of red cell size distribution. *Quantum Electron.*, 2016, vol. 46, pp. 515–520. DOI: 10.1070/QEL16108 (in Russian).

Cite this article as:

Romanovsky Yu. M., Tuchin V. V. To the Jubilee of Alexander Vasil'evich Priezzhev. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 121–126 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-121-126.



УДК 53(091), 53(092)

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ УНИВЕРСАНТ (К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ВАЛЕРИЯ МИХАЙЛОВИЧА АНИКИНА)

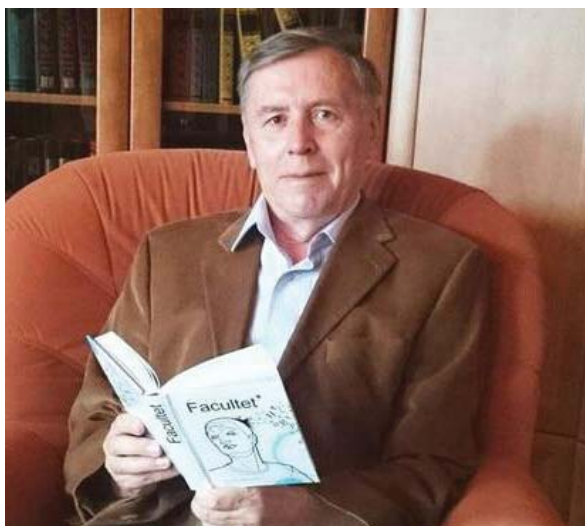
Д. А. Усанов

Усанов Дмитрий Александрович, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой физики твердого тела, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, usanovda@info.sgu.ru

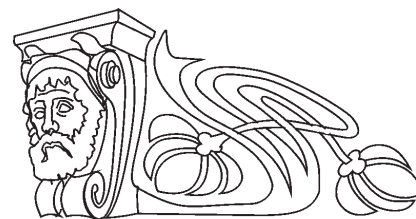
Биографический очерк о В. М. Аникине, декане физического факультета Саратовского государственного университета, заведующем кафедрой компьютерной физики и метаматериалов на базе Саратовского филиала Института радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова РАН.

Ключевые слова: Саратовский университет, физический факультет.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-127-131



О Валерии Михайловиче Аникине, докторе физико-математических наук, профессоре, декане физического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского (СГУ), можно писать в позитивных тонах в различных ключах – и как об авторе научных монографий и статей, и как о публикаторе материалов по науковедению, исторических сюжетов, в том числе по истории Саратовского университета, и как о человеке, роль которого в своем продвижении к ученой степени многочисленные соискатели уже высоко оценили или смогут оценить в будущем. Естественно, не нужно забывать и о его дея-



тельности как преподавателя и организатора, «коллективообразующей» личности.

Он родился в небольшом провинциальном городке Аткарске 30 марта 1947 г. Здесь окончил среднюю школу, и уже тогда у него зародился интерес к творческим исканиям, которые он начал реализовывать после поступления на физический факультет СГУ в 1965 г. (университет он окончил с отличием в 1970 г.). Мне кажется, ему необыкновенно повезло с его главным научным наставником. Это был Александр Федорович Голубенцев, обладатель фантастических знаний и научного потенциала. Вплоть до кончины Голубенцева в 2003 г. Аникин работал на его кафедре и с течением времени возглавил ее.

Деятельность А. Ф. Голубенцева и его сотрудников-учеников пришлось на период, когда достижения СВЧ электроники были доведены до промышленного выпуска приборов на многих предприятиях Саратова. Это было время, когда ежегодный прием студентов-физиков в Саратовский университет достигал 375 человек, а все выпускники были востребованы. Естественно, что ученые должны были заниматься проблемами, связанными с реальными задачами промышленности, для которой они готовили специалистов. В то же время на стадии промышленного производства многие из научных проблем были уже решены. В такой ситуации для движения вперед требовалось сочетание глубокого знания теории и понимания множества специальных (с научной точки зрения), иногда частных проблем, связанных с необходимостью решать сложные математические задачи, как правило, лежащие вне поля зрения математиков-профессионалов. Именно такими способностями обладали А. Ф. Голубенцев и его ученики. К ним можно было обратиться за рецензией на статью, за экспертизой диссертации, при подготовке которых казалось, что все, что нужно было сделать, уже сделано. В этом случае они могли показать, что в действительности это еще не итог, а лишь какая-то, часто не самая сложная, часть пути. Ученые, выбравшие такой путь, неизбежно становились универсальными специалистами в различных областях физики.



