



ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ СВЕТОРАССЕЯНИЯ В БИМЕДИЦИНЕ И ЭКОЛОГИИ*

М.Н. Кириченко^{1}, Л.Л. Чайков¹, М.А. Казарян¹, Н.А. Булычев^{1,2}*

¹ФГУН Институт им. П.Н. Лебедева РАН
д. 53, Ленинский пр-т, Москва, 119991, Россия
тел.: +7(499)135-78-90; kazar@sci.lebedev.ru
e-mail: maslovamarina87@gmail.com

²Московский авиационный институт
д. 4, Волоколамское шоссе, Москва, 125993, Россия
тел.: +7(499)135-78-90; e-mail: nbulychev@mail.ru

doi: 10.15518/isjaee.2019.01-03.080-103

Заключение совета рецензентов: 25.04.18 Заключение совета экспертов: 30.05.18 Принято к публикации: 09.10.18

Обзор посвящен применению методов светорассеяния в биомедицине и экологии как в отечественной, так и в зарубежной практике. Кратко представлены основы теории динамического и статического рассеяния света, а также приведены результаты работ, посвященных применению этих методов в прикладных исследованиях. Методы светорассеяния неинвазивны, не повреждают структуру молекул и не влияют на естественное протекание процессов в образце, что делает их незаменимыми при исследовании биологических жидкостей. Применение этих методов для определения гидродинамических радиусов биомакромолекул (белков, ДНК и др.), их молекулярных масс, а также распределений интенсивности рассеянного света по их размерам в модельных и нативных биологических жидкостях (в плазме, сыворотке крови и т.д.) уже привело к разработке методик диагностики социально-значимых заболеваний (онкологических, сердечно-сосудистых и др.). Авторы этих методик показали, что такие параметры, как соотношение интенсивностей света, рассеянного на альбуминах и глобулинах, средние размеры агрегатов белков, коэффициенты их межмолекулярного взаимодействия в образцах разбавленной плазмы и сыворотки крови могут являться маркерами указанных патологий. Кроме того, с помощью методов светорассеяния другими авторами показано влияние низких концентраций ионов тяжелых металлов и малых доз радиоактивного излучения на плазму и сыворотку крови различных групп населения и выявлено наличие обменных нарушений у лиц, задействованных в атомной промышленности. Такие результаты открывают возможность применения методов для саногенетического мониторинга состояния здоровья населения, актуального с точки зрения экологии производств и экологически неблагоприятных территорий. В обзоре также представлено применение методов динамического рассеяния света для исследования переходов золь-гель в образцах, а также скоростей образования биополимерных гелей, их свойств и структуры, в том числе в присутствии новых наночастиц, что является новым и перспективным направлением применения методов светорассеяния.

Ключевые слова: динамическое и статическое светорассеяние; белки плазмы крови; гидродинамические радиусы; биологические жидкости; саногенетический мониторинг.

* Кириченко М.Н., Чайков Л.Л., Казарян М.А., Булычев Н.А. Применение методов светорассеяния в биомедицине и экологии // Международный научный журнал «Альтернативная энергетика и экология» (ISJAEE), 2019;01-03:80-103.



APPLICATION OF DYNAMIC LIGHT SCATTERING IN BIOMEDICINE AND ECOLOGY

M.N. Kirichenko^{1}, L.L. Chaikov¹, M.A. Kazaryan¹, N.A. Bulychev^{1,2}*

¹Lebedev Physical Institute of RAS
53 Leninsky Av., Moscow, 119991, Russia
tel.: +7 (499) 135 78 90, e-mail: maslovamarina87@gmail.com

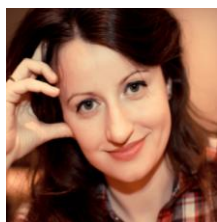
²Moscow Aviation Institute
4 Volokolamskoe drive, Moscow, 125993, Russia
tel.: +7(499)135 78 90, e-mail: nbulychev@mail.ru

doi: 10.15518/isjaee.2019.01-03.080-103

Referred 25 April 2018 Received in revised form 30 May 2018 Accepted 9 October 2018

The review is devoted to the modern state of science in the field of light scattering techniques application in the biomedicine and ecology. The theoretical basis of dynamic and static light scattering and the results of modern works of their using for different aims are presented in the work. Since these methods are non-invasive and do not disturb the essential course of different processes, they are useful and irreplaceable for studying the biological samples. Application of the methods for studying of the hydrodynamic radii, molecular weights and distributions of light scattering on biomacromolecular particle sizes in biological liquids already led to the development of techniques of diagnostics of different socially-important deceases (cancer, cardiovascular deceases, and diabetes). The authors of diagnostics found that the ratio of the light intensity on the sizes of albumins and globulins, the mean hydrodynamic radius of protein aggregates and the second virial coefficient are the sensitive parameters to pathological processes development in the human body. The review also presents the results of the works devoted to the study of the influence of the low doses of ions of heavy metals and radioactive radiation on different groups of the population by light scattering. The results showed, for example, that the people involved in the nuclear industry have metabolic disorders. Such works open the possibility of application of light scattering technique for sanogenetic control of the population health, which is relevant from the ecological point of view of environmentally unfriendly territories and industries. The study of the structure and properties of the polymeric and biological gels and effects of different factors on them (including nanoparticles) is the perspective field of light scattering application. The works and their results presented in the review show the broad application of light scattering technique for different biological and ecological aims.

Keywords: dynamic and static light scattering; blood plasma proteins; hydrodynamic radii; biological liquids; sanogenetic monitoring.



Марина Николаевна Кириченко
Marina Kirichenko

Сведения об авторе: канд. физ.-мат. наук, научный сотрудник, Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН.

Образование: НИЯУ МИФИ (2010 г.).

Область научных интересов: динамическое и статическое светорассеяние; биофизика клетки и белков.

Публикации: 30.
h-index 2

Information about the author: Ph.D. in Physics and Mathematics, Researcher, P.N. Lebedev Physical Institute of RAS.

Education: Moscow Engineer Physical Institute, 2010.

Research interests: dynamic and static light scattering; biophysics of cells and proteins.

Publications: 30.



Леонид Леонидович Чайков
Leonid Chaikov

Сведения об авторе: канд. физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник, Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН.

Образование: МФТИ (1976 г.).

Область научных интересов: рассеяние света; эмульсии; биологические гели.

Публикации: 60.
h-index 9.

Information about the author: Ph.D. in Physics and Mathematics, Leading Researcher, P.N. Lebedev Physical Institute of RAS.

Education: Moscow Institute of Physics and Technology, 1976.

Research interests: polymer chemistry; medical chemistry; smart sensors.

Publications: 60.





Мишик Айразатович Казарян
Mishik Kazaryan

Сведения об авторе: д-р физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник, Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН.

Образование: Московский физико-технический институт (1970 г.).

Область научных интересов: физика лазеров и их применение; физическая оптика.

Публикации: 600.

h-index 9, Scopus 9, РИНЦ 10, WoS 9;

ORCID: 0000-0002-7087-3419

Information about the author: D.Sc. in Physics and Mathematics, Leading Researcher, P.N. Lebedev Physical Institute of RAS.

Education: Moscow Institute of Physics and Technology, 1970.

Research interests: physics of lasers and applications; physical optics.

Publications: 600.



Николай Алексеевич Булычев
Nikolay Bulychev

Сведения об авторе: д-р хим. наук, ведущий научный сотрудник, Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН.

Образование: МГАТХТ им. М.В. Ломоносова (2003 г.).

Область научных интересов: наноматериалы; ультразвук; кавитация; плазма; полимеры; дисперсные системы.

Публикации: 220.

h-index 10

Information about the author: D.Sc. in Chemistry, Chief Researcher, P.N. Lebedev Physics Institute.

Education: Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, 2003.

Research interests: nanomaterials; ultrasound; cavitation; plasma; polymers; dispersed systems.

Publications: 220.

1. Введение

В настоящее время методы статического и динамического светорассеяния применяются для решения широкого круга исследовательских и прикладных задач в различных областях, таких как: химия, экспериментальная физика, физическая химия, медицина, биология и экология [1, 2]. Достаточно простые и доступные, по сравнению с атомно-силовой и электронной микроскопией, методы позволяют получать информацию о гидродинамических радиусах, форме и молекулярных массах рассеивающих частиц в жидкой среде в широком диапазоне этих параметров. Благодаря неинвазивности, а также возможности использования без нарушения целостности образцов методы светорассеяния являются незаменимыми при исследовании растворов биологических макромолекул (белков, ДНК и др.) [3–5].

Данные методы позволяют исследовать процессы агрегации и диссоциации макромолекул [6–8] в растворах, оценивать их молекулярную массу и форму [9, 10], определять размеры белков и их агрегатов [11, 12], а также изучать биологические процессы с участием белков и ферментов [13–16] в водных растворах в зависимости от концентрации солей (в том числе тяжелых металлов [17, 18]), кислотности pH [19, 20], температуры [21–23] и др. Применение методов светорассеяния для исследования различных параметров биомолекул в биологических жидкостях привело к созданию различных методик диагностики социально-значимых заболеваний (сердечно-сосудистых, онкологических и др.) [24–29].

Исследование влияния солей тяжелых металлов, радиоактивного излучения и других вредных факто-

ров на здоровье различных групп населения, особенно в экологически неблагоприятных районах, является актуальной задачей современной экологии. Методы светорассеяния позволяют оценить степень влияния этих факторов на белки плазмы и сыворотки крови и выявить определенные закономерности, что может послужить основой для использования этих методов в саногенетическом контроле населения [30–32].

Область нанобиотехнологий – относительно новая область применения методов светорассеяния. С помощью динамического рассеяния света (ДРС) исследуются новые классы наночастиц, оценивается монодисперсность их размеров, а также их способность связывать белки, ферменты и пептиды. Методы светорассеяния применяются для оценки размеров белковой «короны», образующейся на наночастицах в результате их взаимодействия с белками в плазме и сыворотке крови [33].

Данная работа является первым в России обзором, объединяющим исследования биологических объектов и биофизических процессов с помощью методов светорассеяния. В обзоре представлены результаты работ по применению методов светорассеяния для исследования как разбавленных, так и неразбавленных образцов плазмы крови [34], а также для исследования переходов золь/гель в образцах, в которых протекают ферментативные реакции (например, реакция образования фибринового геля при взаимодействии белка-фибриногена с ферментом-тромбином). Кроме того, представлены новые данные о влиянии наночастиц оксида железа, полученных в акустоплазменном разряде с кавитацией, на скорость образования фибринового геля [35] и на его структуру.



Список обозначений	
<i>Буквы греческого алфавита</i>	
β	Показатель степени «растянутой экспоненты»
β_{22}	Коэффициент разложения, определяющийся взаимодействием между макромолекулами
β_{23}	Коэффициент разложения, определяющийся взаимодействием между макромолекулами и ионами соли
β_{33}	Коэффициент разложения, определяющийся взаимодействием только между ионами соли
δ	Флуктуации
Δ	Оператор Лапласа
$\Delta \varepsilon^2$	Разность диэлектрической проницаемости невозмущенной среды и флуктуации, усредненной по всему ансамблю
φ	Показатель степенной функции, связанный с фрактальной размерностью геля
Γ	Ширина Лоренциана
η	Вязкость, сП (сантипуаз)
λ	Длина волны света, нм
θ	Угол между направлением распространения рассеянного света и осью z
ρ	Плотность, г/см ³
τ	Время затухания флуктуации концентрации частиц
τ_s	Характерное время отсечки степенной функции
Ω_0	Допплеровский сдвиг частоты, Гц
ω	Частота флуктуации концентраций частиц
ξ	Средний размер скоррелированных сгустков фибриновой сети, мкм
<i>Буквы латинского алфавита</i>	
A	Коэффициент, определяемый из пространственной когерентности рассеянного света
B	Коэффициент межмолекулярного взаимодействия
c	Концентрация вещества в растворе, г/мл
C	Скорость света в вакууме, м/с
D	Коэффициент диффузии
D_m	Фрактальные размеры, м ² /с
d	Диаметр фибриновых волокон, мкм
dn/dc	Инкремент показателя преломления
E	Напряженность электрического поля, В/м
$(\Delta f)_{1/2}$	Полуширина на полувисоте спектра интенсивности флуктуаций
$g_1(\tau)$	Корреляционная функция электрического поля
$g_2(\tau)$	Автокорреляционная функция интенсивности рассеянного света
H	Оптическая постоянная раствора
I	Интенсивность светорассеяния, отн. ед./с
ID	Доля интенсивности света, рассеянного на диффузионной моде движения частиц
K	Фактор, определяющийся оптической анизотропией рассеивающих частиц (фактор Кабанна)
k	Константа Больцмана, Дж/К
k_s	Волновой вектор рассеянного света, см ⁻¹
L	Расстояние между рассеивающим объемом и точкой наблюдения, м
M	Молекулярный вес молекулы, Да
m_3	Концентрация ионов соли, моль/см ³
N_A	Число Авогадро
N_p	Концентрация рассеивающих частиц, моль ⁻¹
n	Показатель преломления среды, см ⁻³
P	Мощность спектра
pH	Водородный показатель
q	Волновой вектор рассеяния, см ⁻¹
R_{90}	Соотношение Релея
r	Гидродинамический радиус, нм
S	Энтропия, Дж/К
T	Температура, К
V	Объем, см ³
V_1	Удельный объем растворителя
Z	Заряд макроиона, Кл
<i>Индексы нижние</i>	
*	Флуктуация
0	Падающий свет
C	Концентрация
P	Давление
p	Рассеивающие частицы
S	Энтропия



sc	Рассеивающий
Аббревиатуры	
НИИ	National Institute of Health units (концентрация тромбина)
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ДРС	Динамическое рассеяние света
ПАВ	Поверхностно-активное вещество

2. Теоретический анализ

2.1. Природа рассеяния света

Рассеяние света в среде возникает в результате наличия в ней неоднородностей [36]. Такими неоднородностями являются локальные флуктуации диэлектрической проницаемости, впервые показанные М. Смолуховским [37, 38].

Для математического описания интенсивности рассеяния I естественного света используется формула, предложенная Эйнштейном [39, 40]:

$$I = I_0 \frac{\pi^2 V^* V_{sc}}{2\lambda^4 L^2} \Delta\epsilon^2 (1 + \cos^2 \theta), \quad (1)$$

где V^* – объем флуктуации; V_{sc} – рассеивающий объем; λ – длина волны света; θ – угол между направлением распространения рассеянного света и осью z ; $\Delta\epsilon^2$ – разность диэлектрической проницаемости невозмущенной среды и флуктуации, усредненной по всему ансамблю; L – расстояние между рассеивающим объемом и точкой наблюдения.

