

УДК 615.831.4 : 612.111] : 615.015.4

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Левин Г.Я., Соснина Л.Н.

*ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, e-mail: larsos@mail.ru*

Цель настоящего исследования – изучить реологические свойства эритроцитов, «заполненных» гепарином с помощью ультрафиолетового облучения (УФО). Исследования проведены на 20 пробах крови здоровых доноров. Гепарин добавляли к отмытым эритроцитам, которые затем подвергали воздействию УФО. Способность эритроцитов депонировать гепарин под действием УФО определяли по изменению тромбинового времени аутоплазмы. Изучали агрегацию, деформируемость и морфологию интактных эритроцитов после воздействия УФО и эритроцитов, инкубированных в растворе гепарина и обработанных УФО в течение часа (длина волны 360 нм). Выявлено, что УФО способствует депонированию гепарина внутри клеток. Исследование реологических свойств эритроцитов показало, что деформируемость эритроцитов в пробах, которые обрабатывались УФО, незначительно снижалась. Депонирование гепарина в клетках способствовало дальнейшему увеличению ригидности эритроцитов. Установлено, что степень агрегации эритроцитов под действием УФО не изменялась. Депонирование гепарина клетками приводило к повышению степени агрегации. Скорость агрегации и дезагрегации практически не отличались от исходных показателей. УФО приводило к незначительному увеличению содержания эхиноцитов. «Захват» гепарина эритроцитами не оказывал влияния на диск-сферическую трансформацию клеток. Можно заключить, что УФО эритроцитов способствует депонированию гепарина внутри клеток и в незначительной степени ухудшает их реологические свойства.

Ключевые слова: гепарин, направленный транспорт лекарств, ультрафиолетовое облучение крови, агрегация, деформируемость, морфология эритроцитов

ANALYSIS OF RHEOLOGICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES MODIFIED FOR DRUG DELIVERY

Levin G.Y., Sosnina L.N.

*FBGU «Nizhne-Novgorodskiy Research Institution of Traumatology and Orthopedii»
Ministry of Health Russian Federation, Nizhniy Novgorod, e-mail: larsos@mail.ru*

The purpose of this analysis is to study the rheological properties of erythrocytes «filled up» with heparin with the use of ultraviolet radiation (UV). The analysis have been conducted on 20 samples of healthy donors. Heparin was added to washed erythrocytes, which later on were UV subjected. The ability of erythrocytes to deposit heparin under UV was determined through the change of thrombin time of autoplasm. There have been studied aggregation, deformability and morphology of intact erythrocytes after UV process and of erythrocytes incubated in heparin solution and subjected to UV for one hour (wave length – 360 nm). It turned out that UV favours the deposition of heparin inside the cells. The study of rheological properties of erythrocytes has proved that the deformability of erythrocytes in samples subjected to UV has reduced insignificantly. The deposition of heparin within the cells promotes further increase of erythrocytes rigidity. It was determined that the aggregation degree of erythrocytes subjected to UV has not changed. The deposition of heparin by cells has increased the degree of aggregation. Practically, the velocity of aggregation and disaggregation has not differed from the initial data. UV leads to a slight increase in echinocytes. «The capture» of heparin by erythrocytes has not influenced the disk-spherical transformation of cells. It could be concluded that UV of erythrocytes promotes the deposition of heparin inside the cells and slightly deteriorates their rheological properties.

Keywords: heparin, drug delivery, UV of blood, aggregation, deformability and morphology of erythrocytes

Одной из важнейших проблем современной фармакологии является создание новых лекарственных форм существующих препаратов, позволяющих значительно пролонгировать их действие. Для создания новых лекарственных форм используются самые разнообразные подходы – от химической модификации препарата до заключения его в капсулы и оболочки. Среди возможных контейнеров для лекарственных препаратов особое место занимают естественные контейнеры – клетки крови человека, в которые при определенных условиях может быть введена большая доза препара-

та без заметного ущерба для жизни клетки. Для этих целей наиболее часто применяют эритроциты [10].