Кстати, В. М. Аникин до сих пор преданно хранит память о своем учителе. Так, под его редакцией вышли специальные выпуски журнала «Радиотехника» (2005) [1] и научного сборника «Вопросы прикладной физики» (2004) [2], посвященные этому человеку. Монографию В. М. Аникина и А. Ф. Голубенцева «Аналитические модели детерминированного хаоса» [3] также завершают теплые слова об Александре Федоровиче...

Нужно сказать, что Голубенцев и Аникин нашли интересную «нишу» в теоретическом исследовании явления детерминированного хаоса. Последовательно реализуя операторный метод описания дискретных систем, демонстрирующих хаотическое поведение, они аналитически решили ряд задач, которые профессиональные математики причислили к кинетической теории нестационарных временных рядов. Названная монография в списке цитируемых источников ряда публикаций располагается вблизи работ корифея отечественной науки академика Н. Н. Боголюбова. Современные публикации В. М. Аникина и его коллег и учеников находятся в этом же русле [4–9]. Собственно, позитивными оценками со стороны ряда ведущих математиков и физиков России и из-за рубежа¹ в

¹ О широкой апробации диссертации свидетельствуют имена экспертов, представивших на нее отзывы: ведущая организация – НИИ прикладной математики и кибернетики Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского; официальные оппоненты: д.ф.-м.н. проф., чл.-кор. РАН Д. И. Трубецков (Саратовский государственный университет), д.ф.-м.н., проф. Р. З. Бахтизин (Башкирский университет, Уфа), д.ф.-м.н., проф. В. И. Некошкин (Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород); авторы отзывов на автореферат: Ю. В. Гуляев, д.ф.-м.н., проф., академик РАН; Г. Г. Малинецкий, д.ф.-м.н., проф. (Институт прикладной математики им. М. В. Келдыша РАН); д.ф.-м.н., проф. А. С. Дмитриев (Институт радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН); д.ф.-м.н., проф. Ю. А. Кравцов (Институт космических исследований РАН); д.ф.-м.н., проф. П. С. Ланда, д.ф.-м.н., проф. Ю. М. Романовский, д.ф.-м.н., проф. А. Ю. Лоскутов (МГУ им. М. В. Ломоносова), д.ф.-м.н., проф. Е. П. Шешин (МФТИ), д.ф.-м.н., проф. В. А. Федирко (НИИ физических проблем им. Ф. В. Лукина, Зеленоград, Москва); д.ф.-м.н. А. Б. Маненков (Институт физических проблем им. П. Л. Капицы РАН); д.ф.-м.н., проф. Г. Г. Соминский (Санкт-Петербургский государственный политехнический университет Петра Великого); д.ф.-м.н., проф. Н. Р. Галль (Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе РАН, С.-Петербург); д.ф.-м.н., проф. С. В. Пранц (Тихоокеанский океанологический институт им. В. И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток); д.т.н., проф. Ж. Т. Жусубалиев (Курский государственный технический университет); д.ф.-м.н., проф. О. Я. Бутковский (Владимирский государственный университет); д.ф.-м.н., д.тех.н. Н. Г. Макаренко (ныне Главная астрономическая обсерватория РАН (Пулково, С.-Петербург); д.ф.-м.н., проф. А. П. Хромов (Саратовский государственный университет); проф. Д. Н. Мауер (Технический университет Clausthal, Германия); проф., вице-президент Румынской Академии М. Iosifescu (Бухарест, Румыния); проф. R. G. Forbes (университет Surrey, Великобритания); д.ф.-м.н. А. Б. Нейман (университет Ohio, США).

свое время (2005) была встречена и докторская диссертация Валерия Михайловича.

Широкая эрудиция, тщательность при анализе фактических материалов, личный опыт многолетней научной и педагогической деятельности позволили В. М. Аникину подготовить и опубликовать ряд интересных материалов, относящихся к истории физики, предложить читателям новое видение биографий ряда выдающихся отечественных ученых-физиков. Его публикации на исторические темы порой завершаются открытием неизвестных (если не сказать – сенсационных) фактов. Так, им была реконструирована биография Владимира Ивановича Кармилова, учителя физики Нобелевского лауреата, уроженца Саратова, академика Николая Николаевича Семёнова в Самарском реальном училище [10]. Личность Кармилова заслуживает уважения не только за это. В предвоенные годы он создал первые устройства магнитотерапии, которые вскоре стимулировали бум магнитологических исследований в нашей стране. Страница в Википедии «Кармилов, Владимир Иванович» создана на основе биографических находок и публикаций В. М. Аникина. Различные нюансы волжского периода жизни Н. Н. Семёнова, его творческого взаимодействия с физическим факультетом СГУ отражены в публикации [11].

