

Микроструктурный анализ биологических жидкостей

© М.Э. Бузовера,¹ Ю.П. Щербак,¹ И.В. Шишпор,¹ Ю.П. Потехина²

¹ Саровский физико-технический институт — филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования

„Национальный исследовательский ядерный университет „МИФИ“,

607186 Саров, Нижегородская область, Россия

e-mail: buzoverya@expd.vniief.ru; ypsheerbak@mail.ru; ishishpor@yandex.ru

² Нижегородская государственная медицинская академия федерального агентства по здравоохранению

и социальному развитию,

603005 Нижний Новгород, Россия

e-mail: tigra-jp@ Rambler.ru

(Поступило в Редакцию 16 марта 2011 г.)

Показаны особенности проведения микроструктурного анализа как экспериментального метода исследования биожидкостей. Рассмотрено использование концепции надмолекулярной системной организации в анализе структур белковых систем. Показано, что проведение систематических исследований биологических жидкостей в рамках выбранного единого подхода способствует развитию методов микроструктурного анализа биожидкостей и пониманию наблюдаемых биоструктурных эффектов.

Введение

В 90-х годах возник большой интерес к структуре белка и биожидкостей. Фазовое состояние жидких биологических сред играет жизненно важную роль в обеспечении функций организма. Проблема фазового состояния белка при физиологических и патологических процессах представляет собой перспективную область исследований, как для фундаментальной науки, так и для практической медицины [1–5]. Использование результатов структурного анализа биожидкостей (сыворотки крови, желчи, слезы и т. д.) оказалось очень информативным в ранней диагностике заболеваний. Это послужило началом зарождения нового направления в медицине и биологии — функциональная морфология биожидкостей (ФМБ) [6]. Методически оно основано на переводе биологической жидкости в твердую фазу в неравновесных условиях (метод клиновидной дегидратации) и последующего наблюдения фазии (пленки) с помощью оптического микроскопа.

Морфология биологических жидкостей как принципиально новое научное направление в области клинической диагностики развивается сейчас исключительно быстрыми темпами. Происходит интенсивное увеличение объема новых научных знаний, уточняется качество ранее полученных данных, происходит активное внедрение диагностических методов в лабораторно-клиническую практику. Сложность процесса дегидратационной самоорганизации биожидкостей требует привлечения специалистов различного профиля.

В последние годы значительно вырос интерес к исследованию процессов самоорганизации белков и биожидкостей [7]. Расширился круг специалистов, изучающих сложные явления, возникающие при дегидратации биожидкостей. Все это позволяет надеяться на создание научных основ структурообразования биожид-

костей и принципов регулирования структур. Однако в попытке детализировать процесс структурообразования биожидкостей, желание перейти от визуальных оценок „к количественным методам, базирующимся на измерении физико-химических характеристик образцов“ [8], видится недооценка возможностей микроструктурного анализа как экспериментального метода исследования биологических жидкостей.

Изначально глубочайшие возможности метода краевой дегидратации биожидкостей для практической медицины и вообще для наук о пространственно-временных структурах открыли медики. Именно простота, новизна подхода в получении информации, достоверность — те преимущества, которые стали привлекательны для клинической диагностики. На сегодняшний день в данной предметной области эмпирический поиск опережает развитие теории, и результативность его определяется зачастую не столько успехами в разработках теоретических моделей, сколько практическим опытом и интуицией исследователей. Кроме того, для описания одних и тех же структур и явлений в биожидкостях используется различная терминология [9–12], что существенно затрудняет обмен информацией исследователями разных школ.

В связи с этим целью настоящей работы является попытка обозначить „нишу“ микроструктурного анализа в исследованиях биожидкостей, показать принципиальные возможности материаловедческого подхода к идентификации наблюдаемых биоструктурных эффектов.

О методике микроструктурного анализа

Исследование биологических жидкостей методом краевой дегидратации проводят с применением оптической микроскопии. Микроскопия как метод исследования отличается от других современных методов физико-

химического анализа прежде всего тем, что она позволяет визуализировать структуру вещества на разных уровнях. Это является ее важнейшим преимуществом, что не всегда отмечается особенно четко. Главное преимущество заключается в том, что наличие связи „состав–структура–свойства“ позволяет по данным микроанализа не только указать, в каком направлении изменяются свойства при тех или иных изменениях в структуре, но и объяснить причины этих различий в свойствах и наметить пути эффективного улучшения свойств. В связи с этим методы оптической микроскопии широко применяются как методы контроля качества различных материалов при их производстве [13,14].

