

## О СВЯЗИ ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И СКОРОСТИ КРОВОТОКА В СОСУДАХ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ У КРЫС

© 2024 г. Н. Н. Петрищев<sup>1</sup>, М. А. Скедина<sup>2</sup>, Т. Г. Гришачева<sup>1\*</sup>, С. Г. Чефу<sup>1</sup>,  
А. А. Ковалева<sup>2</sup>, А. М. Носовский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика  
И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия  
\* E-mail: laser82@mail.ru

Поступила в редакцию 28.05.2024 г.

После доработки 08.07.2024 г.

Принята к публикации 10.07.2024 г.

Неинвазивное исследование реологических свойств крови является актуальной, но достаточно сложной задачей. При отклонениях значений системной вязкости крови и гематокрита изменяются показатели кровотока в разных звеньях микроциркуляторного русла (МЦР). Цель – изучение характеристик кровотока в МЦР кожи крыс, получаемых методом высокочастотной ультразвуковой доплерографии (ВУЗД) при заданных изменениях реологических параметров крови. Исследования проводили на половозрелых самцах крыс сток Wistar. Сформированы 3 экспериментальные группы. Группа 1 ( $n = 21$ ) «Гемодилюция» – вязкость ( $\eta$ )  $1.99 \pm 0.02$  мПа\*с, гематокрит (Ht)  $31.48 \pm 0.31\%$ . Группа 2 ( $n = 32$ ) «Норма» – животные с неизменными значениями крови –  $\eta$   $2.84 \pm 0.03$  мПа\*с, Ht  $41.60 \pm 0.3\%$ . Группа 3 ( $n = 32$ ) «Эритроцитоз» –  $\eta$   $3.95 \pm 0.04$  мПа\*с, Ht  $54.56 \pm 0.23\%$ . Исследование динамической вязкости крови *in vitro* проводилось на вибрационном вискозиметре. Для оценки гематокрита гепаринизированную цельную кровь центрифугировали в стеклянных капиллярах при помощи центрифуги. Измерение кровотока в МЦР кожи крыс в области левого бедра проводили методом ВУЗД с помощью аппаратно-программного комплекса «Минимакс-Допплер-К», ультразвуковым датчиком с частотой 20 МГц. Статистический анализ показал корректность выполнения моделей. Показатели крови животных трех групп статистически достоверно различались по значениям  $\eta$  крови и Ht. Для определения зависимостей между реологическими показателями крови и характеристиками скорости кровотока в МЦР был применен дискриминантный анализ. К наиболее значимым характеристикам кровотока, которые варьируются в зависимости от измененного состава крови, относятся: средняя систолическая скорость  $V_{as}$  ( $p < 0.01$ ), средняя скорость  $V_{am}$  ( $p < 0.001$ ), средняя объемная скорость  $Q_{am}$  ( $p < 0.001$ ), индекс сопротивления сосудов  $RI$  ( $p < 0.01$ ) и процентное содержание клеток крови, движущихся в диапазоне низкой скорости  $H'$  ( $p = 0.03$ ). Проверка достоверности выбранных характеристик с использованием однофакторного дисперсионного анализа подтвердила их значимость в определении принадлежности к 3 исследуемым группам по данным ВУЗД. На основе данного анализа сформированы классификационные функции для неинвазивного определения динамической вязкости крови по данным ВУЗ доплерографии.

**Ключевые слова:** кровь, гемореология, вязкость крови, гематокрит, микроциркуляция, ультразвуковое исследование

## ВВЕДЕНИЕ

Реологические свойства крови, ее форменных элементов, оказывают существенное влияние на эффективность кровотока в микроциркуляторном русле (МЦР) [1]. В наибольшей степени это проявляется в капиллярах, диаметр которых соизмерим с диаметром форменных элементов крови. Неинвазивное исследование реологических свойств крови является актуальной, но достаточно сложной задачей. Для ее решения, в настоящее время, применяют, главным образом, светооптические [2–4] либо кондуктометрические [5] методы.

Одним из неинвазивных методов исследования МЦР является также высокочастотная ультразвуковая доплерография (ВУЗД). Метод основан на эффекте Доплера – то есть сдвиге частоты сигнала после отражения от движущегося объекта, что позволяет получить характеристики кровотока в абсолютных значениях. При исследовании МЦР такими движущимися объектами являются форменные элементы крови.

Ранее авторами была проведена оценка возможности определения реологических свойств крови с помощью ВУЗД на физической модели «Имитаторе МЦР». В ходе исследования показано, что с помощью данного метода возможно определять влияние макрореологических свойств крови на скорость кровотока в системе микроциркуляции [6].

Можно предположить, что при заданных изменениях вязкости крови и гематокрита будут изменяться как характеристики кровотока в разных звеньях МЦР, так и распределение форменных элементов по скорости движения, указывая на связь с реологическими свойствами. Для проверки этой гипотезы были изучены характеристики кровотока, получаемые методом ВУЗД при заданных изменениях параметров крови, влияющих на ее реологические свойства.

Целью данной работы являлось изучение характеристик кровотока в МЦР кожи крыс, получаемых методом ВУЗД при заданных изменениях реологических параметров крови.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Животные*

Исследования проводили на самцах крыс сток Wistar массой 350–400 г (Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова (НИЦ Курчатовский институт – ПИЯФ), Питомник лабораторных животных «Рапполово»).

Животные содержались при неограниченном потреблении стандартного корма К-120 («Информ-корм», Россия) и воды при фиксированном световом режиме 12.00:12.00 ч (свет: темнота). Температура поддерживалась в пределах 22–25 °С, относительная влажность – 50–70%. Длительность карантина составляла 14 дней.