В. М. Аникин провел серьезный анализ жизни и деятельности великого русского физика Петра Николаевича Лебедева, стоявшего у истоков создания Физического института Саратовского университета, что частично нашло отражение в публикации в журнале «Успехи физических наук» [12] и в монографии «Феномен научной школы: история, типология получения и передачи знаний, психология коммуникаций» [13].

Знание истории физического факультета позволило В. М. Аникину привлечь к участию в торжественных мероприятиях, посвященных 70-летию образования физического факультета СГУ, видных его выпускников, в том числе академиков РАН, а также известные научные и научно-производственные организации России, связанные с факультетом многолетним сотрудничеством [14]. Попутно можно отметить, что к числу сложных организационных поручений, выполнявшихся В. М. Аникиным, можно отнести координацию работ по гранту «Интеграция высшего образования и фундаментальной науки» в 1997–2002 гг. (в работе принимали участие помимо университета четыре академических института) [15] и исполнение обязанностей секретаря Международной



конференции по вакуумным источникам электронов (IVESC) в 2000–2003 гг. [16].

Важное место в работе В. М. Аникина последние четверть века занимает деятельность на посту ученого секретаря диссертационного совета. Выверенные и чеканные формулировки документов, которые направляются в ВАК, – это его секретарский «конек». Пользуются популярностью его публикации по вопросам науковедения, особенно в части, касающейся представления диссертационных работ и методических рекомендаций для аспирантов и докторантов по корректному заполнению рубрик авторефератов кандидатских и докторских диссертаций. Систематизированные в [17, 18], они впоследствии были дополнены новыми разработками, в частности [19–24].

С июля 2010 г. В. М. Аникин – декан физического факультета СГУ. Здесь необходимо отметить, что физический факультет, один из старейших в Саратовском университете, многие годы играет определяющую роль в развитии университета, является носителем научных и педагогических традиций. И сегодня на физическом факультете работают признанные научные лидеры, создавшие свои научные школы, – профессора В. С. Анищенко и В. В. Тучин. То обстоятельство, что В. М. Аникин был единодушно избран и повторно переизбран на пост декана, говорит о признании его научного авторитета и способности управлять большим творческим (и, следовательно, сложным) коллективом. Отметим, что, с одной стороны, годы работы В. М. Аникина деканом совпали, с одной стороны, с переходом на многоуровневую систему высшего образования (бакалавриат, магистратура, аспирантура), когда в качестве требований к результатам освоения образовательных программ федеральными государственными программами ставится сформированность у выпускников определенного набора общекультурных, общепрофессиональных и профессиональных компетенций, позволяющих решать задачи в профессиональной сфере деятельности, а с другой стороны, физические специальности сегодня перестали быть одними из самых привлекательных для абитуриентов, в основном в силу того, что в Саратове сократились (по сравнению с советским периодом) объем наукоемких производств и потребность в выпускниках физического профиля. Как реакция на изменившиеся внешние условия стало проведенное В. М. Аникиным изменение структуры образования на физическом факультете, введение новых направлений подготовки, актуализация учебных планов и программ дис-

циплин. Фундаментальный характер образования на физическом факультете в области математики, физики и компьютерных технологий соотносится с необходимостью формировать у студентов представления о том, как довести научные разработки до практического использования, до создания конкурентоспособных устройств и технологий, востребованных рынком.

В. М. Аникин видит одну из своих целей в обеспечении комфортных условий для работы коллектива, много работает сам, не перекладывая деканатские дела на другие плечи, доступен студентам и преподавателям в любое время, обладает отзывчивым характером и деликатным чувством юмора. Методическая и организационная деятельность В. М. Аникина на посту заведующего кафедрой и декана теперь находит отражение в публикациях соответствующей тематики. Например, на основе теории целеустремленных систем деятельности им был разработан «алгоритм» и выявлены риски объединения творческих коллективов (публикация в журнале «Университетское управление: практика и анализ») [25].

* * *

Под словом «универсант» подразумевается человек, получивший университетское образование. Никто не мешает нам распространить значение этого слова и на людей, вся сознательная жизнь которых связана с университетом. К таким людям, безусловно, принадлежит и Валерий Михайлович Аникин. Разнообразные явления учебной и научной университетской жизни вызывают у него искреннюю заинтересованность, что и становится для него стимулом к творческой работе.