Если регистрацию рассеянного света осуществляют в горизонтальной плоскости XY , и возбуждающий свет имеет вертикальную поляризацию ($\theta = 90^\circ$), то интенсивность I вертикально поляризованного рассеянного света будет иметь вид:

$$I = I_0 \frac{\pi^2 V^* V_{sc}}{\lambda^4 L^2} \Delta\epsilon^2. \quad (2)$$

Флуктуации диэлектрической проницаемости $\Delta\epsilon$ обусловлены флуктуациями основных термодинамических параметров – плотности ρ и температуры T (для описания светорассеяния удобнее разложить их на флуктуации давления P и энтропии S), а также флуктуациями концентрации C растворенного вещества. В зависимости от природы флуктуации возникают и «рассасываются» во времени, следуя различным законам. Возникшая флуктуация давления представляет собой упругую волну, которая будет распространяться в жидкости со скоростью звука V . Флуктуации энтропии и концентрации неподвижны и релаксируют со скоростью, которая в первом случае определяется коэффициентами температуропроводности, а во втором – диффузии.

Флуктуации диэлектрической проницаемости могут быть представлены в виде пространственного

фурье-разложения – бесконечного множества синусоидальных решеток. При соответствующем выборе угла регистрации рассеяние света на флуктуациях можно рассматривать как дифракцию на одной единственной пространственной фурье-компоненте флуктуации.

Пусть направление падающего света задается положением лазера, а направление рассеянного света положением фотоприемника, тогда волновой вектор выбранной решетки будет лежать в плоскости $X-Y$ и определяться следующим выражением:

$$\vec{q} = \vec{k}_s - \vec{k}_0, \quad (3)$$

где k_0 – волновой вектор падающего света; k_s – волновой вектор рассеянного света; q – волновой вектор рассеяния, соответствующий брэгговской фурье-составляющей флуктуаций.

На рис. 1 показана схема рассеяния света на одной фурье-компоненте флуктуации.

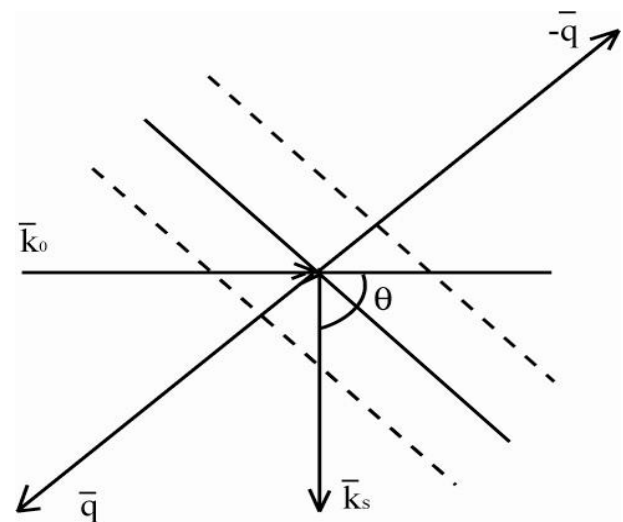


Рис. 1 – Рассеяние света на фурье-составляющей поля флуктуаций, отвечающей условию Брэгга
 Fig. 1 – Light scattering on the Furrier component of the fluctuation field corresponding to the Bragg condition

Параллельными линиями показана решетка фурье-составляющей, отвечающей условию Брэгга. Таким образом, выбор брэгговской решетки задается углом рассеяния θ и длиной волны света λ , так что модуль волнового вектора рассеяния q определяется выражением:



$$q = |\bar{q}| = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}. \quad (4)$$

Распространяющиеся со скоростью V флуктуации давления δ_p (звуковая волна) дают в спектре рассеяния линии, сдвинутые на частоту (доплеровский сдвиг частоты):

$$\Omega_0 = V |\bar{q}| = \frac{4\pi n V}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} = 2n \frac{V}{c} \omega_0 \sin \frac{\theta}{2}, \quad (5)$$

(рассеяние Мандельштама – Бриллюэна).

Флуктуации энтропии δ_S и концентрации δ_C неподвижны. Релаксация этих флуктуаций дает уширение линии рассеяния света до 10 МГц (флуктуация энтропии), до 30 КГц (флуктуации концентрации растворенного вещества), от 3 КГц до нескольких десятых Гц (флуктуации концентраций частиц).

2.2. Динамическое светорассеяние

Динамическое (квазиупругое) светорассеяние является мощной технологией, позволяющей получать гидродинамические радиусы рассеивающих частиц в жидкости, а также распределения интенсивности рассеянного света по гидродинамическим радиусам частиц. Когда свет от монохроматического источника излучения падает на частицы, находящиеся в броуновском движении в жидкости, наблюдается доплеровский сдвиг частоты падающей волны. Как уже было сказано, такие частотные сдвиги малы и составляют $0,1 \div 3 \cdot 10^3$ Гц. Поскольку интенсивность рассеянного света на порядки меньше падающего, и частотные сдвиги малы, измерить спектральное распределение интенсивности сложно. Для этого применяются методы оптического смещения [41], сводящиеся к гетеродинамизации [42] или к исследованию самобиений частот рассеянного света. Эти принципы впервые были предложены Г.С. Гореликом в 1947 г. [43] и экспериментально реализованы Гумундсенем и Форрестером в 1955 г. [44].

Сущность метода самобиений состоит в том, что свет, рассеянный исследуемым участком образца, направляется на фотокатод квадратичного по полю фотоприемника. На катоде возникают биения между различными частотными компонентами спектра падающего света. При этом освещенность фотокатода и, следовательно, фототок оказываются промодулированы по амплитуде частотами биений (от нуля до ширины спектра рассеяния). Спектр биений полностью соответствует спектру рассеянного света.

Мощность спектра света, рассеянного на флуктуациях концентрации монодисперсных частиц, представляет собой Лоренциан [45]:

$$P(\omega) = \frac{2Dq^2 / \pi}{\omega^2 + (2Dq^2)^2}, \quad (6)$$

максимум которого расположен на частоте возбуждающего света, с полушириной Γ на полувысоте, содержащей информацию о коэффициенте диффузии частиц D :

$$\Gamma = 2\pi(\Delta f)_{1/2} = Dq^2. \quad (7)$$

Коэффициент диффузии D связан с радиусом монодисперсных сферических частиц соотношением Стокса – Эйнштейна [38, 40]:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}, \quad (8)$$

где k – константа Больцмана; T – температура; η – вязкость раствора; r – радиус частицы в приближении ее сферичности.

В 1964 г. Пекора опубликовал работу [46], в которой были проанализированы работы Бриллюэна [47, 48], а также советских [49, 50] и индийских ученых по доплеровским сдвигам частоты рассеянного света в чистых жидкостях. Пекора показал, что спектральная мощность света, рассеянного в жидкости, содержащей одинаковые изотропные частицы (размеры которых много меньше длины волны света), может быть описана в терминах фурье-преобразования пространственно-временной корреляционной функции. Данный формализм был применен по отношению к проблеме рассеяния света в растворах полимеров, что позволило теоретически предсказать возможность экспериментального измерения очень малых частотных сдвигов, возникающих в результате трансляционной и ротационной диффузии макромолекул в жидкости.

Корреляционная функция поля рассеянного света

$$g^{(1)}(\tau) = \frac{1}{\langle I \rangle} \langle E(\tau)E^*(0) \rangle, \quad (9)$$

есть фурье-образ от спектра мощности рассеянного света $P(\omega)$.

Для монодисперсной системы броуновских частиц корреляционная функция поля представляет экспоненту с показателем степени, содержащим ширину спектральной линии:

$$g^{(1)}(\tau) = \exp(-\Gamma\tau) = \exp(-Dq^2\tau). \quad (10)$$

Экспериментально измеряемая корреляционная функция интенсивности $g^{(2)}(\tau)$ связана с корреляционной функцией поля $g^{(1)}(\tau)$ соотношением Зигерта:

$$g^{(2)}(\tau) = 1 + A |g^{(1)}(\tau)|^2, \quad (11)$$



где коэффициент A определяется из пространственной когерентности рассеянного света и обусловлен геометрией эксперимента (размером источника и апертурой приемника).

Таким образом, экспериментально измеряемая нормированная функция корреляции интенсивности рассеянного света

$$g^2(\tau) = \frac{\langle I(\tau)I(0) \rangle}{\langle I \rangle^2}, \quad (12)$$

связана со спектром мощности рассеянного света и содержит информацию о коэффициентах диффузии рассеивающих частиц.

Фотонная корреляционная спектроскопия является непрямым методом исследования размеров частиц. Для определения интересующих авторов данной статьи величин (коэффициенты диффузии, размеры частиц или распределений интенсивности рассеянного света по размерам) корреляционную функцию электрического поля, связанную с получаемой в ходе эксперимента автокорреляционной функцией флуктуаций интенсивности рассеянного света $g^{(2)}(t)$, математически обрабатывают с помощью специальных алгоритмов (метод кумулянтов [51, 52], метод обратных преобразований Лапласа [53] и др.). Эти методы

$$g^{(2)}(\tau) - 1 \sim \left[I_D \exp\left(-\frac{t}{\tau_f}\right) + (1 - I_D) \exp\left[-\left(\frac{t}{\tau_s}\right)^\beta\right] \right]^2, \quad (14)$$

где τ_s – характерное время затухания медленной растянутой моды. При приближении состояния системы к точке перехода золь/гель, корреляционная функция интенсивности изменяется от экспоненциальной формы к форме растянутой экспоненты (функции Кольрауша), а затем к степенной с уменьшением показателя степени β в выражении (15) до нуля.

2.3. Статическое светорассеяние

Статическое (упругое) светорассеяние позволяет из интенсивности светорассеяния получать информацию о среднем молекулярном весе полимеров или белков в растворе, о втором вириальном коэффициенте, характеризующем межмолекулярные взаимодействия в растворе макромолекул, а также о радиусе инерции молекул. Для раствора макромолекул (полимеров или белков) средняя интенсивность светорассеяния определяется средней величиной флуктуации концентрации частиц, и может быть представлена в следующем виде [36]:

$$I = \frac{2\pi^2 n_0^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 c M I_0 K V}{\lambda_0^4 N_A r^2} \sin^2 \theta, \quad (15)$$

обработки реализованы в программных пакетах, например, DynaLS (Alango Ltd.), которые позволяют получать информацию о гидродинамических радиусах исследуемых частиц в жидкости, а также о распределениях интенсивности рассеянного света по размерам частиц.

При переходе золь/гель, согласно работам Мартина [54], в автокорреляционной функции интенсивности рассеянного света появляется степенная компонента, вклад которой растёт по мере увеличения жесткости геля:

$$g^{(2)}(\tau) - 1 \sim \left[I_D \exp\left(-\frac{t}{\tau_f}\right) + (1 - I_D) \left(1 + \frac{t}{\tau'}\right)^{-\phi} \right]^2, \quad (13)$$

где I_D – доля интенсивности света, рассеянного на диффузионной моде движения частиц (фибрин и протофибрилл); τ_f и τ' – характерное время затухания быстрой диффузионной моды и время появления степенной функции соответственно; ϕ – коэффициент, связанный с фрактальной размерностью гелевой структуры.

В случае состояния «пре-геля», в автокорреляционной функции интенсивности светорассеяния возникает растянутая экспонента:

где n_0 – показатель преломления растворителя; M – молекулярный вес молекулы в дальтонах; dn/dc – инкремент показателя преломления (скорость изменения показателя преломления раствора при изменении концентрации растворенных макромолекул изменяется); I_0 – интенсивность падающего света; N_A – число Авогадро; λ_0 – длина волны падающего света; r – расстояние от рассеивающего объема V до точки наблюдения; K – фактор, определяющийся оптической анизотропией рассеивающих частиц (фактор Кабанна).

Величина, показывающая интенсивность светорассеяния под определенным углом рассеяния (чаще всего под углом 90°), называется соотношением Рэлея (или коэффициентом рэлеевского рассеяния), обозначается как R_{90} и записывается в следующем виде:

$$\frac{I \cdot r^2}{I_0 \cdot V} = R_{90} = c H M K, \quad (16)$$

где H – оптическая постоянная раствора:

$$H = \frac{2\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_A} \left(\frac{dn}{dc}\right)^2. \quad (17)$$

Коэффициент рэлеевского рассеяния [36, 40] в термодинамическом приближении связан с молекулярным весом макромолекул в растворе M и коэффициентом межмолекулярного взаимодействия B (при конечных разбавлениях раствора):

$$\left(\frac{cH}{R_{90}}\right) = \frac{1}{M} + 2Bc + \dots \quad (18)$$

При бесконечном разбавлении и аппроксимации зависимости величины $\left(\frac{cH}{R_{90}}\right)^{-1}$ от концентрации c к нулю, можно получить молекулярный вес присутствующих в растворе макромолекул:

$$M = \left(\frac{cH}{R_{90}}\right)^{-1}_{c \rightarrow \infty}. \quad (19)$$

Согласно теории Скэтчарда [55, 56], парные взаимодействия в растворе описываются вторым вириальным коэффициентом B в разложении свободной энергии:

$$B = \frac{V_1}{M_2^2} \left(\frac{z^2}{4m^2} + \frac{\beta_{22}}{2} - \frac{\beta_{23}^2 m_3}{4 + 2\beta_{33} m_3} \right), \quad (20)$$

где V_1 – удельный объем растворителя; Z – заряд макроиона (макромолекулы), который в изоэлектрической точке равен нулю; M – молекулярная масса макроиона; m_3 – концентрация ионов соли; β_{22} , β_{23} , β_{33} – коэффициенты разложения, определяющиеся соответственно взаимодействием между макромолекулами, взаимодействием между макромолекулами и ионами соли и взаимодействием только между ионами соли.

3. Результаты экспериментальных работ и их обсуждение.

Исследования биологических жидкостей человека с помощью методов динамического и статического светорассеяния

Исследования характеристик частиц (размер, молекулярный вес, концентрация и др.) в биологических жидкостях человека с помощью методов светорассеяния представляет большой интерес, поскольку результаты имеют практическое значение для медицины.

Как было упомянуто, изучение разбавленных образцов сыворотки и плазмы крови [26, 57, 58], а также их модельных аналогов [4, 25, 26] привело к разработке методик диагностики онкологических, сердечно-сосудистых и других заболеваний [24, 27, 57, 59]. Авторами этих методик выяснено, что при этих заболеваниях наблюдаются изменения состава плазмы и сыворотки крови, которые отражаются на параметрах светорассеяния. Так, появление в сыворот-

ке или плазме крови агрегатов белков определенных размеров [25, 60, 61], изменение соотношения концентраций альбуминов и глобулинов [4, 26], а также изменение второго вириального коэффициента [24] могут свидетельствовать о сердечно-сосудистых, онкологических или других патологиях.

3.1. Методики диагностики заболеваний, основанные на анализе альбумино-глобулинового состава сыворотки крови с помощью методов светорассеяния

По данным нормальной физиологии человека [62] около 60 % всех белков плазмы крови составляют альбумины, концентрация которых равна $35 \div 45$ г/л. Молекулярная масса молекулы альбумина составляет 69 кДа (69 кг/моль). Одной из основных функций альбумина является перенос транспортируемых кровью веществ, поэтому этот белок склонен к образованию комплексов с присутствующими в плазме крови соединениями [63].

