

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МОДЕЛЬ ЭРИТРОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Д.А. Кравчук¹, Д.В. Орда-Жигулина^{2,3}

¹Южный федеральный университет, Таганрог, Россия

²ООО «Параметрика», Таганрог, Россия

³Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону, Россия

Резюме

Разработана экспериментальная модель для изучения оптико-акустического сигнала от моделей клеток крови, представляющих собой полистирольные микросферы с наночастицами. Установлено, что наночастицы из-за их сильного поглощения света существенно влияют на коэффициент клеточного оптического поглощения, при этом теплофизические параметры, а именно коэффициент теплового расширения, сжимаемость и изобарическая удельная теплоемкость клеток остаются неизменными, так как наночастицы занимают незначительный внутриклеточный объем по сравнению с объемом самой клетки. Оптоакустические сигналы были получены с использованием модельных растворов при различных концентрациях клеток и наночастиц для воздействия лазером с длиной волны 1064 нм. Экспериментальные данные, полученные с помощью лазерной установки LIMO100–532/1064-U на основе Nd:YAG, показали, что амплитуда оптоакустического сигнала возрастала без увеличения температуры в зоне воздействия лазера.

Ключевые слова: оптоакустический сигнал, гематокрит, агрегация, эритроциты, спектральная плотность мощности, лазер.

Для цитирования: Кравчук Д.А. Экспериментальные исследования оптоакустического воздействия на модель эритроцитов в присутствии углеродных наночастиц // *Biomedical Photonics*. – 2019 – Т. 8, № 3 – С. 11–18. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-11-18.

Контакты: Кравчук Д.А., e-mail: kravchukda@sfedu.ru

EXPERIMENTAL STUDIES OF OPTOACOUSTIC EFFECT ON THE MODEL OF ERYTHROCYTES IN THE PRESENCE OF CARBON NANOPARTICLES

Kravchuk D.A.¹, Orda-Zhigulina D.V.^{2,3}

¹Southern Federal University, Taganrog, Russia

²ООО "Parametrika", Taganrog, Russia

³The Southern Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Experimental model has been developed to study optoacoustic signal from model blood cells presented by polystyrene microspheres with nanoparticles. It was found out that nanoparticles due to their strong absorption of light significantly affect the coefficient of cellular optical absorption, while the thermophysical parameters, namely the coefficient of thermal expansion, compressibility and isobaric specific heat of cells remain unchanged, since nanoparticles occupy a small intracellular volume compared to the cell volume. Optoacoustic signals were obtained using model solutions at various concentrations of cells and nanoparticles using 1064 nm laser. The results of experimental measurements using LIMO 100–532/1064-U system based on Nd:YAG showed that the amplitude of the optoacoustic signal increased without increasing the temperature in the laser area.

Keywords: optoacoustic signal, hematocrit, aggregation, erythrocytes, spectral power density, laser.

For citations: Kravchuk D.A. Experimental studies of optoacoustic effect on the model of erythrocytes in the presence of carbon nanoparticles, *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 11–18. (in Russian) doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-11-18.

Contacts: Kravchuk D.A., e-mail: kravchukda@sfedu.ru

Введение

Оптоакустическая визуализация – комбинированная технология визуализации, которая обеспечивается с помощью регистрации исходящих широкополосных ультразвуковых (УЗ) сигналов, формируемых в биологических тканях, освещаемых лазером. В отличие от ионизирующих методов визуализации, таких как рентгенография, компьютерная томография, позитронно-эмиссионная томография, в оптоакустическом преобразовании используются только низкоэнергетические фотоны и ультразвуковые волны. Например, энергия фотонов видимого инфракрасного света для оптоакустической визуализации не превышает 2 эВ, в то время как энергия типичного рентгеновского излучения для рентгенографии составляет около 10–100 кэВ. Таким образом, оптоакустическая визуализация является безопасным методом неинвазивных исследований, что особенно перспективно для практического использования. Чистые методы оптической визуализации, такие как оптическая когерентная томография, флуоресцентная визуализация и различные виды оптической микроскопии широко используются в медицине и применяются для изучения клеток и биологических структур. Эти методы используют преимущественно спектроскопические особенности взаимодействия света и ткани, внутренние оптические контрасты (рассеяние, поглощение, рефракционный индекс, поляризация и пр.). Для глубин порядка миллиметра чистые оптические методы визуализации используют короткую длину волны когерентного света и обеспечивают формирование изображения с высокой разрешающей способностью для биомедицинских исследований, как на клеточном уровне, так и в масштабе отдельных органов и тканей. Однако за пределами миллиметровой глубины фотоны в биологических тканях сильно рассеиваются, что ограничивает пространственное разрешение чисто оптических методов визуализации для большинства биомедицинских применений, где требуется изображение более глубоких слоев тканей при сохранении относительно высокого разрешения [1]. Относительно низкое пространственное разрешение этого метода препятствует дальнейшему клиническому применению и снижает потенциал распространения данной методики в диагностической медицине.

