

УДК 535.36+57.083.3+57.088.55

МОДИФИКАЦИЯ ЛАЗЕРНОГО КОРРЕЛЯЦИОННОГО СПЕКТРОМЕТРА ДЛЯ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Е.Н. Величко, Э.К. Непомнящая, Е.Т. Аksenov

*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
г. Санкт-Петербург, 195251, Россия*

Аннотация

В работе обсуждены модификации схемы лазерного корреляционного спектрометра, разрабатываемого для анализа биологических жидкостей. Приведены параметры предлагаемого спектрометра, позволяющего определять размеры наночастиц в биологических жидкостях, представляющих собой сильно полидисперсные растворы, с точностью до 0.5 нм. Обосновано введение в схему спектрометра оптоволокна в качестве системы сбора рассеянного излучения. Рассчитаны параметры дискретизации регистрируемых сигналов, необходимые для правильного подбора АЦП-преобразователя. Представлены результаты эксперимента, демонстрирующие существенные различия в размерном составе белков сыворотки крови доноров. Таким образом доказана возможность анализа состава сыворотки крови различных доноров и получения диагностических данных на основе проведенных исследований.

Ключевые слова: лазерная корреляционная спектроскопия, иммунная система, молекулярный состав, сыворотка крови

Введение

Нарушения, связанные с иммунитетом, по некоторым статистическим данным затрагивают от 8% до 13% населения Российской Федерации [1]. Таким образом, только в нашей стране около 14 млн жителей нуждаются в терапии иммунных заболеваний. С нарушениями иммунитета связывают такие заболевания, как склеродермия, системная красная волчанка, сахарный диабет I типа, ангионевротический отек, агаммаглобулинемия, общий переменный иммунодефицит, аллергии и др. Кроме того, нарушения иммунного ответа существенно осложняют течение других заболеваний, таких как вирусные инфекции (СПИД, корь, краснуха, грипп, эпидемический паротит, инфекционный мононуклеоз, ветряная оспа, герпес, вирусные гепатиты), бактериальные инфекции (стафилококковая, пневмококковая, менингококковая, туберкулез), инфаркт миокарда и др.

Для диагностики и контроля за течением патологических аутоиммунных процессов и анализа состояния организма в целом используют анализ молекулярного состава и физико-химических свойств внутриклеточной и внеклеточной (интерстициальной и сосудистой) биологических жидкостей [2]. В настоящее время с этой целью применяются биохимические, иммуноферментные, флюоресцентные, радиоиммунные, оптические, масс-спектрометрические, магнитно-резонансные, электрофизические, хроматографические и другие методы [3]. При этом необходимо использование специфических антигенов и зондов.

Большая часть перечисленных методов имеет высокую себестоимость, требует использования дефицитных и дорогостоящих реагентов, привлечения высококвалифицированного медицинского персонала. Кроме того, зачастую обычное определение концентраций иммунных агентов часто оказывается недостаточным для установления общей картины течения болезни. Перспективным представляется применение оптических методов для исследования молекулярного состава и динамики молекулярных процессов. Они отличаются простотой применения, неинвазивностью, отсутствием необходимости в специфической подготовке проб и использовании дополнительных биохимических реактивов [4].

В качестве физического метода, используемого в настоящей работе, был выбран метод лазерной корреляционной спектроскопии, позволяющий оценивать размеры наночастиц в жидкостях. Этот метод широко применяется в исследованиях молекулярных растворов и позволяет измерять размеры молекул, их формы, коэффициенты диффузии и степень межмолекулярных взаимодействий непосредственно в жидкости, например, в сыворотке крови, без необходимости дополнительной подготовки проб [5, 6]. При помощи оценки размеров молекул в изучаемой жидкости можно измерить ряд важных параметров: молекулярный состав жидкости, конформацию молекул, динамику и последовательность их связывания в процессе иммунных реакций [7].

