



БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

УДК 535.361.2; 576.321

ОПТИЧЕСКИЕ ДОПЛЕРОВСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ ПОТОКОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

С. Г. Проскурин, Н. А. Кускова, Т. И. Авсиевич

Проскурин Сергей Геннадьевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры «Биомедицинская техника», Тамбовский государственный технический университет, spros@tmab.ru

Кускова Надежда Алексеевна, студент кафедры «Биомедицинская техника», Тамбовский государственный технический университет, nadya.kuskova@yandex.ru

Авсиевич Татьяна Игоревна, аспирант кафедры «Биомедицинская техника», Тамбовский государственный технический университет, tiavsievich@gmail.com

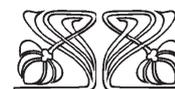
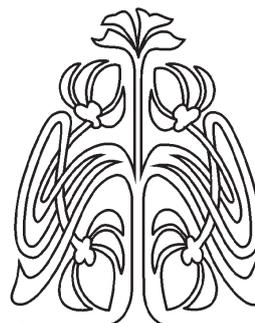
В статье дан обзор основных результатов, полученных авторами за годы развития оптических доплеровских методов квазиупругого рассеяния на биологических объектах и жидкостях. Решается задача измерения скорости движения нестационарных знакопеременных потоков эндоплазмы при помощи спектрального подхода к обработке доплеровского сдвига несущей частоты. На этой основе разрабатываются методы доплеровской оптической когерентной томографии для измерения скорости кровотока в подкожных кровеносных сосудах и в сосудах сетчатки глаза человека. Также описаны методы картирования одной выбранной скорости в знакопеременных потоках, возникающих в наклонном капиллярном входе.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, лазерные измерения, доплеровская спектроскопия.

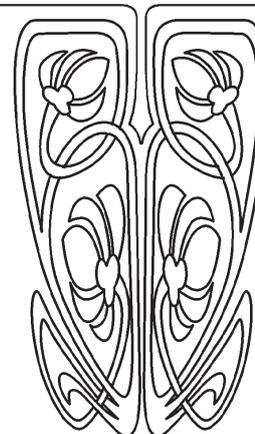
DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-4-269-280

Введение

Методами значочувствительной лазерной доплеровской микроскопии (ЛДМ) [1–6], обработка сигнала в которых во многом аналогична обработке сигнала в оптической когерентной томографии (ОКТ), производится регистрация скорости автоколебательного движения эндоплазмы в изолированном тяжеле плазмодия *Physarum Polycephalum*. Преимущества применения сдвига несущей частоты (на 0.1–1000 кГц) оптического излучения для значочувствительного метода регистрации скоростей потоков биологических жидкостей в биомедицинских объектах показаны и в ранних [1, 2] и в более поздних работах [6–28]. В отличие от регистрации модуля скорости [6–8, 10, 12, 15, 27–30] потока эндоплазмы плазмодия *Physarum polycephalum*, применение несущей частоты позволило отстроиться от низкочастотного $1/f$ шума, существенно увеличить отношение сигнал–шум и реализовать автоматизированный метод регистрации скорости знакопеременных потоков. Этот подход также позволил разделить групповую и фазовую скорости и впервые выявить два



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





чётких пика в частотном спектре временных зависимостей скоростей, $V(t)$, движения эндоплазмы в изолированном тяжёлом плазмодии *Physarum polycephalum* [9].

Спектральный анализ был проведён с помощью оконного преобразования Фурье, применённого к временным зависимостям в различных условиях. Полученные спектральные характеристики позволяют построить модель, которая адекватно описывает временную зависимость скорости движения эндоплазмы [5, 9, 26, 31, 32].

Целью данной работы является демонстрация преимуществ и методов доплеровской ОКТ, которая позволила визуализировать ОВС (одну выбранную скорость) в знакопеременных потоках со сложной геометрией.

1. Измерение скорости знакопеременных потоков методами лазерной доплеровской микроскопии

Исследование структуры и параметров нестационарных потоков в биологических объектах *in vivo* потребовало разработки специальных методов, которые позволили получать количественную информацию в режиме реального времени без нарушения целостности организма (неинвазивно) [7, 10, 33]. Получение точной информации о скорости и знаке потока протоплазмы проблематично из-за её сложного состава, формирующего оптическую неоднородность ввиду разного размера включений. Проблема заключается также и в выборе допустимого уровня плотности мощности зондирующего оптического излучения во избежание ингибирующего эффекта на исследуемую живую систему. Прибор должен быть способен регистрировать скорости в диапазоне 1–500 мкм/с в измеряемом объеме порядка 5 мкм³.

Вышеописанным характеристикам больше всего соответствуют оптические методы исследования. Одним из первых методов (1974 г.) для анализа внутриклеточных движений была лазерная доплеровская анемометрия (ЛДА) и микроскопия (ЛДМ) [27–29]. Принцип работы в ЛДА основан на регистрации доплеровских сдвигов частоты лазерного излучения, рассеянного движущимися частицами (внутриклеточными органеллами). Вследствие эффекта Доплера частота света, рассеянного на движущейся частице, изменяется на величину $\Delta\omega = V(k_{\text{расс}} - k_{\text{пад}})$, зависящую от скорости частиц V и от разности волновых векторов рассеянного ($k_{\text{расс}}$) и падающего ($k_{\text{пад}}$) света. Этой формулой определяется линейная зависимость скорости от доплеровско-

го сдвига частоты излучения. Таким образом, скорость частиц V в направлении z при рассеянии на угол α будет определяться как

$$V|_z = \frac{f_D \lambda}{2 \cos(\alpha)},$$

где f_D – центроид (среднее значение доплеровского спектра), λ – длина волны зондирующего излучения.

При использовании однолучевой схемы анемометра на выходе генерируется сигнал, мощность которого пропорциональна лишь значению модуля скорости. С помощью полученной зависимости можно оценить значения периода осцилляций потока при различных воздействиях [28, 30].

Измерение малых скоростей потоков при использовании обычных анемометров может быть затруднено из-за малых значений доплеровского сдвига, который может смешиваться с низкочастотными шумами. Для устранения этого недостатка был разработан метод знаочувствительной лазерной доплеровской микроскопии с применением сдвига несущей частоты f_c регистрируемого сигнала [1, 2]. Сдвиг несущей частоты позже стал использоваться и в ОКТ для разделения фазовой и групповой скорости.

Основными преимуществами знаочувствительного ЛДМ являются: 1) высокое пространственное разрешение – малый измерительный объём; 2) возможность проводить измерения мгновенных значений скорости с высоким временным разрешением; 3) линейность между частотой доплеровского сдвига и величиной скорости и, как следствие, простота калибровки; 4) автоматизированное и однозначное определение знака скорости (направления потока); 5) возможность исследования потоков со скоростями, близкими к нулю; 6) высокая точность и повторяемость результатов благодаря отстройке f_c от низкочастотной составляющей спектра ($1/f$ шум) [2].

Особенностью разработанного ЛДМ является способность автоматизированного определения направления потока за счёт сдвига частоты в одном из пучков дифференциальной (двухпучковой) схемы с частотами f_1 и f_2 :

$$f_c = f_1 - f_2.$$

Принципиальная схема установки ЛДМ изображена на рис. 1. Пучки лазерного излучения одномодового He-Ne лазера ($\lambda = 632.8$ нм, мощность 1–15 мВт) пересекаются внутри измеряемого объекта и образуют измерительный объём ~ 5 – 10 мкм³, геометрия которого зависит от длины волны излучения и угла пересечения пучков.

