

Министерство просвещения Российской Федерации,
ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический
университет им. К.Д. Ушинского»

На правах рукописи

Волкова Елена Леонидовна

**МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА И
СЕРОВОДОРОДА И СУБСТРАТОВ ИХ СИНТЕЗА НА
МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ В
НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

Специальность 1.5.5 – Физиология человека и животных

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Доктор биологических наук, профессор
Муравьев Алексей Васильевич

Ярославль – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Вязкость цельной крови, ее текучесть, транспортный потенциал	16
1.2. Анализ роли концентрации клеток крови (гематокрита) в изменениях величины вязкости цельной крови	18
1.3. Влияние вязкости плазмы на величину вязкости цельной крови	22
1.4. Микрореологические характеристики эритроцитов: их влияние на общую текучесть крови и ее транспортный потенциал	24
1.5. Изменение микрореологических характеристик эритроцитов под влиянием сигнальных молекул.....	29
Глава 2. ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
2.1. Организация исследования	37
2.2. Методы оценки функционального состояния.....	39
2.2.1 Оценка антропометрических показателей.....	39
2.2.2 Оценка состояния сердечно-сосудистой системы в покое.....	39
2.3. Методы регистрации реологических свойств крови.....	39
2.3.1 Определение вязкости цельной крови, плазмы и суспензий эритроцитов.....	39
2.3.2 Определение реологической эффективности доставки кислорода к тканям	44
2.4. Методы оценки микрореологических свойств крови	44
2.4.1 Регистрация и оценка величины агрегации эритроцитов	44
2.4.2 Измерение деформируемости эритроцитов	45
2.5. Биохимические исследования крови и плазмы.....	49
2.5.1. Исследования плазмы	49

2.5.2	<i>Определение концентрации гемоглобина.....</i>	50
2.6.	Исследование механизмов изменения микрореологических свойств эритроцитов	50
2.6.1	<i>Исследование влияния доноров газотрансммиттеров и субстратов их синтеза на микрореологические свойства эритроцитов</i>	51
2.6.2	<i>Исследование влияния доноров газотрансммиттеров и субстратов их синтеза на микрореологические свойства восстановленных теней эритроцитов</i>	52
2.7.	Статистическая обработка полученных результатов	52
Глава 3.	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
3.1.	Анализ параметров гемореологических профилей и их изменений при действии доноров газотрансммиттеров и субстратов их синтеза у здоровых людей, лиц с артериальной гипертензией и лиц с избыточной массой тела	54
3.1.1	<i>Анализ параметров гемореологических профилей и их изменений при действии доноров газотрансммиттеров и субстратов их синтеза у здоровых людей, лиц.....</i>	54
3.1.1.1	<i>Параметры гемореологического профиля у здоровых женщин и мужчин.....</i>	54
3.1.1.2	<i>Анализ моделей течения цельной крови, суспензии эритроцитов и их деформации.....</i>	59
3.1.1.3	<i>Микрореологические ответы эритроцитов здоровых лиц на доноры газотрансммиттеров.....</i>	64
3.1.2	<i>Анализ изменений параметров гемореологического профиля у лиц с артериальной гипертензией и их коррекция донорами газотрансммиттеров и субстратами их синтеза.....</i>	69
3.1.2.1	<i>Различия показателей кровообращения между группами АГ и группой 1 (группа контроля).....</i>	69
3.1.2.2	<i>Различия показателей гемореологического профиля лиц группы АГ и группы контроля.....</i>	70

3.1.2.3 Микрореологические ответы эритроцитов лиц с артериальной гипертензией (АГ) на доноры газотрансмиттеров и субстраты их синтеза.....	78
3.1.3 Анализ изменений параметров гемореологического профиля у лиц с избыточной массой тела (ИзбМТ) и их коррекция донорами газотрансмиттеров и субстратами их синтеза.....	84
3.1.3.1 Показатели индекса массы тела и величины артериального давления у лиц группы ИзбМТ	84
3.1.3.2 Характеристика гемореологического профиля у группы лиц с избыточной массой тела	86
3.1.3.3 Микрореологические ответы эритроцитов лиц группы с избыточной массой тела (ИзбМТ) на доноры газотрансмиттеров и субстраты их эндогенного синтеза.....	91
3.2. Механизмы и сигнальные молекулярные пути, ассоциированные с изменениями микрореологических характеристик эритроцитов под действием доноров газотрансмиттеров.....	96
3.2.1 Роль растворимой гуанилатциклазы и NO-синтазы	96
3.2.1.1 Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с донором NO нитропруссидом натрия (НПН) и ODQ.....	96
3.2.1.2 Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с донором NO нитропруссидом натрия (НПН) и метиленовым синим (МТС).....	98
3.2.1.3 Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с L-аргинином и L-NAME.....	100
3.2.2 Роль ионных каналов эритроцитов как молекулярных мишеней для газотрансмиттеров.....	103
3.2.2.1 Изучение роли АТФ-зависимых калиевых каналов в механизмах изменений микрореологии эритроцитов.....	103
3.2.2.2 Изучение роли кальций-зависимых калиевых каналов или Гардош-каналов в механизмах изменений микрореологии эритроцитов.....	105

3.2.3 Влияние НПН и NaHS на микрореологические свойства эритроцитов на фоне стимуляции альфа-1- адренорецепторов фенилэфрином.....	107
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	111
Выводы	132
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	134

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление	ФЭ – фенилэфрин
АГ – артериальная гипертензия	сАМФ – циклический
АЦ – аденилатциклаза	аденозинмонофосфат
АЭ – агрегация эритроцитов	сГМФ – циклический
ВК – вязкость крови	гуанозинмонофосфат
ВП – вязкость плазмы	eNOS – эндотелиальная NO–
ВС – вязкость суспензии эритроцитов	синтаза
ГТ –газотрансммиттеры	Hct – гематокрит
ГлК – глибенкламид	H ₂ S – сульфид водорода
ГЦ – гуанилатциклаза	k – коэффициент неньютоновости
ДАД – диастолическое артериальное давление	крови или суспензии эритроцитов
ДЭ – деформируемость эритроцитов	K _{АТР} -каналы – АТФ-зависимые
ИзбМТ – избыточная масса тела	калиевые каналы
ИМТ – индекс массы тела	L-A – L-аргинин
ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов	L-NAME – метиловый эфир
ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов	N-нитро-L-аргинина
МТ – масса тела	L-Ц – L-цистеин
МСЭ – микрореологические свойства эритроцитов	NaHS – гидросульфид натрия, донор сероводорода
МТС – метиленовый синий	NO – оксид азота
НПН – нитропруссид натрия, донор оксида азота	ODQ – 1H- [[1, 2, 4]]-оксадиазоло [4,3-a]хиноксалин-1-он
p-ГЦ – растворимая гуанилатциклаза	PKG – протеинкиназа G
САД - систолическое артериальное давление	PKA – протеинкиназа A
ТПК – транспортный потенциал крови	PKC – протеинкиназа C

ВВЕДЕНИЕ

Перфузия тканей и их оксигенация выраженно коррелируют с объемной скоростью кровотока. Последняя, в свою очередь, зависит от *гемодинамических, сосудистых и реологических* факторов (Secomb et al., 2007). Величина давления крови в артериях представляет компонент гемодинамики, который рассматривается при анализе величины объемного кровотока (Pedley, 1980). Что касается сосудистых факторов, определяющих эффективность транспорта всего спектра веществ и дыхательных газов в органы и ткани, то речь идет о диаметре и длине сосудистого сегмента (Каро с соавт., 1981; Джонсон, 1982). Важное место в числе факторов, определяющих объемный кровоток занимает комплекс *гемореологических характеристик* (Baskurt, Meiselman, 2003, 2007; Pries, Secomb, 2008). Из анализа эмпирического закона Пуазейля следует, что объемный кровоток зависит от диаметра сосудов (Pries, Secomb, 1997). Однако роль этого фактора существенно уменьшается на уровне обменных капилляров, так как из-за отсутствия мышечных элементов в их стенке резервы дилатации невелики (Куприянов с соавт., 1975). Так, на этом сосудистом уровне тканевая гемоперфузия определяется деформируемостью эритроцитов (Negrean et al., 2004; Lipowsky, 2005; Pinho et al., 2020). Кроме того, кровь при определенных условиях (снижение напряжения и скоростей сдвига) проявляет свойства неньютоновской жидкости (Abbasian et al., 2020). Течение такой жидкости не подчиняется закону Пуазейля и не зависит от радиуса сосуда в четвертой степени (Уилкинсон, 1964). Важно дополнить, что транспортный потенциал крови (ТПК) снижается при нарастании степени ее неньютоновости (Stoltz et al., 1991; Kandangwa et al., 2022; Wajihah, Sankar, 2023 et al., 2023).

С учетом сказанного, важно определить степень неньютоновского поведения крови и разработать программы коррекций отклонений от нормальных величин этого параметра гемореологического профиля, особенно при том или ином заболевании. Кроме того, необходимо иметь в виду, что вязкость крови (ВК), а также деформируемость (ДЭ) и агрегация эритроцитов (АЭ) оказывают выраженное влияние на формирование общего периферического сопротивления

кровотоку в сосудах и, следовательно, влияют на величину *артериального давления* (АД) (Селезнев с соавт., 1976; Галенок с соавт., 1987; Соколова, Кошелев, 2011, 2024; Ajmani 1997; Lipowsky, 2007). Поэтому исследование величины вклада каждой макро- и микрореологической характеристики крови и эритроцитов в ее текучесть и, следовательно, в сопротивление кровотоку, представляет собой важную теоретическую и практическую задачу (Baskurt, Meiselman, 2007, Forconi, Guerrini, 1996). Кроме того, поиск средств коррекции негативно измененных микрореологических характеристик эритроцитов – это новая интересная стратегия прикладных научных исследований (Sharina, Martin, 2017; Pinho et al., 2020). Для решения подобных задач необходимо тщательно исследовать роль микрореологических характеристик эритроцитов и, в первую очередь, их деформируемости, в текучести цельной крови, которая, как интегральная характеристика, определяет эффективность транспорта кислорода (Галенок с соавт., 1987). Текучесть – это величина обратная вязкости крови (Муравьев, Чепоров, 2009; Dintenfass, 1981). В этой связи важно иметь в виду, что в зрелых эритроцитах человека имеются активные элементы молекулярных сигнальных каскадов (Muravyov, Tikhomirova, 2013) в том числе G-белки, аденилатциклазы, гуанилатциклазы, сАМФ и сГМФ, мембранные ионные каналы, несколько видов фосфодиэстераз, протеинкиназы и протеинфосфатазы (Brunati et al., 1996; Minetti et al., 2004; Saldanha et al., 2007).

В последние десятилетия возник повышенный интерес к новому классу сигнальных молекул, известных как газовые медиаторы или газотрансмиттеры (ГТ): это оксид азота (NO), монооксид углерода (CO) и сульфид водорода (H₂S) (Olas, 2015). Имеются многочисленные работы, в которых сообщается о важной роли ГТ в регуляции функций организма (Северина, 1998; Лобов, Непиющих, 2020; Лобов, Соколова, 2020; Balligand, Cannon, 1997; Marini et al., 2023), в том числе клеток крови (Северина, 1995; Chen, Popel, 2009; Truss, Warner, 2011). Известно, что эритроциты при выполнении кислородтранспортной функции должны реализовать свои микрореологические свойства – деформируемость и агрегацию (Muravyov, Tikhomirova, 2013, 2014). Было показано, что эти клеточные

характеристики положительно изменяются под влиянием донора NO нитропрусида натрия или при добавлении субстрата эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) L-аргинина (Муравьев с соавт., 2019; Bor-Kucukatay, 2003; Uyuklu et al., 2009; Mozar et al., 2016). В опытах *in vitro* имеется возможность точно регистрировать изменения микрореологических характеристик эритроцитов после их инкубации с биологически активными соединениями и в том числе с донорами газотрансмиттеров (Muravyov et al., 2019). Кроме того, активные элементы сигнальных каскадов эритроцитов, это как раз те молекулярные мишени, на которые могут действовать газотрансмиттеры (Brunati et al., 1996; Petrov, Lijnen, 1996; Grau et al., 2013). Таким образом, на модели микрореологического поведения эритроцитов можно изучить сигнальные механизмы влияния газотрансмиттеров. Все элементы молекулярных сигнальных каскадов эритроцитов могут быть местом приложения регуляторных соединений, находящихся в сосудистом русле и принимающих участие в его регуляции (Bełtowski, Jamroz-Wiśniewska, 2014). При этом могут быть разные варианты комбинаций молекулярных сигнальных каскадов для достижения целей управления функцией. Например, один из них включает гипоксический стимул или повышение напряжения сдвига на плазматической мембране эритроцитов, с последующей активацией e-NO-синтазы, которая обеспечивает синтез NO из L-аргинина (Mozar et al., 2016). В этом случае NO регулирует и гладкомышечные клетки сосудов (вазодилатация артериол), и по аутокринной регуляторной петле – деформируемость эритроцитов (Ellsworth et al., 1995; Olearczyk et al., 2004).

При ряде заболеваний и патологических состояний отмечается нарушение метаболизма газотрансмиттеров, особенно в сердечно-сосудистой системе (Coletta et al., 2012; Marini et al., 2023). Так диабет часто сочетается с повышенной массой тела и является одной из основных причин артериальной гипертензии (Liu et al., 2023), а также с нарушением активности эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и активности цистатинин-γ-лиазы (Montanaro et al., 2023). При этом H₂S и NO не только влияют на биосинтез друг друга, но и создают новые пути химического взаимодействия. Они играют регулирующую роль в сердечно-

сосудистой системе, задействуя сходные сигнальные механизмы или молекулярные мишени. Однако естественный точный механизм взаимодействия H_2S и NO остается неясным и требует дальнейшего изучения (Gheibi et al., 2018).

Исходя из всего вышеизложенного, были сформулированы цель и основные задачи.

Цель: Изучение влияния микрореологических свойств эритроцитов на текучесть крови и ее транспортный потенциал, анализ микрореологических изменений эритроцитов под влиянием газотрансмиттеров у здоровых людей, у лиц с артериальной гипертонией (АГ) и с избыточной массой тела (ИзбМТ).

Задачи исследования:

1. Выполнить анализ комплекса гемореологических характеристик и микрореологии эритроцитов и оценить их вклад в транспортный потенциал крови (ТПК) у здоровых лиц, а также исследовать микрореологические изменения эритроцитов под влиянием доноров NO , субстрата его синтеза, L-аргинина, донора H_2S и субстрата его синтеза, L-цистеина.
2. Определить макро- и микрореологические характеристики крови и эритроцитов, а также вклад ДЭ и АЭ в текучесть крови и ее ТПК у лиц с АГ и оценить у них микрореологические изменения эритроцитов под влиянием нитропруссид натрия, L-аргинина, гидросульфида натрия и L-цистеина.
3. Определить макро- и микрореологические характеристики крови и эритроцитов, а также оценить вклад ДЭ и АЭ в текучесть крови и ее ТПК у лиц с ИзбМТ и исследовать у них микрореологические изменения эритроцитов, под влиянием нитропруссид натрия, L-аргинина, гидросульфида натрия и L-цистеина.
4. Исследовать внутриклеточные молекулярные сигнальные каскады, ассоциированные с действием ГТ на микрореологические характеристики эритроцитов.

Научная новизна

Научная новизна проведенного исследования отражена в выявлении количественного вклада отдельных макро- и микрореологических характеристик крови и эритроцитов в ее текучесть и транспортный потенциал. Впервые показана

роль неньютоновости крови в проявлении ее текучести и транспортных возможностей у здоровых людей с оптимальными значениями ВК и на двух моделях с патологически повышенной ВК: у людей с АГ и с ИзбМТ. Были исследованы величины микрореологических нарушений при перечисленных состояниях и оценена возможность их восстановления до уровня нормальных величин. Разработаны и апробированы модели микрореологических ответов эритроцитов на действие доноров ГТ и субстраты их эндогенного синтеза у здоровых лиц, при АГ и ИзбМТ. Получены новые данные о положительных изменениях ДЭ и АЭ в ответ на воздействие доноров ГТ (NO и H₂S). На разработанных моделях микрореологических ответов интактных эритроцитов и их восстановленных теней впервые получены сведения о вкладе эластичности мембран в общую клеточную деформируемость в нормальных физиологических условиях и при нарушениях АД и метаболизма. Впервые проведен комплекс исследований и получены оригинальные данные о сигнальных каскадах эритроцитов, ассоциированных с их микрореологическими изменениями под влиянием H₂S. Впервые показаны возможности кросс-общения (cross-talk) NO и H₂S на модели микрореологических реакций эритроцитов на эти ГТ. Впервые экспериментально проверено предположение о роли кальций-зависимых калиевых каналов средней проводимости (KCa3.1) – Гардош-каналов в ответах эритроцитов на действие NaHS.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные в проведенном нами исследовании величины количественной оценки вклада МСЭ в изменение текучести цельной крови и ее ТПК имеют существенное теоретическое и практическое значение. Выявлено, что негативные изменения ДЭ и АЭ при АГ и у лиц с ИзбМТ заметно коррелировали с уменьшением текучести крови и ее транспортных возможностей. Это также имеет существенное теоретическое значение и может быть использовано при анализе ряда патологических состояний. Данные, выявленные на моделях микрореологических ответов эритроцитов при их взаимодействии с донорами ГТ, открывают исследования применения нового класса сигнальных молекул (NO и

H₂S) в практике для восстановления нарушенных микрореологических свойств эритроцитов. В диссертации систематизированы данные о прямых регуляторных воздействиях сигнальных молекул пара- и аутокринной природы (ГТ) на микрореологическое поведение эритроцитов. Впервые установлено, что не только доноры ГТ, но и субстраты их эндогенного синтеза позитивно изменяют микрореологию эритроцитов. Эффективное применение метода проточной микрокамеры и анализ микрореологических ответов клеток крови на биологически активные соединения позволяют использовать микрофлюидный метод для доклинического тестирования разрабатываемых лекарственных препаратов на клеточных моделях. Разработанные по результатам исследования однофакторные регрессионные модели, включающие вязкость крови, как прогнозируемый фактор и деформируемость эритроцитов, как предиктор, могут быть использованы для проектирования вязкости и текучести крови, в том числе, для применения в системах искусственного кровообращения и для корректного использования трансфузий концентрированной эритроцитарной массы. Полученные результаты исследования могут быть актуальны при чтении соответствующих разделов физиологии и патофизиологии в вузах биологического и медицинского профилей подготовки, а также для совершенствования методов диагностики и прогноза нарушений гемореологии и оксигенации тканей при заболеваниях и патологических состояниях.

Положения, выносимые на защиту:

1. Микрореологические свойства эритроцитов у здоровых лиц вносят более 30% вклада в текучесть цельной крови и ее ТПК, наряду с вязкостью плазмы (ВП) и гематокритом (Hct).
2. Доноры ГТ нитропруссид натрия и гидросульфид натрия, а также L-аргинин и L-цистеин достоверно повышают ДЭ и снижают их АЭ у здоровых лиц.
3. В повышение ВК и снижение ее ТПК, у лиц с АГ, существенный вклад вносят негативно измененные ДЭ и АЭ. При этом доноры ГТ и субстраты их синтеза восстанавливают МСЭ до уровня здоровых лиц.

4. Гемореологический профиль лиц с ИзбМТ характеризуется относительно высокой ВК, ВП, вязкостью суспензии эритроцитов (ВС) и АЭ при достоверно сниженной ДЭ и выраженным проявлением неньютоновских свойств крови, которые отрицательно коррелируют с показателем ТПК. В этих условиях доноры ГТ и субстраты их синтеза восстанавливают МСЭ до уровня здоровых лиц.

5. Доноры NO, H₂S и субстраты их эндогенного синтеза оказывают прямое воздействие на деформируемость, текучесть эритроцитов и их агрегацию. В качестве клеточной молекулярной мишени для NO и H₂S, действие которых ассоциировано с положительными изменениями МСЭ, рассмотрены растворимая гуанилатциклаза (p-ГЦ) и NO-синтаза и для H₂S – кальций-зависимые калиевые каналы средней проводимости (Гардош-каналы).

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор лично принимала участие во всех этапах работы: анализе литературных данных, определении цели и задач исследования, разработке его дизайна, наборе участников, планировании и проведении экспериментов, статистической обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций, представлении результатов работы на различных конференциях.

Обоснование достоверности и апробации полученных данных.

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным объемом статистических выборок данных исследования, применением современных методов исследования макро- и микрореологических характеристик крови и эритроцитов, адекватных экспериментальных моделей и корректным статистическим анализом данных.

Основные положения диссертации представлены и обсуждены на Международной конференции «Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику)», Ярославль, 2009; Международной конференции «Системное кровообращение, микроциркуляция и гемореология», Ярославль, 2011; Международном интернет-симпозиуме (в рамках ежегодной научно-практической конференции ЯГПУ им. К.Д. Ушинского «Чтения Ушинского») «Роль микрореологии и микроциркуляции при разных вариантах

обеспечения организма кислородом», Гродно, Беларусь – Ярославль, 2021; Международном интернет-симпозиуме «Микроциркуляция, реология крови и кислородный гомеостаз» Ярославль – Гродно, 2022; VI Международной междисциплинарной конференции «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций», посвященной 90-летию со дня рождения академика К.В. Судакова, Москва, 2022; XIV Международной научной конференции по микроциркуляции и гемореологии. Ярославль, 2023; 78-й Международной научно-практической конференции «Чтения Ушинского». Ярославль, 2024; Российском форуме по тромбозу и гемостазу, Москва, 2024; IV Международной научно-практической конференции «Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия», Смоленск, 2024; VIII Всероссийской Школе-конференции по физиологии и патологии кровообращения, Москва, 2025; XV Международной научной конференции по микроциркуляции и гемореологии. Ярославль, 2025.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 23 печатные работы, в том числе 7 статей, опубликованных в научных изданиях, из которых 3 статьи в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science, 2 статьи, в журналах, рекомендованных ВАК России, 2 статьи, в журналах медико-биологического профиля, индексируются в РИНЦ. Опубликовано 16 тезисов в сборниках материалов конференций.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.5 – физиология человека и животных согласно п. 2. Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций; п. 3. Исследование закономерностей функционирования основных систем организма (нервной, иммунной, сенсорной, двигательной, крови, кровообращения, лимфообращения, дыхания, выделения, пищеварения, размножения, внутренней секреции и др.); п. 6. Изучение механизмов функционирования клеток, тканей,

органов, принципов их системной организации и п. 11. Изучение молекулярной и интегративной организации физиологических функций.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в практическую работу лаборатории микроциркуляции и гемореологии, а также в учебный процесс университета, при реализации магистерских программ. Методы анализа параметров гемореологических профилей используются на некоторых клинических кафедрах Ярославского государственного медицинского университета и учитываются в диагностике и прогнозе текучести крови у больных артериальной гипертонией, сосудистой патологией в соответствующих отделениях клиник. Разработанные и апробированные в диссертации модели микрореологических ответов эритроцитов на биологически активные соединения, эффективное применение микрофлюидных камер активно используются в лаборатории биомедицинской фотоники кафедры общей физики и волновых процессов физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова при проведении исследований, поддержанных грантами РФФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 161 страницах машинописного текста, состоит из оглавления, перечня условных обозначений, обзора литературы, организации и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов и списка литературы, включающего 45 отечественных и 209 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 29 таблицами и 56 рисунками.

Благодарность

Считаю своим долгом выразить благодарность своему научному руководителю, д. б. н., профессору Муравьеву Алексею Васильевичу за наставничество на каждом этапе выполнения работы.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Вязкость цельной крови, ее текучесть, транспортный потенциал

Кровь – одна из жидких сред организма, которую с биологической точки зрения рассматривают как ткань, состоящую из клеток (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты) и межклеточного вещества – плазмы. С реологической точки зрения кровь – это двухфазная жидкость или эмульсия, поскольку эритроциты, погружены в жидкую среду – плазму (Dintenfass, Lake, 1977). Кровь обеспечивает в организме выполнение ряда жизненно важных функций, в числе которых поддержание температуры тела, кислотно-основного равновесия организма и водно-солевого обмена, тканевого гомеостаза и регенерации тканей, обеспечение иммунных реакций, кровяного и тканевого барьеров против инфекции, обеспечение гуморальной и гормональной регуляции функций различных систем и тканей, образование клетками крови биологически активных веществ и многое другое (Эккерт с соавт., 1991). При этом, одной из критических функций является *транспорт* газов и других веществ, таких как глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты, витамины, минеральные соли, гормоны, медиаторы, антитела (Левтов с соавт., 1982; Cicco, Pirrelli, 1999; Brun, 2002; Pries, Secomb, 2003; Van Cromvoirt et al., 2021). Транспорт биологически активных соединений кровью и доставка их во все клеточные микрорайоны тела являются необходимым условием для жизнедеятельности (Горизонтов, 1976), имеют большое значение для гомеостаза (Борисюк, 1983), что делает кровь, наряду с нервной системой, важным интегрирующим началом в организме и обеспечивает его эффективное функционирование.

Эффективность доставки кислорода и субстратов окисления, существенно зависит от *текучести крови* (Dintenfass, 1981) (величина обратная вязкости). Следовательно изучение этой проблемы имеет большое теоретическое и практическое значение, как для физиологии, так и для клинической практики (Галенок с соавт., 1987; Stoltz et al., 1991; Ajmani, 1997; Fu et al., 2017; Dhas et al., 2019). Это подтверждается тем обстоятельством, что при анализе

эффективности транспорта газов и других веществ кровью в сосудистой системе, выполненном на основе уравнения Гагена-Пуайзеля (Каро с соавт., 1981), была продемонстрирована зависимость объемного кровотока от вязкости крови, наряду с градиентом давления и радиусом сосудов (Pries, Secomb, 2003; Propel, Johnson, 2005). Кроме того, гемореологические исследования продемонстрировали зависимость O_2 -транспорта от соотношения гематокрита и вязкости крови (Муравьев, Чепоров, 2009; Chien, 1986; Stoltz et al., 1991). Тем самым подчеркивается, что оптимизация текучести крови, при ограничении резерва дилатации сосудов, может компенсировать тканевую перфузию (Фолков, Нил, 1976; Schmid-Schonbein, 1982; Baskurt, Meiselman, 2003; Kandangwa et al., 2022). Однако и гемореологические нарушения, например, высокая вязкость плазмы, компенсируются дилатацией сосудов изменением сосудистых факторов (Каро с соавт., 1981; Джонсон, 1982).

Комплексной характеристикой крови является ее вязкость (η) или величина обратная ей – *текучесть* (Angelkort et al., 1980; Angelkort, Kiesewetter, 1981). Имеется ряд данных, свидетельствующих о том, что текучесть крови ($1/\eta$) является одним из существенных факторов, определяющих эффективность перфузии тканей (Salazar Vázquez et al., 2009; Valeanu et al., 2022). В условиях выраженного повышения вязкости крови при ряде патологических состояний организма (Baskurt, Meiselman, 2007; Abbasian et al., 2020; Kandangwa et al., 2022; Wajihah, Sankar, 2023 et al., 2023; Carlisi et al., 2024) гемоперфузия и оксигенация тканей могут быть нарушены (Liepsch, et al., 2018; Gallagher, et al., 2019; Volkova, et al., 2023).

Вязкость и текучесть цельной крови зависят от гематокрита (Hct), вязкости плазмы (ВП), деформируемости (ДЭ) и агрегации эритроцитов (АЭ), а также от скоростей и напряжений сдвига (Stoltz et al., 1991; Ajmani, 1997; Abbasian, et al., 2020). Рисунок 1. иллюстрирует зависимость интегральной реологической характеристики – вязкости крови, от ее основных, определяющих факторов.

Таким образом, текучесть крови представляет собой комплексную характеристику, зависящую от группы реологических факторов (Рис. 1). При этом

каждый из них вносит свой определенный вклад в эту интегральную величину (Галенок с соавт., 1987; Tamariz et al., 2008).

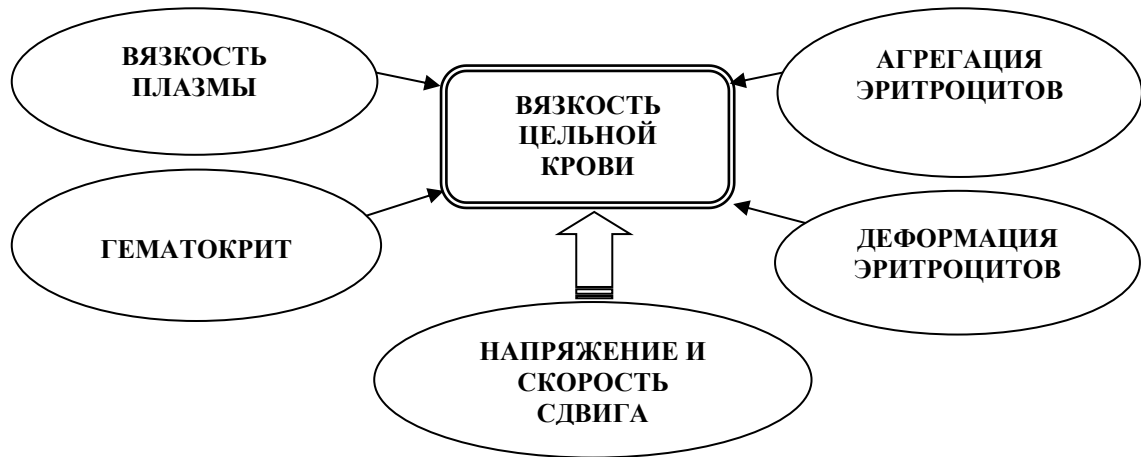


Рисунок 1 - Факторы, определяющие вязкость цельной крови, а следовательно, и ее текучесть.

Наличие нескольких факторов, каждый из которых изменяется на ту или иную величину как в норме, так и при патологии, делает контроль и оценку вязкости цельной крови и, следовательно, ее влияние на эффективность транспорта, сложной научной и прикладной проблемой.

С другой стороны, важно иметь ввиду, что зрелые эритроциты человека сохранили многие элементы молекулярных сигнальных каскадов, и только их микрореология может подвергаться эффективной регуляции по пара- и аутокринным сигнальным путям, тем самым обеспечивая управление микрососудистой перфузией тканей и органов (Ugurel et al., 2022; Alexy et al., 2022; Kuck et al., 2022; Bennekou et al., 2003).

1.2. Анализ роли концентрации клеток крови (гематокрита) в изменениях величины вязкости цельной крови

Известно, что концентрация частиц в суспензиях жидкостей играет определяющую роль в формировании величины вязкости этих жидких систем (Reiner, 1949). Полагают, что вязкость крови, в первую очередь зависящая от

гематокрита (Hct), является определяющим фактором периферического сосудистого сопротивления и, следовательно, артериального давления (Salazar Vázquez et al., 2010). Учитывая то, что наиболее многочисленной клеточной фракцией цельной крови являются эритроциты, то именно их число в объеме жидкости и их реологические характеристики оказывают наибольшее влияние на текучесть цельной крови (Селезнев с соавт., 1985; Зинчук, 2001; Lowe et al., 1988; Salazar Vázquez et al., 2014; Wajihah, Sankar, 2023 et al., 2023). В этой связи одной из наиболее значимых составляющих вязкости цельной крови является объемная концентрация эритроцитов (их содержание и средний объем), называемая гематокритным показателем – *hematocrit* (Hct). Влияние гематокрита на механику течения крови изучено достаточно подробно и известно, что повышение этого показателя приводит к увеличению вязкости крови (Каро с соавт., 1981; Mueller et al., 1981; Martini et al., 2005). Показано, что если гематокрит возрастает более чем на 10%, то вязкость повышается вдвое, а увеличение его от 20 до 50% приводит к 9-кратному приросту вязкости при низких скоростях сдвигового течения и 3-кратному, при их высоких значениях этого параметра (Baskurt, Meiselman, 2007). В состоянии покоя у здоровых женщин и мужчин значения Hct составили $44,9 \pm 2,9$ % и $47,09\% \pm 1,98\%$, соответственно (Vázquez, 2012). Кроме того, известно, что увеличение концентрации эритроцитов в крови сочетается с большим проявлением ее неньютоновских свойств – нарастанию вязкости, при уменьшении скорости и напряжения сдвига (Левтов с соавт., 1982; Stoltz, 1985; Baskurt, Meiselman, 2007).

Содержание эритроцитов в крови отражается не только на количестве транспортируемых газов, но и играет важную роль для осуществления нормального кровотока в различных регионах сосудистого русла. Так при наблюдении капиллярного кровотока в опытах *in vivo* видно, что клетки крови неоднородно распределены в сосудах малого диаметра. Вероятно, это связано со структурными и топографическими особенностями сосудистой сети. Известно, что при большой скорости потока осевая ориентация клеток является причиной отделения плазмы в участках ветвления сосуда и в боковой сосудистой ветви гематокрит будет

меньшим, чем в главной артерии (Фолков, Нил, 1976; Шошенко, Голубь, 1982; Popel et al., 2005). Это характерно для сосудистого русла с большим числом ветвления, при достаточно больших углах ветвления (Шошенко, Голубь, 1982; Chien, 1975; Lipowsky, 2005; Popel et al., 2005).

Величина гематокрита зависит от нескольких гематологических и реологических характеристик крови, таких как число эритроцитов, форма клеток и их деформируемость, а также от объема плазмы (Рис. 2). Изменение любого из перечисленных показателей может приводить к изменению величины гематокрита.

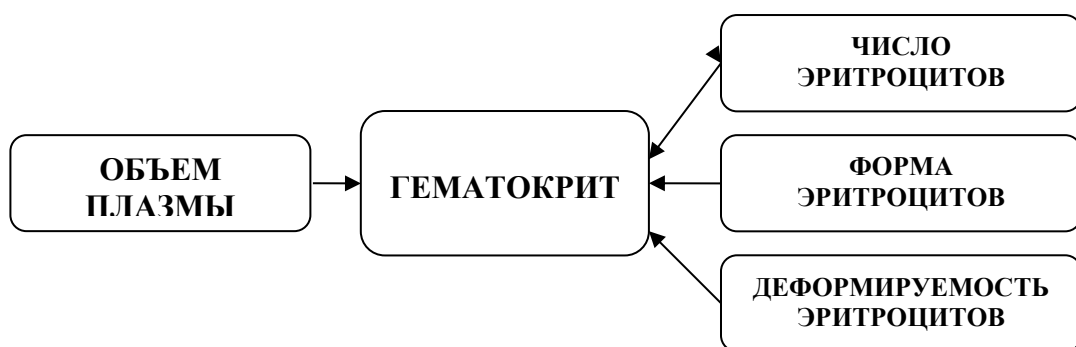


Рисунок 2 – Взаимосвязь гематокрита с другими показателями системы крови.

