

ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ЭРИТРОЦИТОВ ДОНОРОВ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НИТРОГЛИЦЕРИНА

О. В. Путинцева, В. Г. Артюхов, М. А. Федакова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

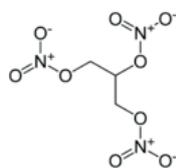
Поступила в редакцию 16.08.2018 г.

Аннотация. Нитроглицерин (НГ) относится к группе вазодилаторов – лекарственных препаратов, активно используемых в медицинской практике для коррекции нарушений на уровне микроциркуляторного русла при развитии сердечно-сосудистой патологии. При сублингвальном приеме и внутривенном введении НГ вступает в непосредственный контакт с эритроцитами крови, а продукты его распада способны проникать внутрь клеток и оказывать влияние на их форму. Большинство эритроцитов в норме представлено дискоцитами, обладающими высокой деформабильностью, эластичностью и способностью снабжать организм кислородом. Вопросы механизмов взаимодействия НГ с эритроцитами остаются дискуссионными, однако оценка степени влияния вазодилатора на изменение эритрона и структурную целостность клеток крови может помочь в прогнозировании и минимизации нежелательных реакций резистентности организма к его приему. Целью нашей работы стало исследование с помощью современного метода сканирующей микроскопии архитектуры эритроцитов человека после контакта с НГ в течение разного временного периода.

Было установлено, что морфологическая картина нативной суспензии эритроцитов соответствовала таковой здорового человека и не менялась через 1 ч. Однако через 24 ч количество дискоцитов уменьшилось до 53.4 %, число обратимо деформированных форм возросло до 36.4 %, а необратимо деформированных эритроцитов – до 10.2 %. После модификации суспензии эритроцитов человека НГ (5 нг/мл) в течение 1 и 24 ч наблюдалось изменение содержания отдельных морфологических форм в популяции эритроцитов: снижается количество двояковогнутых дискоцитов до 83.2 и 42.8 %, возрастает число обратимо деформированных клеток до 14.2 и 40.7 % и необратимо деформированных эритроцитов до 2.6 и 16.5 % соответственно. Таким образом, после суточного контакта с НГ изменение цитоархитектоники претерпело более 50 % эритроцитов: общее количество дискоцитов (42.8 ± 0.12 %) стало меньше, чем суммарное число обратимо деформированных (40.7 ± 0.1 %) и необратимо деформированных (16.5 ± 0.11 %) форм. Обнаруженная нами химическая модификация эритроцитарных мембран нитроглицерином указывает на нарушение эластичности мембран, а, следовательно, и на снижение способности эритроцитов к упругой деформации в микроциркуляторном русле, что влечет за собой затруднение в полноценном насыщении клеток кислородом и накопление в них метформы гембелка. В итоге развивающейся резистентности организм испытывает острую нехватку кислорода, что представляет серьезную угрозу для его здоровья. Выявленные особенности взаимодействия НГ с эритроцитарными клетками свидетельствуют о необходимости строгого соблюдения режима приема и дозирования нитратных вазодилаторов и контроля морфологической картины эритрона для получения максимально благоприятного эффекта при их применении.

Ключевые слова: эритроциты, нитроглицерин, оксид азота, сканирующая электронная микроскопия, цитоархитектоника.

Нитроглицерин представляет собой тринитрат глицерина, формула которого выглядит следующим образом:



© Путинцева О. В., Артюхов В. Г., Федакова М. А., 2018

По современной классификации нитроглицерин (НГ) относится к группе вазодилаторов – лекарственных препаратов, активно используемых в медицинской практике для коррекции нарушений на уровне микроциркуляторного русла при развитии сердечно-сосудистой патологии [1–5]. Вазодилаторы являются пролекарствами, попадая в организм человека они освобождают молекулы NO_2 , которые пройдя ряд биохимических реакций, образуют оксид азота (NO), оказываю-

ший вазодилаторное действие через активацию гуанилатциклазы.

Известна нестабильность состояния молекул НГ в крови, их период полураспада в условиях *in vitro* в зависимости от концентрации препарата составляет от 6 до 15 мин. Процесс деградации НГ в образцах крови *in vitro* происходит с участием эритроцитов [6].

