Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա
Национальная Академия Наук Армении
National Academy of Sciences of Armenia

Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես
Биологический Журнал Армении
Biological Journal of Armenia

•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ • Экспериментальные и теоретические статьи• •Experimental and theoretical articles•

Биолог.журн. Армении, 1-2, (72), 2020

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ДИСПЕРСНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПО РАЗМЕРАМ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДИФРАКТОМЕТРИИ

Г.П. САРКИСЯН

Институт химической физики им. А.Б. Налбандяна НАН РА,
hrachya_sargsyan@mail.ru

Исследовались возможности метода лазерной дифрактометрии для оценки степени дисперсности эритроцитов крови по размерам в норме и при патологии. Показано, что эффективность метода лазерной дифрактометрии существенно зависит от адекватности математического описания дифракции монохроматического лазерного света на популяции эритроцитов. Получены соотношения между параметрами функции распределения эритроцитов по размерам для достаточно широкого класса асимметричных кривых. Установлено, что метод лазерной дифрактометрии позволяет различать популяции эритроцитов с разной степенью дисперсности по размерам.

Эритроцитометрическая кривая – лазерная дифрактометрия – степень асимметрии

Ուսումնասիրվել են լազերային դիֆրակցիաչափական մեթոդի հնարավորությունները՝ նորմայում և հիվանդության դեպքում արյան էրիթրոցիտների չափային դիսպերսիայի աստիճանի գնահատման համար: Ցույց է տրված, որ առաջարկվող մեթոդի արդյունավետությունը էապես կախված է էրիթրոցիտների պոպուլյացիայի վրա լազերի մոնոքրոմատիկ լույսի դիֆրակցիայի մաթեմատիկական նկարագրության ճշգրտությունից: Ոչ սիմետրիկ կորերի լայն դասի համար՝ էրիթրոցիտների չափային բաշխման ֆունկցիայի պարամետրերի միջև ստացվել են առնչություններ: Ցույց է տրված, որ լազերային դիֆրակցիաչափական մեթոդը թույլ է տալիս իրարից տարբերել տարբեր աստիճանի չափային դիսպերսիա ունեցող էրիթրոցիտների պոպուլյացիաները:

Էրիթրոցիտաչափական կոր – լազերային դիֆրակցիաչափություն – ոչ սիմետրիկության աստիճան

The possibilities of the method of laser diffractometry for assessing the degree of dispersivity of red blood cells by sizes in the norm and in pathology were investigated. It was shown that the effectiveness of the method of laser diffractometry substantially depends on the adequacy of the mathematical description of the diffraction of monochromatic laser light on a population of red blood cells. Relations between the parameters of the size distribution function of red blood cells for a fairly wide class of asymmetric curves are obtained. It was established that the method of laser diffractometry makes it possible to distinguish populations of red blood cells with different degree of dispersivity in size.

Erythrocytometric curve – laser diffractometry– degree of asymmetry

Эритроцитометрия как направление в гематологической науке появилась довольно давно [1]. Она является важным клинико-лабораторным методом исследования, позволяющим осуществлять разделение анемий на макро-, микро- и нормоцитарные формы и в ряде случаев может быть использована для диагностики и контроля эффективности лечения [8, 10].

Широкое практическое применение эритроцитометрические кривые получили после работ Прайса-Джонса [23]. Из существующих литературных источников по изучению вопроса о распределении эритроцитов по размерам в норме и патологии наиболее полным является, по-видимому, книга [3].

Следует отметить, что до настоящего времени не существует единого мнения о величине среднего диаметра эритроцитов, проценте макроцитов, микроцитов и нормоцитов у здоровых людей [1, 3, 8, 10, 23]. Это, по-видимому, связано, с одной стороны, с индивидуальными особенностями геометрии форменных элементов крови отдельного организма, а с другой – отсутствием эффективной методики измерения данного показателя для достаточно больших статистических массивов.

Существуют три основных метода определения диаметра эритроцитов. Широкое распространение в клинической практике получили прямые микроскопические методы. Измерение диаметра эритроцитов производится под микроскопом с помощью различных окулярных микрометров [23, 3, 1, 8, 10, 13]. Известно, что точность окулярных микрометров определяется величиной градуировки по объект-микрометру и поэтому может оказаться разной у разных авторов. Основным недостатком прямых микроскопических методов является большая трудоемкость и связанная с ней малая эффективность и непригодность к массовому применению.