Анализ работ [15–18] показывает, что для разработки физических понятий в данной предметной области, а также для унификации диагностических методик целесообразно дальнейшее развитие структурного подхода. Под методикой микроструктурного анализа в широком смысле слова понимают совокупность принципов, которыми нужно руководствоваться при проведении подобных исследований. Это комплексность исследований; активное воздействие на объект (применяется для выявления деталей структуры — ориентация, разрушение, окисление и т.д.); прослеживание генезиса изучаемых систем, и, как результат, установление связи между составом, структурой и свойствами биожидкости. Кроме техники микроскопирования, знание особенностей исследуемого материала значительно повышает эффективность микроанализа.

Материаловедческий подход

К биологическим жидкостям относятся сложные полидисперсные неклоточные структуры организма с неустойчивыми связями входящих в них компонентов: сыворотка крови, лимфа, цереброспинальная жидкость, моча, секреты желез и др. Для биологических жидкостей характерны различные типы устойчивых колебаний физико-химических, биохимических и морфологических параметров. При этом, как заметил Х. Бернал, „биологические системы обладают универсальной способностью сохранять и передавать информацию в виде структур и функций“ [19]. Применительно к структурирующим биожидкостям классическая триада современного материаловедения „состав–структура–свойства“ преобразуется в „состав–структура–функция“. Так как белки являются природными полимерами, то при анализе взаимодействий в этой триаде авторами впервые были применены подходы, отработанные для полимеров [20,21].

Биожидкости являются многокомпонентными системами. Удаляя воду, получаем пленку-фацию, на которой зафиксирована структура пространственного расположения элементов, ранее находившихся в растворенном высокоподвижном состоянии. Особенности структурной организации фаций биожидкостей определяются, по большей части, полимерностью и амфифильностью

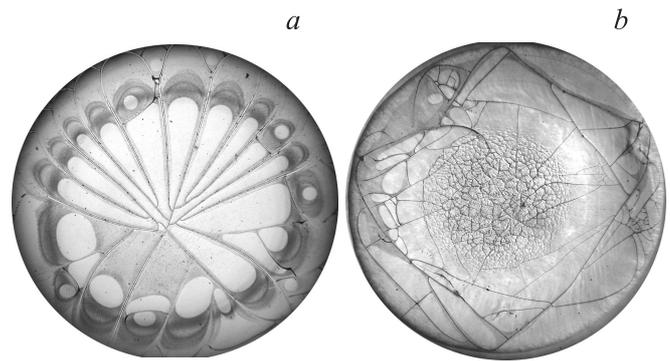


Рис. 1. Фации сыворотки крови. *a* — практически здорового человека. *b* — больного с сердечно-сосудистой патологией.

белковых макромолекул. Основными структурными элементами фации сыворотки при наблюдении в оптическом микроскопе являются трещины и конкреции (включения). Специфические особенности топографии трещин, как показали медики, определяются состоянием гомеостаза организма и имеют важное диагностическое значение [10,22].

Для фации сыворотки крови здорового человека характерны радиальные трещины, по периферии загибающиеся в арки и сходящиеся в центре (рис. 1, *a*). В состоянии нормы при физиологическом соотношении белков, солей и других веществ образуется упорядоченная равновесная структура капли в виде высокоорганизованных структур — в терминах ФМБ — отдельностей. Отдельность — часть фации, отделенная со всех сторон трещинами.

Образованию однородных структурных единиц и их упорядочению, по-видимому, способствуют сбалансированный состав и регулярное строение молекулярных цепей. При различных патологических процессах изменяется характер растрескивания как периферической, так и центральной зоны фации плазмы, могут появляться различные структуры, не встречающиеся у здоровых людей (рис. 1, *b*). Для примера на рис. 2 приведены некоторые из них:

— трехлучевые трещины — признак нарушения оттока венозной крови из полости черепа, застойных явлений (в том числе в тканях головного мозга), напряжения адаптационных возможностей организма (рис. 2, *a*) [23,24];

— жгутовые трещины — по данным одних исследователей маркер хронической гипоксии [24,25], по другим данным — маркер воспаления (рис. 2, *b*) [26];

— штриховые трещины — признак ранней стадии дисциркуляторной энцефалопатии, напряжения систем адаптации (рис. 2, *c*) [24];

— широкие трещины — маркер склеротических изменений, нарушения гидрофильно-гидрофобного баланса организма (обезвоживание, диспротеинемия) (рис. 2, *d*) [9,27].