Гематокрит может изменяться в довольно широком диапазоне величин (Муравьев, Чепоров, 2009; Баталова, 2010). Так, например, повышение гематокрита в физиологических условиях происходит при адаптации к гипоксии, возникающей в условиях высокогорья, когда во вдыхаемом воздухе снижено парциальное давление кислорода (Борисюк, 1983; Grau, Pericas, 2022), а также при физических нагрузках вследствие усиленной капиллярной фильтрации в скелетных мышцах (Brun et al., 2013). Следовательно, можно было бы полагать, что увеличение Hct должно значительно увеличить объем доставляемого кислорода в тканевую область и, тем самым, улучшить оксигенацию тканей (Галенок с соавт., 1987; Tanaka, Farah, 1993; Brun et al., 1995). Однако имеются данные, свидетельствующие о том, что увеличение гематокрита влечет за собой существенный прирост вязкости крови (Nwose, 2010). Это приводит к приросту сосудистого сопротивления и снижению транспортной эффективности в сосудистом сегменте (Баталова, 2010; Chien, 1977; Stoltz et al., 1991; Brun et al., 1995; Creteur et al., 2001). Так было

показано, что повышение Hct до 60% приводит к увеличению кислородной емкости крови в полтора раза, тогда как прирост ее вязкости снижает тканевую оксигенацию вдвое (Messmer, 1982). Высокий Hct может быть фактором риска развития тромбозов и часто наблюдается при ишемической болезни сердца (Lowe, 1988; Kwaan, Bongu, 1999; Carlisi et al., 2024). С другой стороны, имеются данные, свидетельствующие о том, что *умеренное повышение гематокрита* может положительно сказываться на тонусе мелких артерий и артериол (Martini et al., 2005). Имеются факты, свидетельствующие о том, что небольшое повышение вязкости крови за счет прироста гематокрита приводит к снижению артериального давления на 10 мм рт. ст. Этот эффект устраняется при ингибировании NO-синтазы (eNOS) метиловым эфиром N-нитро-L-аргинина (L-NAME), а также он обнаружен у мышей с дефицитом eNOS (Martini et al., 2006). Также было показано, что чем выше Hct, а следовательно, и вязкость крови, тем в большей степени напряжение сдвига на эндотелии стимулирует продукцию NO эндотелиальными клетками (Baskurt et al., 2004). Данная регуляторная последовательность приводит к релаксации гладких мышц сосудов артериол, что сопровождается приростом перфузии тканей (Cabrales, Tsai, 2006; Carvalho et al., 2006).

Что касается снижения гематокрита (до 35%), то известно, что такая умеренная гемодилюция сочетается с уменьшением вязкости крови, улучшением тканевой оксигенации (Liam et al., 1998; Farina et al., 2006; Martini et al., 2006).

Таким образом, при оценке транспортного потенциала крови, для дыхательных газов, критические значения гемоглобина и гематокрита до сих пор остаются не установленными, несмотря на многочисленные исследования. Существует мнение, что величина транспорта кислорода остается оптимальной при достаточно широком диапазоне величины гематокрита: от 33 до 55% (Fan et al., 1980; Tamariz et al., 2008). Другие авторы отмечают, что оксигенация тканей ухудшается при гематокрите выше 51% и ниже 34% (Fonay et al., 1994; Creteur et al., 2001). Известно, что величину оптимального Hct можно прогнозировать на основе анализа соотношения *гематокрит/вязкость*

крови (Stoltz et al., 1991; Brun et al., 2018). Вышесказанное подтверждается данными о том, что кислородная сатурация тканей ухудшается при $Hct > 50\%$, а также при критически низкой концентрации эритроцитов, менее 30% (Salazar Vázquez, 2010; Chen et al., 2018). С другой стороны, умеренный прирост гематокрита, в пределах нормальных значений, вместе с небольшим увеличением вязкости плазмы (на 6–10%), создают необходимый механический стимул для активации eNOS и последующей вазодилатации артериол (Baskurt et al., 2008; Salazar Vázquez et al., 2011; Montanaro, 2023).

Имеется и важный практический аспект анализа роли гематокрита в изменениях величины вязкости цельной крови. Был предложен расчетный, широко апробированный метод определения вязкости крови при высокой ($\gamma = 208 \text{ с}^{-1}$) и низкой ($\gamma = 0,5 \text{ с}^{-1}$) скоростях сдвига, на основе величин гематокрита и общего белка плазмы крови (de Simone et al., 1990; Tamariz et al., 2008; Nwose et al., 2010; Carlisi et al., 2024).

Учитывая все вышесказанное, можно заключить, что влияние гематокрита на текучесть крови и ее транспортные возможности требуют и дополнительных исследований и уточнений, особенно в патофизиологических условиях. Кроме того, оценка величины гематокрита имеет большой практический интерес.

1.3. Влияние вязкости плазмы на величину вязкости цельной крови

Плазма – это жидкая часть крови, лишенная клеточных элементов (эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов). Она занимает 52–61% объема цельной крови и на 90–92% состоит из воды, а оставшиеся 8–10% составляют органические (8%) и неорганические (1%) вещества. Органические вещества плазмы представлены белками, небелковыми азотсодержащими соединениями, аминокислотами, мочевиной, мочевой кислотой, креатинином, аммиаком и рядом других веществ, таких как катионы Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} и анионы Cl^- , HPO_4^{2-} , HCO_3^- , а также растворенные газы (Холл, 2018). Плазма крови представляет собой *ньютоновскую жидкость*. Ее вязкость не зависит от скорости и напряжения сдвига (Фолков, Нил, 1976; Каро с соавт., 1981; Левтов с соавт., 1982). При этом, она

является фактором, оказывающим существенное влияние на вязкость цельной крови, независимо от гематокрита и микромеханических свойств клеток крови (Stoltz, 1995; Martini et al., 2006; Vázquez et al., 2009; Valeanu et al., 2022).

Основной вклад в вязкость плазмы вносят белки, которые представлены: *альбуминами* (55–65%), *глобулинами* (33–44%) и *фибриногеном* (0,2–0,4%). Изменение их концентраций существенно сказывается на величине вязкости плазмы. Наибольший, относительный, вклад из всех белков в вязкость плазмы вносит фибриноген (Stoltz et al., 1991; Forconi et al., 1996; Foresto et al., 2005; Késmárky et al., 2008). Вязкость плазмы в норме составляет 1,10–1,35 мПа·с при 37°C. (Harkness, 1971, Letcheret et al., 1981). Ее изменение, например повышение, оказывает существенное влияние на вязкость цельной крови, следовательно, и на артериальное давление (de Simone et al., 1990), что может являться предпосылкой нарушений функций сердечно-сосудистой системы (Ajmani, 1997; London, 1997; Vázquez, 2012). Однако не всегда повышение вязкости плазмы нужно рассматривать как негативное явление. Например, при анемиях умеренное повышение вязкости плазмы может быть компенсаторным фактором, обеспечивающим необходимую величину напряжения сдвига на сосудистом эндотелии для активации в клетках eNOS (Baskurt, Meiselman, 2007; Ulker et al., 2009). Под влиянием этого фермента происходит образование NO из L-аргинина. В эндотелиальных клетках паракринно он влияет на рядом расположенные гладкомышечные клетки артериол, это сопровождается их релаксацией и дилатацией (Tsai et al., 2005; Martini et al., 2006). Более того, В.У. Salazar Vázquez et al. (2009) показали, что положительный эффект прироста вязкости плазмы особенно заметен при низком гематокрите, например, в условиях гемодилюции.

Известно, гемодилюция снижает вязкость крови, что считается физиологически полезным механизмом регуляции перфузии тканей (Messmer, 1982). Однако при выраженной гемодилюции вязкость плазмы и цельной крови слишком низки и недостаточны для поддержания функциональной плотности капилляров в данной ткани и органе. В экспериментальных исследованиях

показано, что эту проблему можно решить путем увеличения вязкости плазмы до 2,2 мПа·с (Martini et al., 2006). Как было сказано выше, этот эффект связан с восстановлением необходимой величины напряжения сдвига на эндотелии, достаточной для механической активации eNOS в клетках

Таким образом, плазма составляет более половины объема крови у человека и является многокомпонентной жидкой средой для клеток крови. Реологически, плазму рассматривают как *ньютоновскую жидкость*, вязкость которой в 1,5–2 раза превышает вязкость воды, и эта разница почти полностью обусловлена белками (Фирсов, Джанашия, 2008; Somogyi et al., 2018; Nader et al., 2019). Необходимо дополнить, что на величине вязкости плазмы сказываются не только абсолютные концентрации белков, но и их соотношения, такие как: *альбумин/глобулины* и *альбумин/фибриноген* (Тихомирова с соавт., 2003; Connes et al., 2013; Salazar Vázquez et al., 2010; Lanotte et al., 2016; Carlisi et al., 2023). Вместе с тем, умеренное увеличение вязкости плазмы (на 6–10%) может способствовать оптимизации капиллярной перфузии и оксигенации тканей, стимулируя эндотелиальные клетки к синтезу газотрансммиттера - оксида азота (Salazar Vázquez, 2011; Sriram et al., 2012; Kuck, 2022).

1.4. Микрореологические характеристики эритроцитов: их влияние на общую текучесть крови и ее транспортный потенциал

У здорового взрослого человека транспорт O_2 и CO_2 между легкими и тканями осуществляется примерно $2 \cdot 10^{13}$ эритроцитами, из которых около $1.7 \cdot 10^{11}$ обновляются каждый день. Потому что средняя продолжительность жизни этих клеток в системе кровообращения составляет около 120 дней (Lew, Tiffert, 2017). При циркуляции по микрососудам им приходится существенно изменять свою форму в каждом цикле, проявляя выраженные способности к деформации (Chien, 1977). Когда эритроциты проходят через сужения или обменные капилляры, им необходимо пройти через отверстия, размер поперечного сечения которых значительно меньше их собственного диаметра (Danielczok et al., 2017). Поэтому способность к адаптивной деформации (*деформируемость*) эритроцитов имеет

решающее значение для доставки кислорода в тканевые микрорайоны. Это лучше всего достигается, когда объем каждого эритроцита человека поддерживается на уровне примерно 0,55–0,60 от максимально возможного сферического объема, допускаемого площадью его клеточной мембраны (Svetina et al., 2019). Следовательно, основным внешним фактором деформируемости эритроцитов является отношение площади поверхности к объему, которое определяет сосуд минимального калибра, в который может войти деформированная клетка без разрыва. В пределах ограничения, связанного с соотношением площади поверхности и объема клетки, внутренние свойства мембраны и цитоплазмы определяют характеристики деформируемости эритроцита (Evans, 1989). Изменения этих микромеханических характеристик эритроцитов обеспечивают срочную адаптацию течения крови и транспорта ею кислорода в соответствии с метаболическими потребностями тканей. Эти срочные микрореологические ответы эритроцитов, вероятно, осуществляются при воздействии на мембрану клетки напряжения сдвига или при действии гипоксического стимула на мембранные рецепторы, сопряженные функционально с ионными каналами (Lew, Tiffert, 2017; Kaestner et al., 2020).

Если принять концепцию активной регуляции деформируемости и деформации эритроцитов, то можно полагать, что внешний стимул, в виде напряжения сдвига на мембране клетки, воспринимается механочувствительным сайтом кальциевого канала Piezo1. Это активируемый растяжением Ca^{2+} канал в эритроцитах, который опосредует гомеостатический контроль объема клетки (Vaisey, 2022). Решение этой регуляторной задачи достигается на основе механосенсорики – фундаментальной функции, посредством которой клетки воспринимают механические стимулы, инициируя внутриклеточные ионные токи (Karkempetzaki, Ravid, 2024). Ионные каналы играют ключевую роль в этом процессе, организуя каскад событий, приводящих к активации нисходящих сигнальных путей в ответ на определенные стимулы. Следовательно, канал Piezo1 – это катионный канал, который реагирует притоком Ca^{2+} в клетку в ответ на воспринимаемое давление, вызванное натяжением липидной мембраны клетки,

возникающим из-за сил клеточно-клеточного, клеточно-матриксного или гидростатического давления, таких как ламинарный поток и сдвиговое напряжение (Lewis, Grandl, 2021; Stommen, 2023; Karkempetzaki, Ravid, 2024). Были сформулированы две гипотезы о сущности регуляции Piezo1: первая, как доминирующая, через плазматическую мембрану (сила, действующая через липиды), а вторая – с участием цитоскелета клетки (сила, переданная через филаменты цитоскелета). Многие исследователи приводят убедительные доказательства обеих гипотез (Vasileva, Chubinskiy-Nadezhdin, 2023).

Что касается газообмена в тканях, то он происходит во время капиллярных переходов за доли секунды. Каждый переход *оксигенации-деоксигенации* и *дезоксигенации-реоксигенации* в функциональном состоянии гемоглобина вызывает резкие изменения рН эритроцитов, что приводит к последующим сдвигам потоков ионов, мембранного потенциала и объема клетки (Lew, 2023).

В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении микрореологических свойств эритроцитов крови. Этому способствовало исследование молекулярной структуры эритроцитов, особенно их мембран и в том числе анализ их протеома (Новицкий, 2009; Manno et al., 2005; Nunomura, Takakuwa, 2006; Mohandas, Gallagher, 2008).

Плазматическая мембрана эритроцита, в соответствии с моделью Сингера и Николсона, представляет собой пластичную молекулярную мозаику, состоящую из липидного бислоя (Альбертс, 1994). Последний обладает небольшой микровязкостью (Nash, Meiselman, 1991). Также мембрана эритроцитов содержит белки, которые имеют разное расположение относительно плазмалеммы и тем самым формируют ее упругий компонент (Новицкий, 2006; Manno et al., 2005). Это механическое свойство (упругость) позволяет противодействовать изменениям формы клетки, а также восстанавливать ее после действия деформирующих сил (Baskurt, Meiselman, 1997). В этом заключается отличие микромеханики эритроцитов от таковой других клеток – из-за отсутствия в цитоплазме эритроцитов микротрубочек и микрофиламентов происходит быстрое восстановление формы клетки после прекращения действия деформирующих сил

(Mohandas et al., 1983; Manno et al., 2005). Итак, эритроциты имеют прочный и динамичный цитоскелет и три типа субмикрометрических липидных доменов, соответственно обогащенных холестерином, ганглиозидом GM1/холестерином и сфингомиелином/холестерином (Stommen, et al., 2023). Важно заметить, что спектрин является основным элементом мембранного цитоскелета (Mohandas, Gallagher, 2008). Его олигомеры образуют сеть с преобладанием гексагональной организации (Ивенс, 1982; Gardner, Bennett, 1987; Bennett, 1990). В узлах спектриновой сети находятся короткие актиновые филаменты, с которыми ассоциированы концы молекул спектрина, что и приводит к образованию единой сети. Здесь же локализуется и белок полосы 4.1, необходимый для прикрепления цитоскелета к мембране, так как помимо спектрина он взаимодействует еще и с трансмембранными белками, полосой 3 и гликофорином С. Центральная часть спектринового филамента прикрепляется к мембране посредством анкирина, связываясь с белком полосы 3, интегральным белком мембраны (Manno et al., 1995). Белок полосы 4.1 – белок цитоскелета эритроцита – связывает спектрин, актин и анкирин (Takakuwa, 2000, 2001). Полагают, что белок полосы 3 является одной из основных молекулярных мишеней для протеинкиназ (РКС) эритроцитов. Среди сРКС только протеинкиназа Ca (РКСa) может быть обнаружена в эритроцитах (Govekar, Zingde, 2001). При связывании Ca^{2+} , РКСa перемещается на плазматическую мембрану, где фосфорилирует белки-мишени. Киназный домен РКС лишен специфичности и поэтому многие белки могут быть фосфорилированы включая, белки цитоскелета (Cohen, Gascard, 1992; De Oliveira et. al, 2008). При его фосфорилировании наблюдается диссоциация белков цитоскелета и интегральных белков, с последующим увеличением эластичности мембран эритроцитов и деформируемости клеток в целом (Manno et al., 2005; Mohandas, Gallagher, 2008).

Таким образом, анализ механизмов деформации эритроцитов показал, что в основном она определяется тремя группами факторов: 1) функциональной клеточной геометрией, 2) вязкоупругостью мембраны клетки и 3) цитоплазматической вязкостью (Nash, Meiselman, 1991; Mokken et al., 1992; Stadnick et al., 2011). Каждый из факторов, в той или иной мере, реализуется при

деформационном пассаже эритроцитов через сосудистое русло, и конечный деформационный эффект существенно зависит от приложенной к клеткам величины напряжения сдвига. Полагают, что при относительно небольших сдвиговых силах, деформация в большей степени связана с вязкоэластичностью мембран и соотношением площади поверхности клеток и объема (Baskurt, Meiselman, 1997). Тогда как, при больших напряжениях сдвига, деформация в основном определяется цитоплазматической вязкостью (Nash, Meiselman, 1991). Однако это заключение не бесспорно и требует дальнейшей экспериментальной проверки на деформационных моделях теней эритроцитов, где цитоплазматическая жидкость заменена изотоническими растворами стандартной вязкости.

Другой важной микрореологической характеристикой эритроцитов является их обратимая агрегация. Это проявляется в способности клеток крови этого типа к обратимому объединению в комплексы, в *агрегаты* по типу «монетных столбиков» (Рис. 3) (Reinke, 1987; Meiselman, 1993).

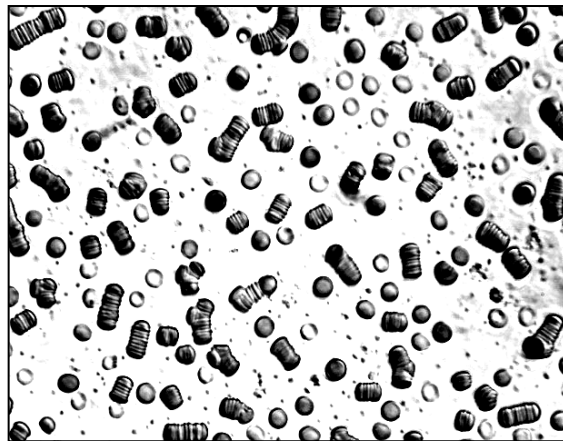


Рисунок 3 – Объединение эритроцитов в агрегаты по типу «монетных столбиков». Микрофото: объектив 40х, цифровой окуляр DCM-900 (Собственные данные).

Агрегация эритроцитов *in vivo* характерна, в основном, для венозного отдела системы кровообращения: венул и небольших коллекторных вен (Bishop et al., 2004; Johnson et al., 1994; Kim et al., 2005; Das et al., 2007). Для образования агрегатов эритроцитам необходимо преодолеть силы отталкивания и сблизиться на определенное критическое расстояние между клетками. При этом

существенное влияние оказывает величина скорости сдвига, имеющаяся в реальном кровотоке (Dintenfass, 1981). Для объяснения механизмов агрегатообразования предложены две основные гипотезы (Baskurt, Meiselman, 2007). Так, согласно первой из них («мостиковой модели»), объединение клеток происходит в результате адсорбции на плазматических мембранах эритроцитов белковых макромолекул (или в условиях *in vitro* опытов – полисахаридов, декстранов), таких как фибриноген, γ -глобулины (Vicant, 1994; Meiselman et al., 2007; Carlisi et al., 2021). При этом в условиях небольшого сдвигового течения или при остановке кровотока, образуются контакты между эритроцитами и формируются агрегаты эритроцитов (Bishop et al., 2001; Pribush, Meyerstein, 2008). Однако точных данных о закреплении макромолекул - «мостиков» на мембранах эритроцитов до сих пор, не представлено. Вместе с тем, на этот счет имеется несколько мнений. Например, полагают, что объединение эритроцитов в единые комплексы происходит путем формирования слабых водородных связей, с участием сил Ван-дер-Ваальса (Лиховецкая, 2004). Другие авторы связывают объединение эритроцитов в агрегаты с изменением поверхностного мембранного потенциала клетки, величина которого зависит от карбоксильных групп сиаловых кислот на наружной поверхности плазматической мембраны (Chien, Jan, 1973; Shiga et al., 1990).

Несомненно, понимание и анализ механизмов объединения эритроцитов в агрегаты, представляет большой научный интерес, однако более важной является проблема участия сигнальных молекул в управлении этим процессом (Muravyov, Tikhomirova, 2014).

1.5. Изменение микрореологических характеристик эритроцитов под влиянием сигнальных молекул

Протеомные исследования показали, что в эритроцитах присутствуют сигнальные молекулы, связанные с рецепторами, и регуляторные белки, участвующие в сигнальных каскадах и, следовательно, в управлении микрореологическими ответами эритроцитов на воздействие биологически активных соединений (Ugurel et. al., 2022; Cilek et. al., 2024). Как было отмечено

ранее, зрелые человеческие эритроциты сохранили многие элементы молекулярных сигнальных путей. Это G-белки, аденилатциклаза (АЦ), гуанилатциклаза (ГЦ), цАМФ и цГМФ, мембранные ионные каналы, фосфодиэстеразы, протеинкиназы и фосфатазы. Все перечисленные компоненты могут являться внутриклеточными молекулярными мишенями, на которые могут действовать активные соединения и, в том числе, газовые медиаторы (Petrov, Lijnen, 1996; Sélley et al., 2014.). Так, например, была продемонстрирована роль сигнализации с помощью циклического АМФ (цАМФ) в модулировании микромеханических свойств эритроцитов, и изучено в фосфорилирование протеома эритроцитов. Установлено, что АЦ является основным элементом этого сигнального пути. При этом фосфодиэстераза действует в качестве элемента механизма отрицательной обратной связи (Ugurel et al., 2022). Сигнальный путь цАМФ+протеинкиназа А (РКА) может регулировать микрореологические характеристики эритроцитов во время капиллярного транзита, вызывая значительные изменения в состоянии фосфорилирования эритроцитов.

Существенную роль в изменениях микрореологии эритроцитов и, в том числе, их агрегации играют ионы кальция (Ca^{2+}) (Oonishi et al., 1997; Muravyov, Tikhomirova, 2012). Кроме того, при применении агонистов и антагонистов альфа- и бета адренорецепторов были получены данные о существенных изменениях агрегации эритроцитов *in vitro* (Тихомирова, 2006). При лечении больных артериальной гипертонией блокаторами кальциевых каналов, наблюдали уменьшение агрегации эритроцитов, вместе со снижением АД (Muravyov et al., 2002). С другой стороны, активация альфа-1-адренорецепторов эритроцитов с помощью адреналина, а также норадреналина и фенилэфрина, сопровождалась выраженным приростом агрегации эритроцитов (Muravyov, Tikhomirova, 2014).

Следовательно, ряд химических соединений и лекарственных препаратов влияет на микрореологию эритроцитов (Muravyov, Tikhomirova, 2013, 2014). С другой стороны, существенно меньше информации о микрореологических

ответах эритроцитов на эндогенно синтезируемые в клетках сигнальные молекулы, например, такие как газовые медиаторы.

В передаче регулирующих функции сигналов к эффекторным клеткам, наряду с синаптической формой, используется и другой способ межклеточной и внутриклеточной коммуникации – это сигнализация с помощью газотрансмиттеров (ГТ). Термин газотрансмиттер относится к газообразной молекуле, которая синтезируется и высвобождается в клетках организмов и обладает функцией преобразования сигнала (Муравьев, 2021). Известно, что все они стимулируют образование циклических нуклеотидов (цАМФ/цГМФ) и активируют внутриклеточные протеинкиназы (РКА/РКГ). Так, например, газотрансмиттеры расширяют артерии мышечного типа, артериолы, лимфатические сосуды, обеспечивают эффективную перфузию тканей (Olas, 2015; Лобов, Непиющих, 2020, Лобов, Соколова, 2020). Сигнальный молекулярный путь этих ГТ часто включает калиевые каналы. Было показано, что релаксация сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК) в ответ на действие H_2S возникает в результате активации АТФ-зависимых калиевых каналов (K^+_{ATP}) (Ishibashi et al., 1998, Лобов, Иванова, 2021, а также Ca^{2+} -зависимых калиевых каналов средней проводимости (Green, 2008; Piragine et al., 2022). При этом необходимо заметить, что активация РКГ или РКА, с помощью NO, также приводит к открытию указанных каналов.

Среди трех упомянутых выше газовых медиаторов первым был описан оксид азота. Он служит ведущим вторичным мессенджером в животном мире позвоночных и играет важную роль в межклеточной и внутриклеточной передаче регуляторных сигналов (Северина, 1995). NO является одним из наиболее важных элементов внутриклеточных сигнальных каскадов в сосудистой системе (Taqaatqeh, 2009; Лобов, Царева, 2024). Оксид азота был впервые описан как биоактивная молекула, благодаря его способности стимулировать растворимую гуанилатциклазу (р-ГЦ) (Северина, 1998). Исследования, проведенные за последние 30 лет свидетельствуют о значительном разнообразии передачи сигналов с помощью NO в кровеносных сосудах, которое включает, кроме активации р-ГЦ также и S-нитрозирования белков (Irwin, Guzman, 2009).

Было показано, что эритроциты, при оптимальной деформируемости, могут более эффективно транспортировать NO, а наличие собственной eNOS эндотелиального типа позволяет синтезировать этот ГТ (Uyuklu et al., 2009; Irwin, Guzman, 2009). В работе Ulker et al. (2009) подтверждается гипотеза о том, что eNOS в эритроцитах активна и выделение NO из клетки возрастает при механическом напряжении на мембране клетки. Выделяют три основные изоформы NO-синтаз: нейрональную, макрофагальную и эндотелиальную (Balligand, Cannon, 1997). Главным источником синтеза NO в организме служит аминокислота L-аргинин. Было установлено, что инкубация эритроцитов с донором NO или со стимулятором eNOS (L-аргинин) приводит к положительным изменениям микрореологии эритроцитов (Uyuklu et al., 2009; Mozar et al., 2016). С другой стороны, при ингибировании eNOS дигидрохлоридом N5-(1-иминоэтил)-L-орнитина, который снижал содержание нитритов в эритроцитах, наблюдалось снижение деформируемости клеток (Bizjak et al., 2015). Что касается молекулярной мишени для NO в эритроцитах, то он действует главным образом через путь p-ГЦ/цГМФ, с последующей активацией протеинкиназы G (Gheibi et al., 2018). Было установлено, что ингибирование p-ГЦ с помощью ODQ (0,5 мМ), сопровождалось почти полным отсутствием микрореологических ответов клеток на донор NO, нитропруссид натрия (Муравьев с соавт., 2022). Также было показано, что ODQ ингибирует гем-содержащие ферменты: NO-синтазу и цитохромы P-450, катализирующие образование NO из НПН (Feelisch et al., 1999).

Другой газовый медиатор, сероводород (H_2S), известен как токсичный газ. Это важный компонент в происхождении жизни, и он продолжает оставаться критически важным для жизни на нашей планете. Это бесцветный газ, хорошо растворимый в воде. Плазматические мембраны проницаемы для H_2S , так как его растворимость в липофильных растворителях в пять раз выше, чем в воде. Следовательно, H_2S может легко проникать через клеточные мембраны внутрь клеток и контактировать там с элементами сигнальных каскадов (Гусакова с соавт., 2017). Биосинтез сульфида водорода происходит в клетках современных животных

и растений, а также у прокариот и грибов. Такие ферменты как цистатионин- γ -синтаза (CGS) и цистатионин- β -лиаза (CBL), а также 3-меркаптопируват серотрансфераза (3-MST) участвуют в этом процессе:

- 1) CBS – Цистатионин- β - синтаза;
- 2) CSE – Цистатионин- γ -лиаза;
- 3) 3-MST – 3-меркаптопируват серотрансфераза.

Сигнальная роль H_2S определяется его способностью модифицировать различные белковые мишени, в частности, путем персульфидирования белковых остатков цистеина и взаимодействием с металлическими центрами, в том числе с гемами (Ishibashi, 1998). Было установлено (Coletta et al., 2012, Giuffrè et al., 2018, Lobov, 2021), что сероводород контролирует множество процессов в клетках и, в том числе, играет существенную роль как сигнальная молекула в функционировании всей системы кровообращения (Рис. 4).

Сульфид водорода эндогенно синтезируется в клетках гладких мышц (ГМК) сосудов из L-цистеина с помощью специфического фермента цистатион- γ -лиазы (CSE) (Bucci, 2010). Ингибирование eNOS или блокада K(Ca)-каналов (типа K_v7), снижали вызванную H_2S релаксацию ткани аорты с интактным эндотелием. Важно заметить, что релаксация, вызванная нитропруссидом натрия, полностью устранялась ODQ - ингибитором p-ГЦ. Однако, в этих условиях, ингибирование p-ГЦ усиливало вызванную H_2S вазорелаксацию, которая подавлялась супероксиддисмутазой. Вазорелаксирующий эффект H_2S также значительно снижался при удалении из инкубационной среды Ca^{2+} . Кроме того, прединкубация тканей аорты с H_2S снижала релаксацию ГМК сосудов в ответ на нитропруссид натрия (Zhao, Wang, 2002). Эти результаты показывают, что сосудистый эффект H_2S частично опосредован функциональным состоянием эндотелия и зависит от поступления Ca^{2+} из внеклеточной среды, но не зависит от активации гуанилатциклазного сигнального каскада.

Растущее количество доказательств определило, что эти два газа не являются независимыми регуляторами, но имеют существенно перекрывающиеся патофизиологические функции и пути передачи сигналов. H_2S и NO не только

влияют на биосинтез друг друга, но и создают новые виды химического взаимодействия (Wu, 2018; Giuffrè, Vicente, 2018; Montanaro et al., 2023) РНК-сайленсинг экспрессии CSE снижает внутриклеточные уровни цГМФ, подтверждая положительную роль эндогенного H_2S в накоплении цГМФ, фермента, связанного с активацией растворимой гуанилатциклазы (р-ГЦ) оксидом азота.

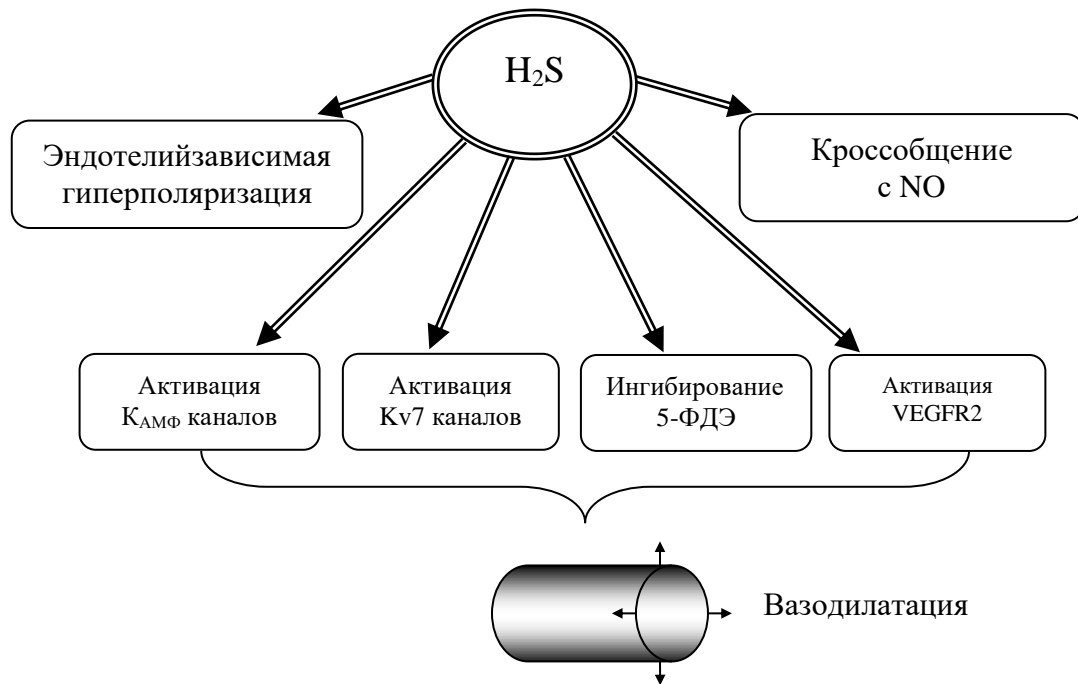


Рисунок 4 – Влияние газотрансммиттера сульфида водорода на функции клеток и их молекулярные мишени.

Обозначения: NO – оксид азота; K_{ATP} – АТФ-зависимые калиевые каналы; $Kv7$ – кальций-зависимые калиевые каналы быстрой проводимости (потенциалуправляемые); ФДЭ-5–фосфодиэстераза-5; VEGFR2–рецептор-2-сосудистоэндотелиального фактора роста.

Было показано, что способность H_2S повышать уровень цГМФ значительно уменьшалась под действием неселективного ингибитора фосфодиэстеразы 3-изобутил-1-метилксантина (ИБМК) (Вусси, 2010). Важно подчеркнуть, что NO и H_2S синтезируются как в гладких мышцах сосудов, так и в эндотелиальных клетках. При этом NO действует, главным образом используя сигнальный путь р-ГЦ/цГМФ,

а H_2S в основном за счет активации $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналов; оба приводят к расслаблению гладкомышечных клеток сосудов. Дефицит гомеостаза $\text{NO}/\text{H}_2\text{S}$ участвует в патогенезе различных сердечно-сосудистых заболеваний, особенно артериальной гипертензии (Gheibi, 2018).

Таким образом, имеется достаточное количество работ, посвященных анализу влияния H_2S на сосудистый тонус. Вместе с тем есть только отдельные публикации, где сообщается об ингибирующем влиянии H_2S на агрегацию тромбоцитов (Truss, Warner, 2011) и практически отсутствуют сведения о его действии на микрореологию эритроцитов. Полученные в нашей лаборатории данные позволяют в частично устранить этот пробел в изучении влияния этого ГТ на микрореологические характеристики эритроцитов (Muravyov et al., 2019). В качестве молекулярной мишени H_2S в клетках чаще всего рассматривают АТФ-зависимые K^+ - каналы (Green et al., 2008). Они блокируются глибенкламидом. Что касается человеческих эритроцитов, то было показано, глибенкламид не препятствовал приросту деформируемости эритроцитов под действием NaHS и не устранял полностью снижения их агрегации в этих условиях (Муравьев с соавт., 2022). С другой стороны, сравнительный анализ микрореологических ответов эритроцитов на действие донора H_2S в условиях блокирования $\text{K}_{\text{АТФ}}$ – каналов и ингибирования р-ГЦ, позволяют предположить, что сероводород может использовать NO ассоциированный сигнальный путь (Ali et al., 2006; Ustunova et al., 2020). Поскольку эндогенные концентрации H_2S обычно низкие, а это затрудняет определение точных биологических функций, то исследования физиологической роли H_2S с его экзогенной доставкой в виде доноров, на клеточных моделях микрореологических ответов эритроцитов помогут понять механизмы его действия и уточнить внутриклеточные молекулярные мишени.

Таким образом, сульфид водорода представляет собой важную сигнальную молекулу для систем кровообращения и крови, подобную оксиду азота. Понимание механизмов защитного действия H_2S на сердце и сосуды в сочетании с разработкой новых веществ-доноров, высвобождающих H_2S , может способствовать продвижению в клиническую практику этого газового медиатора.