В клинико-лабораторных исследованиях применяется также, так называемый, кондуктометрический метод измерения объема частиц [15], который реализуется в аппаратуре коултеровского типа. Принцип действия заключается в том, что взвесь эритроцитов пропускается через капиллярное отверстие, включенное в электрическую цепь. Сигнал датчика при попадании эритроцита в микроотверстие зависит от ее объема, формы и ориентации в отверстии, а также напряженности электрического поля в отверстии [14, 19, 20]. Однако степень адекватности полученных результатов зависит от проявления различных артефакторов, связанных, например, с недостаточным разрешением электронных схем [18], или изменением формы эритроцитов под действием градиента давления [21].

Разработаны комплексы автоматического анализа микроизображений, в основе действия которых лежит сканирование поля препарата с последующей обработкой сигналов на ЭВМ [5]. Основанные на принципе цитофотометрии созданные автоматические анализаторы биологических структур применялись для изучения возрастной динамики гемоглобина в популяциях эритроцитов у детей [6], а также для исследования изменений размеров эритроцитов под действием ультрафиолетового облучения [2].

При решении задач эритроцитометрии (получение кривой распределения эритроцитов по размерам) применялись также оптические методы. В основе, так называемого галометрического метода лежит явление дифракции световых лучей на монослое эритроцитов, который играет роль оптической решетки.

Впервые этот метод был использован Пайпером в 1919 году [22]. В дальнейшем были сконструированы галометры (дифрактометры) с использованием одноцветного монохроматического пучка света. Однако они по прежнему основывались на измерении диаметра цветных колец на экране наблюдения и оценки среднего диаметра (как они считали) эритроцитов по обратно пропорциональному соотношению между ними, с учетом длины волны (цвет кольца) и порядкового но-

мера кольца того же цвета. Авторы этих работ стали справедливо отмечать, что галометрия позволяет быстро оценивать скорее модальный размер множества эритроцитов, чем средний арифметический всей популяции (d_0-СДЭ). Было отмечено также, что основным недостатком галометрии является невозможность выяснения степени анизоцитоза и получение кривой распределения по Прайс-Джонсу [9]. По-видимому, отсутствие адекватного теоретического решения прямой задачи дифракции света на монослое эритроцитов-дисков с толщиной, много меньшей ее поперечного размера (достаточно реалистичной модели мазка крови), а также низкий уровень технической реализации фотоэлектрического дифрактометра не позволили сколько-нибудь успешного применения эритроцитометрии в различных задачах гематологии.

Следовательно, целесообразно будет решить одновременно две задачи. Разработать адекватную теоретическую схему описания дифракции монохроматического излучения лазера на монослое эритроцитов-дисков. Создать более эффективный, отвечающий современным критериям лазерный дифрактометр, в котором роль дифракционной решетки будет выполнять монослой эритроцитов. Далее, используя дифракционную картину (его цифровой вариант), путем решения обратной задачи дать статистически достоверную оценку размерных характеристик циркулирующих в кровяном русле эритроцитов.

С нашей точки зрения наиболее обобщенным математическим подходом, удобным для адекватного описания дисперсности микрообъектов в пространстве размеров, является использование асимметричной функции распределения, основанной на нормальном распределении Гаусса, в приближении ряда Эджворта (см., например, книгу [7]). В этом приближении функция распределения записывается в следующем виде:

$$f(x) = \varphi(x) - \frac{\gamma_1}{3!}\varphi^{(3)}(x) + \frac{\gamma_2}{4!}\varphi^{(4)}(x) + \frac{10\gamma_1^2}{6!}\varphi^{(6)}(x) + \ldots \qquad (1)$$