При сублингвальном приеме и внутривенном введении НГ вступает в непосредственный контакт с эритроцитами крови. Что касается данных о проницаемости эритроцитарной мембраны для оксида азота, то они весьма противоречивы [7, 8], однако, не отрицают возможности проникновения молекул NO внутрь эритроцитов. Установлено, что экстраклеточные молекулы оксида азота обладают достаточно высокими коэффициентами диффузии внутри эритроцита – порядка $880-1600 \text{ мкм}^2\text{с}^{-1}$ [9] и оказывают влияние на физико-химические характеристики как свободного, так и мембрансвязанного внутриклеточного гемоглобина [10]. От состояния последнего во многом зависит форма эритроцитарных клеток. Большинство эритроцитов в норме представлено в виде дискоцитов [11], что обеспечивает им высокую деформабильность и эластичность [12], позволяющие беспрепятственно перемещаться по крупным сосудам и мелким капиллярам кровеносной системы при выполнении своей основной физиологической функции – транспорте газов по организму [13]. Известно, что под действием ряда экзогенных факторов (радиация) или эндогенных процессов (развитие патологии) эритроциты претерпевают трансформационные обратимые и необратимые изменения, в результате чего формируется ряд клеток (эхиноциты, стоматоциты, сфероциты) по своей форме, внешнему виду и функциям значительно отличающиеся от дискоцитов [12, 14-17].

Учитывая важность структурной целостности клеток крови, остаются дискуссионными вопросы механизмов взаимодействия НГ с эритроцитами, знание которых позволит более точно оценить степень влияния вазодилатора с целью прогнозирования и минимизации нежелательных реакций резистентности организма к их приему. Удобным методом для наблюдения за состоянием эритроцитарных клеток является современный метод сканирующей микроскопии, позволяющий с высокой точностью следить за изменениями эритроцита под влиянием различных физико-химических агентов. В связи с изложенным выше, целью нашей работы стало исследование архитектоники эритроцитов человека после взаимодействия с НГ в течение разного временного периода.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования проводили на суспензии эритроцитов в 0.01 моль/л Na-фосфатном буфере, полученной из крови доноров в день взятия пробы. Выделение суспензии эритроцитов из цельной крови донора осуществляли по методике, описанной в «Практикуме по биофизике» [18]. Полученную суспензию эритроцитарных клеток доводили раствором 0.01 моль/л Na-фосфатного буфера (pH 7.4) до оптической плотности D_{495} , равной 0.8, и затем использовали в эксперименте. Концентрация суспензий эритроцитов составляла $1.34 \cdot 10^{12}$ клеток/л.

В экспериментах применяли препарат «Раствор нитроглицерина 0.1 % для инъекций №10» (ГУ «Институт новых технологий» Отделения медицинских наук РАН, Россия). Данная лекарственная форма является водорастворимой, с пониженным содержанием глюкозы, не содержит спирта. [19]. Нитроглицерин добавляли к суспензии эритроцитов человека в концентрации 5 нг/мл. Полученные образцы инкубировали в течение 1 и 24 ч при 37 °С в суховоздушном термостате в стерильных условиях.

Поверхностную цитоархитектонику нативных и модифицированных растворами нитроглицерина (5 нг/мл) эритроцитов крови доноров изучали методом сканирующей электронной микроскопии. Контрольные и опытные образцы фиксировали 2.5 % раствором глутарового альдегида (Sigma, США) при температуре 4 °С в течение 1 ч. Затем производили обезвоживание клеток путем центрифугирования в серии водных растворов этанола восходящей концентрации и далее ацетоном. Приготовленную суспензию эритроцитов наносили на алюминиевые подложки и высушивали в термостате при 37 °С. Препараты просматривали на сканирующем электронном микроскопе JEOL (Japan Electron Optics Laboratory) JSM – 6510 LV (Япония) при ускоряющем напряжении 10 кВ в лаборатории ЦКПНО Воронежского государственного университета.