Резюме

Итак, четыре основных гемореологических характеристики крови и ее клеточных элементов (в основном эритроцитов) определяют текучесть цельной крови и, следовательно, ее транспортные возможности, это:

1. вязкость плазмы;
2. гематокрит;
3. деформируемость эритроцитов;
4. агрегация эритроцитов.

При этом дополнительно нужно оценивать и сдвиговые условия (напряжение и скорость сдвига), при которых осуществляется течение крови (Муравьев, Чепоров, 2009; Stoltz et al., 1991). Наличие, этой группы ведущих факторов, определяющих текучесть цельной крови, ставит задачу точного количественного анализа вклада каждого из них в интегральную величину вязкости крови. Важно иметь в виду, что эффективность перфузии тканей определяется объемной скоростью кровотока, которая, в свою очередь, зависит от диаметра сосудов и вязкости крови. Из этого следует, что весь комплекс гемореологических характеристик (гематокрит, вязкость плазмы, деформируемость и агрегация эритроцитов) участвует в регуляции объемного кровотока. Однако для срочной адаптации кровотока, особенно на уровне тканей, требуются быстрые регуляторные эффекты. Они могут быть осуществлены только специальными сигнальными системами ауто- и паракринного типов и следовательно, их эффекторами могут быть только клетки, эритроциты с их возможностью быстрого изменения микрореологических характеристик. При этом можно выделить центральную регуляторно изменяемую характеристику – это деформируемость эритроцитов. Она оказывает влияние не только на уровне микроциркуляции, но и на уровне течения крови в магистральных сосудах.

Транспорт кровью биологически активных соединений и продукция таких сигнальных молекул огромным числом эритроцитов, активность этих клеток в качестве сенсоров гипоксии и как регуляторов сосудистого тонуса артериол ставит кровь в один ряд с такой интегративной системой какой является нервная система.

Глава 2. ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация исследования

В данное диссертационное исследование были включены добровольцы (лица обоего пола, $n=126$) в возрасте от 32 до 55 лет, после получения от них письменного информированного согласия. У всех испытуемых измеряли артериальное давление (АД) в положении сидя, после предварительного 10-минутного отдыха. Для каждого испытуемого проводили не менее трёх измерений (как это предложено в методике, представленной в клинических рекомендациях по лечению артериальной гипертензии (Кобалава Ж.Д. с соавт., 2024). Все измерительные процедуры проводились при комнатной температуре, в среднем $20,0 \pm 2,0$ °С, (при необходимости коррекции температурного режима в помещении использовали кондиционер).

Из всей обследованной популяции лиц ($n=126$: женщины – 61 и мужчины – 65) были сформированы три группы:

1) с нормальными величинами артериального давления (АД), массы тела (МТ) и индекса массы тела (ИМТ) (группа 1, контроль, $n=48$, при этом 24 – женщины и 24 – мужчины);

2) группа лиц с повышенным артериальным давлением (группа 2, группа лиц с артериальной гипертензией или группа АГ, $n=40$, 20 – женщины и 20 – мужчины);

3) группа лиц с избыточной массой тела (группа 3, ИзбМТ, $n=38$, 17 – женщины и 21 – мужчины).

Информация о группах наблюдений приведена в таблице 1.

Для достижения цели исследования и решения поставленных задач были выбраны лица с нарушениями функций организма, наиболее часто встречающиеся среди населения большинства стран мира: это повышенное артериальное давление (далее: *артериальная гипертензия*, АГ) и избыточная масса тела с признаками патологического состояния «ожирение». Критерием включения в группу лиц с артериальной гипертензией (группа АГ) служила разница (повышение АД) показателей артериального давления (САД, ДАД, АД_{ср.}), которая превышала два

стандартных отклонения (2σ , Табл. 1). В третью группу – лица с избыточной массой тела (с признаками метаболических нарушений: большая масса тела, высокий ИМТ ($30,0-34,9 \text{ кг/м}^2$) и повышенный уровень глюкозы крови) критерием включения служили: масса тела и ИМТ (Jayedi et al., 2020, Дедов с соавт., 2021) величины этих ключевых показателей тоже отличались от данных группы контроля на величину более 2σ (Табл. 1).

Таблица 1. Росто-весовые показатели и характеристики системы кровообращения трех групп наблюдений

Показатели	Группа 1 (контроль, n=48)	Группа 2 (группа АГ, n=40)	Группа 3 (группа ИзбМТ, n=38)
Рост, м	$1,77 \pm 0,10$	$1,68 \pm 0,14$	$1,69 \pm 0,07$
Масса тела, кг	$70,40 \pm 6,14$	$73,30 \pm 9,55$	$93,20 \pm 6,80$
ИМТ, кг/м^2	$22,40 \pm 1,83$	$25,9 \pm 4,98$	$32,63 \pm 3,56$
САД, мм рт. ст.	$122,60 \pm 7,58$	$144,58 \pm 8,03$	$136,08 \pm 12,40$
ДАД, мм рт. ст.	$75,10 \pm 6,84$	$90,58 \pm 6,08$	$84,23 \pm 8,42$
АДср., мм рт. ст.	$90,93 \pm 6,84$	$109,58 \pm 7,05$	$101,51 \pm 8,71$
ЧСС, уд/мин	$68,40 \pm 7,62$	$91,92 \pm 6,99$	$84,23 \pm 6,82$
Белок, г/л	$70,11 \pm 3,16$	$73,62 \pm 3,18$	$74,82 \pm 2,78$
Глюкоза, моль/л	$4,49 \pm 0,58$	$5,54 \pm 1,08$	$6,35 \pm 0,77$

Примечания: ИМТ – индекс массы тела; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; АДср – среднее артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений.

2.2. Методы оценки функционального состояния

2.2.1 Оценка антропометрических показателей

Рост, стоя (в метрах) измеряли с помощью стандартного медицинского ростомера.

Массу тела определяли на медицинских напольных механических весах, модели РП-150. На основании полученных данных рассчитывали индекс массы тела (ИМТ), кг/м²:

$$\text{ИМТ} = m / h^2,$$

где m – масса тела, кг; h – рост, м.

2.2.2 Оценка состояния сердечно-сосудистой системы в покое

С целью оценки состояния сердечно-сосудистой системы в покое, регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и измеряли систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) артериальное давление с помощью полуавтоматического электронного прибора Microlife BP 3AS1-2 (Швейцария). Среднее артериальное давление (АД_{ср}) мм рт. ст., рассчитывали по следующей формуле (Савицкий, 1956):

$$\text{АД}_{\text{ср}} = (\text{САД} - \text{ДАД} \cdot 1/3) + \text{ДАД} \text{ (мм рт. ст.)},$$

где АД_{ср} – среднее артериальное давление, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление.

2.3. Методы регистрации реологических свойств крови

2.3.1 Определение вязкости цельной крови, плазмы и суспензий эритроцитов

Взятие крови проводили в вакутайнеры с ЭДТА (объем пробы – 9 мл). Оставляли 2 мл цельной крови для измерения ее вязкости, гематокрита (Hct) и концентрации гемоглобина (Hb). Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием (15 мин при 3000 об/мин; центрифуга СМ-6М, «Elmi», Латвия), полученные клетки трижды отмывали в изотоническом растворе хлорида

натрия, и ресуспендировали в растворе Рингера (рН – 7,4, осмолярность – 309 мОсм/л) до гематокрита 40%.

Измерение вязкости цельной крови, плазмы и суспензии эритроцитов в изотоническом растворе Рингера проводили параллельно на ротационном вискозиметре Brookfield DV2TLV (США), при 6 скоростях сдвига (от 5 до 300 с⁻¹, Рис. 5а) и капиллярном вискозиметре (при пяти заданных напряжениях сдвига, (Рис. 5б) (Муравьев с соавт., 2005).

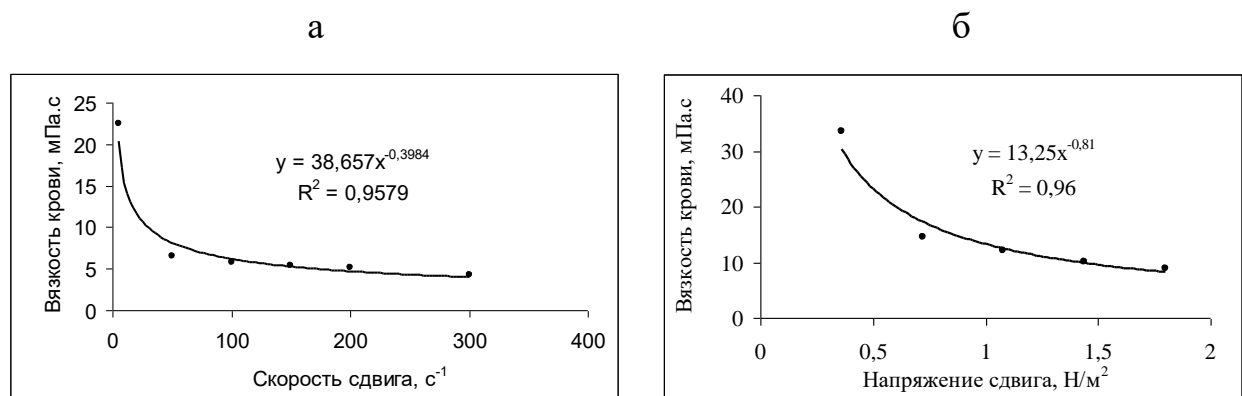


Рисунок 5 - Кривые вязкого течения крови как неньютоновской жидкости, степенного закона (У.Л. Уилкинсон, 1964) при шести скоростях сдвига, полученные на ротационном вискозиметре Brookfield DV2TLV (а) и капиллярном вискозиметре, при пяти, заданных напряжениях сдвига (б).

Примечание: кривые течения построены на основе средних данных параллельных измерений проб крови на двух вискозиметрах.

Важно заметить, что в капиллярном вискозиметре задаются точные величины напряжения сдвига, которые обеспечивают вязкое течение цельной крови, плазмы или суспензии эритроцитов при таких же скоростях сдвига, какие регистрируются в ротационном приборе. Измерение вязкости цельной крови и приготовленных суспензий эритроцитов проводили при пяти напряжениях сдвига: 0,36; 0,72; 1,08; 1,44 и 1,80 Н/м² (Рис. 5б). Вязкость плазмы крови регистрировали при напряжении сдвига 0,72 Н/м². Поскольку каждую пробу крови измеряли на двух вискозиметрах, то последующий корреляционный анализ показал достаточно высокую

положительную корреляцию данных вязкости, полученных на двух приборах, с коэффициентами корреляции от 0,87 до 0,93 ($p < 0,01$).

Для оценки влияния на величину вязкости цельной крови вязкости ее плазмы рассчитывали величину относительной вязкости (ВКо):

$$\text{ВКо} = \text{ВК} / \text{ВП},$$

где ВКо – относительная вязкость крови, ВК – вязкость крови, ВП – вязкость плазмы.

Поскольку в данном исследовании было важно сравнить текучесть цельной крови и ее транспортную эффективность с деформируемостью эритроцитов, то в тексте, в таблицах и при графическом представлении данных на рисунках использовали данные *вязкости цельной крови, вязкости суспензии эритроцитов и вязкости плазмы*, полученные на капиллярном вискозиметре. Это решение подкрепляется и тем обстоятельством, что самые точные измерения деформируемости эритроцитов можно получить при ее регистрации в проточной микрокамере, *при таких же задаваемых и строго контролируемых напряжениях сдвига, что и в измерительном капилляре вискозиметра*. В качестве подтверждения вышесказанному приводим данные регистрации деформации эритроцитов в проточной микрокамере, при действии ступенчато повышающихся напряжений сдвига, как это применялось при капиллярной вискозиметрии (Рис. 6). При этом было найдено, что их индекс удлинения (ИУЭ) увеличивается почти линейно, с точностью аппроксимации этой регрессионной моделью 98% ($R^2 = 0,976$). В этом случае удастся измерять индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ), как показатель их деформируемости. при тех же напряжениях сдвига (0,36; 0,72; 1,08; 1,44 и 1,80 Н/м²), что и при измерениях вязкости или текучести цельной крови (Рис. 7а и 7б).

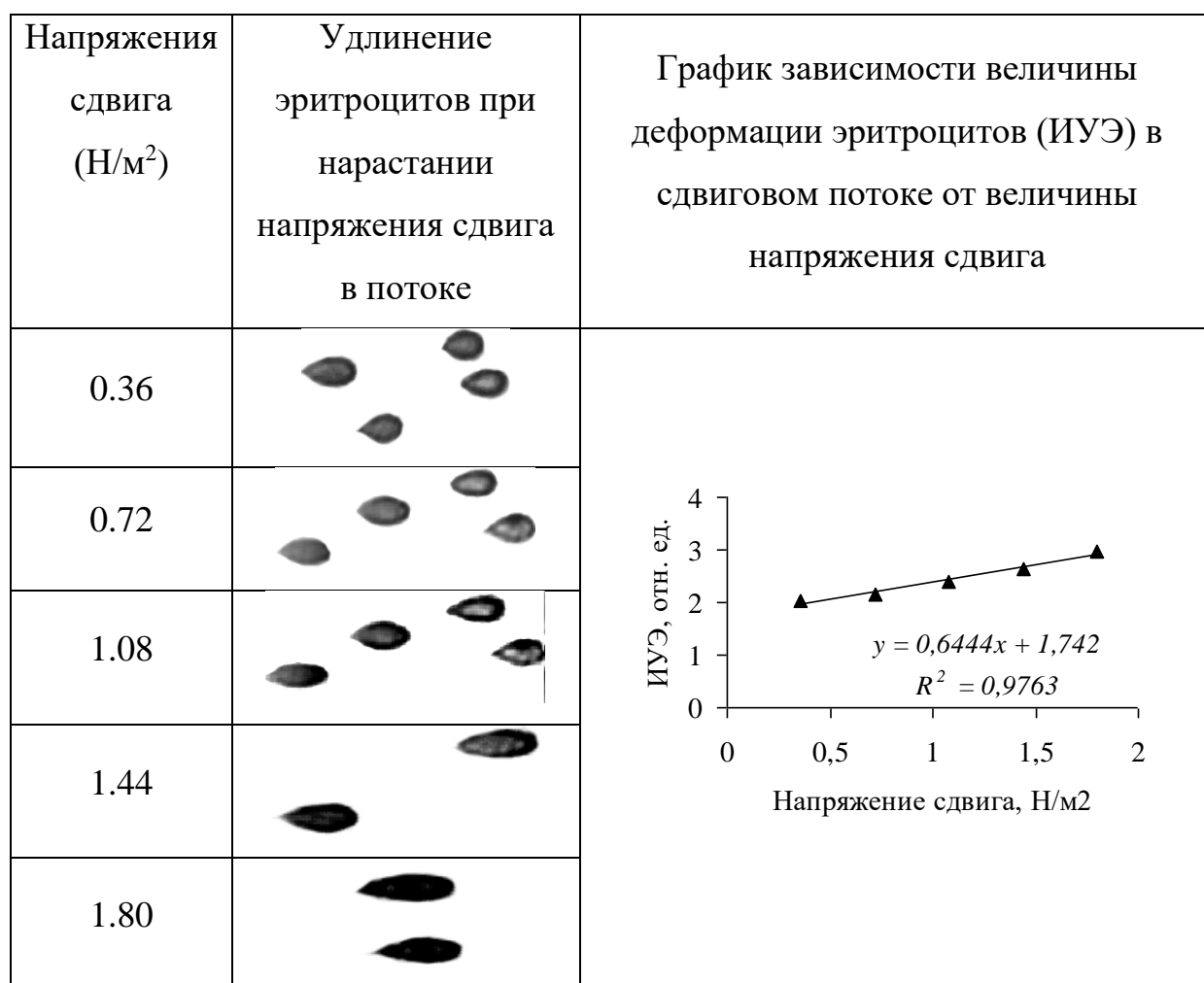


Рисунок 6 - Изменение удлинения эритроцитов при приложении нарастающей величины напряжения сдвига, которое хорошо описывается *линейным регрессионным уравнением* вида: $y = 0,64x + 1,74$, (MS Excel, точечная диаграмма) при надежности аппроксимации экспериментальных данных 98% ($R^2 = 0,976$).

Примечание. Изображение деформированных эритроцитов получено с использованием микроскопа: объектив 40× и цифровой окуляр DCM-900.

Если дополнить эти данные приростом текучести суспензии эритроцитов под воздействием градуально повышающегося напряжения сдвига, то будет понятно, что *деформируемость эритроцитов* существенно влияет на текучесть цельной крови и на проявление феномена «сдвигового разжижения», то есть снижения вязкости при нарастании сдвига (Рис 7б).

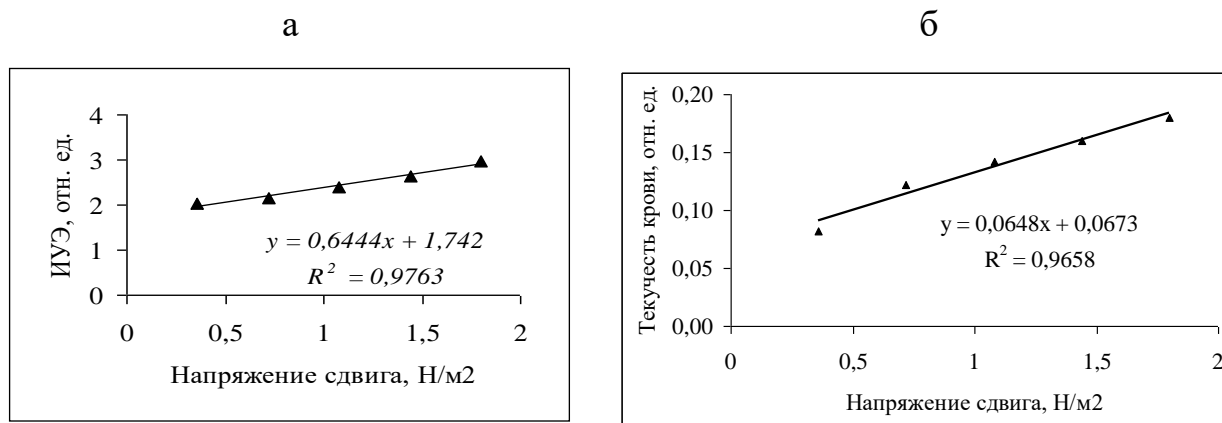


Рисунок 7 - Изменения деформируемости эритроцитов при градуальном повышении напряжения сдвига в проточной микрокамере (а) и прирост текучести крови при таком же нарастании напряжения сдвига, при капиллярной вискозиметрии пробы крови (б).

Капиллярный вискозиметр калибровали на основе измерения течения жидкости известной вязкости. В наших опытах в качестве калибровочной жидкости был использован 40% раствор сахарозы (Доссон с соавт., 1991), поскольку его вязкость при температуре 20⁰С составляет 6,21 мПа·с и близка к вязкости крови (Copley, 1960).

Напряжение сдвига рассчитывали на основе измерений длины рабочей части капилляра, его радиуса и величины приложенного давления, которое задается специальным прецизионным нагнетающим насосом. Для финального расчета напряжения сдвига (τ) использовали формулу (Каро с соавт., 1981):

$$\tau = (P r) / (2 L),$$

где P – приложенное давление, Н·м⁻¹; r – радиус капилляра, м; L – длина рабочей части капилляра, м.

Величину гематокрита определяли с помощью специальной гематокритной центрифуги Elmi CM-70 (Латвия).

2.3.2 Определение реологической эффективности доставки кислорода к тканям

Известно, что отношение гематокрита к вязкости крови дает возможность достаточно точно оценить кислородтранспортные возможности крови (Муравьев, Чепоров, 2009; Stoltz et al., 1991). Показатель эффективности доставки кислорода кровью (TO_2) рассчитывали на основе зарегистрированных величин вязкости (при относительно высоких скоростях сдвига) и гематокрита по формуле:

$$TO_2 = Hct / BK,$$

где Hct – гематокрит, %; BK – вязкость цельной крови, мПа·с.

2.4. Методы оценки микрореологических свойств крови

2.4.1 Регистрация и оценка величины агрегации эритроцитов

Для измерения агрегации эритроцитов применяли агрегометр МА-1 («Mycenne», Германия). Работа этого прибора основана на изменении светопропускания при объединении клеток в агрегаты (Schmid-Schonbein, 1990). Данный прибор позволял реализовать четыре режима измерения агрегации эритроцитов. При использовании первого режима регистрации агрегации эритроцитов (АЭ) проба крови подвергалась вращению со скоростью сдвига 600 с^{-1} , после остановки движения пробы измерялось формирование агрегатов в течении первых 5 и 10 с. Этот режим позволял получить два индекса агрегации (M_5 и M_{10}). Другой режим измерения АЭ моделировал медленное сдвиговое движение эритроцитов при -3 с^{-1} . Измерение АЭ производилось также в двух вариантах: 5 и 10 с. (M_{15} и M_{110}). Необходимо пояснить, что с помощью агрегометра были получены два индекса агрегации типа «М», которые позволяли оценить АЭ в период прекращения сдвигового течения суспензии клеток. В то время как индексы типа «М1» моделировали процесс агрегации эритроцитов в условиях низкосдвигового течения суспензии клеток при низкой сдвиговой скорости. При этом происходило сближение и взаимодействие клеток, и формирование их комплексов – агрегатов (Baskurt, Meiselman, 1997).

Также производилась визуализация процесса агрегации эритроцитов, оценка формы отдельных клеток и агрегатов (в суспензии эритроцитов с $Hct = 0,5\%$) определяли при помощи светового микроскопа, оборудованного цифровым окуляром (DCM-900). Это позволяло, путем захвата изображения, выполнить регистрацию агрегационной картины (Рис. 8).

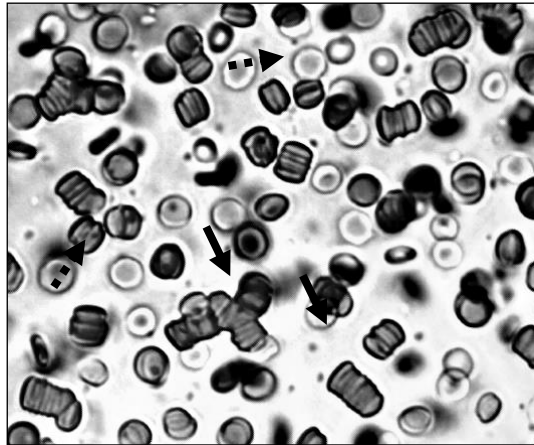


Рисунок 8 - Микрофото суспензии эритроцитов ($Hct=0,5\%$) в проточной микрокамере. Представлены агрегаты эритроцитов по типу «монетных столбиков» и отдельные эритроциты по форме в виде нормального двояковогнутого диска.

Обозначения: ■ – отдельные клетки; ➔ - агрегаты эритроцитов.

2.4.2 Измерение деформируемости эритроцитов

Для оценки деформируемости эритроцитов использовали три метода:

1) Измеряли вязкость суспензии эритроцитов при постоянном гематокрите ($Hct=40\%$) и вязкости суспензионной среды (изотонический раствор Рингера, к которому добавляли относительно высокомолекулярный декстран-130, 10% ХАЕС-стерил, *Fresenius Kabi*, Германия, в соотношении объемов 7:3). Вязкость полученной смеси была постоянной и равнялась 1,30 мПа·с. При этих условиях текучесть суспензии эритроцитов (как величина обратная вязкости) определяется величиной потоковой деформации эритроцитов (Dintenfass, 1981).

2) Деформируемость эритроцитов в сосудистом русле представляет собой результат деформирующих факторов (давление крови, вязкость суспензионной

среды клеток, как правило – это плазмы крови и клеточная концентрация или гематокрит) и способности самих эритроцитов к деформации или их *деформируемость*. Поэтому было предложено (Dintenfass, 1981) оценивать деформационный итог действия внешних факторов (вязкости среды, например плазмы и Нст) путем расчета *индекса ригидности эритроцитов* (Тк). Он вычисляется по следующей формуле:

$$Тк = (\eta_{отн}^{0,4} - 1) / (\eta_{отн}^{0,4} Нст),$$

где Тк – индекс ригидности эритроцитов, Нст – гематокрит, выраженный в долях от единицы.

$\eta_{отн}$ – относительная вязкость крови или суспензии эритроцитов, мПа·с

$$(\eta_{отн} = \eta_k / \eta_n).$$

где η_k – вязкость крови, η_n – вязкость плазмы

3) *Микрофлюидный метод*. Он позволяет определять индекс удлинения комплекса отдельных эритроцитов (ИУЭ) в проточной микрокамере (Рис. 9). Ее заполняли суспензией эритроцитов (концентрация – 0,5%) в изотоническом растворе Рингера, к которому добавляли декстран-130 (10% ХАЕС-стерил, (компания Fresenius Kabi, Германия) в соотношении 7:3 по объему). При этом осмолярность полученной смеси не изменялась и составляла около 300–309 мОсм/л. После заполнения камеры суспензией эритроцитов, указанной выше концентрации, в нее подавали давление, которое создавало определенную величину напряжения сдвига. Размеры микрокамеры были следующими: длина – 3,50 см, ширина – 0,95 см, а высота – 0,012 см. Величину напряжения сдвига (τ) в камере рассчитывали по формуле (Artmann, 1995):

$$\tau = 6 \cdot \eta \cdot Q / W \cdot h^2,$$

где η – вязкость суспензии (примерно – 1,30 мПа·с), мПа·с; Q – объемная скорость в микрокамере, л/с; W – ширина проточного канала микрокамеры, м; h – высота канала (м), равная толщине прокладки (стандартная полиэтиленовая пленка около 100-120 мкм).

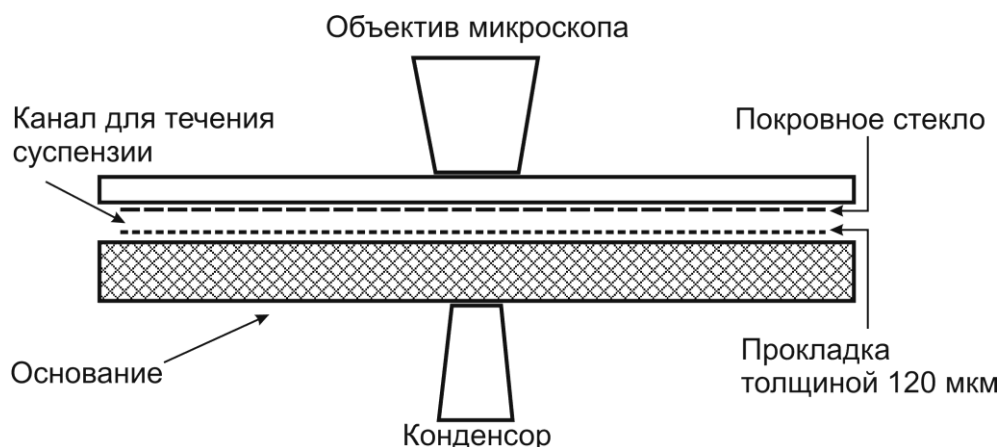


Рисунок 9 - Схема проточной микрокамеры для регистрации удлинения эритроцитов (ИУЭ) как показателя их индивидуальной деформируемости в сдвиговом потоке.

На основе измерения длины (L) и ширины (W) вытянутых клеток (Рис. 10) рассчитывали индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) (Artmann, 1995).

$$\text{ИУЭ} = D/Ш,$$

где D – длина вытянутого потоком эритроцита, $Ш$ – его ширина (Рис. 10б).

Индекс удлинения был принят в качестве основного показателя деформируемости эритроцитов.

Коэффициент вариации,

$$\text{КВ (\%)} = (\sigma/M) \times 100,$$

составлял в среднем для данного метода определения деформируемости эритроцитов от 1,5 до 1,8%.

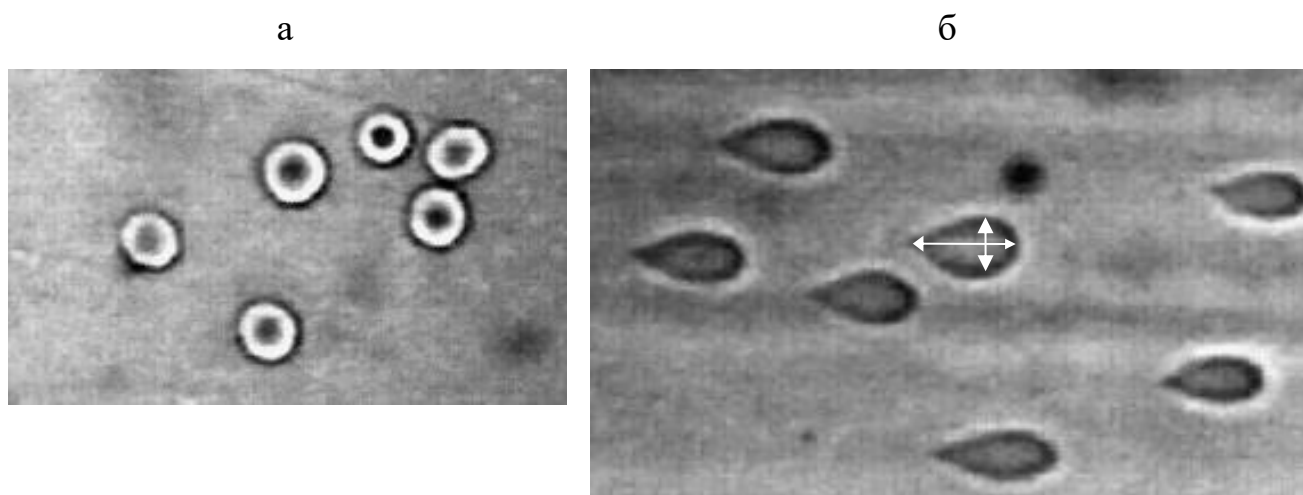


Рисунок 10 – Изображение эритроцита (Цифровой окуляр, DCM-900; объектив – 40х), закрепленного одной точкой и деформированного в сдвиговом потоке ($\tau = 0,54 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-2}$).

Обозначения: а – недеформированные эритроциты до приложения сдвигового напряжения; б – деформированные эритроциты, закрепленные одной «точкой» к дну микрокамеры.

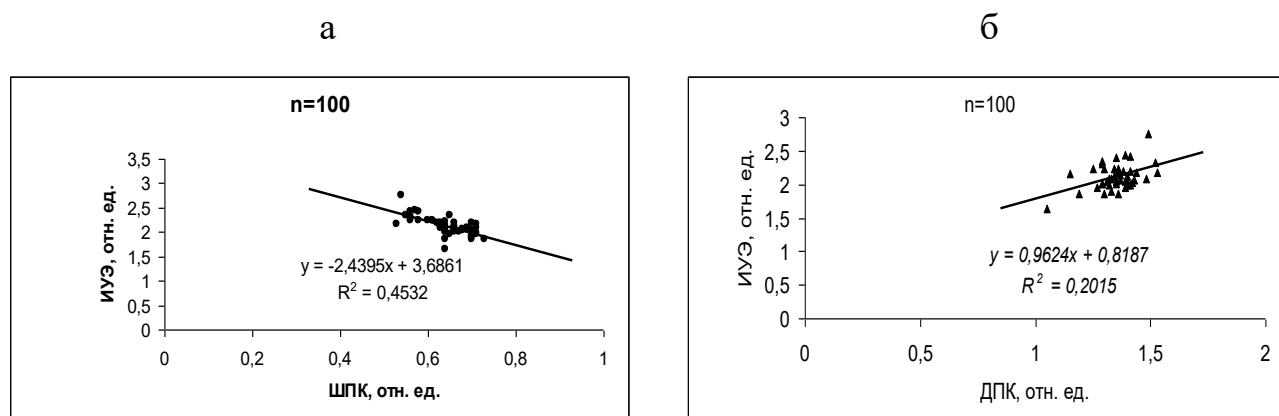


Рисунок 11 – а -. Корреляция между изменением ширины проекции (ШПК, 11а) вытянутых потоком (деформированных) эритроцитов и индексом их удлинения (ИУЭ) и между изменением длины проекции (ДПК, 11б) вытянутых потоком (деформированных) эритроцитов и индексом их удлинения (ИУЭ).

При проведении корреляционного анализа было установлено, что более информативной для оценки деформируемости является измеренная на деформационном изображении ширина вытянутой потоком клетки ($r = 0,67$, $p < 0,01$). Тогда как длина коррелировала в меньшей степени (Рис. 11а и 11б, $r = 0,45$, $p < 0,05$).

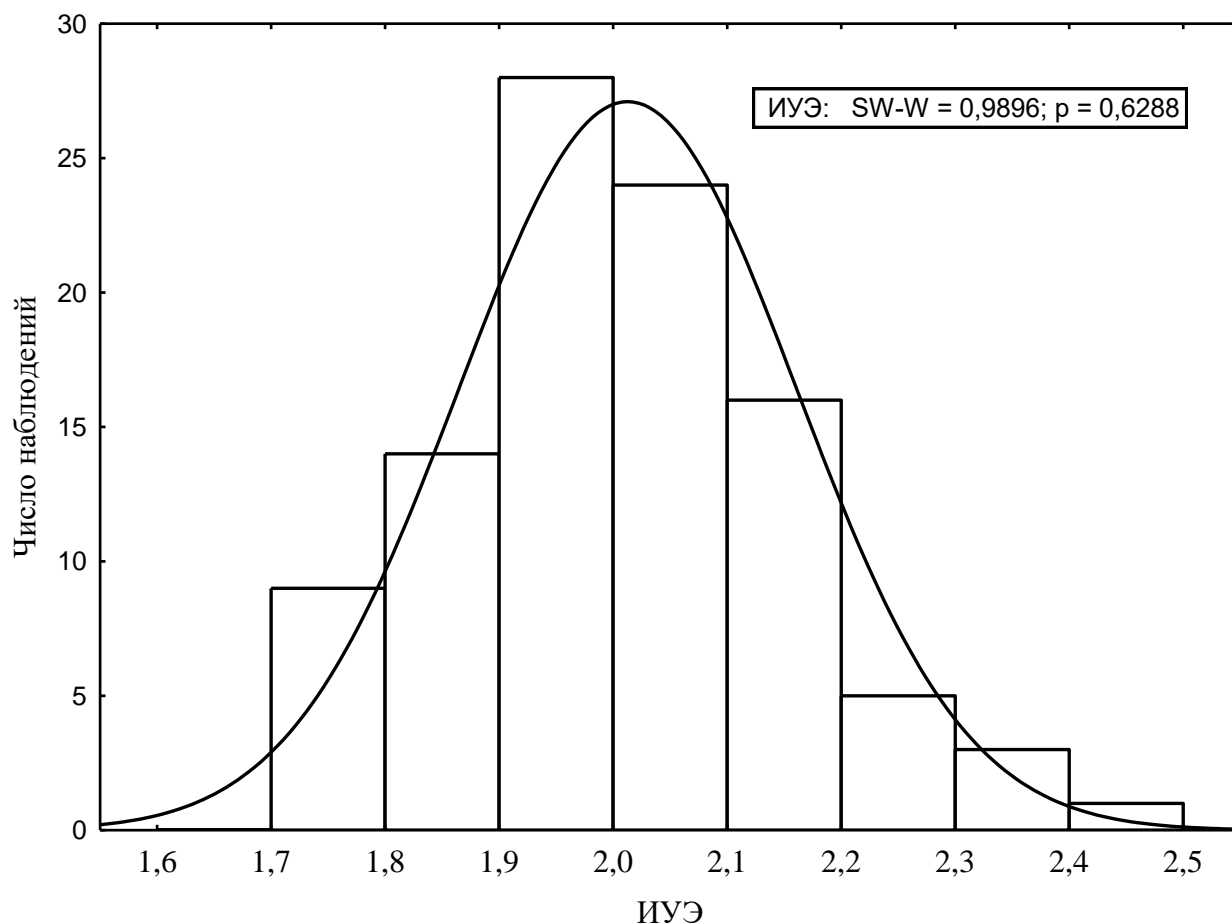


Рисунок 12 – Характер распределения индексов удлинения теней эритроцитов.