В растворе альбумины могут присутствовать как в виде мономеров, так и агрегатов. С помощью гель-электрофореза выделяются мономеры, димеры, тетрамеры и гексамеры, размеры которых в растворах различны [7].

Размеры и форма молекул альбумина изучаются с помощью различных методов: атомно-силовой микроскопии [64], малоуглового рассеяния нейтронов [65], а также динамического и статического светорассеяния [66]. В работах [19, 67] показано, что при физиологических рН = 7,4 альбумин имеет наиболее компактную сигароподобную конфигурацию и гидродинамический радиус $59 \div 62$ Å.

Следующими по процентному содержанию белками плазмы крови, образующими отдельную функциональную группу, являются глобулины. По данным нормальной физиологии [62], концентрация глобулинов составляет $15 \div 25$ % ($8 \div 16$ г/л) от общего количества белка плазмы крови. Средняя молекулярная масса глобулинов равна $90 \div 160$ кДа, а размеры – около $20 \div 30$ нм. Глобулины относят к основным белковым переносчикам липидов и полисахаридов, они удерживаются в плазме крови липиды и жиры. В результате сродства липидов к глобулинам средние размеры их комплексов в плазме крови могут существенно варьироваться.

Концентрация глобулинов в плазме крови повышается практически при всех заболеваниях [68]. Этот факт авторы работы [4] положили в основу разрабатываемой ими методики диагностики онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Так, с помощью методов статического и динамического светорассеяния исследовались модельные растворы, соотношение количества альбуминов к глобулинам в которых составляло 3:1 и 1:3. Результаты экспериментов показали, что при соотношении альбуминов к глобулинам 3:1 параметры светорассеяния модельной системы были сходными с теми, которые авторы получали для сыворотки крови здоровых людей. В то



время как для системы с соотношением этих белков 1:3 те же параметры оказывались аналогичными тем, которые получали для сыворотки доноров с онкологическими заболеваниями. Таким образом, на основе сравнения данных светорассеяния, полученных для модельных систем и сыворотки крови, авторами работы [4] была установлена взаимосвязь между изменением соотношения альбуминов и глобулинов в сыворотке и наличием онкологических заболеваний в организме. Авторами также были исследованы коэффициенты рассеяния и коэффициенты межмолекулярных взаимодействий для модельных растворов «больной» и «здоровой» сыворотки при их малых ионных силах и в широком диапазоне pH. Было выяснено, что при соотношении концентраций альбумина и глобулина в пропорции 1:3 в модельном растворе зависимость коэффициента B от pH представляла собой параболу с ветвями вниз, в то время как для соотношения 3:1 (модельная сыворотка здорового человека) – параболу с ветвями вверх. Такие изменения объясняются изменением агрегационной способности белков при изменении концентрации глобулинов.

В работе [24] показано, что в сыворотке крови онкологических больных изменяются параметры статического светорассеяния, а именно, коэффициент светорассеяния (R), молекулярный вес белковых агрегатов (M) и коэффициент межмолекулярных взаимодействий (B). При сравнении этих параметров, полученных для онкологических больных, с параметрами, полученными для здоровых доноров (R_{ref} , M_{ref} , B_{ref}), установлено, что для образцов сыворотки крови больных пациентов выполнялись следующие соотношения: $R/R_{ref} > 2$, $M > M_{ref}$, $B < B_{ref}$. Особенно существенными были отличия в коэффициенте B , который в случае онкологических больных был существенно меньше, чем для здоровых доноров и принимал только отрицательные значения. Такие изменения коэффициента B авторы связывают с уменьшением общего заряда на поверхности белка, которое приводит к снижению сил отталкивания, увеличению агрегации белков и эффективной массы рассеивающих частиц в образце. Известно, что при развитии онкологических заболеваний происходит существенное упрощение всех клеточных структур, в первую очередь белковых фракций. В плазме крови, по нашему мнению, такое упрощение приводит к частичной потере зарядовых групп на их поверхности (пептидов, аминокислот и др.), а следовательно, к изменению их поверхностного заряда и агрегационной способности.

Данные эксперименты легли в основу разработки и патентования другого метода диагностики онкологических заболеваний, который базируется на многопараметрическом исследовании образцов сыворотки крови [25]. С помощью специально разработанной установки по светорассеянию авторы метода получали спектральную плотность рассеянного света по временам релаксации рассеивающих частиц в раз-

бавленных образцах сыворотки крови. Для анализа использовались следующие характеристики: соотношение амплитуд первого и второго максимума спектральной плотности, соответствующих альбуминам и глобулинам (параметр P), и полуширина второго максимума спектральной плотности (параметр W). Если эти параметры оказывались больше нормальных величин, то диагностировалось онкологическое заболевание или попадание в группу риска.

3.2. Исследование неразбавленных образцов плазмы крови с помощью методов ДРС

В перечисленных исследованиях для разработки методик диагностики онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний использовалась сыворотка крови, поскольку она считается более стабильной (с точки зрения повторяемости результатов) по сравнению с плазмой крови. Сыворотку получают при естественном или активированном свертывании пробы крови (без добавления антикоагулянта). Вследствие свертывания крови в пробе образуется кровяной сгусток, состоящий из фибриновой сети и форменных элементов крови, и сыворотка, которая не содержит белок фибриноген и продукты его протеолитического расщепления ферментом – тромбином (фибринопептиды и фибрин). Таким образом, в сыворотке крови остаются основные белки крови: альбумины и глобулины, антитела, а также другие белки и пептиды, которые представлены в гораздо меньших концентрациях. Плазму крови получают путем добавления в пробу крови антикоагулянтов и отделения ее от форменных элементов или при их естественном оседании, которое происходит из-за разницы в плотностях форменных элементов ($1,1 \cdot 10^3$ кг/м³) и плазмы крови ($1,03 \cdot 10^3$ кг/м³) [69], или при центрифугировании. В результате в плазме присутствуют как основные белки крови, так и фибриноген, а также продукты его протеолитического расщепления, поскольку добавляемые ингибиторы не полностью останавливают процесс свертывания крови. Кроме того, при взятии пробы крови из вены и активации механизма свертывания крови в плазму выделяются микрочастицы из тромбоцитов и других форменных элементов крови, что также затрудняет анализ.

Несмотря на более сложный состав, исследования плазмы крови с помощью методов светорассеяния являются весьма актуальными по нескольким причинам. Во-первых, из анализа состава плазмы крови может быть получена более полная информация о белковом составе крови. Во-вторых, скорости протекания процессов в плазме крови *in vitro* коррелируют со скоростями обменных процессов в организме донора, и их отклонение от нормы может свидетельствовать об обменных нарушениях. И, наконец, при переливании донорской крови требуется именно плазма крови, поэтому исследование изменений ее состава с течением времени может дать новую информацию, необходимую для разработки методик хранения донорской плазмы и крови.



В работе Чайкова и соавторов [58] было показано, что в образцах неразбавленной плазмы крови здоровых людей размеры рассеивающих частиц локализованы в следующих диапазонах гидродинамических радиусов: $\langle r_1 \rangle = 3 \pm 1$ нм, $\langle r_2 \rangle = 28 \pm 5$ нм, $\langle r_3 \rangle = 125 \pm 82$ нм и $\langle r_4 \rangle = 1\,700 \pm 740$ нм. Согласно «семиотическому классификатору», представленному в работе М. Карганова [71], размеры рассеивающих частиц в плазме и сыворотке крови делятся на следующие диапазоны: I – $1 \div 10$ нм, что соответствует низкомолекулярным мономерам альбумина и свободным гликолипидным комплексам; II – $11 \div 30$ нм – глобулинам и липопротеиновым комплексам с низким молекулярным весом; III – $31 \div 70$ нм – фибриногену и его комплексам, а также низкомолекулярным иммунным комплексам; IV – $71 \div 150$ нм – среднемолекулярным иммунным комплексам; V – больше 150 нм – высокомолекулярным иммунным комплексам, возникающим в результате активации аллергических или аутоиммунных процессов. В этом классификаторе, по-видимому, не учитывается, что в плазме крови могут

также присутствовать агрегаты фибрина (~125 нм) и тромбоциты (более 1 000 нм).

В работе [55] был предложен новый подход к исследованию неразбавленных образцов плазмы крови, заключающийся в накоплении большого массива распределений интенсивности рассеянного света по размерам частиц на протяжении некоторого промежутка времени (в нашем случае в течение 4,5 часов в первый день исследований и 4 часов во второй) и дальнейшей статистической обработке полученного массива. Такой подход был предпринят авторами для того, чтобы избавиться от неустойчивости начальных распределений, получаемых для неразбавленных образцов плазмы крови. Массив размеров частиц, полученных для указанных промежутков времени, представлен на рис. 2а, а результаты статистической обработки – на рис. 2б. Амплитуда гистограмм здесь представляет не концентрацию частиц с данными размерами, а частоту регистраций каждого размера на протяжении времени наблюдений.

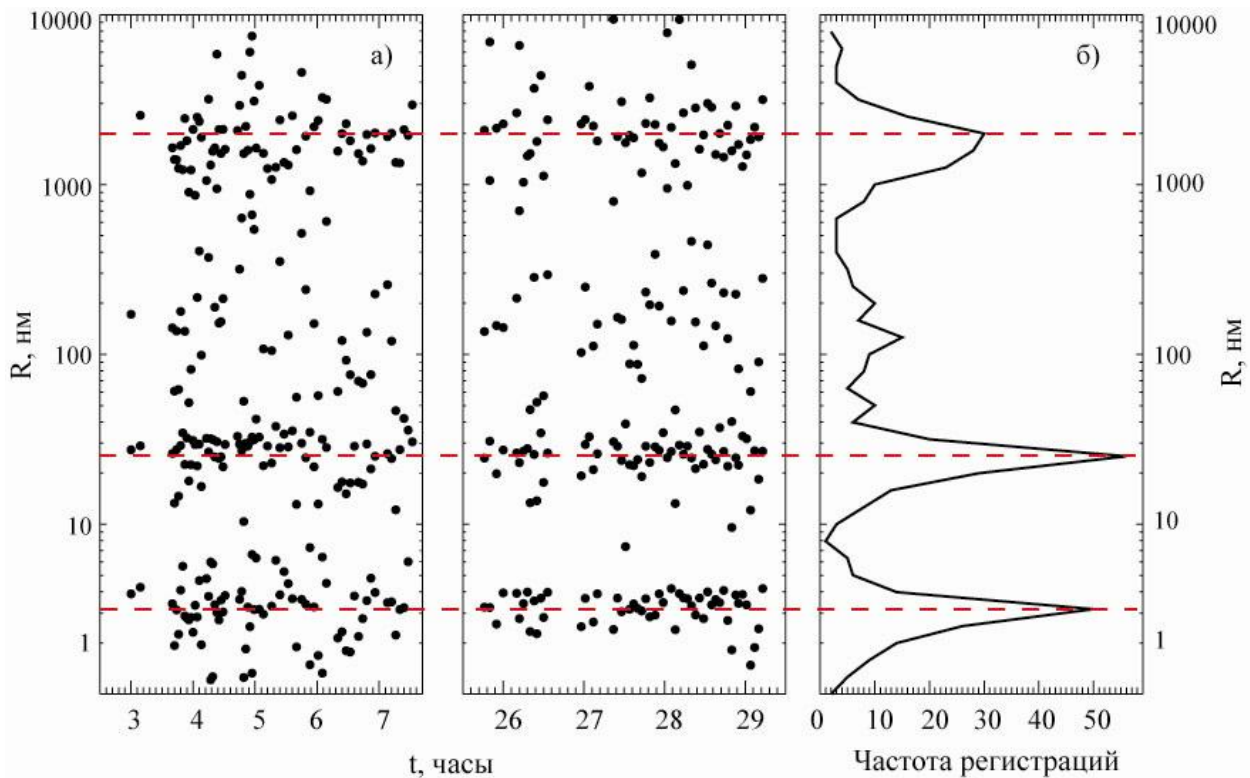


Рис. 2 – Временные регистрограммы гидродинамических радиусов частиц в плазме крови:
 а – массив гидродинамических радиусов частиц, полученных с помощью метода ДРС для плазмы крови;
 б – гистограмма частот регистраций этих радиусов

Fig. 2 – Temporary registrogram of the hydrodynamic sizes of particles in blood plasma:
 а – the massive of hydrodynamic radii obtained by dynamic light scattering method for blood plasma sample;
 б – the histogram of the quantity of registration of each particle size

Оценка концентраций частиц в приближении Рэлея – Ганса – Дебая представлена на рис. 3.

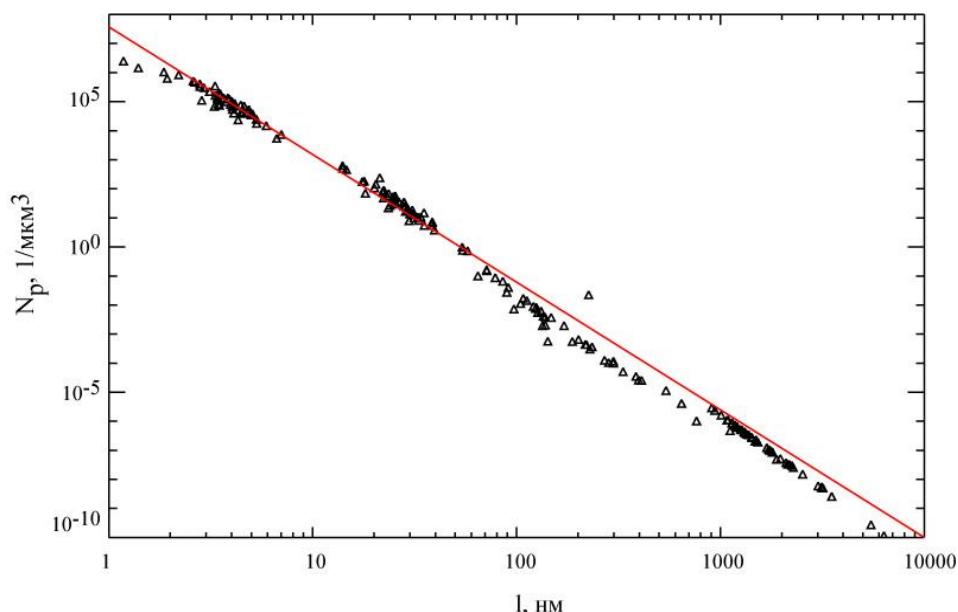


Рис. 3 – Диаграмма «концентрация частиц – размер частиц» в двойном логарифмическом масштабе: чёрные точки – экспериментальные данные; прямая красная линия демонстрирует аппроксимацию экспериментальных точек степенной функцией $N \sim l^K$ с показателем степени $K = -4,0 \pm 0,1$

Fig. 3 – The diagram “concentration – size” of particles in the blood plasma in double logarithmic scale: black dots – the experimental data; red straight line demonstrates approximation of experimental data by power law function $N \sim l^K$ with the exponent $K = -4,0 \pm 0,1$

Оценка концентраций частиц с помощью теории Ми и ее приближения Рэлея – Ганса – Дебая (РГД) и сопоставление их с радиусами частиц позволили выявить следующую закономерность: с ростом размера частиц от единиц нанометров до 1 микрона концентрации этих частиц уменьшается по закону 4-й степени, почти на 12 порядков (см. рис. 3). Выявленная эмпирическая закономерность имеет вид: $N = a \cdot r^{-4}$. Такая зависимость повторялась для всех исследованных образцов плазмы крови. Предполагается, что данная эмпирическая закономерность относится к фундаментальным закономерностям природы и показывает распределение частиц по размерам в сложных биологических жидкостях, однако на данный момент математических моделей, объясняющих подобную зависимость, не существует.

