

## МЕТОДИ БІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

УДК 577.352.336 + 57.087

## СПОСІБ АНАЛІЗУ КІНЕТИКИ ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ

**Д.Ф. Астаповіч<sup>1</sup>, В.П. Берест<sup>1</sup>, Л.В. Батюк<sup>2</sup>, О.А. Муравейник<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна<sup>2</sup>Харківський національний медичний університет, пр. Науки, 4, Харків, 61022, Україна<sup>3</sup>Комунальний заклад охорони здоров'я «Харківська міська клінічна лікарня № 7», Салтівське шосе, 266, Харків, 61178, Україна

e-mail: astapovich.4225@gmail.com

Надійшла до редакції 9 листопада 2016 року

Прийнята 24 листопада 2016 року

Дослідження гемолітичної стійкості еритроцитів проводиться при різних патологічних станах, включаючи ішемії і ускладнення після інфаркту міокарда. Для опису гемолізу використовують великий набір параметрів, серед яких: тривалості етапів, швидкості стадій, відсоток гемолізованих клітин тощо. Діагностична інтерпретація таких результатів ускладнена і є малоінформативною для клініцистів. Характеристиками гемолізу часто виступають кінетичні параметри. Запропоновано спосіб аналізу кінетики гемолізу, який дозволяє отримувати додаткову інформацію про розподіл еритроцитів за стійкістю. Метод легко реалізується програмно і дозволяє отримувати статистично значущі результати, придатні для автоматизованого діагностування. Розробка була застосована для аналізу кислотних еритрограм здорових добровольців і хворих з серцево-судинною патологією. Описаний підхід до аналізу процесу гемолізу еритроцитів дозволив виявити зміни стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу у людей з ішемічною хворобою серця і зареєструвати зміни в співвідношенні кількості еритроцитів з різною тривалістю циркуляції у кровообігу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** еритроцити, кислотний гемоліз, ішемічна хвороба серця, гемолітична стійкість, диференційна еритрограма.

## СПОСОБ АНАЛИЗА КИНЕТИКИ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ

**Д.Ф. Астапович, В.П. Берест, Л.В. Батюк, О.А. Муравейник***Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61022, Украина**Харьковский национальный медицинский университет, пр. Науки, 4, Харьков, 61022, Украина**Коммунальное учреждение охраны здоровья «Харьковская городская клиническая больница № 7», Салтовское шоссе, 266, Харьков, 61178, Украина*

Исследование гемолитической устойчивости эритроцитов проводится при различных патологических состояниях, включая ишемии и осложнения после инфаркта миокарда. Для описания гемоллиза используют большой набор параметров, среди которых: длительности этапов, скорости стадий, процент гемоллизированных клеток и другие. Диагностическая интерпретация таких результатов затруднена и малоинформативна для клиницистов. Характеристиками гемоллиза часто выступают кинетические параметры. Предложен способ анализа кинетики гемоллиза, позволяющий получать дополнительную информацию о распределении эритроцитов по стойкости. Метод легко реализуется программно и позволяет получать статистически значимые результаты, пригодные для автоматизированного диагностирования. Разработка была применена к анализу кислотных эритрограмм здоровых добровольцев и больных с сердечно-сосудистой патологией. Описанный подход к анализу процесса гемоллиза эритроцитов позволил выявить изменения устойчивости эритроцитов к кислотному гемоллизу у людей с ишемической болезнью сердца и обнаружить изменение в соотношении количества эритроцитов с разной продолжительностью циркуляции в кровотоке.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** эритроциты, кислотный гемоллиз, ишемическая болезнь сердца, гемолитическая стойкость, дифференциальная эритрограма.

## APPROACH TO ANALYSE KINETICS OF ERYTHROCYTE HEMOLYSIS

**D.F. Astapovich, V.P. Berest, L.V. Batiuk, O.A. Muraveynik***V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine**Kharkiv National Medical University, 4 Nauky Ave., Kharkiv, 61022, Ukraine**Kharkiv municipal clinical hospital № 7, 266 Saltivske highway, Kharkiv, 61178, Ukraine*