Структурное состояние мембран эритроцитов оценивали по классификации, предложенной Г.И. Козинец и В.А. Макаровым [20]. Для детального анализа характера изменения поверхностной архитектоники эритроцитов рассчитывали ряд показателей: Д – количество дискоцитов в процентах; ОД – количество обратимо деформированных эритроцитов, в процентах; НД – количество необратимо деформированных эритроцитов, в процентах; ИТ – индекс трансформации, представляющий собой количественную оценку соотношения патологических и нормальных форм эритроцитов: $\text{ИТ} = (\text{ОД} + \text{НД}) / \text{Д}$; ИОТ – индекс обратимой трансформации: $\text{ОД} / \text{Д}$; ИНОТ – индекс необ-

ратимой трансформации: $ИНОТ = НД/Д$.

Опыты проводили в 6-8-кратной повторности, аналитические определения для каждой пробы осуществляли в четырех повторностях. Результаты опытов сравнивали с контролем. Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли с помощью пакета прикладных статистических программ «Stadia 7.0 (Professional)». Достоверность различий контрольных и опытных значений сравниваемых показателей определяли по t-критерию Стьюдента (при $p < 0.05$), поскольку все исследуемые показатели характеризовались нормальным распределением.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами была исследована цитоархитектоника интактных эритроцитов крови 10 доноров до и после инкубации при 37°C в течение 1 и 24 ч. Результаты проведенных экспериментов представлены в табл. и на рис. 1.

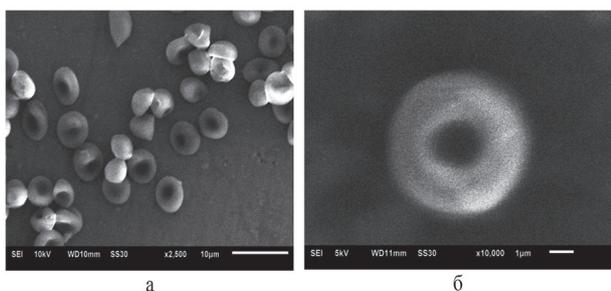


Рис. 1. Электронные микрофотографии эритроцитов контрольного образца: а) при увеличении $\times 2500$; б) при увеличении $\times 10000$

В нативном образце содержалось $93.6 \pm 4.7\%$ дискоцитов, $4.4 \pm 0.22\%$ обратимо деформированных клеток (дискоциты с одним выростом, дискоциты с гребнем, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде тутовой ягоды) и $2.0 \pm 0.01\%$ необратимо деформированных клеток (куполообразные эритроциты, сфероциты с гладкой поверхностью, сфероциты с шипиками на поверхности, эритроциты в виде «спущенного» мяча, дегенеративные формы эритроцитов), что соответствует морфологической картине красных клеток крови здорового человека [20].

После инкубации суспензии эритроцитов человека при 37°C в течение 1 ч не наблюдалось статистически достоверных изменений в содержании дискоцитов, но возросло число обратимо деформированных клеток ($8.7 \pm 0.24\%$) и, соответственно, индекс обратимой деформации (0.1 ± 0.012).

Цитоархитектоника нативных эритроцитов после 24 ч инкубации отличалась от таковой свежывделенных клеток и характеризовалась значительными изменениями ее показателей. Так,

количество дискоцитов снизилось до $53.4 \pm 0.33\%$, количество обратимо деформированных клеток возросло до $36.4 \pm 0.06\%$, необратимо деформированных – до $10.2 \pm 0.19\%$. Ранее проведенные на нашей кафедре исследования [10] показали, что через 24 ч хранения эритроцитов наблюдаются окисление гемового железа внутриэритроцитарного оксигемоглобина и переход основной части белка в метформу. Процесс сопровождается нарушением целостности эритроцитарных мембран и выходом гембелка во внеклеточное пространство.

После внесения нитроглицерина в концентрации 5 нг/мл в суспензии эритроцитарных клеток и 1 ч инкубации образцов наблюдалось снижение количества двояковогнутых дискоцитов с $93.6 \pm 4.7\%$ до $83.2 \pm 0.42\%$, повышение количества обратимо деформированных с $4.4 \pm 0.22\%$ до $14.2 \pm 0.29\%$ и необратимо деформированных эритроцитов с $2.0 \pm 0.01\%$ до $2.6 \pm 0.25\%$, значений ИТ – до 0.2 ± 0.015 , ИОТ – до 0.17 ± 0.006 и ИНОТ – до 0.03 ± 0.004 (табл., рис. 2, 4, 5).