В отличие от сильного рассеяния оптического луча рассеяние ультразвуковых волн в биологических тканях на два-три порядка слабее [2, 3], вследствие чего УЗ волна позволяет получить улучшенное отношение сигнал-шум и более высокое пространственное разрешение по сравнению с диффузной фотонной волной для глубоко расположенных объектов в биологических тканях. В качестве одного из ключевых оптических биомаркеров при обнаружении опухолей при

помощи оптического поглощения, обеспечиваемого оптоакустической визуализацией, используется независимый контраст изображения, отсутствующий в других методах визуализации, таких как ультрасонография, рентгенография и магнитно-резонансная томография (МРТ) [4–7].

В методах оптоакустической визуализации для улучшения ее чувствительности широко используются различные металлические и неметаллические наночастицы в качестве контрастных веществ. В биомедицинской визуализации используют различные наноразмерные структуры, такие как наносферы, наностержни, наносистемы серебра, золота и углеродные нанотрубки (УНТ), в качестве усилителей контрастности.

Выбор углеродных наночастиц является наиболее подходящим для использования в диагностике и терапии из-за их простой и быстрой подготовки, перестраиваемых свойств рассеяния света и поглощения и способности связываться с целевыми клетками. Однако существует значительное количество исследований, ставящих под сомнение целесообразность использования нанотрубок в живых организмах, вследствие их токсичности. Поэтому ниже приведены результаты некоторых работ, опубликованных преимущественно за последние три года, касающихся проблемы применения УНТ в биомедицине.

В работе N. Lu и соавт. исследовано влияние оболочек фибриногена на биодеградацию и цитотоксичность одностенных углеродных нанотрубок. Показано, что связывание с фибриногеном снижает токсичность УНТ, не вызывая при этом их биодеградации в активированных клетках, что открывает новые возможности в разработке безопасных нанотрубок для биомедицинских применений [8]. Статья N.J. Johnston и соавт. содержит критический обзор доступных данных о влиянии УНТ на здоровье человека для оценки рисков, связанных с использованием УНТ. Авторами определены параметры УНТ, наиболее вероятные для управления токсичностью (длина, содержание металла, склонность к агрегации/агломерации и химический состав поверхности) [9]. В работе H. Ahmadi и соавт. исследовано влияние двух разных видов УНТ на мышей: в итоге не было выявлено значительной токсичности введенных доз УНТ ни в одной из групп животных [10]. В работе L.E. Carvalho и соавт. обсуждаются аспекты применения УНТ в лечении меланомы, такие как снижение токсичности и повышение биосовместимости. Авторы предлагают методы решения проблемы и говорят о перспективности УНТ, как транспортного средства доставки лекарственных веществ в опухоль [11].

Суммируя данные проводившихся многочисленными авторами исследований, можно отметить сле-

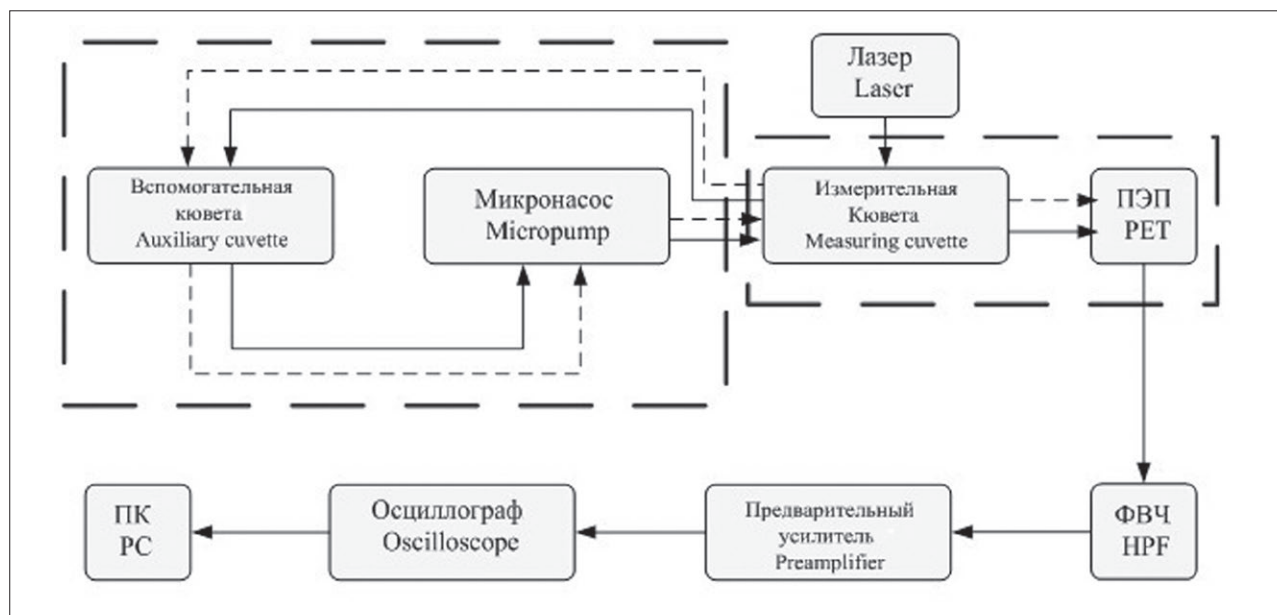


Рис. 1. Структурная схема экспериментальной установки для исследования формирования акустического сигнала в суспензиях при оптоакустическом преобразовании

Fig. 1. Block diagram of the experimental setup for the study of the formation of an acoustic signal in suspensions during optoacoustic conversion

дующее: токсичность УНТ не до конца изучена, однако имеются сведения, что функционализированные (связанные с каким-либо материалом) нанотрубки проявляют слабую токсичность. Также токсичность зависит от их параметров, таких как длина и количество стенок. При этом все авторы отмечают перспективность применения УНТ, поскольку они являются эффективным инструментом в терапии и диагностике.