Работа [34] посвящена проверке применимости теории Ми и ее приближений, а также формулы Стокса – Эйнштейна для исследования неразбавленных образцов плазмы крови с помощью методов светорассеяния. В работе показано, что при разбавлении образцов плазмы крови физиологическим раствором в 10 и 100 раз сохраняется степенная зависимость между концентрацией и размером частиц. Показатель степени a остается неизменным в пределах ошибки аппроксимации для всех трех разбавлений $-4,0 \pm 0,3$. Это свидетельствует о том, что модели независимых рассеивателей (приближение РГД) и не взаимодействующих частиц (формула Стокса – Эйнштейна) могут быть применены для исследования концентрированных биологических жидкостей. Если бы эти соотношения нарушались, то по мере увеличения концен-

трации частиц в образце (уменьшение разбавления), наблюдалось бы искажение формы зависимости в области малых размеров частиц.

Как видно из анализа экспериментальных данных, полученных с помощью методов светорассеяния для рассеивающих частиц, выделенных из плазмы и сыворотки крови, в один и тот же диапазон размеров попадают частицы различной природы (белки, их агрегаты, пептиды, микрочастицы и т.д.). К сожалению, информацию о природе субфракционного состава распределения частиц по размерам при исследовании цельных образцов биологических жидкостей без привлечения дополнительных методов получить невозможно. Поэтому при интерпретации результатов исследования образцов биологических жидкостей либо используется так называемый семиотический классификатор, основанный на выделении существенных «знаковых» областей в гистограмме распределения размеров частиц в разных нозологических группах и поиске похожих «знаков» в исследуемом распределении, либо применяются методы углубленного поиска закономерностей в большом массиве экспериментальных данных (data mining).

3.3. Исследование процессов образования фибринового геля в модельных растворах с помощью методов светорассеяния

Третьим по представленности белком плазмы крови является фибриноген, концентрация которого составляет $2 \div 4$ г/л [62]. Молекула фибриногена состоит из трех структурных единиц с диаметром около 60 Å, соединенных между собой более тонкими



белковыми тяжами. Общая длина молекулы фибриногена составляет 50 нм по данным нормальной физиологии [62], а по данным работы [71] – 73 нм. Однако в растворе при значениях pH, близких к физиологическим (pH~7,4), гидродинамический радиус молекул фибриногена равен ~13 нм [72]. В работе [72] представлены результаты исследования изменения формы, структуры и гидродинамического радиуса молекул фибриногена в зависимости от изменений кислотности pH и электролитного состава среды с помощью методов ДРС. Показано, что pH среды влияет на конформацию фибриногена, а следовательно, и на эффективный гидродинамический радиус его молекулы.

Фибриноген является одним из основных участников механизма свертывания крови [73]. В результате расщепления этого белка ферментом – тромбином [74] – образуется его нерастворимая форма – фибрин, дальнейшая агрегация которого приводит к образованию фибринового геля и далее кровяного сгустка, что способствует остановке кровотечений. Активация фибриногена сопровождается появлением пептидов – фибринопептидов *A* и *B*, которые далее разбираются карбокси- и аминопептидазами до отдельных аминокислот, что показано в работах [75, 76] с помощью методов масс-спектрометрии. Физико-химические свойства фибриновых гелей широко исследуются *in vitro* различными методами, в том числе светорассеянием. Такие исследования являются актуальными как с точки зрения изучения физико-химических свойств гелей, так и с точки зрения разработки способов лечения различных заболеваний, связанных с нарушениями механизма свертывания крови.

Фабио Ферри в работе [14] исследовал зависимости структуры фибриновых гелей от концентрации фибриногена (при постоянном молярном соотношении фибриноген/тромбин 0,01), используя комбинацию двух методов: рассеяния света под малыми углами и классического светорассеяния. Авторы получили зависимости интенсивности света, рассеянного образцами гелей, в широком диапазоне векторов рассеяния q : от $3 \cdot 10^2$ до $3 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1}$. Применение разработанной авторами [14] структурной модели для аппроксимации экспериментальных данных позволило получить следующие характеристики гелей: средний диаметр d и плотность ρ фибриновых волокон сети, фрактальные размеры D_m и средний размер ξ скоррелированных сгустков, которые сформированы переплетенными (запутанными) волокнами. Изменяя концентрацию фибриногена cF между 0,034 мг/мл и 0,81 мг/мл, авторы получили образцы фибриновых гелей с перечисленными параметрами, изменяющимися в пределах: $100 > \xi > 10 \text{ нм}$, $100 < d < 200 \text{ нм}$; $1,2 < D_m < 1,4$, и с постоянной плотностью волокон $\rho = 0,4 \text{ мг/мл}$. В этой работе проводилось исследование уже сформированных фибриновых гелей, то есть динамика гелеобразования осталась не освещенной.

Исследование динамики образования фибриновых гелей было представлено в статьях Киты и соав-

торов [15, 16]. Авторы показали изменение состояния системы «фибриноген – тромбин» по мере проходящих там биохимических превращений с помощью методов динамического и статического светорассеяния. При образовании фибринового геля выделяется несколько стадий: 1) отщепление фибринопептидов *A* и *B* от центрального домена фибриногена с образованием молекул фибрина с активированным центром; 2) взаимодействие комплементарных сайтов молекул фибрина между собой с образованием протофибрилл; 3) латеральная агрегация протофибрилл с образованием трехмерной волокнистой сети. Эти стадии соответствуют изменению полной интенсивности светорассеяния, регистрируемому при прохождении реакции. На рис. 4 представлен временной ход изменения полной интенсивности светорассеяния, полученной в работе [15], в котором участок от 0 до 50 мин соответствует первой стадии превращения фибриногена, от 50 мин до 75 мин – латеральной агрегации протофибрилл и появлению участков гелевой сети, от 75 мин до 150 мин – дальнейшему росту фибринового геля.

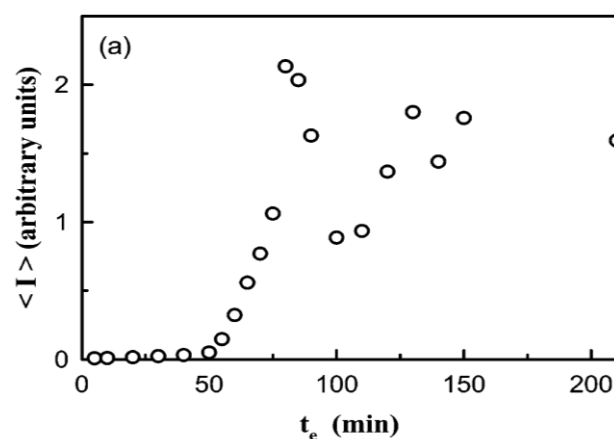


Рис. 4 – Временной ход интенсивности рассеянного света в растворе «фибриноген – тромбин» с высокой концентрацией тромбина, полученный под углом рассеяния 30° , длина волны лазера 633 нм [15]

Fig. 4 – The time course of the scattered light intensity in the fibrinogen – thrombin solution with high concentration of thrombin obtained at 30° scattering angle, the wavenumber is 633 nm [15]

Помимо существенного увеличения полной интенсивности светорассеяния, регистрируемой в процессе образования фибринового геля, о переходе состояния системы из золя в гель авторы статьи [15] судили по: 1) появлению степенной компоненты в автокорреляционной функции; 2) уменьшению ее амплитуды; 3) по изменению кривизны зависимости Кассаса – Хольтцер ($\Gamma^1(\sin(\theta/2))$). Исследование растворов «фибриноген – тромбин» при двух концентрациях тромбина показали, что переход в состояние геля для двух образцов происходил за различные времена. Оценка массовой фрактальной размерности геля в двух образцах показала рост этой величины

при уменьшении концентрации тромбина ($D_m = 1,42$ для образца с концентрацией тромбина 0,02 НИИ/мл, и 1,51 – для образца с концентрацией тромбина 0,00125 НИИ/мл). Полученные в этой работе значения фрактальных размерностей гелей оказались выше, чем в работе [14], которые находились в диапазоне $1,2 < D_m < 1,4$. Авторы работы [15] связывают такие отличия в значениях фрактальной размерности с различиями в концентрации тромбина и с тем, что в работе [14] исследовались образцы с уже сформированным гелем.

3.3.1. *Влияние наночастиц оксида железа на скорость образования и структуру фибринового геля*

Исследование динамики образования фибринового геля актуально не только с точки зрения изучения физико-химических свойств геля, но и изменения скоростей процессов и/или структуры геля в присутствии тех или иных агентов. Такие данные могут быть в дальнейшем использованы для разработки новых биосовместимых материалов, а также методик лечения заболеваний, связанных с нарушением механизма свертывания крови. В работах [35, 77] показано, что добавление новых наночастиц оксида железа, полученных в акустоплазменном разряде с кавитацией [79], влияет на скорость образования фибринового геля. В этих работах с помощью методов светорассеяния исследовались модельные растворы «фибриноген – тромбин» при различной последовательности добавления наночастиц оксида железа в

раствор. Так, было выяснено, что при добавлении наночастиц к раствору фибриногена перед добавлением в него фермента тромбина, образование геля останавливалось на первой стадии [79]. В то же время при добавлении наночастиц к тромбину с дальнейшим добавлением этой смеси к раствору фибриногена реакция гелеобразования существенно ускорилась. Такие выводы были сделаны на основе уменьшения промежутка времени, прошедшего с момента смешивания компонентов раствора до момента изменения параметров светорассеяния, перечисленных в работе [15]: интенсивности светорассеяния, формы автокорреляционной функции и ее амплитуды, распределения интенсивности рассеянного света по временам релаксации присутствующих мод. На рис. 5 представлены автокорреляционные функции интенсивности рассеянного света, полученные для образца чистого фибриногена (рис. 5а) и для того же образца через 30 мин после добавления тромбина (рис. 5б). На рис. 5б видно, что в экспериментальной автокорреляционной функции на больших временах появляется вклад степенной зависимости, что, согласно работе [54], свидетельствует об образовании геля в образце. Аппроксимация полученных экспериментальных данных с помощью двух функций (13) и (14) также показывает, что степенная функция (синяя кривая) хорошо аппроксимирует появившуюся зависимость. Однако на больших временах наблюдается достаточно большой разброс экспериментальных точек.

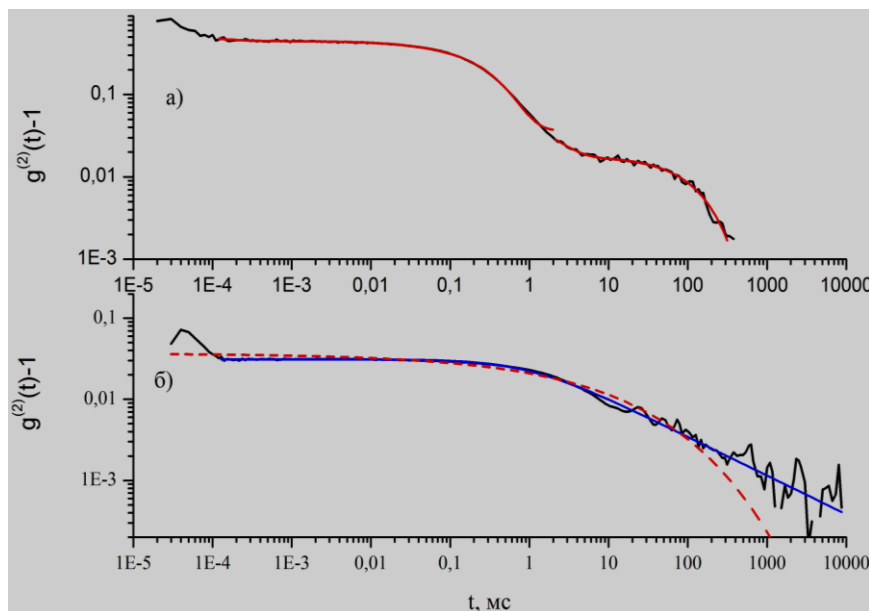


Рис. 5 – Экспериментальные автокорреляционные функции интенсивности, полученные: а – для чистого раствора фибриногена; б – для раствора фибриногена с тромбином в концентрации 0,125 НИИ/мл через 30 мин после его добавления под углом рассеяния 30° (черные линии – экспериментальные данные, красные сплошные и пунктирные – аппроксимация обычной и растянутой экспонентой соответственно, синяя – аппроксимация степенной функцией)

Fig. 5 – Experimental autocorrelation function of the scattered light intensity obtained for: a – pure fibrinogen solution; b – for fibrinogen with thrombin in the concentration of 0.125 NIH/ml 30 min after its addition at 30° scattering angle (black lines – experimental data, red solid and dashed lines – approximation with the exponent and “stretched” exponent, blue line – approximation with power law function)

На рис. 6 представлены автокорреляционные функции, полученные для раствора чистого фибриногена (рис. 6 а) и для того же раствора через 15 мин после добавления тромбина, инкубированного с наночастицами оксида железа (рис. 6 б), то есть в 2 раза быстрее, чем в образце без наночастиц. В данном случае, как и в предыдущем, экспериментальные данные аппроксимируются с помощью степенной функции значительно лучше, чем растянутой экспонентой.

Однако, по сравнению с рис. 5б, в экспериментальной автокорреляционной функции на больших временах наблюдается меньший разброс экспериментальных данных. Представленные данные свидетельствуют о том, что наночастицы оксида железа, полученные в акустоплазменном разряде с кавитацией, влияют на скорость реакции гелеобразования, выступая регуляторами активности фермента тромбина.