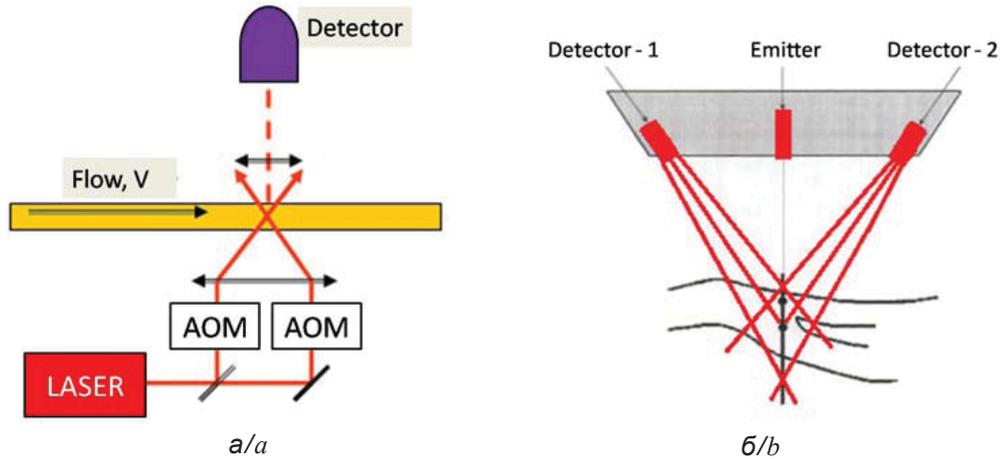


Рис. 1. Дифференциальная схема ЛДМ с двумя акустооптическими модуляторами (а) [2], аналогичная дифференциальной схеме доплеровского ультразвукового исследования с одним излучателем и двумя детекторами (б) [34–36]

Fig. 1. Differential circuit of LDM with two acoustooptic modulators (a) [2]. It is similar to the differential circuit of Doppler ultrasonic probing with one emitter and two detectors (b) [34–36]

Внутри измерительного объёма формируется интерференционная картина, которая аналогична интерферограмме ОКТ и модулирует регистрируемый сигнал на фотодетекторе. В реализованной схеме ЛДМ движущиеся частицы пересекают интерференционную картину в перпендикулярном направлении. Движущиеся частицы, пересекая интерференционные полосы, модулируют регистрируемый сигнал

$f_D = \pm 0 - 500$ Гц несущей частоты $f_c = 1 - 50$ кГц, который зависит от направления и скорости их движения.

На доплеровском спектре выделяются два пика, один из которых соответствует известной разнице частот зондируемых лучей, $f_c = f_1 - f_2$, а второй – доплеровскому сдвигу частоты, вызванному рассеянием света движущейся частицей (рис. 2).

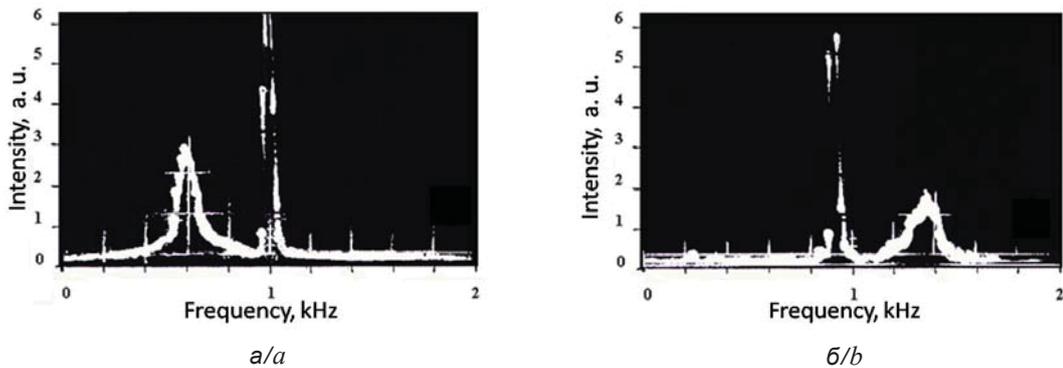


Рис. 2. Доплеровские спектры значочувствительного ЛДМ. Несущая частота – узкий пик с $f_c = 1$ кГц. Доплеровские спектры находятся слева (а) и справа (б) от неё [37, 38]

Fig. 2. Doppler spectra of the sign-sensitive LDM. The carrier frequency is a narrow peak with $f_c = 1$ kHz. The Doppler spectra are on the left (a) and on the right (b) from it [37, 38]

Компьютерная обработка доплеровских спектров определяет доплеровскую частоту, сдвинутую вправо или влево относительно несущей частоты. Она соответствует центру масс доплеровского спектра (центроид), который рассматривается в качестве частоты, пропорци-

ональной средней скорости частиц. Регистрация и обработка последовательности доплеровских спектров позволяют получить временные зависимости скоростей, $V(t)$, потоков внутри исследуемого объёма. Если заменить лазер с высокой когерентностью на низкокогерентный источник



(ОКТ), то центральный пик спектра, соответствующий f_c , исчезнет и останутся только доплеровские спектры, соответствующие движущемуся потоку (см. рис. 2.)

2. Сканирование и измерение скоростей потока эндоплазмы в изолированном тяже плазмодия

Плазмодий миксомицета *Physarum Polycephalum* является организмом с амёбовидным типом движения, которое осуществляется при помощи псевдоподий. Клетка плазмодия представляет собой протоплазматическую структуру с разветвленными тяжами, содержащую множество ядер. Тяжи плазмодия достигают в диаметре порядка 0.1–0.8 мм и напоминают сеть кровеносных сосудов, которая может использоваться как модель кровеносных сосудов сетчатки глаза. Для эндоплазмы внутри тяжей характерно периодическое, разнонаправленное движение, которое и обуславливает перемещение плазмодия как целого организма. В свою очередь, автоколебательная активность задается парами белков актин и миозин, таких же, как в мышцах животных и человека. Было показано, что эта немышечная подвижность зависит от множества факторов, от температуры и влажности, а также от концентрации химических компонентов, таких как Ca^{2+} , NADH, кислорода, молекул АТФ [39, 40].

При помощи знакочувствительного ЛДМ впервые удалось измерить и сделать Фурье-анализ временных зависимостей знакопеременного челночного движения нестационарного потока эндоплазмы в изолированном тяже плазмодия *Physarum Polycephalum* с применением ингибиторов дыхания [41, 42].

Плазмодий был выращен на питательной агаровой подложке. Изолированный тяж плазмодия (длиной 20 мм и диаметром 0.2 мм), вырезанный из целого организма вместе с питательной подложкой, помещался в чашку Петри. Последняя содержала раствор солей ($CaCl_2$ – 1 мМоль, $NaCl$ – 2 мМоля, KCl – 2 мМоля, $MgCl_2$ – 3 мМоля) с $pH = 7.2$, при температуре $25^\circ C$. Спустя 10–15 мин (после восстановления внешнего слоя эктоплазмы в ходе фибриллогенеза [7]), челночное движение потока эндоплазмы восстанавливалось, после чего производились измерения скорости.

Измерение одной точки зависимости $V(t)$ проводилось в центре горизонтально ориентированного тяжа в течение 2–16 с (доплеровские

спектры усреднялись по 2–10 измерениям, время накопления каждого спектра 0.8–1.6 с). Мощность He-Ne лазера составляла 1 мВт, длинная и короткая ось эллипсоида получаемого измерительного объема составили 12 и 6 мкм соответственно. Движение интерференционных полос происходит вдоль потока, а расстояние между ними составляет $d = \lambda/2\sin(\alpha/2) = 1.08 \mu m$, где $\lambda = 632.8$ нм, угол пересечения лучей $\alpha = 38^\circ$. Если частицы эндоплазмы не движутся, то интенсивность рассеянного излучения становится модулируемой с частотой f_c . Это проявляется в виде пика в спектре, ширина которого отражает интенсивность броуновского движения частиц. При движении частиц эндоплазмы с разными размерами и скоростями наблюдается доплеровский сдвиг и уширение спектра.

