

14.06

Исследование транспорта эритроцитов через микроканалы при индукции окислительного стресса трет-бутилпероксидом

© Е.А. Скверчинская,¹ О.Д. Тапинова,² Н.А. Филатов,² Н.А. Беседина,² И.В. Миндукшев,¹ А.С. Букатин^{2,3}

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
194223 Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН им. Ж.И. Алферова,
194021 Санкт-Петербург, Россия

³ Институт аналитического приборостроения РАН,
190103 Санкт-Петербург, Россия
e-mail: antbuk.fiztek@gmail.com

Поступило в Редакцию 15 декабря 2019 г.

В окончательной редакции 15 декабря 2019 г.

Принято к публикации 17 февраля 2020 г.

Для характеристики влияния окислительного стресса (ОС) на способность эритроцитов проходить микрососуды и капилляры было проведено исследование динамики движения эритроцитов человека в каналах микрофлюидного устройства при действии индуктора ОС трет-бутилгидропероксида (tBH), *in vitro*, и сопоставлено с цитологической оценкой трансформации мембран клеток. При ОС нарушался контроль формы и объема клеток, скорость прохода снижалась, и наблюдались окклюзии микроканалов. Разработанный микрофлюидный чип обеспечивал оценку микрореологии эритроцитов при действии гидроперекиси. В дальнейшем возможно применение микрофлюидного анализа эритроцитов у пациентов для оценки микрореологии при действии ксенобиотиков.

Ключевые слова: микрофлюидное устройство, эритроциты, деформируемость, оксидативный стресс, трансформация мембраны.

DOI: 10.21883/JTF.2020.09.49689.403-19

Введение

Газообмен между эритроцитами и тканями происходит в капиллярах. В норме эритроциты обладают способностью к возвратной деформации, что позволяет им проходить микрососуды и капилляры, диаметр которых меньше самих клеток [1]. Чтобы обеспечить метаболизм клеток необходимыми веществами и метаболитами, микроциркуляторная сеть пронизывает все органы, следовательно, любые нарушения функции микроциркуляции могут иметь тяжелые последствия. Деформируемость эритроцитов зависит от комплексного взаимодействия липидного бислоя, трансмембранных белков и спектринного цитоскелета, отношения площади поверхности мембран эритроцитов к объему клеток, морфологии клеток и цитоплазматической вязкости [2,3]. Для возможности физиологической деформации без разрывов мембрана эритроцитов стабилизируется нижележащим спектринным цитоскелетом, связанным с липидным бислоем через band 3 — анкирин-спектринную связь [4] и через соединительный комплекс (junctional complex), который сфокусирован вокруг хаба, возникающего в результате латеральных связей между актином, β -спектрином, гликофорином C и белком 4.1 [5]. Стабильность прикрепления этого комплекса к мембране может быть нарушена через многие сайты, а латеральное смещение (кластеризация) отражает нарушение сцепления между липидным бислоем и цитоскелетом [6].

В норме снижение деформируемости эритроцитов является одним из маркеров для удаления старых или поврежденных клеток из кровообращения, поскольку ригидные клетки не способны протиснуться в узкие щели синусов селезенки [7]. Однако нарушения деформируемости эритроцитов были отмечены и при развитии различных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, диабет, ожирение, малярия, при врожденных гемоглобинопатиях, а также при экстремальных физических нагрузках [1,8]. Кроме того, от состояния эритроцитов зависит такое явление, как структурированность потока крови, когда жесткие или агрегированные эритроциты изменяют течение клеток крови вблизи стенки [9], при этом ригидные эритроциты сами приобретают повышенную адгезию к эндотелию, что вызывает повреждение сосудов и угрозу тромбообразования [10].

Окислительный стресс (ОС) является одной из причин, вызывающих нарушение деформируемости эритроцитов [1,2,11], при этом окисленные формы гемоглобина — метгемоглобин и гемихром — являются непосредственными участниками трансформации мембран [6,12]. Моделирование параметров ОС *in vitro* позволяет проводить исследование механизмов клеточных изменений при нарушении редокс-состояния. В качестве индуктора окислительного стресса часто используется трет-бутилпероксид, tBH, $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$. Это низко-молекулярное соединение легко проникает в клетку, генерирует актив-

ные формы кислорода, вызывает нарушение структурной целостности мембран [13].

