

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

DOI: 10.17816/KMJ2019-140

© 2019 Авторы
УДК 612.821: 616.151.5

Развитие признаков дистресса у крыс на фоне однократного ультразвукового воздействия

Марина Николаевна Носова^{1,2*}, Юлия Алексеевна Бондарчук^{1,2},
Игорь Ильич Шахматов^{1,2}, Александр Владимирович Мацюра³,
Полина Сергеевна Маршалкина¹, Дарья Андреевна Прокопец¹

¹Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия;

²Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной
медицины, г. Новосибирск, Россия;

³Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Россия

Реферат

Цель. Изучить влияние однократного 24-часового воздействия ультразвуковых волн, распространяющихся в воздушной среде, на состояние микроциркуляторного русла и показатели системы гемостаза у крыс.

Методы. Работа выполнена на 28 крысах-самцах линии Wistar. Группу экспериментальных животных подвергали ультразвуковому воздействию с 24-часовой экспозицией. Среднегеометрическая частота колебаний составляла 25 кГц, уровень звукового давления — 84,3 дБ. Показатели микроциркуляторного русла экспериментальных крыс, полученные методом лазерной доплеровской флоуметрии, сравнивали с таковыми у интактных животных. Также проводили сравнительный анализ показателей тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови у крыс обеих групп.

Результаты. У экспериментальных крыс в ответ на 24-часовое воздействие ультразвука происходило достоверное снижение исследуемых активных и пассивных факторов модуляции кровотока по сравнению с интактными животными: показателя микроциркуляции, показателя флакса, амплитуды эндотелиальных и вазомоторных колебаний, амплитуды дыхательных и пульсовых волн. В ходе исследования параметров системы гемостаза выявлена выраженная гиперкоагуляция по внешнему пути плазменного гемостаза и на конечных этапах свёртывания крови, которая усугублялась угнетением антикоагулянтной активности плазмы крови на фоне снижения фибринолитической активности. Характер изменения гемостазиологических параметров подтвердил развитие стресс-реакции у крыс, зафиксированное в ходе изучения микроциркуляторного русла.

Вывод. 24-часовое воздействие ультразвуком вызывает у крыс выраженные нарушения в зоне микроциркуляции и значительные неблагоприятные сдвиги в системе гемостаза — признаки развития дистресса.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, система гемостаза, ультразвуковое воздействие.

Для цитирования: Носова М.Н., Бондарчук Ю.А., Шахматов И.И. и др. Развитие признаков дистресса у крыс на фоне однократного ультразвукового воздействия. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (1): 140–146. DOI: 10.17816/KMJ2019-140.

Distress symptoms development after a single episode of ultrasound exposure

M.N. Nosova^{1,2}, Yu.A. Bondarchuk^{1,2}, I.I. Shakhmatov^{1,2}, A.V. Matsyura³, P.S. Marshalkina¹, D.A. Prokopets¹
Altai State Medical University, Barnaul, Russia;
Scientific Research Institute of physiology and fundamental medicine, Novosibirsk, Russia
Altai State University, Barnaul, Russia

Abstract

Aim. To study the influence of a single 24-hour episode of exposure to ultrasound waves propagating in air on microcirculation and parameters of hemostasis in rats.

Methods. The study was performed on 28 Wistar male rats. The experimental group was exposed to ultrasound for 24 hours. Geometric mean frequency was 25 kHz, acoustic pressure was 84.3 dB. Parameters of microcirculation

of experimental rats received by laser Doppler flowmetry were compared with those of intact animals. Also comparative analysis of platelet and coagulation hemostasis, anticoagulant and fibrinolytic plasma activity was performed in rats from both groups.

Results. In experimental rats in response to 24-hour exposure to ultrasound, significant decrease of the studied active and passive factors of blood flow modulation occurred compared to those of intact animals: parameters of microcirculation, flux, endothelial and vasomotor wave amplitude, respiratory and pulse wave amplitude. When studying the parameters of hemostasis, significant hypercoagulation of extrinsic pathway and at the latest stages of coagulation which worsened with anticoagulant plasma activity inhibition along with decrease of fibrinolytic activity. The character of changes of hemostatic parameters confirmed the development of stress-reaction in rats registered during the study of microcirculation.

Conclusion. 24-hour ultrasound exposure causes significant disorders of microcirculation and unfavorable shifts in hemostasis — the signs of distress.

Keywords: microcirculation, hemostatic system, ultrasound exposure.