Основная особенность и преимущество аутоэритроцитов в качестве транспортной формы лекарства – абсолютная биосовместимость с организмом человека. Не вызывающие побочных эффектов и отсроченных аллергических реакций эритроциты достаточно долго циркулируют в организме. Так как их объем относительно велик, а побочные эффекты практически отсутствуют, то доза депонированного в нем лекарства может быть доведена до уровня, во много раз

превышающего его переносимость при непосредственном, например, внутривенном или внутримышечном введении [8].

Включение лекарственных средств в эритроциты может осуществляться путем обратимого гипосмотического лизиса клеток с образованием пор в клеточной мембране, при индукции эндоцитоза за счет повышения проницаемости клеточной мембраны, при помещении клеток в электрическое поле высокого напряжения [10, 13]. Широкому применению данных методов в клинике препятствуют технические трудности воспроизведения. Кроме того, их недостатком является заметное повреждение эритроцитов в ходе длительных и травматичных для клеток процедур [3, 10, 11].

Мы предложили новый метод модификации мембран эритроцитов для направленного транспорта лекарственных веществ с помощью ультрафиолетового облучения (УФО). Показано, что ультрафиолетовое облучение крови (УФО) повышает проницаемость мембран эритроцитов [4, 12]. Поэтому можно полагать, что при этом повышается их способность депонировать лекарственные препараты. Большое значение имеет то, что УФО широко используется в клинической практике. Для «заполнения» эритроцитов лекарственными веществами УФО до сих пор не использовалось. Изменяются ли при этом функциональные свойства эритроцитов – также остается невыясненным.

Цель настоящего исследования – изучить реологические свойства (деформируемость, агрегацию) и морфологию эритроцитов, «заполненных» лекарственным веществом (гепарином) с помощью УФО.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 20 пробах крови здоровых доноров. В качестве лекарственного вещества, которым «заполняли» эритроциты, использовали гепарин производства ОАО «Синтез» (г. Курган).

Способ повышения проницаемости мембраны эритроцитов для депонирования клетками лекарственных средств осуществляли следующим образом. Кровь для исследований забирали из кубитальной вены с помощью вакутайнеров (Standardplus & Medical Co., Ltd) в 3,8% цитрат натрия. Для выделения эритроцитарной массы центрифугировали кровь в течение 20 минут при 3000 об/мин. Удаляли тромбоцитарно-лейкоцитарную пленку. Плазму в дальнейшем использовали для определения наличия гепарина в эритроцитах. Отмывали эритроциты один раз в физиологическом растворе. Удаляли супернатант и разливали оставшуюся суспензию эритроцитов по 0,5 мл в четыре пробирки. Затем в первую и третью пробирку добавляли 1 мл физиологического раствора, во вторую и четвертую – 1 мл раствора гепарина, разведенного в физиологическом растворе (4000 МЕ гепарина и 1,5 мл физио-

логического раствора). Суспензию эритроцитов (с физиологическим раствором) из третьей пробирки и суспензию эритроцитов (с гепарином) из четвертой пробирки подвергали воздействию ультрафиолетового облучения (УФО) с длиной волны 360 нм в течение часа с помощью аппарата ОВК-03-07 («Кварцприбор», Санкт-Петербург). После этого суспензию эритроцитов во всех пробирках отмывали физиологическим раствором 3 раза для удаления гепарина, оставшегося вне клеток. Далее часть отмывтых эритроцитов из всех проб гемолизировали 0,5 мл дистиллированной воды. Затем 0,1 мл полученного гемолизата из каждой пробирки смешивали с 0,1 мл аутоплазмы. Измерение тромбинового времени свертывания плазмы производили на 1-канальном коагулометре ВС-1 «Sticker Elektronik» (Германия). Для этого 0,1 мл полученной смеси плазмы крови и гемолизата эритроцитов помещали в кювету коагулометра, инкубировали 1 минуту при 37°C, после чего добавляли 0,1 мл тромбина (производство НПО РЕНАМ).

Проводили исследования реологических свойств оставшихся негемолизированных эритроцитов во всех пробах.