где $\varphi(x)$– функция гауссовского распределения, $x = \frac{\alpha - \alpha_0}{\sigma}$ нормированная величина, $\varphi^{(3,4,6)}(x)$ – производные 3-го, 4-го и 6-го порядков от $\varphi(x)$ по безразмерному параметру. Заметим, что ввиду $(\pm\gamma 1)\mathbf{2}=\gamma\mathbf{2}1$, четвертая слагаемая в (1) не позволяет выяснить какая именно асимметрия (положительная или отрицательная) дает соответствующий вклад. Далее, опустив последний член в (1), с учетом определений безразмерной величины xи функции $\varphi(x)$, для $f(a,P)$ запишем четырехпараметрическое выражение следующего вида:

$$f(\alpha, P) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} e^{-\frac{(\alpha-\alpha_0)^2}{2\pi^2}} \left\{ 1 - \frac{\gamma_1}{3!}\left[\frac{\alpha-\alpha_0}{\sigma} - \left(\frac{\alpha-\alpha_0}{\sigma}\right)^3 \right] + \frac{\gamma_2}{4!}\left[3 - 6\left(\frac{\alpha-\alpha_0}{\sigma}\right)^2 + \left(\frac{\alpha-\alpha_0}{\sigma}\right)^4 \right] \right\}, \qquad (2)$$

где P – набор параметров α_0, σ, γ_1, γ_2. Заметим, что наряду с параметрами гауссовского распределения α_0– средний радиус и σ– дисперсия по размерам, в исходную модель закладываются также γ_1–коэффицент асимметрии и γ_2– коэффициент эксцесса. Практика показывает, что для описания одновершинных кривых достаточно ограничиваться третьим и четвертым моментами. Третий момент – коэффициент асимметрии, а четвертый коэффициент эксцесса. Они имеют следующий физический смысл: коэффициент асимметрии характеризует направление и величину сдвига главной моды распределения (наиболее часто встречающегося размера) от его среднего значения, коэффициент эксцесса дает информацию о случайном характере и степени однородности основной массы эритроцитов по

изучаемому признаку. Другими словами коэффициент эксцесса дает информацию о форме кривой распределения и ее высоте вблизи главной моды. Различают два типа коэффициентов асимметрии и эксцесса, отличающихся по знаку. Отрицательное значение коэффициента асимметрии свидетельствует о смещении главной моды в сторону больших размеров по сравнению с гауссовским распределением. Положительное же значение показывает обратное. Отрицательное значение коэффициента эксцесса указывает на более низкий и более пологий характер вершины по сравнению с гауссовской кривой. Обратно, положительное значение коэффициента эксцесса указывает, что кривая плотности в окрестности главной моды имеет более высокую и более острую вершину, чем гауссовская кривая.

Для случая многовершинных распределений функцию f можно записать в виде суммы из (2) с разными наборами P. Многочисленные исследования свидетельствуют, что эритроцитометрические кривые достаточно полно могут быть описаны функциями распределения вида (2).

В отличие от гауссовского распределения, средний размер которого совпадает с главной модой (число клеток со средним размером больше числа клеток любого другого размера $a \neq a_0$), для асимметрического распределения a_{mod} может оказаться больше или меньше a_0 в зависимости от знака γ_1. Здесь под модой понимается значение a, при котором $f(a)$принимает максимальное значение. Введем обозначение $x_0 = \frac{a_{\mathrm{mod}} - a_{\mathrm{o}}}{\sigma} = (d_{\mathrm{mod}} - d_{\mathrm{o}}) / 2\sigma$. Тогда из (2) получаем следующее выражение:

$$f(x_0) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x_0^2}{2}} \left[1 - \frac{\gamma_1}{3!} x_0 (3 - x_0^2) + \frac{\gamma_2}{4!} (3 - 6x_0^2 + x_0^4) \right] \tag{3}$$

Так как точке x_0 соответствует максимум функции $f(x)$, то первая производная правой части (3) в этой точке должна равняться нулю. Простым вычислением получаем соответствующее условие:

$$x_0 + \frac{\gamma_1}{6}(3 - 6x_0^2 + x_0^4) + \frac{\gamma_2}{24}(15x_0 - 10x_0^3 + x_0^5) = 0 \tag{4}$$

Перепишем равенство (4) в следующем виде:

$$\frac{\gamma_2}{24} x_0^5 + \frac{\gamma_1}{6} x_0^4 - \frac{5\gamma_2}{12} x_0^3 - \gamma_1 x_0^2 + (\frac{5\gamma_2}{8} + 1) x_0 + \frac{\gamma_1}{2} = 0 \tag{5}$$

Правая часть (5) – это многочлен пятой степени относительно переменной x_0. Свободный член многочлена равен $\gamma_1/2$.