For citation: Nosova M.N., Bondarchuk Yu.A., Shakhmatov I.I. et al. Distress symptoms development after a single episode of ultrasound exposure. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (1): 140–146. DOI: 10.17816/KMJ2019-140.

Движение крови по микрососудам капиллярного типа, перемещение интерстициальной жидкости и веществ по межклеточным пространствам, транспорт лимфы по лимфатическим микрососудам обеспечивают необходимую трофику и выведение из тканей продуктов обмена органических веществ.

Гемодинамика в системе микроциркуляции, особенно в её капиллярном звене, определяется как внутренними силами кровообращения, так и метаболическими потребностями тканей [1]. Основная роль при этом принадлежит закономерностям циркуляции крови и лимфы в сосудах диаметром от 2 до 200 мкм, поведению форменных элементов крови (деформация, агрегация, адгезия), динамике процессов свёртывания крови (коагуляция, фибринолиз, тромбообразование, роль тромбоцитов), транскapиллярному обмену и ультраструктурным особенностям микрососудов, функциональному состоянию эндотелиальных клеток [2].

Нарушения в работе микроциркуляторного русла могут лежать в основе многих патологических процессов и быть не только вторичными, но и являться первопричиной таковых. Локальные изменения микроциркуляции возникают уже на раннем этапе развития различных видов патологии (инфаркта миокарда, стенокардии, артериальной гипертензии) и по мере генерализации патологических процессов приобретают системный характер, поэтому данные, полученные в одной области микроциркуляции, могут дать представление о системе микроциркуляторного русла в целом [3].

Один из физических факторов воздействия современной среды обитания на человека — ультразвук. По своей природе ультразвук представляет собой высокочастотные (свыше 20 кГц) механические колебания, распространяющиеся

в упругих средах, физическое воздействие которых зависит не только от частоты и амплитуды ультразвуковых волн, но и от свойств среды, в которой он распространяется. Так, ультразвук при контактном воздействии может вызывать спазмы кровеносных сосудов, особенно капилляров, что становится причиной недостаточности кровообращения тех или иных тканей и органов.

Длительное систематическое действие ультразвука, распространяющегося воздушным путём, вызывает изменения функционирования нервной, сердечно-сосудистой и эндокринной систем, слухового и вестибулярного анализаторов. У животных, которые способны воспринимать ультразвуковые волны, этот фактор вызывает психоэмоциональный стресс. В процессах адаптации к действию стрессорных факторов важная роль принадлежит гемостазиологическим параметрам, изменение которых служит чувствительным показателем адаптационного потенциала организма [4].

Цель работы — изучить влияние однократного 24-часового воздействия ультразвуковых волн, распространяющихся в воздушной среде, на состояние микроциркуляторного русла и показатели системы гемостаза у крыс.

Исследования были выполнены на 28 крысах-самцах линии Wistar с массой тела 250 ± 20 г. Животные были разделены на две группы — интактную и экспериментальную, по 14 крыс в каждой.

Группу экспериментальных животных подвергали ультразвуковому воздействию с 24-часовой экспозицией с помощью ультразвуковых отпугивателей мышей «Филин» (НПП «Дон», Россия), установленных с двух сторон от клетки с крысами на расстоянии 10 см. Среднегеометрическая частота колебаний составляла 25 кГц, уровень звукового давления — 84,3 дБ.

Таблица 1. Изменение показателей микроциркуляции экспериментальных и интактных крыс

Показатели	Интактные крысы (n=14)	Экспериментальные крысы (n=14)	p
ПМ, пф.ед.	7,5 [5,8–8,7]	2,5 [1,8–5,9]	p=0,002 (Δ –67%)
СКО (σ), пф.ед.	4,1 [3,3–4,6]	1,3 [0,9–1,8]	p=0,0001 (Δ –68%)
Эндотелиальные волны (VLF), пф.ед.	8,8 [5,9–11,8]	2,2 [1,6–5,2]	p=0,001 (Δ –75%)
Вазомоторные волны (LF), пф.ед.	9,8 [6,1–11,6]	2,1 [1,5–3,8]	p=0,0001 (Δ –78%)
Дыхательные волны (HF1), пф.ед.	4,9 [2,4–6,9]	1,5 [1,3–1,6]	p=0,0001 (Δ –69%)
Пульсовые волны (CF1), пф.ед.	2,4 [1,5–3,2]	0,6 [0,45–0,62]	p=0,0001 (Δ –75%)

Примечание: результаты представлены в виде (m [25–75%]), где m — медиана в выборочной совокупности; [25–75%] — 25-й и 75-й перцентили; Δ — статистически значимая разница экспериментальной группы с интактными животными при p < 0,05; p — уровень статистической значимости различий экспериментальной группы с интактными животными; ПМ — показатель микроциркуляции; пф.ед. — перфузионные единицы; СКО (σ) — флакс, среднеквадратичное отклонение амплитуд колебаний кровотока; n — количество животных в исследуемой группе.