Агрегацию и дезагрегацию эритроцитов исследовали на приборе собственной конструкции [9], в котором использован принцип, предложенный Н. Schmid-Schonbain et. al. [14]. В данном приборе клетки крови помещают в камеру между двумя плоскопараллельными пластинами, вращающимися навстречу друг другу. Процесс агрегации и дезагрегации эритроцитов регистрировали на самописце (по изменению оптической плотности) после гидродинамического перемешивания суспензии клеток и остановки вращения. По полученной агрегатограмме рассчитывали следующие параметры агрегации: максимальную амплитуду M_A (показатель степени агрегации), амплитуду через 40 с после начала агрегации – A_{40} и время, за которое достигается половина максимальной амплитуды $T_{1/2}$ (показатели скорости), степень дезагрегации – при скоростях сдвига 10 c^{-1} (D_{10}), 15 c^{-1} (D_{15}), 20 c^{-1} (D_{20}). Деформируемость эритроцитов определяли в ригидометре собственной конструкции [1]. Принцип метода заключается в том, что в сдвиговом потоке, создаваемом между двумя коаксиальными цилиндрами, создается такое напряжение сдвига, при котором деформации (вытяжению) подвергаются наиболее деформабельные эритроциты [2]. Оценка деформируемости эритроцитов осуществлялась по соотношению деформируемых (вытянутых) и недеформируемых эритроцитов в микроскопе Primo Star Carl Zeiss (Германия) при увеличении $\times/000$. Кроме оценки общей деформируемости эритроцитов определяли ее степень по количеству максимальной и средней деформации (вытяжению) эритроцитов.

Метод исследования морфологии эритроцитов заключался в фиксации эритроцитов 0,3% глутаральдегидом (Scharlau Chemie S.A., Испания) и дальнейшем изучении их формы в микроскопе Primo Star Carl Zeiss (Германия) при увеличении $\times/000$. Определялось количество дискоцитов, эхиноцитов и стоматоцитов.

Полученные данные обрабатывали с помощью метода непараметрической статистики с применением критерия парных сравнений Вилкоксона при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. За уровень статистической значимости принято $p = 0,05$.

**Результаты исследования
и их обсуждение**

Как показали проведенные исследования, тромбиновое время свертывания плазмы, в которую добавляли гемолизат отмытых эритроцитов, инкубированных с физиологическим раствором, или гемолизат эритроцитов, инкубированных с гепарином, практически одинаково. Это свидетельствует как о том, что гепарин не проникает внутрь интактных эритроцитов, так и о том, что трехкратное отмывание красных клеток крови полностью его удаляет с поверхности мембран. В пробе, где к плазме добавляли гемолизат эритроцитов, полученный после воздействия УФО на их суспензию с гепарином, время свертывания плазмы увеличивалось в среднем на 30% ($p < 0,05$). Этот эффект сохранялся, несмотря на то, что после ультрафиолетового облучения эритроциты трижды отмывали от гепарина физиологическим раствором. Полученные данные свидетельствуют о том, что УФО эритроцитов, находящихся в физиологическом растворе, содержащем гепарин, приводит к депонированию последнего внутри клеток.

Далее проводили исследования реологических свойств негемолизированных эритроцитов.

Одним из важных реологических свойств эритроцитов является степень их деформируемости, которая связана с вязко-эластичностью мембранного цитоскелета, вязкостью цитоплазмы клетки и соотношением объема и площади поверхности [7]. Благодаря этому свойству эритроциты могут проникать в кровеносные сосуды меньшего, чем они сами, диаметра и таким образом обеспечивать эффективность их транспорта и оксигенацию тканей. Как показали проведенные нами исследования, деформируемость эритроцитов в пробах, которые в течение 1 часа обрабатывались УФО, снижалась хотя и статистически достоверно, но незначительно (табл. 1). При этом наблюдаемое повышение регидности эритроцитов, «заполненных» гепарином, было обусловлено в основном уменьшением количества наиболее деформируемых клеток. Следует отметить, что деформируемость эритроцитов, «заполненных» гепарином, была на 4% ниже, чем у клеток, которые подвергались обработке только УФО. Это могло быть связано с тем, что гепарин, поступая в клетку, увеличивает объем внутриклеточной жидкости. Как следствие, усиливается механическое напряжение мембраны, которое приводит к снижению деформируемости эритроцитов [5].