После регистрации временной зависимости скорости в тяже в нормальных условиях в кювету добавлялись ингибиторы дыхания цианид калия (KCN) и салицилгидроксамовая кислота (SHAM) в концентрации 5 и 7 мМоль на литр соответственно. Этот раствор приводит к остановке немышечной эндоплазматической подвижности. Затем ингибиторы отмывались буферным раствором, тяж снова помещался в благоприятные условия и производилась регистрация восстановления движения.

3. Спектральный анализ временных зависимостей скорости движения эндоплазмы

Первичным результатом работы прибора ЛДМ являются доплеровские спектры, зарегистрированные от движущейся эндоплазмы плазмодия. Центральный пик соответствует нулевой скорости, левый пик скорости -40 мкм/с, правый пик – скорости $+350$ мм/с (рис. 3).

С помощью оконного преобразования Фурье (длительность окна 600 с) были проанализированы $V(t)$ и получены соответствующие им спектры (рис. 4). Преимущество знакопеременной регистрации скорости заключается в отсутствии на спектре низкочастотных шумов. В случае регистрации только модуля скорости на спектре частот проявляются шумы, которые не позволяют точно определить скорость движения эндоплазмы. При анализе первой части модуля зависимости $V(t)$ длительностью 600 с были обнаружены два сильно зашумленных пика с частотами $\omega_1=0.0132$, $\omega_2=0.024$, и еще два наиболее явных пика с частотами $\omega_3=0.0368$ и $\omega_4 = 0.0505$ [9, 10].

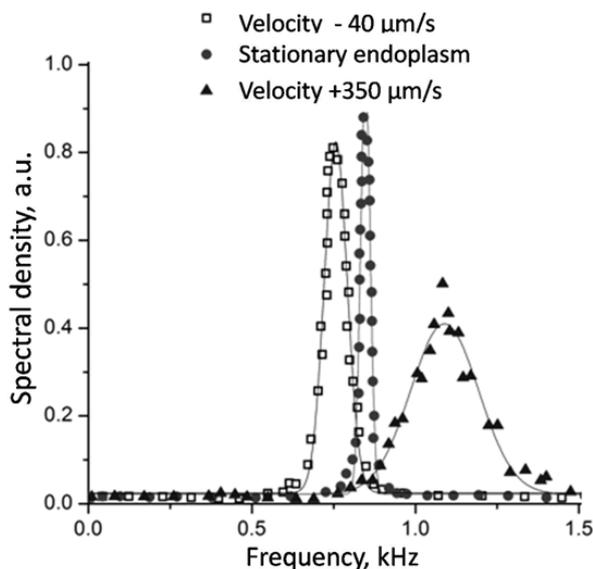


Рис. 3. Доплеровские спектры, полученные при измерении скорости движения эндоплазмы плазмодия *Physarum Polycephalum*. Спектры соответствуют движению с разными скоростями и остановке эндоплазмы. Сплошные линии – гауссовские аппроксимации, $R^2 > 0.98$ во всех случаях [26]

Fig. 3. Doppler spectra obtained by measuring the velocity of endoplasm movement in *Physarum Polycephalum*. The spectra correspond to the motion with different velocities and endoplasm cessation. The solid lines are Gaussian approximations, $R^2 > 0.98$ for all the cases [26]

При использовании знакочувствительного режима достаточно чётко выделяется автоколебательная активность, спектральный анализ временной зависимости скорости даёт два явно выраженных пика с частотами $\omega_1=0,0132$ и $\omega_2=0,024$ (см. рис. 4.). Таким образом, значения первых двух частот в обоих случаях совпадают, однако в первом случае выделить их из шумов не представляется возможным. Значения четырех максимальных частот второй длительности оконного преобразования через 10 мин (600–1200 с) в первом случае составили $\omega_1=0,0132$, $\omega_2=0,024$, $\omega_3=0,037$ и $\omega_4=0,0515$, а в случае знакопеременной регистрации – $\omega_1=0,013$ и $\omega_2=0,0254$ Гц. Увеличение амплитуды в обоих случаях происходит пропорционально. При этом частоты первых двух гармоник в обоих случаях практически совпадают, тогда 3-й и 4-й пики, скорее всего, соответствует шумам, возникающим при регистрации и обработке сигнала [9, 11].

Кроме того, знакочувствительный режим регистрации скорости позволяет количественно измерять направленный массоперенос эндоплазмы и определять направление движения плазмодия как целого организма. Интегральная площадь под кривой зависимости скорости

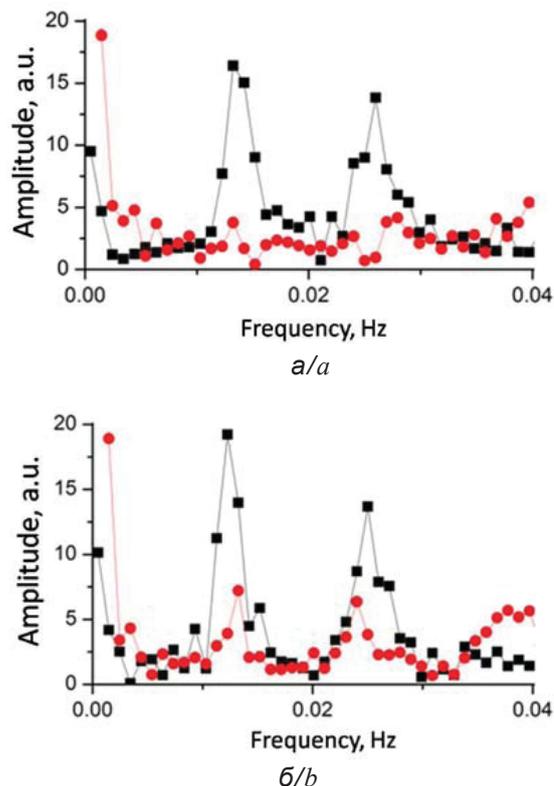


Рис. 4. Спектры, полученные методом оконного преобразования Фурье временных зависимостей скорости движения эндоплазмы $V(t)$ в случае регистрации модуля скорости (точки) и знакопеременной регистрации (квадраты). Интервалы времени: *a* – 0–600 с, *b* – 600–1200 с [26]

Fig. 4. Spectra obtained by the method of short-time Fourier transform of time dependencies of the endoplasm velocity $V(t)$ in the case of detecting the absolute velocity values (points) and sign-sensitive registration (squares). The time intervals: 0–600 s (*a*) and 600–1200 s (*b*) [26]

ниже и выше оси нулевой скорости (значения со знаком – и со знаком +) говорит о преимущественном направлении движения плазмодия в одну или другую сторону.

С использованием полученных спектральных значений частот, фаз и амплитуд была построена модель зависимости скорости движения от времени для обоих случаев [11, 26]. Как видно из полученных теоретических зависимостей, для зависимости без использования знакочувствительного метода теоретическая кривая недостаточно адекватно описывает полученные экспериментальные данные ($R^2=0,46$), тогда как с учетом знака между экспериментальными и теоретическими данными существует значимая корреляция ($R^2=0,9$).

На этапе восстановления подвижности плазмодия после удаления ингибиторов дыхания также была получена временная зависимость



скорости (рис. 5), для которой характерно гармоническое поведение и уменьшение периода колебаний в сравнении с первой зависимостью [11, 26]. На Фурье-спектре данной зависимости превалирует только одна, первая, гармоника, с меньшей частотой и большей амплитудой, в то время как вторая гармоника постепенно восстанавливается после 11-й минуты до прежнего уровня [9, 11, 32]. Моделирование результатов значочувствительной регистрации показало высокую степень адекватности модели ($R^2 = 0.92$).