Все манипуляции, связанные с фиксацией животных, и инвазивными воздействиями проводились под наркозом. Животных наркотизировали свежеприготовленной смесью препаратов:

- золетил 100 («VIRBAC», Франция) – 1 мл;
- ксилазин гидрохлорид 2% («De Adelaar» В.В., Нидерланды) – 1 мл;
- 0.9%-ный стерильный раствор хлорида натрия – 1 мл.

Препараты вводили внутримышечно, в заднюю поверхность бедра, в дозе 0.8 мл/кг. Забор крови для исследования проводили из яремной, бедренной и задней полой вены. В качестве стабилизатора использовали гепарин 50 МЕ/мл (9:1).

После окончания эксперимента, (не выводя из наркоза) крыс подвергали эвтаназии.

### *Экспериментальные модели*

Были сформированы 3 экспериментальные группы.

Группа 1 ( $n = 21$ ) «Гемодилуция». У подопытных крыс производили взятие крови из бедренной вены в таком объеме, чтобы расчетный гематокрит после заместительного

го введения физиологического раствора составил 30%, после чего сразу внутривенно (через ту же иглу) вводили подогретый до 37 °С физиологический раствор в объеме взятой крови. Исследование микроциркуляции проводили через 15 мин после инфузии. Сразу после этого забирали кровь для исследования вязкости и гематокрита из абдоминального сегмента задней полой вены.

Необходимый объем замещающей крови ( $V$ , мл) рассчитывали [7], исходя из объема циркулирующей крови ( $BV$ , мл), массы тела крысы ( $BW$ , г), объема клеточной массы ( $CV$ , мл) при заданном уровне гематокрита ( $Ht$ , %):

$$BV = 0.06 * BW + 0.77 \text{ (мл)}, \quad (1)$$

$$CV_{Ht} = (BV / 100) * Ht \text{ (мл)}, \quad (2)$$

$$V = (CV_{Ht0} - CV_{Ht1}) / Ht0 * 100 \text{ (мл)}, \quad (3)$$

где:  $Ht0$  – исходный уровень гематокрита,  $Ht1$  – уровень гематокрита, который требуется достичь для реализации модели.

Если масса тела крысы составляет 250 г, то согласно (1):

$$BV = 0.06 * 250 + 0.77 = 15.77 \text{ (мл)}.$$

При гематокрите 40% объем клеточной массы составит, согласно (2),  $CV_{40\%} = 6.31$  мл, а при гематокрите 30% –  $CV_{30\%} = 4.73$  мл.

Следовательно, для снижения гематокрита с 40% до 30% нужно было произвести взятие объема крови, согласно (3), в размере 3.95 мл.

Контрольное измерение гематокрита у каждой из крыс, выполненное после исследования микроциркуляции, показало, что гематокрит близок к расчётному (30%).

Группа 2 ( $n = 32$ ) «Норма». Интактные животные с неизмененными значениями динамической вязкости крови и уровнем гематокрита.

Группа 3 ( $n = 32$ ) «Эритроцитоз». Для получения эритроцитоза производили взятие крови из задней полой вены у крысы-донора в объеме 8 мл с последующим центрифугированием (об/мин – 3000; время центрифугирования – 5 мин), отделяли плазму и определяли гематокрит в осадке форменных элементов.

У крысы-реципиента производили взятие крови из бедренной вены, после чего сразу внутривенно (через ту же иглу) вводили клеточную массу крыс-доноров в объеме взятой крови. Необходимый объем рассчитывали таким образом, чтобы гематокрит составил 60%. Через 15 мин после введения осадка проводили измерение кровотока у крысы-реципиента. Сразу после этого забирали кровь для исследования вязкости и гематокрита из абдоминального сегмента задней полой вены.

Необходимый объем замещающей крови рассчитывали на основании формул (1) – (3). При гематокрите 60% объем клеточной массы, согласно (2), составит  $CV_{60\%} = 9.46$  мл. Разница между объемом клеточной массы при уровне гематокрита 40% и 60% составляет 3.15 мл.

После центрифугирования крови крысы-донора получали клеточную массу с гематокритом 85–95%. Расчет замещаемого объема крови для реализации модели с гематокритом 60% проведен согласно выражению (3) с учетом гематокрита в полученной клеточной массе:

$$V = (CV_{60\%} - CV_{40\%}) / Ht_{90\%} * 100 \text{ (мл)} \quad (4)$$

Таким образом, согласно (4), для получения модели «Эритроцитоз» необходимо было заменить эритроцитарной массой 3.5 мл крови у каждого животного.

Контрольное измерение гематокрита после исследования микроциркуляции показало, что гематокрит у экспериментальных животных близок к расчётным значениям (60%).

*Измерение показателей микроциркуляции кожи крыс*

Измерение кровотока в МЦР кожи крыс проводили методом ВУЗД с помощью ультразвукового диагностического аппаратно-программного комплекса (АПК) «Минимакс-Допплер-К» (ООО «СП-Минимакс», Россия). Наркотизированных крыс помещали на термостатируемый столик Physitemp TCAT-2LV с ректальным датчиком температуры для контроля и поддержания постоянной температуры тела животных в период проведения эксперимента. В течение эксперимента ректальная температура составляла  $-37.3 \pm 0.2$  °С. Перед проведением измерений кожу крыс в области левого бедра механически очищали от шерсти.