Представленная экспериментальная работа базируется на исследованиях, проведенных ранее как авторами статьи, так и другими авторами [9–14]. Целью работы является экспериментальная проверка теоретической модели оптоакустического эффекта в движущейся среде в присутствии наноразмерных частиц [15]. В сравнении с исследованиями других авторов [16, 17] в эксперименте регистрируется акустический сигнал от нанобъектов, находящихся в движущейся жидкости, которая помещена в трубку и соединена с помповым насосом.

Материалы и методы

Структурная схема измерения временной реализации амплитуды и спектра акустических волн, возникающих в результате оптоакустического преобразования в модельной жидкости показана на рис. 1. В модельной жидкости присутствуют модели эритроцитов и наноразмерные объекты (углеродные нанотрубки), скорость движения жидкости постоянна, температура $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Насос позволяет формировать объемную скорость жидкости, идентичную объемной скорости

кровотока в организме человека (4 л/мин) [18–23]. При пересчете в линейную скорость для трубки диаметром 7 мм получаем значение 2,89 см/с, что соответствует размеру артериолы в организме человека и скорости кровотока в ней.

Луч лазера направлялся на поверхность движущейся модельной жидкости, находящейся в измерительной термостатируемой кювете [15]. В результате оптоакустического преобразования в модельной жидкости формируются акустические волны, которые взаимодействуют с моделями эритроцитов и конгломератом наноразмерных частиц, потоком жидкости, при этом изменяется амплитуда и профиль акустического сигнала. Акустический сигнал детектируется пьезокерамическим преобразователем, поступает на фильтр верхних частот для выделения полезного сигнала и подавления низкочастотных шумов лазерной установки.

Цифровой осциллограф на базе платформы LabView (National Instruments, США) записывает значения экспериментальных данных. Осциллограф подключен к персональному компьютеру (ПК), где программное обеспечение, разработанное в среде Matlab (MathWorks, США), обрабатывает полученные данные и позволяет сопоставить теоретические расчеты и экспериментальные данные.

Импульсы длительностью 84 нс и периодом следования 10 кГц формировались в установке LIMO 100–532/1064-U [12, 24] одномодовым твердотельным Nd:YAG лазером с изменяемым уровнем мощности 0,1–100 Вт, параметры установки приведены в табл. 1.

Частоту следования импульсов лазера, определяющая частоту основной гармоники формируемого оптоакустического сигнала, задавали программно в среде Labview, она составляла 10 кГц [12–14].

При воздействии лазерным лучом (с параметрами лазера, приведенными в табл. 1) на модельную жидкость, которой была заполнена кювета, в результате оптоакустического преобразования формировались акустические волны. Эксперименты проводили для разных типов модельных растворов с моделями эритроцитов и углеродных нанотрубок.

В эксперименте для моделирования крови и эритроцитов в ней использовали ряд модельных жидкостей с наполнителями.

Далее рассмотрены типы жидкостей и их характеристики.

В качестве однородной поглощающей среды для проведения эксперимента был подготовлен натрий-фосфатный раствор (раствор хлорида натрия, гидрофосфата натрия Na_2HPO_4 , хлорида калия KCl и дигидрофосфата калия KH_2PO_4). Осмотическая концентрация и pH (7.32) раствора были идентичны плазме крови.

Эритроциты в эксперименте смоделированы сферическими полистирольными сферами для проверки теоретической модели, где в первом приближении рассеивающие объекты моделировались сферами. Для моделирования эритроцитов крови были выбраны полистирольные микросферы с диаметром 5, 8, 15 и 20 мкм (рис. 2), произведенные в ООО «Диафарм» (Россия). Размер полистирольных сфер выбирался так, чтобы соответствовать размерам красных кровяных телец, которые в норме представляют собой двояковыпуклые диски диаметром около 5–6 мкм и средней толщиной 2,0 мкм. Коэффициент оптического поглощения сфер хорошо согласуется с данными для эритроцитов в эквивалентных концентрациях.

Для подсчета числа микросфер, использовали методику подсчета эритроцитов в камере Горяева: для этого проводили подсчет в пяти больших квадратах, расположенных в различных местах пробы раствора, например, по диагонали. Таким образом, зная, сумму микросфер в пяти больших квадратах (что составляет 80 маленьких), находили среднее арифметическое число микросфер в одном маленьком квадрате. Умножив найденное число на 4000 (объем пространства камеры над одним маленьким квадратом равен $1/4000$) получали число микросфер в 1 мм^3 разведённой крови. В итоге получали число в пересчёте на 1 л крови, т.е. число миллионов микросфер.