Список литературы

1. Ученые России : Александр Федорович Голубенцев // Радиотехника. 2005. № 4. С. 126 (Редакторы выпуска : Ю. В. Гуляев, Н. И. Сеницын, В. М. Аникин).
2. Вопросы прикладной физики : межвуз. науч. сб. / под ред. Ю. В. Гуляева, Н. И. Сеницына, В. М. Аникина. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2004. Вып. 11. Памяти А. Ф. Голубенцева. 252 с.
3. Аникин В. М., Голубенцев А. Ф. Аналитические модели детерминированного хаоса. М. : ФИЗМАТЛИТ, 2007. 328 с.
4. Аникин В. М., Аркадакский С. С., Ремизов А. С. Несамосопряженные линейные операторы в хаотической динамике. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2015. 96 с.
5. Аникин В. М., Аркадакский С. С., Купцов С. Н., Ремизов А. С. Полиномиальные собственные функции оператора Перрона–Фробениуса // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2016. Т. 24, № 4. С. 6–16.
6. Голубенцев А. Ф., Аникин В. М. Инвариантные функ-



- циональные подпространства линейных эволюционных операторов хаотических отображений // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2005. Т. 13, № 1–2. С. 3–17.
7. Аникин В. М., Аркадакский С. С., Ремизов А. С. Аналитическое решение спектральной задачи для оператора Перрона–Фробениуса кусочно-линейных хаотических отображений // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2006. Т. 14, № 2. С. 16–34.
 8. Аникин В. М., Ремизов А. С., Аркадакский С. С. Собственные функции и числа оператора Перрона–Фробениуса кусочно-линейных хаотических отображений // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2007. Т. 15, № 2. С. 62–75.
 9. Аникин В. М. Спектральные задачи для оператора Перрона–Фробениуса // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2009. Т. 17, № 4. С. 35–48.
 10. Аникин В. М. Физик-инноватор, земляк, учитель и друг Н. Н. Семёнова Владимир Иванович Кармилов // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2016. Т. 16, вып. 1. С. 44–54.
 11. Аникин В. М., Усанов Д. А. Николай Николаевич Семёнов : волжские сюжеты жизни // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2016. Т. 16, вып. 2. С. 109–121.
 12. Аникин В. М. «Фабрика молодых физиков» П. Н. Лебедева и Саратовский университет // УФН. 2016. Т. 186, вып. 2. С. 169–173.
 13. Феномен научной школы : история, типология получения и передачи знаний, психология коммуникаций / В. М. Аникин, Б. Н. Пойзнер, Э. А. Соснин, А. В. Шувалов ; под общ. ред. В. М. Аникина. Саратов : Изд-во Sarat. un-ta, 2015. 232 с.
 14. Аникин В. М. Послесловие к юбилею физического факультета СГУ // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2016. Т. 16, вып. 4. С. 248–252. DOI: 10.18500/1817-3020-2016-16-4-248-252.
 15. Трубецков Д., Аникин В. Образование плюс наука : первый коллективный грант СГУ // Высшее образование в России. 2007. № 6. С. 156–160.
 16. Аникин В. М. IVESC в Саратове // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2007. Т. 7, вып. 1. С. 75–80.
 17. Аникин В. М., Усанов Д. А. Автореферат диссертации : функции, структура, значимость // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2008. Т. 8, вып. 2. С. 61–73.
 18. Аникин В. М., Усанов Д. А. Диссертация в зеркале автореферата. 3-е изд., испр. и доп. М. : ИНФРА-М, 2013. 128 с.
 19. Аникин В. М., Пойзнер Б. Н. «Предзащита» диссертации : формальные требования и традиции // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2014. Т. 22, № 2. С. 95–102.
 20. Аникин В. М., Пойзнер Б. Н. Коммуникативная функция автореферата и уровень лингво-дисциплинарной компетенции диссертанта // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2013. Т. 13, вып. 1. С. 80–86.
 21. Аникин В. М. Альберт Эйнштейн и Питирим Сорокин : истории диссертационных защит // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2011. Т. 19, № 3. С. 62–79.
 22. Аникин В. М., Измайлов И. В., Пойзнер Б. Н. Диссертанту о восприимчивости результатов, числовой оценке и защите научных результатов // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2014. Т. 22, № 6. С. 25–34.
 23. Аникин В. М., Пойзнер Б. Н. Государственная аттестация аспиранта : от формальности к превентиве // Alma mater (Вестник высшей школы). 2015. № 11. С. 17–21.
 24. Аникин В. М., Пойзнер Б. Н. Научное руководство аспирантами : «внутренние» и «внешние» регуляторы // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2015. Т. 15, вып. 1. С. 83–88.
 25. Аникин В. М., Пойзнер Б. Н., Соснин Э. А. Объединение вузов с позиции теории целеустремленных систем деятельности // Университетское управление : практика и анализ. 2015. № 6 (100). С. 41–56.