Для исследования динамики движения эритроцитов в микрокапиллярах кровеносной системы могут использоваться микрофлюидные устройства (МФУ), способные имитировать гемодинамические процессы в кровеносных сосудах, что позволяет оценивать нарушения на уровне популяции клеток [7,14]. Применение МФУ показало, что при малярии модифицированные плазмодием эритроциты утрачивают способность свободного прохода микроканалов из-за измененного размера, формы и деформируемости [14,15]. Использование МФУ позволяет с высокой пропускной способностью определять изменения деформационной способности эритроцитов, что применяется для комплексной оценки транфузионного материала банковской крови [16]. Кроме того, данные микрофлюидного анализа активно используются для симуляции процессов микрореологии [17] и анализа физиологического контроля деформируемости эритроцитов при прохождении синусов селезенки (physical fitness test) [7].

Основная цель настоящей работы — исследовать изменения транспорта эритроцитов через микроканалы в зависимости от степени окислительного стресса, индуцированного трет-бутилпероксидом.

1. Материалы и методы

Микрофлюидные чипы изготавливались методом „мягкой“ литографии из полидиметилсилоксана (ПДМС) (Sylgard 184, Dow Corning, USA) [18]. Мастер-форма представляла собой кремниевую подложку с нанесенным слоем фоторезиста SU-8 (Microchem, USA), в котором методом контактной фотолитографии сформированы микроструктуры заданной формы. После изготовления мастер-формы на нее помещалась дегазированная смесь основы и отвердителя ПДМС, смешанных в соотношении 10:1. После полимеризации при температуре 65°C в течение 4 h ПДМС реплика отделялась от мастер-формы, в ней прокалывались входные и выходные отверстия, и происходило ее связывание с покровным стеклом после обработки поверхности в кислородной плазме.

Образцы крови получали у здоровых добровольцев ($n = 10$) при венепункции и собирали в вакуумные пробирки Monovette (Sarstedt, Германия), с цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Добровольцы были проинформированы о цели исследования и предоставили письменное согласие. Эритроциты отделяли от плазмы (300 g, 3 min центрифуга Elmi, Латвия) и дважды промывали изотоническим буфером. Параметры крови контролировали на гематологическом анализаторе Medonic-M20 (Boule Medical A.B., Швеция). Индукцию окислительного стресса проводили при внесении в суспензию эритроцитов $0.5 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$ трет-бутилпероксида, tBH (Sigma Aldrich, Германия) в конечной концентрации

0–2 mM. Аликвоты инкубировали 3–4 h при 37°C при постоянном перемешивании на термощейкере Biosan TS-100 (Латвия).

В микрофлюидный чип суспензию эритроцитов в концентрации $2.5 \cdot 10^7/\text{ml}$ подавали с помощью шприцевого насоса PHD 2000 (Harvard Apparatus, USA), при постоянном расходе $0.1 \mu\text{l}/\text{min}$. Для регистрации движения использовали оптический микроскоп Leica DM4000 B LED с цифровой камерой Pike F100B, позволяющей получать изображения с частотой 200 fps. Анализ изображений и определение скорости движения клеток осуществлялся в ручном режиме.

Трансформацию мембран оценивали по экстернализации фосфатидилсерина (аннексиновый тест) и по кластеризации основного интегрального белка мембраны band3 с эозин-5-малеимидом (EMA-тест) методом точной цитометрии (BC Navios, США; прибор ЦКП ИЭФБ), по ранее отработанным протоколам [12]. Статистический анализ проводили в Excell (Microsoft Office 2010, лицензионный). Во всех экспериментах данные представлены как $M \pm SD$. Статистическую значимость результатов определяли с помощью t -критерия Стьюдента, значения $p \leq 0.05$ считали значимыми.

2. Результаты и обсуждение

Диаметр эритроцитов человека составляет 6.2–8.2 μm , толщина — 2 μm , поэтому для исследования транспорта эритроцитов через микроканалы было разработано микрофлюидное устройство, содержащее 16 параллельных микроканалов шириной 2 μm и глубиной 8 μm . Длина каналов составляла 50, 100 и 200 μm . Перед измерительным микроканалом был добавлен выравнивающий канал шириной 5 μm , разделенный прямоугольной камерой длиной 60 μm , что обеспечивало выравнивание клеток перед входом в измерительный канал и снижало разброс результатов (рис. 1, а) [19]. После предварительного тестирования была выбрана длина каналов 200 μm , так как это позволило более надежно определять время прохождения эритроцитов. Перед системой микроканалов был расположен пассивный фильтр с порами шириной 50 μm для предотвращения засорения микроканалов крупными частицами грязи.