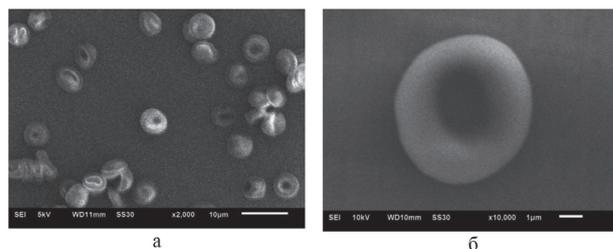


Рис. 2. Электронные микрофотографии суспензии эритроцитов после модификации нитроглицерином в течение 1 ч: а) при увеличении $\times 2000$; б) при увеличении $\times 10000$

Во время 24-часового взаимодействия эритроцитов с нитроглицерином количество дискоцитов уменьшилось до $42.8 \pm 0.12\%$, а число обратимо деформированных клеток увеличилось до $40.7 \pm 0.1\%$, необратимо деформированных эритроцитов – до $16.5 \pm 0.11\%$, значений ИТ – до 1.34 ± 0.012 , ИОТ – до 0.95 ± 0.001 , ИНОТ – до 0.39 ± 0.002 (табл., рис. 3 - 5).

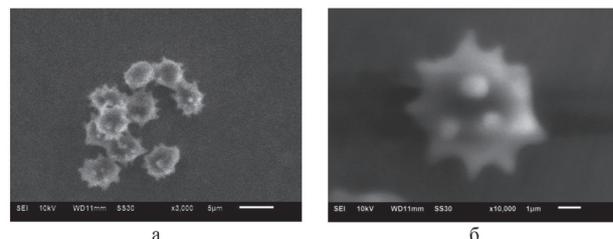


Рис. 3. Электронные микрофотографии эритроцитов после модификации человека нитроглицерином в течение 24 ч: а) при увеличении $\times 3000$; б) при увеличении $\times 10000$

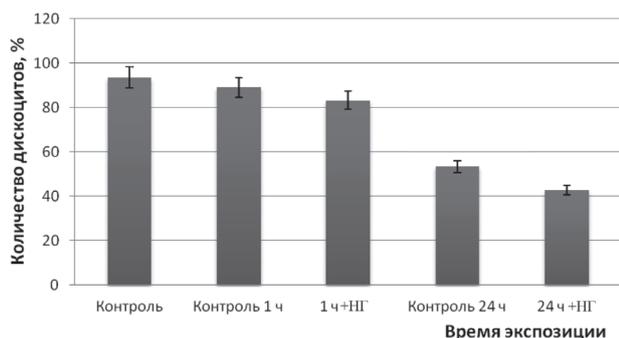


Рис. 4. Зависимость количества дискоцитов от времени инкубации с НГ

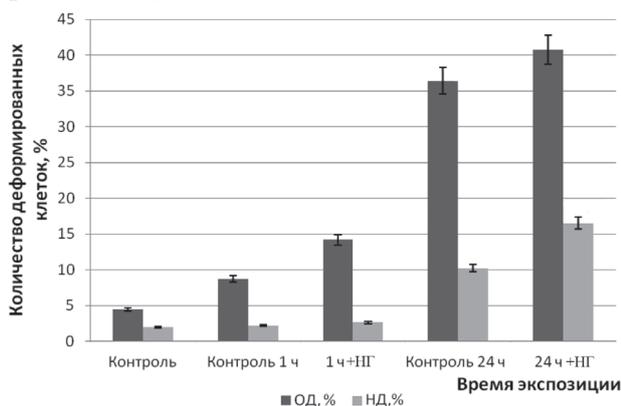


Рис. 5. Зависимость количества ОД и НД эритроцитов от времени инкубации с НГ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая результаты наших исследований, можно сделать следующее заключение. С помощью метода сканирующей электронной микроскопии нами было установлено, что инкубация эритроцитов с НГ в физиологически оптимальной концентрации, равной 5 нг/мл, индуцирует накопление клеток, отличающихся по своим морфологическим показателям от дискоцитов. Было установлено, что после 24 ч контакта с нитроглицерином наблюдалось изменение цитоархитектоники более 50 % клеток: общее количество дискоцитов (42.8 ± 0.12 %) стало меньше, чем суммарное число ОД (40.7 ± 0.1 %) и НД (16.5 ± 0.11 %) форм эритроцитарных клеток. Появление под действием НГ большого количества деформиро-