2.5. Биохимические исследования крови и плазмы

2.5.1. Исследования плазмы

Как было сказано выше, плазму отделяли от форменных элементов крови путем центрифугирования. С помощью биохимического специализированного

фотометра ФБС-01-2 (исполнение ФБС-01-2, «Эйлитон», Москва), определяли концентрации следующих биологических показателей:

- Глюкозы (ммоль/л) глюкооксидазным методом (набор реактивов Фотоглюкоза «Импакт», Россия);
- Общего белка (г/л) биуретовым методом (набор реактивов «АГАТ-МЕД», Россия);
- Гемоглобина крови (г/л).

Принцип действия прибора основан на регистрации интенсивности светового потока, прошедшего через кювету с жидкой пробой и вычислении оптической плотности. Разность величин оптических плотностей рабочей и холостой пробы в условиях применимости закона Ламберта – Бера прямо пропорциональна концентрации исследуемого биологического показателя.

2.5.2 Определение концентрации гемоглобина

Концентрацию гемоглобина (Hb) определяли цианметгемоглобиновым методом (фотометр биохимический специализированный ФБС-01-2) с помощью набора реагентов «ГЕМОГЛОБИН-АГАТ», Россия. На основе регистрации общей концентрации гемоглобина крови и величины гематокрита (Hct) рассчитывали среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (МСНС) как:

$$\text{МСНС} = (\text{Hb}/\text{Hct}) \cdot 10 \text{ (г/дл)},$$

где Hb – гемоглобин, г/л; Hct – гематокрит (%).

2.6. Исследование механизмов изменения микрореологических свойств эритроцитов

Для анализа молекулярных механизмов изменения микрореологических свойств эритроцитов и их восстановленных теней клетки и их тени инкубировали:

- 1) с донором оксида азота (NO), нитропруссидом натрия (НПН, 20, 100, 200 мкМ);
- 2) с донором сульфида водорода (H_2S), гидросульфидом натрия (NaHS , в концентрации 20, 100, 200 мкМ);
- 3) с L-аргинином – субстратом эндогенного синтеза NO (в концентрации 50 мкМ);
- 4) с L- цистеином – субстратом эндогенного синтеза H_2S (в концентрации 500 мкМ);

- 5) с ингибитором активности растворимой гуанилатциклазы – 1H-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ, в концентрации 0.5 мкМ);
- 6) с ингибитором активности NO-синтазы, N-Nitroarginine methyl ester (L-NAME, в концентрации 200 мкМ);
- 7) с блокатором АТР-чувствительных (K_{ATP}) калиевых каналов – глибенкламидом (ГлК, в концентрации 10 мкМ).
- 8) с блокатором кальций-зависимых калиевых каналов средней проводимости (KCa3.1 или Гардош-каналы), клотримазолом (50 мкМ);
- 9) со стимулятором альфа-1-адренорецепторов, фенилэфрином (10 мкМ)
- 10) с ингибитором активности циклического GMP, метиленовым синим (50 мкМ).

2.6.1 Исследование влияния доноров газотрансмиттеров и субстратов их синтеза на микрореологические свойства эритроцитов

В каждом опыте в качестве контрольной пробы использовали суспензию эритроцитов, инкубируемых в течение 30 мин при 37°C в буферном растворе без добавления указанных выше препаратов. Все препараты и соединения были получены от фирмы Sigma-Aldrich (США). Их растворяли в дистиллированной воде, DMSO или этиловом спирте, в соответствии с рекомендациями по каждому из соединений. Для исключения влияний растворителя (DMSO) на исследуемые характеристики эритроцитов проводили предварительные опыты с инкубацией клеток с данным соединением. При этом статистически значимых различий в величинах микрореологических характеристик с данными контрольных проб обнаружено не было.

В серии предварительных опытов с донорами газотрансмиттеров нитропруссидом натрия и гидросульфидом натрия проверяли доза-эффект этих соединений и наблюдали действие различных концентраций данных препаратов (20, 100, 200 мкМ) на микрореологические свойства эритроцитов. Установили, что величина вызываемого эффекта была наиболее выражена при использовании 100 мкМ вещества, что будет отражено далее в табличных данных и иллюстрациях, касающихся данных химических соединений.

2.6.2 Исследование влияния доноров газотрансммиттеров и субстратов их синтеза на микрореологические свойства восстановленных теней эритроцитов

Поскольку биологическим мембранам принадлежит важная роль в регуляции физиологической активности клеток, то для более точного воздействия доноров ГТ на структуры мембраны, их добавляли к суспензии восстановленных теней эритроцитов. Последние готовили по методу Доджа (Dodge, 1963). Эритроциты разрушали осмотическим шоком. Для этого к 1 мл клеток добавляли 7 мл охлажденной дистиллированной воды (при температуре 40°C) с последующей двукратной отмывкой в фосфатном буфере. Затем концентрат теней инкубировали в изотоническом растворе Рингера, с добавлением декстрана-130 (соотношение раствора Рингера и декстрана как 7:3, по объему). Суспензию восстановленных теней делили на несколько аликвот, добавляли соответствующие препараты, и после инкубации (30 мин при 37°C), регистрировали деформируемость теней эритроцитов в проточной микрокамере как индекс удлинения теней эритроцитов (ИУтЭ).

2.7. Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Statistica 6.0. Проверку выборочного распределения проводили с помощью теста Шапиро – Уилка. Если выборка подчинялась закону нормального распределения, достоверность различий в исследуемых группах определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Поскольку параметры не всегда соответствовали критерию нормального распределения, то в ряде случаев оценку статистической значимости проводили с использованием непараметрических критериев Манна – Уитни, Вилкоксона. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$ и $p < 0,01$. Данные в таблицах и тексте представлены как $M \pm \sigma$. Гипотеза о взаимосвязи данных проверялась по коэффициентам корреляции Пирсона.

На *in vitro* моделях проводили исследование микрореологических ответов эритроцитов на действие доноров ГТ, НПН и NaHS и субстратах их синтеза,

L-аргинина и L-цистеина. Получали данные о величине изменений (приросте) деформируемости эритроцитов под влиянием этих соединений. Были построены регрессионные линейные модели зависимости вязкости крови, «у» (независимой переменной) от величины предиктора или зависимой переменной, «х» (индекса удлинения эритроцитов, ИУЭ) вида:

$$y = -kx + b,$$

где у – вязкость крови, k – коэффициент консистенции, х – напряжение сдвига/скорость сдвига (на капиллярном вискозиметре/на ротационном вискозиметре)

Компьютерное решение этого уравнения (вычислительный эксперимент) с подстановкой в него величины деформируемости эритроцитов (ИУЭ), «х», полученной в *in vitro* опытах с микрореологическими ответами клеток на действие доноров ГТ, позволяло получить, на модели *in silico* проектируемую (прогнозируемую) величину вязкости цельной крови в этих условиях (при повышении деформируемости эритроцитов в диапазоне от 7 до 14%).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Анализ параметров гемореологических профилей и их изменений при действии доноров газотрансмиттеров и субстратов их синтеза у здоровых людей, лиц с артериальной гипертензией и лиц с избыточной массой тела

3.1.1 Анализ параметров гемореологических профилей и их изменений при действии доноров газотрансмиттеров и субстратов их синтеза у здоровых людей, лиц

3.1.1.1 Параметры гемореологического профиля у здоровых женщин и мужчин

Полученные результаты исследования показали, что у женщин вязкость цельной крови оказалась немного ниже, чем у мужчин на 3 и 4% (Табл. 2), при высоких и низких скоростях сдвига, соответственно. Если взять в качестве оценки степени различий вязкости крови женщин и мужчин, одну сигму « σ », то разница в 3–4% не позволяет утверждать о достоверности различий (Табл. 2). Вязкость плазмы (ВП) у женщин и мужчин различалась на 0,06 мПа·с, что составило 3% (табл. 3). При этом стандартное отклонение средней ВП у женщин и мужчин было равным 0,12 и 0,14 мПа·с, соответственно. Это свидетельствует об отсутствии существенной разницы ВП между женщинами и мужчинами (Табл. 2). Расчет относительной вязкости крови ($ВК_{отн.} = ВК_1/ВП$), подтверждает это. Она почти не различалась между двумя группами (0,4%). Следовательно, ВП не является важным фактором, определяющим потенциальную разницу вязкости цельной крови у мужчин и женщин.

Вместе с тем, между группами мужчин и женщин наблюдали заметную разницу гематокрита, которая составила 5% ($p < 0,05$) и он был меньше у женщин (Табл. 2). Если между вязкостью крови и гематокритом коэффициент корреляции составил 0,39, то с вязкостью плазмы $ВК_1$ коррелировала более выраженно ($r = 0,60$, $p < 0,01$). Следовательно, вклад этих двух макрореологических характеристик крови (Hct и $ВП$) был заметным, однако их небольшая разница в

группах женщин и мужчин не являлась главной причиной возможных различий величины вязкости цельной крови между группами.

Таблица 2. Различия характеристик гемореологического профиля в группах здоровых женщин и мужчин ($M \pm \sigma$)

Показатели	Женщины (n=24)	Мужчины (n=24)
ВК ₁ , мПа·с	5,58±0,51	5,77±0,73
ВК ₂ , мПа·с	19,81±2,72	20,64±3,05
ВП, мПа·с	2,02±0,12	2,08±0,14
Нсг, %	43,12±1,22	45,09±1,38*
Нб, г/л	138,42±2,92	145,61±3,62
Белок, г/л	68,42±2,74	71,68±3,12
Глюкоза,	4,58±0,42	4,69±0,70
Нсг/ВК ₁ , отн. ед.	9,16±0,86	9,64±0,61
k, отн. ед.	8,94±0,38	10,70±0,74
n, отн. ед.	0,91±0,04	0,94±0,05
ВК _{отн.}	2,55±0,33	2,54±0,25

Примечания: ВК₁ – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma > 100 \text{ с}^{-1}$); ВК₂ – вязкость крови при низких скоростях сдвига ($\gamma < 20 \text{ с}^{-1}$); ВП – вязкость плазмы; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; Нсг – гематокрит; Нб – гемоглобин; Нсг/ВК₁ – индекс эффективности транспорта кровью кислорода; k и n – показатели степени неньютоновости крови; * – различия достоверны при $p < 0,05$.

Все микрореологические характеристики, связанные с деформируемостью эритроцитов, свидетельствовали о ее несколько большей величине в группе женщин. Однако как видно из данных, приведенных в Табл. 3, разница не превышала 3%, хотя и была по ряду показателей статистически достоверной ($p < 0,01$).

Таблица 3. Различия микрореологических характеристик гемореологических профилей у здоровых женщин и мужчин ($M \pm \sigma$)

Показатели	Женщины (n=24)	Мужчины (n=24)
ИУЭ, отн. ед.	2,07±0,06	2,02±0,05
ИУтЭ, отн. ед.	1,85±0,06	1,79±0,04
ПАЭ, отн. ед.	7,96±0,76	8,15±0,92
ВС, мПа·с	3,74±0,31	3,85±0,24
МСНС, г/дл	33,37±1,42	32,83±1,26
Тксус. Отн. ед.	0,87±0,06	0,90±0,07

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов, как показатель их деформируемости; ИУтЭ, – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; МСНС – средняя концентрация гемоглобина в эритроците; Тксус – индекс ригидности эритроцитов.

Это касалось индексов удлинения интактных эритроцитов (ИУЭ) и их восстановленных теней (ИУтЭ). Тогда как разница вязкости суспензий и индекс ригидности эритроцитов составили около 3–4% (Табл. 3). При этом в группе женщин ИУЭ заметно коррелировал с $ВК_1$ ($r = -0,49$, $p < 0,05$). В группе мужчин эта корреляция была слабее ($r = -0,37$). Следовательно, расчет коэффициента детерминации ($D = r^2 \times 100\%$) показывает, что в группе женщин вклад деформируемости эритроцитов в текучесть ($\varphi = 1/\eta$) составляет более 20%. Что касается другой микрореологической характеристики агрегации эритроцитов, то ее показатели (ПАЭ) практически не различались между группами (Табл. 3).

В целом можно заключить, что микрореологические характеристики эритроцитов у мужчин и женщин, хотя статистически и достоверно различались, однако фактически разница показателей не превышала 4%.

Выявлена некоторая разница в корреляциях между параметрами гемореологического профиля. Так у мужчин были выявлены более тесные

корреляции между показателем транспортной эффективности крови (отношение Hct/BK_1) с характеристиками деформируемости эритроцитов.

Указанный индекс положительно коррелировал с ИУЭ ($r = 0,64$, $p < 0,01$), и отрицательно с ВС ($r = -0,50$, $p < 0,05$) и с ВП ($r = -0,39$). Поскольку транспорт кислорода осуществляется эритроцитами крови, следует ожидать, что реологический показатель эффективности доставки кровью O_2 в ткани (отношение Hct/BK_1) будет выражено связан с концентрациями эритроцитов (Hct) и гемоглобина (Hb и $МСНС$). Однако корреляционный анализ показал, что данные гематологические характеристики и индекс Hct/BK_1 не так тесно связаны между собой. Так с гематокритом коэффициент корреляции был равен 0,12. Тогда как с вязкостью крови он достиг 0,79 ($p < 0,01$, Рис.13).

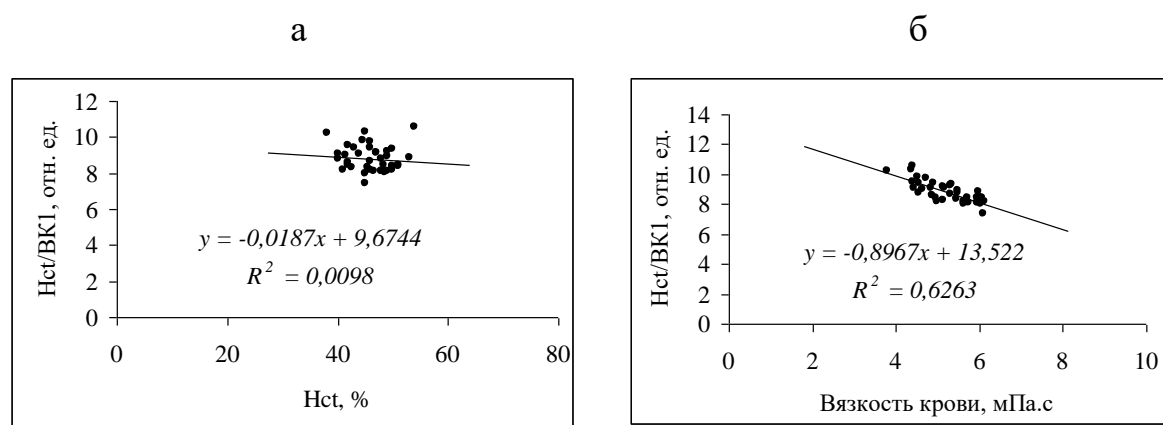


Рисунок 13 – Корреляции между индексом эффективности транспорта кислорода кровью (Hct/BK_1), гематокритом (а) и вязкостью крови (б) здоровых людей (группа контроль).

Существенная разница в величинах корреляций между показателем эффективности транспорта кислорода кровью (отношение Hct/BK_1) и гематокритом и вязкостью, позволяет заключить, что основной вклад в решение транспортных задач дает текучесть крови. При этом важно заметить, что она почти на треть (на 28%) зависит от деформируемости эритроцитов.

Сравнительный анализ степени неньютоновского поведения крови показал, что оно было менее выраженным у женщин (Рис. 14а и 14б). Так коэффициент

консистенции (k), как основной показатель неньютоновости крови составил в группе женщин $8,94 \pm 0,38$ отн. ед., тогда как у мужчин в среднем он был равен $10,70 \pm 0,74$ отн. ед., что на 20% больше, чем у женщин.

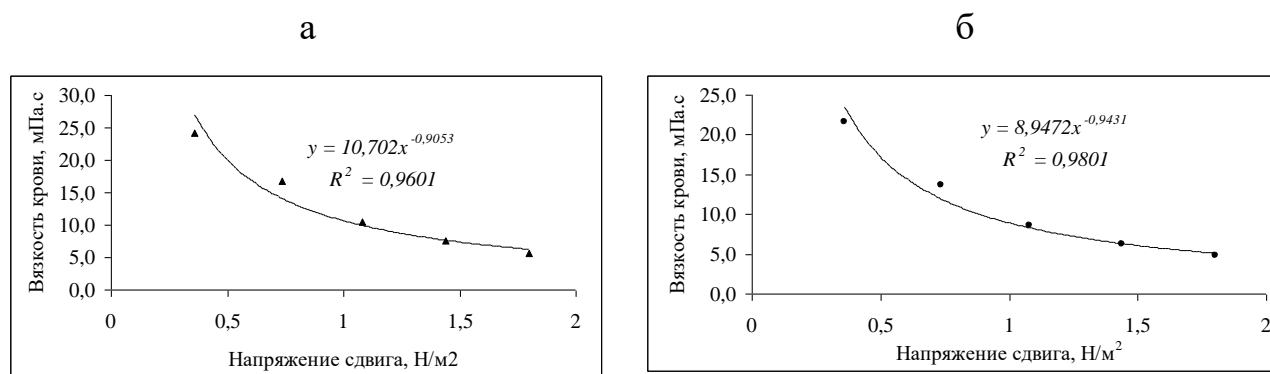


Рисунок 14 – Кривые вязкого течения крови как неньютоновской жидкости степенного закона, в группе мужчин (а) и женщин (б).

Другая характеристика неньютоновости крови, показатель степени « n » в уравнении течения ($y=kx^{-n}$), не имел выраженных различий в сравниваемых группах (Рис. 15), разница составила всего 3% и не была статистически достоверной.

Были выявлены заметные отрицательные корреляции между ИУЭ и показателями неньютоновости крови. Так в группе женщин k коррелировал с ИУЭ при $r = -0,46$ ($p < 0,01$), а у мужчин – с $r = -0,51$, $p < 0,01$.

Кроме того, важно заметить, что у здоровых лиц не найдено достоверных корреляций между вязкостью крови и АД, в частности между $ВК_1$ и САД была слабая связь ($r = 0,10$), а $ВК_1$ и ДАД, $r = 0,17$. То же можно сказать и о связи ИМТ и вязкости крови, коэффициент корреляции не превышал 0,21.

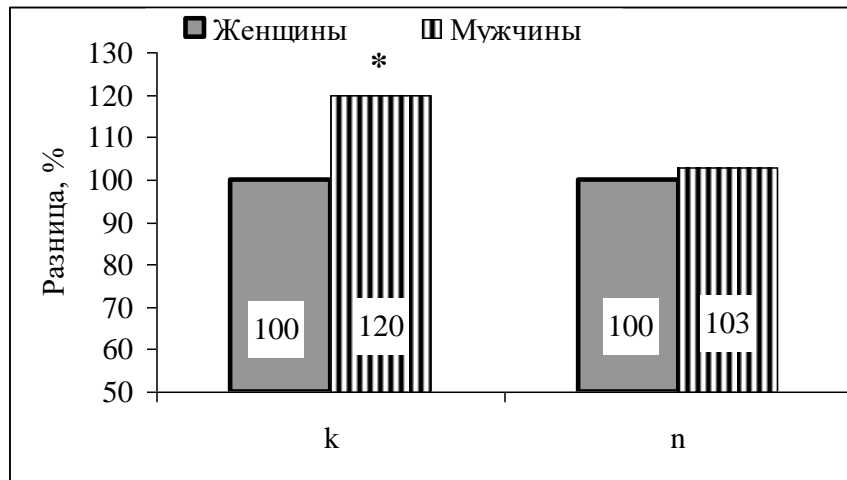


Рисунок 15 – Различия в показателях неньютоновского поведения крови у женщин и мужчин.

Обозначения: k – показатель кинсистенции жидкости как индекс ее неньютоновости при вязком течении; n – показатель степени в уравнении течения крови как неньютоновской жидкости степенного закона; * – различие между данными групп женщин и мужчин статистически значимо, при $p < 0,01$.

В целом можно заключить, что в реологических характеристиках цельной крови; в ее вязкости при высоких и низких скоростях сдвига, существенных, статистически достоверных различий между группами женщин и мужчин не было найдено. Это позволило сформировать смешанную группу из женщин и мужчин ($n = 48$) для анализа микрореологических ответов эритроцитов и их восстановленных теней на действие доноров газотрансммиттеров и субстратов их синтеза в клетках.

3.1.1.2 Анализ моделей течения цельной крови, суспензии эритроцитов и их деформации

При регистрации вязкости цельной крови (Рис. 16а и 16б), а также суспензии эритроцитов, при пяти повышающихся напряжениях сдвига, кривая течения может быть представлена линейной регрессионной моделью или ее степенном вариантом (Рис. 16а и 16 б).

суспензий при градуально повышающемся напряжении сдвига в вискозиметре (Рис. 17 а и 17 б).

С другой стороны, при регистрации деформации эритроцитов в проточной микрокамере, при действии ступенчато повышающихся напряжений сдвига, было найдено, что ИУЭ увеличивается почти линейно, с точностью аппроксимации этой реологической моделью 95%. На рисунке 18 представлены линейная и степенная модели деформации эритроцитов под влиянием градуально повышающегося напряжения сдвига в проточной микрокамере. Видно, что эта деформация с большей достоверностью описывается моделью жидкости степенного закона ($y=kx^n$) и имеет большую степень точности аппроксимации (99,7%) экспериментальных данных, чем линейная модель (Рис. 18 а и 18 б).

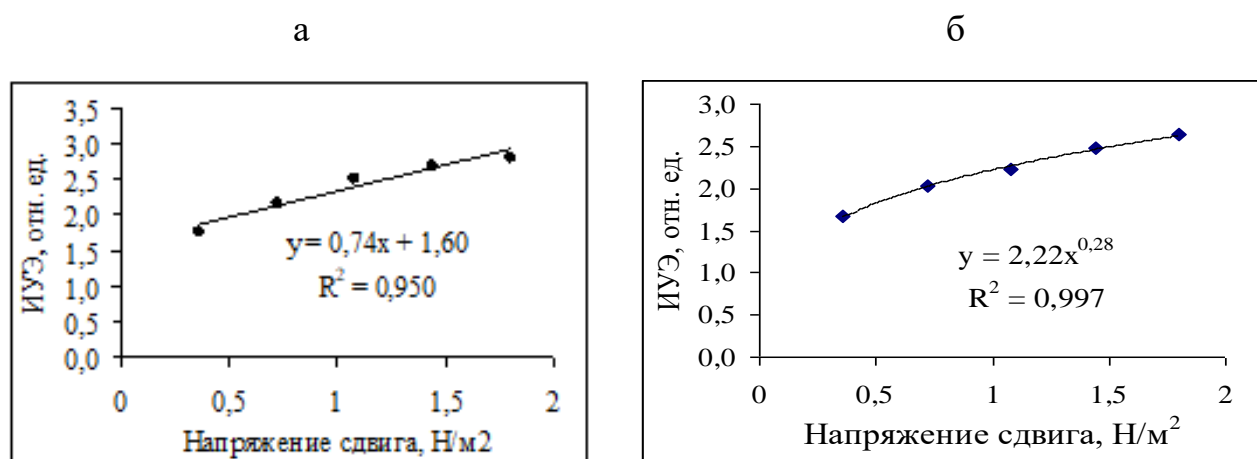


Рисунок 18 – Регрессионные модели, описывающие деформацию эритроцитов в проточной микрокамере при приложении ступенчато повышающего напряжения сдвига.

Обозначения: а – линейная регрессионная модель; б – степенная регрессионная модель деформации эритроцитов, при ступенчатом повышении напряжения сдвига.

Опыты с восстановленными теньями эритроцитов, подвергнутые таким же величинам напряжения сдвига, продемонстрировали сходный, с интактными

эритроцитами, характер прироста величины деформации, описанный линейной (а) и степенной (б) регрессионными моделями (Рис. 19а и 19б).

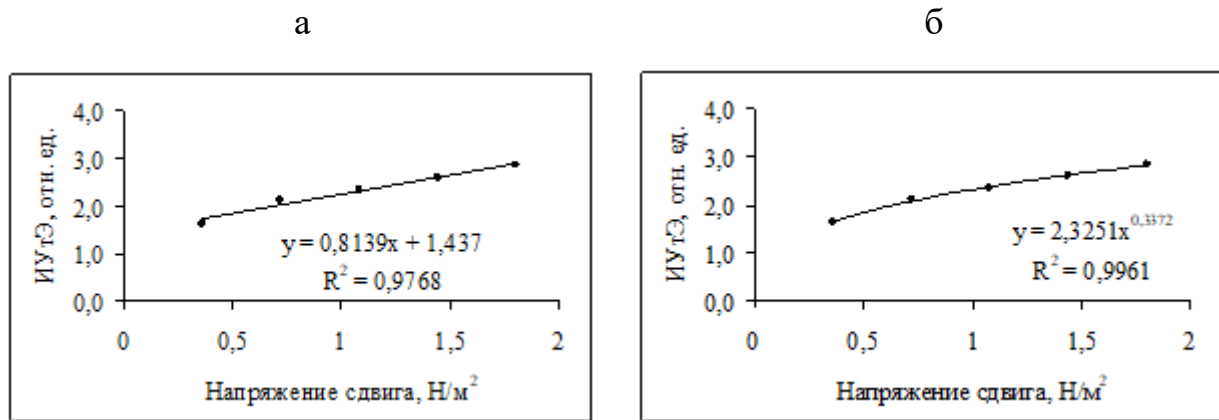


Рисунок 19 – Регрессионные модели, описывающие деформацию восстановленных теней эритроцитов в проточной микрокамере при приложении ступенчато повышающего напряжения сдвига.

Обозначения: а – линейная регрессионная модель; б – степенная регрессионная модель деформации эритроцитов, при повышении напряжения сдвига.

Таким образом, степень удлинения эритроцитов в проточной микрокамере при градуальном повышении напряжения сдвига, возрастает линейно. Это увеличение деформации эритроцитов хорошо описывается линейным регрессионным уравнением вида: $y = ax + b$

(Рис. 19). При этом достоверность аппроксимации экспериментальных данных этой моделью (R^2) находится в диапазоне от 0,95 до 0,98. Вместе с тем, несколько более высокая степень аппроксимации данных получается, если использовать модель степенного закона вида: $y = ax^n$, где R^2 превышает 0,990 (Рис. 18 и 19). Сравнение реологического поведения (течения и деформации) цельной крови, суспензии эритроцитов с изменением деформируемости эритроцитов в проточной микрокамере, под влиянием однотипного приложения ступенчато повышающегося напряжения сдвига, свидетельствует о высоком сходстве потоковой деформации, которая описывается моделью жидкости степенного закона. Это не случайно,

поскольку за проявление вязкоупругих свойств крови в основном ответственны эритроциты (Schmid-Schoenbein, Murfee, 1985).

Корреляционный анализ показал, что в объединенной группе здоровых лиц текучесть крови заметно коррелировала с вязкостью плазмы ($r = -0,52$, $p < 0,05$), с гематокритом ($r = -0,53$, $p < 0,05$), с деформируемостью эритроцитов ($r = 0,52$, $p < 0,05$) и с их агрегацией ($r = -0,41$). Расчеты коэффициентов детерминации ($D = r^2 \cdot 100\%$) позволили представить соотношения вклада отдельных реологических характеристик в текучесть цельной крови в обеих группах (Рис. 20).

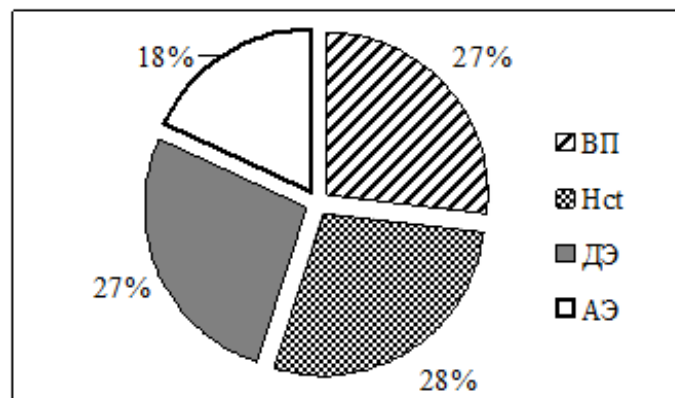


Рисунок 20 – Диаграммы распределения вклада в текучесть цельной крови (величина обратная вязкости) основных реологических факторов, определенных на основе расчета коэффициентов детерминации.

Обозначения: ВП – вязкость плазмы; Нст – гематокрит; ДЭ – деформируемость эритроцитов; АЭ – агрегация эритроцитов.

На основе анализа вклада разных характеристик общего гемореологического профиля в текучесть цельной крови можно полагать, что деформируемость эритроцитов, почти на треть (27%) определяет текучесть крови. А вместе с агрегацией микрореология эритроцитов может вносить до 45% вклада в изменение текучести цельной крови и ее транспортную эффективность в организме. При этом только клеточные компоненты крови могут быть объектами регулирующих воздействий биологически активных соединений

(Brunati et al., 1996; Minetti et al., 2004) и в том числе эндогенно синтезируемых газовых медиаторов, таких как оксид азота (NO) и сульфид водорода (H₂S) (Diederich et al., 2018; Kobayashi et al., 2022).

3.1.1.3 Микрореологические ответы эритроцитов здоровых лиц на доноры газотрансмиттеров

Имеются данные о том, что эритроциты положительно изменяют свои микрореологические характеристики под влиянием эндогенных паракринных регуляторов клеточных функций, таких как газотрансмиттеры (ГТ) (Mozar et al., 2016; Muravyov et al., 2022). Для уточнения и проверки этой информации эритроциты здоровых лиц инкубировали с донорами ГТ, гидросульфидом натрия (NaHS) и нитропруссидом натрия (НПН) по отдельности, а также и при одновременном применении этих двух доноров (Табл. 4). Было найдено, что деформируемость эритроцитов была достоверно повышена, после применения доноров ГТ, на 7% (NaHS) и на 6% (НПН), а также на 10% при совместном применении этих соединений (NaHS+НПН), соответственно (Табл. 4).

Таблица 4. Микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней у здоровых лиц при инкубации клеток с донорами газотрансмиттеров: нитропруссидом натрия (НПН), гидросульфидом натрия (NaHS) и при их совместном применении (NaHS+НПН) ($M \pm \sigma$, n=48)

Показатели	Контроль	NaHS	НПН	NaHS+НПН
ИУЭ, отн. ед.	2,02±0,04	2,17±0,04**	2,15±0,06**	2,23±0,08**
ИУтЭ, отн. ед.	1,83±0,03	1,96±0,06**	1,94±0,07**	2,01±0,08**
ПАЭ, отн. ед.	8,98±0,74	6,21±1,22*	6,78±1,12*	5,44±0,89**

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

У лиц этой группы восстановленные тени эритроцитов отвечали на NaHS похожим образом, приростом ИУтЭ на 7% ($p<0,01$), а на НПН – на 6% ($p<0,01$) при комбинировании двух доноров ГТ прирост деформируемости теней составил 10%, что достоверно больше, чем действие этих соединений в отдельности (Табл. 4).

Агрегационные ответы эритроцитов на инкубацию с донорами ГТ проявлялись в выраженном снижении ПАЭ, на 31% ($p<0,05$), под влиянием NaHS и на 25% ($p<0,05$) при инкубации с НПН. Действующие одновременно два донора (NaHS+НПН) снизили агрегацию эритроцитов на 39%, что достоверно больше их отдельных эффектов (Рис. 21).

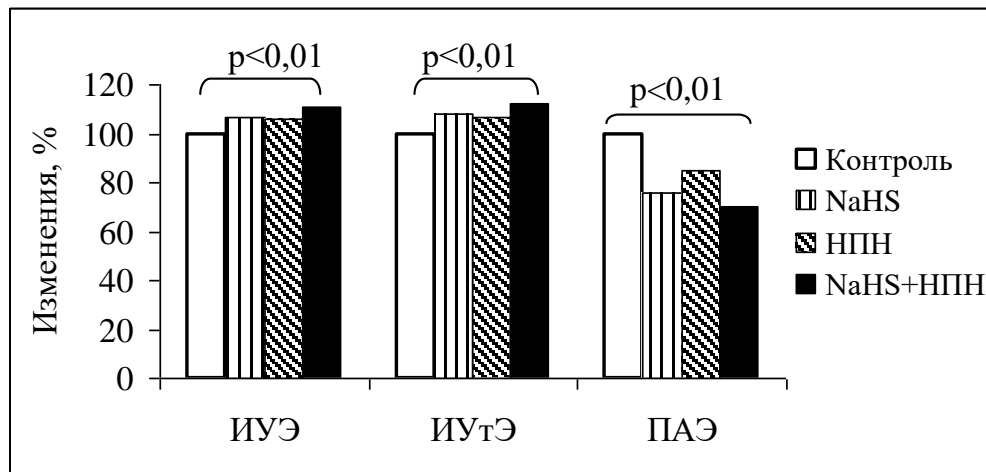


Рисунок 21 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS), с нитропруссидом натрия (НПН), а также при их совместном применении (NaHS+НПН) в группе здоровых лиц. Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Поскольку регуляторные молекулы обоих газотрансмиттеров (оксида азота и сероводорода) доступны для эритроцитов вследствие того, что они продуцируются как эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, так и внутри самих эритроцитов, то может происходить кросс-общение (cross-talking) этих молекул на внутриклеточных сигнальных путях. В частности, H_2S может использовать NO-опосредованный сигнальный каскад (Wang, 2014). Напряжение сдвига как

механический стимул, действует на мембрану эритроцитов и повышает активность NO-синтазы (NOS). В свою очередь, с помощью NOS из L-аргинина синтезируется NO (Koliyamitra et al., 2017). Кроме того, L-аргинин является не только субстратом для образования NO, но и стимулятором активности NOS.

Были исследованы микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней на инкубацию с L-аргинином. Эти данные суммированы в таблице 5. Так ИУЭ повышался на 7% под действием донора H_2S и немного больше, на 8% ($p<0,01$), под влиянием L-A. Вместе с тем совместное применение NaHS+L-A увеличивало ДЭ на 11% ($p<0,01$). Примерно так же отвечали восстановленные тени эритроцитов на действие данных соединений: ИУтЭ повышался на 10% под влиянием NaHS, на 8% – в ответ на L-A и на 13% ($p<0,01$) при их совместном воздействии на тени клеток (Табл. 5).