Ввод суспензии эритроцитов в микрофлюидный чип осуществлялся при постоянном расходе $0.1 \mu\text{l}/\text{min}$, что соответствовало средней скорости течения жидкости в каждом канале 6 mm/s. Результаты измерения скорости движения эритроцитов в микроканалах в зависимости от величины окислительного стресса представлены на рис. 2, а. Полученная скорость движения эритроцитов в диапазоне 2–3 mm/s хорошо соотносится со скоростью их движения по микрокапиллярам *in vivo* [20]. Инкубация эритроцитов с tBH 0.5 mM приводила к увеличению скорости движения клеток по микроканалам на 11% ($p \leq 0.05$). После дальнейшего увеличения

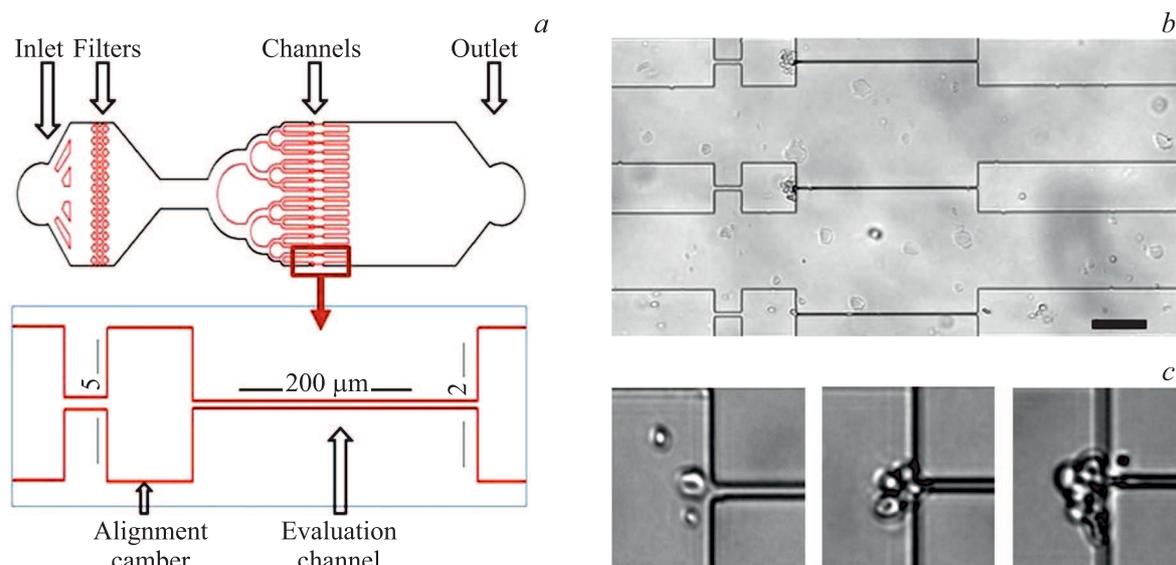


Рис. 1. Топология микрочипа и общий вид эритроцитов в микроканале: *a* — принципиальная схема микрофлюидного чипа для анализа движения эритроцитов в микроканалах; *b* — изображение выравнивающих и рабочих микроканалов; *c* — примеры движения эритроцитов в микроканалах и их окклюзии; размерная шкала 60 μm .

концентрации tBH скорость эритроцитов стала снижаться ($p \leq 0.09$). Кроме того, с ростом концентрации tBH повышалась вероятность окклюзии микроканалов (рис. 2, *b*), которая достигала 66% при концентрации tBH 2 мМ. Поскольку в случае окклюзии нескольких микроканалов скорость течения жидкости в остальных увеличивалась, полученные данные по скорости движения эритроцитов после обработки большими концентрациями tBH может быть завышена.

Гематологический анализ показал, что окислительный стресс приводит к нарушению регуляции объема клеток, что регистрировали по повышению уровня MCV (mean cell volume — средний объем клетки) (рис. 2, *c*). Увеличение объема клеток при tBH 0.5 мМ было достоверным ($p \leq 0.05$), но не отражалось на скорости движения эритроцитов по микроканалу. При tBH 1.0 и 1.5 мМ было выявлено снижение скорости, что может быть обусловлено увеличением объема клеток. Тем не менее при данных концентрациях tBH деформируемость эритроцитов сохранялась (рис. 2, *b*). При увеличении концентрации tBH до 2.0 мМ в микроканалах регистрировались множественные окклюзии (66% эритроцитов застревали при первом проходе; рис. 1, *b, c*, микрофотографии), что было вызвано, вероятнее всего, повышением жесткости мембраны эритроцитов, так как дальнейшего увеличения объема не происходило.