Таблица 1

Изменение деформируемости и морфологии эритроцитов при депонировании клетками гепарина

	Деформируемость эритроцитов (%)			Морфология эритроцитов (%)		
	общая	сильно	средне	дискоциты	эхиноциты	стоматоциты
1-я проба (контроль): эритроциты + физиологический раствор	83,00 ± 4,74	51,35 ± 12,76	31,64 ± 10,63	88,15 ± 5,56	11,15 ± 5,09	0,76 ± 0,83
2-я проба: эритроциты + гепарин	81,6 ± 4,89	47,47 ± 8,73	34,13 ± 8,35	87,90 ± 4,93	10,36 ± 5,26	0,82 ± 0,87
3-я проба: эритроциты + физиологический раствор + УФО	79,92 ± 4,05 *	43,38 ± 7,46*	35,62 ± 6,00*	84,77 ± 5,23*	13,54 ± 5,08*	0,92 ± 0,95
4-я проба: эритроциты + гепарин + УФО	76,67 ± 5,31*	37,83 ± 8,78*	36,83 ± 7,49	84,33 ± 4,87*	14,83 ± 4,76*	0,83 ± 1,03

Примечания:

* – $p < 0,05$, сравнение с контролем, критерий Вилкоксона;

· – $p < 0,05$, сравнение 3-ей и 4-ой пробы, критерий Вилкоксона.

Было установлено, что морфологические свойства эритроцитов изменялись также незначительно. При этом наблюдалось небольшое увеличение количества эхиноцитов (табл. 1). Важно, что количество дискоидных форм эритроцитов в пробах, обработанных УФО с гепарином и без него,

оставалось одинаковым. Известно, что биологическое действие УФО обусловлено способностью молекул веществ, входящих в состав клеток живых организмов, поглощать кванты излучения и вследствие этого вовлекаться в различные фотохимические реакции, изменяющие их строение и функ-

ции [12]. В то же время нами показано, что более 80% эритроцитов, обработанных УФО, имели форму дискоцитов, и лишь около 14% клеток – эхиноцитов, которые, как известно, являются обратимой формой и могут при определенных условиях сво-

бодно трансформироваться обратно в дискоциты [5, 6].

Установлено, что степень агрегации эритроцитов, «загруженных» гепарином, увеличивалась, хотя скорость агрегации и дезагрегации практически не отличались от исходных показателей (табл. 2).

Таблица 2

Изменение агрегации эритроцитов при депонировании клетками гепарина

	Агрегация эритроцитов			Дезагрегация эритроцитов		
	Степень агрегации (мм)	Скорость агрегации		Скорость сдвига D ₁₀ (%)	Скорость сдвига D ₁₅ (%)	Скорость сдвига D ₂₀ (%)
		A ₄₀ (мм)	T _{1/2} (с)			
1-я проба (контроль): эритроциты + физиологический раствор	103,90 ± 6,82	67,50 ± 11,58	22,60 ± 11,39	32,90 ± 14,78	62,10 ± 15,74	75,10 ± 13,22
2-я проба: эритроциты + гепарин	103,80 ± 10,59	65,50 ± 14,01	24,80 ± 12,15	35,20 ± 19,42	59,30 ± 14,74	70,20 ± 12,42
3-я проба: эритроциты + физиологический раствор + УФО	104,40 ± 10,89	62,30 ± 12,04*	27,40 ± 9,98*	41,90 ± 18,68	55,70 ± 20,19	69,70 ± 13,89
4-я проба: эритроциты + гепарин + УФО	111,00 ± 5,06*	67,60 ± 12,52	22,80 ± 10,38*	40,00 ± 17,47	58,50 ± 16,35	68,20 ± 13,69

Примечание:

* – $p < 0,05$, сравнение с контролем, критерий Вилкоксона;

· – $p < 0,05$, сравнение 3-ей и 4-й пробы, критерий Вилкоксона.

В методах направленного транспорта имеет большое значение не только депонирование эритроцитами лекарственных веществ, но и возможность их дальнейшего высвобождения. Это часто представляет серьезную проблему и связано с чрезвычайной устойчивостью эритроцитов *in vivo* [15]. Исходя из полученных нами результатов можно заключить, что использование УФО для депонирования эритроцитами гепарина приводит к незначительному изменению их гемореологических свойств, которое может даже способствовать его высвобождению в зонах микроциркуляции.

Выводы

1. УФО эритроцитов, находящихся в физиологическом растворе, содержащем гепарин, приводит к депонированию последнего внутри клеток.