Таблица 5. Микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней у здоровых лиц при инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), L-аргинином (L-A) и при совместном применении препаратов (NaHS+L-A) ($M\pm\sigma$, $n=48$)

Показатели	Контроль	NaHS	L-A	NaHS+L-A
ИУЭ, отн. ед.	2,02±0,05	2,16±0,06**	2,18±0,06**	2,25±0,05**
ИУтЭ, отн. ед.	1,82±0,05	2,00±0,04**	1,97±0,07**	2,05±0,06**
ПАЭ, отн. ед.	9,18±2,24	6,98±1,92*	7,12±1,48*	5,12±1,34**

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; L-A – L-аргинин; * различия с контролем достоверны при $p<0,05$; ** – при $p<0,01$.

Что касается агрегации эритроцитов, в этих условиях, то NaHS снижал ее на 24% ($p<0,01$), L-A – на 22% ($p<0,01$). Совместное применение этих двух соединений (NaHS+L-A) уменьшало ПАЭ сразу на 44% ($p<0,01$, Рис. 22).

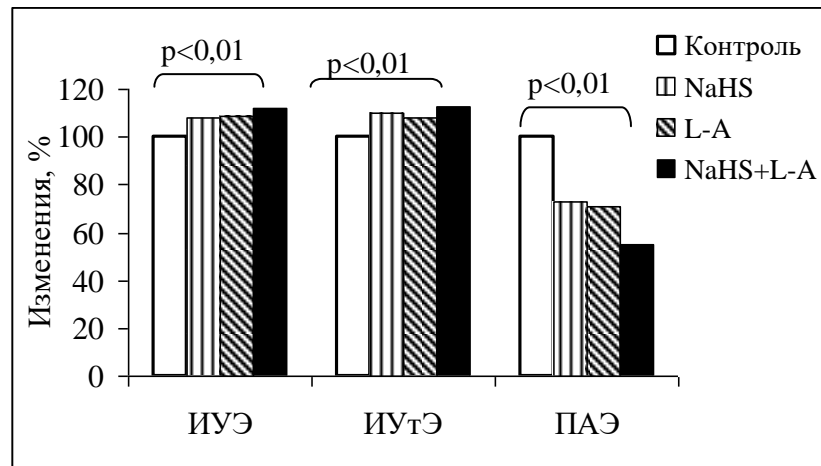


Рисунок 22 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS), стимулятором NOS L-аргинином (L-A) и их сочетанием (NaHS+ L-A) в группе здоровых лиц.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Как показано на рисунке 22, предварительная инкубация эритроцитов с активатором NOS, L-аргинином достоверно ($p<0,01$) увеличивала последующий эффект NaHS. Это касалось ИУЭ и особенно, ПАЭ.

Имеются данные о положительном влиянии L-цистеина на текучесть крови, за счет повышения деформируемости эритроцитов (Otoyama et al., 2019). Поскольку L-цистеин является субстратом для эндогенного образования сульфида водорода, то это соединение может улучшать микромеханику эритроцитов и их теней. Было проверено это предположение. Эритроциты инкубировали с L-цистеином (500 мкМ) и измеряли их индекс удлинения (ИУЭ). Было найдено достоверное увеличение этого микрореологического показателя у интактных эритроцитов здоровых лиц с $2,01\pm0,05$ отн. ед., при нулевой концентрации L-цистеина в суспензии (контрольная проба) до $2,13\pm0,04$ отн. ед. в пробе с конечной концентрацией препарата 500 мкМ. Прирост составил 6% ($p<0,01$) (Табл. 6.). Схожая реакция наблюдалась при инкубации эритроцитов с NaHS (7%, $p<0,01$). Сочетанное воздействие имело более выраженный эффект (11%, $p<0,01$).

Что касается восстановленных теней эритроцитов, то при отсутствии L-цистеина в суспензии теней эритроцитов их индекс удлинения (ИУтЭ) был равен $1,76 \pm 0,03$ отн. ед. Тогда как после инкубации с L-цистеином индекс увеличился до $1,94 \pm 0,04$ отн. ед. Прирост составил 10% и был статистически достоверным ($p < 0,01$; Рис. 23). Сходная картина микрореологических ответов была и на действие NaHS (8%, Табл. 6). Тогда как на комбинацию двух соединений «NaHS+L-Ц» микрореологические ответы эритроцитов и их теней были более выраженными (Табл. 6), разница составила 12%.

Таблица 6. Показатели микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней при инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), L-цистеином (L-Ц) и при совместном действии препаратов «NaHS+L-Ц» у здоровых лиц ($M \pm \sigma$, $n=48$)

Показатели	Контроль	NaHS	L-Ц	NaHS+L-Ц
ИУЭ, отн. ед.	$2,01 \pm 0,05$	$2,15 \pm 0,06^{**}$	$2,13 \pm 0,04^{**}$	$2,23 \pm 0,06^{**}$
ИУтЭ, отн. ед.	$1,76 \pm 0,03$	$1,90 \pm 0,04^{**}$	$1,94 \pm 0,04^{**}$	$1,97 \pm 0,05^{**}$
ПАЭ, отн. ед.	$9,72 \pm 0,84$	$6,71 \pm 0,78^{*}$	$6,51 \pm 0,72^{*}$	$5,24 \pm 0,69^{**}$

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * – различия с «контролем» достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

ПАЭ во всех опытах данной серии был достоверно снижен, по сравнению с контролем в пределах 31–46% ($p < 0,01$), наибольшее снижение наблюдалось при одновременном воздействии обоих препаратов. ПАЭ был ниже по сравнению с контролем при инкубации с NaHS (31%), с L-Ц (33%), совместное действие компонентов снизило данный показатель на 46% ($p < 0,01$).

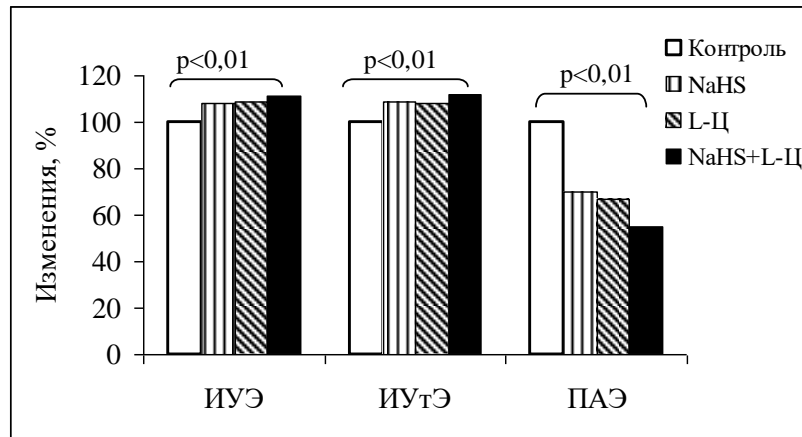


Рисунок 23 – Изменение деформируемости эритроцитов и их восстановленных теней под влиянием донора H_2S (NaHS), L-цистеина (500 мкМ) и их сочетания (NaHS+ L-Ц) у здоровых лиц.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения интактных эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Таким образом, доноры газотрансмиттеров (NO и H_2S), такие как нитропруссид натрия и гидросульфид натрия, а также субстраты их синтеза L-аргинин и L-цистеин, положительно влияют на микрореологические характеристики эритроцитов и их восстановленные тени. Они статистически достоверно повышали деформируемость на 6–13% ($p<0,01$) и снижали более, чем на 30% ($p<0,05$) агрегацию эритроцитов. Эффект был более выраженным при совместном применении указанных выше соединений.

3.1.2 Анализ изменений параметров гемореологического профиля у лиц с артериальной гипертензией и их коррекция донорами газотрансмиттеров и субстратами их синтеза

3.1.2.1 Различия показателей кровообращения между группами АГ и группой 1 (группа контроля)

Как видно из данных, приведенных в таблице 7, показатели кардио- и гемодинамики достоверно отличаются от таковых здоровых лиц.

Таблица 7. Различия показателей кровообращения между группами здоровых лиц (группа 1) и лиц с артериальной гипертонией (группа 2, $M \pm \sigma$)

Показатели	Группа 1 (n=48)	Группа 2 (n=40)
ЧСС, уд/мин	68,40±7,62	91,92±6,99**
САД, мм рт.ст.	122,60±7,58	144,58±8,03**
ДАД, мм рт.ст.	75,10±6,84	90,58±6,08*
АДср., мм рт. ст.	90,93±6,84	109,58±7,05*
Масса тела, кг	70,40±6,14	73,30±9,55*
ИМТ, отн. ед.	22,40±1,83	25,90±4,98*
Белок, г/л	70,11±3,16	73,62±3,18**
Глюкоза, ммоль/л	4,49±0,58	5,54±1,08

Примечания: ЧСС – частота сердечных сокращений; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давления; АДср. – среднее артериальное давление; ИМТ – индекс массы тела; * – различия с «контролем» достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

Так, например, средняя ЧСС была на 34% ($p < 0,01$) выше в группе АГ, чем в контроле. Более высокими были и величины артериального давления. САД и ДАД на 18–21% ($p < 0,01$), превышающие таковые, зарегистрированные в группе контроля, то есть у здоровых лиц. В тех же пределах была разница и среднего АД. Масса тела и индекс массы тела также были выше в группе АД на 16% и 4% соответственно ($p < 0,01$).

3.1.2.2 Различия показателей гемореологического профиля лиц группы АГ и группы контроля

Показатели гемореологического профиля лиц с АГ существенно и статистически достоверно отличались от данных группы 1 (Табл. 8) Это, прежде всего, касалось макрореологических характеристик крови. Так ее вязкость при высоких скоростях сдвига была на 30% ($p < 0,01$) выше, чем у здоровых лиц, а

вязкость крови, измеренная при низких скоростях сдвига, оказалась в группе АГ на 41% больше, чем в контроле (Табл. 8, $p<0,01$).

Сравнение вязкости плазмы (ВП) в двух группах показало, что эта реологическая характеристика была на 25% ($p<0,01$) больше в группе АГ.

Кроме того, наличие заметной положительной корреляции между BK_1 и ВП, при коэффициенте корреляции 0,60 ($p<0,05$), в группе АГ (в контроле – только 0,36), может указывать на одну из существенных причин увеличения вязкости цельной крови, наблюдающейся у лиц с АГ.

Таблица 8. Различия макрореологических характеристик гемореологических профилей у здоровых лиц (группа 1) и лиц с артериальной гипертензией (группа 2, $M\pm\sigma$)

Показатели	Группа 1 (n=48)	Группа 2 (n=40)
BK_1 , мПа·с	$5,58\pm 0,35$	$7,28\pm 0,83^{**}$
BK_2 , мПа·с	$19,80\pm 4,72$	$27,90\pm 3,05^{**}$
ВП, мПа·с	$2,02\pm 0,13$	$2,53\pm 0,16^{**}$
Нсг, %	$44,25\pm 1,48$	$41,0\pm 2,12^{**}$
Нсг/ BK_1 , отн. ед.	$7,93\pm 0,14$	$5,88\pm 0,49^{**}$
k , отн. ед.	$7,62\pm 0,82$	$12,40\pm 1,23^{**}$
n , отн. ед.	$0,94\pm 0,03$	$1,02\pm 0,04^*$
BKo , мПа·с	$2,42\pm 0,28$	$2,50\pm 0,34$

Примечания: BK_1 – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma>100\text{ с}^{-1}$); BK_2 – вязкость крови при низких скоростях сдвига ($\gamma<20\text{ с}^{-1}$); ВП – вязкость плазмы; Нсг – гематокрит; Нсг/ BK_1 – индекс эффективности транспорта кровью кислорода; k и n – показатели степени неньютоновости крови; BKo – относительная вязкость крови (вязкость крови/вязкость плазмы); * – различия с «контролем» достоверны при $p<0,05$; ** – при $p<0,01$.

Если убрать этот фактор (ВП, в обеих группах) путем расчета относительной вязкости крови (BKo), то разница между сравниваемыми группами составляет

всего 3% (Табл. 8). Это свидетельствует о существенном вкладе вязкости плазмы в текучесть цельной крови. Что касается второй важной макрореологической характеристики крови, ее гематокрита, то его величина была ниже в группе АГ. Разница между группами составила 7% и была статистически достоверной (Табл. 8). Слабая положительная корреляция между BK_1 и Hct ($r = 0,36$, $p > 0,01$) указывала на небольшой вклад гематокрита в вязкость цельной крови у лиц группы АГ. Однако из-за преимущественного увеличения вязкости крови и плазмы показатель эффективности транспорта кровью кислорода (отношение Hct/BK_1) в группе АГ оказался на 26% меньше, чем в группе контроля (Табл. 8, $p < 0,01$).

Здесь необходимо заметить, что кровь относится к неньютоновским жидкостям (Abbasian et al., 2020; Kandangwa et al., 2022; Wajihah, Sankar, 2023 et al., 2023) и поэтому ее вязкость, а следовательно, и транспортные возможности, зависят от сдвиговых условий, например, при изменении приложенного напряжения сдвига к крови (Рис. 24). Характеристиками неньютоновского поведения крови являются: 1) индекс консистенции « k » и 2) показатель степени « n » в уравнении течения крови, как неньютоновской жидкости степенного закона (Уилкинсон, 1964). Эти характеристики можно получить при графическом представлении кривой течения, как это показано на рисунке 24. Полученное уравнение регрессии степенной функции с большой точностью, более 95%, описывает неньютоновский характер вязкого течения крови. При этом известно, что уменьшение степени неньютоновости сочетается с приростом транспортной эффективности крови (Stoltz et al., 1991).

Коэффициент консистенции (k) и индекс эффективности O_2 -транспорта заметно и отрицательно коррелировали ($r = -0,69$, $p < 0,01$). Следовательно, повышение неньютоновости крови у лиц группы АГ сопровождается снижением ее транспортного потенциала.

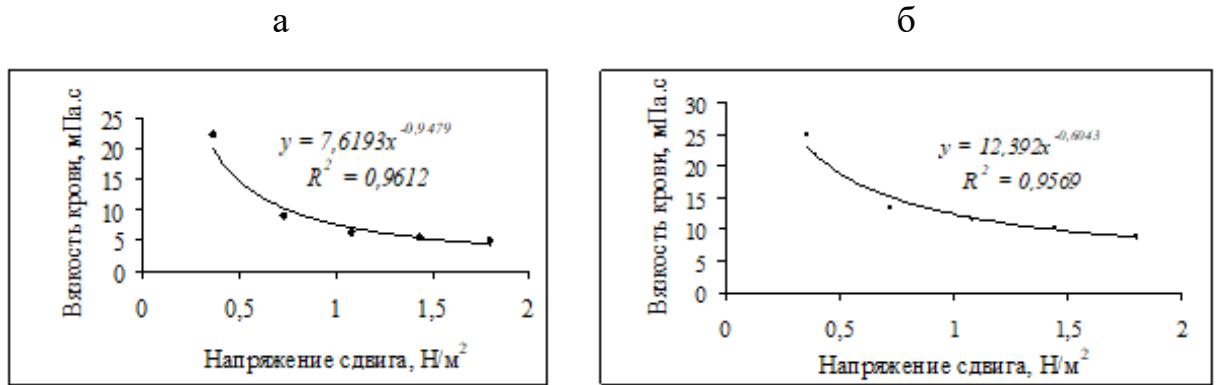


Рисунок 24 – Моделирование течения крови как неньютоновской жидкости степенного закона в двух группах наблюдений (MS Excel, точечная диаграмма).
 Обозначения: а – группа контроля; б – артериальная гипертензия (АГ);
 R^2 – величина достоверности аппроксимации экспериментальных данных этой моделью (уравнением жидкости степенного закона, У. Уилкинсон, 1964).

Корреляционный анализ показал, что у лиц рассматриваемой группы между величинами АД, массы тела и гемореологическими характеристиками был найден ряд достоверных корреляций, показатели которых, сгруппированы в таблице 9.

Способность изменять свою форму позволяет эритроцитам быстро адаптироваться к геометрии микрососудистого русла и условиям гемодинамики. В наших опытах было установлено, что у лиц с АГ комплекс характеристик деформируемости эритроцитов был негативно изменен (Табл. 10). Так индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) был меньше на 10% ($<0,01$), чем у здоровых лиц. При этом вязкость суспензии и индекс ригидности эритроцитов были на 11 и 18% ($p < 0,05$), соответственно большими в группе АГ (Табл. 10).

Опыты с тенями свидетельствовали о том, что наиболее вероятной причиной сниженной деформируемости эритроцитов у лиц с АГ является ухудшение мембранной эластичности. Форма клеток и вязкость внутриклеточной жидкости (раствор Рингера с декстраном 130, вязкость – 1,30 мПа·с) были постоянной, заданной величиной. Средняя концентрация гемоглобина (МСНС) в интактных клетках достоверно не различались в группах контроля и АГ (Табл. 10). Важно

напомнить, что МСНС является вполне надежным показателем цитоплазматической вязкости эритроцитов (Nash, Meiselman, 1991).

Таблица 9. Корреляции между гемореологическими характеристиками и между вязкостью крови и показателями АД и массы тела у лиц группы АГ (n=40)

Корреляции	Коэффициенты корреляций	P
ВК ₁ – масса тела	0,43	<0,01
ВК ₁ – ИМТ	0,50	<0,01
ВК ₁ – ДАД	0,41	<0,01
ВК ₁ – АДср.	0,36	<0,01
ВК ₁ – Hct	0,39	-
ВК ₁ – ВП	0,50	<0,01
ВК ₁ – ВС	0,40	<0,01
ВК ₁ – ИУЭ	– 0,55	<0,01
Hct/ВК ₁ – k	– 0,69	<0,05
Hct/ВК ₁ – ИУЭ	0,46	<0,01
k – Hct	0,74	<0,01
k – ИУЭ	– 0,52	<0,01

Примечания: ВК₁ – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma > 100 \text{ c}^{-1}$); ИМТ – индекс массы тела; ДАД – диастолическое артериальное давление; АДср – среднее артериальное давление; Hct – гематокрит; ВП – вязкость плазмы; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; Hct/ВК₁ – индекс эффективности транспорта кровью кислорода; k – показатель степени неньютоновости крови.

При сравнении деформируемости восстановленных теней эритроцитов было установлено, что у лиц группы АГ она была достоверно меньшей, чем в группе контроля, разница составила 10% ($p<0,01$).

Таблица 10. Различия микрореологических характеристик гемореологических профилей у здоровых лиц (группа 1) и лиц с артериальной гипертонией (группа 2, $M\pm\sigma$)

Показатели	Группа 1 (n=48)	Группа 2 (n=40)
ИУЭ, отн. ед.	2,04±0,05	1,84±0,5**
ИУтЭ, отн. ед.	1,85±0,04	1,72±0,05**
ПАЭ, отн. ед.	8,04±2,26	10,80±2,20**
ВС, мПа·с	3,82±0,23	4,26±0,27*
МСНС, г/дл	33,27±2,39	34,90±1,61
Тккус. отн. ед.	0,88±0,04	1,04±0,03*

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; МСНС – средняя концентрация гемоглобина в эритроците; Тккус – индекс ригидности эритроцитов; * – различия с «контролем» достоверны при $p<0,05$; ** – при $p<0,01$.

Другая микрореологическая характеристика, агрегация эритроцитов, была достоверно выше, на 34% ($p<0,01$) у лиц группы АГ, чем в контроле (Табл. 10, Рис. 25).

Таким образом, анализ всего комплекса реологических показателей крови позволяет представить их, как типичный *гемореологический профиль*, характерный для лиц с повышенным артериальным давлением (Рис 26).

а

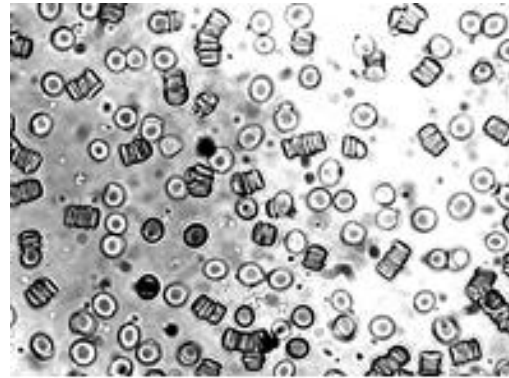
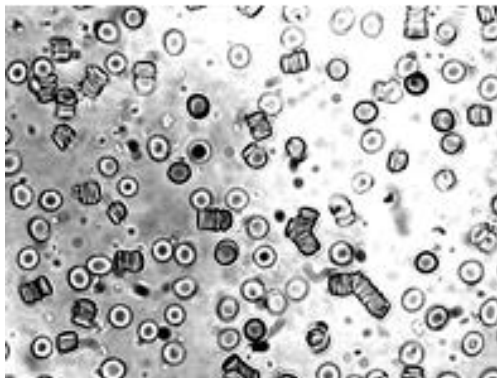


Рисунок 25 – Степень агрегируемости эритроцитов в стандартной среде, содержащей раствор Рингера с добавлением декстрана 130 в соотношении 7 : 3 по объему: а – группа контроля (здоровые лица); б – группа АГ .

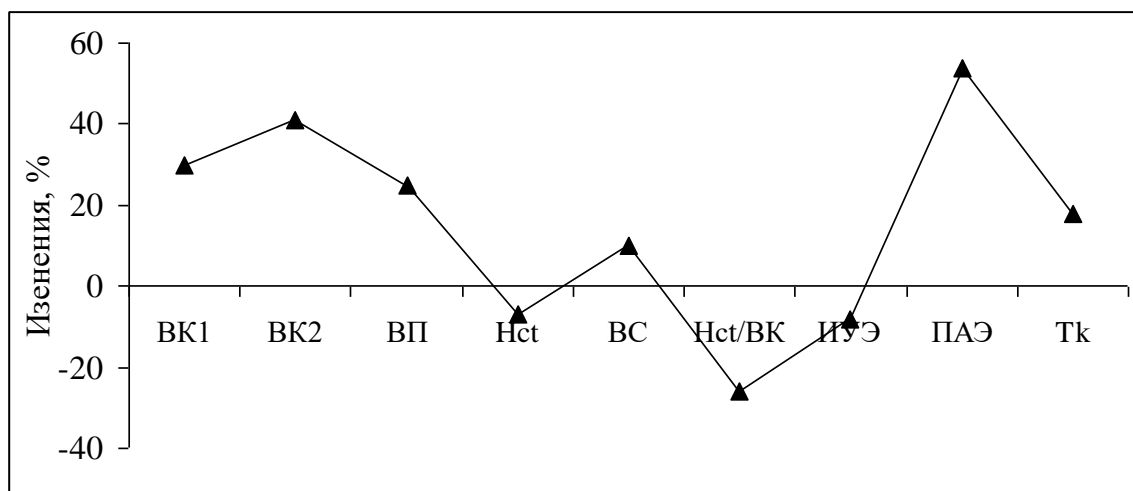


Рисунок 26 – Параметры гемореологического профиля у лиц с артериальной гипертонией.

Обозначения: ВК₁ – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma > 100 \text{ с}^{-1}$); ВК₂ – вязкость крови при низких скоростях сдвига ($\gamma < 20 \text{ с}^{-1}$); ВП – вязкость плазмы; Нст – гематокрит; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; Нст/ВК₁ – индекс эффективности транспорта кислорода кровью; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; Тк – индекс ригидности эритроцитов.

Необходимо напомнить, что интегральный показатель реологии крови – это ее вязкость, а величина ей обратная – текучесть крови. Транспортная эффективность крови (показатель Hct/BK_1) как раз зависит от ее текучести (Stoltz et al., 1991). При этом Hct/BK_1 достоверно коррелировал с основным показателем деформируемости эритроцитов, ИУЭ с коэффициентом 0,46 ($p < 0,01$).

Анализ данных гемореологического профиля лиц с повышенным артериальным давлением показал, что интегральный параметр – вязкость цельной крови более чем на 30% превышал таковой в группе здоровых лиц.

Все четыре основные гемореологические характеристики заметно коррелировали с вязкостью крови:

$BK_1 - Hct, r = 0,39;$

$BK_1 - ВП, r = 0,50 (p < 0,01);$

$BK_1 - ПАЭ, r = 0,32 (p < 0,05);$

$BK_1 - ИУЭ, r = - 0,55 (p < 0,01).$

Корреляции гематокрита и вязкости плазмы с BK демонстрируют влияние этих макрореологических факторов на общую текучесть крови. Расчет коэффициентов детерминации показал, что в среднем на долю этих двух факторов, существенно влияющих на текучесть крови, может приходиться около 40%. При этом, вклад микрореологических характеристик в текучесть цельной крови, тоже может быть в среднем около 40%. Таким образом, макро- и микрореологические характеристики вносят равный вклад в текучесть цельной крови и в такой же степени могут влиять на ее транспортный потенциал. Следует обратить внимание на то, что самая выраженная корреляция вязкости крови была с деформируемостью эритроцитов ($r = - 0,55, p < 0,01$).

Таким образом, можно заключить, что текучесть цельной крови и ее кислородтранспортный потенциал, при артериальной гипертонии, был снижен. Это сочеталось с уменьшением текучести суспензий эритроцитов и их деформируемости. Эти микрореологические характеристики достоверно коррелировали как с текучестью цельной крови, так и с показателем реологической эффективности транспорта кислорода кровью (Hct/BK_1).

Полученные данные исследования ставят вопрос о возможности восстановления деформируемости эритроцитов и, в какой-то мере и текучести крови, путем воздействия на клетки биологически активными соединениями и, в том числе, газовыми медиаторами: оксидом азота и сероводородом (Муравьев с соавт., 2022; Uyuklu et al., 2009; Mozar et al., 2016).

3.1.2.3 Микрореологические ответы эритроцитов лиц с артериальной гипертензией (АГ) на доноры газотрансмиттеров и субстраты их синтеза

Было установлено, что после инкубации эритроцитов больных АГ с NaHS, ИУЭ возрастал на 9% ($p<0,01$) с $1,88\pm0,06$ до $2,05\pm0,04$ отн. ед. Почти на такую же величину повышался этот показатель под влиянием донора НПН (8%, $p<0,01$). Достоверно большим был прирост ДЭ при одновременном применении двух доноров ГТ (НПН + NaHS), который составил 11% (Рис. 27).

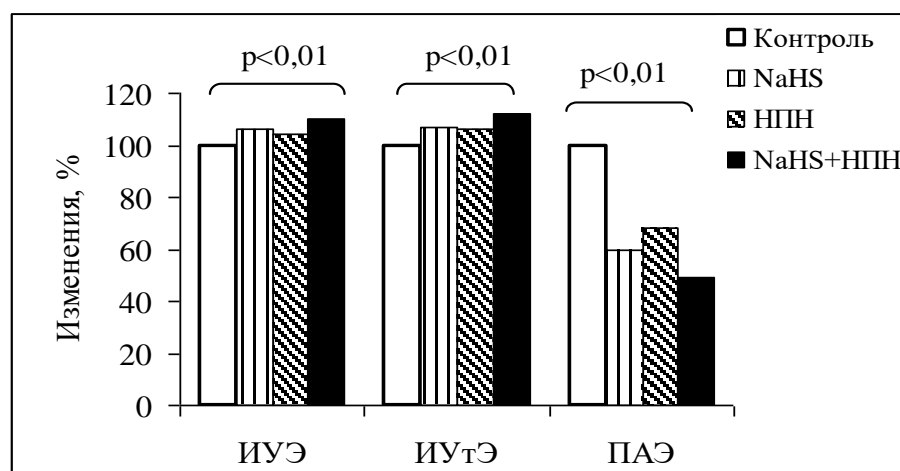


Рисунок 27 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS), с нитропруссидом натрия (НПН), а также при их совместном применении (NaHS+НПН) в группе АГ.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Тени эритроцитов с замененной цитоплазмой на раствор Рингера+декстран-130, как и интактные клетки, повышали деформируемость в ответ на действие

NaHS и на НПН на 9 и 8%, соответственно, ($p<0,01$). Два донора вместе вызвали больший деформационный ответ и клеток, и их теней, который составил 11-12% (Табл. 11).

Оба донора ГТ отдельно снижали агрегацию эритроцитов. Так, например, NaHS вызывал уменьшение ПАЭ на 39% по сравнению с ее величиной у эритроцитов при инкубации без донора ГТ (Табл. 11, $p<0,01$). Тогда как НПН вызывал меньшее снижение этой характеристики, 32%. Однако совместное действие двух доноров ГТ уменьшало агрегацию эритроцитов на 51% ($p<0,01$).

Таблица 11. Микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней у лиц с АГ при инкубации клеток с донорами газотрансмиттеров: нитропруссидом натрия (НПН), гидросульфидом натрия (NaHS) и при совместном применении препаратов (NaHS+НПН) ($M\pm\sigma$, $n=40$)

Показатели	Контроль	NaHS	НПН	NaHS+НПН
ИУЭ, отн. ед.	1,88±0,06	2,05±0,04**	2,03±0,06**	2,09±0,08**
ИУтЭ, отн. ед.	1,80±0,06	1,96±0,06**	1,95±0,07**	2,01±0,08**
ПАЭ, отн. ед.	11,22±2,14	6,89±1,22**	7,63±1,03**	5,54±1,19**

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия с контролем достоверны при $p<0,05$; ** различия с контролем достоверны при $p<0,01$.

Субстрат для эндогенного синтеза NO и стимулятор активности NOS, L-аргинин достоверно повышал ДЭ в группе лиц с АГ. При этом прирост ИУЭ составил 9% ($p<0,01$, Табл. 12). Также наблюдали увеличение деформируемости теней эритроцитов. Их эластичность оказалась на 11% больше после инкубации с L-аргинином. В сочетании с донором сероводорода прирост ИУтЭ составил 14%, что достоверно больше, чем после отдельно взятых NaHS и L-аргинин (Табл. 12).

Таблица 12. Микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней у лиц группы АГ при инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), L-аргинином (L-A) и при совместном применении препаратов (NaHS+L-A) ($M \pm \sigma$, $n=40$)

Показатели	Контроль	NaHS	L-A	NaHS+ L-A
ИУЭ, отн. ед.	$1,87 \pm 0,05$	$2,00 \pm 0,07^{**}$	$2,03 \pm 0,05^{**}$	$2,07 \pm 0,06^*$
ИУТЭ, отн. ед.	$1,74 \pm 0,05$	$1,89 \pm 0,06^*$	$1,94 \pm 0,07^{**}$	$1,98 \pm 0,06^*$
ПАЭ, отн. ед.	$11,08 \pm 2,60$	$7,72 \pm 1,44^*$	$7,20 \pm 1,38^*$	$5,96 \pm 1,34^*$

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУТЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

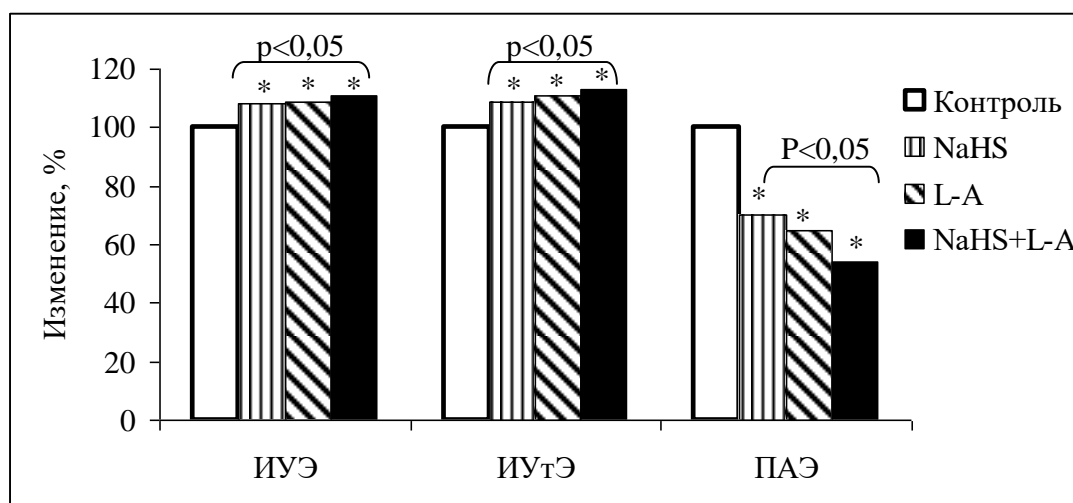


Рисунок 28 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS) и стимулятором NOS, L-аргинином (L-A) у лиц с артериальной гипертензией.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУТЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * – различия с контролем достоверны при $p < 0,05$.

Действие отдельных соединений (NaHS и L-аргинина) привело к выраженному снижению агрегации эритроцитов на 30 и 35%, соответственно. При

этом прединкубация эритроцитов с L-аргинина (L-A), с последующим добавлением NaHS способствовала большему снижению ПАЭ (на 46%, $p<0,05$; Рис. 28).

Субстрат для эндогенного синтеза H_2S , L-цистеин статистически достоверно повышал деформируемость эритроцитов и их восстановленных теней на 9 и 10% ($p<0,01$), соответственно (Табл. 13). Влияние L-цистеина на величину индекса удлинения эритроцитов и их восстановленных теней было количественно сопоставимо с эффектом NaHS (Табл. 13). Совместное действие препаратов привело к повышению ИУЭ на 14%. ($p<0,01$)

После инкубации эритроцитов с L-цистеином, наблюдали снижение их ПАЭ на 33% ($p<0,01$), что было немного более выражено, чем эффект NaHS (Табл. 13).

Таблица 13. Показатели микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней при инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), L-цистеином (L-Ц) и при совместном действии препаратов (NaHS+L-Ц) лиц группы АГ ($M\pm\sigma$, $n=40$)

Показатели	Контроль	NaHS	L-Ц	NaHS+ L-Ц
ИУЭ, отн. ед.	$1,85\pm 0,05$	$2,00\pm 0,06^{**}$	$2,02\pm 0,04^{**}$	$2,10\pm 0,07^{**}$
ИУтЭ, отн. ед.	$1,74\pm 0,04$	$1,89\pm 0,05^{*}$	$1,91\pm 0,04^{**}$	$1,97\pm 0,05^{**}$
ПАЭ, отн. ед.	$10,94\pm 1,24$	$7,52\pm 1,36^{*}$	$7,33\pm 1,32^{**}$	$5,24\pm 0,82^{**}$

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * – различия с «контролем» достоверны при $p<0,05$; ** – при $p<0,01$.

Вместе с тем, совместное действие двух соединений (NaHS+ L-Ц) дало в результате уменьшение агрегации эритроцитов на 51% ($p<0,01$), что существенно больше, чем отдельные агрегатоснижающие эффекты NaHS и L-цистеина (Рис. 29).

Можно заключить, что применение L-цистеина восстанавливает патологически измененную деформируемость и агрегацию эритроцитов лиц с АГ. Кроме того, микрореологический эффект L-цистеина хорошо сочетается (cross-talk) с действием на микромеханику эритроцитов донора сульфида водорода.