Для оценки однородности действия окислительного стресса на популяцию эритроцитов был проведен анализ распределения клеток по скорости их движения в микроканалах (рис. 2, *d*). Он показал, что под действием tBH не только изменилась скорость транзита эритроцитов через микроканалы, но и произошло разделение клеток на несколько субпопуляций в зависимости от скорости

движения. Такое разделение связано с разной устойчивостью клеток к действию ОС, и соответственно разной степенью трансформации клеток. Полученные результаты могут быть интересны для задач трансфузиологии, когда при хранении крови из одной и той же популяции возникают разнородные по деформируемости подгруппы эритроцитов. Предполагается, что вызванная хранением гетерогенность клеток может влиять на безопасность переливания [21].

Время прохождения эритроцитов по микрососудам определяет фракционную капиллярную экстракцию O_2 [22], однако изменение динамической формы, которую принимает клетка в капилляре, также может сказываться на эффективности газообмена, поскольку нарушается тесное соприкосновение эритроцита и эндотелия сосуда. Как показала видеосъемка, нормальные эритроциты внутри канала деформируются от естественной формы двояковогнутого диска до удлиненной формы, а при выходе из канала имеют форму парашюта и затем быстро возвращаются к первоначальной форме диска. Эритроциты, подвергнутые действию tBH, могли иметь измененную форму как на входе в микроканал, так и на выходе. Для анализа этого эффекта был проведен визуальный подсчет морфологически измененных клеток (по одному каналу регистрации на каждую концентрацию tBH) (рис. 3). Результаты были сгруппированы в пять морфогрупп: дискоциты (нормальные клетки); парашют (нормальные клетки при выходе из микроканала); колбаски (круассаны, каплевидные); стоматоциты (стоматоциты и мишеневидные); кучки (шистоциты, акантоциты, неровные каплевидные) (рис. 3, *a, b*). По мере усиления ОС повышалась гетерогенность форм эритроцитов, при этом важно отметить, что уже при низ-

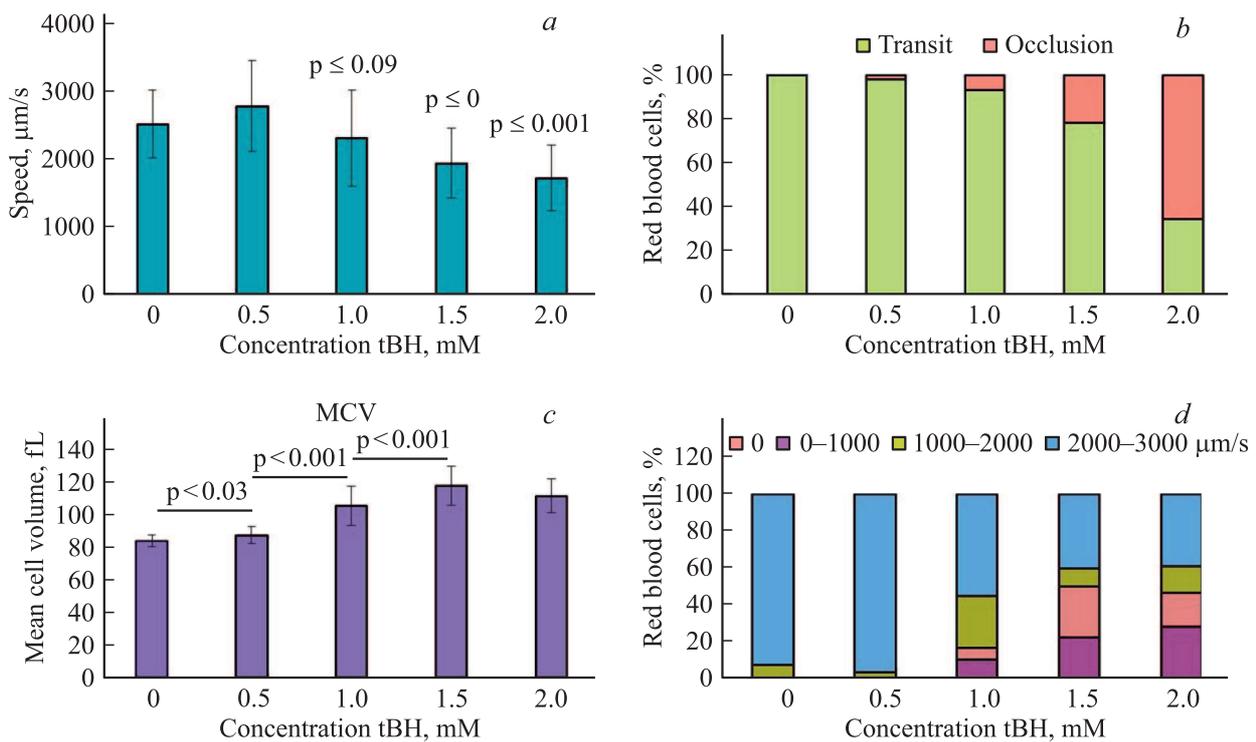


Рис. 2. Влияние окислительного стресса на параметры движения эритроцитов по микроканалам: *a* — скорость движения при действии tBH; $p \leq$ — отличия по отношению к уровню контроля; *b* — вероятность окклюзии микроканалов в зависимости от концентрации tBH при обработке эритроцитов; *c* — средний объем эритроцитов (MCV), в зависимости от концентрации tBH при обработке; *d* — частотный анализ скорости движения эритроцитов по микроканалам, характеризующий разделение клеток на фракции с разными гидродинамическими характеристиками.