The hemolytic stability of erythrocytes is studied under various pathological conditions, including ischemia and complications after myocardial infarction. A large set of parameters are used to describe hemolysis, among which the duration of stages, the rate of stage, the percentage of hemolysed cells and others. Diagnostic interpretation of such results is difficult and is of little purpose for clinicians. The characteristics of hemolysis often are the kinetic parameters. A method for analyzing the kinetics of hemolysis is proposed, which makes it possible to obtain additional information on the distribution of erythrocytes by their hemolytic resistance. The method is easily implemented and allows obtaining statistically significant results suitable for automated diagnosis. The developed methodology was applied to the analysis of acid hemolysis of healthy volunteers and patients with cardiovascular pathology. The described approach to the analysis of the process of hemolysis of erythrocytes made it possible to reveal changes in the resistance of erythrocytes to acid-induced hemolysis in people with coronary heart disease and to detect a change in the ratio of the number of erythrocytes with different life span in the circulation.

**KEY WORDS:** erythrocytes, acid hemolysis, ischemic stroke, hemolytic resistance, differential erythrogram.

Автоматизація рутинних лабораторних досліджень - важливий крок на шляху впровадження комп'ютеризованої діагностики (CAD) в медичну практику. Поряд з широким використанням CAD-систем в цифровій медичній візуалізації рентгенівських, ЯМР і ультразвукових досліджень попередній аналіз і типування клінічних лабораторних діагностичних даних стає актуальним завданням, зокрема для створення лабораторій на чипі та впровадження експрес-діагностики «біля ліжка хворого» (point-of-care testing) [1, 2, 18]. Серед безлічі показників, що характеризують властивості еритроцитів, найбільш важливим є їх резистентність - стійкість до ушкоджуючої дії різних факторів, яка є інтегральним показником структурно-функціонального стану еритроцитів.

Дослідження резистентності еритроцитів до кислотного гемолізу є досить простим і поширеним в дослідницькому середовищі методом оцінки їх структурного стану, фізико-хімічних властивостей. Метод кислотних еритрограм дозволяє диференціювати еритроцити за гемолітичною стійкістю. На цей час для опису еритрограм використовують параметри, що відображають кінетику процесу або апаратні особливості реєстрації гемолізу, а не стан клітин: максимуми світлопропускання, константи швидкостей і тривалості окремих стадій процесу гемолізу [3-7, 19]. Проте, параметри резистентності еритроцитів можуть бути використані серед інших еритроцитарних показників в панелі загальноклінічних досліджень [2]. Для цього потрібен новий підхід для аналізу кінетики гемолізу, який дозволяв би інтерпретувати типові особливості протікання процесу гемолізу виходячи із властивостей еритроцитів в гематологічних термінах, які мали б діагностичну цінність для клініцистів та були б придатні для комп'ютеризованої постановки діагнозів.

Зміна мутності суспензії еритроцитів впродовж гемолізу найповніше аналізується за допомогою апаратного або програмного диференціювання часового ходу оптичної густини [6, 7, 10]. На отримуваних таким чином диференційних еритрограмах спостерігають кілька екстремумів, які відповідають різним етапам процесу зміни структурного стану та форми еритроцитів - зміні форми, набухання та власне гемолізу клітин. Статистично значуща реєстрація зміни форми та навіть набухання еритроцитів у великій мірі залежить від апаратних особливостей методики, в той же час максимуми швидкості власне лізису клітин чітко реєструються будь-якою методикою, навіть із використанням найпоширеніших в клініко-діагностичних лабораторіях широкощільових ФЕКів.

Метою роботи була розробка швидкого, автоматизованого підходу до аналізу кінетики гемолізу еритроцитів і перевірка його надійності при вивченні еритрограм хворих із серцево-судинною патологією.

Ішемічна хвороба серця (ІХС) є частою причиною смерті та інвалідності. Смертність від цього захворювання складає близько третини серед усіх випадків

загибелі в розвинених країнах. Вона набагато випереджає інші захворювання в якості причини раптової смерті. Істотну роль у формуванні судинних ускладнень при ішемії відіграють порушення функціональної активності еритроцитів, зумовлені зміною молекулярної організації клітинних мембран [5]. У пацієнтів з ІХС спостерігається підвищення кислотної резистентності еритроцитів та переважання молодих форм еритроцитів [14]. Вивчення морфофункціональних особливостей еритроцитів має важливе клінічне значення в діагностиці постішемічних ускладнень та перебігу лікування серцево-судинних патологій [8]. В роботі ми застосували розроблений нами спосіб автоматизованого визначення параметрів морфо-функціонального стану еритроцитів за кінетичними кривими гемолізу еритроцитів зразків крові хворих на ІХС з метою виявлення різниці між субпопуляціями еритроцитів у нормі та при патології.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліджувалась стійкість еритроцитів до кислотної гемолізу 2 груп людей: перша група - практично здорові добровольці (контроль), друга - хворі на ІХС у віці від 35 до 55 років. Кількість досліджених зразків крові в кожній експериментальній групі складала 16.