Их совместный эффект был достоверно большим, чем действие отдельных соединений.

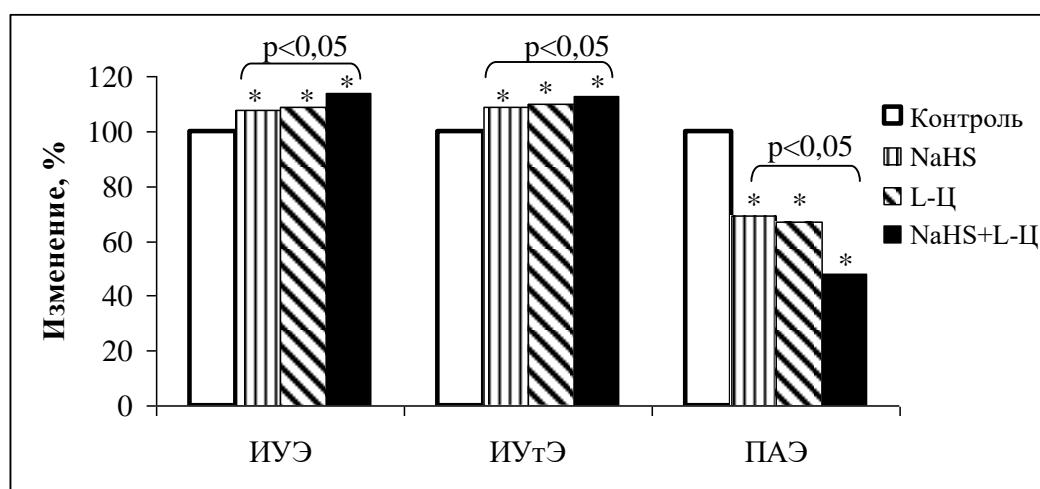


Рисунок 29 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS) и субстратом синтеза H_2S , L-цистеином (L-Ц) у лиц с артериальной гипертензией.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * – различия с контролем достоверны при $p<0,05$.

Позитивное изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) можно использовать для проектирования вязкости цельной крови в формате *in silico* путем манипулирования предиктором, например, деформируемостью эритроцитов, которая возрастает, как показано на *in vitro* модели, на 8–14% под влиянием доноров ГТ. Для проектирования величины ВК получили регрессионную модель зависимости ВК (y) от изменений ИУЭ (x) как предиктора – независимого переменного параметра. Графическое представление регрессионной модели для этих двух гемореологических характеристик лиц с АГ представлено на рисунке 30.

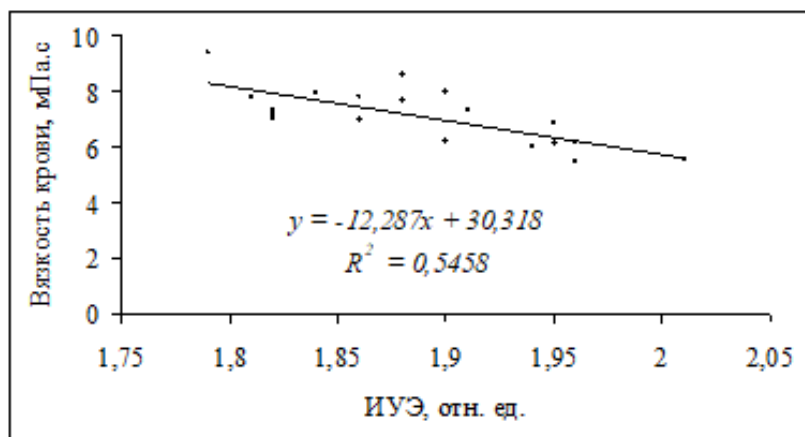


Рисунок 30 – Регрессионная модель зависимости вязкости крови от независимой переменной или предиктора – ИУЭ (индекса удлинения эритроцитов).

Было получено уравнение для проектирования *in silico* величины вязкости крови при манипулировании предиктором – ИУЭ (показателем деформируемости эритроцитов):

$$y = -12,29x + 30,32,$$

где y – вязкость крови; x – индекс удлинения эритроцитов.

Достоверность аппроксимации (R^2) экспериментальных данных, приведенной регрессионной моделью, составляет более 50% ($R^2 = 0,55$). Манипулирование деформируемостью эритроцитов, то есть подставление в полученное регрессионное уравнение повышенных величин ИУЭ донорами ГТ на 8 и 14% и последующее решение этого уравнения дало в результате прогнозируемое снижение вязкости крови на 23% (при повышенном ИУЭ на 8%) и на 37% (при повышенном ИУЭ на 14%). Как было показано выше, вязкость крови в группе лиц с АГ была на 30% больше, чем в контроле.

Таким образом, прогнозирование величины текучести крови на основе улучшения деформируемости эритроцитов показывает путь коррекции вязкости при управлении ДЭ с помощью лекарственных препаратов, обладающих положительным влиянием на микрореологию эритроцитов (Oonishi et al., 1997; Muravyov et al., 2002; Muravyov, Tikhomirova, 2013).

Таким образом, каждые в отдельности, доноры газотрансмиттеров и субстраты синтеза ГТ (L-аргинин и L-цистеин) оказывали достоверное положительное влияние на микрореологические свойства эритроцитов у лиц с артериальной гипертонией, особенно выраженно снижая агрегацию эритроцитов. При совместном применении двух доноров газотрансмиттеров или донора и субстрата их синтеза, было установлено, что микрореологические ответы эритроцитов и их теней были более выраженными. Выявленная достаточно высокая корреляция между вязкостью цельной крови и деформируемостью эритроцитов позволяет прогнозировать положительное изменение текучести крови при коррекции микрореологических характеристик эритроцитов, как предикторов позитивной коррекции вязкости крови.

3.1.3 Анализ изменений параметров гемореологического профиля у лиц с избыточной массой тела (ИзбМТ) и их коррекция донорами газотрансмиттеров и субстратами их синтеза

3.1.3.1 Показатели индекса массы тела и величины артериального давления у лиц группы ИзбМТ

Из-за большой массы тела у лиц группы ИзбМТ (Группа 3) индекс ИМТ был на 46% ($p < 0,01$) больше, чем в группе контроля (группа 1, Табл. 14). Масса тела в среднем на 32% ($p < 0,05$) превышала этот показатель лиц группы контроля. Разница составила в среднем 22,8 кг. Это также существенно больше, чем 2σ ($2\sigma = 13,0$ кг). Следовательно, можно полагать, что лица данной группы имеют статистически установленную повышенную массу тела. Важно дополнить, что у лиц этой группы ИМТ в большей степени и положительно коррелировал с массой тела ($r = 0,48$, $p < 0,05$), а не с его ростом ($r = -0,31$). Тогда как в группе контроля корреляции индекса массы тела с массой тела не установлено ($r = 0,03$). Однако имелась существенная взаимосвязь с длиной тела (рост стоя), подтвержденная отрицательной корреляцией ($r = -0,68$, $p < 0,01$).

Таблица 14. Различия массы тела и показателей системы кровообращения у лиц с избыточной массой тела (группа 3) и группой здоровых лиц (группа 1) ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа 1 (n=48)	Группа 3 (n=38)
Рост тела, м	1,77 \pm 0,10	1,69 \pm 0,07
Масса тела, кг	70,40 \pm 6,14	93,20 \pm 6,80*
ИМТ, отн. ед.	22,40 \pm 1,83	32,63 \pm 3,56**
ЧСС, уд/мин	68,40 \pm 7,62	84,23 \pm 6,82**
САД, мм рт. ст.	122,60 \pm 7,58	136,08 \pm 12,40**
ДАД, мм рт. ст.	75,10 \pm 6,84	84,23 \pm 8,42*
АД ср., мм рт. ст.	90,93 \pm 6,84	101,51 \pm 8,71*
Белок, г/л	70,11 \pm 3,16	74,82 \pm 2,78*
Глюкоза ммоль/л	4,49 \pm 0,58	6,35 \pm 0,77*

Примечания: ИМТ – индекс массы тела; ЧСС – частота сердечных сокращений; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; АД ср. – среднее артериальное давление; * – различия с «контролем» достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

Концентрация глюкозы в крови была повышена, и в среднем составляла 6,35 \pm 0,72 ммоль/л, что на 41% ($p < 0,05$) больше, чем в группе контроля (4,58 \pm 0,83 ммоль/л). Повышенная концентрация белка плазмы, на 7% ($p < 0,05$), могла сказаться на вязкости плазмы у лиц этой группы. Необходимо дополнить, что у лиц этой группы наблюдали и умеренный прирост артериального давления (Табл. 14). Как правило, в этом случае может наблюдаться положительная корреляция указанных выше показателей. Действительно, были выявлены корреляции средней силы САД и ИМТ ($r = 0,37$) и ДАД – ИМТ ($r = 0,39$, $p < 0,05$).

3.1.3.2 Характеристика гемореологического профиля у группы лиц с избыточной массой тела

У лиц группы ИзбМТ вязкость крови (BK_1) была достоверно выше, чем в контрольной группе. Разница составила 28% ($p<0,01$). Примерно на такую же величину различалась низкосдвиговая вязкость крови (BK_2), на 32% ($p<0,01$, Табл. 15).

Как было сказано выше, одним из основных факторов, влияющих на текучесть крови, является вязкость плазмы. В группе ИзбМТ она оказалась на 18% ($p<0,01$) больше, чем в контроле (Табл. 15).

Таблица 15. Различия макрореологических характеристик гемореологических профилей у здоровых лиц (группа 1) и лиц группы ИзбМТ (группа 3) ($M\pm\sigma$)

Показатели	Группа 1 (n=48)	Группа 3 (n=38)
BK_1 , мПа·с	$5,58\pm0,35$	$7,14\pm0,56^{**}$
BK_2 , мПа·с	$19,80\pm4,72$	$26,14\pm2,12^{**}$
ВП, мПа·с	$2,02\pm0,13$	$2,38\pm0,24^{**}$
Нст, %	$44,25\pm1,48$	$43,89\pm2,02$
Нст/ BK_1 , отн. ед.	$7,93\pm0,14$	$6,19\pm0,49^{**}$
k , отн. ед.	$7,62\pm0,82$	$10,61\pm0,88^{**}$
n , отн. ед.	$0,94\pm0,03$	$0,98\pm0,11^*$
BKo , мПа·с	$2,42\pm0,28$	$2,54\pm0,30$

Примечания: BK_1 – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma>100\text{ с}^{-1}$); BK_2 – вязкость крови при низких скоростях сдвига ($\gamma<20\text{ с}^{-1}$); ВП – вязкость плазмы; Нст – гематокрит; Нст/ BK_1 – индекс эффективности транспорта кровью кислорода; k и n – показатели степени неньютоновости крови; BKo – относительная вязкость крови; * – различия с «контролем» достоверны при $p<0,05$; ** – при $p<0,01$.

Анализ показал, что основные микрореологические характеристики эритроцитов лиц группы ИзбМТ отличались от таковых контрольной группы (Табл. 16).

Таблица 16. Различия микрореологических характеристик гемореологических профилей у здоровых лиц (группа 1) и лиц группы ИзбМТ (группа 3) ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа 1 (n=48)	Группа 3 (n=38)
ИУЭ, отн. ед.	2,04±0,05	1,86±0,5**
ИУтЭ, отн. ед.	1,85±0,04	1,72±0,04**
ПАЭ, отн. ед.	8,04±2,26	10,37±1,68**
ВС, мПа·с	3,82±0,23	4,21±0,25*
МСНС, г/дл	33,27±2,39	33,28±1,69
Тксус. отн. ед.	0,88±0,04	1,06±0,03*

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов, как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; МСНС – средняя концентрация гемоглобина в эритроците; Тксус – индекс ригидности эритроцитов; * – различия с «контролем» достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

Важно заметить, что ИУЭ был на 9% меньше ($p < 0,01$), чем в контроле (Табл. 16). Также были менее деформируемы и тени эритроцитов. ИУтЭ оказался на 7% ($p < 0,01$) меньше, чем у здоровых лиц. Это сочеталось с большей вязкостью суспензии эритроцитов, которая вместе с индексом Тк, были на 10 и 17%, соответственно больше, чем в контроле (Табл. 16, $p < 0,05$).

Снижение деформируемости эритроцитов у лиц группы ИзбМТ более заметно сказывалось на текучести цельной крови и тем самым на ее транспортном потенциале, который был на 22% меньше, чем в контрольной группе (Табл. 16). О

вероятном влиянии на текучесть крови деформируемости эритроцитов указывало наличие корреляции между низкосдвиговой вязкостью (BK_2) и BC ($r = 0,60$, $p < 0,01$), а также Tk и BK_2 ($r = 0,44$, $p < 0,05$) у лиц группы ИзбМТ. Тогда как в контрольной группе эти связи были менее заметными. Различия в комплексе реологических характеристик крови и микрореологии эритроцитов лиц группы ИзбМТ и контроля представлены в виде характерного *гемореологического профиля* (Stoltz et al., 1991, Муравьев, Чепоров, 2009) на рисунке 31.

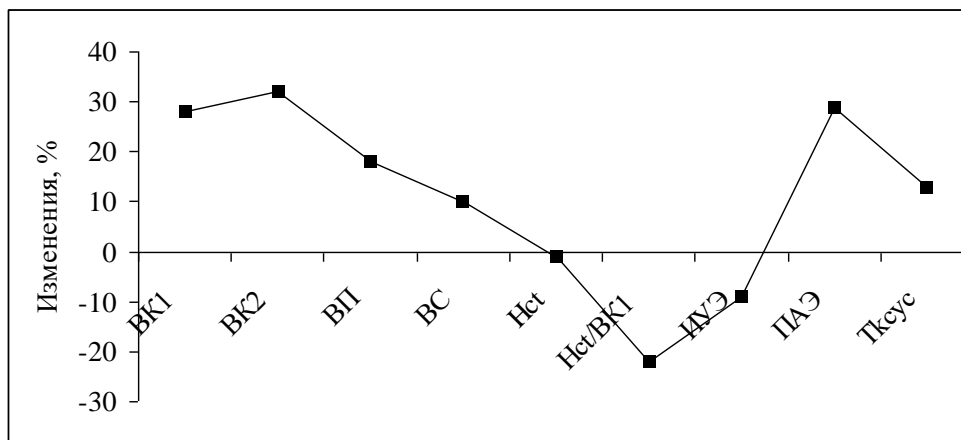


Рисунок 31 – Параметры гемореологического профиля у лиц группы ИзбМТ.

Обозначения: BK_1 – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma > 100 \text{ с}^{-1}$); BK_2 – вязкость крови при низких скоростях сдвига ($\gamma < 20 \text{ с}^{-1}$); BP – вязкость плазмы; BC – вязкость суспензии эритроцитов; Hct – гематокрит; Hct/BK_1 – индекс эффективности транспорта кровью кислорода; $ИУЭ$ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; $ПАЭ$ – показатель агрегации эритроцитов; $Tk_{исус}$ – индекс ригидности эритроцитов.

Анализ комплекса реологических характеристик цельной крови и микрореологии эритроцитов показал, что на транспортные возможности крови существенно влияют ее неньютоновские свойства. Как было сказано выше, из уравнения вязкого течения крови следует, что показателями этого типа течения (неньютоновского) являются индекс консистенции k и показатель степени n ($y = kx^{-n}$) (Рис. 32).

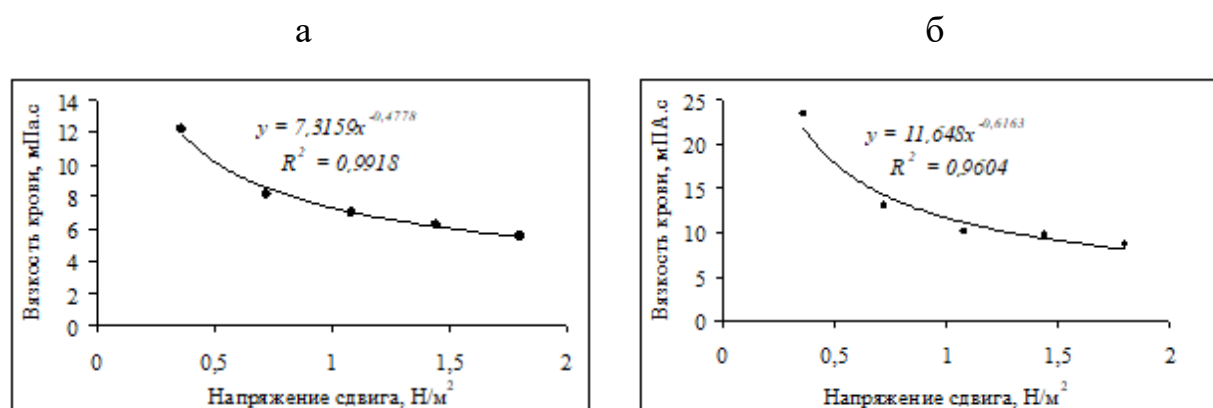


Рисунок 32 – Моделирование течения крови как неньютоновской жидкости степенного закона в двух группах наблюдений (MS Excel, точечная диаграмма).
 Обозначения: а – группа 1; б – группа ИзбМТ; R^2 – величина достоверности аппроксимации экспериментальных данных этой моделью (уравнением жидкости степенного закона, Уилкинсон, 1964).

Они выраженно и отрицательно коррелировали с показателем транспортной эффективности крови (отношение Hct/BK_1) и более существенно с индексом консистенции (k). Коэффициент корреляции составил 0,65 ($p < 0,01$, Табл. 17).

Следовательно, подтверждается то, что с повышением степени неньютоновости крови, ее транспортный потенциал снижается (Stoltz et al., 1991). Кроме того, особо необходимо подчеркнуть, что показатель эффективности транспорта заметно коррелировал с деформируемостью эритроцитов: (Hct/BK_1 – ИУЭ; $r = 0,43$, $p < 0,05$) и (Hct/BK_1 – ВС; $r = -0,56$, $p < 0,05$). Это демонстрирует существенную роль микромеханики эритроцитов в тканевой перфузии (Van Cromvoirt et al., 2021).

Макро- и микрореологические характеристики крови и эритроцитов заметно коррелировали с вязкостью цельной крови:

- BK_1 – Hct , $r = 0,49$ ($p < 0,05$);
- BK_1 – $ВП$, $r = 0,51$ ($p < 0,01$);
- BK_1 – $ПАЭ$, $r = 0,24$; ($p < 0,01$);
- BK_1 – $ИУЭ$, $r = -0,50$ ($p < 0,01$).

Таблица 17. Корреляции между гемореологическими характеристиками и между вязкостью крови и показателями АД и массы тела у лиц группы ИзбМТ (n=38)

Корреляции	Коэффициенты корреляций	p
ВК ₁ – масса тела	0,43	<0,01
ВК ₁ – ИМТ	0,50	<0,01
ВК ₁ – ДАД	0,41	<0,01
ВК ₁ – АДср.	0,36	<0,01
ВК ₁ – Нсг	0,49	<0,01
ВК ₁ – ВП	0,51	<0,01
ВК ₁ – ИУЭ	– 0,59	<0,01
ВК ₁ – ПАЭ	0,24	–
ВК ₂ – ВС	0,60	<0,01
ВК ₂ – Тк	0,44	<0,01
Нсг/ВК ₁ – k	– 0,65	<0,05
Нсг/ВК ₁ – ИУЭ	0,43	<0,01
Нсг/ВК ₁ – ВС	– 0,56	<0,01
k – ИУЭ	– 0,52	<0,01

Примечания: ВК₁ – вязкость крови при высоких скоростях сдвига ($\gamma > 100$ с⁻¹); ИМТ – индекс массы тела; ДАД – диастолическое артериальное давление; АДср – среднее артериальное давление; Нсг – гематокрит; ВП – вязкость плазмы; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; Нсг/ВК₁ – индекс эффективности транспорта кровью кислорода; k – показатель степени неньютоновости крови.

Три реологические характеристики (Нсг, ВП и ИУЭ) вносят примерно одинаковый вклад в величину вязкости крови (соответственно и в ее текучесть).

Расчет коэффициента детерминации дает возможность количественно оценить вклад этих характеристик, который составил в среднем 24–26%. Заметно меньше влияет на текучесть крови агрегация эритроцитов (6%). Однако следует обратить особое внимание на микрореологические характеристики эритроцитов. Они могут регуляторно изменяться под влиянием сигнальных молекул, что может привести к повышению текучести крови и эффективности O_2 -транспорта (Lew, Tiffert, 2017; Kobayashi et al., 2022).

3.1.3.3 Микрореологические ответы эритроцитов лиц группы с избыточной массой тела (ИзбМТ) на доноры газотрансммиттеров и субстраты их эндогенного синтеза

Гидросульфид натрия, как донор H_2S , у лиц этой группы повышал ДЭ на 6% ($p<0,01$), а НПН только на 4% ($p<0,05$). Однако совместный эффект двух доноров ГТ ($NaHS$ +НПН) был более выраженным, сходным с эффектом в двух других группах наблюдений и составил 10% ($p<0,01$). Примерно на такие же величины повышалась деформируемость восстановленных теней эритроцитов под влиянием доноров ГТ (Табл. 18). У лиц данной группы снижение агрегации эритроцитов под влиянием $NaHS$ и НПН составили 24 и 15%, соответственно (Табл. 18). Хотя совместное действие двух доноров на эритроциты сопровождалось уменьшением ПАЭ на 30% ($p<0,01$), что существенно больше, чем отдельное действие данных доноров ГТ.

При инкубации эритроцитов с L-аргинином у лиц с ИзбМТ их микрореологический ответ был сходен с тем, что зарегистрирован в двух других группах испытуемых. Деформируемость эритроцитов и их теней типично повышалась и снижалась агрегация (Рис. 33).

Таблица 18. Микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней у лиц с избыточной массой тела при инкубации клеток с донорами газотрансмиттеров: нитропруссидом натрия (НПН), гидросульфидом натрия (NaHS) и при совместном применении препаратов (NaHS+НПН) ($M \pm \sigma$, $n=38$)

Показатели	Контроль	NaHS	НПН	NaHS+НПН
ИУЭ, отн. ед.	$1,87 \pm 0,02$	$1,98 \pm 0,03^{**}$	$1,94 \pm 0,04^{**}$	$2,05 \pm 0,05^{**}$
ИУтЭ, отн. ед.	$1,78 \pm 0,04$	$1,87 \pm 0,04^*$	$1,85 \pm 0,03^{**}$	$1,96 \pm 0,06^{**}$
ПАЭ, отн. ед.	$12,96 \pm 3,24$	$9,89 \pm 2,02^*$	$10,96 \pm 1,62^*$	$9,14 \pm 1,09^*$

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ** при $p < 0,01$.

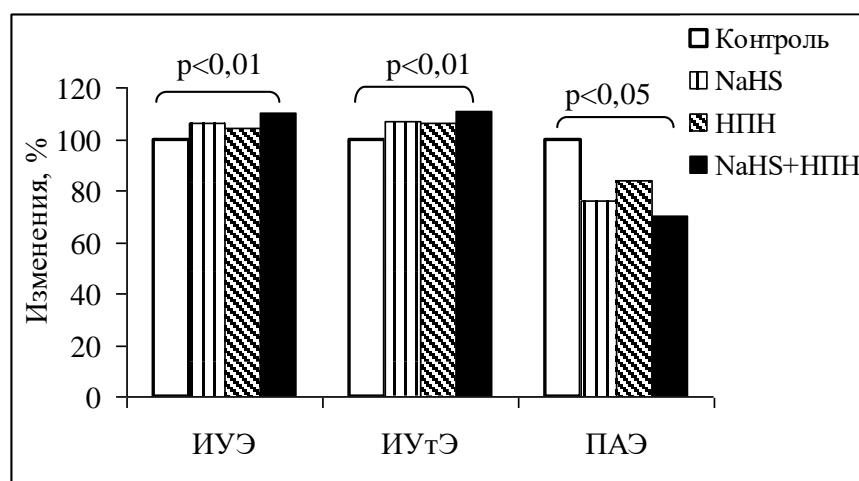


Рисунок 33 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донорами H_2S и NO гидросульфидом натрия (NaHS) и нитропруссидом натрия (НПН), а также при их совместном применении (NaHS+НПН) в группе лиц с ИзбМТ.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Вновь наблюдали, что совместное действие двух соединений: донора сероводорода (NaHS) и стимулятора NOS L-аргинина давало больший

микрореологический ответ эритроцитов, чем их применение по отдельности. Так ИУЭ был достоверно большим, и его увеличение достигло 11% (Табл. 19).

Таблица 19. Микрореологические ответы эритроцитов и их восстановленных теней у лиц группы с ИзбМТ при инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), L-аргинином (L-A) и при совместном применении препаратов (NaHS+L-A) ($M \pm \sigma$, n=38)

Показатели	Контроль	NaHS	L-A	NaHS+ L-A
ИУЭ, отн. ед.	1,86 \pm 0,05	1,97 \pm 0,04**	1,99 \pm 0,05**	2,06 \pm 0,04*
ИУтЭ, отн. ед.	1,79 \pm 0,04	1,93 \pm 0,05*	1,92 \pm 0,07**	2,01 \pm 0,04*
ПАЭ, отн. ед.	13,84 \pm 2,08	8,44 \pm 2,01*	9,05 \pm 1,58*	7,08 \pm 1,64*

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ** при – $p < 0,01$.

На 12% повышался показатель деформируемости восстановленных теней эритроцитов. Это было достоверно ($p < 0,05$) больше, чем действие отдельно взятых NaHS и L-A. Сходные, но более выраженные изменения ПАЭ, были выявлены в этих экспериментальных условиях (Рис. 34). Он был достоверно снижен на 40-50% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

Как видно из данных таблицы 20, инкубация эритроцитов с L-цистеином сопровождалась увеличением деформируемости на 8% ($p < 0,01$), что немного больше, чем действие NaHS. Совместное действие донора H_2S и субстрата синтеза были достоверно эффективнее и повышали ИУЭ на 11% ($p < 0,01$).

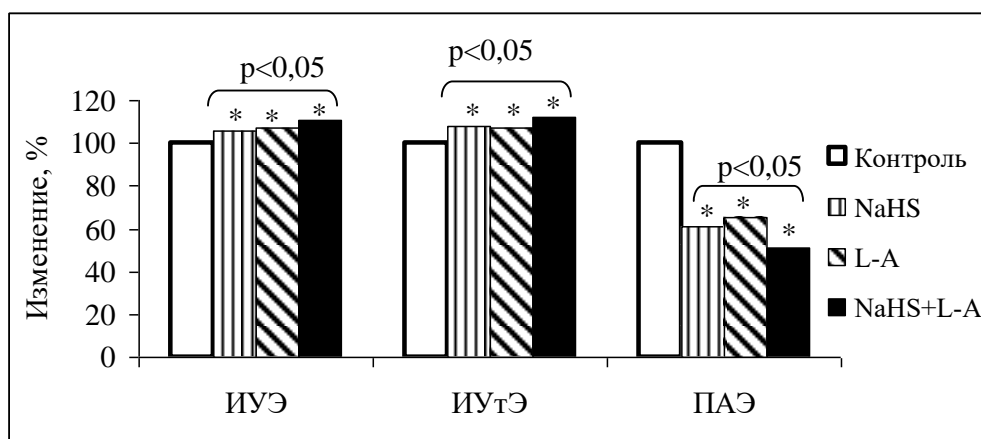


Рисунок 34 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS) стимулятором NOS, L-аргинином (L-A) и их сочетанием (NaHS+ L-A) у лиц группы с избыточной массой тела.
 Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Таблица 20. Показатели микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней при инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), L-цистеином (L-Ц) и при совместном применении препаратов (NaHS+L-Ц) в группе лиц с Изб МТ ($M \pm \sigma$, $n=38$)

Показатели	Контроль	NaHS	L-Ц	NaHS+L-Ц
ИУЭ, отн. ед.	$1,84 \pm 0,04$	$1,97 \pm 0,05^{**}$	$1,99 \pm 0,03^{**}$	$2,04 \pm 0,06^*$
ИУтЭ, отн. ед.	$1,75 \pm 0,05$	$1,86 \pm 0,05^*$	$1,89 \pm 0,04^{**}$	$1,93 \pm 0,05^*$
ПАЭ, отн. ед.	$11,18 \pm 1,32$	$7,74 \pm 1,48^*$	$7,79 \pm 1,52^*$	$7,16 \pm 0,94^*$

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

Примерно так же изменялась и деформируемость восстановленных теней эритроцитов под влиянием указанных выше соединений. Прирост ИУтЭ под влиянием комплекса «NaHS+ L-цистеин» был достоверно больше, чем отдельное действие донора NaHS (10%, $p < 0,05$, Рис. 35). Что касается агрегации эритроцитов, то наблюдали ее снижение на 31% ($p < 0,05$) под влиянием NaHS и на 30% ($p < 0,05$)

при инкубации с L-цистеином. Совместный эффект NaHS и L-цистеина проявился в снижении агрегации эритроцитов на 36% (Табл. 20, Рис. 35).

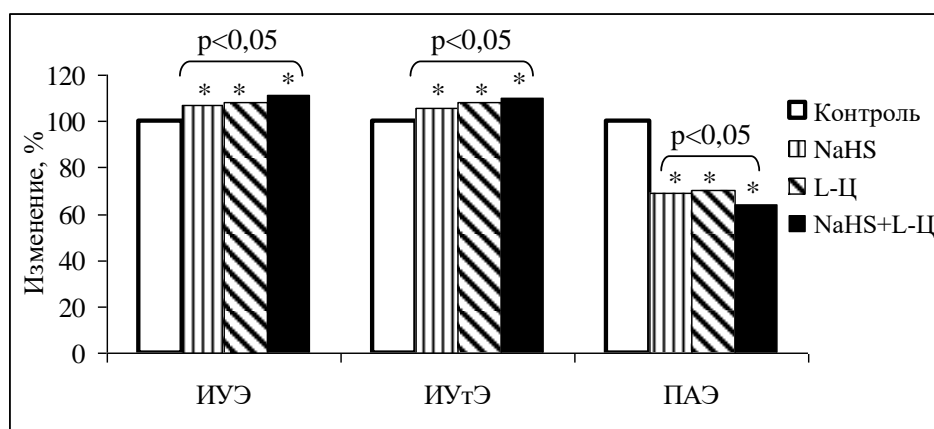


Рисунок 35 – Изменение микрореологических характеристик под влиянием инкубации эритроцитов с донором H_2S (NaHS) субстратом синтеза H_2S , L-цистеином (L-Ц) и их сочетании (NaHS+ L-Ц) у лиц с избыточной массой тела. Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ИУтЭ – индекс удлинения теней эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * – различия с контролем достоверны при $p<0,05$.

Полученное в *in vitro* опытах повышение ИУЭ в среднем на 7–8% при отдельном применении доноров газотрансммиттеров и субстратов их эндогенного синтеза и на 11% при их совместном воздействии на микрореологию эритроцитов дает возможность прогнозировать в формате *in silico* величину интегральной гемореологической характеристики – вязкости цельной крови. Было получено регрессионное уравнение, связывающее величину ВК и показатель деформируемости эритроцитов, индекс их удлинения (ИУЭ). Проектирование вязкости цельной крови было сделано на основе полученного регрессионного уравнения (Рис. 36), для показателей группы лиц с ИзбМТ:

$$y = -17,8x + 41,75 (R^2 = 0,55),$$

где y – вязкость крови; x – индекс удлинения эритроцитов,

R^2 – достоверность аппроксимации данных.

Изменение (манипулирование) предиктора (ИУЭ) на 8 и 11%, дало в результате прогнозируемую величину ВК, равную 5,10 мПас и 4,10 мПас, что на 27 и 41%, соответственно меньше измеренной средней величины вязкости крови у лиц данной группы.

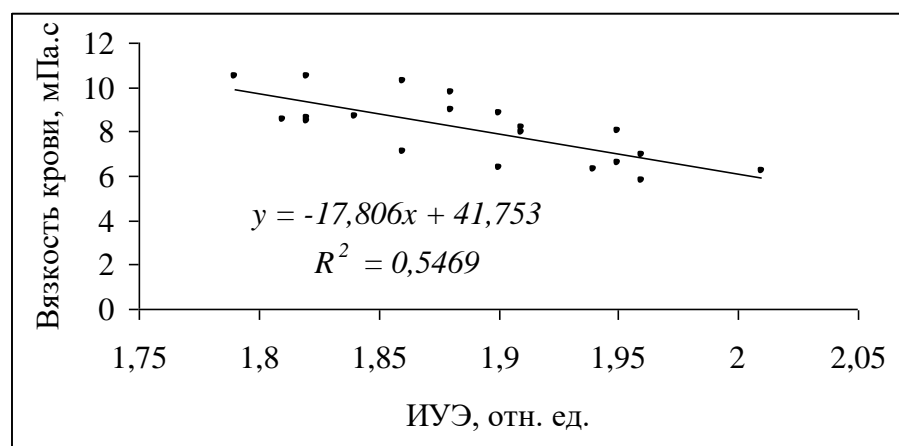


Рисунок 36 – Регрессионная модель, созданная на основе данных вязкости цельной крови при высоких скоростях сдвига и величин индекса удлинения эритроцитов в группе лиц с ИзбМТ.

3.2. Механизмы и сигнальные молекулярные пути, ассоциированные с изменениями микрореологических характеристик эритроцитов под действием доноров газотрансмиттеров

3.2.1 Роль растворимой гуанилатциклазы и NO-синтазы

3.2.1.1 Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с донором NO нитропруссидом натрия (НПН) и ODQ

Известно, что наиболее вероятной молекулярной внутриклеточной мишенью для NO является растворимая гуанилатциклаза (Северина, 1998; Petrov, Lijnen, 1996; Пятакова, Северина, 2012). Если ее ингибировать с помощью ODQ (Feelisch et al., 1999) то микрореологические ответы на действие донора NO, нитропрусида натрия, почти полностью устраняются (Табл. 21, Рис. 37). Так ИУЭ после действия ODQ и сочетания ODQ+НПН снижался на 6 и 3% ($p < 0,05$)

соответственно по сравнению с контролем. ПАЭ был не значительно выше, чем в контроле.