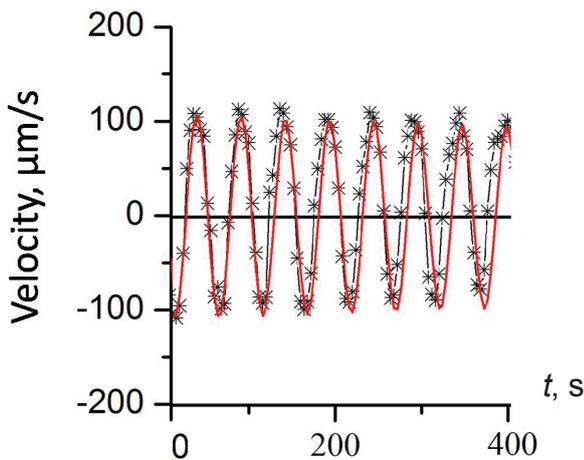
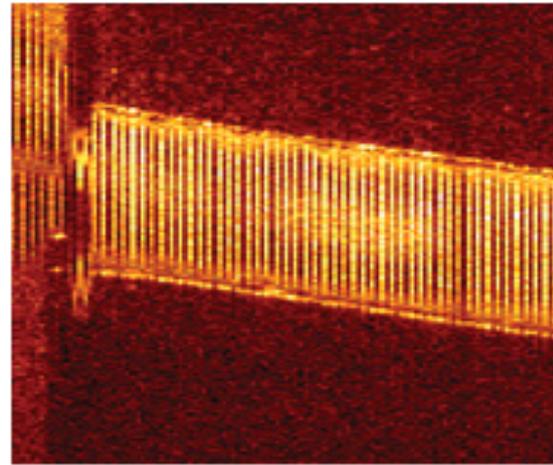


Рис. 5. Временная зависимость скорости движения эндоплазмы в буферном растворе после удаления ингибиторов дыхания (KCN и SHAM). Сплошная линия – результат моделирования, звездочки – экспериментальные точки [26]

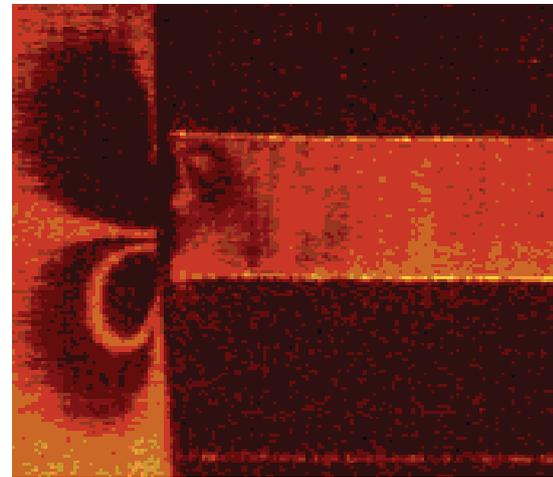
Fig. 5. Time dependence of the endoplasm movement velocity in the buffer solution after removing the inhibitors of respiration (KCN and SHAM). The solid thick line is the result of modeling, the asterisks are the experimental points [26]

4. Исследование знакопеременного потока со сложной геометрией

Сходящийся поток был исследован методами доплеровской ОКТ до и после капиллярного входа с разрешением $\sim 10 \times 10 \times 10$ мкм³. Получены структурные изображения фантома и изображения одной выбранной скорости (ОВС картирование) (рис. 6). Множество различных профилей скорости (вогнутый, уплощённый, параболический, треугольный) были экспериментально получены до и после капиллярного входа (рис. 7, 8). Потoki биологических жидкостей, таких как лимфа и кровь, реализуются в условиях сложной геометрии. Микроциркуляция крови как неньютоновской жидкости показывает отклонения от параболического профиля из-за ветвления сосудов и сложности сосудистой сети [20].



a/a



б/б

Рис. 6. Структурные ОКТ изображения и ОВС изображения скорости сходящегося потока в симметричном (а) и наклонном (б) капиллярном входе. Форма ОВС изображения соответствует форме, похожей на клапан сердца в отсутствие самого клапана (б) [43]

Fig. 6. Structural OCT images and OSV images of the convergent flow velocity, in the symmetric (a); and inclined (b) capillary inlet. The form of the OSV image corresponds to the shape similar to the heart valve in the absence of the valve itself (b) [43]

Циркуляция крови в сердце позвоночных на входе и выходе из желудочков и предсердий имеет асимметричные вихри, которые помогают закрывать сердечные клапаны. В результате полученных структурных изображений скорости можно обосновать предположение о том, что форма клапанов эволюционировала под действием возникающих вихрей и вела к асимметричному четырёхкамерному сердцу приматов ввиду того, что это энергетически выгодно с гидродинамической точки зрения [19].

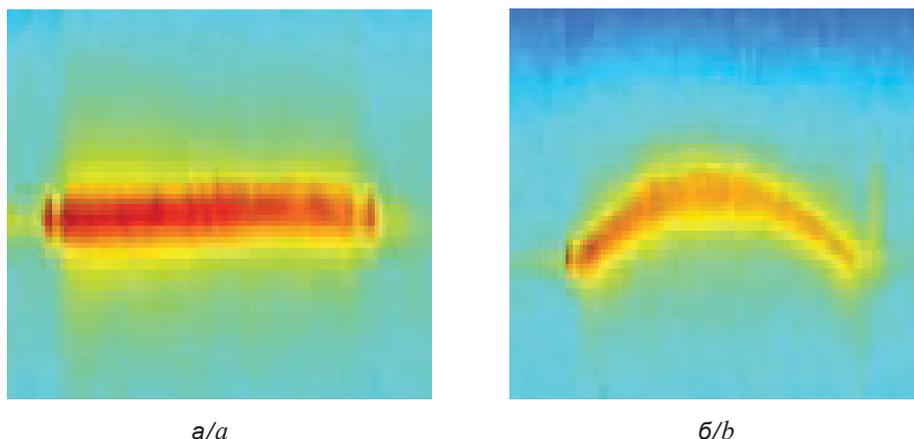


Рис. 7. Профили скорости, получаемые на расстоянии 1.5–2 мм от капиллярного входа. Прямая линия (а) соответствует перпендикулярному расположению фантома. Параболический профиль (б) соответствует наклонному расположению фантома [43]

Fig. 7. Velocity profiles obtained at the distance of 1.5–2 mm from the capillary inlet. The straight line (a) corresponds to the perpendicular arrangement of the phantom. The parabolic profile (b) corresponds to the inclined position of the phantom [43]