Суспензію еритроцитів готували з цільної венозної крові стабілізованої гепарином центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 20 хвилин, видаляли плазму і знімали лейкоцитарну плівку з поверхні осаду еритроцитів. Суспензію двічі відмитих фізіологічним розчином (0,15 М NaCl, рН=7,3) еритроцитів розводили фізіологічним розчином у об'ємному співвідношенні 1:1. В якості гемолітика використовувався розчин 1 н HCl, який додавали по 50 мкл до 450 мкл суспензії клітин. Реєстрацію еритрограм здійснювали двоканальним формомером-агрегометром ФА-01.

За кінетичними кривими зміни оптичної щільності суспензії еритроцитів будували диференціальну і інтегральну криві гемолізу [6-8, 10, 17] та визначали стандартний набір параметрів кислотної резистентності еритроцитів. Розрахунок частки еритроцитів ( $G$ , %) що розпалися за проміжок часу  $t$ , проводили за формулою:

$$G = \frac{D_i - D_{i-1}}{D_0 - D_\infty} \cdot 100\%,$$

де  $D$  - оптична щільність,  $D_0$  і  $D_\infty$  - її початкові і кінцеві значення,  $i$  - порядковий номер вимірювання.

Звичайний аналіз кислотних еритрограм здорових добровольців і пацієнтів із діагнозом ІХС проводився за наступними показниками відповідно до робіт [8, 10, 17]: тривалість гемолізу, пік гемолізу, ширина інтервалу гемолізу домінуючої групи еритроцитів в популяції.

Для отримання більш детальної інформації щодо розподілу еритроцитів за стійкістю до гемолітичної дії HCl ту частину диференційної еритрограми, яка відповідає власно гемолізу клітин,

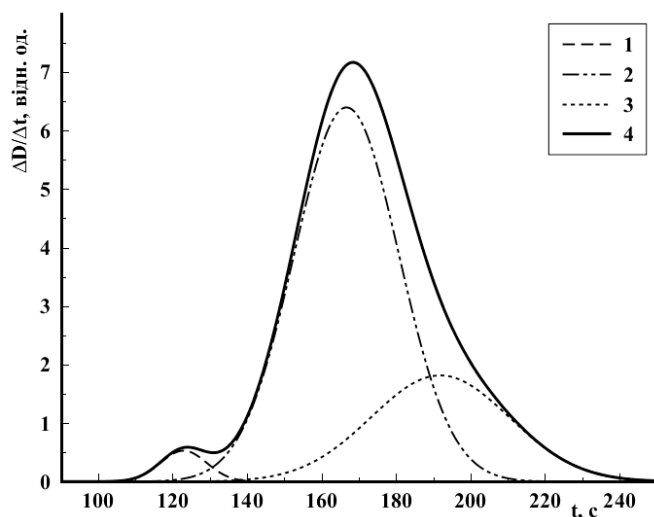


Рис. 1. Деконволюція типової диференційної еритрограми - 4:

- 1 - популяція еритроцитів низької стійкості;
- 2 - популяція еритроцитів середньої стійкості;
- 3 - популяція еритроцитів високої стійкості.

представляли у вигляді суми трьох гауссових кривих, підбираючи параметри

нормальних розподілів так, щоб збігалися площі під експериментальною та апроксимуючою кривою (рис. 1). Положення максимумів гауссових кривих використовували для визначення часу досягнення максимальної швидкості гемолізу у різних груп стійкості еритроцитів, площа під кривою дозволяла знаходити кількість еритроцитів в кожній групі стійкості. Для оцінки значущості відмінностей середніх використовували t-критерій Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

При нормальному стані організму еритрограма є стабільною і відображає динамічну рівновагу в системі крові, що забезпечує відповідність між процесами кровотворення і руйнування клітин крові [9, 10].