Образец для цитирования:

Усанов Д. А. Универсальный универсант (К 70-летию со дня рождения Валерия Михайловича Аникина) // Изв. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Fizika. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 127–131. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-127-131.

**Universal Universant
(To the 70th Anniversary from Valery M. Anikin Birthday)**

Dmitry A. Usanov

Dmitry A. Usanov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, usanovda@info.sgu.ru

Biographical sketch about V. M. Anikin, dean of the physical faculty of the Saratov State University, head of the department of computer physics and metamaterials on the basis of the Saratov branch of the Institute of Radio Engineering and Electronics named after V. A. Kotel'nikov.

Key words: Saratov University, Faculty of Physics.

References

1. Scientists of Russia : Aleksander F. Goloubentsev. *Radiotekhnika* [Radioengineering], 2005, no. 4, p. 126 (Eds.

Yu. V. Gulyaev, N. I. Sinitsyn, V. M. Anikin) (in Russian).

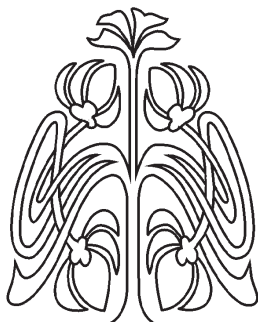
2. *Voprosy prikladnoi phisiki* [Problems of Applied Physics]. Saratov, Saratov University Press, 2004, iss. 11: In memory of A. F. Goloubentsev. Eds. Yu. V. Gulyaev, N. I. Sinitsyn, V. M. Anikin. 252 p. (in Russian).
3. Anikin V. M., Goloubentsev A. F. *Analiiticheskie modeli determinirovannogo haosa* [Analytical models of deterministic chaos]. Moscow, FIZMATLIT, 2007. 328 p. (in Russian).
4. Anikin V. M., Arkadaksky S. S., Remisov A. S. *Nesamosopryazhennyye lineynyye operatory v nelineynoy dinamike* [Non-selfadjoined linear operators in chaotic dynamics]. Saratov, Saratov University Press, 2015. 96 p. (in Russian).
5. Anikin V. M., Arkadaksky S. S., Kuptsov S. N., Remisov A. S. Polynomial eigenfunctions of the Perron-Frobenius operator. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2016, vol. 24, no. 4, pp. 6–16 (in Russian).