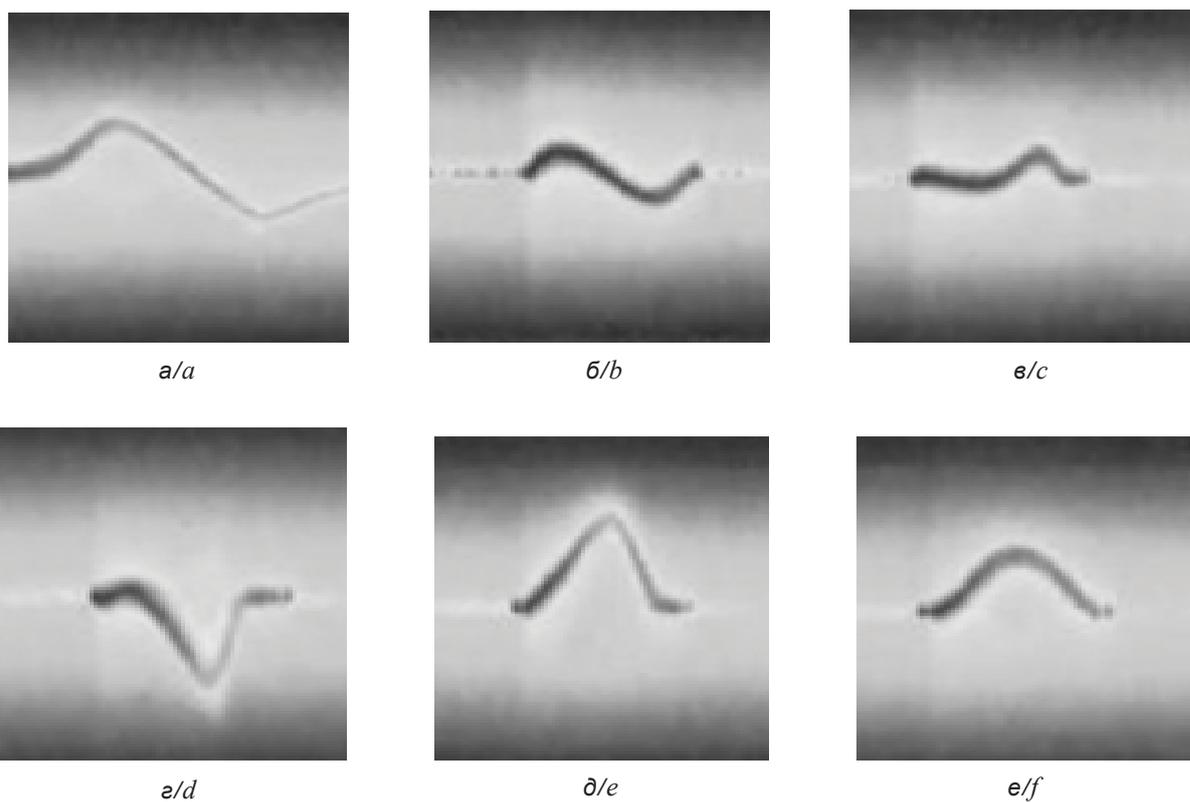


Рис. 8. Профили скорости, полученные в гидродинамическом фантоме в потоке со сложной геометрией до капиллярного входа (а) и после него (б–е). Параболический профиль формируется после 1.5–2 мм после входа (б) [43]

Fig. 8. Velocity profiles obtained in the hydrodynamic phantom in the flow with complex geometry before the capillary inlet (a) and after it (b–e). The parabolic profile is formed in 1.5–2 mm after the entrance (b) [43]

В настоящее время исследователи часто используют ультразвуковые приборы, высокоскоростные видеозаписывающие устройства и

магниторезонансную технику для картирования скорости кровотока. Несмотря на то что метод магниторезонансной визуализации скоростей

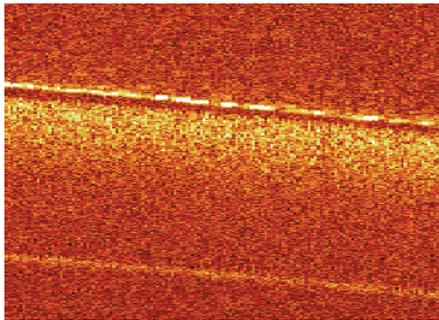


потоков применяется для изучения потоков крови в сердце *in vivo*, применяемая аппаратура в этом методе дорогая, громоздкая и даёт разрешение порядка 0.5–1 мм [27, 43].

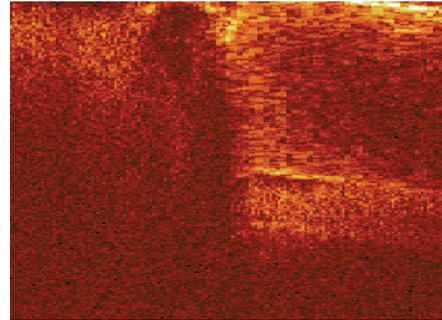
Тем не менее размер потоков со сложной геометрией существует не только на уровне сантиметровой шкалы, но и на уровне шкалы в несколько сотен микрон. Предложенный гидродинамический фантом с наклонным капиллярным входом имеет асимметричный сходящийся поток с соотношением

диаметров 1:4 [37, 44]. Он позволяет применять методы доплеровской ОКТ и картирования одной выбранной скорости в потоках со сложной геометрией.

Кроме низкокогерентных доплеровских спектров и различных профилей скорости были получены структурные и ОВС изображения (см. рис. 6) [37]. Такой подход даёт исчерпывающую информацию о динамике потоков различных биологических жидкостей, суспензий эритроцитов и цельной крови (рис. 9).



a/a



b/b

Рис. 9. Структурные ОКТ изображения потока цельной крови коровы в цилиндрическом капилляре диаметром 1 мм (а) и наклонном капиллярном входе (б)

Fig. 9. Structural OCT images of bovine whole blood stream in a cylindrical capillary with the diameter of 1 mm (a) and inclined capillary inlet (b)

Заключение

На основе знакочувствительных оптических доплеровских методов регистрации скорости движения нестационарных знакопеременных потоков эндоплазмы были разработаны и усовершенствованы методы оптической когерентной томографии (ОКТ) и доплеровской ОКТ для целей измерения скорости, профиля скорости и визуализации одной выбранной скорости (ОВС) потоков биологических жидкостей. На основе низкокогерентных методов дискриминации оптического сигнала разрабатывается алгоритм цветового доплеровского картирования разнонаправленных потоков, который позволяет в автоматизированном режиме разделять исходные данные на две части, соответствующие положительному и отрицательному сдвигу несущей частоты с последующим независимым построением двумерного структурного и двумерного ОВС изображения с цветовым кодированием и итоговым комплексированием. ОВС картирование позволяет построить анатомические доплеровские карты потоков биологических жидкостей, которые отражают функциональное состояние биообъекта

в норме и патологии. Предложенный метод можно применять не только в оптических, но и в ультразвуковых системах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Прохорова (проект № 04-01.3/446, 2015 г.) и стипендии Президента Российской Федерации (проект № 653, 2016 г.)

Список литературы

1. Priezzhev A. V., Proskurin S. G. Laser Doppler Velocimetry : *in vitro* and *in vivo* measurements of biological fluid flows in restricted volumes // Proc. of SPIE. 2000. Vol. 1553. P. 502–514.
2. Priezzhev A. V., Proskurin S. G., Romanovsky Yu. M. Laser Doppler measurements of amoeboid cytoplasmic streaming and problems of mathematical modeling of intracellular hydrodynamics // Proc. of SPIE. 1991. Vol. 1402. P. 107–113.
3. Sokolova I. A., Shahnazarov A. A., Timkina M. I., Polyakova M. S., Proskurin S. G., Priezzhev A. V. Can blood flow properties have pronounced influence on microvessel resistance? // Biorheology. 1995. Vol. 32, № 2. P. 286.
4. Polyakova M. S., Sokolova I. A., Priezzhev A. V., Proskurin S. G., Shahnazarov A. A., Savchenko N. B.