ких дозах tBH 0.5 mM половина эритроцитов на выходе из микроканала имела не оптимальную для газообмена форму (колбаски). При повышении концентрации tBH наблюдалось накопление доли клеток, не способных вернуть дискоидную форму после прохождения через микроканал (рис. 3, *c*). По данным литературы потеря эритроцитами способности возвращать форму двояковогнутого диска после деформации приводит к расстройствам микрореологии, наблюдающимся при ряде системных заболеваний (диабет 2 типа, ревматоидный артрит, наследственный гемохроматоз, болезнь Альцгеймера и Паркинсона [23]).

Для объяснения зависимости скорости движения эритроцитов по микроканалам от величины окислительного стресса была проведена оценка нарушения нативной формы мембран при действии tBH, которая проводилась по двум ключевым показателям — экстернализации фосфатидилсерина на наружную сторону бислоя (тест с аннексином) и кластеризации основного трансмембранного комплекса band 3 (EMA-тест). Инкубация эритроцитов с tBH в течение 3–4 h приводила к дозозависимому повышению доли аннексин-положительных клеток (рис. 4, *a*). Регистрацию кластеризации band3 проводили по усилению сигнала флуоресценции, обусловленного сближением меченых эозин-малеимидом внешних локусов трансмембранного комплекса band3

(рис. 4, *b*). При действии tBH 0.5 mM отмечено усиление флуоресценции, что расценивалось как начальные признаки кластеризации band3 ($p \leq 0.055$), при повышении концентрации до 1.5 и 2.0 mM степень кластеризации band 3 повышалась в среднем в 1.8 раза по сравнению с уровнем контроля ($p \leq 0.000$).

Основным белком эритроцитов является гемоглобин, Hb, и его циклы оксигенации или трансформация при ОС прямо влияют на функционирование всей клетки [6,12,24]. По данным спектрометрии при действии tBH происходит накопление окисленных форм Hb. Так, при tBH 0.5 mM 55–65% Hb оставалось в окси-состоянии, часть — в deoxyHb и metHb. При повышении концентрации tBH происходил дальнейший переход oхuHb в метформу (43%) и повышение уровня необратимо окисленных феррильных форм гемоглобина (52%). Известно, что при отдаче кислорода в капиллярах deoxyHb стерически вытесняет анкирин на цитоплазматическом сайте band3 (cdb3), что приводит к разрыву связи анкирин–cdb3 [25]. Такое временное ослабление связи мембрана–цитоскелет способно повышать деформируемость эритроцитов и ускорять/облегчать прохождение капилляров [26]. В то же время при образовании окисленных форм гемоглобина деформируемость эритроцитов может существенно снижаться за счет присоединения Hb–Fe³⁺ и Hb–Fe⁴⁺ к cdb3 и образования дисуль-