Преимущества данного метода заключаются в его неконтактности, что позволяет исследовать молекулы растворов непосредственно в среде. Кроме того, для исследования динамических характеристик, то есть для исследования того, как молекулы связываются друг с другом, запуская каскад иммунных реакций, нет необходимости брать несколько образцов у пациента, все исследования проводятся на одном образце во времени. Теоретическая разрешающая способность корреляционной спектроскопии чрезвычайно высока и позволяет измерять размеры частиц от 0.5 нм до нескольких микрон. Отсутствие необходимости в использовании специфических реактивов значительно упрощает и удешевляет проводимые исследования. Таким образом, предлагаемый метод и созданное на его основе устройство позволят проводить массовые исследования иммунного состояния населения Российской Федерации в процессе диспансеризации и выявлять патологии на ранних стадиях.

Подробное описание метода лазерной корреляционной спектроскопии представлено в наших предыдущих работах [8–10].

1. Специфика исследования биологических жидкостей

В медицинской диагностике для установления заболевания и контроля за его течением исследуют различные жидкости организма: кровь, слюну, ликвор. Все эти жидкости имеют сложный белковый состав, индивидуальный для каждого человека [2]. Наиболее важно установление белкового состава при диагностике именно иммунных заболеваний. Для оценки белкового (и молекулярного) состава необходимо использование специфических методов, таких как электрофорез, или маркеров, реагирующих на конкретный белок. В основе иммунологических методов лежат серологические реакции, для осуществления которых используют сыворотку крови, содержащую антитела (основаны на взаимодействии антигенов и антител), и клеточные реакции, базирующиеся на взаимодействии антигенов (аллергенов) с Т-клетками [11].

Однако в настоящей работе предлагается использование метода лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС). Ранее этот метод использовался для анализа отдельных белков в растворах. Для анализа сложных многокомпонентных белковых растворов необходимо внести некоторые модификации в стандартную схему

ЛКС. Рассмотрим основные особенности биологических жидкостей, влияющие на построение экспериментальной схемы.

Кровь человека состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов – клеток крови. Клеточный состав удобнее и проще изучать методами оптической микроскопии, поэтому при применении ЛКС клетки фильтруются при помощи центрифугирования.

Плазма крови в норме содержит более 100 видов белков. Примерно 90% всех белков составляют альбумины, иммуноглобулины, липопротеины, фибриноген, трансферрин; другие белки присутствуют в плазме в небольших количествах. Фибриноген – самый крупный белок крови, как правило, не представляет большего интереса, более того, его размер часто мешает получить четкие результаты о более мелких молекулах. В связи с этим рекомендуется использование сыворотки крови, избавленной от фибриногена [3].

Наибольший интерес представляют альбуминовые и иммуноглобулиновые белковые фракции. Их относительные концентрации, а также конформационная структура являются важными диагностическими параметрами при первичном определении заболевания.

Белковый состав слюны во многом схож с составом крови, в ней присутствуют все те же иммуноглобулиновые и альбуминовые фракции, кроме того, есть ещё ряд белков, участвующих в пищеварительных реакциях (амилаза, может составлять до 10%). Присутствие в слюне особого белка – муцина – превращает её в неньютоновскую жидкость, не имеющую постоянного коэффициента вязкости, что осложняет определение размеров белков в слюне и требует применения дополнительной математической обработки.

Таким образом, при использовании ЛКС требуется измерять размеры и относительные концентрации альбуминов и иммуноглобулинов, отделив их от остальных белков и других элементов сыворотки крови. Учитывая, что все белки имеют близкие размеры от 1 до 50 нм (до 100 нм с учетом возможного агрегирования или изменения конформации, денатурации) в методе ЛКС требуется применение специфической математической обработки экспериментальных данных, направленной на разделение множества близких по размеру нанообъектов. Помимо обработки, высокие требования предъявляются к выбору частоты дискретизации аналогового сигнала, получаемого на фотоприемнике, и его длительности, повышению отношения сигнал/шум, соблюдению условия однократного рассеяния и параметров фокусировки излучения.