ванных форм клеток и уменьшение количества дискоцитов указывают на нарушение эластичности мембран, а, следовательно, и на снижение способности эритроцитов к упругой деформации в микроциркуляторном русле. Кроме того, изменение формы эритроцитов влечет за собой затруднение в полноценном насыщении клеток кислородом и накопление в них метформы гембелка. В итоге организм испытывает острую нехватку кислорода, что представляет серьезную угрозу для его здоровья. Установленный эффект химической модификации эритроцитарных мембран нитроглицерином особенно важно учитывать для лиц с сердечно-сосудистными заболеваниями. Выявленные особенности взаимодействия НГ с эритроцитарными клетками указывают на необходимость строгого соблюдения режима приема и дозирования нитратных вазодилаторов и контроля морфологической картины эритрона для получения максимально благоприятного эффекта при их применении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоусов Ю.Б., Кукес В.Г., Лепяхин В.К., Петров В.И. Клиническая фармакология. Москва, ГЭОТАР. 2013, 976 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Москва, Новая волна, 2012, 1216 с.
3. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. – Москва, АстраФармСервис, 2005, 1536 с.
4. Евдокимова А.Г., Евдокимов В.В., Кожина Н.А. // Медицинский совет. 2014. № 8. С. 12-16.
5. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности. Вспомогательные средства лечения ХСН. <http://old.consilium-medicum.com/media/book/index.shtml> (дата обращения 20.08.2018).
6. <https://medicalplanet.su/cardiology/407.html> (дата обращения 20.08. 2018)
7. Doctor A., Stamler J.S. // Comprehensive Physiol. 2011. Vol. 1(1), pp. 541-568.

Таблица 1.

Показатели цитоархитектоники эритроцитов крови доноров, модифицированных воздействием нитроглицерина в течение разного временного периода

| Показатели | Контроль | Контроль (1 ч) | Эритроциты+НГ (1 ч) | Контроль (24 ч) | Эритроциты+НГ (24 ч) |
|------------|-------------|----------------|---------------------|-----------------|----------------------|
| Д, % | 93.6±4.7 | 89.10±0.16 | 83.20±0.42* | 53.4±0.33* | 42.8±0.12* |
| ОД, % | 4.40±0.22 | 8.70±0.24* | 14.20±0.29* | 36.4±0.06* | 40.7±0.1* |
| НД, % | 2.00±0.01 | 2.20±0.28 | 2.60±0.25* | 10.2±0.19* | 16.5±0.11* |
| ИТ | 0.07±0.04 | 0.12±0.02 | 0.20±0.02* | 0.87±0.03* | 1.34±0.012* |
| ИОТ | 0.050±0.003 | 0.100±0.012* | 0.170±0.006* | 0.68±0.001* | 0.95±0.001* |
| ИНОТ | 0.020±0.001 | 0.02±0.01 | 0.030±0.004* | 0.19±0.003* | 0.39±0.002* |

* отклонения исследуемого показателя относительно значений в интактной группе статистически значимы