Суспензию дополнительно разбавляли деионизированной водой для получения более низких концентраций ($100\% = 5 \cdot 10^6$ частиц/мкл).

Известно, что наночастицы применяют в медицине в качестве усилителей контрастности в различных методах оптической визуализации, таких

Таблица 1
 Параметры измерительной установки
 LIMO 100–532/1064–4
Table 1
 LIMO 100–532/1064–4 measurement system parameters

Длительность импульса, нс Pulse duration, ns	84
Однородность пучка лазерного излучения, % Laser beam homogeneity, %	98,5
Энергия в импульсе (E), мДж Pulse energy (E), mJ	11
Диаметр лазерного луча (d), мм Laser beam diameter (d), mm	3,5

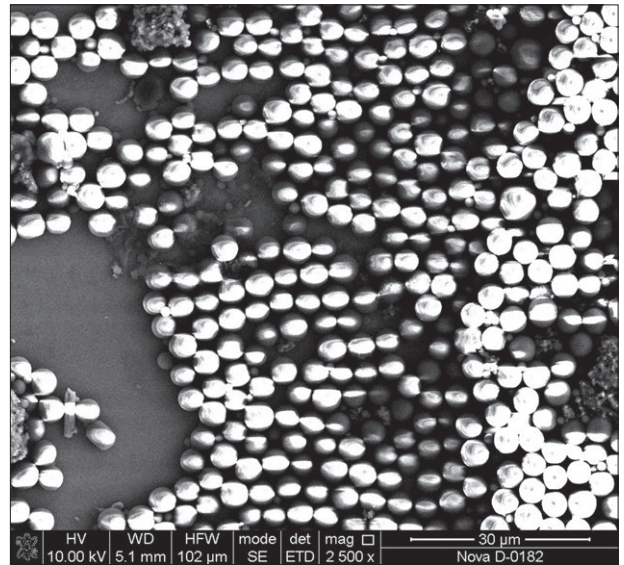


Рис. 2. Полистирольные микросферы в модельном растворе (70% микросфер) (Nova Nanolab 600)
Fig. 2. Polystyrene microspheres in a model solution (70% microspheres) (Nova Nanolab 600)

как оптическая когерентная томография, флуоресцентная визуализация и микроскопия оптического отражения. УНТ представляют собой цилиндрические молекулы, которые состоят из свернутых листов однослойных атомов углерода (графена). Для проведения исследований использовались УНТ со средней длиной 5 мкм и диаметром 20 нм, которые были изготовлены в НОЦ «Нанотехнологии» ЮФУ. Нанотрубки – это структурированные частицы, которые не растворяются в воде или органических жидкостях. Для их суспендирования применяли ультразвуковое перемешивание в ультразвуковой ванне. Результат на выходе более близок к углеродным нановолокнам (УНВ) со средней длиной 70–100 мкм и диаметром 30–50 нм.

Результаты и обсуждение

Во время проведения экспериментов по исследованию генерации акустического сигнала в модельных

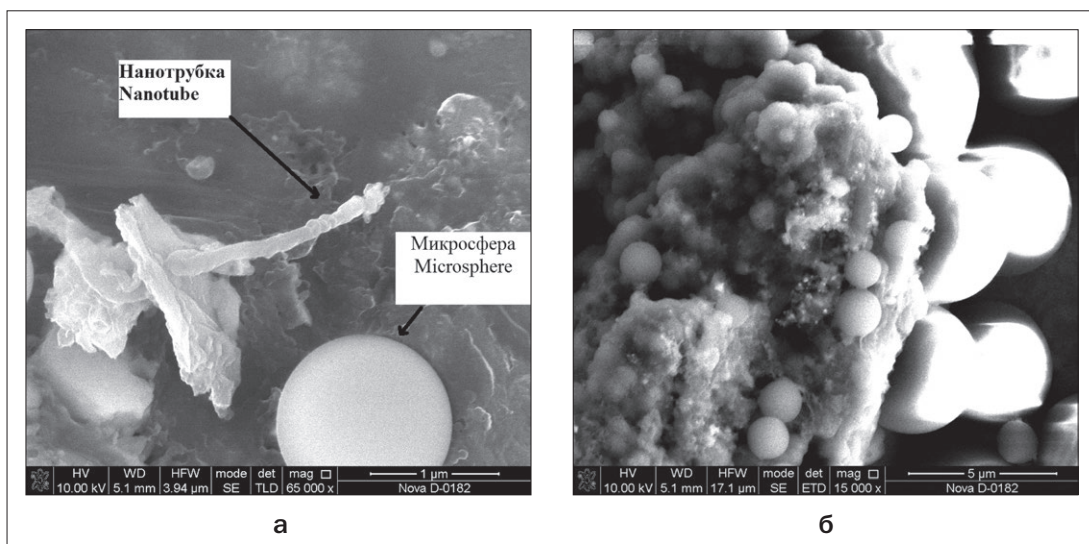


Рис. 3. Раствор полистирольных микросфер:
 а – полистирольная микросфера с нанотрубкой;
 б – конгломерат наночастиц с микросферами в модельном растворе (Nova Nanolab 600)