Измерения преимущественно капиллярного наполнения сосудов МЦР проводили в режиме работы прибора «Минимакс-Допплер-К» – «микро». Ультразвуковой датчик с рабочей частотой 20 МГц, установленный на регулируемом штативе, располагали под углом 60° по отношению к коже. Для обеспечения акустического контакта между ультразвуковым датчиком и исследуемым участком использовали гель «Аквагель» для ультразвука (ООО «Десмо», Россия).

При записи сигнала проводили качественный анализ (визуально) доплерограммы в режиме реального времени. Все расчеты выполняются автоматически в программном обеспечении доплерографа. Полный перечень количественных характеристик кровотока представлен в табл. 1. Исследование скорости кровотока в МЦР у каждого животного проводилась трехкратно.

**Таблица 1.** Количественные характеристики кровотока, автоматически рассчитываемые программным обеспечением доплерографа

Обозначение, единицы измерения	Наименование
$V_s$ , см/с	максимальная систолическая скорость
$V_{as}$ , см/с	средняя систолическая скорость
$V_m$ , см/с	средняя скорость по кривой максимальной скорости
$V_{am}$ , см/с	средняя скорость
$V_{ad}$ , см/с	средняя диастолическая скорость
$V_{akd}$ , см/с	конечная диастолическая скорость
$Q_s$ , мл/мин	объемная систолическая скорость
$Q_{as}$ , мл/мин	объемная средняя систолическая скорость
$Q_{am}$ , мл/мин	объемная средняя скорость
$PI$	индекс тонуса сосудов (Гослинга)
$RI$	индекс сопротивления сосудов (Пурсело)

Проводился анализ гистограмм распределения клеток крови (ГРКК) по скоростям. Гистограмма представлена на экране прибора после автоматической обработки спектральных характеристик сигнала и описывает распределение частиц по скоростям в исследуемом объеме ткани. Каждый из столбиков гистограммы обозначает долю клеток крови в определенном диапазоне скоростей по отношению ко всем клеткам крови, принятым за 100%, где верхняя граница – это текущее значение  $V_s$ . В гистограмме обозначается количество клеток крови в:  $L$  – количество клеток крови в диапазоне низких

скоростей (от 0 до  $0.25 * V_s$ ), *ML* – количество клеток крови в диапазоне средненизких скоростей (от  $0.25 * V_s$  до  $0.5 * V_s$ ), *MH* – количество клеток крови в диапазоне средне-высоких скоростей (от  $0.5 * V_s$  до  $0.75 * V_s$ ), *H* – количество клеток крови в диапазоне высоких скоростей (от  $0.75 * V_s$  до  $V_s$ ).

Показано, что при распределении клеток крови по скоростям в каждом из диапазонов скоростей присутствуют различные гидродинамические механизмы, поэтому ГРКК по скоростям потенциально значима для методики неинвазивного исследования реологических свойств крови.

#### *Измерение относительной вязкости крови*

Исследование динамической вязкости крови *in vitro* проводилось на вибрационном вискозиметре SV-1A (AND, Япония). Каждый раз перед определением вязкости опытного образца производили калибровку прибора по дистиллированной воде контролируемой температуры ( $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Для исследования цельную гепаринизированную кровь объемом 2 мл, полученную из задней полой вены наркотизированной крысы, помещали в одноразовую пластиковую пробирку объемом 5 мл (Eppendorf Austria GmbH, Австрия). Затем пробирку помещали на предметный столик в специальное крепление, которое устанавливалось в водяную «рубашку». Водяную «рубашку» при помощи силиконовых трубок с внутренним диаметром 8 мм подключали к термостатирующей прецизионной бане LB-216 (АО «Лабораторное Оборудование и Приборы», Россия) с точностью поддержания температуры объектов  $37.0 \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , что обеспечивало высокую точность поддержания температуры объектов внешнего контура. В качестве теплоносителя использовали дистиллированную воду. Пространство между пробиркой и внутренними стенками «рубашки» также заполняли теплоносителем. Температуру устанавливали  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , что обеспечивало сравнительно быстрый нагрев образца без риска термического повреждения белковых структур. Сенсорные пластины погружали в образец таким образом, чтобы уровень поверхности образца находился на уровне центра узкой части пластин, между треугольными метками, и пластины были в центре пробирки. Так как кровь непрозрачная жидкость, для точной регулировки положения пластин относительно уровня крови использовали ограничитель и стандартный объем (2 мл). Далее по достижении температуры образца  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  производили серию измерений, выключив водяную баню для исключения дополнительной вибрации. Таким образом, температура образца при измерении составляла  $35\text{--}35.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Для быстрой оценки гематокрита, а также для образцов с гематокритом более 55% 70 мкл гепаринизированной цельной крови, полученный, как описано выше, центрифугировали при помощи центрифуги Армед SH120–1S (Китай) в стеклянных капиллярах (об/мин – 7000; время центрифугирования – 5 мин). Оценивали гематокрит с учетом оседания столбика форменных элементов при помощи карточного гематокритного ридера.

#### *Статистическая обработка данных*

Обработка данных проводилась в 2 этапа. На первом этапе оценивали качество реализованных моделей (наличие статистически достоверных различий между значениями динамической вязкости крови и гематокрита между группами) и различия между группами по данным ВУЗД. Для этого использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для несвязанных групп с принятым уровнем значимости  $p < 0.05$ . На втором этапе проводили статистический анализ характеристик, зарегистрированных ВУЗ доплерографом при измененной вязкости крови. Для этого при помощи линейного дискриминантного анализа с последовательным включением показателей выявляли наиболее значимые характеристики для совокупности трех групп. При помощи однофакторного дисперсионного

анализа с принятым уровнем значимости  $p < 0.05$  выявляли значимость различий этих характеристик. Расчеты выполнены в пакете прикладных программ STATISTICA 13.0. В статье данные представлены как среднее и стандартная ошибка среднего ( $M \pm SEM$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичный статистический анализ показал корректность выполнения моделей. Показатели крови животных всех трех групп статистически достоверно различались как по значению динамической вязкости крови, так и по уровню гематокрита (табл. 2).