8. Huang K.T., Huang Z., Kim-Shapiro // *Nutric Oxide*. 2007. Vol. 16 (2), pp. 209-216.
9. Tsoukias N.M., Popel A.S. // *Am. J. Phys. Heart Circ. Physiol.* 2002. Vol. 222, pp. 2265-2277.
10. Калаева Е.А., Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Полюбезьева А.И. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2016. Т. 79. № 9. С. 12-17.
11. Новодержкина Ю.К., Шишканова З.Г., Козинец Г.И. Конфигурация и поверхность клеток в норме и патологии. Москва, Триада-фарм, 2004, 152 с.
12. Козинец Г.И., Погорелов В.М. // *Гематология и трансфузиология*. 2005. № 5. С. 13-17.
13. Руководство по гематологии в 3 т. Т.1. Под ред. А.И. Воробьева. Москва, Ньюдиамед, 2002, 280 с.
14. Кидалов В.Н., Зайцева К.К. // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. 1986. Т. 11. № 7. С. 112-114.
15. Козинец Г.И., Симоварт Ю.. Поверхностная архитектоника клеток периферической крови. Таллин, Валгус, 1984, 116 с.
16. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Семин И.Р. // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2000. Т. 130. № 10. С. 429-432.
17. Баева Е.С. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Воронеж, 2013. – 25 с.
18. Артюхов В.Г., Башарина О.В., Вашанов Г.А., Калаева Е.А., Лавриненко И.А., Наквасина М.А., Путинцева О.В., Радченко М.С., Резван С.Г. Практикум по биофизике. Под ред. В.Г. Артюхова. Воронеж, Издательский дом ВГУ, 2016, 314 с.
19. Применение внутривенного нитроглицерина в неотложной кардиологии: <http://www.osp.ru>
20. Козинец Г.И., Макаров В.А. Исследование системы крови в клинической практике. Москва, Триада-Х, 1998, 480 с.

*Воронежский государственный университет
Путинцева О. В., доктор биол. наук, профессор,
кафедра биофизики и биотехнологии*

*Артюхов В. Г., доктор биол. наук, профессор,
заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии*
Тел.: +7 (473) 220-85-86
E-mail: avg@main.vsu.ru

*Федакова М. А. магистр кафедры биофизики
и биотехнологии*

*Voronezh State University
Putintseva O.V., PhD., DSci., Full Professor,
Department of Biophysics and Biotechnology*

*Artyukhov V. G., PhD., DSci., Full Professor, Head
of the Department of Biophysics and Biotechnology*
Ph.: +7 (473) 220-85-86
E-mail: avg@main.vsu.ru

*Fedakova M.A. Master of Biophysics and
Biotechnology dept.*

CYTOARCHITECTONIC OF DONORS ERYTHROCYTES UNDER CONDITIONS OF EXPOSURE TO THE NITROGLYCERIN MEDICINAL PREPARATION

O. V. Putintseva, V. G. Artyukhov, M. A. Fedakova

Voronezh State University

Abstract. Nitroglycerin (NG) belongs to the group of vasodilators - drugs that are actively used in medical practice to correct disorders at the level of the microvasculature in the development of cardiovascular pathology. With sublingual administration and intravenous administration, NG comes into direct contact with red blood cells, and its decay products are able to penetrate into the cells and influence their shape. Most erythrocytes are normally represented by discocytes with high deformability, elasticity and the ability to supply the body with oxygen. Questions of the mechanisms of NG interaction with erythrocytes remain controversial, but an assessment of the degree of influence of the vasodilator on erythron change and the structural integrity of blood cells can help in predicting and minimizing undesirable reactions of the organism's resistance to its reception. The aim of our work was to study using the modern method of scanning microscopy of human erythrocyte architectonics after contact with NG for a different time period.

It was found that the morphological picture of the native erythrocyte suspension corresponded to that of a healthy person and did not change after 1 h. However after 24 h the number of discocytes decreased to 53.4%, the number of reversibly deformed forms increased to 36.4%, and irreversibly deformed erythrocytes to 10.2%. After modifying the suspension of human erythrocytes NG (5 ng / ml) for 1 and 24 hours, there was a change in the content of individual morphological forms in the population of erythrocytes: the number of biconcave discocytes decreases to 83.2 and 42.8%, the number of reversibly deformed cells increases to 14.2 and 40.7% and irreversibly deformed erythrocytes to 2.6 and 16.5% respectively. Thus, after daily contact with NG, more than 50% of erythrocytes underwent a change in cytoarchitecture: the total number of discocytes ($42.8 \pm 0.12\%$) became less than the total number of reversibly deformed ($40.7 \pm 0.1\%$) and irreversibly deformed ($16.5 \pm 0.11\%$) forms. The chemical modification of erythrocyte membranes found by us with nitroglycerin indicates a violation of the elasticity of the membranes, and, consequently, a decrease in the ability of erythrocytes to elastic deformation in the microvasculature, which entails the difficulty in the complete saturation of cells with oxygen and the accumulation in them of heme protein. As a result of developing resistance, the body suffers an acute lack of oxygen, which represents a serious threat to its health. The revealed features of the interaction of NG with erythrocyte cells indicate the need for strict adherence to the mode of administration and dosing of nitrate vasodilators and control of the morphological picture of erythron in order to obtain the most favorable effect in their application.