Fig. 3. Polystyrene microspheres solution:
 а – polystyrene microsphere with nanotube;
 б – conglomerate of nanoparticles with microspheres in a model solution (Nova Nanolab 600)

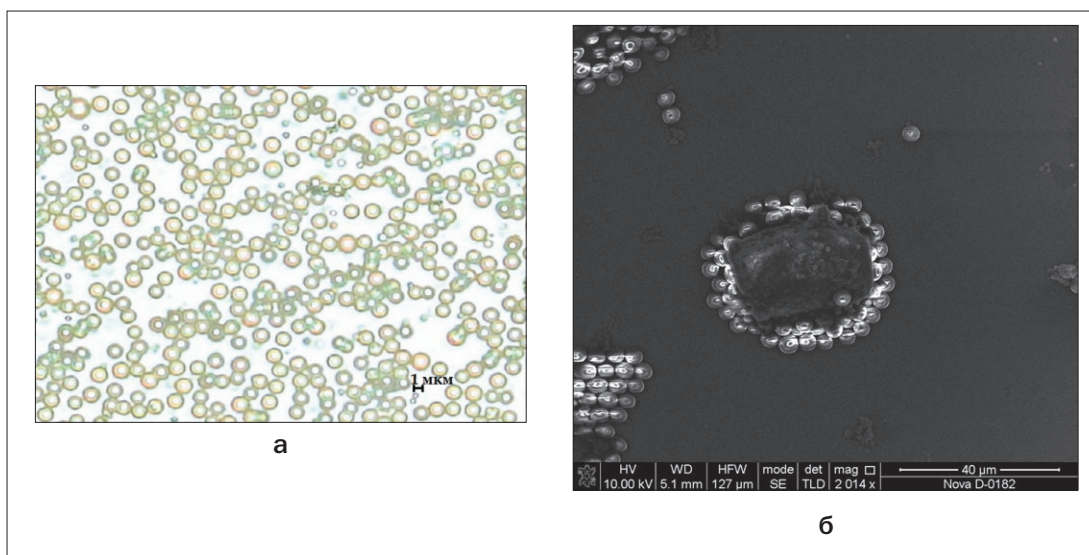


Рис. 4. Натрий-фосфатный раствор с микросферами и углеродными наночастицами:
 а – изображение, полученное на оптическом микроскопе Olympus X-71
 б – изображение, полученное на растровом микроскопе Nova Nanolab 600

Fig. 4. Sodium phosphate solution with microspheres and carbon nanoparticles:
 а – image from Olympus X-71 optical microscope;
 б – image from scanning electron microscope Nova Nanolab 600

суспензиях, были сделаны контрольные снимки используемых растворов (рис. 2) с помощью растрового электронного микроскопа Nova Nanolab 600 (FEI Company, Нидерланды) и микроскопа Olympus X-71 (NTEGRA Vita, Россия).

Как видно из рис. 2, углеродные нанотрубки собираются в конгломераты, при этом «захватывая» микросферы. Этот процесс можно рассмотреть с по-

мощью изображений, полученных на растровом микроскопе Nova Nanolab 600 (рис. 3).

Способность наночастиц и их конгломератов инкапсулировать вещества продемонстрирована на рис. 4.

Время воздействия лазерного излучения составляло порядка 80 нс (время роста пика сигнала). Амплитуда сигнала с ростом мощности лазерного излучения на 15% увеличивалась на 28%. При этом от-

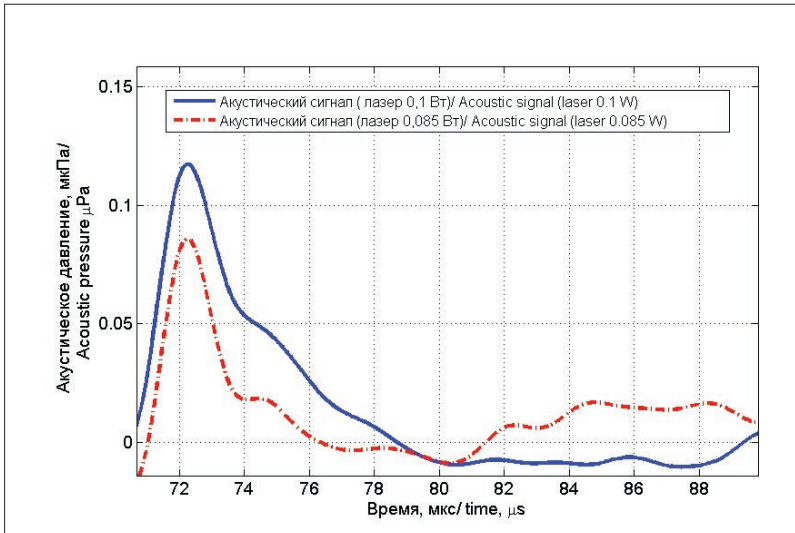


Рис. 5. Акустический сигнал, зарегистрированный в водном растворе при различных используемых мощностях
Fig. 5. Acoustic signal registered in aqueous solution at various used laser power