После прекращения воздействия исследовали показатели микроциркуляторного русла с использованием метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с анализом амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока на аппарате ЛАКК-02 (НПО «Лазма», Россия). Головку оптического зонда фиксировали в основании хвоста животного. Длительность записи ЛДФ-граммы составляла 5 мин. Регистрировались основные параметры микроциркуляции, а также проводился анализ амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока в полосе частот от 0,005 до 3 Гц. В этой полосе формировалось четыре неперекрывающихся частотных диапазона, позволяющих оценить состояние «активных» и «пассивных» звеньев регуляции микрокровотока.

Сразу после проведения эксперимента для исследования забирали кровь в объеме 5 мл из печеночного синуса в полистироловый шприц с широкой иглой, содержащий 3,8% раствор натрия цитрата (соотношение крови и цитрата 9:1) под инъекционным наркозом препаратом золетил.

У всех животных исследовали показатели тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также антикоагулянтную и фибринолитическую активность плазмы крови с помощью наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Индуцированную агрегацию тромбоцитов проводили по G.V.R. Vorn (1962) на агрегометре «Биола» (Россия), в качестве индуктора использовали раствор аденозиндифосфата в концентрации 10 мкг/мл. Тромбэластометрию выполняли на приборе Rotem (Pentapharm

GmbH, Германия) с использованием реагента «Natem», в состав которого входит кальция хлорид.

Использование крыс в экспериментах осуществлялось в соответствии требованиями Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986) и Директивами 86/609/ЕЕС. Обезболивание и умерщвление животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Полученные в ходе исследования данные представлены в виде (m [25–75%]), где m — медиана в выборочной совокупности; [25–75%] — 25-й и 75-й перцентили. Статистический анализ проведен на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Статистическую значимость различий оценивали при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни, так как признаки не подчинялись нормальному распределению. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости p < 0,05. Уровень статистической значимости различий при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Показатели микроциркуляции исследовали сразу после 24-часового воздействия ультразвука на животных (табл. 1). Однократное воздействие ультразвука вызывало у экспериментальных крыс достоверное снижение исследуемых активных и пассивных факторов модуляции кровотока по сравнению с интактными животными: показателя микро-

циркуляции — на 67%, показателя флакса — на 68%, амплитуды эндотелиальных колебаний — на 75%, амплитуды вазомоторных колебаний — на 78%, амплитуды дыхательных волн — на 69%, амплитуды пульсовых волн — на 75%.

Активные факторы непосредственно воздействуют на сосуды микроциркуляторного русла, модулируют поток крови со стороны сосудистой стенки и реализуются через её мышечную составляющую, поэтому их называют тонус-формирующими [5]. Снижение амплитуды этих звеньев свидетельствует об ослаблении модуляции кровотока со стороны данного механизма регуляции и расценивается как повышение тонуса, снижение дилатационного резерва и функциональных возможностей эндотелия.

Увеличение тонуса и развитие спазма сосудов обусловлены возросшей симпатической импульсацией, вызванной активацией стресс-реакции, что приводит к увеличению напряжения в гладкомышечных клетках сосудистой стенки. Об уменьшении притока крови в микроциркуляторное русло и снижении модуляции кровотока свидетельствуют и данные о снижении показателя микроциркуляции и показателя флакса, характеризующего миогенный компонент.

Развитие вазоконстрикции подтверждается также снижением амплитуды эндотелиальных волн, обусловленным, по всей вероятности, сокращением содержания эндотелиального оксида азота. Такого рода данные могут свидетельствовать о развитии эндотелиальной дисфункции [6], так как в условиях постоянно повышенного пристеночного напряжения сдвига функциональный резерв эндотелия истощается.