**Таблица 2.** Гемореологические показатели крови крыс различных групп

Группа крыс	Относительный коэффициент вязкости, мПа*с	Гематокрит, %
группа 1 «Гемодилюция»	$1.99 \pm 0.02, p < 0.001$	$31.48 \pm 0.31, p < 0.001$
группа 2 «Норма»	$2.84 \pm 0.03$	$41.6 \pm 0.3$
группа 3 «Эритроцитоз»	$3.95 \pm 0.04, p < 0.001$	$54.56 \pm 0.23, p < 0.001$

Различия представлены относительно группы 2 «Норма»

В табл. 3 представлены характеристики кровотока в МЦР кожи крыс группы 2 («Норма») по данным ВУЗД, с которой проводили сравнение показателей кровотока у групп с измененными реологическими показателями крови. Поскольку исследование скорости кровотока в МЦР у каждого животного проводилась трехкратно, далее показатель ( $n$ ) в группах указывает на количество проведенных измерений.

**Таблица 3.** Характеристики кровотока в МЦР в группе «Норма» ( $n = 96$ )

Показатель, единицы измерения	значение ( $M \pm SEM$ )
$L'$ , %	$44.28 \pm 2.59$
$ML'$ , %	$38.51 \pm 1.74$
$MH'$ , %	$9.98 \pm 1.12$
$H'$ , %	$7.26 \pm 2.09$
$V_s$ , см/с	$1.05 \pm 0.04$
$V_{as}$ , см/с	$0.27 \pm 0.01$
$V_m$ , см/с	$0.25 \pm 0.02$
$V_{am}$ , см/с	$0.09 \pm 0.01$
$V_{ad}$ , см/с	$0.13 \pm 0.01$
$V_{akd}$ , см/с	$0.1 \pm 0.01$
$Q_s$ , мл/мин	$0.82 \pm 0.03$
$Q_{as}$ , мл/мин	$0.21 \pm 0.01$
$Q_{am}$ , мл/мин	$0.11 \pm 0.01$
$PI$	$3.67 \pm 0.33$
$RI$	$0.88 \pm 0.02$

В группе «Гемодилюция» ( $n = 63$ ) были статистически значимо выше, чем в группе «Норма» следующие характеристики кровотока:  $Vas$  ( $0.35 \pm 0.02$  см/с,  $Z = -2.64$ ,  $p < 0.01$ ),  $Qas$  ( $0.27 \pm 0.01$  мл/мин,  $Z = -2.64$ ,  $p < 0.01$ ).

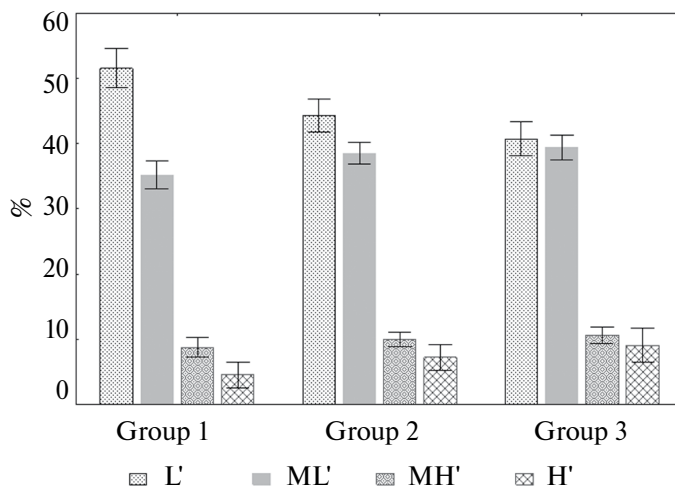
В группе с модельным «Эритроцитозом» ( $n = 96$ ) кровоток характеризовался более высокими скоростями во всех звеньях МЦР:  $Vas$  ( $0.37 \pm 0.03$  см/с,  $Z = -4.96$ ,  $p < 0.001$ ),  $Vam$  ( $0.13 \pm 0.01$  см/с,  $Z = -3.93$ ,  $p < 0.001$ ),  $Vakd$  ( $0.14 \pm 0.01$  см/с,  $Z = -3.41$ ,  $p < 0.001$ ),  $Qas$  ( $0.29 \pm 0.01$  мл/мин,  $Z = -4.96$ ,  $p < 0.001$ ),  $PI$  ( $4.12 \pm 0.3$ ,  $Z = -2.37$ ,  $p = 0.02$ ),  $RI$  ( $0.96 \pm 0.01$ ,  $Z = -3.52$ ,  $p < 0.001$ ) и более низким значением  $Vad$  ( $0.1 \pm 0.11$  см/с,  $Z = 2.68$ ,  $p < 0.01$ ).

Таким образом, взаимосвязь гемореологии и микроциркуляции находит свое отражение в исследованиях с использованием ВУЗД.

Получаемые после проведения ВУЗД значения ГРКК по скоростям являются зависимыми от значения  $Vs$  в каждом измерении. Поэтому потребовалось приведение всех относительных значений ГРКК к единой абсолютной шкале для всех измерений, выполненных на животных всех модельных групп. За основу были приняты данные группы 2 («Норма»). В качестве верхней фиксированной границы принималось максимальное значение показателя  $Vs$  в данной выборке, которое соответствовало 1.6 см/с. Пересчет значений был проведен в разработанном на основе *MS excel* шаблоне, и далее значения ГРКК обозначены как:  $L'$ ,  $ML'$ ,  $MH'$ ,  $H'$ .