Keywords: erythrocytes, nitroglycerin, nitric oxide, scanning electron microscopy, cytoarchitecture.

REFERENCES

1. Belousov YU.B., Kukes V.G., Lepahin V.K., Petrov V.I. *Klinicheskaya farmakologiya*. Moskva, GEHOTAR, 2013, 976 s.
2. Mashkovskij M.D. *Lekarstvennye sredstva*. Moskva, Novaya volna, 2012, 1216 s.
3. *Spravochnik Vidal'*. Lekarstvennye preparaty v Rossii: Spravochnik. – Moskva, AstraFarmServis, 2005, 1536 s.
4. Evdokimova A.G., Evdokimov V.V., Kozhina N.A., *Medicinskij sovet*, 2014, № 8, S. 12-16.
5. Belenkov YU.N., Mareev V.YU. *Principy racional'nogo lecheniya serdechnoj nedostatochnosti. Vspomogatel'nye sredstva lecheniya HSN*. <http://old.consilium-medicum.com/media/book/index.shtml> (data obrashcheniya 20.08.2018).
6. <https://medicalplanet.su/cardiology/407.html> (data obrashcheniya 20.08.2018)
7. Doctor A., Stamler J.S., *Comprehensive Physiol.*, 2011, Vol. 1(1), pp. 541-568.
8. Huang K.T., Huang Z., Kim-Shapiro // *Nutric Oxide*, 2007, Vol. 16 (2), pp. 209-216.
9. Tsoukias N.M., Popel A.S., *Am. J. Phys. Heart Circ. Physiol.*, 2002, Vol. 222, pp. 2265-2277.
10. Kalaeva E.A., Artyuhov V.G., Putinceva O.V., Polyubez'eva A.I., *Ehksperimental'naya i klinicheskayafarmakologiya*, 2016, T. 79, №9, S.12-17.
11. Novoderzhkina YU.K., SHishkanova Z.G., Kozinec G.I. *Konfiguraciya i poverhnost' kletok v norme i patologii*, Moskva, Triada-farm, 2004, 152 s.
12. Kozinec G.I., Pogorelov V.M., *Gematologiya i transfuziologiya*, 2005, № 5, S. 13-17.
13. *Rukovodstvo po gematologii v 3 t.* T.1. Pod red. A.I. Vorob'eva. Moskva, N'yudiamed, 2002, 280 s.
14. Kidalov V.N., Zajceva K.K., *Byull. ehksperim. biologii i mediciny*, 1986, T. 11, № 7, S. 112-114.
15. Kozinec G.I., Simovart YU. *Poverhnostnaya arhitektonika kletok perifericheskoj krovi*, Tallin, Valgus, 1984, 116 s.
16. Novickij V.V., Ryazanceva N.V., Semin I.R., *Byul. ehksperim. biologii i mediciny*, 2000, T. 130, № 10, S. 429-432.
17. Baeva E.S., *Avtoref. diss. kand. biol. nauk*, Voronezh, 2013. – 25 s.
18. Artyuhov V.G., Basharina O.V., Vashanov G.A., Kalaeva E.A., Lavrinenko I.A., Nakvasina M.A., Putinceva O.V., Radchenko M.S., Rezvan S.G. *Praktikum po biofizike*. Pod red. V.G. Artyuhova. Voronezh, Izdatel'skij dom VGU, 2016, 314 s.
19. *Primenenie vnutrivennogo nitroglicerina v neotlozhnoj kardiologii*: <http://www.osp.ru>
20. Kozinec G.I., Makarov V.A., *Issledovanie sistemy krovi v klinicheskoy praktike*, Moskva, Triada-H, 1998, 480 s.