Зарегистрированное в нашем эксперименте снижение показателя флакса обычно свидетельствует об угнетении активных вазомоторных механизмов модуляции тканевого кровотока или преобладании в регуляции тонических симпатических влияний [7]. При прекращении активной вазомоции в той части капиллярного русла, в которой сопротивление кровотоку выше, объёмный кровоток сокращается, и в ней появляются признаки стаза. В этом случае кровоток шунтируется, и большая часть крови, поступающей в микроциркуляторное русло, движется по меньшей части капилляров, тем самым нарушая метаболизм тканей. Нутритивное же звено микроциркуляторного русла в условиях стаза, характеризующегося полной блокадой кровотока, оказывается наиболее ранимым [8].

К пассивным механизмам регуляции относят внешние факторы, находящиеся вне микроциркуляторного русла: пульсовые волны,

приходящие со стороны терминальных артерий (кардиальный ритм на входе в микроциркуляторное русло), и дыхательные волны со стороны вен (венулярный ритм на выходе из микроциркуляторного русла). Уменьшение амплитуды и сглаживание вершины пульсовой волны происходят при повышении тонуса резистивных сосудов (мелких артерий и артериол). Несмотря на то обстоятельство, что местом локализации дыхательных ритмов в системе микроциркуляции являются вены, эти волны напрямую не характеризуют кровоток венозных отделов, но непосредственно связаны с его модуляцией. Дыхательные осцилляции отражают распределение перфузии и давления вне капилляров в более крупных сосудах — венах. Снижение амплитуды дыхательных волн указывает на повышение градиента артериовенозного давления [9].

В норме в результате чередования сокращения и расслабления гладкомышечного аппарата сосудистой стенки (активные факторы) происходит модулирование периодически изменяющегося объёма крови (пассивные факторы), что в конечном счете и формирует оптимальные гемодинамические параметры для транскапиллярного обмена [5]. И напротив, сформировавшийся спазм приводит к обеднению нутритивного кровотока, развитию ишемии и снижению показателя перфузии.

На основании наших данных, можно сказать, что первичное нарушение микроциркуляции, способствующее увеличению сопротивления току крови вследствие вазоспазма, становится причиной вторичных нарушений в системе гемостаза. Вазоспазм, ишемические явления стимулируют выброс в кровоток провоспалительных цитокинов, обладающих мощным прокоагулянтным действием [10]. Кроме этого, выделению проагрегантов и прокоагулянтов способствует турбулентный ток крови, обусловленный тем, что артериоловенулярные шунты впадают в вены под значительным углом, создавая условия для соударения форменных элементов между собой и со стенкой сосуда [3]. К тому же возникновение острой ишемии находится в зависимости от состояния нейрогуморальной регуляции сосудистого тонуса и реологических свойств крови, во многом определяемых системой гемостаза.

Полученные в нашем исследовании данные по изменениям гемостазиологических параметров подтвердили развитие стресс-реакции у крыс в ответ на 24-часовое воздействие ультразвука, зафиксированное в ходе изучения микроциркуляторного русла.

Таблица 2. Изменение показателей гемостаза экспериментальных и интактных крыс

Показатели	Интактные крысы (n=14)	Экспериментальные крысы (n=14)	p
АДФ-индуцированная агрегация, отн.ед.	25,4 [23,6–27,6]	21,7 [16,82–30,55]	p=0,6
Активированное парциальное тромбопластиновое время, с	14,9 [14,2–15,6]	16,3 [14,9–19,0]	p=0,18
Протромбиновое время, с	22,4 [21,7–23,2]	18,2 [15,2–19,5]	p=0,024 (Δ –18,7%)
Тромбиновое время, с	41,1 [38,17–42,72]	26,6 [24,75–27,65]	p=0,001 (Δ –35,28%)
Время полимеризации фибрин-мономерных комплексов, с	63,3 [58,6–65,9]	39,5 [35,0–43,0]	p=0,004 (Δ –37,60%)
Гепарин-тромбиновое время, с	82,6 [79,8–84,9]	52,2 [49,5–52,4]	p=0,033 (Δ –36,80%)
Фибриноген, г/л	2,9 [2,77–2,92]	2,7 [2,1–3,0]	p=0,5
Растворимые фибрин-мономерные комплексы, мг/100 мл	3,0 [3,0–3,0]	3,0 [3,0–3,0]	p=0,5
Антитромбин III, %	95,0 [92,6–98,7]	51,5 [40,25–58,55]	p=0,0003 (Δ –45,79%)
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин	600,0 [570,0–630,0]	495,0 [426,25–710,0]	p=0,4
Время коагуляции, с	180,5 [165,75–202,25]	204,5 [171,5–225,25]	p=0,3
Время формирования сгустка, с	76,0 [63,25–106,5]	133,0 [91,5–159,75]	p=0,009 (Δ +75%)
Угол α, градус	72,0 [68,25–76,5]	66,5 [63,0–71,5]	p=0,013 (Δ –7,64%)
Максимальная твёрдость сгустка, мм	68,0 [62,0–69,5]	69,0 [66,25–70,75]	p=0,28
Максимальный лизис,%	4,0 [1–7,5]	0,0 [0–0]	p=0,007 (Δ –100%)
Плотность сгустка через 10 мин, мм	39,5 [12,75–49,5]	58,0 [52,5–61,75]	p=0,002 (Δ +46,84%)