Несмотря на отсутствие статистической значимости по показателям ГРКК в группах 1 и 3 относительно группы 2 «Норма», представляет интерес вид гистограмм распределения клеток крови по скоростям, так как присутствовали различия между группами 1 и 3.

По данным ВУЗД, животные группы 1 модель «Гемодилюция» характеризовались преобладанием кровотока в диапазоне низких скоростей (рис. 1).



**Рис. 1.** Распределение клеток крови по скоростям в модельных группах.  $L'$  – диапазон низких скоростей,  $ML'$  – диапазон среднизких скоростей,  $MH'$  – диапазон средневысоких скоростей,  $H'$  – диапазон высоких скоростей.

С целью определения зависимостей между вязкостью крови и характеристиками кровотока был применен дискриминантный анализ [8]. Это математический метод, который используется для анализа и классификации данных. Он позволяет определить, какие переменные или признаки наиболее сильно влияют на разделение объектов на различные группы или классы. Цель дискриминантного анализа заключается в построении дискриминантной функции, которая может разделить объекты на различные классы на основе их характеристик или признаков. В нашем случае в дискриминантный анализ были заложены данные по 3 группам «Гемодилуция», «Норма», «Эритроцитоз».

Задачами анализа явились:

- статистическое выявление наиболее значимых показателей кровотока в МЦР по данным ВУЗД в зависимости от измененных реологических свойств крови, путем анализа совокупности данных по трем модельным группам;
- выявление уровня их влияния.

Составлены таблицы данных, структура которых аналогична изложенной в работе [9]. В первом столбце отражена информация о группе (1, 2 или 3), затем представлены 15 характеристик кровотока в порядке, соответствующим их представлению в табл. 3, и данные о динамической вязкости крови и уровне гематокрита, представленных в табл. 2.

Автоматический пошаговый расчет дискриминантной функции в виде линейной комбинации всех характеристик кровотока в каждой группе позволил выявить наиболее значимые характеристики кровотока в МЦР, которые изменяются в зависимости от измененного состава крови. К ним относятся: средняя систолическая скорость  $V_{as}$  ( $F=6.72$ ,  $p < 0.01$ ), средняя скорость  $V_{am}$  ( $F=16$ ,  $p < 0.001$ ), средняя объемная скорость  $Q_{am}$  ( $F=7.39$ ,  $p < 0.001$ ), индекс сопротивления сосудов  $RI$  ( $F=7.07$ ,  $p < 0.01$ ) и процентное содержание клеток крови, движущихся в диапазоне низкой скорости  $L'$  ( $F=3.7$ ,  $p = 0.03$ ).

Проверка достоверности выбранных характеристик с использованием однофакторного дисперсионного анализа подтвердила их значимость в определении принадлежности к группе «Гемодилуция», «Норма» или «Эритроцитоз» по данным ВУЗД.

На рис. 2 представлены графики распознавания образов 3 групп, которые складываются из 5 наиболее значимых характеристик кровотока в МЦР, полученных методом ВУЗД. На графиках представлены границы доверительного интервала с достоверностью 95% и средние показатели значений по всем 3 группам.

На основе однофакторного дисперсионного анализа сформированы классификационные функции для неинвазивного определения динамической вязкости крови ( $\eta$ , мПа\*с) по данным ВУЗД, которые представляют собой 3 выражения:

$$\eta_1 = -56.0584 + 0.1634 * L' + 4.8991 * V_{as} + 22.5064 * V_{am} + 68.9376 * Q_{am} + 100.2742 * RI, \quad (5)$$

$$\eta_2 = -53.1244 + 0.1468 * L' - 1.1019 * V_{as} + 11.6543 * V_{am} + 81.2057 * Q_{am} + 100.2501 * RI, \quad (6)$$

$$\eta_3 = -61.8928 + 0.1418 * L' + 3.1034 * V_{as} + 34.8149 * V_{am} + 70.5314 * Q_{am} + 106.668 * RI \quad (7).$$

При подстановке значений величин  $L'$ ,  $V_{as}$ ,  $V_{am}$ ,  $Q_{am}$  и  $RI$ , полученных методом ВУЗД, во все три выражения (5)–(7) следует выбрать максимальное значение из трех. Именно оно будет близко либо соответствовать истинному значению вязкости крови и определять принадлежность к группе 1, 2 или 3.

Классификационные функции являются современной технологией анализа данных, что, по сути, представляет элемент искусственного интеллекта, внедрение которого проводится на современном этапе во всех сферах деятельности.