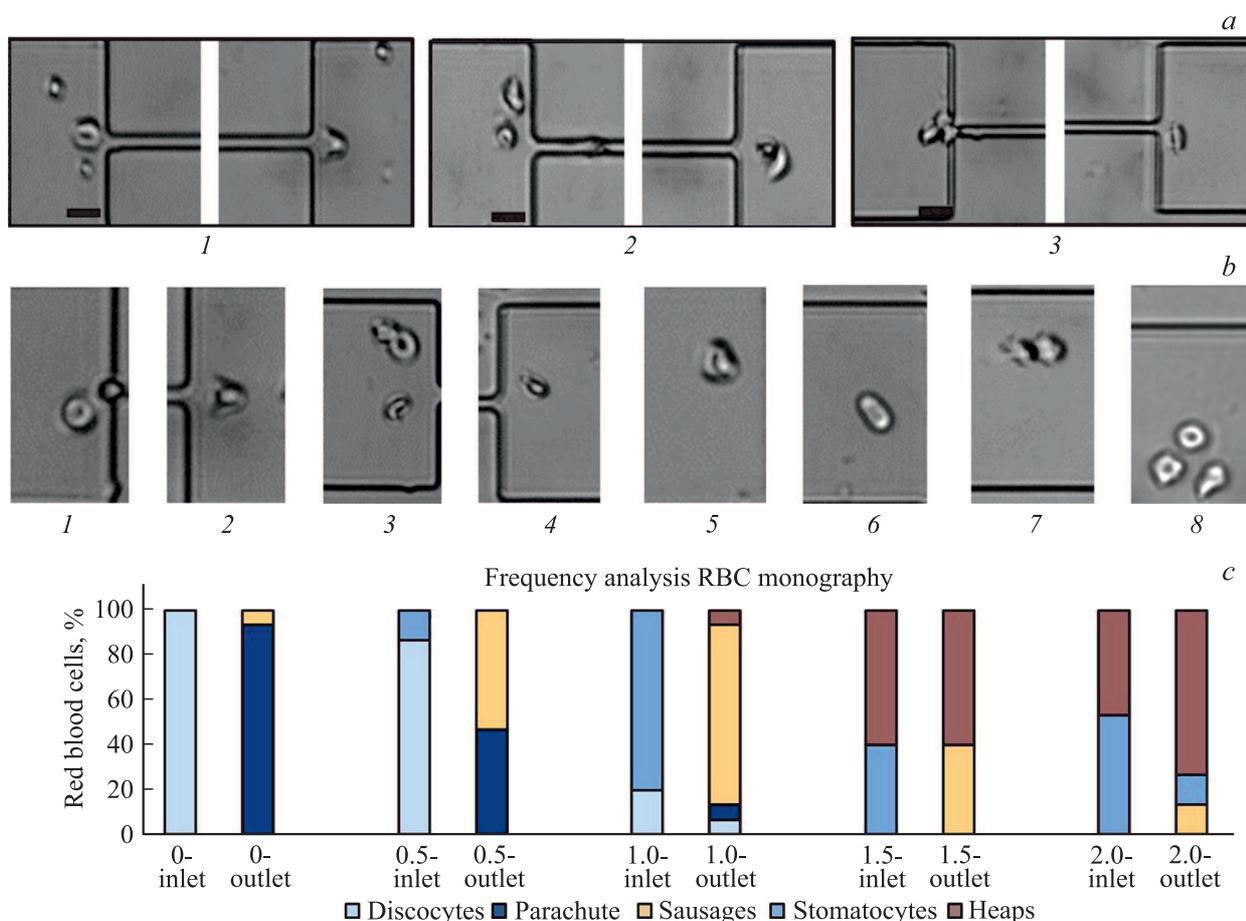


Рис. 3. Микрофотографии эритроцитов в каналах микрочипа и анализ формы клеток: *a* — изображения эритроцитов перед и после прохождения через микроканалы: 1 — 0.0, 2 — 1.0, 3 — 2.0 mM tBH; *b* — морфология эритроцитов до и после прохождения через микроканалы: 1 — дискоциты на входе, 2 — форма парашюта на выходе дискоцита, 3 и 4 — колбаски (круассаны, каплевидные), 5 — стоматоциты, 6 — мишеневидные, 7 и 8 — кучки (шистоциты, акантоциты, неровные каплевидные); *c* — распределение типов эритроцитов на входе и выходе из микроканалов в зависимости от концентрации tBH при обработке. Изображения получены с помощью оптического микроскопа Leica DM4000 B LED, размерная шкала 10 μm.