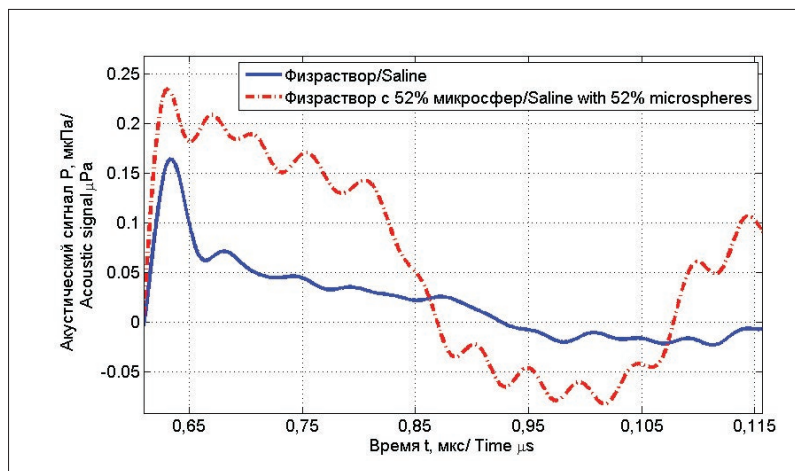


Рис. 6. Регистрируемые опытные значения оптоакустического сигнала в чистом физрастворе и физрастворе, содержащем микросферы
Fig. 6. Recorded experimental optoacoustic signal in pure saline and saline containing microspheres

метим, что время релаксации после пика разогрева изменялось, так при мощности 0,085 Вт время релаксации составило 9,2 мкс, а при 0,1 Вт – 18,5 мкс. Это проиллюстрировано на рис. 5.

На рис. 6 приведены профили акустического сигнала, генерируемого в натрий-фосфатном растворе и натрий-фосфатном растворе с 52% микросфер, что соответствует показателям гематокрита [8–10].

Из рис. 6 видно, что в растворе без микросфер время релаксации составляет 0,52 мкс. В присутствии микросфер время релаксации акустического сигнала уменьшается (до 0,45 мкс) за счет поглощения и рассеяния сферами оптического сигнала, при этом наблюдается увеличение амплитуды сигнала и смещение спектра сигнала в сторону уменьшения частоты (рис. 7), что также говорит о большей поглощающей способности раствора. Также в профиле акустического сигнала с микросферами наблюдаются флуктуации релаксационной части сигнала вследствие многократных отражений от микросфер.

Заключение

Авторами данной работы впервые теоретически [13, 14, 24] и экспериментально [12, 15] был исследован оптоакустический сигнал в движущейся жидкости в присутствии нанообъектов. Поскольку в дальнейшем предполагается использование углеродных нанотрубок для диагностики эритроцитов по току крови, в исследовании была спроектирована и опробована экспериментальная установка, позволяющая смоделировать движение крови в сосуде. Показано, что при небольших скоростях (в средних сосудах) влиянием потока можно пренебречь.

Проведенные экспериментальные исследования влияния контрастных веществ на основе наночастиц на формирование оптоакустического сигнала показали рост амплитуды оптоакустического сигнала вследствие увеличения поглощения наночастицами. Форма оптоакустического сигнала при большой концентрации наночастиц, подтверждает

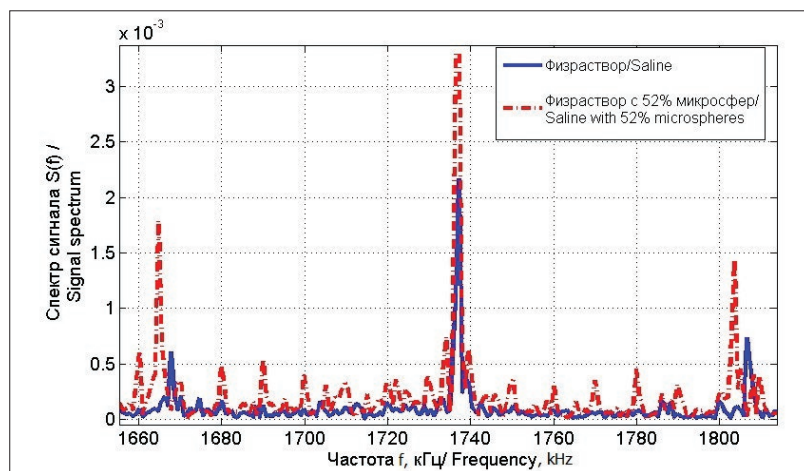


Рис. 7. Спектр оптоакустического сигнала в чистом физрастворе и физрастворе, содержащем микросферы
Fig. 7. Optoacoustic signal spectrum in pure saline and saline containing microspheres

теоретические расчеты форм оптоакустического сигнала полученные в ранее опубликованных работах [13, 14, 24].