Из графиков видно, что если показатели ВУЗД:  $V_{as}$ ,  $V_{am}$  и  $RI$  выше верхней границы доверительного интервала, то с достоверностью 95% объект принадлежит к груп-



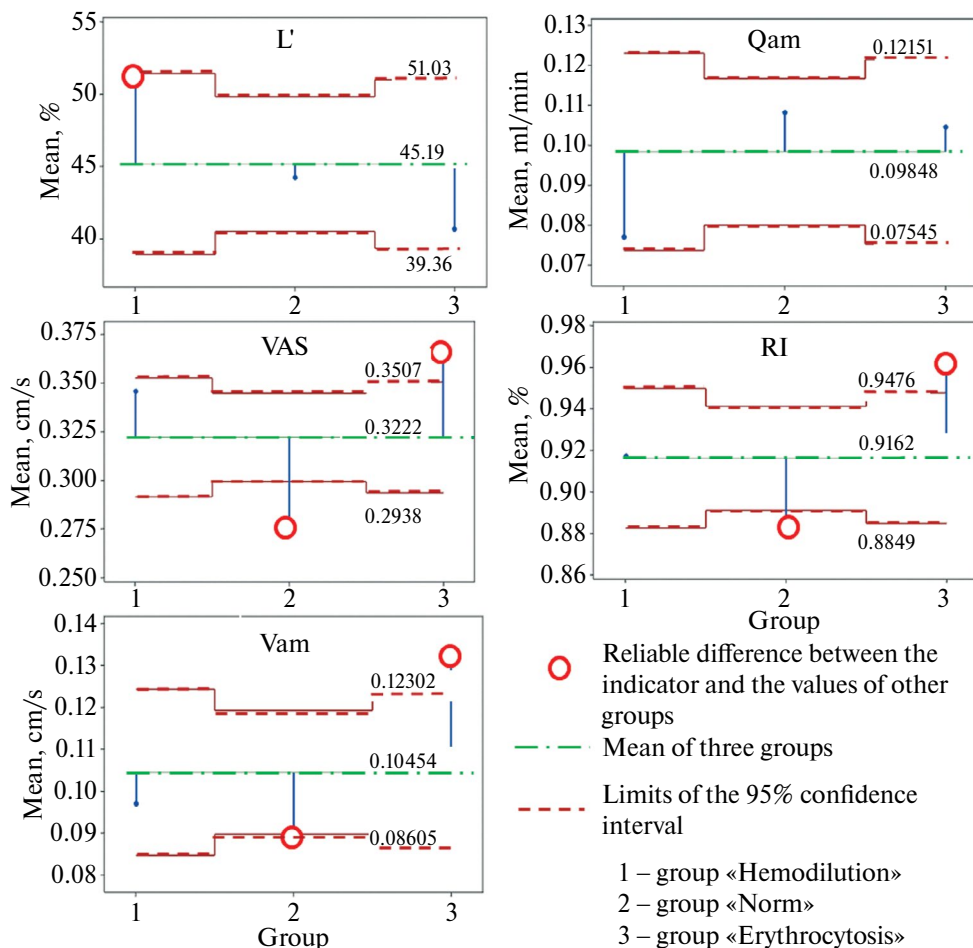


Рис. 2. Графики распознавания групп «Гемодилуция», «Норма» и «Эритроцитоз» по данным высокочастотной ультразвуковой доплерографии.

пе «Эритроцитоз». Если эти показатели ниже доверительной границы, следовательно, объект принадлежит к группе «Норма» (с достоверностью 95%). Для группы «Гемодилуция» характерным является показатель  $L'$  у верхней границы доверительного интервала и  $Q_{am}$  у нижней границы доверительного интервала. Следует отметить, что направление данных показателей является противоположным для групп 2 и 3.

Следовательно, чем меньше вязкость, тем медленнее будут двигаться форменные элементы крови по сосудам МЦР. При этом объемный поток крови через МЦР также будет снижен. Такое состояние будет неблагоприятно сказываться на сердечно-сосудистой системе в целом, так как при снижении количества эритроцитов, составляющих большую часть клеток крови, снабжение органов и тканей кислородом также будет

снижено. Реакцией организма на гипоксию может стать усиление работы сердца, что, как следствие, приведет к ряду компенсаторных реакций в МЦР [10, 11].

При повышенной вязкости крови группы 3 «Эритроцитоз» характерным является снижение значения показателя  $L'$  и более высокие показатели кровотока в артериолярном и капиллярном звеньях МЦР, однако не отмечается высоких показателей объема кровенаполнения капиллярного звена, достоверно увеличивается показатель периферического сопротивления сосудов. Вследствие этого, можно предполагать, застойные явления в веноулярном отделе МЦР.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система микроциркуляции является сложной, очень мобильной, многофакторной системой [12]. Скорость движения потоков крови находится в прямой зависимости от реологических свойств крови и плазмы [13, 14], количества, состава ее форменных элементов [1, 15].

Нами проведено исследование взаимосвязи реологических свойств крови с характеристиками скорости кровотока в различных звеньях МЦР методом ВУЗД на трех моделях «Гемодилуция», «Норма», «Эритроцитоз» с использованием животных. Также проводилось статистическое выявление наиболее значимых показателей кровотока в МЦР по данным ВУЗД в зависимости от измененных реологических свойств крови с помощью современной технологии анализа многокомпонентных данных.

Проведенный анализ продемонстрировал возможность применения статистических методов анализа для неинвазивного определения реологических свойств крови с помощью ВУЗД. Эффективность примененного метода дискриминантного анализа в задачах классификации, используемых в медицинских и диагностических целях, была подтверждена неоднократно [16, 17], включая исследования с ВУЗД [18].

С помощью однофакторного дисперсионного анализа была построена экспертная система оценки реологических свойств крови по характеристикам кровотока в разных звеньях МЦР, полученных методом ВУЗД для групп животных: «Гемодилуция», «Норма», «Эритроцитоз». Особенно ценно, что достоверные различия определены в базовых значениях системы МЦР: артериолярном, капиллярном звеньях и системе периферического сопротивления сосудов.

Возможность построения данной экспертной системы реализуется и для других патологий. Внедрение экспертной оценки реологических показателей крови в программном обеспечении ультразвукового доплерографа даст возможность исследования макрореологических свойств крови методом ВУЗД.

## ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н. Н. П. и М. А. С.), сбор данных (Т. Г. Г., С. Г. Ч.), обработка данных (А. А. К., А. М. Н.), написание и редактирование манускрипта (Н. Н. П., М. А. С, Т. Г. Г., С. Г. Ч., А. А. К., А. М. Н.).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета соглашения о научно-исследовательском сотрудничестве № 37-С от 09 февраля 2023 г. между обществом с ограниченной ответственностью «Центр авиакосмической медицины» и Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, программы фундаментальных научных исследований РАН FMFR-2024-0039, запланированных в ГНЦ РФ-ИМБП РАН. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по содержанию и использованию животных Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 100\_ЦЛ1\_012024/24\_135 от 15.01.2024 г.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Муравьев АВ, Михайлов ПВ, Тихомирова ИА* (2017) Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия. Регион кровообращ микроциркул 16(2): 90–100. [*Muravyov AV, Mikhailov PV, Tikhomirova IA* (2017) Microcirculation and Hemorheology: points of interaction. Region krovoobrashch mikrocirkul 16(2): 90–100. (In Russ)]. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2017-16-2-90-100>
2. *Alsunaidi B, Althobaiti M, Tamal M, Albaker W, Al-Naib I* (2021) A review of non-invasive optical systems for continuous blood glucose monitoring. *Sensors* 21(20): 6820. <https://doi.org/10.3390/s21206820>
3. *Apostolidis AJ, Beris AN* (2014) Modeling of the blood rheology in steady-state shear flows. *J Rheol* 58(3): 607–633. <https://doi.org/10.1122/1.4866296>
4. *Njoun H, Kyriacou PA* (2017) Photoplethysmography for the Assessment of Haemorheology. *Scient Rep* 7(1): 1406. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01636-0>
5. *Khlynov RD, Ryzhova VA, Konyakhin IA, Korotaev VV* (2022) Robotic Polarimetry System Based on Image Sensors for Monitoring the Rheological Properties of Blood in Emergency Situations. In: Gorodetskiy AE, Tarasova IL (eds) *Smart Electromechanical Systems. Studies in Systems, Decision and Control. Vol 419*. Springer. Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-97004-8\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-97004-8_15)
6. *Гришачева ТГ, Петрищев НН, Скедина МА, Ковалева АА* (2023) Изучение возможности оценки гемореологических свойств крови на основе гистограммы распределения клеток крови по скоростям. В: Власов ТД, Петрищев НН (ред) *Научная интеграция в биомедицине: фундаментальные и прикладные аспекты*. ПСПбГМУ им ИП Павлова. Санкт-Петербург 258–271. [*Petrishchev NN, Skedina MA, Grishacheva TG, Kovaleva AA* (2023) Possibility to study blood rheological properties by high-frequency ultrasound dopplerography. In: Vlasov TD, Petrishchev NN (eds) *Scientific integration in biomedicine: fundamental and applied aspects*. Pavlov University. Saint Petersburg. 258–271. (In Russ)].
7. *Lee HB, Blafox MD* (1985) Blood volume in the rat. *J Nucl Med* 26(1): 72–76.
8. *Dhamnetiya D, Goel MK, Jha RP, Shalini S, Bhattacharyya K* (2022) How to perform discriminant analysis in medical research? Explained with illustrations. *J Labor Physicians* 14(04): 511–520. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1747675>
9. *Скедина МА, Ковалева АА, Носовский АМ* (2020) Анализ показателей кровотока в микроциркуляторном русле кожи человека и их связь с показателями центральной гемодинамики. Регион кровообращ микроциркул 19(4): 76–86. [*Skedina MA, Kovaleva AA, Nosovskij AM* (2020) The analysis of blood flow indicators in the microvascular bed of the human skin and their relationship with central hemodynamic parameters. Region krovoobrashch mikrocirkul 19(4):76–86. (In Russ)]. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2020-19-4-76-86>
10. *Шперлинг ИА, Крупин АВ, Rogov OA, Шперлинг НВ, Арокина НК* (2023) Функциональные особенности кардиореспираторной системы у крыс с острой кровопотерей и после ее восполнения инфузионным раствором в эксперименте. *Вятск мед вестн* 79(3): 59–65. [*Shperling IA, Krupin AV, Rogov OA, Shperling NV, Arokina NK* (2023) Functional peculiarities of the cardiorespiratory system in rats with acute blood loss and after its replenishment with infusion solution in the experiment. *Vyatsk med vestn* 79(3): 59–65. (In Russ)]. <https://doi.org/10.24412/2220-7880-3-59-65>