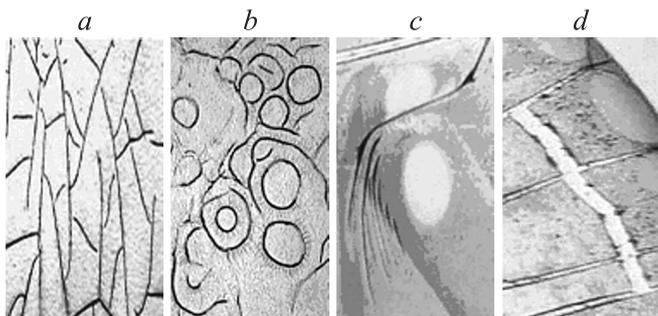


Рис. 2. Типы трещин, характерные для различных патологических состояний: *a* — трехлучевые, *b* — жгутовые, *c* — штриховые, *d* — широкие.

Физико-химические причины возникновения этих структур на сегодняшний день не выяснены, проблема требует изучения. Однако эти эмпирические закономерности уже позволяют дать оценку состояния организма и активно используются в медицинской практике.

Концепция надмолекулярной системной организации в анализе структур белковых систем

Современное состояние знаний о структуре высокомолекулярных веществ, методах ее изучения позволяет подойти к микроструктурному анализу биологических жидкостей на качественно новом уровне. Учитывая полимерную природу основных компонентов биожидкостей, в своих исследованиях биожидкостей была применена концепция надмолекулярной системной организации полимерных тел. Данная концепция основана на одном из ключевых положений структурной механики, согласно которой структура и свойства полимерного тела закладываются на молекулярном, а реализуются на надмолекулярном уровне [28].

Всем высокомолекулярным веществам, в том числе белкам и липидам, присуще наличие надмолекулярных структур. Представления о надмолекулярных структурах (НМС) прочно вошли в физику полимеров. Под надмолекулярной организацией (или надмолекулярной структурой) следует понимать внутреннюю структуру, взаимное расположение в пространстве и характер взаимодействия между структурными элементами, образующими макроскопическую структуру полимерного тела.

Следует отметить, что многие свойства полимеров определяются их молекулярным строением, но проявляются эти свойства через все последующие уровни их надмолекулярной организации (НМО) [29,3]. Говоря об уровне, необходимо указывать шкалу масштабов НМО, задаваемых методами измерений. Различают рентгеновский, электронно-микроскопический (ангстремы, нано-) и оптический уровни НМС (от микрометров до миллиметров). Кроме того, для установления последова-

тельности уровней экспериментально нужно выяснить, является ли рассматриваемый элемент НМО первичным структурным образованием или собран из более простых элементов, в результате „сборки“.

Характерной особенностью полимеров является многообразие надмолекулярных структур и относительная легкость перехода одних форм НМС в другие. Причем эти изменения не всегда связаны с молекулярными перегруппировками. Процессы распада НМС в полимерах имеют ступенчатый характер (как и процессы структурирования).

В последние годы при исследовании надмолекулярной организации полимеров, в том числе и белков, получили развитие новые подходы, связанные с использованием концепций о детерминированном хаосе и синергетике, теории фракталов и нелинейной динамики [31–34]. Но несмотря на это, на сегодняшний день в прикладном материаловедении доминирует методология равновесной термодинамики [35]. Настоящая работа выполнена в рамках классических физико-химических методов изучения полимеров. Учитывая современные тенденции в науках о живом, авторам хотелось показать возможности микроанализа в приложении к новому объекту исследования — фациям биожидкостей, и ценность информации, получаемой этим экспериментальным методом.