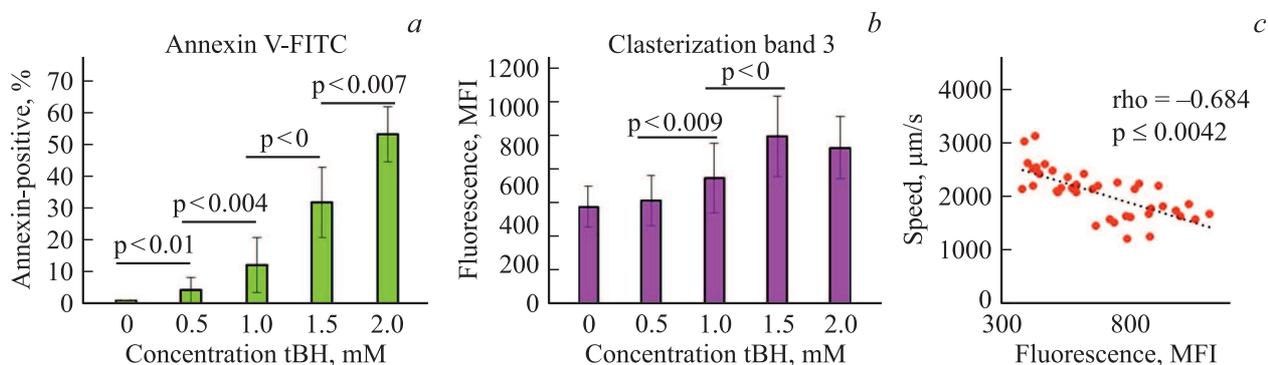


Рис. 4. Трансформация мембран эритроцитов при действии окислительного стресса, индуцированного возрастающими концентрациями tBH, и ее влияние на скорость прохождения микроканалов: *a* — накопление аннексин-положительных клеток при экстернализации фосфатидилсерина на наружной стороне мембраны; *b* — кластеризация трансмембранного белка band3, окрашивание эозин-5 малеимидом, EMA; данные получены методом проточной цитометрии; *c* — коэффициент корреляции, ρ по Спирмену, между скоростью прохода эритроцитов и степенью кластеризации band3.

фидных мостиков между тетрамерами гемоглобина [6]. При этом, чем выше степень окисления, тем большее количество гемоглобина связывается с мембраной [24], и тем жестче может становиться клетка. Таким образом, кластеризацию band3 можно рассматривать как интегративный ответ на множественные нарушения в мембране, вызванные действием окислителей. Анализ показал (рис. 4, с), что между скоростью прохода клеток в микроканалах и кластеризацией band3 существует значимая корреляция ($\rho = -0.689$, $p \leq 0.0042$), т.е. чем существенней были изменения мембранного комплекса эритроцитов, тем сильнее были нарушения микрореологии. Качественно такую зависимость подтверждают и результаты измерения жесткости эритроцитов методом атомно-силовой микроскопии, которые показывают значительные изменения в структуре цитоскелета и повышение жесткости мембран из-за окислительного повреждения, что сказывается на их деформируемости при аспирации в микропипетку [27].

Выводы

Исследование динамики движения эритроцитов по каналам микрофлюидного устройства позволяет одновременно получать информацию о гидродинамических характеристиках клеток и их морфологическом профиле в потоке, причем оба параметра определяются на уровне всего пула клеток. Проведенное исследование выявило особенности влияния окислительного стресса на микрореологию. Так, при действии tBH 0.5 mM было отмечено повышение скорости транспорта эритроцитов через микроканалы, что можно связать с феноменом облегчения прохода эритроцитов по капиллярам за счет ослабления связи анкирин—cdb3 при деоксигенации гемоглобина [25]. В дальнейшем при повышении концентрации tBH зарегистрировано снижение скорости прохода эритроцитов через микроканалы, что обусловлено усилением повреждения мембраны — накоплением окисленных форм гемоглобина, кластеризацией band3, нарушением фосфолипидной асимметрии и объемной регуляции клеток. Полученные результаты трансформации мембран при ОС согласуются с данными литературы [1,2,3,12]. Выявленные особенности прохода эритроцитов по микроканалам соотносились с последовательностью трансформации мембран при действии ОС.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-34-70111 Стабильность).

Соблюдение этических стандартов

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическими стандартами. Образцы крови получали у здоровых добровольцев