Обозначая левую часть (5) через $\psi(x_0)$, перепишем его в стандартной форме:

$$\psi(x_0) = b_5 x_0^5 + b_4 x_0^4 + b_3 x_0^3 + b_2 x_0^2 + b_1 x_0 + b_0 = 0 \tag{6}$$

Согласно теореме Безу (см., например, книгу [4]), при делении любого многочлена $\psi(x_0)$ на $(x_0 - c)$, получаемый остаток всегда равен $\psi(c)$. При выполнении условия $\psi(c)=0$, $x_0 = c$ будет решением (6) или (5). Пусть $c = -b_0 = -\gamma_1/2$.Тогда имеем, что приближенное выражение для моды x_0 функции плотности $f(x)$ в виде $x_0 = -\frac{\gamma_1}{2}$ совпадает с характеристикой асимметрии Шарлье (см., например, книгу [7]). Таким образом, условием применимости приближения Шарлье для асимптотического разложения (3) или (2) является выполнение следующего равенства:

$$\varphi(-\frac{\gamma_1}{2}) = -\frac{\gamma_2}{24}(\frac{\gamma_1}{2})^5 + \frac{\gamma_1}{6}(\frac{\gamma_1}{2})^4 + \frac{5\gamma_2}{12}(\frac{\gamma_1}{2})^3 - \gamma_1(\frac{\gamma_1}{2})^2 - (\frac{5\gamma_2}{8}+1)\frac{\gamma_1}{2} + \frac{\gamma_1}{2} = 0 \qquad (7)$$

После некоторых преобразований получается требуемая зависимость между γ_1 и γ_2, при которой всегда имеет место равенство (7):

$$\gamma_2 = \frac{8\gamma_1^4 - 192\gamma_1^2}{\gamma_1^4 - 40\gamma_1^2 + 240}. \qquad (8)$$

Следовательно, для функции плотности в виде асимптотического разложения (2) или (3) при выполнении условия (8) применима характеристика асимметрии Шарлье:

$$x_0 = -\frac{\gamma_1}{2}. \qquad (9)$$

Учитывая введенное нами обозначение для x_0, условие (9) перепишем так:

$$\frac{\alpha_{mod} - \alpha_o}{\sigma} = -\frac{1}{2}\gamma_1 \qquad (10)$$

или

$$d_{mod} = d_o - \gamma_1\sigma, \qquad (11)$$

где d_0– средний диаметр: $d_0 = 2\alpha_0$, d_{mod}– главная мода распределения по диаметрам: $d_0 = 2\alpha_{mod}$. Выражение (11) устанавливает связь между главной модой d_{mod} одновершинного распределения и его тремя параметрами – d_0, σ, γ_1. Из (11) следует, что при $\gamma_1 > 0$ d_0 лежит правее главной моды по оси размеров и, наоборот, при $\gamma_1 < 0$ главная мода распределения по размерам всегда больше его среднего значения. Это полностью согласуется с физическим смыслом коэффициента асимметрии и тем самым подтверждает "правильность" соотношения (11).

Изложенная здесь схема анализа асимметричных кривых распределения микрообъектов по размерам заложена в основу разработанного в наших работах [11, 12, 16, 17, 24] теоретического описания дифракции монохроматического излучения лазера на монослое эритроцитов-дисков, в рамках приближенной теории дифракции Кирхгофа, основанной на интегральной теореме Гельмгольца-Кирхгофа. Согласно такому подходу, мазок крови рассматривается как случайный пуассоновский фазовый экран, каждая точка которого соответствует отдельному эритроциту круглой формы и некоторого размера, а дифракция монохроматической световой волны лазерного источника происходит на краях этих эритроцитов-дисков в зоне дифракции Фраунгофера:

$$d << \sqrt{z\lambda}, \qquad (12)$$

где d– размер эритроцита на сухом мазке, z– расстояние от центра дифракции до экрана наблюдения, λ– длина волны лазерного излучения.

В приближении $(\sigma/d_0)^2 << 1$, что в реальных популяциях имеет место почти всегда, для суммарной интенсивности картины дифракции в некоторой точке экрана наблюдения нами получено следующее соотношение:

$$\mathrm{I}(w) = NC'\left[\frac{2\mathrm{J}_1(kwa_0)}{kwa_0}\right]^2(1+\frac{\gamma_2}{32}) + NC'\frac{\gamma_1\sigma}{6\alpha_0}\sum_{m=0}^{\infty}\frac{(-1)^m\left[(2m+2)!\right]^2(kwa_0/2)^{2m+2}}{m!(m+2)!\left[(m+1)!\right]^2 2(2m)!} \qquad (13)$$

Отметим, что часть выражения первого слагаемого (13) в квадратных скобках это квадрат отношения функции Бесселя первого рода первого порядка на свой аргумент, которая отражает закономерность распределения интенсивности в дифракционной картине в отсутствие дисперсии дифрагирующих микрообъектов по размерам [20].