11. Умралиева НД, Сотников БВ, Тулекеев ТМ (2022) Влияние высокогорья на микрогемодициркуляцию крыс с гемической гипоксией. *Вестн мед и образован* (3):154–172. [Umralieva ND, Sotnikov BV, Tulekeev TM (2022) Influence of high mountains on microhemocirculation of rats with hemic hypoxia. *Vestn med i obrazovan* (3): 154–172. (In Russ)].
12. Gutterman DD, Chabowski DS, Kadlec AO, Durand MJ, Freed JK, Ait-Aissa K, Beyer AM (2016) The human microcirculation: regulation of flow and beyond. *Circul Res* 118(1): 157–172. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.305364>
13. Alexy T, Detterich J, Connes P, Toth K, Nader E, Kenyeres P, Arriola-Montenegro J, Ulker P, Simmonds MJ (2022) Physical Properties of Blood and their Relationship to Clinical Conditions. *Front Physiol* 13: 906768. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.906768>
14. Sun J, Han K, Xu M, Li L, Qian J, Li L, Li X (2022) Blood Viscosity in Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus: Roles of Hyperglycemia and Elevated Plasma Fibrinogen. *Front Physiol* 13: 827428. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.827428>
15. Beris AN, Horner JS, Jariwala S, Armstrong MJ, Wagner NJ (2021). Recent advances in blood rheology: a review. *Soft Matter* 17(47): 10591–10613. <https://doi.org/10.1039/d1sm01212f>
16. Ватъян АС, Голубев АА, Гусарова НФ, Добренко НВ, Зубаненко АА, Кустова ЕС, Татаринова АА, Томилов ИВ, Шовкопляс ГФ (2023) Интеллектуальная поддержка клинических решений при небольших выборках числа пациентов. *Научно-техн вестн информац технол механ и оптики* 23(3): 595–607 [Vatyan AS, Golubev AA, Gusarova NF, Dobrenko NV, Zubanenko AA, Kustova ES, Tatarinova AA, Tomilov IV, Shovkoplias GF (2023) Intelligent clinical decision support for small patient datasets. *Nauchno-tekhn vestn informac tekhnol mekhan i optiki* 23(3): 595–607. (In Russ)]. <https://doi.org/10.17586/2226-1494-2023-23-3-595-607>
17. Николаева НГ, Шадривова ОВ, Борзова ЮВ, Григорьев СГ, Ицкович ИЭ, Клишко НН (2023) Возможности дискриминантного анализа в дифференциальной диагностике хронического аспергиллеза и немикотических поражений легких. *Вестн рентгенол радиол* 104(1): 6–20. [Nikolaeva NG, Shadrivova OV, Borzova YuV, Grigoryev SG, Itskovich IE, Klimko NN (2023) Possibilities of Discriminant Analysis in the Differential Diagnosis of Chronic Aspergillosis and Nonmicotic Lung Lesions. *Vestn rentgenol i radiol* 104(1): 6–20. (In Russ)]. <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2023-104-1-6-20>
18. Токмакова СИ, Кириенкова ЕА, Бондаренко ОВ, Луницына ЮВ, Побединская ЛЮ, Баштовой АА (2021) Оценка микрогемодициркуляции тканей пародонта на основе применения метода дискриминантного анализа. *Институт стоматол* 90(1): 62–64 [Tokmakova SI, Kirienkova EA, Bondarenko OV, Lunicyna YuV, Pobedinskaya LYu, Bashtovoy AA (2021) Evaluation of microhemocirculation of periodontal tissues based on the use of the discriminant analysis method. *Institut stomatol* 90(1): 62–64. (In Russ)].

## The Relationship of Hemorheological Blood Values and Blood Velocity of Microcirculatory Bloodstream in Rats' Skin Vessels

N. N. Petrishchev<sup>a</sup>, M. A. Skedina<sup>b</sup>, T. G. Grishacheva<sup>a, #</sup>, S. G. Chefu<sup>a</sup>, A. A. Kovaleva<sup>b</sup>,  
and A. M. Nosovskij<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: laser82@mail.ru*

Non-invasive study of blood rheology is relevant, but quite complex issue. When systemic blood viscosity and hematocrit levels deviate, blood flow indicators in different parts of microvasculature change. Purpose of the study – research of blood flow characteristics in skin microcirculatory bloodstream of rats obtained by high-frequency ultrasound Dopplerography (HFUD) with given changes in rheological blood indicators. The studies were carried out on pubescent male Wistar rats. 3 experimental groups were formed. Group 1 ( $n = 21$ ) “Hemodilution” – viscosity  $1.99 \pm 0.02$  mPa\*s, hematocrit  $31.48 \pm 0.31\%$ . Group 2 ( $n = 32$ ) “Reference values” – animals with unchanged blood levels – viscosity  $2.84 \pm 0.03$  mPa\*s, hematocrit  $41.60 \pm 0.3\%$ . Group 3 ( $n = 32$ ) “Erythrocytosis” – viscosity  $3.95 \pm 0.04$  mPa\*s, hematocrit  $54.56 \pm 0.23\%$ . Dynamic blood viscosity in vitro studies were carried out on oscillatory viscometer. In order to evaluate hematocrit level heparinized whole blood was centrifuged in glass capillaries using; hematocrit values were assessed taking into account sedimentation of formed elements column using a hematocrit reader card. Blood flow in skin microcirculatory bloodstream of rats' left thigh area was estimated by HFUD method using Minimax-Doppler-K hardware and software system, with ultrasound transducer (frequency 20 MHz). Statistical analysis showed the models are correct. Blood indicators of the animals in three experimental groups differed statistically and significantly in terms of blood viscosity and hematocrit. Discriminant analysis was used to determine the relations between rheological blood parameters and characteristics of blood velocity in microcirculatory bloodstream which made it possible to identify the most significant characteristics of blood flow that tend to change depending on altered blood composition. These include: mean systolic velocity  $V_{as}$  ( $p < 0.01$ ), mean velocity  $V_{am}$  ( $p < 0.001$ ), mean volume velocity  $Q_{am}$  ( $p < 0.001$ ), vascular resistance index  $RI$  ( $p < 0.01$ ) and the percentage of blood cells moving in low-speed  $H'$  ( $p = 0.03$ ). The reliability of selected characteristics was checked with one-way analysis of variance; and their significance in determining membership in “Hemodilution”, “Reference values” or “Erythrocytosis” groups according to HFUD data was confirmed. Based on this analysis classification functions were generated for non-invasive dynamic blood viscosity determination according to ultrasound Dopplerography data.

**Keywords:** blood, hemorheology, blood viscosity, hematocrit, microcirculation, ultrasound examination