после получения письменного согласия. При проведении исследования соблюдались принципы „Хельсинской Декларации“ (по 64th WMA General Assembly, Brazil, 2013), и было получено одобрение этического комитета ИЭФБ РАН (протокол № 15 от 21.11.17).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Huisjes R., Bogdanova A., van Solinge W., Schiffelers R.M., Kaestner L., van Wijk R. // *Front Physiol.* 2018. Vol. 9. P. 656. Review. DOI: 10.3389/fphys.2018.00656. eCollection 2018
- [2] Mohandas N., Gallagher P.G. // *Blood.* 2008. Vol. 112. P. 3939–3948.
- [3] Svetina S. // *Cell Mol. Biol. Lett.* 2012. Vol. 17. P. 171–181. DOI: 10.2478/s11658-012-0001-z
- [4] Franco T., Chu H., Low P.S. // *Biochem. J.* 2016. Vol. 473. P. 3147–3158. DOI: 10.1042/BCJ20160328
- [5] Takakuwa Y. // *Curr. Opin. Hematol.* 2001. Vol. 8. P. 80–84. Review. PubMed PMID: 11224681.
- [6] Arashiki N., Kimata N., Manno S., Mohandas N., Takakuwa Y. // *Biochem.* 2013. Vol. 52. P. 5760–5969. DOI: 10.1021/bi400405p
- [7] Pivkin I.V., Peng Zh., Karniadakis G.E., Buffet P.A., Dao M., Subra Suresh // *PNAS.* 2016. Vol. 113. P. 7804–7809. DOI: org/10.1073/pnas.1606751113
- [8] Tomaiuolo G. // *Biomicrofluidics.* 2014. Vol. 8. P. 051501. DOI: 10.1063/1.4895755. eCollection 2014 Sep. Review.
- [9] Losserand S., Coupier G., Podgorski T. // *Microvasc. Res.* 2019. Vol. 124. P. 30–36. DOI: 10.1016/j.mvr.2019.02.003
- [10] Barshtein G., Ben-Ami R., Yedgar S. // *Expert Rev. Cardiovasc Ther.* 2007. Vol. 5. P. 743–752. PubMed PMID: 17605652
- [11] Nagababu E., Mohanty J.G., Friedman J.S., Rifkind J.M. // *Free Radic. Res.* 2013. Vol. 47. P. 164–171. DOI: 10.3109/10715762.2012.756138
- [12] Миндукиев И.В., Судницына Ю.С., Скверчинская Е.А., Андреева А.Ю., Добрылко И.А., Сенченкова Е.Ю., Кривченко А.И., Гамбарян С.П. // *Биол. мембр.* 2019. Т. 36. Вып. 5. С. 358–372. DOI: 10.1134/S0233475519050086
- [13] Domanski A.V., Lapshina E.A., Zavadnik I.B. // *Biochem. (Mosc).* 2005. Vol. 70. P. 761–9. PubMed PMID: 16097939
- [14] Boas L.V., Faustino V., Lima R., Miranda J.M., Minas G., Fernandes C., Catarino S.O. // *Micromachines (Basel).* 2018. Vol. 9. P. 384. DOI: 10.3390/mi9080384
- [15] Hou H.W., Bhagat A.A., Chong A.G., Mao P., Tan K.S., Han J., Lim C.T. // *Lab. Chip.* 2010. Vol. 10. P. 2605–2613. DOI: 10.1039/c003873c
- [16] Cluitmans J.C., Chokkalingam V., Janssen A.M., Brock R., Huck W.T.S., Bosman G.J.C.G.M. // *Biomed. Res. Int.* 2014. Vol. 2014. P. 764268. DOI: 10.1155/2014/764268
- [17] Chien W., Zhang Z., Gompper G., Fedosov D.A. // *Biomicrofluidics.* 2019. Vol. 13. P. 044106. DOI: 10.1063/1.5112033. eCollection 2019

- [18] Букатин А.С., Мухин И.С., Мальшев Е.И., Кухтевич И.В., Евстратов А.А., Дубина М.В. // ЖТФ. 2016. Т. 86. Вып. 10. С. 125–130. [Bukatin A.S., Mukhin I.S., Malyshev E.I. Kukhtevich I.V., Evstratov A.A., Dubina M.V. // Tech. Phys. 2016. Vol. 61. P. 1566–1571. DOI: 10.1134/S106378421610008X]
- [19] Chia-Hung D.T., Shinya S., Fumihito A., Tatsunori Taniguchi, Tomohito Ohtani, Yasushi Sakata, Makoto Kaneko // RSC Adv. 2014. Vol. 4. P. 45050–45058. DOI: org/10.1039/C4RA08276A
- [20] Gurov I., Volkov M., Margaryants N., Pimenov A., Potemkin A. // Opt. Lasers in Eng. 2018. Vol. 104. P. 244–251. DOI: org/10.1016/j.optlasering.2017.09.003
- [21] Huang S., Hou H.W., Kanas T., Sertorio J.T., Chen H., Sinchar D., Gladwin M.T., Han J. // Lab. Chip. 2015. Vol. 15. P. 448–458. PMID:25406942
- [22] Jeong J.H., Sugii Y., Minamiyama M., Okamoto K. // Microvasc Res. 2006. Vol. 71. P. 212–217. PubMed PMID: 16624342
- [23] Pretorius E., Kell D.B. // Integr. Biol. (Camb). 2014. Vol. 6. P. 486–510. DOI: 10.1039/c4ib00025k
- [24] Welbourn E.M., Wilson M.T., Yusof A., Metodiev M.V., Cooper C.E. // Free Radic. Biol. Med. 2017. Vol. 103. P. 95–106. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.024
- [25] Chu H., McKenna M.M., Krump N.A., Zheng S., Mendelsohn L., Thein S.L., Garrett L.J., Bodine D.M., Low P.S. // Blood. 2016. Vol. 128. P. 2708–2716. DOI: 10.1182/blood-2016-01-692079
- [26] Kwan J.M., Guo Q., Kyliuk-Price D.L., Ma H., Scott M.D. // Am. J. Hematol. 2013. Vol. 88. P. 682–689. DOI: 10.1002/ajh.23476
- [27] Sinha A., Chu T.T.T., Dao M., Chandramohanadas R. // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. P. 9768. DOI: 10.1038/srep09768