Из выражения (13) следует, что в приближении малости отношения $(\sigma/d_0)^2 << 1$ в картину дифракции определенный вклад вносят пропорциональные коэффициенту асимметрии и коэффициенту эксцесса слагаемые. В общем случае выражение (13) не поддается сколько-нибудь точному анализу без привлечения электронно-вычислительной системы. Однако, если учитывать, что для использованной асимптотики распределения $f(\alpha)$допустимо приближение Шарлье: $d_{mod} = d_o - \gamma_1\sigma$, то правильнее ожидать, что первый максимум дифрактограммы несет в большей степени информацию о главной моде, чем о среднем размере популяции эритроцитов. Таким образом, используя экспериментальные данные о положении первого максимума в дифракционной картине, в рамках известной галометрической схемы можно оценивать именно главную моду распределения эритроцитов в пространстве размеров:

$$d_{mod}, sin\ \alpha_{maxI} = \mu_{maxI}\lambda, \tag{14}$$

где d_{mod} – главная мода – наиболее часто встречающийся размер дифрагирующих микрообъектов, α_{maxI}–угол дифракции в точке первого максимума, μ_{maxI}– параметр функции Бесселя первого рода первого порядка ($\mu_{maxI} = 1{,}635$), λ – длина волны лазерного излучения (для гелий-неонового лазера λ=0,628 мкм).

При разных патологических состояниях организма наблюдаются отклонения эритроцитометрической кривой от нормы (в общем случае с$\Delta\gamma_1 \neq 0$), как в виде макроцитоза, так и в виде микроцитоза. На языке условия (11) такое обстоятельство можно описать следующим образом. Пусть в норме $\gamma_1 > 0$. Соответствующие ему параметры обозначим через d_{mod}, d_oи σ. В случае отклонения от нормы в виде макроцитоза, имеет место условие $\gamma'_1 - \gamma_1 > 0$, где γ'_1– коэффициент асимметрии при патологии. Соответствующие ему параметры обозначим через d'_{mod}, d'_oи σ. Воспользуясь формулой (11), можно записать:

$$d'_{mod} - d_{mod} = d'_o - d_o - (\gamma'_1 - \gamma_1)\sigma. \tag{15}$$

При макроцитозе имеет место: $d'_{mod} - d_o > 0$. Согласно (15), разница $d'_{mod} - d_{mod}$ может иметь и положительный знак, и нулевое значение, и отрицательный знак.

В случае отклонения от нормы в виде микроцитоза будет иметь место неравенство $\gamma''_1 - \gamma_1 < 0$, где γ''_1– соответствующий коэффициент асимметрии. Обозначим через d''_{mod}, d''_0, и σостальные параметры (11). Аналогичное (15) выражение для микроцитоза имеет такой вид:

$$d''_{mod} - d_{mod} = d''_o - d_o - (\gamma''_1 - \gamma_1)\sigma. \tag{16}$$

Так как $d''_0 - d_o < 0$ то из (16) получаем, что разница $d''_{mod} - d_{mod}$может иметь и положительный знак, и нулевое значение, и отрицательный знак. Таким образом, возможна ситуация, когда существенно разные изменения в циркулирующей крови при дифрактометрическом анализе в рамках классического галометрического алгоритма могут считаться качественно одинаковыми. Вместе с тем, при