У нормі на диференційній еритрограмі людини є один максимум [9, 11]. Збільшення напівширини еритрограми, поява асиметрії при патології може бути ознакою наявності декількох груп еритроцитів, які різко відрізняються за стійкістю внаслідок різкого порушення рівноваги в системі крові. За появою і зникненням максимумів в деяких випадках можна спостерігати зміну генерацій еритроцитів. Поява декількох максимумів може служити ознакою нерівномірності процесів кровотворення. Спостережуване розширення максимуму може відбуватися за рахунок посилення регенерації еритроцитів у тому числі при патологічному еритропоезі [12, 13].

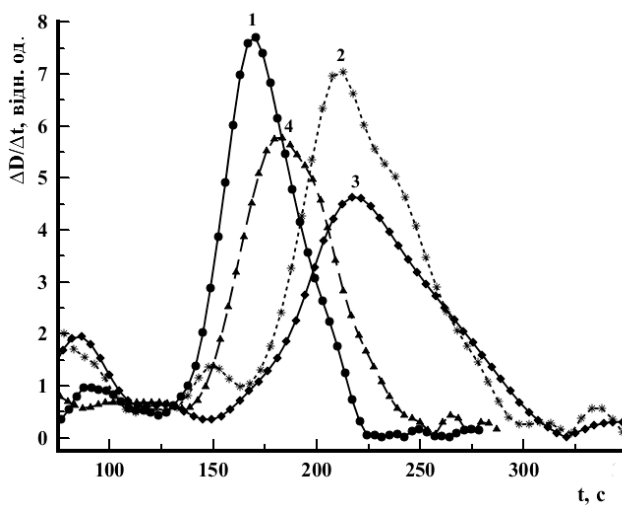


Рис. 2. Диференційна еритрограма:  
1 – контрольна група;  
2-4 – хворі на ІХС на різних етапах лікування.

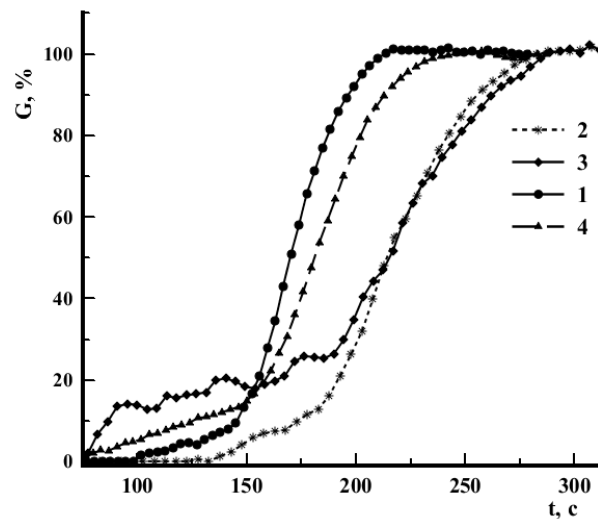


Рис. 3. Інтегральна еритрограма, залежність відсотка гемолізованих клітин від часу:  
1 – контрольна група;  
2-4 – хворі на ІХС на різних етапах лікування.

Для ілюстрації отриманих результатів наведемо типові еритрограми здорового й хворих пацієнтів. Як видно з рис. 2, диференційна еритрограма контрольної групи людей має один великий максимум гемолізу із плечем, якому передують локальний максимум, що вказує на відносну однорідність еритроцитарної популяції, яка відповідає нормобластичному типу кровотворення. Також на диференційній еритрограмі відмічається асиметричність розподілу еритроцитів по стійкості та стадія зміни форми (сферуляції) клітин, яка передують гемолізу. Процес сферуляції проходить до 51 секунди, після чого починається власне гемоліз. Повний час гемолізу складає 150 с. На 123 с припадає перший локальний максимум швидкості гемолізу присутніх в пробі еритроцитів з низькою гемолітичною стійкістю. Максимальна швидкість гемолізу