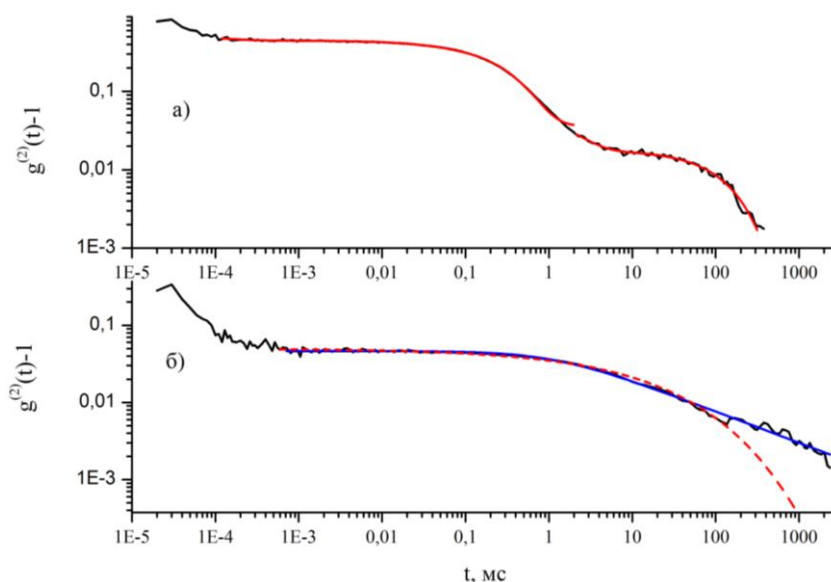


Рис. 6 – Экспериментальные автокорреляционные функции интенсивности рассеянного света, полученные для: а – раствора чистого фибриногена; б – раствора фибриногена через 15 мин после добавления в него тромбина в концентрации 0,125 НИИ/мл, инкубированного с наночастицами оксида железа (концентрация $\approx 4 \cdot 10^{-7} \mu^{-3}$) под углом рассеяния 30° (черная линия – экспериментальные данные, красная сплошная и пунктирная линия – аппроксимация обычной и растянутой экспонентой, синяя линия – аппроксимация степенной функцией)

Fig. 6 – Experimental autocorrelation functions of the scattered light intensity obtained for: a – pure fibrinogen solution; b – for fibrinogen solution 15 min after thrombin addition in the concentration of 0.125 NIH/ml incubated with iron oxides nanoparticles (concentration $\approx 4 \cdot 10^{-7} \mu^{-3}$) at 30° scattering angle (black lines – experimental data, red solid and dashed lines – approximation with the exponent and “stretched” exponent, blue line – approximation with power law function)

Влияние наночастиц на скорости фибринового гелеобразования практически не изучено. Некоторые сведения о влиянии других наночастиц на формирование геля были представлены в работах Бычковой [80]. С помощью методов статического светорассеяния авторы показали, что наночастицы магнетита (Fe_3O_4) так же, как и наночастицы оксида железа, влияют на гелеобразование – скорость образования фибринового геля уменьшается примерно в 2 раза при введении наночастиц в систему фибриноген-тромбин в следующей последовательности: к раствору фибриногена, содержащему 0,01% наночастиц, добавляли 3 НИИ/мл раствора тромбина. Такое изменение скорости авторы объясняют тем, что наночастицы магнетита, адсорбируя молекулы фибриногена, уменьшают их количество, доступное в растворе для участия в ферментативной реакции, тем самым замедляя ее протекание. В работе [79] показано, что добавление наночастиц оксида железа, полученных в акустоплазменном разряде с кавитацией, к

раствору фибриногена перед добавлением тромбина, также приводило к замедлению реакции гелеобразования. Однако в отличие от работы [80], в работе [79] не наблюдалось существенного изменения размеров наночастиц при их взаимодействии с фибриногеном, что, возможно, свидетельствует о других способах инактивации молекул фибриногена.

3.4. Процессы агрегации молекул белков и частиц в плазме крови. Применение методов ДРС для изучения различных типов агрегации в модельных растворах белков

Агрегация белков и частиц и протеолитическая деградация белков – это процессы, приводящие к изменению белково-пептидного состава плазмы крови, в результате протекания которых исчезают частицы одних размеров и появляются частицы других размеров. Процессы агрегации приводят к появлению частиц более крупного размера, а процессы деградации – частиц более мелкого размера (которые, в

свою очередь, могут также агрегировать). Белки, находящиеся в растворе и «предоставленные самим себе», со временем неизбежно образуют агрегаты [23]. Исследованию агрегационной кинетики [8, 81], а также влиянию различных факторов, таких как pH, температура и наличие в растворе других веществ и др., на скорость агрегации белков в растворе, посвящено большое количество работ. Для изучения процессов агрегации белков часто применяются методы ДРС.

3.4.1. Влияние температуры и добавления ПАВов на агрегацию белков в модельных растворах.

Обратимая и необратимая агрегация

Работа [82] посвящена изучению агрегации белков вируса табачной мозаики методами ДРС. В этой работе применялись два различных метода индуцирования агрегации белков. Один из методов заключался в нагревании образца до 52 °С, а другой – в добавлении поверхностно-активного вещества к раствору белка. Результаты исследования первого типа агрегации, вызванного нагреванием образца, показали, что в растворе имело место образование и рост агрегатов, что приводило к изменению регистрируемых гидродинамических радиусов частиц. Вследствие этого наблюдался также рост интенсивности рассеянного света с течением времени. Кроме того, авторами обнаружено, что «начальные» агрегаты с размерами порядка 25 нм появлялись практически сразу при повышении температуры раствора. По прошествии короткого промежутка времени в растворе возникали «основные» агрегаты с размерами порядка 100 нм. Эти агрегаты затем сгруппировывались, что приводило к формированию «супер»-агрегатов (>1 000 нм), которые могли выпадать в осадок. Авторами установлено, что агрегация, вызванная нагреванием, необратима.

Второй тип агрегации, индуцированной добавлением к раствору белков поверхностно-активного вещества, приводил к формированию только одного типа агрегатов, размеры которых увеличивались с течением времени. Ни одного «супер» агрегата, сформированного из менее крупных «начальных», в исследуемом растворе не было обнаружено. Авторы работы [83] показали также, что процессы агрегации, вызванные добавлением ПАВов, обратимы.

В работе [84] представлены результаты исследования агрегации белка человеческого трансферрина при изменении температуры от 20 °С до 47 °С. Обнаружено, что «основные» белковые агрегаты (см. работу [86]) формируются при температуре ниже и выше температуры человеческого тела, а при температуре выше 47 °С «супер»-агрегаты формируют фрактальные агрегаты. Авторы работы обнаружили, что «основные» агрегаты формировали дендрические структуры, которые в растворе существовали вместе с большими фрактальными агрегатами. Похожие результаты были получены при исследовании агрегации α -лактальбумина, во время которой также

происходило формирование промежуточных агрегатов [85].

Из представленных результатов работ [82, 84] следует, что существуют обратимые и необратимые типы агрегации. В экспериментах, проведенных в этих работах, температура не превышала 25 °С, поэтому в исследуемых образцах плазмы не могло происходить необратимое образование «супер»-агрегатов.

3.4.2. Влияние pH на агрегацию белков в модельных растворах

В работе [86] представлены результаты исследования процессов агрегации бычьего сывороточного альбумина (БСА) при изменениях кислотности образца. Авторами установлено, что изменение pH раствора БСА возле его изоэлектрической точки приводит к агрегации этого белка. При малых изменениях pH (от pH = 7,4 до pH = 7,2) процесс являлся обратимым и протекал без образования «супер»-агрегатов. При больших изменениях pH в сторону подкисления (pH от 7,4 до 6,2) происходила необратимая агрегация с формированием «супер»-агрегатов, которая сопровождалась выпадением осадка (седиментацией).

3.4.3. Влияние аминокислот и пептидов на агрегацию белков в модельных растворах

В работе [84] представлены результаты исследования влияния аминокислот на агрегацию белков в модельных растворах. Оказалось, что аргинин наилучшим образом предотвращает агрегацию белка лизоцима в модельном растворе. Авторы этой работы обнаружили, что добавление 200 мМ аргинина препятствовало агрегации белков, вызванной как тепловой денатурацией, так и разбавлением. В настоящее время эта аминокислота применяется для предотвращения агрегации белков в растворах при их хранении [83, 87].

Следует отметить, что аргинин всегда присутствует в плазме крови и наряду с другими аминокислотами появляется в результате протеолитической деградации пептидов и белков. В работе [88] показано, что концентрация этой аминокислоты в свободном виде в плазме крови с добавлением гепарина составляет 67 мкМ, что почти на 3,5 порядка ниже, чем концентрация, необходимая для ингибирования процессов агрегации белков [83]. В связи с этим о существенном влиянии аминокислот на скорость агрегации белков в плазме крови можно говорить в том случае, когда не менее 10 % белков полностью деградировали до аминокислот.

В работах [89, 90] представлены результаты исследования влияния различных пептидов на агрегацию белков в модельных растворах. С помощью методов ДРС обнаружено, что амфифильные пептиды вызывают агрегацию белковых молекул. Так, короткие пептиды Arg-Phe и Asp-Phe усиливали агрегацию белков дрожжевой алкогольдегидрогеназы (АДГ) и α -лактальбумина. На рис. 7 схематически изображен



процесс агрегации белка α -лактольбумина под воздействием Arg-Phe. Видно, что агрегация приводит к изменению как размера частиц, так и самой структуры агрегатов.

В работе [90] показано, что добавление к модельному раствору лизоцима гидрофобных опиоидных пептидов, наоборот, приводило к торможению агрегации молекул белка.

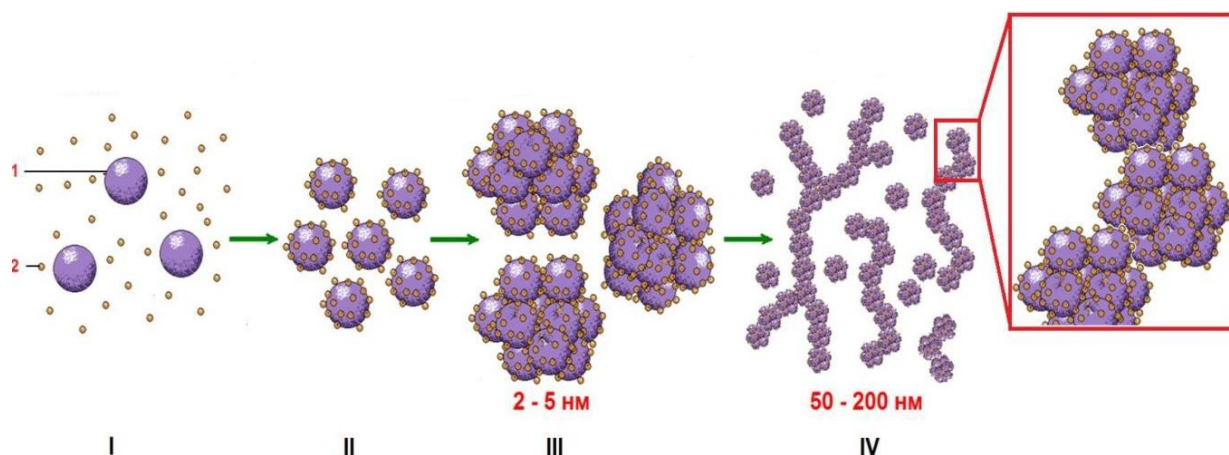


Рис. 7 – Схематическое изображение процесса агрегации α -лактольбумина, индуцируемого влиянием положительно заряженного амфифильного пептида Arg-Phe: 1 – денатурированная молекула α -лактольбумина; 2 – молекула Arg-Phe [95]; I – электростатические взаимодействия, II, III – гидрофобные взаимодействия, IV – агрегация
Fig. 7 – Scheme of the process of α -lactoalbumin aggregation induced by the influence of positively charged amphiphilic peptide Arg-Phe: 1 – denaturated molecule of α -lactoalbumin; 2 – the molecule of Arg-Phe; I – electrostatic interaction, II, III – hydrophobic interaction, IV – aggregation

В приведенных работах показано, что пептиды некоторых видов ускоряют агрегацию, а аминокислоты и пептиды других видов ее замедляют или предотвращают. Аминокислоты и пептиды, появляющиеся в образцах плазмы крови в результате процессов деградации белков, не могут быть отведены из нее в клетки, как в организме. Поэтому накопление таких веществ в образцах плазмы крови может приводить либо к катализу процессов агрегации, либо к их ингибированию. Кроме того, сами аминокислоты и пептиды имеют склонность к агрегации, и в случае образования агрегатов аминокислот и пептидов их влияние на агрегацию белков, по-видимому, прекращается.

3.4.4. Влияние ионов тяжелых металлов на агрегацию белков

Известно, что металлы играют важную роль в живом организме. Соли металлов составляют электролитный состав плазмы крови, их ионы выступают кофакторами в различных ферментативных реакциях, металлопротеины играют важную роль в функционировании клеток (например, железо в гемоглобине эритроцитов). Однако ионы тяжелых металлов являются очень токсичными для человеческого организма, а превышение их предельно допустимой нормы может приводить к тяжелым и даже летальным последствиям. Известно, что ионы тяжелых металлов способствуют усилению образования белковых агрегатов.

В работах [17, 18] с помощью методов статического светорассеяния исследовалось влияние солей ионов тяжелых металлов на параметры светорассеяния белковых растворов (человеческого, бычьего и

яичного альбумина). Ионы металлов – свинца, меди и кадмия – в виде солей добавлялись к растворам белков, проводился анализ изменения средней молекулярной массы белков в растворе и изменение второго вириального коэффициента. Авторами обнаружено значительное увеличение средней молекулярной массы исследуемых белков в растворах с добавлением ацетата натрия в области изоэлектрических точек белков. Выяснилось также, что зависимость коэффициента межмолекулярного взаимодействия B от pH существенно меняется при увеличении ионной силы добавленной соли тяжелых металлов. Для всех исследуемых белков и солей ионов тяжелых металлов была получена похожая картина изменений. При отсутствии солей ионов тяжелых металлов зависимость $B(\text{pH})$ имеет вид параболы с минимумом в изоэлектрической точке и ветвями, направленными вверх. Причем, коэффициент B принимает положительные значения во всем диапазоне pH. При увеличении ионной силы солей тяжелых металлов картина существенно образом меняется: сначала происходит смещение параболы в сторону отрицательных значений коэффициента B с небольшим смещением минимума в сторону меньших pH. При дальнейшем увеличении ионной силы характер зависимости $B(\text{pH})$ полностью меняется: она становится колоколообразной с максимумом коэффициента в изоэлектрической точке, причем по мере дальнейшего увеличения ионной силы происходит увеличение значения B . Такой результат объясняется авторами работ [17, 18] преобладанием диполь-дипольных, а не кулоновских взаимодействий. Поскольку размер иона тяжелого металла больше, чем, например, натрия, то



гидратную оболочку ему удерживать сложнее и проще взаимодействовать с заряженными группами белка. При таких взаимодействиях поверхностный заряд на белке становится практически полностью скомпенсированным, и в силу вступают диполь-дипольные взаимодействия, которые приводят к образованию крупных макромолекулярных комплексов – дипольных кластеров.

В статье Карганова [30] представлены данные о характере метаболических сдвигов в сыворотке крови (и других биологических жидкостях) у работников предприятий ядерно-топливного комплекса. Авторами работы была произведена оценка вкладов различных рассеивающих частиц в интенсивность светорассеяния и их изменение в процессе воздействия на индивидуумы открытых и закрытых источников радиации. Выяснено, что при работе с открытыми источниками излучения у лиц наблюдались анаболические иммуномодифицирующие процессы, в то время как у остальных, наоборот, наблюдались катаболические процессы (при увеличении возраста индивидуума и вредности производственных факторов отмечалось более существенное их нарастание). Таким образом, методы светорассеяния позволяют осуществлять инструментальный саногенетический мониторинг на организменном уровне и определять влияние низких доз радиации на организм, что является одной из актуальных задач современной экологии.