- Blood flow velocity measurements in rat mesentery arterioles in health and under hypertensive conditions // Proc. of SPIE. 1994. Vol. 2136. P. 63–68.
5. Романовский Ю. М., Теплов В. А. Физические основы клеточного движения. Механизмы самоорганизации амебодной подвижности // УФН. 1995. Т. 165, № 5, С. 555–578.
 6. Frolov S. V., Sindeev S. V., Liepsch D., Balasso A., Proskurin S. G., Potlov A. Yu. Model studies of blood flow in basilar artery with 3D Laser Doppler Anemometer // Proc. of SPIE. 2015. Vol. 9448. P. 9448081–9448086.
 7. Kamiya N. Physical and chemical basis of cytoplasmic streaming // Annu. Rev. Plant Physiol. 1981. Vol. 32. P. 205–236.
 8. Block I., Wohlfarth-Bottermann K. E. Blue light as a medium to influence oscillatory contraction frequency in Physarum // Cell Biol. Intern. Rep. 1981. Vol. 5. P. 73–81.
 9. Проскурин С. Г., Авсиевич Т. И. Спектральный анализ автоколебательной подвижности в изолированном туже плазмодия Physarum polycephalum // Биофизика. 2014. Т. 59, вып. 6. С. 1143–1150.
 10. Avsievich T. I., Ghaleb K.E.S., Frolov S. V., Proskurin S. G. Endoplasmic motility spectral characteristics in plasmodium of Physarum Polycephalum // Proc. of SPIE. 2015. Vol. 9448. P. 94480H1–94480H7.
 11. Avsievich T. I., Frolov S. V., Proskurin S. G. Characterization of endoplasmic streaming in Physarum polycephalum using direction sensitive laser Doppler microscopy // Optical and Quantum Electronics. 2016. Vol. 48, № 102. P. 1–10.
 12. Nagai R., Kato T. Cytoplasmic Filaments and their Assembly into Bundles in Physarum Plasmodium // Protoplasma. 1975. Vol. 86. P. 141–158.
 13. Landau L. D., Lifshitz E. M. Fluid Mechanics. Course of Theoretical Physics : in 6 vol. 2nd ed. Oxford, UK : Pergamon Press, 1987. Vol. 6. 532 p.
 14. Firmin D. N., Nayler G. I., Klipstein R. H., Underwood S. R., Rees, R. S., Longmore D. B. In vivo validation of MR velocity imaging // J. Comput. Assist. Tomogr. 1987. Vol. 11, iss. 5. P. 751–756.
 15. Ashworth J. M., Dee J. The biology of slime moulds. London, UK : Edward Arnold Ltd., 1975. 67 p.
 16. Nichols W. W., O'Rourke M. F., McDonald R. McDonald's blood flow in arteries. 3rd ed. London, UK : Edward Arnold Ltd., 1990. 456 p.
 17. Bishko G. B., Harlen O. G., McLeish T.C.B., Nicholson T. M. Numerical simulation of the transient flow of branched polymer melts through a planar contraction using the «pom-pom» model // Journal of Non-newtonian Fluid Mechanics. 1999. Vol. 82, iss. 2–3. P. 255–273.
 18. Horrobin D. J., Nedderman R. M. Die entry pressure drops in paste extrusion // Chemical Engineering Science. 1998. Vol. 53, iss. 18. P. 3215–3125.
 19. Kilner P. J., Yang G. Z., Wilkes A. J., Mohiaddin R. H., Firmin D. N., Yacoub M. H. Asymmetric redirection of flow through the heart // Nature. 2000. Vol. 404. P. 759–761.
 20. Shirakashi M., Takahashi T., Watanabe A., Aruga Y. Start-up behavior of viscoelastic fluid flow near a capillary entry // Annals of the New York Academy of Sciences. 2002. Vol. 972. P. 81–87.
 21. Nakagaki T., Kobayashi R., Nishiura Y., Ueda T. Obtaining multiple separate food sources : behavioural intelligence in the Physarum plasmodium // Proc. Roy. Soc. 2004. Vol. 271, iss. 1554. P. 2305–2310.
 22. Nakagaki T., Guy R. D. Intelligent behaviors of amoeboid movement based on complex dynamics of soft matter // Soft Matter. 2008. Vol. 4, iss. 1. P. 57–67.
 23. Joanny J. F., Prost J. Active gels as a description of the actin-myosin cytoskeleton // HFSP J. 2009. Vol. 3, № 2. P. 94–104.
 24. Guy R. D., Nakagaki T., Wright G. B. Flow-induced channel formation in the cytoplasm of motile cells // Phys. Rev. E. 2011. Vol. 84. P. 016310.
 25. De Lacy C. B., Adamatzky A. Assessing the chemotaxis behavior of Physarum Polycephalum to a range of simple volatile organic chemicals // Commun. Integr. Biol. Communicative and Intergrative Biology. 2013. Vol. 6, iss. 5. P. e25030.
 26. Avsievich T. I., Frolov S. V., Proskurin S. G. Spectral characteristics of shuttle self-oscillating endoplasmic motility in slime mold plasmodium // Optics and Spectroscopy. 2016. Vol. 120, iss. 1. P. 70–75.
 27. Mustacich R. V., Ware B. R. Observation of protoplasmic streaming by laser-light scattering // Phys. Rev. Lett. 1974. Vol. 33, iss. 11. P. 617–620.
 28. Mustacich R. V., Ware B. R. Velocity distributions of the streaming protoplasm in Nitella flexilis // Biophys. J. 1977. Vol. 17, iss. 3. P. 229–241.
 29. Durst F., Melling A., James H. Whitelaw. Principles and practice of laser-doppler anemometry. London UK : Academic Press, 1976. 405 p.
 30. Порошина М. Ю., Приезжев А. В., Романовский Ю. М. Фото-рецепция и автоколебательная подвижность живой клетки // Биофизика. 1989. Т. 34, вып. 6. С. 980–984.
 31. Теплов В. А., Митрофанов В. В., Романовский Ю. М. Синхронизация механохимических автоколебаний в плазмодии Physarum polycephalum периодическими внешними воздействиями // Биофизика. 2005. Т. 50, № 4. С. 704–712.
 32. Авсиевич Т. И., Фролов С. В., Проскурин С. Г. Влияние ингибиторов клеточного дыхания на автоколебательную подвижность плазмодия Physarum polycephalum // Биофизика. 2016. Т. 61, вып. 1. С. 68–77.
 33. Соколова И. А., Шахназаров А. А., Тимкина М. И., Полякова М. С., Приезжев А. В., Проскурин С. Г., Савченко Н. Б., Бикулова К. Ф. Уменьшение гемодинамического сопротивления в артериолах брыжейки крысы после введения полиэтилен оксида Polyox WSR-301 // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. 1993. № 11. С. 552–555.



34. Fisher Y. L., Nogueira F., Salles D. Diagnostic ophthalmic ultrasonography // Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology. 15th ed. / eds. W. Tasman, E. A. Jaeger. Philadelphia, Pa : Lippincott Williams & Wilkins, 2009. Chap. 108.
35. Ouriev B., Windhab E. Novel ultrasound based time averaged flow mapping method for die entry visualisation in flow of highly concentrated shear-thinning and shearthickening suspensions // Measurement Science and Technology. 2003. Vol. 14, iss. 1. P. 140–147.
36. Rychagov M. N., Ruchkin S. V., Tereshchenko S. A., Podgaetsky V. M., Selishchev S. V. Imaging of fluid flow by tomographic reconstruction using enhanced multipath ultrasonic measurements // Proc. of IEEE Ultrasonic Symposium. Honolulu, HI, USA, 2003. P. 803–806.
37. Proskurin S. G., He Y., Wang R. K. Doppler optical coherence imaging of converging flow // Physics in Medicine and Biology. 2004. Vol. 49, iss. 7. P. 1265–1276.
38. Проскурин С. Г. Доплеровская микроскопия знакопеременных нестационарных потоков в живых объектах : дис. ... канд. физ.-мат. наук. М., 1993. 110 с.
39. Теплов В. А., Бейлина М. В., Евдокимов С. И., Приезжев А. В., Романовский Ю. М. Автоволновые механизмы внутриклеточной подвижности // Автоволновые процессы в системах с диффузией : сб. ст. / под ред. М. Т. Грехова ; Ин-т прикладной физики АН СССР. Горький, 1981. С. 190–201.
40. Ueda T., Matsumoto K., Akitaya T., Kobatake Y. Spatial and temporal organization of intracellular adenosine nucleotide and cyclic nucleotides in relation to rhythmic motility in *Physarum polycephalum* // Exp. Cell Res. 1986. Vol. 162, iss. 2. P. 486–494.
41. Mazur A., Teplov V. A. Surface oscillations in *Physarum polycephalum* – computer simulation and comparison with the local influence of the respiratory inhibitors // Acta Protozoologica. 1991. Vol. 30, iss. 2. P. 87–92.
42. Hoang H.T.K., Akihiro N., Sakae A. Effects of KCN, SHAM and oxygen concentrations on respiratory properties of purified mitochondria isolated from *Ananas comosus* (pineapple) and *Kalanchoe daigremontiana* // Plant Prod. Science. 2005. Vol. 8, iss. 4. P. 383–392.
43. Brooksby B., Jiang S., Dehghani H., Pogue B. W., Paulsen K. D., Weaver J., Kogel C., Poplack S. P. Combining near-infrared tomography and magnetic resonance imaging to study *in vivo* breast tissue : implementation of a Laplacian-type regularization to incorporate magnetic resonance structure // J. Biomed. Opt. 2005. Vol. 10, iss. 5. P. 051504.
44. Proskurin S.G., Wang R.K. One specific velocity visualization in flows with complex geometry // Proc. of SPIE. 2005. Vol. 5696. P. 129–135.