Данные результаты могут использоваться при проектировании систем экспресс-диагностики крови

на наличие бактериальных, раковых клеток, степени агрегации эритроцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Южного федерального университета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yuan Z., Zhang Q., Jiang H. 3D diffuse optical tomography imaging of osteoarthritis: Initial results in finger joints // *J Biomed Opt.* – 2007. – Vol. 12. – 034001.
2. Duck F.A. *Physical properties of tissue: a comprehensive reference book.* – Academic Press, London, UK, 1990.
3. Xu M., Wang L.V. Photoacoustic imaging in biomedicine // *Rev Sci Instrum.* – 2006. – vol. 77. – P. 041101–041122.
4. Brecht H., Su R., Fronheiser M., et al. Wholebody three-dimensional optoacoustic tomography system for small animals // *J Biomed Opt.* – 2009. – Vol. 14(6). – 064007.
5. Sun Y., Sobe E.S., Jiang H. First assessment of three-dimensional quantitative photoacoustic tomography for in vivo detection of osteoarthritis in the finger joints // *Med Phys.* – 2011. – Vol. 38(7). – P. 4009.
6. Wang X., Pang Y., Ku G., et al. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain // *Nat Biotechnol.* – 2003. – Vol. 21. – P. 803–806.
7. Laufer J., Zhang E., Raivich G., Beard P. Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner // *Appl Opt.* – 2009. – Vol. 48. – P. 299–306.
8. Lu N., Sui Y., Ding Y., et al. Fibrinogen binding-dependent cytotoxicity and degradation of single-walled carbon nanotubes // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* – 2018. – Vol. 29(8). – P. 1–8.
9. Johnston H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M., et al. A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics // *Nanotoxicology.* – 2010. – Vol. 4(2). – P. 207–46. doi: 10.3109/17435390903569639
10. Ahmadi H., Ramezani M., Yazdian-Robati R., et al. Acute toxicity of functionalized single wall carbon nanotubes: A biochemical, histopathologic and proteomics approach // *Chemico-Biological Interactions.* – 2017. – Vol. 275. – P. 196–209.
11. Carvalho L.E., Piqueira J., Maria D. Advances in Carbon Nanotubes for Malignant Melanoma: A Chance for Treatment // *Molecular Diagnosis & Therapy.* – 2018. – Vol. 22(6). – P. 703–715.

REFERENCES

1. Yuan Z., Zhang Q., Jiang H. 3D diffuse optical tomography imaging of osteoarthritis: Initial results in finger joints. *J. Biomed Opt.*, 2007, vol. 12, 034001.
2. Duck F.A. *Physical properties of tissue: a comprehensive reference book.* Academic Press, London, UK, 1990.
3. Xu M., Wang L.V. Photoacoustic imaging in biomedicine, *Rev Sci Instrum*, 2006, vol. 77, pp. 041101–041122.
4. Brecht H., Su R., Fronheiser M., Ermilov S.A., Conjusteau A., Oraevsky A.A. Wholebody three-dimensional optoacoustic tomography system for small animals, *J. Biomed Opt.*, 2009, vol. 14(6), 064007.
5. Sun Y., Sobe E.S., Jiang H. First assessment of three-dimensional quantitative photoacoustic tomography for in vivo detection of osteoarthritis in the finger joints, *Med Phys*, 2011, vol. 38(7), p. 4009.
6. Wang X., Pang Y., Ku G., Xie X., Stoica G., Wang L.V. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain, *Nat Biotechnol*, 2003, vol. 21, pp. 803–806.
7. Laufer J., Zhang E., Raivich G., Beard P. Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner, *Appl Opt*, 2009, vol. 48, pp. 299–306.
8. Lu N., Sui Y., Ding Y., Tian R., Peng, Y. Fibrinogen binding-dependent cytotoxicity and degradation of single-walled carbon nanotubes, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2018, vol. 29(8), pp. 1–8.
9. Johnston H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M., Peters S., Hankin S., Aschberger K., Stone V. A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics, *Nanotoxicology*, 2010, vol. 4(2), pp. 207–46. doi: 10.3109/17435390903569639
10. Ahmadi H., Ramezani M., Yazdian-Robati R., Behnam B., Azarkhiavi R.K, Nia H.A., Mokhtarzadeh A., Riahi M.M., Razavi B., Abnous, K. Acute toxicity of functionalized single wall carbon nanotubes: A