Развитие физики сложных макросистем и необходимость формирования взглядов на клетку, как на целостную систему, имеющую только ей присущие свойства, привели к началу внедрения в медицину приемов синергетики и физики открытых систем [36]. Считается, что прием макросистемных подходов позволяет более унифицировано подходить к анализу устойчивости живых систем и получить целый ряд новых характеристик их состояния в дополнение к наиболее распространенным методам диагностики [37]. В связи с этим возможность наблюдения по методу оптической микроскопии структуру всей капли, а не только ее отдельных элементов является большим достоинством метода, так как визуализируется именно верхний функциональный уровень биожидкости и анализируется системная организация.

Результаты и их обсуждение

Проиллюстрируем вышесказанное для белковых систем на некоторых фактических примерах. Итак, объектом исследования является структура фации (пленки) дегидратированной жидкости. Основными структурным мотивом фаций по терминологии ФМБ, как указывалось выше, является отдельность, а структурными элементами — трещины и конкреции. Рассмотрим эволюцию отдельности при изменении концентрации белка в системе. Исходя из особенностей структурной организации основных пленкообразующих белков биожидкостей, мы называем отдельность — доменом.

На рис. 3 приведены результаты микроструктурного анализа фаций сывороточного альбумина человека (САЧ),

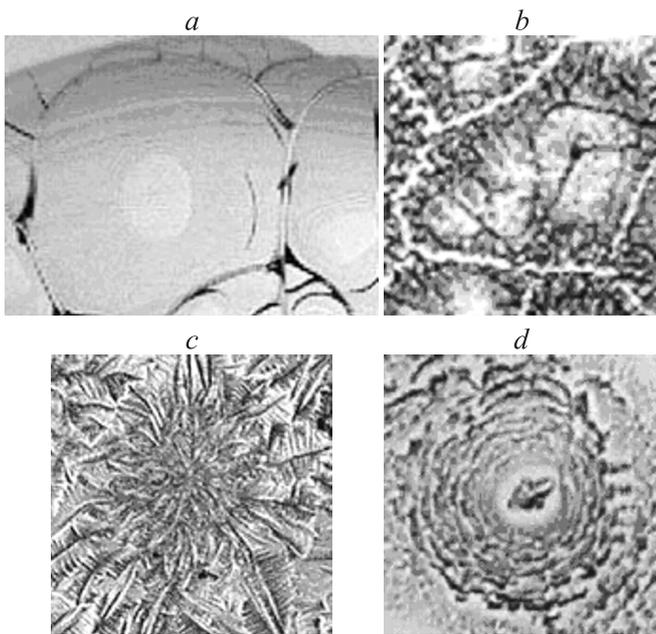


Рис. 3. Изменение морфологии доменов при изменении концентрации белка в системе „САЧ — 0.9% раствор NaCl“: *a* — 10; *b* — 8; *c* — 6; *d* — 0.2%. Увеличение $\times 25$.

а именно изменение морфологии основного структурного мотива фазии — домена — при изменении концентрации белка в системе „САЧ — 0.9% раствор NaCl“. Микрофотографии получены с помощью аппаратно-программного комплекса „Морфо“ [38].

Характерной особенностью структур фазий являлось наличие внутреннего ядра и внешней оболочки как для всей капли, так и для отдельных структурных элементов. Следует отметить, что эта особенность, скорее всего, связана с молекулярным строением макромолекул альбумина, а именно наличием гидрофобных и гидрофильных групп, что приводит в растворе к ассоциированию неполярных групп с образованием неполярного ядра (глобулы) и гидрофильной оболочки и делает молекулы особо чувствительными к поверхностям раздела и т.п. В настоящей работе тонкости механизма, связанные с полиэлектролитной природой белковой составляющей биожидкостей, обсуждаться не будут.

Как видно на рис. 3, уменьшение концентрации белка от 10 до 0.2% приводит к разрыхлению материала пленки и эволюции основного структурного мотива (домена) от плотного до слоисто-кольцевого типа через промежуточные состояния (рыхлого — фрактального домена).

При увеличении концентрации растворителя в системе наблюдается ступенчатый распад исходных структур. Следует отметить, что при повышении концентрации воды в системе „САЧ—0.9% раствор NaCl“ в фазиях исчезают крупные магистральные трещины (радиальные трещины, сходящиеся в центре). Это может свидетельствовать о пластифицирующем действии растворителя. В связи с этим можно предположить следующий

механизм: вода проникает в свободные межструктурные пространства, тем самым ослабляя связи между ассоциатами, что приводит к разрыхлению структур. Причем видно, что разрыхление начинается с периферии домена, затем влага проникает внутрь структур (рис. 3, *b*). В результате повышается подвижность структурных элементов, происходит их распад с последующей перегруппировкой и образованием новых структур (рис. 3, *d, c*). Приведенный пример показывает, что водный раствор является структурным модификатором. В дальнейшем накопление экспериментального материала, учет и знание сложно-ступенчатого механизма возникновения/распада НМС в белковых системах может дать возможность целенаправленного поиска путей воздействия на их функциональные свойства.