Образец для цитирования:

Проскурин С. Г., Кускова Н. А., Авсиевич Т. И. Оптические доплеровские методы для измерения скорости потоков биологических жидкостей // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 269–280. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-4-269-280.

Optical Doppler Methods for the Measurements of Flow Velocities of Biological Liquids

S. G. Proskurin, N. A. Kuskova, T. I. Avsievich

Sergey G. Proskurin, ORCID 0000-0001-8813-588X, Tambov State Technical University, 112 D, Michurinskaya Str., Tambov, 392032, Russia, spros@tamb.ru

Nadezhda A. Kuskova, ORCID 0000 0002 9777 4306, Tambov State Technical University, 112 D, Michurinskaya Str., Tambov, 392032, Russia, nadya.kuskova@yandex.ru

Tatiana I. Avsievich, ORCID 0000-0001-5449-3216, Tambov State Technical University, 112 D, Michurinskaya Str., Tambov, 392032, Russia, tiavsievich@gmail.com

Background and Objectives: In this paper the key results obtained by the authors during the years of development of Doppler optical methods for quasi-elastic light scattering and coherence gating on biomedical liquids are presented. The research is focused on the sign sensitive velocity measurement and quantitative visualization of alternating and complex geometry flows using spectral approach to digital data processing of Doppler shift of the carrier frequency. **Materials and Methods:** Laser Doppler microscopy allows accurate sign-sensitive

measurement of the endoplasm stream velocity in the isolated strand of *Physarum polycephalum*. An algorithm of color Doppler mapping of multidirectional flows (vessel phantom) is developed to automatically decompose the original data into two parts corresponding to a positive and negative shift of the carrier frequency with forming up the structural image and two OSV (One Specific Velocity) ones followed by color coding and a final complexation. **Results:** The model based on the spectral characteristics adequately describes the change of the velocity time dependencies of the endoplasmic motility. The OSV Doppler mapping allows for the construction of structural Doppler images of biological fluids. They clearly visualize and reflect the functional state of the biological object. **Conclusion:** The methods of quasi-elastic light scattering, optical coherence tomography (OCT) and Doppler OCT have been developed for the direction-sensitive velocity measurements and OSV mapping of biomedical liquids, based on the automated sign-sensitive registration of the carrier and Doppler shifts. Velocity measurements and color mapping of the alternating flows of the liquids *in vitro* and *in vivo* are presented.

Key words: optical coherence tomography, laser measurements, Doppler spectroscopy.

Acknowledgements: This work was supported by the Prokhorov Foundation (project no. 04-01.3/446, 2015) and Russian Presidential Scholarship to study abroad (project no. 653, 2016).



References

- Priezzhev A. V., Proskurin S. G. Laser Doppler Velocimetry: *in vitro* and *in vivo* measurements of biological fluid flows in restricted volumes. *Proc. of SPIE*, 1992, vol. 1553, pp. 502–514.
- Priezzhev A. V., Proskurin S. G., Romanovsky Yu. M. Laser Doppler measurements of amoeboid cytoplasmic streaming and problems of mathematical modeling of intracellular hydrodynamics. *Proc. of SPIE*, 1991, vol. 1402, pp. 107–113.
- Sokolova I. A., Shahnazarov A. A., Timkina M. I., Polyakova M. S., Proskurin S. G., Priezzhev A. V. Can blood flow properties have pronounced influence on microvessel resistance? *Biorheology*, 1995, vol. 32, no. 2, p. 286.
- Polyakova M. S., Sokolova I. A., Priezzhev A. V., Proskurin S. G., Shakhnazarov A. A., Savchenko N. B. Blood flow velocity measurements in rat mesentery arterioles in health and under hypertensive conditions. *Proc. of SPIE*, 1994, vol. 2136, pp. 63–68.
- Romanovskii Yu. M., Teplov V. A. The physical bases of cell movement. The mechanisms of self-organisation of amoeboid motility. *Phys. Usp.*, 1995, vol. 38, pp. 521–542.
- Frolov S. V., Sindeev S. V., Liepsch D., Balasso A., Proskurin S. G., Potlov A. Yu. Model studies of blood flow in basilar artery with 3D Laser Doppler Anemometer. *Proc. of SPIE*, 2015, vol. 9448, pp. 9448081–9448086.
- Kamiya N. Physical and chemical basis of cytoplasmic streaming. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1981, vol. 32, pp. 205–236.
- Block I., Wohlfarth-Bottermann K. E. Blue light as a medium to influence oscillatory contraction frequency in Physarum. *Cell Biol. Int. Rep.*, 1981, vol. 5, pp. 73–81.
- Proskurin S. G., Avsievich T. I. Spectral analysis of self-oscillating motility in an isolated plasmodial strand of Physarum polycephalum. *Biophysics*, 2014, vol. 59, iss. 6, pp. 928–934.
- Avsievich T. I., Ghaleb K.E.S, Frolov S. V., Proskurin S. G. Endoplasmic motility spectral characteristics in plasmodium of Physarum Polycephalum. *Proc. of SPIE*, 2015, vol. 9448, pp. 94480H1–94480H7.
- Avsievich T. I., Frolov S. V., Proskurin S. G. Characterization of endoplasmic streaming in Physarum polycephalum using direction sensitive laser Doppler microscopy. *Optical and Quantum Electronics*, 2016, vol. 48, no. 102, pp. 1–10.
- Nagai R., Kato T. Cytoplasmic filaments and their assembly into bundles in physarum plasmodium. *Protoplasma*, 1975, vol. 86, pp. 141–158.
- Landau L. D., Lifshitz E. M. *Fluid Mechanics. Course of Theoretical Physics : in 6 vol.* 2nd ed. Oxford, UK, Pergamon Press, 1987, vol. 6. 532 p.
- Firmin D. N., Nayler G. I., Klipstein R. H., Underwood S. R., Rees, R. S., Longmore D. B. *In vivo* validation of MR velocity imaging. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1987, vol. 11, iss. 5, pp. 751–756.
- Ashworth J.M., Dee J. *The biology of slime moulds.* London, UK, Edward Arnold Ltd., 1975. 67 p.
- Nichols W. W., O'Rourke M. F., McDonald R. *McDonald's blood flow in arteries.* 3rd ed. London, UK, Edward Arnold Ltd., 1990, 456 p.
- Bishko G. B., Harlen O. G., McLeish T.C.B., Nicholson T. M Numerical simulation of the transient flow of branched polymer melts through a planar contraction using the “pom-pom” model. *Journal of Non-newtonian Fluid Mechanics*, 1999, vol. 82, iss. 2–3, pp. 255–273.
- Horrobin D. J., Nedderman R. M. Die entry pressure drops in paste extrusion. *Chemical Engineering Science*, 1998, vol. 53, iss. 18, pp. 3215–3125.
- Kilner P. J., Yang G. Z., Wilkes A. J., Mohiaddin R. H., Firmin D. N., Yacoub M. H Asymmetric redirection of flow through the heart. *Nature*, 2000, vol. 404, pp. 759–761.
- Shirakashi M., Takahashi T., Watanabe A., Aruga Y. Start-up behavior of viscoelastic fluid flow near a capillary entry. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2002, vol. 972, pp. 81–87.
- Nakagaki T., Kobayashi R., Nishiura Y., Ueda T. Obtaining multiple separate food sources: behavioural intelligence in the Physarum plasmodium. *Proc. Roy. Soc.*, 2004, vol. 271, iss. 1554, pp. 2305–2310.
- Nakagaki T., Guy R. D. Intelligent behaviors of amoeboid movement based on complex dynamics of soft matter. *Soft Matter*, 2008, vol. 4, iss. 1, pp. 57–67.
- Joanny J. F., Prost J. Active gels as a description of the actin-myosin cytoskeleton. *HFSP J.*, 2009, vol. 3, iss. 2, pp. 94–104.
- Guy R. D., Nakagaki T., Wright G. B. Flow-induced channel formation in the cytoplasm of motile cells. *Phys. Rev. E.*, 2011, vol. 84, pp. 016310.
- De Lacy C. B., Adamatzky A. Assessing the chemotaxis behavior of Physarum Polycephalum to a range of simple volatile organic chemicals. *Communicative and Intergrative Biology*, 2013, vol. 6, iss. 5, pp. e25030.
- Avsievich T. I., Frolov S. V., Proskurin S. G. Spectral characteristics of shuttle self-oscillating endoplasmic motility in slime mold plasmodium. *Optics and Spectroscopy*, 2016, vol. 120, iss. 1, pp. 70–75.
- Mustacich R. V., Ware B. R. Observation of protoplasmic streaming by laser-light scattering. *Phys. Rev. Lett.*, 1974, vol. 33, iss. 11, pp. 617–620.
- Mustacich R. V., Ware B. R. Velocity distributions of the streaming protoplasm in Nitella flexilis. *Biophys. J.*, 1977, vol. 17, iss. 3, pp. 229–241.
- Durst F., Melling A., James H. Whitelaw. *Principles and Practice of Laser-Doppler Anemometry.* London, UK, Academic Press, 1976. 405 p.
- Poroshina M. Iu., Priezzhev A. V., Romanovskii Iu. M. Foto-retseptsii i avtokolobatel'naia podvizhnost' zhivoi kletki [Photo-reception and auto-oscillatory mobility of a living cell]. *Biofizika*, 1989, vol. 34, iss. 6, pp. 980–984 (in Russian).
- Teplov V. A., Mitrofanov V. V., Romanovskii Iu. M. Synchronization of mechanochemical auto-oscillations within the Physarum polycephalum plasmodium by