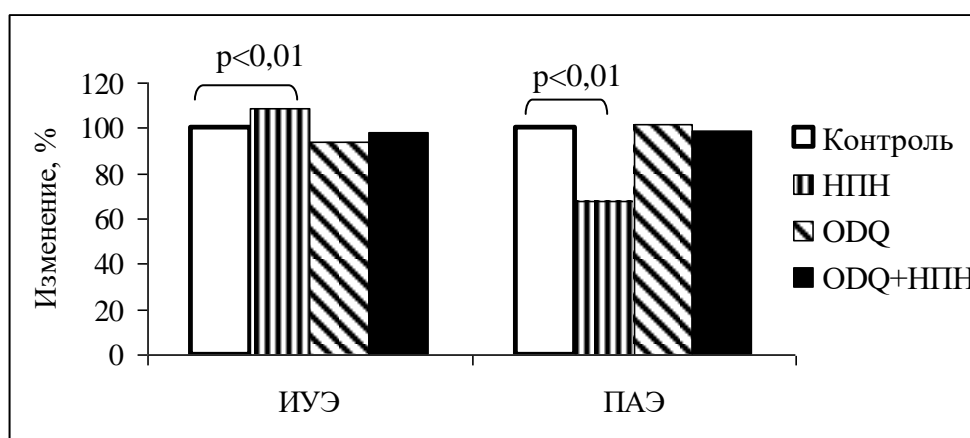


Рисунок 37 – Изменение деформируемости эритроцитов и их агрегации после инкубации с нитропруссидом натрия, ODQ и их сочетанием (ODQ+НПН) у здоровых лиц.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Таблица 21. Изменение микрореологических характеристик эритроцитов после инкубации клеток с нитропруссидом натрия, ODQ и их сочетанием (ODQ+НПН) ($M \pm \sigma$, $n = 24$)

Показатели	Контроль	НПН	ODQ	ODQ+НПН
ИУЭ, отн. ед.	$2,03 \pm 0,03$	$2,21 \pm 0,04^*$	$1,91 \pm 0,0431$	$1,98 \pm 0,04$
ПАЭ, отн. ед.	$12,71 \pm 1,68$	$8,65 \pm 1,44^{**}$	$12,94 \pm 1,56$	$12,55 \pm 1,18^*$

Примечания: НПН – нитропруссид натрия; ПАЭ – показатели агрегации эритроцитов, ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; * – Различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$; ** – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,01$.

3.2.1.2 Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с донором NO нитропруссидом натрия (НПН) и метиленовым синим (МТС)

Под влиянием инкубации эритроцитов с нитропруссидом натрия наблюдали достоверный прирост эластичности их мембран. На это указывало увеличение ИУЭ на 9% ($p < 0,05$). Другая микрореологическая характеристика – агрегация эритроцитов изменялась более существенно. Ее снижение составило 25% (Табл. 22, $p < 0,05$). Метиленовый синий (МТС), как ингибитор активности циклического ГМФ (Yam et al., 2018), почти полностью устранял влияние НПН на деформируемость эритроцитов.

Предварительная инкубация эритроцитов с МТС не вызывала значимого прироста деформируемости при добавлении НПН (Рис.38).

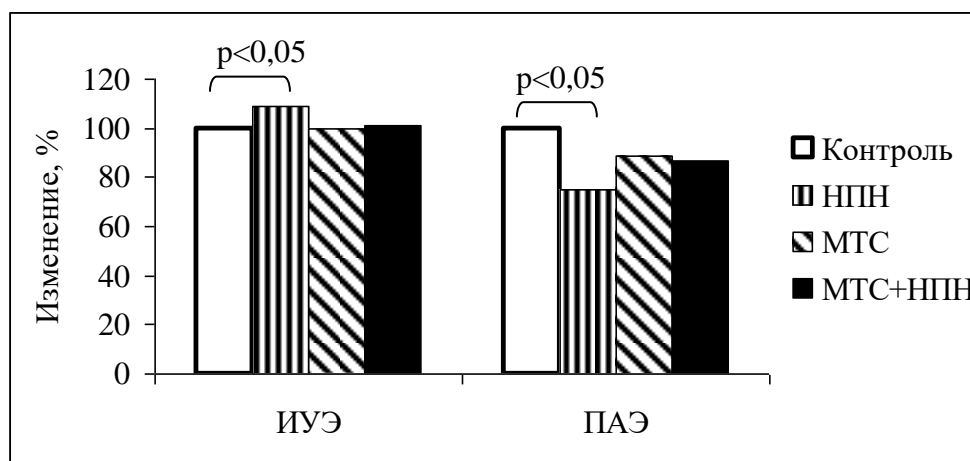


Рисунок 38 - Изменение деформируемости и агрегации эритроцитов после их инкубации с НПН, метиленовым синим (МТС) и их сочетанием (МТС+НПН) в группе контроля.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель АЭ.

Что касается агрегации, то прединкубация клеток с МТС значительно уменьшала эффект нитропрусида натрия, однако эти эффекты не были статистически достоверными (Табл. 22).

Таблица 22. Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с нитропруссидом натрия и метиленовым синим (МТС) а также с их сочетанием ($M \pm \sigma$, $n=24$)

Показатели	Контроль	НПН	МТС	МТС+НПН
ИУЭ, отн. ед.	$2,06 \pm 0,03$	$2,25 \pm 0,07^*$	$2,06 \pm 0,05$	$2,09 \pm 0,04$
ПАЭ, отн. ед.	$9,56 \pm 1,30$	$7,21 \pm 0,65^*$	$8,50 \pm 0,47$	$8,36 \pm 0,50$

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; НПН – нитропруссид натрия; МТС – метиленовый синий.

* $p < 0,05$, относительно контроля;

Имеются данные, свидетельствующие о том, что сульфид водорода может активировать р-ГЦ в качестве элемента сигнального пути (King et al., 2014). Результаты исследования показали, что ингибитор активности р-ГЦ и цГМФ метиленовый синий, как и в опытах с НПН умеренно снизил деформируемость эритроцитов (Табл. 23 Рис. 39). На фоне действия МТС гидросульфид натрия практически не изменял этой микрореологической характеристики.

Таблица 23. Изменение микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней после инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), метиленовым синим (МТС) и при совместном применении препаратов (МТС+ NaHS, $M \pm \sigma$, $n=24$)

Показатели	Контроль	NaHS	МТС	МТС+ NaHS
ИУЭ, отн. ед.	$2,14 \pm 0,05$	$2,29 \pm 0,04^*$	$2,05 \pm 0,03^*$	$2,07 \pm 0,04$
ПАЭ, отн. ед.	$13,85 \pm 2,01$	$10,70 \pm 2,68^*$	$12,59 \pm 1,40$	$11,92 \pm 1,32$

Примечания. NaHS – гидросульфид; МТС – метиленовый синий; * – значение статистически значимо ($p < 0,05$), отличается от величины контроля.

В то же время агрегация эритроцитов снизилась на 14%, однако это изменение не было статистически достоверным (Табл. 23, Рис. 39).

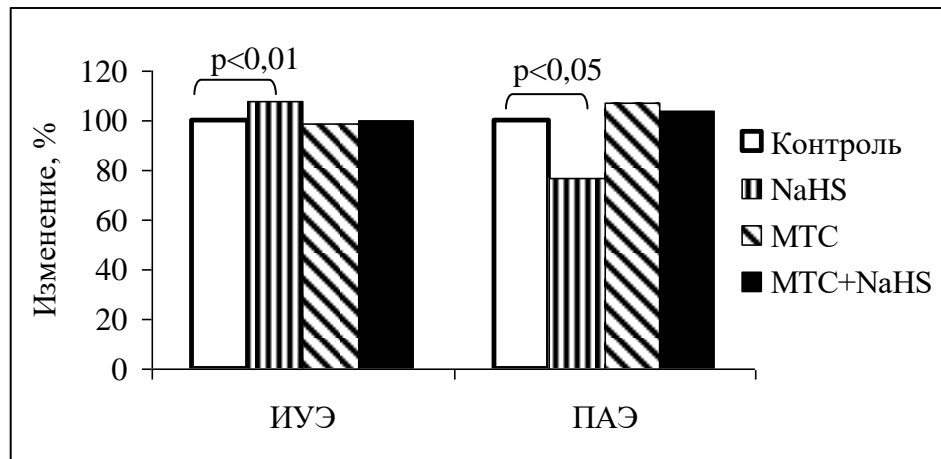


Рисунок 39 – Изменение деформируемости и агрегации эритроцитов после их инкубации с гидросульфидом натрия (NaHS), метиленовым синим (MTC) и их комбинацией (MTC+NaHS) в группе контроля.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

3.2.1.3 Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с L-аргинином и L-NAME

Как было показано выше, под влиянием инкубации эритроцитов с L-аргинином происходило увеличение их деформируемости (прирост ИУЭ), что подтвердилось и в этой серии опытов (Табл. 24). Как видно из данных, приведенных в таблице, ингибитор активности NOS, L-NAME снизил величину ИУЭ на 3% относительно контрольных проб.

При этом, относительно величины данной характеристики, после инкубации клеток с L-аргинином, была выявлена разница, равная 10% ($p<0,01$). После прединкубации эритроцитов с L-NAME, L-аргинин не изменял существенно величины ИУЭ (Табл. 24). Кроме того, при сравнении ДЭ после их инкубации с L-аргинином и его комбинацией с L-NAME, была установлена достоверная разница в величинах ИУЭ (Рис. 40).

Таблица 24. Изменение микрореологических характеристик эритроцитов после их инкубации с L-аргинином, L-NAME и их сочетанием (L-NAME+ L-аргинин) у здоровых лиц ($M \pm \sigma$, $n = 24$)

Показатель	Контроль	L-аргинин	L-NAME	L-NAME+L-A
ИУЭ, отн. ед.	2,01 \pm 0,03	2,17 \pm 0,02**	1,95 \pm 0,03*	1,98 \pm 0,04^^
ПАЭ, отн. ед.	12,35 \pm 1,25	9,80 \pm 0,92**	11,3 \pm 0,58	14,80 \pm 0,79^^

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; * различия по сравнению с контролем достоверны при ($p < 0,05$); ** различия по сравнению с контролем достоверны при ($p < 0,01$); ^^Различия между показателями после инкубации с L-аргинин и L-NAME достоверны при $p < 0,01$

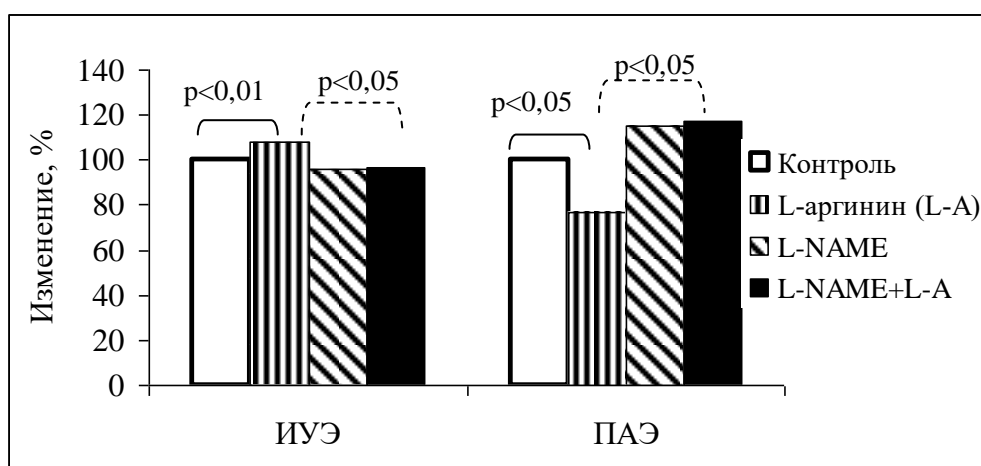


Рисунок 40 – Изменение деформируемости эритроцитов и их агрегации под влиянием L-аргинина (L-A) и при ингибировании активности NOS с помощью L-NAME.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Что касается другой микрореологической характеристики эритроцитов, их агрегации, то стимулирование NOS эритроцитов L-аргинином привело к ее снижению на 21% ($p < 0,01$). Тогда как ингибирование активности фермента с помощью L-NAME устраняло этот снижающий эффект (Табл. 24). Важно заметить,

что различия ПАЭ, зарегистрированных после инкубации клеток с L-аргинином и после воздействия «L-NAME+L-A», были статистически достоверными (Рис. 40).

Имеются данные, свидетельствующие о том, что H_2S может стимулировать NOS в клетках и использовать NO-ассоциированный сигнальный путь (Coletta et al., 2012). В этой серии опытов NaHS вызывал прирост деформируемости эритроцитов на 9% ($p<0,01$) и достоверное снижение ПАЭ на 29% ($p<0,05$). При этом инкубация эритроцитов с L-NAME привела к небольшому снижению ИУЭ на 2% и на 3% (Табл. 25). После предварительной инкубации эритроцитов с ингибитором активности NOS их деформируемость немного снизилась ($p<0,05$).

Таблица 25. Изменение микрореологических характеристик эритроцитов после их инкубации с NaHS, L-NAME и их сочетанием (L-NAME+ NaHS) ($M\pm\sigma$, $n = 24$)

Показатель	Контроль	NaHS	L-NAME	L-NAME+NaHS
ИУЭ, отн. ед.	$1,94\pm0,06$	$2,11\pm0,04^{**}$	$1,90\pm0,05^*$	$1,89\pm0,04^{\wedge}$
ПАЭ, отн. ед.	$10,20\pm0,96$	$7,28\pm0,92^{**}$	$9,89\pm0,94$	$9,38\pm0,82^{\wedge}$

Примечания: * Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,05$);

** Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,01$); \wedge Различия между показателями после инкубации с L-аргинином и L-NAME достоверны при $p<0,05$.

Уменьшение ИУЭ также сохранилось и после добавления NaHS в среду инкубации клеток (Рис. 41).

При инкубации эритроцитов с L-NAME агрегация достоверно не изменилась (Рис. 41), однако последующее добавление в клеточную среду донора H_2S немного снижало ПАЭ, на 8%, по сравнению с уровнем контроля (суспензией эритроцитов без добавления препаратов). Однако это изменение ПАЭ не было статистически значимо.

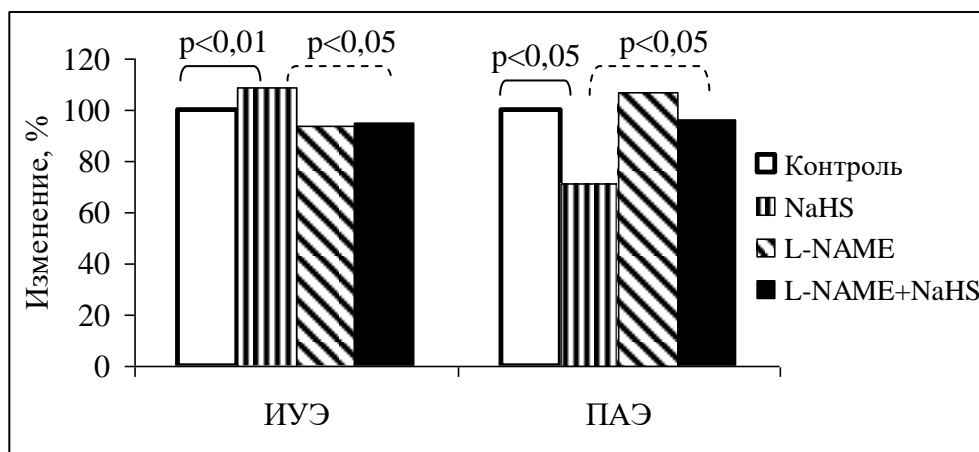


Рисунок 41 – Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) и их агрегации (ПАЭ) под влиянием NaHS, при ингибировании активности NOS с помощью L-NAME.

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Таким образом, можно полагать, что растворимая гуанилатциклаза может быть молекулярной мишенью для включения внутриклеточного сигнального каскада для NO, эффект которого проявлялся повышением деформируемости эритроцитов, приростом текучести их суспензии и уменьшением агрегации. При этом положительные микрореологические эффекты ГТ устранялись, если ингибировать NO-синтазу эритроцитов с помощью L-NAME. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что сульфид водорода может использовать NO-опосредованный сигнальный каскад для позитивных изменений микрореологических характеристик эритроцитов.

3.2.2 Роль ионных каналов эритроцитов как молекулярных мишеней для газотрансмиттеров

3.2.2.1 Изучение роли АТФ-зависимых калиевых каналов в механизмах изменений микрореологии эритроцитов

В качестве молекулярной клеточной мишени для сероводорода в основном рассматривают АТФ-зависимые калиевые каналы (K_{ATP}) (Yam et al., 2018). Для

анализа сигнального молекулярного пути при микрореологических ответах эритроцитов на H_2S требуется проверить предположение о сигнальной роли K_{ATP} -каналов. Для этого использовали блокирование этих каналов глибенкламидом (ГлК). Как видно из данных, приведенных в таблице 26, донор $NaHS$ достоверно повышал на 11% ($p<0,01$) деформируемость и на 30% ($p<0,05$) снижал агрегацию эритроцитов. Этот эффект не устранялся блокированием K_{ATP} -каналов, глибенкламидом (Рис. 42).

Таблица 26. Изменение микрореологии эритроцитов после их инкубации с гидросульфидом натрия и глибенкламидом (ГлК) и при совместном действии препаратов (ГлК+ $NaHS$) ($M\pm\sigma$, $n=24$)

Показатели	Контроль	$NaHS$	ГлК	ГлК+ $NaHS$
ИУЭ, отн. ед.	$2,02\pm0,04$	$2,25\pm0,03^{**}$	$2,21\pm0,01^*$	$2,23\pm0,02^*$
ПАЭ, отн. ед.	$11,69\pm1,50$	$8,20\pm0,80^*$	$9,80\pm1,12$	$7,86\pm0,96^*$

Примечания: * Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,05$);

** Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,01$).

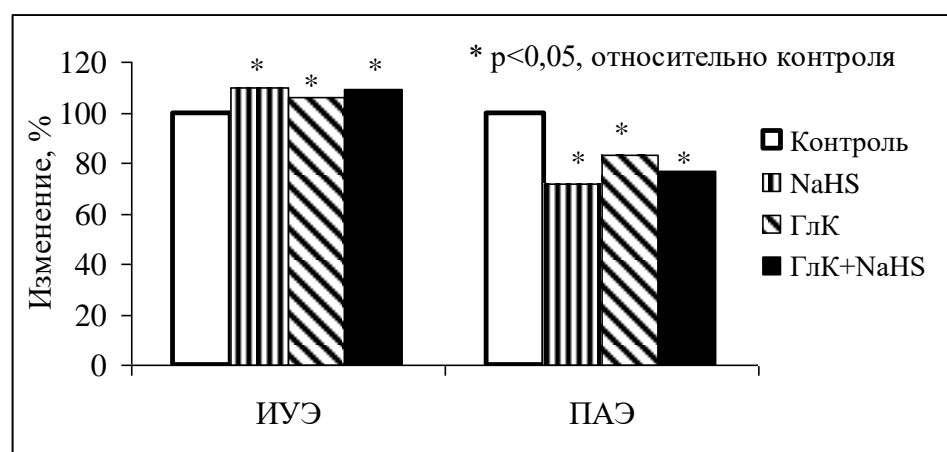


Рисунок 42 – Изменение деформируемости эритроцитов и их агрегации после инкубации с $NaHS$, глибенкламидом (ГлК) и их сочетанием (ГлК + $NaHS$).

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Важно заметить, что если сравнить изменения ИУЭ и ПАЭ в ответ на действие NaHS отдельно и на действие комплекса двух соединений «ГлК+NaHS», то разница в величинах этих микрореологических характеристик составила всего 1% для деформируемости и 4% для агрегации эритроцитов.

Следовательно, блокирование K_{ATP} каналов не устраняло обычных микрореологических ответов эритроцитов на этот донор сероводорода.

3.2.2.2 Изучение роли кальций-зависимых калиевых каналов или Гардош-каналов в механизмах изменений микрореологии эритроцитов

В таблице 27 суммированы данные о влиянии клотримазола, блокатора кальций-зависимых калиевых каналов или Гардош-каналов эритроцитов. Так если NaHS умеренно повышал ИУЭ, на 8% (Рис.43, $p<0,01$), то после инкубации с клотримазолом, наблюдали небольшое снижение деформируемости эритроцитов, на 2% ($p<0,05$). После блокирования Гардош-каналов клотримазолом NaHS не повышал деформируемость эритроцитов (Табл. 27). Если сравнить величины ИУЭ после инкубации с NaHS и при блокировании указанных выше каналов клотримазолом, то разница составила 8% ($p<0,01$).

Таблица 27. Изменение микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней после инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), клотримазолом (Кло) и при совместном применении препаратов (Кло+NaHS) ($M\pm\sigma$, $n=24$)

Показатели	Контроль	NaHS	Кло	Кло+NaHS
ИУЭ, отн. ед.	$1,98\pm0,04$	$2,14\pm0,05^{**}$	$1,94\pm0,05^*$	$1,93\pm0,05^{**}$
ИУТЭ, отн. ед.	$1,79\pm0,04$	$1,99\pm0,04^{**}$	$1,75\pm0,03$	$1,79\pm0,04$
ПАЭ, отн. ед.	$10,20\pm2,10$	$5,77\pm2,39^*$	$10,58\pm2,46$	$10,50\pm3,18$

Примечания: * Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,05$);

** Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,01$).

С другой стороны, при воздействии пары «Кло+NaHS», величина ИУЭ была на 10% ($p<0,01$) меньше, чем при отдельном применении NaHS (Рис.43). Сходная картина изменений деформируемости эритроцитов наблюдалась при инкубации теней эритроцитов с NaHS, клотримазолом и (Кло+NaHS) (Табл. 27).

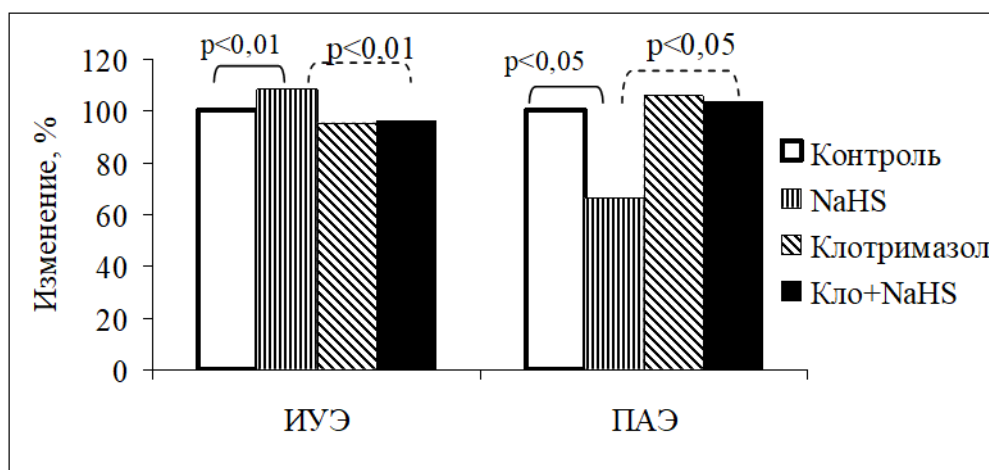


Рисунок 43 – Изменение деформируемости и агрегации эритроцитов после их инкубации с гидросульфидом натрия (NaHS), клотримазолом (Кло) и при их совместном применении (Кло+NaHS)

Обозначения: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Под влиянием донора NaHS деформация теней увеличивалась на 11%. Тогда как клотримазол даже несколько снижал ее, на 2%. Это изменение было статистически достоверным ($p<0,01$, Табл. 27). После предварительного блокирования Гардош-каналов клотримазолом, NaHS не изменил деформируемость теней эритроцитов и разница с величиной ИУтЭ после инкубации с ним, составила 10% ($p<0,01$). NaHS достоверно снижал агрегацию эритроцитов на 43% ($p<0,01$), тогда как при прединкубации клеток с клотримазолом, снижение ПАЭ отсутствовало. Прирост ПАЭ на 4% был статистически недостоверным (Табл. 27).

3.2.3 Влияние НПН и NaHS на микрореологические свойства эритроцитов на фоне стимулирования альфа-1- адренорецепторов фенилэфрином

На модели симпатоактивации, при инкубации эритроцитов с фенилэфрином (ФЭ, 10 мкМ) наблюдалось небольшое уменьшение ИУЭ, с $2,01 \pm 0,04$ до $1,93 \pm 0,05$ отн. ед., на 4% ($p < 0,05$;). Тогда как на фоне действия на клетки ФЭ, добавление в среду инкубации НПН приводило к достоверному приросту деформируемости эритроцитов (Табл. 28).

Таблица 28. Изменение микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней после инкубации клеток с нитропруссидом натрия (НПН), фенилэфрином (ФЭ) и при совместном применении препаратов (ФЭ+НПН) (М, n=24)

Показатели	Контроль	НПН	Фенилэфрин	ФЭ+НПН
ИУЭ, отн. ед.	$2,01 \pm 0,04$	$2,14 \pm 0,05^{**}$	$1,93 \pm 0,05^*$	$2,11 \pm 0,05^{**}$
ИУТЭ, отн. ед.	$1,77 \pm 0,05$	$1,93 \pm 0,04^{**}$	$1,71 \pm 0,03^*$	$1,91 \pm 0,04^{**}$
ПАЭ, отн. ед.	$10,20 \pm 1,14$	$8,42 \pm 1,26$	$14,62 \pm 1,68^{**}$	$10,78 \pm 2,12$

Примечания: * Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p < 0,05$); ** Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p < 0,01$).

Как видно из данных, приведенных в Табл. 28, деформируемость теней эритроцитов изменялась сходным образом. Выраженный прирост агрегации эритроцитов, на 43% ($p < 0,01$) под влиянием фенилэфрина, был практически устранен добавлением к суспензии клеток НПН.

Донор H_2S , гидросульфид натрия достоверно, на 10% ($p < 0,01$) повышал деформируемость эритроцитов тогда как фенилэфрин, снижал ИУЭ на 4% (Табл. 29, Рис. 44 а). Важно иметь ввиду, что интактные эритроциты и их восстановленные тени демонстрировали достоверный прирост деформируемости при добавлении донора газотрансммиттера в среду инкубации эритроцитов, в которой содержался симпатоактивирующее соединение, фенилэфрин (Табл. 29).

Таблица 29. Изменение микрореологии эритроцитов и их восстановленных теней после инкубации клеток с гидросульфидом натрия (NaHS), фенилэфрином (ФЭ) и при совместном применении препаратов (ФЭ+NaHS) ($M \pm \sigma$, $n=24$).

Показатели	Контроль	NaHS	Фенилэфрин	ФЭ+NaHS
ИУЭ, отн. ед.	2,01 \pm 0,04	2,21 \pm 0,04**	1,93 \pm 0,05*	2,19 \pm 0,06**
ИУтЭ, отн. ед.	1,76 \pm 0,03	2,02 \pm 0,07**	1,70 \pm 0,04*	1,97 \pm 0,04**
ПАЭ, отн. ед.	10,28 \pm 1,28	7,54 \pm 1,12*	14,92 \pm 1,36**	10,04 \pm 2,07

Примечания: * Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,05$);

** Различия по сравнению с контролем достоверны при ($p<0,01$).

Донор сероводорода снизил ПАЭ на 33% ($p<0,05$). Тогда как на модели симпатoadивации эритроцитов, он повысил агрегацию на 45% ($p<0,01$). Тем не менее NaHS, добавленный в среду инкубации эритроцитов с ФЭ устранил проагрегационный эффект последнего (Табл. 29).

Следовательно, предварительная обработка эритроцитов фенилэфрином не устраняла повышающего деформируемость эффекта обоих доноров ГТ. При этом сам ФЭ вызывал умеренное снижение деформируемости эритроцитов и их теней. С другой стороны, ФЭ достоверно повышал агрегацию эритроцитов на 43-45% ($p<0,01$). Однако прединкубация эритроцитов с данным соединением не препятствовала снижению агрегации под действием доноров ГТ, НППН и NaHS, которые добавляли в среду инкубации. Уменьшение составило 26 и 33%, соответственно и было достоверным относительно уровня агрегации, зарегистрированного под действием ФЭ (Рис. 44 б, $p<0,01$).

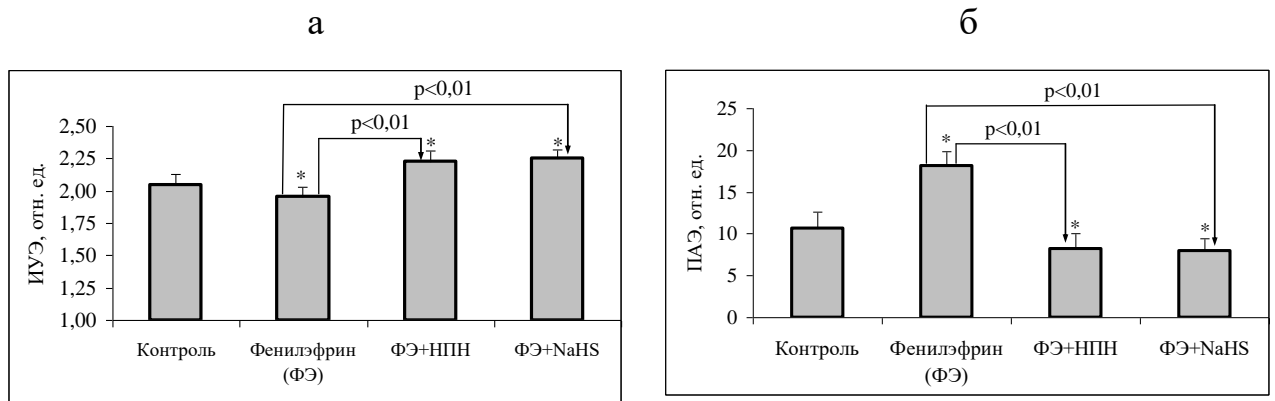


Рисунок 44 – Изменение деформируемости эритроцитов (а) и их агрегации (б) под влиянием НПН, NaHS, в условиях стимулирования альфа-1-адренорецепторов эритроцитов фенилэфрином (ФЭ, 10 мкМ).

Обозначения: * $p < 0,01$, относительно данных группы «контроль»; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Как было показано выше, субстраты синтеза NO и H_2S L-аргинин и L-цистеин положительно влияли на микрореологические характеристики эритроцитов, повышая их деформируемость и снижая агрегацию. Возникает вопрос: как повлияют эти соединения на микрореологию эритроцитов, предварительно инкубированных с фенилэфрином. Реализация этой экспериментальной модели показала, что фенилэфрин немного снизил деформируемость (на 3%, с $1,96 \pm 0,03$ до $1,91 \pm 0,04$ отн. ед., $p < 0,01$). Однако добавление в суспензию эритроцитов, содержащую ФЭ, L-аргинина, увеличило деформируемость эритроцитов выше контрольного уровня этого показателя (в суспензии без препарата) на 7%, до $2,09 \pm 0,06$ отн. ед. (Рис. 45 а; $p < 0,01$).

Почти на такую же величину повысилась деформируемость эритроцитов при добавлении в среду инкубации клеток L-цистеина. Прирост ИУЭ составил 6% ($p < 0,01$) и достиг уровня $2,07 \pm 0,06$ отн. ед. Фенилэфрин вызвал прирост агрегации эритроцитов на 59% ($p < 0,01$). ПАЭ увеличилась с $9,90 \pm 0,82$ до $15,74 \pm 1,88$ отн. ед., $p < 0,01$). Оба субстрата синтеза ГТ снизили ПАЭ, при их добавлении в среду, предварительно обработанную ФЭ (Рис. 45 б). Агрегация эритроцитов уменьшилась с $15,74 \pm 1,88$ до $10,04 \pm 1,18$ отн. ед. (на 36%, $p < 0,05$), при добавлении

L-аргинина и до $8,65 \pm 0,74$ отн. ед. (на 45%, $p < 0,01$) под влиянием добавления в суспензию клеток L-цистеина.

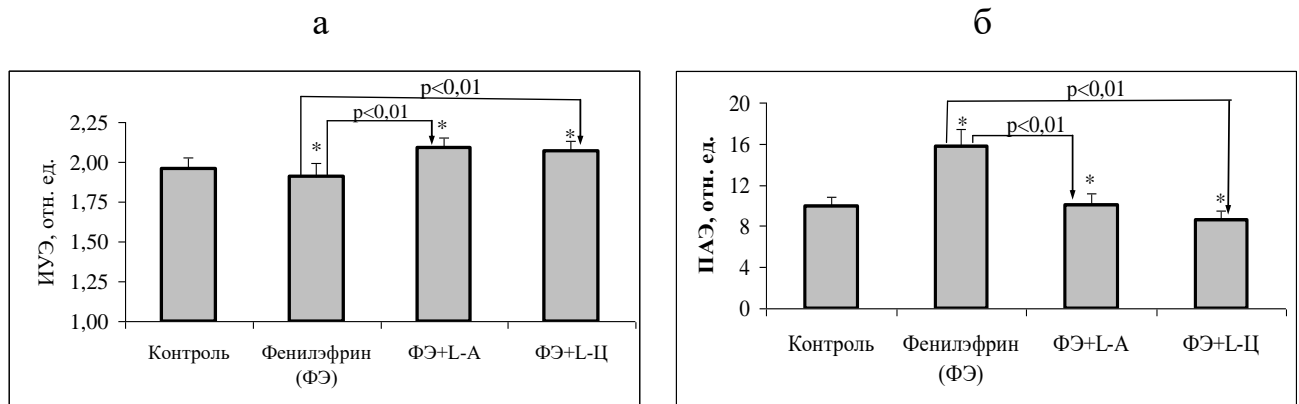


Рисунок 45 – Изменение деформируемости эритроцитов (а) и их агрегации (б) под влиянием L-аргинина (L-A) и L-цистеина (L-Ц), в условиях стимуляции альфа-1-адренорецепторов эритроцитов фенилэфрином (ФЭ, 10 мкМ).

Обозначения: * $p < 0,01$, относительно данных группы «контроль»; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Таким образом, на модели стимуляции альфа-1-адренорецепторов агонистом, фенилэфрином, микрореологические ответы эритроцитов свидетельствовали о небольшом, но достоверном снижении деформируемости клеток и выраженном приросте их агрегации. Вместе с тем доноры NO и H_2S и субстраты их синтеза устраняли этот эффект агониста альфа-1-адренорецепторной стимуляции эритроцитов. Реализация такого протокола исследования дает основание полагать, что доноры газотрансмиттеров и субстраты их синтеза восстанавливают негативно измененные микрореологические свойства эритроцитов и выступают в роли эффективных посткондиционирующих соединений. Это может быть элементами новой стратегии по восстановлению микрососудистой перфузии тканей путем улучшения микрореологических характеристик эритроцитов и их кислородтранспортного потенциала.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

При разных патологических состояниях, по сравнению с физиологической нормой, изменение реологических профилей крови достаточно типично и проявляется увеличением ее вязкости, а следовательно, снижением текучести и транспортного потенциала (Dintenfass, 1981; Lowe et al., 1988; Галенок с соавт., 1987; Ajmani, 1997; Муравьев, Чепоров, 2009). В этой связи, гемореологические характеристики не подходят для дифференциальной диагностики изменений функционального состояния организма в тех или иных условиях. С другой стороны, повышение или снижение вязкости крови сказывается на состоянии всех органов, перфузируемых кровью с измененной текучестью. Это делает вязкость крови важным показателем для оценки кровоснабжения и оксигенации органов и тканей (Галенок с соавт., 1987; Baskurt, Meiselman, 2003; Alexy, et al., 2006).