припадає на 168 с, це свідчить, що в крові переважають еритроцити із середньою стійкістю. На 192 с спостерігається плече основного максимуму, яке свідчить про присутність в пробі молодих еритроцитів, що мають високу стійкість. Аналіз гауссової апроксимації диференційної еритрограми контрольної групи дозволив отримати оцінки кількості у досліджуваному зразку еритроцитів із певною кислотною стійкістю. Так, вміст підвищеностійких еритроцитів віком до 30 днів у здорових людей складає 17-23%, кількість еритроцитів із середньою стійкістю віком 30-90 днів складає 45-60% і кількість еритроцитів з низькою стійкістю віком понад 90 днів складає 18-24% (визначення віку еритроцитів було здійснено ґрунтуючись на [14, 15]). Отриманий результат збігається із висновками іншого дослідження [14], проте не відповідає даним інтегральної кривої гемолізу (рис. 3, крива 1). Ці відмінності у визначенні кількості клітин у різних групах стійкості між існуючим підходом (порівняння часу настання максимуму на диференційній кривій із відсотком гемолізованих клітин на інтегральній кривій) та запропонованим нами способом (розрахунком кількості клітин у кожній групі стійкості за площею під відповідною гауссовою складовою диференціальною еритрограми), очевидно, пов'язана із неврахуванням у запропонованому нами способі аналізу гемолізу тієї частини диференціальної еритрограми, яка передує гемолізу і відповідає стадіям зміни форми. При цьому, визначені нами занижені оцінки кількості еритроцитів із різною стійкістю (різного віку) видаються більш обґрунтованими.

При аналізі кислотної резистентності еритроцитів у хворих на ІХС (рис. 2, криві 2-4, для ілюстрації відібрано типові еритрограми трьох донорів із патологією) ми бачимо зміщення максимуму гемолізу основної групи стійкості праворуч, часто еритрограми мають локальний максимум ліворуч від основного.

На диференційних еритрограмах для всіх хворих на ІХС (n=16) також спостерігається асиметричність розподілу еритроцитів за стійкістю і плече, яке свідчить про неоднорідність популяції клітин. Середня тривалість протікання гемолізу для хворих ІХС складає 165 с. Піки гемолізу припадають на діапазон значень в часі від 192 до 226 с. Тривалість лаг-періоду та час початку гемолізу у всіх зразках еритроцитів хворих є близькими до контролю. Аналіз еритрограм із використанням автоматизованого підходу дозволив встановити, що кількість червоних клітин зі зниженою стійкістю у всіх досліджуваних зразках є меншою і складає 10-15% (табл. 1). Зміщення максимуму гемолізу праворуч свідчить про переважання стійких до гемолізу еритроцитів, віком від 30 до 90 днів, кількість таких клітин складає 60-70%. У всіх дослідних зразках кількість високостійких еритроцитів віком від 1 до 30 днів достовірно перевищувала значення контролю і складала 22-27%.

Таблиця 1

Параметри гауссової апроксимації диференційних еритрограм

|              | Пік | Час настання максимуму, с | Амплітуда максимуму, відн. од. | Напівширина максимуму, с | Площа під кривою, (відн. од.) <sup>2</sup> |
|--------------|-----|---------------------------|--------------------------------|--------------------------|--|
| Контроль     | 1   | 130,4±7,5                 | 0,53±0,12                      | 6,0±1,3                  | 5,6±2,6                                    |
|              | 2   | 164,3±2,4                 | 6,41±1,29                      | 13,5±3,0                 | 229,7±4,0                                  |
|              | 3   | 183,7±8,2                 | 1,81±1,32                      | 23,2±1,4                 | 85,0±0,7                                   |
| Хворі на ІХС | 1   | 159,4±10,6*               | 1,8±2,3                        | 7,8±5,5                  | 10,1±4,3                                   |
|              | 2   | 197,5±12,4*               | 3,3±1,2                        | 11,2±5,5                 | 118,1±45,8*                                |
|              | 3   | 223,9±8,8*                | 2,9±1,4                        | 24,4±8,4                 | 249,7±118,8*                               |

\* відмінності від контролю статистично значущі за критерієм Стьюдента (p < 0,05)

Зареєстровані зміни складу еритроцитарної популяції хворих на ІХС, що виражаються у зміні стійкості еритроцитів до гемолізу, ми пов'язуємо зі структурною перебудовою мембрани еритроцитів при ІХС внаслідок порушення клітинного метаболізму. Інтенсивність і загальна тривалість кислотного гемолізу еритроцитів, а також співвідношення низько- і високостійких еритроцитів відрізняються від контрольної групи. Переважання в популяції еритроцитів з високою кислотною резистентністю вказує на значне її омолодження, яке, очевидно, пов'язане із загибеллю малостійких еритроцитів в зв'язку з деструктивними процесами в еритроцитарних мембранах під час розвитку хвороби.