2. Разработка экспериментальной установки и методики обработки экспериментальных данных

Для осуществления возможности измерения размеров наночастиц в полидисперсных растворах при помощи метода ЛКС необходимо было внести ряд модификаций в разработанный и собранный ранее лазерный корреляционный спектрометр с учетом вышеперечисленных особенностей биологических жидкостей. Схема лазерного корреляционного спектрометра представлена на рис. 1. В схеме использовался одномодовый полупроводниковый лазер с мощностью непрерывного излучения до 2.5 мВт и длиной волны излучения 650 нм. Малая мощность используемого лазерного излучения и выбранный спектр излучения позволили уменьшить фототоксичное влияние лазерного излучения на биообъекты. Излучение фокусировалось в объеме исследуемого раствора в пятно с радиусом 50 мкм, что позволяло получить интенсивный сигнал рассеяния даже при выбранной низкой мощности излучения. Интенсивность рассеянного излучения регистрировалось под углом 90°

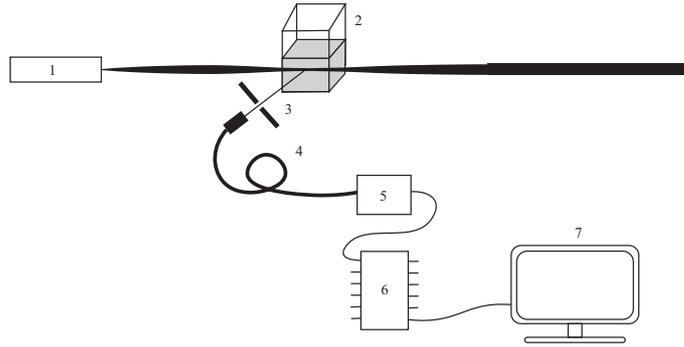


Рис. 1. Схема разработанного лазерного корреляционного спектрометра: 1 – лазер; 2 – фокусирующая линза; 3 – кювета с исследуемым объектом; 4 – оптоволокно; 5 – ФЭУ; 6 – АЦП; 7 – компьютер

при помощи фотоэлектронного умножителя в течение 100 мкс. Построенная схема регистрации рассеянного излучения позволяла выбрать область рассеяния таким образом, чтобы получить максимальное отношение сигнал/шум на фотоэлектронном умножителе [12].

В классическом варианте реализации лазерного корреляционного спектрометра схема регистрации излучения строится на основе системы диафрагм. В настоящей работе для уменьшения габаритов в разработанном устройстве вместо сложной системы диафрагм область регистрации рассеяния задавалась диафрагмой и апертурой одномодового оптоволокна. Кроме того, используемый в большинстве аналоговых приборов цифровой автокоррелятор был заменен на АЦП-плату с частотой дискретизации до 100 МГц и длительностью записи сигналов 100 мкс, подключенную к компьютеру по USB. Частота дискретизации для каждого конкретного эксперимента выбиралась на основании следующих расчетов. Для вычисления размеров наночастиц в методе ЛКС строят временную автокорреляционную функцию интенсивности рассеянного под определенным углом излучения. Для частиц, совершающих броуновское движение в растворе, автокорреляционная функция может быть описана с помощью следующего уравнения:

$$|g(\tau)| = \int_0^{\infty} F(\Gamma) e^{-\Gamma\tau} d\Gamma,$$

где Γ – диффузное уширение спектра рассеяния, а $F(\Gamma)$ определяет вклад в рассеяния частиц одного размера. Для монодисперсных растворов можно выразить параметр Γ через полуширину автокорреляционной функции t_c по формуле

$$\Gamma = 2/t_c. \quad (1)$$

Зная параметр Γ , можно рассчитать коэффициент диффузии наночастиц в растворе при помощи связи диффузного уширения и коэффициента диффузии по формуле

$$\Gamma = Dq^2,$$

где $q = (4\pi n/\lambda) \sin(\theta/2)$ – вектор рассеяния, n – коэффициент преломления раствора, λ – длина волны падающего излучения, θ – угол регистрации рассеянного излучения. Уравнение Стокса–Эйнштейна позволяет рассчитать радиусы исследуемых наночастиц:

$$D = k_b T / 4\pi\eta R,$$

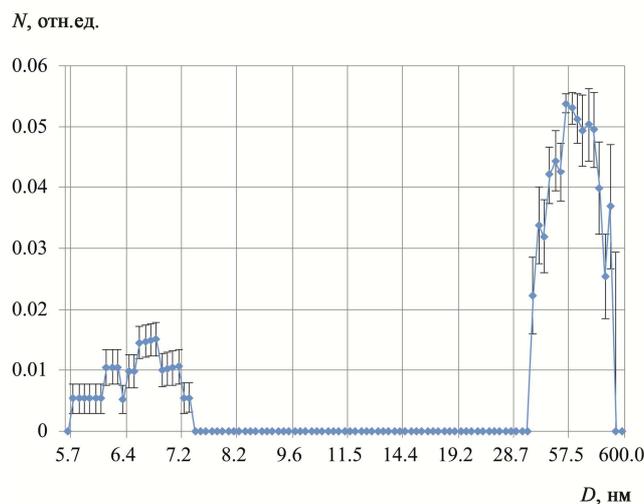


Рис. 2. Результаты измерения распределения частиц по размерам в растворе сыворотки крови донора мужчины

Здесь η – вязкость раствора, k_b – постоянная Больцмана, T – температура среды, R – искомый радиус частиц. При этом считается, что малая мощность излучения не приводит к локальному нагреву среды. Предполагая известной область размеров исследуемых частиц (для используемой в данном эксперименте сыворотки крови это 2–300 нм), можно примерно рассчитать минимальное время спада автокорреляционной функции, для данного образца оно составило 30 мкс. Таким образом, характерные частоты флуктуации интенсивности рассеяния, определяемые броуновским движением наночастиц, составят – 33 кГц. В данном случае оптимальным представляется выбор частоты дискретизации регистрируемого сигнала рассеяния, равной 50–100 кГц.

Поскольку исследуемые биологические жидкости являлись сильно полидисперсными, расчет радиусов по формуле (1) был невозможен. Необходимым было использовать методы решения обратных некорректных задач. Существующие программы обработки данных ЛКС при анализе полидисперсных растворов дали неудовлетворительные результаты. В связи с этим было необходимо разработать оригинальную программу обработки данных ЛКС, позволяющую получать распределения частиц по размерам в сильно полидисперсных растворах. В качестве метода решения обратных некорректных задач был выбран метод регуляризации Тихонова. На его основе разработан оригинальный алгоритм и в дальнейшем будет создана программа обработки данных корреляционной спектроскопии, позволяющая рассчитать размеры наночастиц с точностью до 0.5 нм [9].

3. Экспериментальная апробация разработанного устройства

Проверка точности прибора проводилась на модельных объектах: наносферах различных диаметров. Результаты анализа сравнивались с коммерческими аналогами со встроенной обработкой (спектрометры Zetasizer Nano ZS и Photocor) и представлены в работе [10]. Нами было проведено сравнение белкового состава сыворотки крови двух условно здоровых доноров: женщины и мужчины. На рис. 2 представлено распределение по размерам наночастиц (белков и белковых агрегатов) в сыворотке крови донора мужчины.

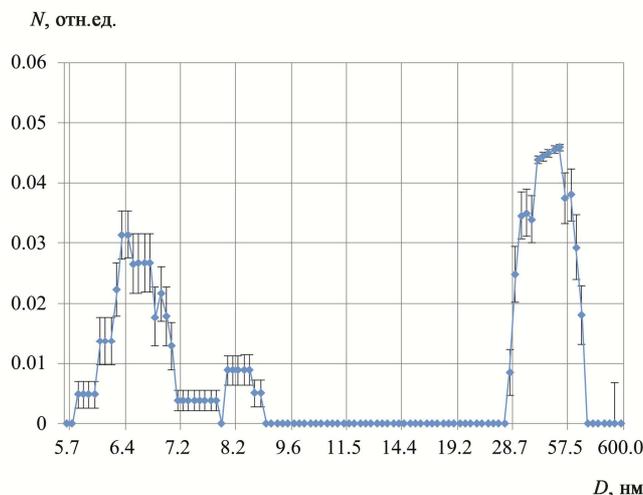


Рис. 3. Результаты измерения распределения частиц по размерам в растворе сыворотки крови донора женщины

На рис. 3 представлено распределение по размерам наночастиц в сыворотке крови донора женщины. Заметна существенная разница в распределении по размерам частиц в сыворотке исследуемых доноров. Это можно объяснить разницей в белковом составе крови, а также различным рН и ионным составом, что вызывает частичную агломерацию и изменения конформации некоторых белков. При этом было отмечено, что с течением времени белковый состав сыворотки отдельно взятого донора также изменяется, однако не так значительно, как белковые составы сыворотки различных доноров.