2. Применение УФО для депонирования эритроцитами гепарина приводит к незначительному изменению их гемореологических свойств – увеличению степени их агрегации, повышению ригидности и дискоферической трансформации.

Список литературы

1. А.с. № 1363065 Россия, МКИ J01N 33/14. Устройство для деформации эритроцитов в сдвиговом потоке / Левин Г.Я., Яхно В.Г., Царевский Н.Н., Котяева Н.П.; опубл. 30.12.1987. бюл. № 48 (заявка № 3954988/28-14 от 16.09.1085).

1. А.с. № 1377111 Россия, МКИ А61 К35/14. Способ определения деформируемости эритроцитов / Левин Г.Я., Царевский Н.Н., Котяева Н.П.; опубл. 29.02.1988. бюл. № 8 (заявка № 3938707/28-14 от 30.07.1985).

3. Жумадилов Ж.Ш., Макаренко Р.В. Особенности включения некоторых антибиотиков в эритроцитарные тени – систему целенаправленной доставки химиотерапевтических препаратов // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. – № 11. – С. 54–56.

4. Изменение активности ферментов антиоксидантной системы в эритроцитах при УФ-облучении крови больных с септическими осложнениями / А.В. Климович, О.Б. Олексюк, О.А. Сенькович, А.Г. Кутько, Г.И. Левашенко, В.В. Кирковский, Слобожанина Е.И. // Тез. IV фотобиологов России – Саратов, 2005. – С. 65–67.

5. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. 832 с.: ил. + 8 с. цв. вкл.

6. Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. Реология крови. – М.: Медицина. 1982. – 272 с., ил.

7. Муравьев А.В., Чепоров С.В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови):

монография / А.В. Муравьев, С.В. Чепоров. – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2009. – 178 с.

8. Николаев А. Л., Чичерин Д. С., Мелихов И. В. Соно-сенсбилизация материалов для направленного транспорта лекарственных веществ // Рос. хим. ж. – 2002. – 46, № 3. – С. 75–79.

9. Пат. 2278381 РФ. Устройство для исследования агрегации тромбоцитов [Текст] / Левин Г.Я., Модин А.П., Кудрицкий С.Ю., Соснина Л.Н. (РФ). – № 2005100408/14; заявл. 11.01.05; опубл. 20.06.06, Бюл. № 17.

10. Сарбаш В.И., Тихонова А.Г., Вуймо Т.А., Дербов А.Л., Александрович Ю.Г., Бутылин А.А., Витвицкий В.М., Атауллаханов Ф.И. Эритроциты – носители лекарственных препаратов // Рос. хим. ж. – 2007. – т. LI, № 1. – С. 143–149.

11. Тайгулов Е.А. Направленный транспорт антибиотиков в аутологичных эритроцитарных телях в комплексном лечении больных острым холециститом пожилого и старческого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Алма-Ата, 1991. – 16 с.

12. Черний В.И., Шраменко Е.К., Степанюк В.А. Ультрафиолетовое облучение крови: современные представления // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2003. – № 3.

13. Colowick S.P., Kaplan N.O. Erythrocyte Engineering for Drug Delivery and Targeting Section III Cellular Carrier. In: Methods in Enzymology. Eds. R. Green, K.J. Widder. – San Diego: Academic Press, 1987. – P. 217–325.

14. Schmid-Schönbein H., Gosen J.V., Heinrich L. et al. Counter-rotating «rheoscope chamber» for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry / H. Schmid-Schönbein et al. – Microvasc Res. – 1973. – Vol. 6. – P. 366–376.

15. William G. Pitt, Dr., Ghaleb A. Hussein, Dr., and Bryant J. Staples Ultrasonic Drug Delivery – A General Review // Expert Opin Drug Deliv. – 2004. – Vol. 1 № 1. – P.37–56.

References

1. A.s. № 1363065 Rossija, MKI J01N 33/14. Ustrojstvo dlja deformacii jeritrocitov v sdvigovom potoke / Levin G.Ja., Jahno V.G., Carevskij N.N., Kotjaeva N.P.; opubl. 30.12.1987. bjul. № 48 (zajavka № 3954988/28-14 ot 16.09.1085).