4. Заключение

В обзоре рассмотрены работы, посвященные применению методов динамического и статического светорассеяния к различным областям биофизики, медицины и экологии. Получаемые с помощью этих методов гидродинамические радиусы частиц в биологических жидкостях, молекулярные массы макромолекул, коэффициенты межмолекулярного взаимодействия являются важнейшими параметрами, которые характеризуют состояние организма в целом и изменение которых может служить важным фактором для диагностики социально-значимых заболеваний. Применение этих методов к анализу состава плазмы и сыворотки крови уже привело к разработке методик диагностики онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Эти методы являются неинвазивными и не влияют на естественное протекание биологических процессов, поэтому служат мощным средством исследования механизмов взаимодействия на молекулярном уровне. Применение методов светорассеяния для решения конкретных практических медицинских и экологических задач позволяет определить границы жизнеспособности организмов при влиянии на них как экзогенных факторов, таких как развитие заболеваний, так и эндогенных, таких как длительное воздействие небольших концентраций тяжелых металлов на организм.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-32-00639\18.

Acknowledgments

The reported study was funded by RFBR according to the research project № 18-32-00639\18.

Список литературы

- [1] Pecora, R. Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics / R. Pecora, B.J. Berne – New York: Wiley, 1976.
- [2] Pecora, R. Dynamic light scattering: Applications of Photon Correlation spectroscopy / R. Pecora. – New York and London: Plenum Press, 1985.
- [3] Van der Pol, E. Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes. / Pol E. Van der, Hoekstra A. [et al.] // Journal of thrombosis and haemostasis: JTH. – 2010. – Vol. 8 – No. 12 – P. 2596–607.
- [4] Petrova, G.P. Optical properties of solutions consisting of albumin and γ -globulin molecules in different ratio modeling blood serum / Petrova G.P. [et al.] // Laser Physics – 2009. – Vol. 19 – No. 6 – P. 1303–1307.
- [5] Arzenšek, D. Dynamic light scattering and application to proteins in solutions / D. Arzenšek, R. Podgornik, D. Kuzman // Slovenia, University of Ljubljana, 2010.
- [6] Some, D. Characterization of Protein-Protein Interactions via Static and Dynamic Light Scattering / Some D. – Cdn.Intechopen.Com., – 2002.
- [7] Atmeh, R. Albumin aggregates: hydrodynamic shape and physico-chemical properties / R. Atmeh, I. Arafa, M. Al-Khateeb // Jordan Journal of Chemistry. – 2007. – Vol. 2 – No. 2 – P. 169–182.
- [8] Roberts, C.J. Non-Native Protein Aggregation Kinetics / C.J. Roberts // Biotechnology and Bioengineering. – 2007. – Vol. 98 – No. 5 – P. 927–938.
- [9] Burchard, W. Static and dynamic light scattering from branched polymers and biopolymers / W. Burchard // Advances in Polymer Science. – 1983. – Vol. 48 – P. 1–124.
- [10] Zanini, F. Static and Dynamic Light Scattering from Aqueous Solutions of Bovine Serum Albumin and Salts / Zanini F. – Thesis, Trento, 2010.
- [11] Thibault, F. Optimizing protein crystallization by aggregate size distribution analysis using dynamic light scattering / F. Thibault, J. Langowski, R. Leberman // Journal of Crystal Growth. – 1992. – Vol. 122. – No. 1–4. – P. 50–59.
- [12] Ahrer, K. Analysis of aggregates of human immunoglobulin G using size-exclusion chromatography, static and dynamic light scattering / K. Ahrer [et al.] // Journal of chromatography. A. – 2003. – Vol. 1009. – No. 1–2. – P. 89–96.



[13] Muler, M. Quasi-elastic light scattering from fibrinogen and fibrin intermediate structures / M. Muler, W. Burchard // *Int. J. Biol. Macromol.* – 1981. – Vol. 3 – P. 71–76.

[14] Ferri, F. Structure of fibrin gels studied by elastic light scattering techniques: dependence of fractal dimension, gel crossover length, fiber diameter, and fiber density on monomer concentration / F. Ferri [et al.] // *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics.* – 2002. – Vol. 66. – No. 1. – P. 13.

[15] Kita, R. Formation of Fibrin Gel in Fibrinogen – Thrombin System: Static and Dynamic Light Scattering Study / R. Kita, A. Takahashi, M. Kaibara // *Biomacromolecules.* – 2002. – Vol. 3 – P. 1013–1020.

[16] Kubota, K. Gelation dynamics and gel structure of fibrinogen / K. Kubota [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2004. – Т. 38 – № 3–4 SPEC. ISS. – С. 103–109.

[17] Петрова, Г.П. Образование дипольных комплексов в растворах белков с малой концентрацией ионов тяжелых металлов: диагностика методом лазерного светорассеяния / Г.П. Петрова, Ю.М. Петрушевич, Д.И. Тен // *Квантовая электроника.* – 2002. – Т. 30. – № 10. – С. 897–901.

[18] Тен, Д.И. Процессы агрегации макромолекул белков в водных растворах, содержащих ионы тяжелых металлов / Тен Д.И.: диссертация канд. физ.-мат. наук, 2003.

[19] Luik, A.I. Study of human serum albumin structure by dynamic light scattering: two types of reactions under different pH and interaction with physiologically active compounds / A.I. Luik [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 1998. – Vol. 54. – No. 10. – P. 1503–1507.

[20] Aichmayer, B. The onset of amelogenin nanosphere aggregation studied by small-angle X-ray scattering and dynamic light scattering / B. Aichmayer [et al.] // *Journal of Structural Biology.* – 2005. – Vol. 151. – No. 3. – P. 239–249.

[21] Beliciu, C.M. Effect of solvent and temperature on the size distribution of casein micelles measured by dynamic light scattering / C.M. Beliciu, C.I. Moraru // *Journal of Dairy Science.* – 2009. – Vol. 92. – No. 5. – P. 1829–1839.

[22] Calmettes, P. Temperature and pH dependence of immunoglobulin G conformation / P. Calmettes, L. Cser, E. Rajnavölgyi // *Archives of biochemistry and biophysics.* – 1991. – Vol. 291. – No. 2. – P. 277–83.

[23] Sharma, M. Degradation of proteins upon storage at near-neutral pH: indications of a proteolytic/gelatinolytic activity associated with aggregates / M. Sharma, M. Luthra-Guptasarma // *Biochimica et biophysica acta.* – 2009. – Vol. 1790. – No. 10. – P. 1282–94.

[24] Petrushevich, Y.M. The method of light scattering measurement in tumor diagnostics / Y.M. Petrushevich, G.P. Petrova // *Proceedings of SPIE.* – 1996. – Vol. 2728. – P. 2–9.

[25] Alekseev, S.G. Multiparametrical Testing of Blood Proteins Solutions with Diagnostic Purpose / S.G. Alekseev [et al.] // *Proceedings of SPIE* – 2005. – Vol. 5973 – P. 597301-597301–10.

[26] Papok, I.M. Using the dynamic light-scattering method for the analysis of a blood-serum model solution / I.M. Papok [et al.] // *Moscow University Physics Bulletin.* – 2012. – Vol. 67. – No. 5. – P. 452–456.

[27] Ковальчук, Ю.П. Экспресс диагностика тяжести течения ургентных состояний по оценке гомеостаза методом лазерной корреляционной спектроскопии / Ю.П. Ковальчук [и др.] // *Клинико-лабораторный консилиум* – 2005. – № 7 – С. 21 – 23.

[28] Здраевская, О.Н. Диагностическая значимость метода лазерной корреляционной спектроскопии при воспалительных и опухолевых заболеваниях легких / О.Н. Здраевская [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2006. – № 5. – С. 21–24.

[29] Vlasova, I.M. Investigation of ischemia damaging action on blood serum structure by laser spectroscopy methods / I.M. Vlasova [et al.] // *Laser Physics Letters.* – 2004. – Vol. 1. – No. 8. – P. 417–420.

[30] Карганов, М.Ю. Полисистемная оценка состояния саногенеза работников предприятия ядернотопливного цикла. Анализ регуляции обменных процессов / М.Ю. Карганов [и др.] // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2004. – Т. 44. – № 3. – С. 251–261.

[31] Пелищук, В.К. Использование метода Лазерной корреляционной спектроскопии при массовых обследованиях населения с повышенным риском воздействия ксенобиотиков (работающих в химически неблагоприятных районах), с целью выявления / В.К. Пелищук [и др.]. – Москва, 2001. – 31 с.

[32] Киселев, М.Ф. Идентификация характера обменных сдвигов у лиц разных профессий, контактирующих с ИИИ в условиях крайнего севера / М.Ф. Киселев [и др.] // *Медицина экстремальных ситуаций.* – 2001. – Т. 8. – № 1. – С. 5–14.

[33] Dobrovolskaia, M.A. Interaction of colloidal gold nanoparticles with human blood: effects on particle size and analysis of plasma protein binding profiles / M.A. Dobrovolskaia [et al.] // *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine.* – 2009. – Vol. 5. – No. 2. – P. 106–17.

[34] Kirichenko, M.N. Relation Between Particle Sizes and Concentration in Undiluted and Diluted Blood Plasma According to Light Scattering Data / M.N. Kirichenko [et al.] // *Bulletin of the Lebedev Physics Institute.* – 2015. – Vol. 42. – No. 2. – P. 33–36.

[35] Kirichenko, M.N. The influence of the sequence of nanoparticles injection to solution on the rate of fibrinogen-thrombin reaction / M.N. Kirichenko [et al.] // *Journal of Physics: Conference Series.* – 2017. – Vol. 784 – P. 012025.

[36] Фабелинский, И.Л. Молекулярное рассеяние света / И.Л. Фабелинский. – Москва: Наука, 1965. – 511с.



- [37] Smoluchowski, M. Molekular-kinetische Theorie der Opaleszenz von Gasen im kritischen Zustande, sowie einiger verwandter Erscheinungen / M. Smoluchowski // *Ann. Physik.* – 1908. – Vol. 25 – P. 205–226.
- [38] Smoluchowski, M. Von Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen / M. Von Smoluchowski, M. Smoluchowski // *Annalen der Physik.* – 1906. – Vol. 326. – No. 14. – P. 756–780.
- [39] Einstein, A. Zur Theorie der Brownschen Bewegung / A. Einstein // *Annalen der Physik.* – 1906. – Vol. 324. – No. 2. – P. 371–381.
- [40] Einstein, A. Theorie der Opeleszenz von homogenen Flussigkeiten und Flussikeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes / A. Einstein // *Ann. Physik.* – 1910. – Vol. 33. – No. 33. – P. 1275.
- [41] Камминс, Г. Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов / Г. Камминс, Э. Пайк. – Москва: Мир, 1978. – 584с.
- [42] Palberg, T. Super-heterodyne light scattering on interacting colloidal suspensions: theory and experiment / T. Palberg [et al.] // *Europhys. Lett.* – 2004. – Vol. 66. – No. 291. – P. 1–45.
- [43] Горелик, Г.С. О возможности малоинерционного фотометрирования и демодуляционного анализа света / Г.С. Горелик // *ДАН СССР.* – 1947. – Vol. 57. – No. 1. – P. 45–47.
- [44] Forrester, A.T. Photoelectric mixing of incoherent light / A.T. Forrester, R.A. Gumundsen // *Phys. Rev.* – 1995. – Vol. 90. – No. 6. – P. 1961–1700.
- [45] Clark, N.A. A study of Brownian Motion Using Light Scattering / N.A. Clark, J.H. Lunachek, G.B. Benedek // *Am. J. Phys.* – 1970. – Vol. 38. – No. 5. – P. 575–585.
- [46] Pecora, R. Doppler Shifts in Light Scattering from Pure Liquids and Polymer Solutions / R. Pecora // *The Journal of Chemical Physics.* – 1964. – Vol. 40. – No. 6. – C. 1604.
- [47] Brillouin, L. Diffusion de la lumiere par un corps transparent homogène / L. Brillouin // *C.R. Seances Acad. Sci.* – 1914. – Vol. 158. – No. 1331. – P. 34.
- [48] Brillouin, L. Diffusion de la lumiere et des rayons X par un corps transparent: Influence de l'agitation thermique / L. Brillouin // *Ann. Phys.* – 1922. – Vol. 17. – No. 88. – P. 122.
- [49] Фабелинский, И.Л. Об одном оптическом способе контроля характера акустического поля / И.Л. Фабелинский, Г.П. Мотулевич // *Доклады Академии наук СССР.* – 1951. – Т. 81. – № 5. – С. 787–790.
- [50] Мотулевич, Г.П. Молекулярное рассеяние света в жидкостях / Г.П. Мотулевич, И.Л. Фабелинский // *Доклады Академии наук СССР.* – 1952. – Т. 83. – № 2. – С. 203–206.
- [51] Koppel, D.E. Analysis of Macromolecular Polydispersity in Intensity Correlation Spectroscopy: The Method of Cumulants / D.E. Koppel // *The Journal of Chemical Physics.* – 1972. – Vol. 57. – No. 11. – P. 4814.
- [52] Frisken, B.J. Reviziting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data / B.J. Frisken // *Applied optics.* – 2001. – Vol. 40. – No. 24. – P. 4087–4091.
- [53] Provencher, S.W. CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations / S.W. Provencher // *Computer Physics Communications.* – 1982. – Vol. 27. – No. 3. – P. 229–242.
- [54] Martin, J. Critical dynamics of the sol-gel transition / J. Martin, J. Wilcoxon // *Physical review letters.* – 1988. – Vol. 61. – No. 3. – P. 373–376.
- [55] Scatchard, G.J. Osmotic equilibrium in solution of serum albumin and sodium chloride / G.J. Scatchard, A.C. Batchelder, A. Brown // *J. Am. Chem. Soc.* – 1946. – Vol. 68 – P. 2315–2323.
- [56] Scatchard, G.J. The attraction of protein for small molecules and ions / G.J. Scatchard // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1949. – Vol. 51 – P. 2315.
- [57] Петрова, Г.П. Метод рэлеевского рассеяния в диагностике онкологических заболеваний / Г.П. Петрова [и др.] // В сб. науч. тр.: *Медицинская физика* – 2002. – С.156–167.
- [58] Chaikov, L.L. Dynamics of statistically confident particle sizes and concentrations in blood plasma obtained by the dynamic light scattering method / L.L. Chaikov [et al.] // *Journal of biomedical optics.* – 2015. – Vol. 20. – No. 5 – P. 57003.
- [59] Ivanov, Y.V. Biochemical Properties of Plasma / Y.V. Ivanov [et al.] // *Journal of Russian Laser Research.* – 2005. – Vol. 26. – No. 5. – P. 363–372.
- [60] Zheng, X.-H. Centrifugation: an important pre-analytic procedure that influences plasma microRNA quantification during blood processing / X.-H. Zheng [et al.] // *Chinese journal of cancer.* – 2013. – Vol. 32. – No. 12. – P. 667–72.
- [61] Аклеев, А.В. Использование метода лазерно-корреляционной спектроскопии для обнаружения опухолевых процессов и оценки эффективности их лечения / А.В. Аклеев [и др.] // *Российский Биотерапевтический Журнал.* – 2005. – Т. 4. – № 4. – С. 102–108.
- [62] Шмидт, Р. Физиология человека / Р. Шмидт, Г. Тевс. – Москва: Мир, 2005.
- [63] Zhou, M. An investigation into the human serum "interactome" / M. Zhou [et al.] // *Electrophoresis.* – 2004. – Vol. 25. – No. 9. – P. 1289–1298.
- [64] Chicea, D.A.N. HSA Particle size characterization by AFM / D.A.N. Chicea, R. Chicea, L.M. Chicea // *Romanian Reports in Physics.* – 2013. – Vol. 65. – No. 1. – P. 178–185.
- [65] Velev, O.D. Protein interactions in solution characterized by light and neutron scattering: Comparison of lysozyme and chymotrypsinogen / O.D. Velev, E.W. Kaler, A.M. Lenhoff // *Biophysical Journal.* – 1998. – Vol. 75. – No. 6. – P. 2682–2697.
- [66] Kiselev, M.A. The Size of a human serum albumin molecule in solution / M.A. Kiselev [et al.] // *Biofizika.* – 2000. – Vol. 46. – No. 3. – P. 423–427.