Сравнение распределения наночастиц по размерам в сыворотке крови разных доноров показало различную степень агломерации и различный белковый состав, что свидетельствует о возможности проведения индивидуальной диагностики человека. Полученные распределения белков в сыворотке крови по размерам позволяют сделать вывод о возможности регистрации отдельных белков при помощи разработанной модификации ЛКС.

Отметим, что требуется проведение дальнейших экспериментов по установлению взаимосвязи распределений белков сыворотки крови по размерам и диагностических параметров донора, в особенности с точки зрения иммунодиагностики. Исследования состава сыворотки крови позволят массово проводить быструю и точную медицинскую диагностику заболеваний и начать своевременное лечение.

Заключение

В представленной работе предлагается модификация схемы лазерного корреляционного спектрометра, разработанная для проведения анализа молекулярного состава биологических жидкостей. Отличительными особенностями разработанной схемы являются оригинальная система регистрации данных на основе диафрагмы, одномодового оптоволокна и фотоэлектронного умножителя, а также аналого-цифровой платы для оцифровки данных.

Обработка данных, а именно вычисление автокорреляционной функции и дальнейший её анализ, производится на компьютере без использования автокоррелятора, что позволяет сделать схему лазерного корреляционного спектрометра

мобильной и доступной. Разработанная программа обработки данных ЛКС, вместе с подобранными параметрами схемы регистрации сигналов рассеяния позволяет добиться точности определения размеров наночастиц в полидисперсных растворах до 0.5 нм.

Модельные эксперименты, проведенные на латексных наносферах, подтвердили точность разработанного прибора. Реальная апробация проводилась на растворах сыворотки крови. На основе полученных распределений наночастиц по размерам в сыворотках крови различных доноров можно сделать вывод об эффективности разработанного устройства при проведении анализа биомолекулярного состава биологических жидкостей.

Благодарности. Авторы выражают свою благодарность Татьяне Александровне Богомаз за всевозможную помощь в анализе экспериментальных данных и предоставление образцов.

Литература

1. *Борисов А.Г., Савченко А.А., Соколовская В.К.* Заболеваемость, связанная с нарушениями функции иммунной системы (на примере Красноярского края) // *Здравоохранение Российской Федерации.* – 2014. – Т. 58. № 6. – С. 38–41.
2. *Зуев А.Л., Мишланов В.Ю., Судакова А.И., Шакиров Н.В.* Изучение ионных, молекулярных и клеточных механизмов формирования электрического импеданса в биологических жидкостях и тканях // *Вестн. Перм. науч. центра УрО РАН.* – 2014. – № 2. – С. 69–78.
3. *Шерстнева Н.В., Закирова Л.Р., Шапошников А.А. Шенцева Е.А., Шевченко Т.С.* Исследование биохимического состава крови здорового населения и изменение показателей при заражении вирусом иммунодефицита // *Науч. ведомости Белгор. гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация.* – 2017. – № 5. – С. 59–62.
4. *Some D., Kenrick S.* Characterization of Protein-Protein Interactions via Static and Dynamic Light Scattering // *Protein Interactions / Ed. by J. Cai.* – 2012. – P. 401–426. – doi: 10.5772/37240.
5. *Xu R.* Light scattering: A review of particle characterization applications // *Particuology.* – 2014. – V. 18. – P. 11–21. – doi: 10.1016/j.partic.2014.05.002.
6. *Непомнящая Э.К., Величко Е.Н., Аксенов Е.Т., Богомаз Т.А.* Применение лазерной корреляционной спектроскопии для исследования биологических суспензий // *Опт. журн.* – 2015. – Т. 82. № 3. – С. 43–48.
7. *Stetefeld J., McKenna S.A., Patel T.R.* Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences // *Biophys. Rev.* – 2016. – V. 8, No 4. – P. 409–427. – doi: 0.1007/s12551-016-0218-6.
8. *Непомняшчайя Е.К., Савченко Е.А., Величко Е.Н., Аксенов Е.Т.* Investigation of albumin-fullerenol interaction by laser correlation spectroscopy: The algorithm // *J. Biomed. Photon. Eng.* – 2016. – V. 2, No 4. – Art. 040309, P. 1–6. – doi: 10.18287/JBPE16.02.040309.
9. *Непомняшчайя Е.К., Величко Е.Н., Аксенов Е.Т.* Solution of inverse problem of laser correlation spectroscopy by regularization method // *Университетский научный журнал.* – 2015. – № 13. – С. 13–21.
10. *Непомняшчайя Е.К., Величко Е.Н., Аксенов Е.Т.* Inverse problem of laser correlation spectroscopy for analysis of polydisperse solutions of nanoparticles // *J. Phys.: Conf. Ser.* – 2016. – V. 769, No 1. – Art. 012025, P. 1–5. – doi: 10.1088/1742-6596/769/1/012025.