При використанні типового підходу до аналізу даних кислотного гемолізу еритроцитів виявилось, що у випадку із ІХС статистично достовірні відмінності між контрольною групою та зразками хворих спостерігались лише для такого параметру, як розташування основного максимуму – часу настання максимальної швидкості певної стадії процесу гемолізу, але не для напівширини, швидкості певної стадії або інших часто обговорюваних параметрів гемолізу. У той же час, статистично значущі відмінності виявлено при підрахунку площин під гауссовими кривими (пропорційними відносній кількості клітин у певній групі стійкості). Цікавим є той факт, що навіть для невеликої когорти пацієнтів, відібраних для даного дослідження, вдалося отримати статистично значущі відмінності. Отже, оцінка кислотної резистентності еритроцитів хворих на ІХС за допомогою нового підходу виявила відмінності у кількості еритроцитів в субпопуляціях різних за стійкістю до гемолізу. Запропонований метод добре спрацював у передбачуваних умовах стосовно виявлення очікуваних змін. Подальше накопичення власних експериментальних даних, опрацювання бібліографічних даних із вивчення даного захворювання, а також інших, наприклад, серцево-судинних патологій, дозволить визначити критичний діапазон значень таких параметрів як час настання максимуму та площа під відповідною нормальною кривою для автоматичного віднесення їх до норми чи певного захворювання.

Проаналізуємо результати розподілу еритроцитів хворих на ІХС за стійкістю до кислотного гемолізу. Кислотна резистентність еритроцитів дозволяє судити, перш за все, про стан фосфоліпідного бішару й білків мембран еритроцитів. При кислотному гемолізі власне лізису клітин передує взаємодія гемолітика із мембраною та його транспорт в клітину [14], що може ушкоджувати мембрану чи вести до формування пор в ліпідному бішарі. Літературні дані свідчать, що активація вільнорадикальних процесів при ІХС веде до розвитку оксидативного стресу, який є одним з універсальних механізмів ушкодження клітин [13]. У еритроцитах хворих на ІХС відзначають збільшення вмісту холестерину в мембрані, збільшення мікров'язкості мембрани, зміну її фосфоліпідного та жирно-кислотного складу, активацію перекисного окислення ліпідів, зміну антиоксидантного потенціалу, а також порушення функціонування  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ - й  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз [16].

Дослідження кислотної резистентності еритроцитів хворих на ІХС показало, що час настання максимальної швидкості гемолізу основної групи стійкості еритроцитів був більшим, порівняно із нормою, а значить, еритроцити хворих виявились більш резистентними до дії кислоти, ніж клітини здорових донорів. Можливо, це пов'язано із підвищеним вмістом холестерину в мембрані еритроцитів при ІХС, що зменшує проникність мембрани еритроцитів і підвищує її жорсткість, перешкоджаючи деструкції клітини під впливом низького рН. У той же час, збільшення субпопуляції молодих (із напевно малим вмістом холестерину в мембрані) підвищеностійких до гемолізу еритроцитів у зразках крові пацієнтів із ІХС, може свідчити про існування ще

одного компенсаторного механізму – на рівні системи кровотворення – для забезпечення потрібної кількості еритроцитів із «нежорсткими», добре проникними для кисню та нутрієнтів мембранами для протистояння ішемії.

Визначення таких показників гемолізу як кількість та вік еритроцитів у різних субпопуляціях за кислотною стійкістю може виступати в якості прогнозу ступеня ушкодження клітин крові при ІХС, передбачати імовірність ускладнень та визначати групи ризику пацієнтів із вичерпаними резервами адаптації та корегувати антиатерогенну терапію.

### ВИСНОВКИ

Розроблено новий підхід до аналізу кінетики кислотного гемолізу еритроцитів на основі апроксимації диференційних еритрограм із автоматизованою оптимізацією єдиного параметру – площі під кривою.

Виявлено зміни в розподілі за стійкістю еритроцитів у хворих на ішемічну хворобу серця – підвищення вмісту клітин з високою кислотною резистентністю, що свідчить про переважання молодих еритроцитів в кровотоці.