использовании теоретических разработок по описанию дифракции лазерного излучения на мазке крови с учетом асимметричности распределения эритроцитов по размерам, возможна более адекватная интерпретация экспериментально полученной дифрактограммы и оценка всех параметров функции распределения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вишневский Г.Б.* К вопросу о колебаниях величины диаметра эритроцитов у различных народностей. Русский Ж. тропической медицины, N 3, 1928.
2. *Гилярова В.Н., Франк Г.М.* К вопросу об изменении размеров эритроцитов под действием ультрафиолетового облучения. В кн.: Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. М., Наука, с. 262-267, 1967.
3. *Гольдберг Д.И., Левина Г.Д.* Диаметр эритроцитов в норме и патологии. Томск: Изд-во ТГУ, 115 с., 1969.
4. *Корн Г., Корн Т.* Справочник по математике. М., Наука, 1977.
5. *Косых В.П., Раташников А.К.* Машинный комплекс для обработки изображений микрообъектов. Тез.докладов I Всесоюзной конференции "Статистические свойства микроструктур", 1978.
6. *Косых В.П., Леонова В.Г., Пустовских А.И.*Применение комплекса автоматического анализа микроизображений для изучения возрастной динамики гемоглобина в популяциях эритроцитов у детей. Известия СО АН СССР. Серия биологическая. вып. 3. N 5, 1981.
7. *Крамер Г.* Математические методы статистики. М., Наука, 1975.
8. *Левина Г.Д.* Диаметр эритроцитов у здоровых людей. В кн.: Вопросы теоретической и клинической гематологии, Томск: Изд-во ТГУ, с. 118-125, 1967.
9. *Лемажихин Б.К., Франк Г.М.* Определение размеров эритроцитов методом дифракции света в связи с проблемой биологического действия ионизирующей радиации. Труды ИБФ АН СССР,с. 276-287, 1955.
10. *Леонова В.Г.* Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. Новосибирск: Наука, 241с., 1987.
11. *Мкртчян Р.Г., Мкоян Ф.А., Саркисян Г.П.* Математическое моделирование дифракции света на клетках красной крови. Биофизика, *XXXIII,*вып. 4, с.034-636, 1988.
12. *Мкртчян Р.Г., Мкоян Ф.А., Саркисян Г.П., Хлебопрос Р.Г.* Выявление асимметриии в распределении эритроцитов по размерам методом дифрактоэритрометрии. Биолог. журн. Армении, *41*, 4, с. 332-336, 1988.
13. *Наджимитдинов С.Т.* Основные лабораторные методы исследования морфологии клеток крови,Ташкент: Медицина, 151с., 1970.
14. *Рабинович Ф.М.* Кондуктометрический метод дисперсионного анализа, Л., Химия, 1970.
15. *Рабинович Ф.М.* Кондуктометрические счетчики частиц и их применение в медицине. М., Медицина, 1972.
16. *Саркисян Г.П., Дубынин В.Н., Мкоян Ф.А., Хлебопрос Р.Г.* Теоретические аспекты дифрактоэритрометрии. Красноярск, 30 с., (Препринт N 35Б /ИФСОАНСССР). 1984.
17. *Саркисян Г.П., Мкоян Ф.А., КарапетянА.Г.* Дифрактометрическое решение четырехпараметрической задачи эритроцитометрии. В сборнике научных трудов: Современные аспекты радиационной медицины. Ереван, с. 13-16,1995.
18. *Саркисян Г.П., Дубынин В.Н., Мкоян Ф.А., Хлебопрос Р.Г.* Теоретические аспекты дифрактоэритрометрии. Красноярск, 30 с. (Препринт N 35Б /ИФСОАНСССР). 1984.
19. *Соболев В.Е., Чернов Ю.П.* Улучшение разрешения системы типа Коултера для измерения распределений эритроцитов по объемам. В кн.: Автоматизированный анализ клеточных популяций. Новосибирск; ИАиЭ СО АН СССР,с. 88-97, 1978.

20. *De Blois R.W., Bean C.P.* Counting and sizing of submicron particles by the resistive pulse technique. Rev. Sci. Instr., *41*, p. 909-916,1970.
21. *Mel H.C.,Yee J.P.* Erythrocyte size and deformability studies by resistive pulse spectroscopy. Blood Cells, *1*, p. 391-399,1975.
22. *Pijper A.* The diffraction method of measuring red blood cells. J. Lab. Clin. Med.,*32*, p. 857-877,1947.
23. *Price-Jons C.* Red blood cell diameters, London: Oxford University, 1933.
24. *Sargsyan H.P., Sargsyan A.H., Danielyan A.M.*Solution of Four-Parametric Problem in Laser Diffractometry in the Framework of Two-Wavelength Model, Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences, April, *54*, Issue 2, pp 219-224,2019.

Поступила19.02.2020