11. Новиков П.Д., Коневалова Н.Ю., Титова Н.Д. Принципы оценки иммунного статуса и диагностики иммунодефицитных болезней // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2005. – № 2. – С. 8–22.
12. Nepomnyashchaya E., Zabalueva Z., Velichko E., Aksenov E. Modifications of laser correlation spectrometer for investigation of biological fluids // EPJ Web Conf. – 2017. – V. 161. – Art. 02017, P. 1–2. – doi: 10.1051/epjconf/201716102017.

Поступила в редакцию
24.11.17

Величко Елена Николаевна, кандидат технических наук, доцент, директор Высшей школы прикладной физики и космических технологий

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
ул. Политехническая, д. 29, г. Санкт-Петербург, 195251, Россия
E-mail: *velichko-spbstu@yandex.ru*

Непомнящая Элина Константиновна, инженер Высшей школы прикладной физики и космических технологий

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
ул. Политехническая, д. 29, г. Санкт-Петербург, 195251, Россия
E-mail: *elina.nep@gmail.com*

Аксенов Евгений Тимоофеевич, доктор физико-математических наук, профессор Высшей школы прикладной физики и космических технологий

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
ул. Политехническая, д. 29, г. Санкт-Петербург, 195251, Россия
E-mail: *et.aksenov@gmail.com*

ISSN 2541-7746 (Print)
ISSN 2500-2198 (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA.
SERIYA FIZIKO-MATEMATICHESKIE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Physics and Mathematics Series)

2018, vol. 160, no. 1, pp. 51–60

Modification of the Laser Correlation Spectrometer for Analysis of Biological Fluids

*E.N. Velichko**, *E.K. Nepomnyashchaya***, *E.T. Aksenov****

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 195251 Russia
E-mail: **velichko-spbstu@yandex.ru*, ***elina.nep@gmail.com*, ****et.aksenov@gmail.com*

Received November 24, 2017

Abstract

Modifications of the laser correlation spectrometer system developed for the analysis of biological fluids have been discussed. Parameters of the proposed laser correlation spectrometer allowing to determine the sizes of nanoparticles in biological fluids, which are highly polydisperse solutions, to within 0.5 nm have been presented. We have explained the use of optical fiber in the spectrometer circuit as a system for collecting scattered radiation. Furthermore,

we calculated the parameters of the discretization of the registered signals. It is for the correct selection of the ADC-converter. The results of the experiment showing significant differences in the size composition of donor blood serum proteins have been presented. Thus, the possibility for analyzing the composition of the blood serum of various donors and for obtaining diagnostic data has been proved.

Keywords: laser correlation spectroscopy, immune system, molecular analysis, blood serum

Acknowledgments. We are grateful to Tat'yana Aleksandrovna Bogomaz for her invaluable help during the experimental data analysis and for kindly providing us with the samples.

Figure Captions

Fig. 1. The layout of the laser correlation spectrometer: 1 – laser; 2 – focusing lens; 3 – container with the studied object; 4 – optical fiber; 5 – PMT; 6 – AD converter; 7 – computer.