Примечание: результаты представлены в виде (m [25–75%]), где m — медиана в выборочной совокупности; [25–75%] — 25-й и 75-й перцентили; Δ — статистически значимая разница экспериментальной группы с интактными животными при p < 0,05; p — уровень статистической значимости различий экспериментальной группы с интактными животными; АДФ — аденозиндифосфат.

По этой причине на следующем этапе эксперимента после забора крови исследовали параметры, характеризующие сосудисто-тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз, а также состояние антикоагулянтного и фибринолитического звеньев коагуляционного гемостаза с помощью методов коагулометрии и тромбоэластографии (табл. 2).

Установлено, что 24-часовое ультразвуковое воздействие сопровождалось выраженной гиперкоагуляцией по внешнему пути плазменного гемостаза, о чём свидетельствует уменьшение протромбинового времени на 18,7%. Достоверное укорочение тромбинового времени на 35% и времени полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов на 37%

по сравнению с интактными животными расценивается как гиперкоагуляция на конечных этапах свёртывания.

Зафиксированная гиперкоагуляция усугублялась выраженным угнетением антикоагулянтной активности плазмы крови, зафиксированной как по значительному падению уровня антитромбина III (на 45%), так и по уменьшению гепарин-тромбинового времени (на 36,8%), на фоне угнетения фибринолитической активности. Такая совокупность данных свидетельствует о развитии у крыс, подвергшихся 24-часовому ультразвуковому воздействию, состояния дистресса. В то же время данных в пользу развития состояния тромботической готовности и повышенного риска

тромбообразования у крыс после ультразвукового воздействия в нашей работе не выявлено, так как концентрация растворимых фибриномономерных комплексов в плазме крови экспериментальных животных не повысилась.

Несмотря на тот факт, что дефицит фибриногена по коагулограмме не выявлен, так как время спонтанного эуглобулинового фибринолиза по сравнению с интактной группой не изменялось, по данным тромбозластографии зарегистрировано уменьшение показателя времени максимального лизиса, что свидетельствует об угнетении фибринолитической активности. Увеличение же времени формирования сгустка в крови экспериментальных животных на 75% ($p=0,009$) в комплексе со снижением значений угла α ($p=0,013$) демонстрирует нарушение процесса полимеризации фибрина, одной из причин которого может быть дефицит фибриногена, формирующийся из-за расходования последнего на образование тромба.

Поскольку материалом для исследования гемостазиологических параметров методом тромбозластографии служит не плазма крови, а цельная кровь, необходимо учитывать, что при высоких показателях пристеночного напряжения сдвига повышается вязкость крови, значение которой зависит от вязкости плазмы, показателя гематокрита и микрореологических свойств эритроцитов, как самого многочисленного пула клеток крови [11]. Подтверждением этого служат данные об ухудшении деформационных свойств эритроцитов, интенсификации агрегатообразования с формированием патологических агрегатов при артериальной гипертензии.

ВЫВОДЫ

1. Однократное 24-часовое воздействие ультразвука вызывает у крыс выраженные изменения в зоне микроциркуляции: угнетение активных и пассивных механизмов модуляции кровотока, спазм мелких артерий и артериол, застойные явления в системе микроциркуляции, эндотелиальную дисфункцию.

2. Нарушения в микроциркуляторном русле сопровождаются значительными сдвигами в системе гемостаза — гиперкоагуляцией по внешнему пути гемокоагуляции и на конечных этапах плазменного гемостаза при угнетении антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови.