- [67] Hushcha, T.O. Conformation changes of albumin in its interaction with physiologically active compounds as studied by quasi-elastic light scattering spectroscopy and ultrasonic method / T.O. Hushcha, A.I. Luik, Y.N. Naboka // *Talanta*. – 2000. – Vol. 53. – No. 1. – P. 29–34.
- [68] Марри, Р. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. – Москва: Мир, 2003.
- [69] Левтов, В.А. Реология крови / В.А. Левтов, С.А. Реригер, Н.Х. Шадрин. – Москва: Медицина, 1982. – 270 с.
- [70] Karganov, M. Laser Correlation Spectroscopy: Nutritional, Ecological and Toxic Aspects / M. Karganov [et al.]. – In: *Biophysics: A.N. Misra ed. InTech.*, 2012; p. 1–16.
- [71] Мосолов, В.В. Протеолитические ферменты / В.В. Мосолов. – Москва: Наука, 1971. – 1–404 с.
- [72] Wasilewska, M. Structure of fibrinogen in electrolyte solutions derived from dynamic light scattering (DLS) and viscosity measurements / M. Wasilewska, Z. Adamczyk, B. Jachimska // *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*. – 2009. – Vol. 25. – No. 6. – P. 3698–704.
- [73] Walsh, P.N. Proteases in blood clotting. / P.N. Walsh, S.S. Ahmad // *Essays in biochemistry*. – 2002. – Vol. 38. – P. 95–111.
- [74] Lecompte, T. Anticoagulants drugs direct trombin inhibitors / T. Lecompte, M. Toussaint-Hacquard, J. Devignes // *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation*. – 2009. – Vol. 28 – P. S3–S7.
- [75] Yi, J. Intrinsic Peptidase Activity Causes a Sequential Multi-Step Reaction (SMSR) in Digestion of Human Plasma Peptides research articles / J. Yi [et al.] // *Journal of Proteome Research*. – 2008. – Vol. 7. – No. 12. – P. 5112–5118.
- [76] Yi, J. Inhibition of Intrinsic Proteolytic Activities Moderates Preanalytical Variability and Instability of Human Plasma research articles / J. Yi, C. Kim, C.A. Gelfand // *Journal of Proteome Research*. – 2007. – Vol. 6 – No. 5. – P. 1768–1781.
- [77] Kirichenko, M.N. Effect of iron oxide nanoparticles on the blood coagulation according to light scattering data / M.N. Kirichenko [et al.] // *Proceedings of SPIE*. – 2018. – Vol. 10614. – No. April. – P. 106142C–1–6.
- [78] Bulychev, N.A. Study of physical properties of metal oxide nanoparticles obtained in acoustoplasma discharge / N.A. Bulychev [et al.] // *Proceedings of SPIE*. – 2018. – Vol. 10614. – No. April. – P. 1061412–1–6.
- [79] Kirichenko, M.N. Study of the Interaction between Iron Oxide Nanoparticles, Produced in Acoustoplasma Discharge with Cavitation, and Blood Plasma Fibrinogen by Light Scattering Techniques / M.N. Kirichenko [et al.] // *Atmospheric and Oceanic Optics*. – 2018. – Vol. 31. – No. 4. – P. 381–385.
- [80] Бычкова, А.В. Взаимодействие белков плазмы крови с наночастицами магнетита / А.В. Бычкова [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2010. – Т. 72. – № 5. – С. 694–700.
- [81] Weiss, W.F. Principles, Approaches, and Challenges for Predicting Protein Aggregation Rates and Shelf Life / W.F. Weiss, T.M. Young, C.J. Roberts // *Journal of pharmaceutical sciences*. – 2009. – Vol. 98. – No. 4. – P. 1246–1277.
- [82] Panyukov, Y. The study of amorphous aggregation of tobacco mosaic virus coat protein by dynamic light scattering / Y. Panyukov [et al.] // *Biophysical chemistry*. – 2007. – Vol. 127 – No. 1–2. – P. 9–18.
- [83] Shiraki, K. Biophysical effect of amino acids on the prevention of protein aggregation / K. Shiraki [et al.] // *Journal of biochemistry*. – 2002. – Vol. 132. – No. 4. – P. 591–5.
- [84] Schüler, J. Thermally induced aggregation of human transferrin receptor studied by light-scattering techniques / J. Schüler [et al.] // *Biophysical journal*. – 1999. – Vol. 77. – No. 2. – P. 1117–1125.
- [85] Bettelheim, F.A. The mode of chaperoning of dithiothreitol-denatured alpha-lactalbumin by alpha-crystallin / F.A. Bettelheim [et al.] // *Biochemical and biophysical research communications*. – 1999. – Vol. 261. – No. 2. – P. 292–7.
- [86] Militello, V. Aggregation kinetics of bovine serum albumin studied by FTIR spectroscopy and light scattering. / Militello V. [et al.] // *Biophysical chemistry*. – 2004. – Vol. 107 – No. 2 – P. 175–87.
- [87] Reddy, K.R.C. L-Arginine increases the solubility of unfolded species of hen egg white lysozyme / R.C. Reddy K [et al.] // *Protein science: a publication of the Protein Society*. – 2005. – Vol. 14. – No. 4. – P. 929–35.
- [88] Arakawa, T. The effects of arginine on refolding of aggregated proteins: not facilitate refolding, but suppress aggregation / T. Arakawa, K. Tsumoto // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2003. – Vol. 304 – No. 1. – P. 148–52.
- [89] Artemova, N.V. Acceleration of protein aggregation by amphiphilic peptides: Transformation of supramolecular structure of the aggregates / N.V. Artemova [et al.] // *Biotechnology Progress*. – 2011. – Vol. 27. – No. 2. – P. 359–368.
- [90] Artemova, N.V. Opioid peptides derived from food proteins suppress aggregation and promote reactivation of partly unfolded stressed proteins / N.V. Artemova [et al.] // *Peptides*. – 2010. – Vol. 31. – P. 332–338.

References

- [1] Pecora R. *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. New York: Wiley, 1976.
- [2] Pecora R. *Dynamic light scattering: Applications of Photon Correlation spectroscopy*. New York and London: Plenum Press, 1985.



[3] Van der Pol E., Hoekstra A., Sturk A., Otto C., Leeuwen T.G. van, Nieuwland R. Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*, 2010;8(12):2596–607.

[4] Petrova G.P., Boiko A. V., Fedorova K. V., Sergeeva I.A., Sokol N. V., Tichonova T.N. Optical properties of solutions consisting of albumin and γ -globulin molecules in different ratio modeling blood serum. *Laser Physics*, 2009;19(6):1303–1307.

[5] Arzenšek D, Podgornik R., Kuzman D. Dynamic light scattering and application to proteins in solutions. Slovenia, University of Ljubljana, 2010.

[6] Some D., Kenrick S. Characterization of Protein-Protein Interactions via Static and Dynamic Light Scattering. In: Protein Interactions, InTech, 2012.

[7] Atmeh R., Arafa I., Al-Khateeb M. Albumin aggregates: hydrodynamic shape and physico-chemical properties. *Jordan Journal of Chemistry*, 2007;2(2):169–182.

[8] Roberts C.J. Non-Native Protein Aggregation Kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007;98(5):927–938.

[9] Burchard W. Static and dynamic light scattering from branched polymers and biopolymers. *Advances in Polymer Science*, 1983;48(1):124.

[10] Zanini F. Static and Dynamic Light Scattering from Aqueous Solutions of Bovine Serum Albumin and Salts. Thesis, Trento, 2010.

[11] Thibault F., Langowski J., Leberman R. Optimizing protein crystallization by aggregate size distribution analysis using dynamic light scattering. *Journal of Crystal Growth*, 1992;122(1–4):50–59.

[12] Ahrer K., Buchacher A., Iberer G., Josic D., Jungbauer A. Analysis of aggregates of human immunoglobulin G using size-exclusion chromatography, static and dynamic light scattering. *Journal of chromatography A*, 2003;1009(1–2):89–96.

[13] Muler M., Burchard W. Quasi-elastic light scattering from fibrinogen and fibrin intermediate structures. *Int. J. Biol. Macromol.*, 1981;3:71–76.

[14] Ferri F., Greco M., Arcvito G., De Spirito M., Rocco M. Structure of fibrin gels studied by elastic light scattering techniques: dependence of fractal dimension, gel crossover length, fiber diameter, and fiber density on monomer concentration. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, 2002;66(1):13.

[15] Kita R., Takahashi A., Kaibara M. Formation of Fibrin Gel in Fibrinogen – Thrombin System: Static and Dynamic Light Scattering Study. *Biomacromolecules*, 2002;3:1013–1020.

[16] Kubota K., Kogure H., Masuda Y., Toyama Y., Kita R., Takahashi A., Kaibara M. Gelation dynamics and gel structure of fibrinogen. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2004;38(3–4):103–109 (in Russ.).

[17] Petrova G.P., Petrushevich Yu.M., Ten D.I. Formation Of Dipole Complexes In Protein Solutions With Low Concentrations Of Heavy Metal Ions: Diagnostics By The Method Of Laser Radiation Scattering (Образование дипольных комплексов в растворах

belkov s maloi kontsentratsiei ionov tyazhelykh metallov: diagnostika metodom lazernogo svetorasseyaniya), *Quantum Electronics*, 2002;32(10):897–901 (in Russ.).

[18] Ten D.I. The processes of aggregation of macromolecules of proteins in aqueous solutions containing heavy metal ions (Protsessy agregatsii makromolekul belkov v vodnykh rastvorakh, soderzhashchikh iony tyazhelykh metallov). Ph.D. Thesis, 2003.

[19] Luik A.I., Naboka Y.N., Mogilevich S.E., Hushcha T.O., Mischenko N.I. Study of human serum albumin structure by dynamic light scattering: two types of reactions under different pH and interaction with physiologically active compounds. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 1998;54(10):1503–1507.

[20] Aichmayer B., Margolis H.C., Sigel R., Yamakoshi Y., Simmer J.P., Fratzl P. The onset of amelogenin nanosphere aggregation studied by small-angle X-ray scattering and dynamic light scattering. *Journal of Structural Biology*, 2005;151(3):239–249.

[21] Beliciu C.M., Moraru C.I. Effect of solvent and temperature on the size distribution of casein micelles measured by dynamic light scattering. *Journal of Dairy Science*, 2009;92(5):1829–1839.

[22] Calmettes P., Cser L., Rajnavölgyi E. Temperature and pH dependence of immunoglobulin G conformation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1991;291(2):277–83.

[23] Sharma M., Luthra-Guptasarma M. Degradation of proteins upon storage at near-neutral pH: indications of a proteolytic/gelatinolytic activity associated with aggregates. *Biochimica et biophysica acta*, 2009;1790(10):1282–94.

[24] Petrushevich Y.M., Petrova G.P. The method of light scattering measurement in tumor diagnostics. *Proceedings of SPIE*, 1996;2728:2–9.

[25] Alekseev S.G., Ivanov A. V., Sviridov S. V., Petrova G.P., Petrushevich Y.M., Boiko A. V., Ten D.I. Multiparametrical Testing of Blood Proteins Solutions with Diagnostic Purpose. *Proceedings of SPIE*, 2005;5973:597301–597301–10.

[26] Papok I.M., Petrova G.P., Anenkova K.A., Papish E.A. Using the dynamic light-scattering method for the analysis of a blood-serum model solution. *Moscow University Physics Bulletin*, 2012;67(5):452–456.

[27] Koval'chuk Yu.P., Noskin L.A., Landa S.B., Bazhora Yu.I., Polyakov A.E., Khizhnyak E.V. Express diagnostics of the severity of urgent conditions according to homeostasis assessment by laser correlation spectroscopy, (Ekspress diagnostika tyazhesti techeniya urgentnykh sostoyanii po otsenke gomeostaza metodom lazernoi korrelyatsionnoi spektroskopii), *Kliniko-laboratoryi konsilium*, 2005;7: 21–23 (in Russ.).

[28] Zdraevskaya O.N., Dyuk V.A., Landa S.B., Emmanuel' V.L., Novik V.I. Diagnostic significance of the method of laser correlation spectroscopy in inflammatory and neoplastic lung diseases, (Diagnosticheskaya znachimost' metoda lazernoi korrelyatsionnoi



spektroskopii pri vospalitel'nykh i opukholevykh zabolevaniyakh legkikh). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2006;5:21–24 (in Russ.).

[29] Vlasova I.M., Dolmatova E. V., Koshelev V.B., Saletsky A.M. Investigation of ischemia damaging action on blood serum structure by laser spectroscopy methods. *Laser Physics Letters*, 2004;1(8):417–420.

[30] Karganov M.Yu., Kovaleva O.I., Khlebnikova N.N., Dmitrieva O.S., Saenko S.A., Dovgusha L.V., Landa S.B. Polysystemic assessment of the state of sanogenesis in workers employed in nuclear fuel plants. The analysis of metabolism regulation (Polisistemnaya otsenka sostoyaniya sanogeneza rabotnikov predpriyatiya yaderno-toplivnogo tsikla. Analiz regulyatsii obmennykh protsessov). *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*, 2004;44(3):251–261 (in Russ.).

[31] Pelishchuk V.K., Radilov A.S., Pirieva T.G., Landa S.B., Noskin L.A., Kiselev M.F. Using the method of laser correlation spectroscopy for mass surveys of the population with an increased risk of exposure to xenobiotics (working in the chemical industry and living in ecologically unfavorable areas), in order to identify in order to identify early and prenosologicheskie signs of intoxication (Ispol'zovanie metoda Lazernoj korrelyacionnoj spektroskopii pri massovykh obsledovaniyakh naseleniya s povyshennym riskom vozdeystviya ksenobiotikov (rabotayushchih v himicheskoy promyshlennosti i prozhivayushchih v ehkologicheski neblagopriyatnyh rajonah), s cel'yu vyavleniya s cel'yu vyavleniya rannih i donozologicheskikh priznakov intoksikatsii). *Metodicheskie rekomendacii. Reg. N 32-023.22*, Moscow, 2001, 31 p. (in Russ.).