Fig. 2. Data obtained as a result of the measurements of particle distribution by size in the blood serum solution of a male donor.

Fig. 3. Data obtained as a result of the measurements of particle distribution by size in the blood serum solution of a female donor.

References

1. Borisov A.G., Savchenko A.A., Sokolovskaya V.K. The morbidity related to disorders of immune system function, as exemplified by Krasnoyarsk krai. *Zdravookhr. Ross. Fed.*, 2014, vol. 58, no. 6, pp. 38–41. (In Russian)
2. Zuev A.L., Mishlanov V.Yu., Sudakova A.I., Shakirov N.V. Analysis of ionic, molecular, and cellular mechanisms of electrical impedance formation in biological fluids and tissues. *Vestn. Permsk. Nauchn. Ural. Otd. Ross. Akad. Nauk*, 2014, no. 2, pp. 69–78. (In Russian)
3. Sherstneva N.V., Zakirova L.R., Shaposhnikov A.A., Shentseva E.A., Shevchenko T.S. Testing of the biochemical blood composition of healthy people and changing parameters during infection by the human immunodeficiency virus. *Nauchn. Vedomosti, Ser. Med. Farm.*, 2017, no. 5, pp. 59–62. (In Russian)
4. Some D., Kenrick S. Characterization of protein-protein interactions via static and dynamic light scattering. In: Cai J. (Ed.) *Protein Interactions*. 2012, pp. 401–426. doi: 10.5772/37240.
5. Xu R. Light scattering: A review of particle characterization applications. *Particuology*, 2014, vol. 18, pp. 11–21. doi: 10.1016/j.partic.2014.05.002.
6. Nepomnyashchaya E.K., Velichko E.N., Aksenov E.T., Bogomaz T.A. Applying laser correlation spectroscopy for studying biological suspensions. *Opt. Zh.*, 2015, vol. 82, no. 3, pp. 43–48. (In Russian)
7. Stetefeld J., McKenna S.A., Patel T.R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophys. Rev.*, 2016, vol. 8, no. 4, pp. 409–427. doi: 0.1007/s12551-016-0218-6.
8. Nepomnyashchaya E.K., Savchenko E.A., Velichko E.N., Aksenov E.T. Investigation of albumin-fullerenol interaction by laser correlation spectroscopy: The algorithm. *J. Biomed. Photon. Eng.*, 2016, vol. 2, no. 4, art. 040309, pp. 1–6. doi: 10.18287/JBPE16.02.040309.
9. Nepomniashchaia E.K., Velichko E.N., Aksenov E.T. Solution of inverse problem of laser correlation spectroscopy by regularization method. *Univ. Nauchn. Zh.*, 2015, no. 13, pp. 13–21.

10. Nepomniashchaia E.K., Velichko E.N., Aksenov E.T. Inverse problem of laser correlation spectroscopy for analysis of polydisperse solutions of nanoparticles. *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2016, vol. 769, no. 1, art. 012025, pp. 1–5. doi: 10.1088/1742-6596/769/1/012025.
11. Novikov P.D., Konevalova N.Yu., Titova N.D. The principles of evaluation of immune status and diagnostic of immunodeficiency diseases. *Immunopathol., Allergol., Infectol.*, 2005, no 2, pp. 8–22.
12. Nepomnyashchaya E., Zabalueva Z., Velichko E., Aksenov E. Modifications of laser correlation spectrometer for investigation of biological fluids. *EPJ Web Conf.*, 2017, vol. 161, art. 02017, pp. 1–2. doi: 10.1051/epjconf/201716102017.

⟨ *Для цитирования:* Величко Е.Н., Непомнящая Э.К., Аксенов Е.Т. Модификация лазерного корреляционного спектрометра для анализа биологических жидкостей // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Физ.-матем. науки. – 2018. – Т. 160, кн. 1. – С. 51–60. ⟩

⟨ *For citation:* Velichko E.N., Nepomnyashchaya E.K., Aksenov E.T. Modification of the laser correlation spectrometer for analysis of biological fluids. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Fiziko-Matematicheskie Nauki*, 2018, vol. 160, no. 1, pp. 51–60. (In Russian) ⟩