Как указывалось выше, одним из основных элементов структур фазий являются трещины, которые могут являться диагностическими маркерами патологических процессов в организме. В данном случае приемы, отработанные в изучении растрескивания полимерных пленок, также могут быть полезны при поиске новых маркеров и при исследовании трещинообразования в фазиях биожидкостей.

Известно, что при удалении растворителя полимер выделяется не в виде кристаллов как низкомолекулярные соединения, а в виде пленки [30]. К примеру, фазию сыворотки крови, содержащую большое количество органических высокомолекулярных веществ, можно рассматривать как пленку из „смеси полимеров в едином растворителе“. Особенностью формирования полимерных покрытий состоит в том, что при переходе системы из жидкого в твердое состояние процесс образования локальных физических и химических связей между структурными элементами сопровождается резким торможением релаксационных процессов вследствие неодинаковых условий и скорости отверждения отдельных слоев. Это приводит к возникновению в пленках значительных внутренних напряжений, наличие которых является причиной их растрескивания. При высоких значениях внутренних напряжений возможно растрескивание пленки непосредственно в процессе ее формирования, что подтверждается нашими наблюдениями. Разрушение полимеров имеет существенные особенности, что связано с их надмолекулярной организацией. Разрывы происходят в наиболее слабых и перенапряженных областях, в частности, по границам структурных элементов [39,40].

Как было показано в работе [41], для фазий сыворотки крови больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) наблюдалась специфическая картина растрескивания. Основной особенностью топографии трещин фазий у больных с ИБС по сравнению с фазиями сыворотки крови практически здоровых лиц являлось образование в периферической зоне трещин, параллельных краю фазии и проходящих по границам раздела вытянутых конкреций (рис. 4).

В специально проведенном комплексном исследовании было установлено, что изменение характера про-



Рис. 4. Типичная структура фазии плазмы крови больного с ИБС. Увеличение $\times 15$.

Липидный спектр плазмы крови при различном расположении трещин фазии

Показатели липидограммы/ Расположение трещин	Топология трещин		Различие по критерию Стьюдента
	параллельных краю	радиальные	
Триглицериды, mmol/L	1.67 ± 0.33	1.37 ± 0.37	0.055
ХС ЛПВП, mmol/L	1.19 ± 0.005	1.28 ± 0.11	0.12
ХС ЛПНП, g/L	4.82 ± 1.19	3.47 ± 0.7	0.0003
Холестерин общий, mmol/L	5.98 ± 0.78	4.71 ± 0.88	0.003

цессов образования надмолекулярных структур и растрескивания при дегидратации сыворотки крови больных ИБС с большой вероятностью связано с увеличением содержания общего холестерина и липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) (см. таблицу).

Данные представлены в форме „среднее значение \pm стандартное отклонение“ с доверительной вероятностью $P \geq 0.95$. Ни по одному из других показателей биохимического анализа крови достоверных различий не обнаружено.

Заключение

Рассмотрение фазии дегидратированной жидкости как полимерной пленки, свойства которой зависят от состава, структурной организации основных пленкообразующих компонентов и способа получения, способствовало выбору единой платформы к объяснению биоструктурных эффектов — концепции надмолекулярной системной организации полимерного тела. Использование данной концепции позволило предложить реологическую модель пленкообразования из раствора биополимеров [42], разработать алгоритмы для автоматизированной обработки микроскопических изображений и создать специализированный программно-аппаратный комплекс [38,43]. Проведенные совместно с медиками

исследования биологических жидкостей в рамках изложенных в настоящей работе принципов микроанализа показали эффективность междисциплинарного подхода и способствовали разработке новых диагностических алгоритмов [44–47].