[32] Kiselev M.F., Dovgusha V.V., Dovgusha L.V., Landa S.B., Pivovarov V.V., Komarov G.D., Karganov M.Yu., Noskin V.A., Noskin L.A. Identification of the nature of exchange shifts in persons of different professions in contact with III in the conditions of the Far North (Identifikatsiya kharaktera obmennykh sdvigo v lits raznykh professii, kontaktiruyushchikh s III v usloviyakh krainego severa). *Meditsina ekstremal'nykh situatsii*, 2001;8(1):5–14 (in Russ.).

[33] Dobrovol'skaia M.A., Patri A.K., Zheng J., Clogston J.D., Ayub N., Aggarwal P., Neun B.W., Hall J.B., McNeil S.E. Interaction of colloidal gold nanoparticles with human blood: effects on particle size and analysis of plasma protein binding profiles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 2009;5(2):106–117.

[34] Kirichenko M.N., Masalov A. V., Chaikov L.L., Zaritsky A.R. Relation Between Particle Sizes and Concentration in Undiluted and Diluted Blood Plasma According to Light Scattering Data. *Bulletin of the Lebedev Physics Institute*, 2015;42(2):33–36.

[35] Kirichenko M.N., Krivokhiza S. V., Chaikov L.L., Bulychev N.A. The influence of the sequence of nanoparticles injection to solution on the rate of fibrinogen-thrombin reaction. *Journal of Physics: Conference Series*, 2017;784:012025.

[36] Fabelinskii I.L. *Molecular Light scattering (Molekulyarnoe rasseyanie sveta)*. Moscow: Nauka Publ., 1965, 511 p. (in Russ.).

[37] Smoluchowski M. Molekular-kinetische Theorie der Opaleszenz von Gasen im kritischen Zustande, sowie einiger verwandter Erscheinungen. *Annalen der Physik*, 1908;25:205–226.

[38] Smoluchowski M. Von Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen. *Annalen der Physik*, 1906;326(14):756–780.

[39] Einstein A. Zur Theorie der Brownschen Bewegung. *Annalen der Physik*, 1906;324(2):371–381.

[40] Einstein A. Theorie der Opeleszenz von homogenen Flussigkeiten und Flussikeitsgemischen in der Nahe des kritischen Zustandes. *Annalen der Physik*, 1910;33(33):1275.

[41] Kammins G., Paik E. Spectroscopy of optical mixing and correlation of photons (Spektroskopiya opticheskogo smesheniya i korrelyatsiya fotonov), Moscow: Mir Publ., 1978; 584 p. (in Russ.).

[42] Palberg T., Holger R., Koller T., Medebach M., Gerhard N. Super-heterodyne light scattering on interacting colloidal suspensions: theory and experiment. *Europhys. Lett.* 2004;66(291):1-16.

[43] Gorelik G.S. On the possibility of low-inertia photometry and demodulation analysis of light (O vozmozhnosti maloinertsionnogo fotometrirovaniya i demodulyatsionnogo analiza sveta), *DAN SSSR*, 1947;57(1):45–47 (in Russ.).

[44] Forrester A.T., Gumundsen R.A. Photoelectric mixing of incoherent light. *Physical Review*, 1995;90(6):1961–1700.

[45] Clark N.A., Lunachek J.H., Benedek G.B. A study of Brownian Motion Using Light Scattering. *American Journal of Physics*, 1970;38(5):575–585.

[46] Pecora R. Doppler Shifts in Light Scattering from Pure Liquids and Polymer Solutions. *The Journal of Chemical Physics*, 1964;40(6):1604.

[47] Brillouin L. Diffusion de la lumiere par un corps transparent homogene. *C. R. Seances Acad. Sci.* 1914;158(1331):34.

[48] Brillouin L. Diffusion de la lumiere et des rayons X par un corps transparent: Influence de l'agitation thermique. *Ann. Phys.*, 1922;17(88):122.

[49] Fabelinskii I.L., Motulevich G.P. On an optical method of controlling the nature of the acoustic field (Ob odnom opticheskom sposobe kontrolya kharaktera akusticheskogo polya). *Doklady Akademii nauk SSSR*. 1951;81(5):787–790.

[50] Motulevich G.P., Fabelinskii I.L. Molecular Light Scattering in Liquids (Molekulyarnoe rasseyanie sveta v zhidkostyakh). *Doklady Akademii nauk SSSR*, 1952;83(2):203–206 (in Russ.).

[51] Koppel D.E. Analysis of Macromolecular Polydispersity in Intensity Correlation Spectroscopy: The Method of Cumulants. *The Journal of Chemical Physics*, 1972;57(11):4814.



- [52] Frisken B.J. Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. *Applied optics*, 2001;40(24):4087–4091.
- [53] Provencher S.W. CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations. *Computer Physics Communications*, 1982;27(3):229–242.
- [54] Martin J., Wilcoxon J. Critical dynamics of the sol-gel transition. *Physical review letters*, 1988;61(3):373–376.
- [55] Scatchard G.J., Batchelder A.C., Brown A. Osmotic equilibrium in solution of serum albumin and sodium chloride. *J. Am. Chem. Soc.* 1946;68:2315–2323.
- [56] Scatchard G.J. The attraction of protein for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1949; 51:2315.
- [57] Petrova G.P., Petrushevich Yu.M., Alekseev S.G., Ivanov A.V. Rayleigh scattering method in the diagnosis of cancer (Metod relevel'skogo rasseyaniya v diagnostike onkologicheskikh zabolevaniy). *Meditsinskaya fizika, Sbornik nauchnykh trudov.* – Moscow, fiz. fak. MGU, 2002,156–167.
- [58] Chaikov L.L., Kirichenko M.N., Krivokhizha S. V, Zaritskiy A.R. Dynamics of statistically confident particle sizes and concentrations in blood plasma obtained by the dynamic light scattering method. *Journal of biomedical optics*, 2015;20(5):57003.
- [59] Ivanov Y.V., Karimov A.R., Pyatnitskiy L.N., Seryakov A.P., Shcheglov V.A. Biochemical Properties of Plasma. *Journal of Russian Laser Research*, 2005;26(5):363–372.
- [60] Zheng X.-H., Cui C., Zhou X.-X., Zeng Y.-X., Jia W.-H. Centrifugation: an important pre-analytic procedure that influences plasma microRNA quantification during blood processing. *Chinese journal of cancer*, 2013;32(12):667–72.
- [61] Akleev A. V., Romanskaya Yu. Yu., Kiselev M. F., Vazhenin A. V. Laser-correlation spectroscopy for detection of tumor processes and assessment of anti-cancer treatment effectiveness (Ispol'zovanie metoda lazernoy korrelyatsionnoy spektroskopii dlya obnaruzheniya opuholevykh processov i ochenki ehffektivnosti ih lecheniya). *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal*, 2005;4(4):102–108 (in Russ.).
- [62] Shmidt P., Tevs G. Human Physiology (Fiziologiya cheloveka). Moscow: Mir Publ., 2005.
- [63] Zhou M., Lucas D. A, Chan K.C., Issaq H.J., Petricoin E.F., Liotta L. A, Veenstra T.D., Conrads T.P. An investigation into the human serum “interactome”. *Electrophoresis*, 2004;25(9):1289–1298.
- [64] Chicea D.A.N., Chicea R., Chicea L.M. HSA Particle size characterization by AFM. *Romanian Reports in Physics*, 2013;65(1):178–185.
- [65] Velev O.D., Kaler E.W., Lenhoff A.M. Protein interactions in solution characterized by light and neutron scattering: Comparison of lysozyme and chymotrypsinogen. *Biophysical Journal*, 1998;75(6):2682–2697.
- [66] Kiselev M.A. Gryzunov I.A., Dobretsov G.E., Komarova M.N. The Size of a human serum albumin molecule in solution. *Biofizika*, 2000;46(3):423–427.
- [67] Hushcha T.O., Luik A.I., Naboka Y.N. Conformation changes of albumin in its interaction with physiologically active compounds as studied by quasi-elastic light scattering spectroscopy and ultrasonic method. *Talanta*, 2000;53(1):29–34.
- [68] Marri R., Grenner D., Meies P., Roduell V. Harper's Biochemistry (Biokhimiya cheloveka) Moscow: Mir Publ., 2003.
- [69] Levtov V.A., Reriger S.A., Shadrina N.Kh. Blood rheology (Reologiya krovi). Moscow: Meditsina Publ., 1982, 270 p. (in Russ.).
- [70] Karganov M., Alchinova I., Arkhipova E., Skalny A.V. Laser Correlation Spectroscopy: Nutritional, Ecological and Toxic Aspects. In: Biophysics.A.N. Misra ed. InTech, 2012 (in Russ.).
- [71] Mosolov V.V. Proteolytic enzymes (Proteoliticheskie fermenty). Moscow: Nauka Publ., 1971, p. 1-404.
- [72] Wasilewska M., Adameczyk Z., Jachimska B. Structure of fibrinogen in electrolyte solutions derived from dynamic light scattering (DLS) and viscosity measurements. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 2009;25(6):3698–704.
- [73] Walsh P.N., Ahmad S.S. Proteases in blood clotting. *Essays in biochemistry*, 2002;38:95–111.
- [74] Lecompte T., Toussaint-Hacquard M., Devignes J. Anticoagulants drugs direct trombin inhibitors. *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation*, 2009;28:S3–S7.
- [75] Yi J., Liu Z., Craft D., Mullan P.O., Ju G., Gelfand C.A. Intrinsic Peptidase Activity Causes a Sequential Multi-Step Reaction (SMSR) in Digestion of Human Plasma Peptides. *Journal of Proteome Research*, 2008;7(12):5112–5118.
- [76] Yi J., Kim C., Gelfand C.A. Inhibition of Intrinsic Proteolytic Activities Moderates Preanalytical Variability and Instability of Human Plasma research articles. *Journal of Proteome Research*, 2007;6(5):1768–1781.
- [77] Kirichenko M.N., Bulychev N.A., Chaikov L.L., Kazaryan M.A., Masalov A. V Effect of iron oxide nanoparticles on the blood coagulation according to light scattering data. *Proceedings of SPIE*, 2018;10614(April):106142C–1–6.
- [78] Bulychev N.A., N.A., Kazaryan M.A., Zakharyan A.R., Bodryshev V. V, Kirichenko M.N. Study of physical properties of metal oxide nanoparticles obtained in acoustoplasma discharge. *Proceedings of SPIE*, 2018;10614(April):1061412–1–6.
- [79] Kirichenko M.N., Chaikov L.L., Krivokhizha S. V, Bulychev N.A., Kazaryan M.A., Zaritskiy A.R. Study of the Interaction between Iron Oxide Nanoparticles , Produced in Acoustoplasma Discharge with Cavitation , and Blood Plasma Fibrinogen by Light Scattering Techniques. *Atmospheric and Oceanic Optics*, 2018;31(4):381–385.



[80] Bychkova A.V., Sorokina O.N., Kovarskii A.L., Leonova V.B., Rozenfel'd M.A. Interaction between blood plasma proteins and magnetite nanoparticles (Vzaimodeistvie belkov plazmy krovi s nanochastitsami magnetite). *Colloid Journal*, 2010;72(5):694–700.

[81] Weiss W.F., Young T.M., Roberts C.J. Principles, Approaches, and Challenges for Predicting Protein Aggregation Rates and Shelf Life. *Journal of pharmaceutical sciences*, 2009;98(4):1246–1277.

[82] Panyukov Y., Yudin I., Drachev V., Dobrov E., Kurganov B. The study of amorphous aggregation of tobacco mosaic virus coat protein by dynamic light scattering. *Biophysical chemistry*, 2007;127(1–2):9–18.

[83] Shiraki K., Fujiwara S., Imanaka T., Takagi M. Biophysical effect of amino acids on the prevention of protein aggregation. *Journal of biochemistry*, 2002;132(4):591–5.

[84] Schüler J., Frank J., Saenger W., Georgalis Y. Thermally induced aggregation of human transferrin receptor studied by light-scattering techniques. *Biophysical journal*, 1999;77(2):1117–1125.

[85] Bettelheim F.A., Ansari R., Cheng Q.F., Zigler J.S. The mode of chaperoning of dithiothreitol-denatured alpha-

lactalbumin by alpha-crystallin. *Biochemical and biophysical research communications*, 1999;261(2):292–7.

[86] Militello V., Casarino C., Emanuele A., Giostra A., Pullara F., Leone M. Aggregation kinetics of bovine serum albumin studied by FTIR spectroscopy and light scattering. *Biophysical chemistry*, 2004;107(2):175–87.

[87] Reddy K R.C., Lilie H., Rudolph R., Lange C. L-Arginine increases the solubility of unfolded species of hen egg white lysozyme. *Protein science: a publication of the Protein Society*, 2005;14(4):929–35.

[88] Arakawa T., Tsumoto K. The effects of arginine on refolding of aggregated proteins: not facilitate refolding, but suppress aggregation. *Biochemical and biophysical research communications*, 2003;304(1):148–52.

[89] Artemova N.V., Bumagina Z.M., Stein-Margolina V.A., Gurvits B.Y. Acceleration of protein aggregation by amphiphilic peptides: Transformation of supramolecular structure of the aggregates. *Biotechnology Progress*, 2011;27(2):359–368.

[90] Artemova N.V., Bumagina Z.M., Kasakov A.S., Shubin V.V., Gurvits B.Y. Opioid peptides derived from food proteins suppress aggregation and promote reactivation of partly unfolded stressed proteins. *Peptides*, 2010;31:332–338.

Транслитерация по BSI



15-ая Международная научно-техническая конференция Оптические методы исследования потоков 2019

24 июня 2019 – 28 июня 2019

Москва, Национальный исследовательский университет «МЭИ»

Организаторы конференции:

Российская академия наук (Сибирское отделение)
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Институт теплофизики СО РАН
Национальный исследовательский университет «МЭИ»
Оптическое общество имени Д.С. Рождественского

Основные научные направления:

- применение оптических методов для исследования энергофизических установок
- теневые и рефрактометрические методы
- лазерная и оптическая интерферометрия
- лазерная анемометрия (доплеровская, фазово-доплеровская, трассерная, времяпролетная)
- анемометрия по изображениям частиц
- оптические методы определения концентрации и размеров частиц
- компьютерные методы обработки сигналов и изображений
- методы визуализации потоков
- волоконно-оптические датчики физических полей
- оптические методы исследования микро- и нанотечений
- оптические методы в биомедицине и экологии
- оптические методы диагностики деформаций
- применения оптических методов
- компьютерное моделирование физических процессов в сплошных средах
- акустооптика и оптоакустика

Программа Конференции включает в себя приглашенные доклады зарубежных и российских ученых, а также пленарные и стендовые доклады.

<https://omfi-conf.ru/omfi2019>