Запропонований підхід характеризується високою точністю результатів, що дозволяє отримувати стистично достовірні дані, завдяки чому його можна адаптувати для експрес-діагностики в клінічних умовах.

Перспективою дослідження є подальше накопичення експериментальних даних, визначення критичного рівня значень таких параметрів диференційних еритрограм як час настання основного максимуму та площа під відповідною нормальною кривою для автоматичного діагностування норми чи певної патології; встановлення кореляції між пропонованими нами параметрами та показниками стандартної панелі клінічних лабораторних аналізів для з'ясування молекулярних механізмів деструктивних процесів еритроцитарних мембран у кардіологічних хворих.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Mahapatra D. Recent advances in statistical data and signal analysis: Application to real world diagnostics from medical and biological signals / D. Mahapatra, K. Agarwal, R. Khosrowabadi, D.K. Prasad // *Comput. Math. Methods Med.* – 2016. – V. 2016. – Article ID 1643687.
2. Review of point-of-care testing and biomarkers of cardiovascular diseases in emergency and prehospital medicine / P.G. Claret, X. Bobbia, C. Roger [et al.] // *Acta Cardiol.* – 2015. – V. 70 (5). – P. 510-515.
3. Kinetics of hemolysis of normal and abnormal red blood cells in glycerol-containing media. / A. Sauer, T. Kurzion, D. Meyerstein, N. Meyerstein. // *Biochim Biophys Acta.* – 1991. – V. 1063 (2). – P. 203-211.
4. Chmura A. The kinetics of hemolysis as an indicator of spherocytosis. / A. Chmura, G. Paździor, M. Langner // *Cell Mol Biol Lett.* – 2002. – V. 7 (2). – P. 280.
5. Поиск взаимосвязей между параметрами кинетики кислотного гемолиза эритроцитов и функциональным состоянием организма / И.Л.Голенда [и др.] // *Физиология человека.* – 1996. – Вып. 4 (22). – С. 130-136. / *Poisk vzaimosvjazej mezhdu parametrami kinetiki kislotnogo gemoliza jeritrocitov i funkcional'nym sostojaniem organizma* / I.L.Golenda [i dr.] // *Fiziologija cheloveka.* – 1996. – V. 4 (22). – S. 130-136.
6. Иванов И.Т. Кинетика кислотного гемолиза в изотонической среде сахарозы. / И.Т. Иванов, Ю.Д. Данаилова. // *Биофизика.* – 1991. – V 36 (5). – С. 845-849. / *Ivanov I.T. Kinetika kislotnogo gemoliza v izotonicheskoj srede saharozy.* / I.T. Ivanov, Ju.D. Danailova. // *Biofizika.* – 1991. – V. 36 (5). – S. 845-849.
7. Заводник И.Б. Кислотный лизис эритроцитов человека. / И.Б. Заводник, Т.П. Пилецкая // *Биофизика.* – 1997. – Вып. 5 (42). – С. 1106-1112. / *Zavodnik I.B. Kislotnyj lizis jeritrocitov cheloveka.* / I.B. Zavodnik, T.P. Pileckaja // *Biofizika.* – 1997. – V. 5 (42). – S. 1106-1112.
8. Резистентность к кислотному гемолизу эритроцитов кролей при экспериментальном сахарном диабете и применении сахароснижающих средств / Т.А. Шаталова [и др.] // *Біофізичний вісник.* – 2013. – Вып. 2 (30). – С. 35-41. / *Pezistentnost' k kislotnomu gemolizu jeritrocitov krolej pri*