Список литературы

- [1] *Panic E.G.* // ЖТФ. 2000. Т. 70. Вып. 12. С. 122–133.
- [2] *Panic E.G.* // ЖТФ. 2002. Т. 72. Вып. 4. С. 139–142.
- [3] *Яхно Т.А.* // ЖТФ. 2003. Т. 73. Вып. 4. С. 23–27.
- [4] *Кононенко Е.К., Миронов Е.В.* Дислокационно-дисклинационные механизмы преобразования текстуры биожидкости при агрегировании / Сб. науч. тр. II Всерос. науч.-практ. конф. „Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения“. М.: Медсервис, 2001. С. 21–26.
- [5] *Зайцев В.В.* // Известия АН. 1996. Т. 60. № 4. С. 115–118.
- [6] *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Морфология биологических жидкостей — новое направление в клинической диагностике / Сб. науч. тр. II Всерос. науч.-практ. конф. „Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения“. М.: Медсервис, 2001. С. 3–4.
- [7] Сб. матер. I Межд. конф. „Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения“. Астрахань: Изд. дом „Астраханский университет“, 2010. 211 с.
- [8] *Тарасевич Ю.Ю.* Математическое моделирование процессов формирования и эволюции межфазных фронтов в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей / Сб. матер. I Межд. конф. „Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения“. Астрахань: Изд. дом „Астраханский университет“, 2010. С. 7–25.
- [9] *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Клиническая кристаллография: становление, проблемы, перспективы / Сб. науч. тр. I Всерос. науч.-практич. конф. „Кристаллографические методы исследования в медицине“. М.: МОНИКИ, 1997. С. 3–9.
- [10] *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризостом, 2001. 304 с.
- [11] *Panic E.G.* Белок и жизнь. М.: МИЛТА–ПКП ГИТ, 2002. 256 с.
- [12] *Мартусевич А.К., Жданова О.Б.* Биокристалломика как наука о биогенных кристаллах / Сб. матер. I Межд. конф. „Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения“. Астрахань: Изд. дом „Астраханский университет“, 2010. С. 35–39.
- [13] *Ростокер В., Дворак Д.* Микроскопический метод в металловедении. М.: Металлургия, 1967. 204 с.
- [14] *Геллер Ю.А., Рахитант А.Г.* Материаловедение. М.: Металлургия, 1983. 384 с.
- [15] Сб. науч. тр. I Всерос. науч.-практич. конф. „Кристаллографические методы исследования в медицине“. М.: МОНИКИ, 1997. 138 с.
- [16] Сб. науч. тр. II Всерос. науч.-практич. конф. „Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения“. М.: Медсервис, 2001. 114 с.