3. Совокупность данных по изменениям гемостазиологических параметров и нарушениям микроциркуляторного русла свидетельствует

о развитии состояния дистресса в ответ на 24-часовое воздействие ультразвука.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов В.И. Система микроциркуляции крови: клиничко-морфологические аспекты изучения. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2006; 5 (1): 84–101. [Kozlov V.I. Blood microcirculation system: clinical and morphological aspects of the study. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2006; 5 (1): 84–101. (In Russ.)]
2. Чернух А.М., Александров П.М., Алексеев О.В. *Микроциркуляция*. М.: Медицина. 1984; 456 с. [Chernukh A.M., Aleksandrov P.M., Alekseev O.V. *Mikrotsirkulyatsiya*. (Microcirculation.) Moscow: Meditsina. 1984; 456 p. (In Russ.)]
3. Тихомирова И.А., Муравьев А.В., Петроченко Е.П., Михайлова С.Г. *Микроциркуляция и реология крови при нарушениях кровообращения*. Ярославль: Канцлер. 2011; 103 с. [Tikhomirova I.A., Murav'ev A.V., Petrochenko E.P., Mikhaylova S.G. *Mikrocirkulyatsiya i reologiya krovi pri narusheniyakh krovoobrashcheniya*. (Microcirculation and blood rheology by circulation disorders.) Yaroslavl': Kantsler. 2011; 103 p. (In Russ.)]
4. Шахматов И.И., Носова М.Н., Вдовин В.М. и др. Особенности реакции гемостаза при стрессе у лиц с разным уровнем тренированности. *Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова*. 2011; 97 (11): 1254–1261. [Shakhmatov I.I., Nosova M.N., Vdovin V.M. et al. Features of the reaction of hemostasis during stress in individuals with different levels of fitness. *Russkiy fiziologicheskii zhurnal im. I.I. Sechenov*. 2011; 97 (11): 1254–1261. (In Russ.)]
5. Федорович А.А. Функциональное состояние регуляторных механизмов микроциркуляторного кровотока в норме и при артериальной гипертензии по данным лазерной доплеровской флоуметрии. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010; 9 (1): 49–60. [Fedorovich A.A. The functional state of regulatory mechanisms of the microcirculatory blood flow in normal conditions and in arterial hypertension according to laser Doppler flowmetry. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2010; 9 (1): 49–60. (In Russ.)]
6. Иванов А.Н., Гречихин А.А., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2014; 13 (4): 4–11. [Ivanov A.N., Grechikhin A.A., Norkin I.A., Puchin'yan D.M. Methods of endothelial dysfunction diagnosis. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2014; 13 (4): 4–11. (In Russ.)]
7. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. *Лазерная доплеровская флоуметрия*. М.: Медицина. 2005; 256 с. [Krupatkin A.I., Sidorov V.V. *Lazernaya dopplerovskaya floumetriya*. (Laser Doppler flowmetry.) Moscow: Meditsina. 2005; 256 p. (In Russ.)]
8. Козлов В.И., Гурова О.А., Литвин Ф.Б. и др. Расстройства тканевого кровотока, их патогенез и классификация. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2007; (1): 75–76. [Kozlov V.I., Gurova O.A., Litvin F.B. et al. Disorders of tissue blood flow, their pathogenesis and classification. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2007; (1): 75–76. (In Russ.)]

9. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. *Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность*. Рук-во для врачей. М.: ЛИБРОКОМ. 2013; 496 с. [Krupatkin A.I., Sidorov V.V. *Funkcional'naya diagnostika sostoyaniya mikrocirkulyatorno-tkanevyh sistem: kolebaniya, informatsiya, nelinejnost'*. (Functional diagnostics of the state of microcirculatory tissue systems: oscillations, information, non-linearity.) Guide for physicians. Moscow: LIBROKOM. 2013; 496 p. (In Russ.)]

10. Beyer A.M., Freed J.K., Durand M.J. et al. Critical

role for telomerase in the mechanism of flow-mediated dilation in the human microcirculation. *Circulation Res.* 2016; 118 (5): 856–866.

11. Муравьев А.В., Чепоров С.В. *Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови)*. Ярославль: Изд-во ЯГПУ. 2009; 178 с. [Murav'ev A.V., Cheporov S.V. *Gemoreologiya (eksperimental'nye i klinicheskie aspekty reologii krovi)*. (Hemorheology (experimental and clinical aspects of blood rheology).) Yaroslavl': izdatel'stvo YAGPU. 2009; 178 p. (In Russ.)]