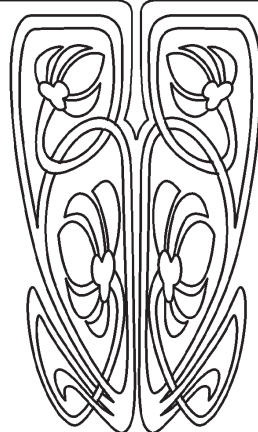
6. Golubentsev A. F., Anikin V. M. Invariant subspaces for linear evolution operators of chaotic maps. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2005, vol. 13, no. 1–2, pp. 3–17 (in Russian).
7. Anikin V. M., Arkadaksky S. S., Remisov A. S. Analytical solution of the spectral problem for Perron-Frobenius operator of piece-wise linear chaotic maps. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2006, vol. 14, no. 2, pp. 16–34 (in Russian).
8. Anikin V. M., Remisov A. S., Arkadaksky S. S. Eigenfunctions and eigenvalues of the Perron – Frobenius operator of piece-wise linear chaotic maps. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2007, vol. 15, no. 2, pp. 62–75 (in Russian).
9. Anikin V. M. Spectral problems for Perron–Frobenius operator. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*. 2009. vol. 17, no. 4, pp. 35–48 (in Russian).
10. Anikin V. M. Vladimir I. Karmilov, Physicist, Innovator and Nikolai N. Semenov’s Coun-tryman, Teacher, Friend. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2016, vol. 16, iss. 1, pp. 44–54. DOI: 10.18500/1817-3020-2016-16-1- 44-54 (in Russian).
11. Anikin V. M., Usanov D. A. Nikolai N. Semenov: Volga Region Themes of the Life. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2016, vol. 16, iss. 2, pp. 47–59. DOI: 10.18500/1817-3020-2016-16-2-109-121 (in Russian).
12. Anikin V. M. P. N. Levedev’s «Factory of Young Physicists» and Saratov University. *Phys. Usp.*, 2016, vol. 59, iss. 2, pp. 162–166. DOI: 10.3367/ UFNe.0186.201602 e.0169.
13. Anikin V. M., Poizner B. N., Sosnin E. A., Shuvalov A. V. *Fenomen nauchnoj shkoly: istorija, tipologija poluchenija i peredachi znaniy, psihologija kommunikacij* [The phenomenon of the scientific school: history, typology of the receipt and transmission of knowledge, communication psychology]. Ed. V. M. Anikin. Saratov, Saratov University Press, 2015. 232 p. (in Russian).
14. Anikin V. M. Afterword to the Anniversary of the Faculty of Physics of SSU. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2016, vol. 16, iss. 4, pp. 248–252. DOI: 10.18500/1817-3020-2016-16-4-248-252 (in Russian).
15. Trubetskoy D., Anikin V. Education and science: the first collective grant for SSU. *Vyshee obrazovanie v Rossii* [Higher education in Russia]. 2007, iss. 6, pp. 156–160 (in Russian).
16. Anikin V. M. IVESC in Saratov. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2007, vol. 7, iss. 1, pp. 75–80 (in Russian).
17. Anikin V. M., Usanov D. A. Abstract of the thesis: functions, structure, significance. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2008, vol. 8, iss. 2, pp. 61–73 (in Russian).
18. Anikin V. M., Usanov D. A. *Dissertacija v zerkale avtoreferata: metod. posobie dlja aspirantov i soiskatelej uchenoj stepeni estestvenno-nauchnyh special'nostej* [Dissertation in the Mirror of the Abstract: the Methodological Guidance for Graduate Students and Applicants for Scientific Degree of the Natural Science]. 3rd edition, revised and updated. Moscow, INFRA-M, 2013, 128 p. (in Russian).
19. Anikin V. M., Poizner B. N. «Pre-defense» of thesis: Formal requirements and traditions. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2014, vol. 22, no. 2, pp. 95–102 (in Russian).
20. Anikin V. M., Poizner B. N. Communicative function of thesis and professional grade of dissertator. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2013, vol. 13, iss. 1, pp. 80–86 (in Russian).
21. Anikin V. M. Albert Einstein and Pitirim Sorokin: history of dissertation defenses. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2011, vol. 19, no. 3, pp. 62–79 (in Russian).
22. Anikin V. M., Izmailov I. V., Poizner B. N. About perception, numerical rating and protection of scientific results. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2014, vol. 22, no. 6, pp. 25–34 (in Russian).
23. Anikin V. M., Poizner B. N. State final attestation of post-graduate: from formality to preventiveness. *Alma mater (Vestnik Vysshei shkoly)*, 2015, no. 11, pp. 17–21 (in Russian).
24. Anikin V. M., Poizner B. N. Scientific supervision by graduate students: “internal” and “external” regulators. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2015, vol. 15, iss. 1, pp. 83–88 (in Russian).
25. Anikin V. M., Poizner B. N., Sosnin E. A. Merging of universities from the position of the theory of purposeful activity systems. *Universitetskoe upravlenie: praktika i analiz* [University management: practice and analysis], 2015, no. 6 (100), pp. 41–56 (in Russian).

Cite this article as:

Usanov D. A. Universal Universant (To the 70th anniversary from Valery M. Anikin birthday). *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 127–131 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-127-131.



ПОДПИСКА



Подписка на II полугодие 2017 года

Индекс издания в объединенном каталоге
«Пресса России» 36015, раздел 30
«Научно-технические издания.
Известия РАН. Известия вузов».

Журнал выходит 4 раза в год.

Цена свободная.

Оформить подписку онлайн можно
в интернет-каталоге «Пресса по подписке» (www.akc.ru).

Адрес редакции:

410012, Саратов, Астраханская, 83;

Тел.: +7 (845-2) 51-45-49, 52-26-89

Факс: +7 (845-2) 27-85-29

E-mail: izvestiya@sgu.ru

Адрес редколлегии серии:

410012, Саратов, Астраханская, 83,

СГУ имени Н. Г. Чернышевского,

физический факультет

Тел./факс: +7 (845-2) 51-14-30

E-mail: fizika.sgu@bk.ru

Website: <http://fizika.sgu.ru>