- [17] *Мартусевич А.К.* Метод хромокристаллоскопии в свете современной биокристалломики: сущность, роль, перспективы / Вестн. Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. 2009. С. 78–85.
- [18] *Ратис Е.* // ЖТФ. 2004. Т. 74, Вып. 4. С. 117–121.
- [19] *Бернал Х.* Возникновение жизни. М.: Мир, 1969. 391 с.
- [20] *Бузуверя М.Э.* Способ оценки состояния гомеостаза организма. Пат. РФ № 2127430 С1. Кл.МПК 6 G 01 N 33\48. Публ.10.03.99. Бюл.№ 7.
- [21] *Бузуверя М.Э., Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Кристаллографические методы в изучении феномена старения природных и синтетических полимеров / Сб. матер. науч.-практич. конф. „Проблемы геронтологии в современной России“. М., 1998. С. 133–141.
- [22] *Аюпова А.К., Ющенко А.А., Шатохина С.Н.* Диагностическое значение структур твердой фазы сыворотки крови при хронических заболеваниях / Сб. матер. II Всерос. науч.-практич. конф. „Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения“. М.: Медсервис, 2001. С. 14–16.
- [23] *Беднов И.А., Тривно Н.Н., Аюпова А.К., Салихов М.Н.* Морфоструктурный анализ сыворотки крови крыс при хронической интоксикации серосодержащим газом / Сб. матер. III Всерос. науч.-практич. конф. „Функциональная морфология биологических жидкостей“. М.: Просветитель, 2004. С. 55–56.
- [24] *Мадрыгина Е.Л., Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., Гусев Е.И.* Морфологические особенности фазы сыворотки крови у больных с дисциркуляторной энцефалопатией / Сб. матер. II Всерос. науч.-практич. конф. „Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения“. М.: Медсервис, 2001. С. 38–39.
- [25] *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Морфологические изменения в биологических жидкостях при старении организма / Материалы II Всерос. науч.-практич. конф. „Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения“. М.: Медсервис, 2001. С. 47–49.
- [26] *Обухова Л.М.* Роль протеинов в формировании структурного макропортрета плазмы крови при интоксикации организма. Автореф. дисс. д.б.н. Нижний Новгород, 2010. 47 с.
- [27] *Бережной Д.И.* Морфологическая картина сыворотки крови у больных перитонитом / Сб. матер. III Всерос. науч.-практич. конф. „Функциональная морфология биологических жидкостей“. М.: Просветитель, 2004. С. 13–14.
- [28] *Гуль В.Е.* Структура и прочность полимеров. М.: Химия, 1978. 328 с.
- [29] *Потехина Ю.П., Котова О.В., Нистратова М.П., Лазарева В.А.* // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 7. С. 38–41.
- [30] *Марихин В.А., Мясникова Л.П.* Надмолекулярные структуры. Л.: Химия, 1977. 240 с.
- [31] *Тагер А.А.* Физикохимия полимеров. М.: Химия, 1978. 246 с.
- [32] *Новиков В.У., Козлов Г.В.* Фрактальный анализ макромолекул // Успехи химии. 2000. Т. 64 № 4. С. 379–399.
- [33] *Карманов А.П.* // Успехи химии. 2003. Т. 72 № 8. С. 797–819.
- [34] *Ролдугин В.И.* // Успехи химии. 2003. Т. 72 № 10. С. 931–959.
- [35] *Крупянский Ю.Ф., Гольданский В.И.* // УФН 2002. Т. 172. № 11. С. 1247–1269.
- [36] *Третьяков Ю.Д.* // Успехи химии. 2003. Т. 72 № 8. С. 731–762.
- [37] *Абенова М.Т.* Возможности включения в цитологические методы диагностики макросистемных подходов, направленных на оценку системных реакций клеток уротелия / Сб. материалов II Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии „Медицинская физика-2005“. М., 2005. С. 307–308.
- [38] Компьютерный диагностический комплекс „Морфоскан“ / Каталог Ярмарки инновационных медицинских высокотехнологичных проектов „Атоммед-2008“. Саров: ФГОУ ВПО „СарФТИ“. 2008.
- [39] *Микитаев А.К.* / Высокомолекулярные соединения. 1987. Т. (А) XXIX. № 2. С. 383–387.
- [40] *Зубов П.И., Сухарева Л.А.* Структура и свойства полимерных покрытий. М.: Химия, 1982. 256 с.
- [41] *Потехина Ю.П., Зубеева Г.Н., Мотылев И.М., Бузуверя М.Э.* // Медицинская физика. 2004. № 1. С. 46–48.
- [42] *Бузуверя М.Э., Балакшина М.А.* // Медицинская физика. 2003. № 18. С. 39–42.
- [43] *Бузуверя М.Э., Сельченков В.Л., Щербак Ю.П., Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Математический анализ структур биологических жидкостей / Альманах „Геронтология и гериатрия“. М.: Медсервис, 2001. Вып. 1. С. 55–60.
- [44] *Потехина Ю.П., Бузуверя М.Э.* // Клиническая лабораторная диагностика. 2001. № 3. С. 33–35.
- [45] *Потехина Ю.П., Бузуверя М.Э., Зубеев П.С., Страхов А.В., Щербак Ю.П.* Способ установления причины возникновения механической желтухи. Пат. РФ № 2199744 С2. Кл.МПК 7 G 01 N 33\48. Публ. 27.02.2003. Бюл. № 6.
- [46] *Потехина Ю.П., Зубеев П.С., Страхов А.В., Бузуверя М.Э., Щербак Ю.П.* Способ диагностики обострения хронического холецистита. Пат. РФ № 2197728 С1. Кл.МПК 7 G 01 N 33\48, 33\487. Публ. 27.01.2003. Бюл. № 3.
- [47] *Потехина Ю.П., Кизова Е.А., Бузуверя М.Э.* Способ диагностики эндогенной интоксикации. Пат. РФ № 2395087. Кл.МПК G 01 N 33/487 (2006.01). Публ. 20.07.2010. Бюл. № 10.