2. A.s. № 1377111 Rossija, MKI A61 K35/14. Sposob opredelenija deformiruемости jeritrocitov / Levin G.Ja., Carevskij N.N., Kotjaeva N.P.; opubl. 29.02.1988. bjul. № 8 (zajavka № 3938707/28-14 ot 30.07.1985).

3. Zhumadilov Z.S., Makarenkova R.V. Osobnosti vključenija nekotoryh antibiotikov v jeritrocitarnye teni – sistemu celenapravlennoj dostavki himioterapevtičeskikh preparatov // Antibiotiki i himioterapija. 1990. no. 11. pp. 54–56.

4. Klimovich A.V., Oleksjuk O.B., Sen'kovich O.A., Kut'ko A.G., Levashenko G.I., Kir-kovskij V.V., Slobozhanina E.I. Izmenenie aktivnosti fermentov antioksidantnoj sistemy v jeritrocitah pri UF-obluchenii krovi bol'nyh s septičh-

eskimi oslozhne-nijami // Tez. IV fotobiologov Rossii Saratov, 2005. pp. 65–67.

5. Kuznik B.I. Kletochnye i molekularnye mehanizmy reguljacii sistemy gemostaza v norme i patologii: monografija / B.I. Kuznik. Chita: Jekspress-izdatel'stvo, 2010. 832 p.: il. + 8s. cv. vkl.

6. Levto V.A., Regirer S.A., Shadrina N.H. Reologija krovi. M.: Medicina. 1982. 272 p., il.

7. Murav'ev A.V., Cheporov S.V. Gemoreologija (jekspereental'nye i kliničeskie aspekty reologii krovi) [Tekst]: monografija / A.V. Murav'ev, S.V. Cheporov. Jaroslavl': Izd-vo JaGPU, 2009. 178 p.

8. Nikolaev A.L., Chicherin D.S., Melihov I.V. Sonosensibilizacija materialov dlja napravlenogo transporta lekarstvennyh veshhestv // Ros. him. zh. 2002. 46, no. 3. pp. 75–79.

9. Pat. 2278381 RF, Ustrojstvo dlja issledovanija agregacii trombocitov [Tekst] / Le-vin G.Ja., Modin A.P., Kudrickij S.Ju., Sosnina L.N. (RF). no. 2005100408/14; zajavl. 11.01.05; opubl. 20.06.06, Bjul. no. 17.

10. Sarbash V.I., Tihonova A.G., Vujmo T.A., Dervov A.L., Aleksandrovich Ju.G., Butylin A.A., Vitvickij V.M., Attaullahanov F.I. Jeritrocit – nositeli lekarstvennyh preparatov // Ros. him. zh. 2007. t. LI, no. 1. pp. 143–149.

11. Tajgulov E.A. Napravlenyj transport antibiotikov v autologichnyh jeritrocitarnyh tenjah v kompleksnom lechenii bol'nyh ostrym holecistitom pozhilogo i starche-skogo vozrasta: Avtoref. Diss.: kand.med. nauk. Alma-Ata 1991. 16 p.

12. Chernij V.I., Shramenko E.K., Stepanjuk V.A. Ul'trafiol'etovoe obluchenie krovi: sovremennye predstavlenija // Bіль, zneboljuvanja i intensivna terapija. 2003. no. 3.

13. Colowick S.P., Kaplan N.O. Erythrocyte Engineering for Drug Delivery and Targeting Section III Cellular Carrier. In: Methods in Enzymology. Eds. R.Green, K.J. Widder. San Diego: Academic Press, 1987, pp. 217–325.

14. Schmid-Schönbein H., Gosen J.V., Heinrich L. et al. Counter-rotating «rheoscope chamber» for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry / H. Schmid-Schönbein et al. Microvasc Res. 1973. Vol. 6. pp. 366–376.

15. William G., Pitt Dr., Ghaleb A., Hussein Dr., Bryant J. Staples Ultrasonic Drug Delivery – A General Review // Expert Opin Drug Deliv. 2004. Vol.1 no. 1. pp. 37–56.

Рецензенты:

Кузник Б.И., д.м.н., профессор, почетный заведующий кафедрой нормальной физиологии, ГБОУ ВПО ЧГМА, г. Чита;

Малышев Е.С., д.м.н., профессор кафедры хирургии ФПКВ, ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 18.01.2013.