- periodical external actions. *Biophysics*, 2005, vol. 50, no. 4, pp. 618–626.
32. Avsievich T. I., Frolov S. V., Proskurin S. G. The effect of inhibitors of cellular respiration on self-oscillating motility in plasmodium *Physarum polycephalum*. *Biophysics*, 2016, vol. 61, iss. 1, pp. 59–66.
33. Sokolova I. A., Shakhnazarov A. A., Timkina M. I., Poliakova M. S., Priezzhev A. V., Prockurin S. G., Savchenko N. B., Bikulova K. F. Umen'shenie gemodinamicheskogo soprotivleniia v arteriolakh bryzheiki krysy posle vvedeniia polietilen oksida Polyox WSR-301 [Reduction of hemodynamic resistance in rat mesentery arterioles after administration of polyethylene oxide Polyox WSR-301]. *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 1993, no. 11, pp. 552–555 (in Russian).
34. Fisher Y. L., Nogueira F., Salles D. Diagnostic ophthalmic ultrasonography. In: *Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology*. 15th ed. Eds. W. Tasman, E. A. Jaeger. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2009, chap. 108.
35. Ouriev B., Windhab E. Novel ultrasound based time averaged flow mapping method for die entry visualisation in flow of highly concentrated shear-thinning and shearthickening suspensions. *Measurement Science and Technology*, 2003, vol. 14, iss. 1, pp. 140–147.
36. Rychagov M. N., Ruchkin S. V., Tereshchenko S. A., Podgaetsky V. M., Selishchev S. V. Imaging of fluid flow by tomographic reconstruction using enhanced multipath ultrasonic measurements. *Proc. of IEEE Ultrasonic Symposium*. Honolulu, HI, USA, 2003, pp. 803–806.
37. Proskurin S. G., He Y., Wang R. K. Doppler optical coherence imaging of converging flow. *Physics in Medicine and Biology*, 2004, vol. 49, iss. 7, pp. 1265–1276.
38. Proskurin S. G. *Doplerovskaia mikroskopiia znakopere-mennykh nestatsionarnykh potokov v zhivykh ob'ektakh*: Dis. kand. fiz.-mat. nauk [Doppler microscopy of alternating non-stationary flows in living objects]. Moscow, 1993. 110 p. (in Russian).
39. Teplov V. A., Beilina M. V., Evdokimov S. I., Priezzhev A. V., Romanovskii Iu. M. Avtovolnovye mekhanizmy vnutrikletochnoi podvizhnosti [Autowave mechanisms of intracellular mobility]. In: *Avtovolnovye protsessy v sistemakh s diffuziei* [Autowave processes in systems with diffusion]. Pod red. M. T. Grekhova, Institut prikladnoi fiziki AN SSSR. Gor'kii, 1981, pp. 190–201 (in Russian).
40. Ueda T., Matsumoto K., Akitaya T., Kobatake Y. Spatial and temporal organization of intracellular adenosine nucleotide and cyclic nucleotides in relation to rhythmic motility in *Physarum polycephalum*. *Exp. Cell Res.*, 1986, vol. 162, iss. 2, pp. 486–494.
41. Mazur A., Teplov V. A. Surface oscillations in *Physarum Polycephalum* – computer simulation and comparison with the local influence of the respiratory inhibitors. *Acta Protozoologica*, 1991, vol. 30, iss. 2, pp. 87–92.
42. Hoang H.T.K., Akihiro N., Sakae A. Effects of KCN, SHAM and oxygen concentrations on respiratory properties of purified mitochondria isolated from *anascomosus* (pineapple) and *kalanchoe daigremontiana*. *Plant Prod. Sci.*, 2005, vol. 8, iss. 4, pp. 383–392.
43. Brooksby B., Jiang S., Dehghani H., Pogue B. W., Paulsen K. D., Weaver J., Kogel C., Poplack S. P. Combining near-infrared tomography and magnetic resonance imaging to study *in vivo* breast tissue: implementation of a Laplacian-type regularization to incorporate magnetic resonance structure. *J. Biomed. Opt.*, 2005, vol. 10, iss. 5, p. 051504.
44. Proskurin S. G., Wang R. K. One specific velocity visualization in flows with complex geometry. *Proc. of SPIE*, 2005, vol. 5696, pp. 129–135.

Cite this article as:

Proskurin S. G., Kuskova N. A., Avsievich T. I. Optical Doppler Methods for the Measurements of Flow Velocities of Biological Liquids. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 269–280 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-4-269-280.