12. Starchenko I.B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An optoacoustic laser cytometer prototype // *Biomedical Engineering*. – 2018. – Vol. 51, No. 5. – P. 308–312.
13. Кравчук Д.А. Математическая модель обнаружения внутриэритроцитарных инфекций с помощью оптоакустического метода // *Biomedical Photonics*. – 2018. – Т. 7. – № 3. – С. 36–42.
14. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Теоретическая модель для диагностики эффекта кислородонасыщения эритроцитов с помощью оптоакустических сигналов // *Прикладная физика*. – 2018. – № 4. – С. 89–94.
15. Орда-Жигулина Д.В., Орда-Жигулина М.В., Старченко И.Б., Кравчук Д.А. Экспериментальная установка для исследования оптоакустической проточной цитометрии // *Моделирование, оптимизация и информационные технологии*. – 2018. – Т. 6, № 3. – С. 19–29.
16. Menyayev Y.A., Carey K.A., Nedosekin D.A., et al. Preclinical photoacoustic models: application for ultrasensitive single cell malaria diagnosis in large vein and artery // *Biomedical optics express*. – 2016. – Vol. 7, No. 9, pp. 3643–3658.
17. Menyayev Y.A., Nedosekin D.A., Sarimollaoglu M., et al. Optical clearing in photoacoustic flow cytometry // *Biomedical optics express*. – 2013. – Vol. 4, No. 12. – p. 3040. DOI:10.1364/BOE.4.003030
18. Белова Т.В., Завалишина С.Ю., Медведев И.Н. Физиология крови и кровообращения. Учебное пособие. – Москва: Лань, 2015. – 176 с.
19. Абакумова Т.В., Генинг Т.П., Михайлова Н.Л. и др. Физиология крови. Учебное пособие. – Ульяновск: Ульяновский государственный университет, 2017. – 60 с.
20. Алипов Н.Н. Основы медицинской физиологии. – М.: Практика, 2008. – 496 с.
21. Липунова Е.А., Скоркина М.Ю. Физиология крови. – Белгород: БелГУ, 2007. – 324 с.
22. Камкин А.Г., Каменский А.А. Фундаментальная и клиническая физиология. – М.: Академия, 2004. – 405 с.
23. Атьков О.Ю., Балахонова Т.В., Горохова С.Г. и др. Ультразвуковое исследование сердца и сосудов / под ред. Атькова О.Ю. – Москва: Эксмо, 2015. – 456 с.
24. Старченко И.Б., Малюков С.П., Орда-Жигулина Д.В., Саенко А.В. Измерительный комплекс для лазерной диагностики биообъектов с использованием наночастиц на базе LIMO 100 // *Прикаспийский журнал управление и высокие технологии*. – 2013. – Т. 22, № 2. – С. 166–173.
- biochemical, histopathologic and proteomics approach, *Chemico-Biological Interactions*, 2017, vol. 275, pp. 196–209.
11. Carvalho L.E., Piqueira J., Maria D. Advances in Carbon Nanotubes for Malignant Melanoma: A Chance for Treatment, *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2018, vol. 22(6), pp. 703–715.
12. Starchenko, I.B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An optoacoustic laser cytometer prototype, *Biomedical Engineering*, 2018, vol. 51, no. 5, pp. 308–312.
13. Kravchuk D.A. Mathematical model of detection of intra-erythrocyte pathologies using optoacoustic method, *Biomedical Photonics*, 2018, vol. 7, no. 3, pp. 36–42. (in Russian)
14. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. A theoretical model for diagnosing the effect of oxygenation of erythrocytes using optoacoustic signals, *Prikladnaya fizika*, 2018, no. 4, pp. 89–94. (in Russian)
15. Orda-Zhigulina D.V., Orda-Zhigulina M.V., Starchenko I.B., Kravchuk D.A. Experimental setup for the study of optoacoustic flow cytometry, *Modelirovanie, optimizatsiya i informatsionnye tekhnologii*, 2018, vol. 6, no. 3, pp. 19–29. (In Russian)
16. Menyayev Y.A., Carey K.A., Nedosekin D.A., Sarimollaoglu M., Galanzha E.I., Stumhofer J.S., Zharov V.P. Preclinical photoacoustic models: application for ultrasensitive single cell malaria diagnosis in large vein and artery, *Biomedical optics express*, 2016, vol. 7, no. 9, pp. 3643–3658.
17. Menyayev Y.A., Nedosekin D.A., Sarimollaoglu M., Juratli M.A., Galanzha E.I., Tuchin V.V., Zharov V.P. Optical clearing in photoacoustic flow cytometry, *Biomedical optics express*, 2013, vol. 4, no. 12, p. 3040. DOI:10.1364/BOE.4.003030
18. Belova T.V., Zavalishina S.Yu., Medvedev I.N. *Fiziologiya krovi i krovoobrashcheniya. Uchebnoe posobie* [Physiology of blood and blood circulation. Study guide]. Moscow, Lan Publ., 2015. 176 p.
19. Abakumova T.V., Gening T.P., Mikhailov N.L., Dolgova D.R., Poludnyakova L.V. *Fiziologiya krovi. Uchebnoe posobie* [Blood physiology. Study guide]. Ulyanovsk: Ulyanovsk State University Publ., 2017. 60 p.
20. Alipov N.N. *Osnovy medicinskoj fiziologii* [Fundamentals of medical physiology]. Moscow, Praktika Publ., 2008. 496 p.
21. Lipunova E.A., Skorkina M.Yu. *Fiziologiya krovi* [Blood physiology]. Belgorod, BelGU, 2007. 324 p.
22. Kamkin A.G., Kamensky A.A. *Fundamental'naya i klinicheskaya fiziologiya* [Fundamental and clinical physiology]. Moscow, Academy Publ., 2004. 405 p.
23. Atkov O.Yu., Balakhonova T.V., Gorokhova S.G., Saidova M.A., Smolyaninova N.G., Aleksandrova-Tebenkova E.G., Arakelyants A.A., Popova E.Yu. *Ul'trazvukovoe issledovanie serdca i sosudov* [Ultrasound examination of the heart and blood vessels], ed. Atkova O. Yu. Moscow, Eksmo, 2015. 456 p.
24. Starchenko I.B., Malyukov S.P., Orda-Zhigulina D.V., Saenko A.V. Measuring complex for laser diagnostics of bioobjects using nanoparticles based on LIMO 100, *Prikaspiiskii zhurnal upravlenie i vysokie tekhnologii*, 2013, vol. 22, no. 2, pp. 166–173. (In Russian)