- jeksperimental'nom saharom diabete i primenenii saharosnizhajushhих sredstv / Т.А. Shatalova [i dr.] // Biofizicnij visnik. – 2013. – V. 2 (30). – S. 35-41.
9. Иванов И.Т. Сравнение механизмов кислотного и щелочного гемолиза эритроцитов человека / И. Т. Иванов // Биофизика. – 2001. – Вып. 2 (46). – С. 281–290. / Ivanov I.T. Sravnenie mehanizmov kislotnogo i shhelochnogo gemoliza jeritrocitov cheloveka / I. T. Ivanov // Biofizika. – 2001. – V. 2 (46). – S. 281–290.
  10. Терсков И.А. Метод химических (кислотных) эритрограмм / И.А. Терсков, И.И. Гительзон // Биофизика. – 1957. – Вып. 2 (2). – С. 259–266. / Terskov I.A. Metod himicheskikh (kislotnyh) jeritrogramm / I.A. Terskov, I.I. Gitel'zon // Biofizika. – 1957. – V. 2 (2). – S. 259–266.
  11. Гительзон И.И. Состав красной крови в норме и патологии / И.И. Гительзон. – Томск, 1960. – С. 187. / Gitel'zon I.I. Sostav krasnoj krovi v norme i patologii / I.I. Gitel'zon. – Tomsk, 1960. – S. 187.
  12. Вочегорский И.А. Антиоксиданты при экспериментальном сахарном диабете / И.А. Вочегорский, Л.М. Рассохина, И.Ю. Мирошниченко // Пробл. эндокринологии. – 2008. – Вып. 54 (5). – С. 43–49. / Vohegorskij I.A. Antioksidanty pri jeksperimental'nom saharom diabete / I.A. Vohegorskij, L.M. Rassohina, I.Ju. Miroshnichenko // Probl. jendokrinologii. – 2008. – V. 54 (5). – S. 43–49.
  13. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений сахарного диабета и применение витаминов и микроэлементов для их лечения и профилактики / М.И. Балаболкин // Клиническая эндокринология. – 2006. – Вып. 6. – С. 1–7. / Balabolkin M.I. Rol' okislitel'nogo stressa v patogeneze sosudistyh oslozhnenij saharного diabeta i primenenie vitaminov i mikrojelementov dlja ih lechenija i profilaktiki / M.I. Balabolkin // Klinicheskaja jendokrinologija. – 2006. – V. 6. – S. 1–7.
  14. Китаева В.О. Определение кислотной резистентности эритроцитов и уровня гормона стресс-реакции эстрадиола у больных ишемической болезнью сердца. / В.О. Китаева, Ф.А. Гершкорон // Научный медицинский вестник ЮГРЫ. – 2014. – Вып. 1-2 (5-6). – С. 79–81. / Kitaeva V.O. Opredelenie kislotnoj rezistentnosti jeritrocitov i urovnja gormona stress-reakcii jestradiola u bol'nyh ishemicheskoi bolezniju serdca. / V.O. Kitaeva, F.A. Gershkoron // Nauchnyj medicinskij vestnik JuGRY. – 2014. – V. 1-2 (5-6). – S. 79–81.
  15. Галенок В.А. Гемореология при нарушениях углеводного обмена / В.А. Галенок, Е.В. Гостинская, В.Е. Диккер. – Новосибирск, 1987. – С. 86. / Galenok V.A. Gemoreologija pri narushenijah uglevodnogo obmena / V.A. Galenok, E.V. Gostinskaja, V.E. Dikker. – Novosibirsk, 1987. – S. 86.
  16. Мальцева И.В. Характеристика резистентности эритроцитов у кардиохирургических больных с различной степенью выраженности постперфузионного гемолиза / И.В. Мальцева // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12, Вып. 1. – С. 69–74. / Mal'ceva I.V. Harakteristika rezistentnosti jeritrocitov u kardiohirurgicheskikh bol'nyh s razlichnoj stepen'ju vyrashennosti postperfuzionnogo gemoliza / I.V. Mal'ceva // Bjulleten' sibirskoj mediciny. – 2013. – T. 12, V. 1. – S. 69–74.
  17. Руководство по гематологии: в 3 т. / Под ред. А.И. Воробьева: 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Ньюдиамед, 2005. - 416 с. / Rukovodstvo po gematologii: v 3 t. / Pod red. A.I. Vorob'eva: 3-e izd., pererab. i dop. - M.: N'judiamed, 2005. - 416 s.
  18. Castellino R.A. Computer aided detection (CAD): an overview / R.A. Castellino // Cancer Imaging. – 2005. - V 5 (1). – P. 17–19.
  19. Pokrajac L. Oligomerization and hemolytic properties of the C-terminal domain of pyolysin, a cholesterol-dependent cytolysin / L. Pokrajac. J.R. Harris, N. Sarraf, M. Palmer // Biochem. Cell Biol. – 2013. – V. 91, N. 2. – P. 59-66.