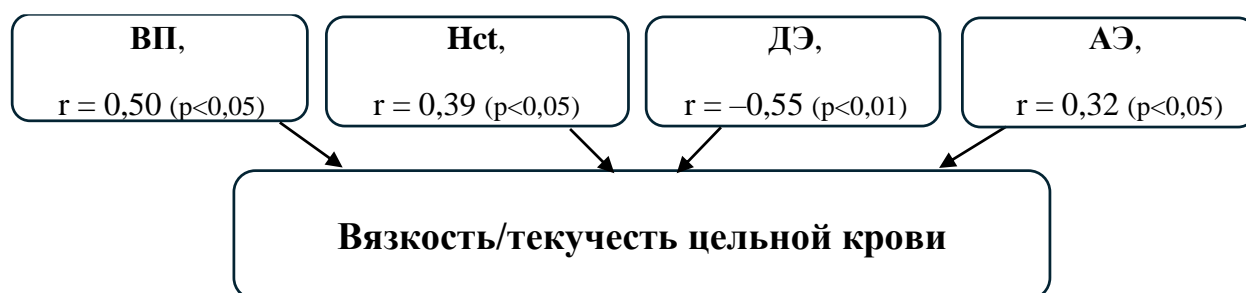


Рисунок 46 – Корреляции между вязкостью цельной крови и определяющими ее факторами: ВП – вязкость плазмы; Hct – гематокрит; ДЭ – деформируемость эритроцитов; АЭ – агрегация эритроцитов у лиц группы с артериальной гипертензией (группа АГ).

Нами, на модели повышенного артериального давления, был обнаружен существенный прирост вязкости цельной крови, в основном из-за высокой вязкости плазмы, агрегации эритроцитов и снижения их деформируемости. Эти изменения характерны для артериальной гипертензии (Pirrelli, 1999). В этой связи возникает два вопроса: 1) как изменяется транспортный потенциал крови в этих условиях; и

2) каков вклад основных гемореологических характеристик в текучесть крови и ее O_2 -транспортную эффективность? Корреляционный анализ показал, что имеются заметные корреляции между вязкостью крови и определяющими ее факторами (Рис. 46).

На основе коэффициентов корреляции (r) были вычислены коэффициенты детерминации (D): $D = r^2 \times 100\%$ (Ершов, 2002). Расчеты показали, что в группе АГ, ВП имела коэффициент детерминации с ВК, равный 25%. Это примерная оценка вклада вязкости плазмы в текучесть (вязкость) цельной крови. АЭ и Нст имели сходную величину вклада – 15–16%. Тогда как больше влияла на ВК деформируемость эритроцитов, ее вклад составил около 30%. Необходимо заметить, что расчеты коэффициента детерминации были выполнены путем парной корреляции зависимой переменной (регрессанта) – вязкости крови и независимых переменных (регрессоров), факторов определяющих величину ВК, как интегральной реологической характеристики. Поэтому интерпретация показателя детерминации как «доли» не совсем корректна. Тем не менее, применение данного показателя в сравнении с другими, вполне обоснованно (Ершов, 2002). Важно добавить, что ДЭ умеренно и положительно коррелировала с показателем эффективности транспорта кислорода кровью, коэффициент корреляции составил 0,46 ($p < 0,05$). На наличие этой связи указывали и другие авторы (Kwaan, Bongu, 1999).

У лиц с избыточной массой тела (группа ИзбМТ) также вязкость цельной крови при высоких и низких скоростях сдвига была существенно выше, чем в контрольной группе. Анализ корреляций между ВК и факторами, ее обуславливающими, показал, что вязкость плазмы и Нст умеренно коррелировали с ВК (Рис. 47). Агрегация эритроцитов относительно слабо коррелировала с вязкостью крови ($r = 0,24$). Тогда как ДЭ имела наиболее выраженную величину отрицательной корреляции с вязкостью крови (Рис. 47).

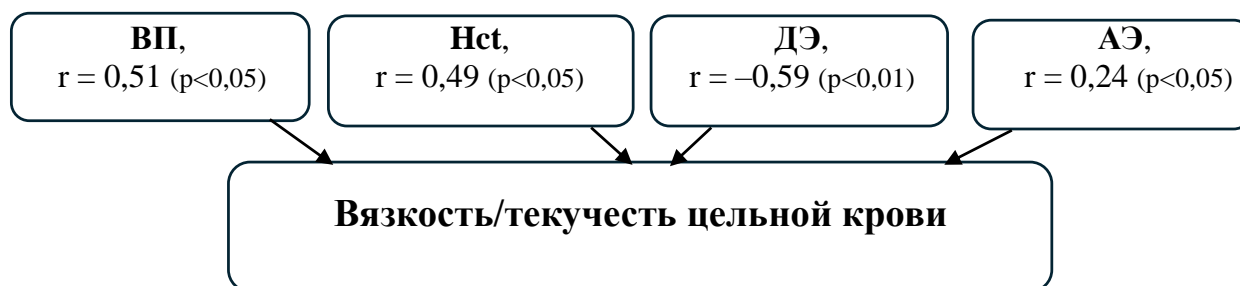


Рисунок 47 – Корреляции между вязкостью цельной крови и определяющими ее факторами: ВП – вязкость плазмы; Hct – гематокрит; ДЭ – деформируемость эритроцитов; АЭ – агрегация эритроцитов у лиц группы с избыточной массой тела (группа ИзбМТ).

Последующий расчет коэффициентов детерминации для параметров гемореологического профиля лиц данной группы показал, что их вклад в текучесть был следующий:

- 1) ВП – 26%;
- 2) Hct – 24%;
- 3) АЭ – 6%
- 4) ДЭ – 35%.

Если сравнить распределение вклада параметров гемореологического профиля, то структура в двух группах (группа АГ и ИзбМТ) сходная, где относительно большой вклад в текучесть дает такая микрореологическая характеристика эритроцитов, как их *деформируемость*. Это не случайно, в многочисленных работах указывается на то, что для перфузии тканей и их оксигенации деформируемость эритроцитов является критически важной характеристикой (Popel et al., 2005; Danielczok, 2017; Ugurel et al., 2022; Cilek et al., 2024). Умеренная положительная корреляция между ИУЭ и показателем эффективности транспортной функции крови ($r = 0,48$ $p < 0,05$), свидетельствует о заметном вкладе деформируемости эритроцитов не только в текучесть крови, но и в ее транспортные возможности (Stoltz et al., 1991).

Что касается группы 1 (контроль), то в физиологических условиях наибольшее влияние на текучесть крови оказывала *вязкость плазмы*. ВК коррелировала с ВП с коэффициентом, равным 0,60 ($p < 0,01$). Тогда как корреляции с другими параметрами гемореологического профиля были меньшими (Рис. 48).

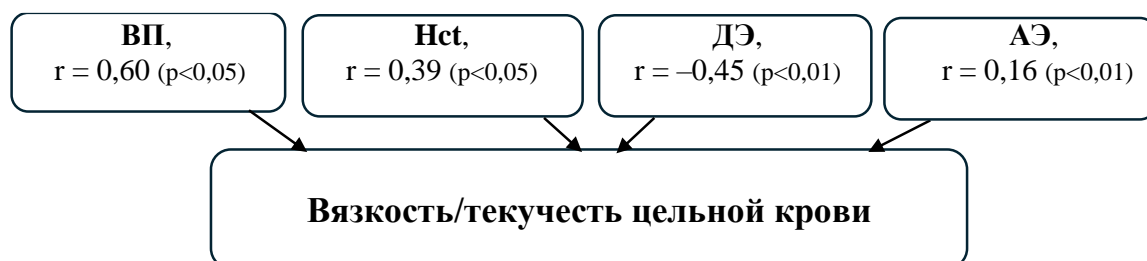


Рисунок 48 – Корреляции между вязкостью цельной крови и определяющими ее факторами: ВП – вязкость плазмы; Hct – гематокрит; ДЭ – деформируемость эритроцитов; АЭ – агрегация эритроцитов у здоровых лиц (группа контроль).

Гематокрит и вязкость плазмы наиболее существенно влияют на вязкость цельной крови в физиологических условиях (Левтов с соавт., 1982; Муравьев, Чепоров, 2009; Forconi et al., 1996; Késmárky et al., 2008). Вместе с тем и вклад деформируемости остается заметным. Расчет коэффициентов детерминации показал, что он, вероятно, составляет около 20%:

- 1) ВП – 36%;
- 2) Hct – 15%;
- 3) АЭ – 3%
- 4) ДЭ – 20%.

При этом деформируемость эритроцитов должна заметно влиять на транспортный потенциал крови. На это указывала положительная корреляция между ДЭ и Hct/VK_1 ($r = 0,41$, $p < 0,05$).

Нами впервые продемонстрирована взаимозависимость деформируемости эритроцитов, транспортного потенциала крови, ее неньютоновских свойств (тиксотропии), которые сильно зависят от концентрации эритроцитов в крови

(Schmid-Schönbein, 1985). Как было сказано выше, реологическое поведение крови хорошо описывается уравнением течения неньютоновской жидкости степенного закона ($y = kx^{-n}$) и в качестве индекса неньютоновости используют коэффициент консистенции « k ». Он же может служить и мерой тиксотропии неньютоновской жидкости (Уилкинсон, 1964). Корреляционный анализ показал, что на неньютоновское поведение крови существенное влияние должен оказывать гематокрит. Действительно между гематокритом и индексом k были выявлены самые большие корреляции, особенно в группах АГ и ИзбМТ (Табл. 29). Также было установлено, что у лиц группы 1 (контроль) деформируемость выраженно и отрицательно коррелировала с k ($r = -0,61$, $p < 0,01$).

Вязкость плазмы заметно меньше должна влиять на неньютоновские свойства крови, чем гематокрит и деформируемость эритроцитов. Между показателем реологической эффективности транспорта кислорода (Stoltz et al., 1991; Kwaan, Bongu, 1999) и индексом k была найдена умеренная отрицательная корреляция во всех трех группах наблюдения (Табл. 29).

Таблица 29. Коэффициенты корреляции между показателями неньютоновости крови (k), деформируемости эритроцитов (ИУЭ) и индексом эффективности транспорта (Hct/BK_1)

Коэффициенты корреляции	Группа 1 контроль ($n = 48$)	Группа 2 АГ ($n = 40$)	Группа 3 ИзбМТ ($n=38$)
ИУЭ – k	– 0,61**	– 0,52**	– 0,39*
Hct – k	0,49**	0,68**	0,82**
ВП – k	0,32	0,44*	0,37
Hct/BK ₁ – k	– 0,57*	– 0,69*	– 0,65*

Примечания: * различия достоверны при $p < 0,05$; ** при $p < 0,01$

Как видно из приведенных данных, во всех трех группах наблюдений отрицательные достоверные корреляции между показателем деформируемости

эритроцитов и индексом консистенции k могут свидетельствовать о роли деформируемости в проявлении кровью неньютоновского характера течения. Известно, что при повышении степени неньютоновости крови, ее кислородтранспортные возможности снижаются (Stoltz et al., 1991). На это указывало не только уменьшение показателя Hct/BK_1 в группах лиц с повышенным АД и массой тела, вместе с приростом показателя неньютоновости, но и статистически достоверные отрицательные корреляции между индексом k и показателем Hct/BK_1 (Табл. 29).

На основе проведенного анализа параметров гемореологического профиля и влияния сдвиговых факторов на текучесть цельной крови и ее тиксотропные свойства, а также кислородтранспортный потенциал, можно заключить, что деформируемость эритроцитов существенно влияет на текучесть крови и тем самым на перфузию тканей. Кроме того, необходимо дополнить, что деформируемость эритроцитов влияет на кровоток как в крупных сосудах, так, что особенно важно, и в сосудах микроциркуляции (Левтов с соавт., 1982; Mohandas, Gallagher, 2008; Pretorius, 2013; Lew, Tiffert, 2017).

Результаты исследования показали, что микрореологические характеристики достоверно различались у лиц физиологической нормы (группа 1 – контроль) с данными группы АГ. По всем трем характеристикам, деформируемость эритроцитов в среднем отличалась на 13%. Особенно важно, что при оценке индекса удлинения клеток, выявлено разичие 10% ($p < 0,01$), а агрегация в группе АГ на 35% превышала таковую лиц группы контроля.

У лиц с избыточной массой тела, микрореологические характеристики гемореологического профиля по направленности и величине изменений были сходными с теми, что зарегистрированы в группе АГ. В целом деформируемость эритроцитов, как усредненный параметр трех характеристик, была снижена на 11% ($p < 0,01$), превышение агрегации нормальных значений (данных группы ИзбМТ), составило 29% ($p < 0,01$).

Таким образом, критическая микромеханическая характеристика эритроцитов – их деформируемость (Pinho et al., 2020) была негативно изменена у

лиц групп АГ и ИзбМТ. Важно заметить, что конечный деформирующий эффект зависит от *соотношения* приложенных деформирующих сил и способности самих эритроцитов изменять свою форму под их влиянием (Dintenfass, 1981). При этом силой, оказывающей деформирующее воздействие на эритроциты, является генерируемое сердцем давление крови (Р), которое передается от клетки к клетке.

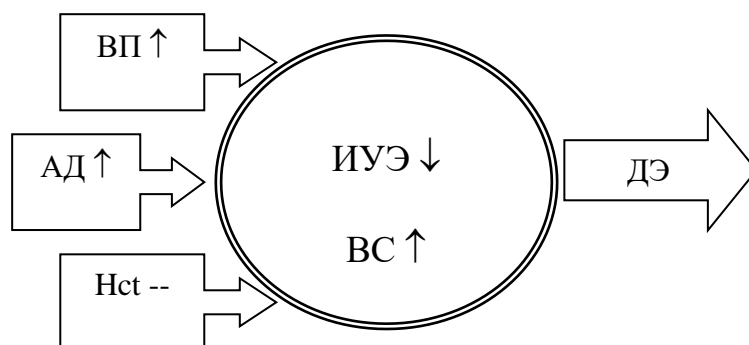


Рисунок 49 – Схема взаимодействия *внешних*, деформирующих эритроцит факторов (АД, ВП, Нст) и *внутренних* характеристик деформируемости самой клетки (ВС, ИУЭ, Тк) у лиц с отклонениями от физиологических нормальных показателей (группы АГ и ИзбМТ).

Обозначения: АД – артериальное давление; ВП – вязкость плазмы; Нст – гематокрит; Тк – индекс ригидности эритроцитов; ВС – вязкость суспензии эритроцитов; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ДЭ – деформируемость эритроцитов.

Эта передача зависит от величины гематокрита (Нст), а также от вязкости и плотности плазмы (Муравьев, Чепоров, 2009). Следовательно, давление крови, Нст и вязкость плазмы – это *внешние факторы деформации* эритроцитов, а показатели их деформируемости – *внутренние факторы* (Каро с соавт., 1981, Kon et al., 1987). Известно, что вязкость крови, а также вязкость суспензий эритроцитов уменьшается с увеличением скорости сдвига, поскольку деформация и ориентация клеток уменьшают гидродинамическое сопротивление сдвиговому потоку. Хотя основные детерминанты способности эритроцитов к деформации

(деформируемости) (внутриклеточная вязкость, вязкоэластичность мембраны и геометрия клетки) были выявлены (Муравьев, Чепоров, 2009), однако соотношение внешних и внутренних факторов деформации, в конкретных пробах крови, требует дальнейшего анализа (Рис. 49).

На основе экспериментальных данных параметров гемореологических профилей, проведенные расчеты показали, что в среднем три внешних фактора деформации эритроцитов (АД ср., ВП и Нст) у лиц группы АГ были на 12% больше, чем в группе 1. Тогда как показатели деформируемости были, соответственно, снижены на 13%. Таким образом, если иметь в виду, что деформируемость эритроцитов изначально была сниженной у лиц группы АГ, то для деформации эритроцитов в потоке, в каждом случае, требовалась большая мобилизация внешних факторов, то есть повышения АД и вязкости плазмы.

Сходную картину изменений внешних и внутренних деформационных факторов наблюдали и в группе ИзбМТ. При снижении внутренних факторов деформируемости эритроцитов в среднем на 11%, прирост внешних параметров деформации эритроцитов составил 10%. Это могло создавать примерный баланс внешних и внутренних факторов деформации эритроцитов. Однако он достигался в группах АГ и ИзбМТ при сниженной деформируемости (более ригидных эритроцитах) и повышенном АД и вязкости плазмы.

Итак, в результате исследования микрореологических характеристик реологических профилей крови у лиц групп АГ и ИзбМТ было установлено достоверное снижение деформируемости эритроцитов (Рис. 50).

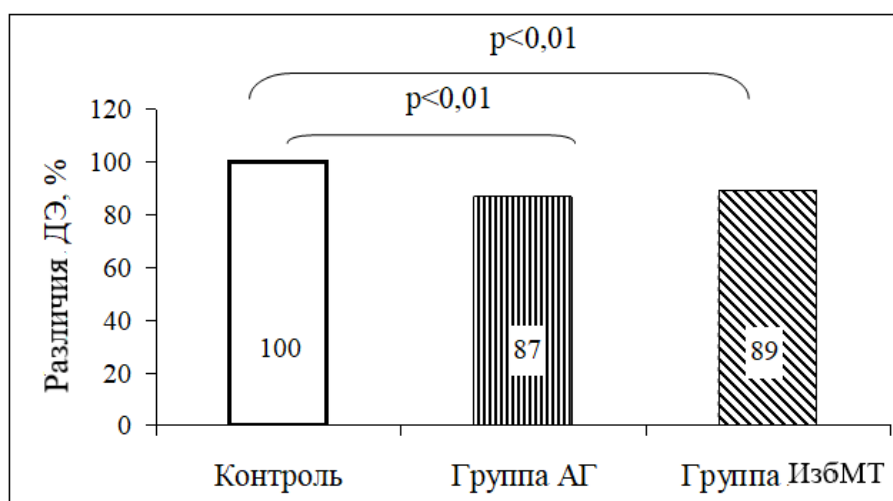


Рисунок 50 – Снижение деформируемости эритроцитов (ДЭ) у лиц с повышенным АД и избыточной массой тела (группа ИзбМТ) по сравнению с данными здоровых лиц (группа контроля).

Это сочеталось с относительно высокой их агрегацией у лиц указанных групп, которая превышала данные контроля на 35 и 29%, соответственно в группах АД и ИзбМТ (Рис. 51).

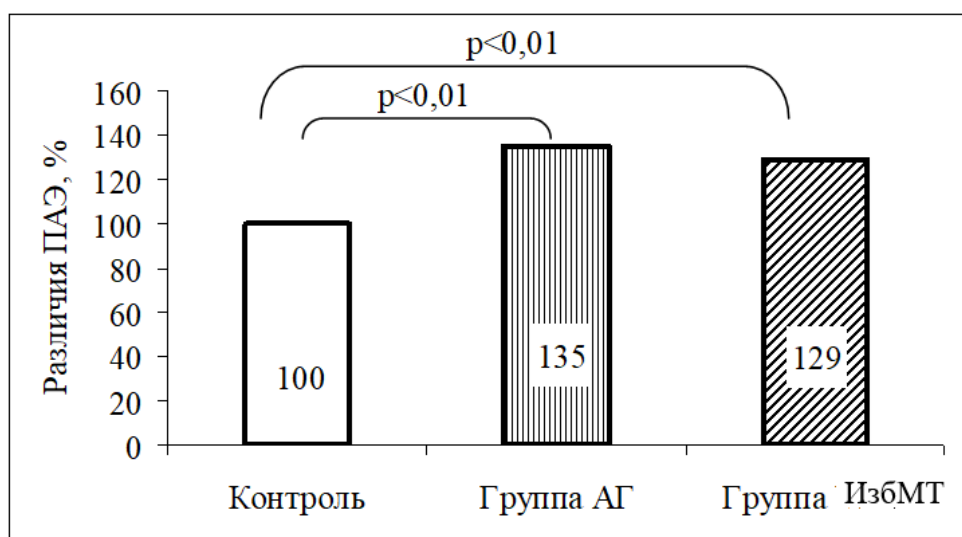


Рисунок 51 – Разница агрегации эритроцитов (ПАЭ) у лиц с группы АД и группы ИзбМТ по сравнению с данными группы 1.

В последние годы было показано, что эритроциты положительно изменяют свои микромеханические свойства под влиянием эндогенных паракринных

регуляторов клеточных функций, таких как газовые медиаторы или газотрансммиттеры (Mozar et al., 2016; Grau, Pericas, 2022; Muravyov et al., 2022). Следовательно, можно экспериментально, в опытах *in vitro* восстановить деформируемость эритроцитов, нарушенную при патологии, путем применения доноров газотрансммиттеров (ГТ). С этой целью вначале исследовали микрореологические ответы эритроцитов здоровых лиц на действие доноров ГТ: гидросульфида натрия (NaHS) и нитропруссид натрия (НПН) по отдельности, а также и при одновременном применении этих двух доноров. Опыты показали, что деформируемость эритроцитов была достоверно повышена, после применения NaHS на 7% и НПН повысил ДЭ на 6%. При совместном применении этих соединений (NaHS+НПН) прирост ДЭ был достоверно большим и составил 10%. Изменение деформируемости восстановленных теней эритроцитов было так же равным 10%. Эти данные свидетельствуют о том, что под действием ГТ происходит повышение эластичности клеточной мембраны эритроцитов, что подтверждали и другие авторы (Grau et al., 2013; Kuck et al., 2022).

Далее исследовали влияние доноров ГТ на микрореологические свойства эритроцитов и их теней в группах АД и ИзбМТ. Было установлено, что инкубация эритроцитов лиц группы АГ с донором NaHS повышала ИУЭ на 9% ($p<0,01$), нитропруссидом натрия – на 8%, а совместное действие двух доноров ГТ давало достоверно ($p<0,01$) больший эффект, который составил 11%. Следовательно, и отдельно доноры ГТ и, особенно их совместное действие, восстанавливали деформируемость эритроцитов до уровня группы контроля (Рис. 52).

Таким образом, при воздействии донорами газотрансммиттеров на эритроциты лиц группы контроля, лиц с АГ и ИзбМТ повышение ДЭ происходило на схожие величины, при учете того, что первоначально данные показатели были негативно изменены у лиц с патологией.

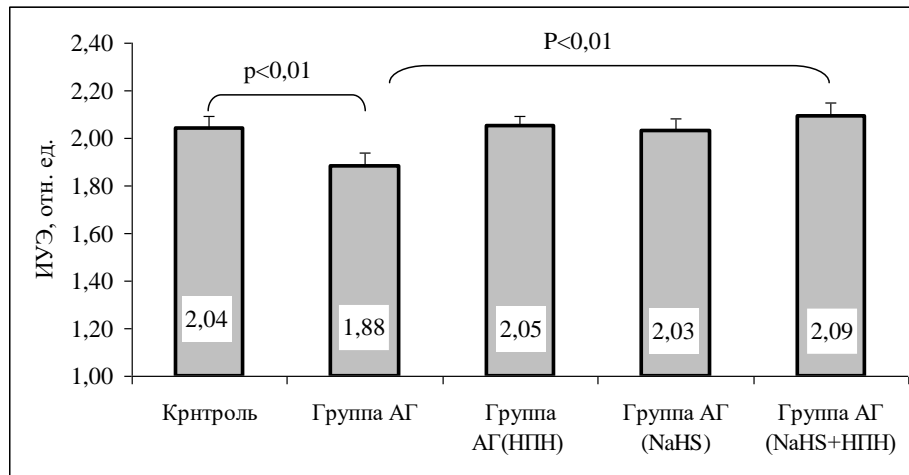


Рисунок 52 – Соотношение величин деформируемости эритроцитов (ИУЭ) после их инкубации с донорами ГТ по отдельности и в сочетании (NaHS+НПН) у лиц с АГ: сравнение с данными лиц группы 1 (контроль, без препаратов).

В связи с тем, что в *in vitro* опытах на моделях микрореологических ответов эритроцитов на доноры ГТ и субстраты их эндогенного синтеза было установлено, что деформируемость их возрастала на 8–14%, то возник вопрос: «Что произойдет в этом случае с интегральной гемореологической характеристикой, вязкостью цельной крови?». Проектное моделирование (*in silico*) на основе полученной регрессионной модели взаимосвязи предиктора – ИУЭ и прогнозируемого параметра – вязкости крови, показало, что подставлением в уравнение регрессии и решение его с величинами ИУЭ на 8 и 14% больше средней величины этой характеристики лиц группы АГ дало в результате снижение величины ВК на 23% (при повышенном ИУЭ на 8%) и на 37% (при повышенном ИУЭ на 14%). Проектирование ВК на основе манипулирования предиктором (деформируемостью эритроцитов) показывает практическую нормализацию текучести крови, сниженную у лиц группы АГ на 30%. Таким образом, можно полагать, что повышение ИУЭ *in vivo* на 10–15%, например, применением лекарственных препаратов, обладающих положительным влиянием на микрореологию эритроцитов (Oonishi et al., 1997; Muravyov et al., 2002; Muravyov, Tikhomirova, 2013), может нормализовать повышенную вязкость крови при заболеваниях и патологических состояниях.

Другая микрореологическая характеристика эритроцитов, их агрегация, также достаточно полно восстанавливалась под влиянием доноров ГТ, особенно при их совместном применении NaHS и НПН (Рис. 53).

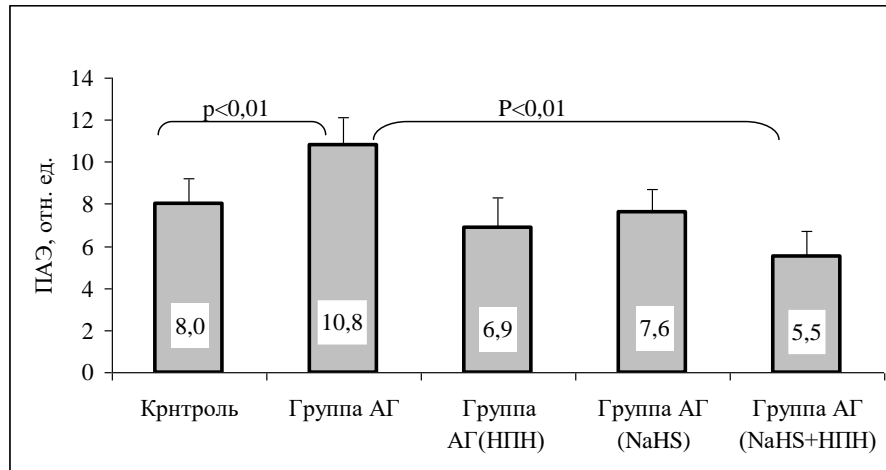


Рисунок 53 – Соотношение величин агрегации эритроцитов (ИУЭ) после их инкубации с донорами ГТ по отдельности и в сочетании (NaHS+НПН) у лиц с АГ: сравнение с данными лиц группы 1 (контроль, без препаратов).

Более того, после инкубации с донорами ГТ наблюдали уменьшение агрегации эритроцитов ниже величины этой характеристики у лиц группы контроля. Таким образом, оба важных для микроциркуляции и оксигенации тканей параметра эритроцитов у лиц группы АГ полностью восстанавливались, и даже были немного выше уровня лиц физиологического контроля. Важно дополнить сказанное выше и еще тем, что стимулятор активности NOS, L-аргинин (Bor-Kucukatay et al., 2003; Uyuklu, et al., 2009; Grau et al., 2013) положительно влиял на микрореологические характеристики эритроцитов лиц группы АГ. Кроме того, эта аминокислота давала больший микрореологический ответ эритроцитов при сочетанном воздействии L-аргинина и NaHS.

Выше было показано, что проектное моделирование (*in silico*) на основе полученной регрессионной модели взаимосвязи предиктора – ИУЭ как независимого переменного (Förster, Renz, 1981) и прогнозируемого параметра – вязкости крови, дает возможность предсказать с определенной

точностью величину вязкости крови и, следовательно, ее текучесть и эффективность транспорта (Stoltz et al., 1991).

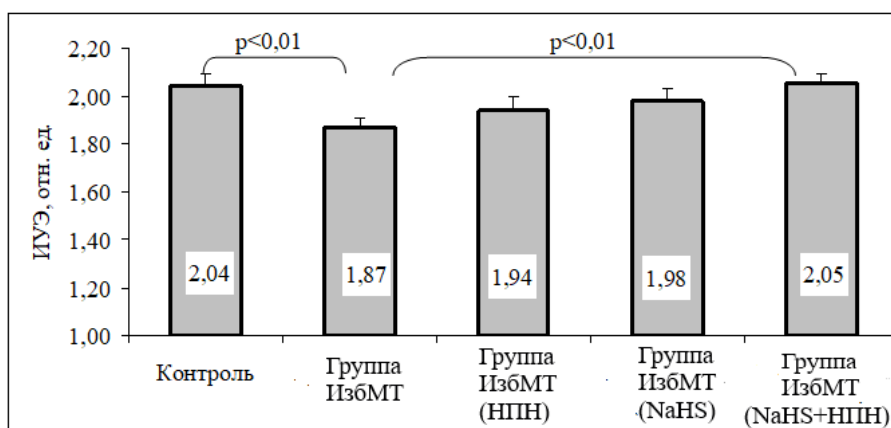


Рисунок 54 – Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) после их инкубации с донорами ГТ по отдельности и в сочетании (NaHS+НПН) у лиц с ИзбМТ: сравнение с данными лиц группы 1 (контроль, без препаратов).

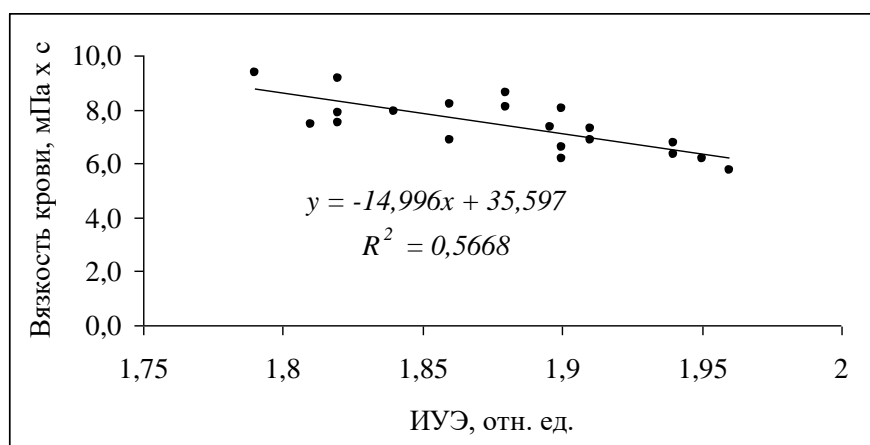


Рисунок 55 – Получение регрессионного уравнения взаимосвязи независимого переменного (предиктора, ИУЭ) и зависимой переменной (регрессант, вязкость крови) по данным гемореологического анализа у лиц группы с избыточной массой тела.

В группе лиц с ИзбМТ было показано, что подставлением в уравнение регрессии, приведенного на Рис. 54 и решение его с величинами ИУЭ на 8 и 11% больше средней величины деформируемости эритроцитов лиц группы лиц с

избыточной массой тела дало в результате снижение величины ВК на 27% (при повышенном ИУЭ на 8%) и на 37% (при повышенном ИУЭ на 11%). Проектирование ВК на основе манипулирования предиктором (деформируемостью эритроцитов) и на модели другого патологического состояния, у лиц с избыточной массой тела, сочетающимся с повышенной ВК, показывает практическую нормализацию текучести крови (Рис. 55).

Что касается агрегации эритроцитов, то НПН снизил ПАЭ на 15% у лиц группы ИзбМТ. После инкубации клеток с NaHS их агрегация уменьшилась на 24%. Хотя в группе контроля ПАЭ был меньше, однако различия не были статистически достоверными. Два донора ГТ вместе снизили агрегацию на 29%, то есть на величину различий с данными группы контроля. Хотя разница ПАЭ между группами сохранялась, но различие не было статистически значимым ($8,04 \pm 2,26$ отн. ед. – группа 1 и $9,10 \pm 1,10$ отн. ед. – группа ИзбМТ (Рис. 56).

Таким образом, полученные данные исследования позволяют заключить, что доноры газотрансмиттеров, оксид азота и сульфид водорода в значительной мере восстанавливают негативно измененные микрореологические характеристики эритроцитов лиц с ИзбМТ, а совместное воздействие на клетки двух доноров (НПН+NaHS) восстанавливает эти ключевые микромеханические показатели эритроцитов.

При инкубации эритроцитов и их восстановленных теней с субстратами синтеза газотрансмиттеров (с L-аргинином и L-цистеином) было получено достоверное повышение деформируемости и снижение агрегации эритроцитов. При этом сочетанное действие гидросульфида натрия и L-аргинина давало больший эффект, чем отдельные микрореологические ответы эритроцитов на эти соединения. Это может свидетельствовать о кросс-общении оксида азота и сероводорода (Wu et al., 2018).

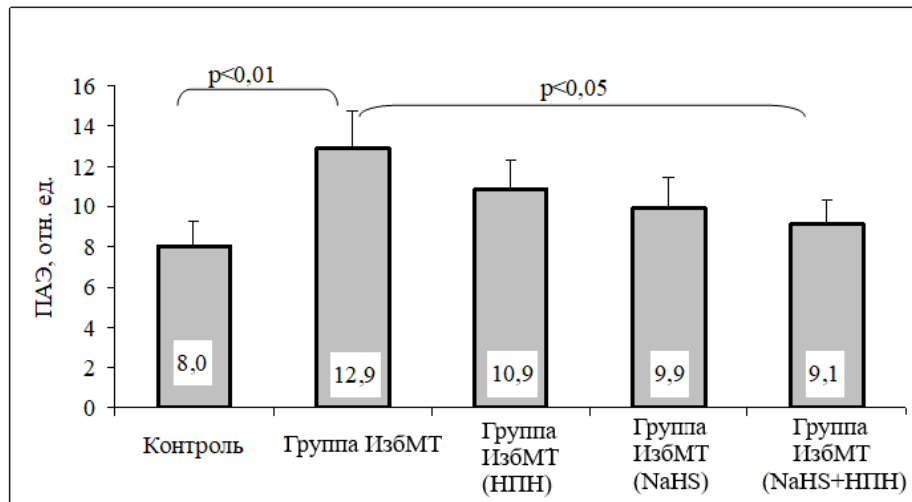


Рисунок 56 – Соотношение величин агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с донорами ГТ по отдельности и в сочетании (NaHS+НПН) у лиц с ИзбМТ: сравнение с данными лиц группы 1 (контроль, без препаратов).

Хотя обычно предполагают, что сероводород и оксид азота реализуют свои эффекты по разным сигнальным путям, тем не менее, было показано, что H_2S и NO взаимно необходимы для паракринной регуляции клеточных ответов в системе кровообращения (Coletta et al., 2012). Известно, что H_2S повышает концентрацию внутриклеточного циклического гуанозин-5'-монофосфат (цГМФ) NO-зависимым образом (Bucci et al., 2010), а также активирует протеинкиназу G (PKG) и ее последующий эффектор, например, спектрины цитоскелета эритроцитов (Grau et al., 2013). Ингибирование эндотелиальной изоформы NO-синтазы или PKG-I устраняет стимулированный H_2S клеточный ответ. Это демонстрирует потребность в NO для передачи сигналов H_2S соседним клеткам, например, сосудам (Coletta et al., 2012). Кроме того, было показано, что при эндотелиальной дисфункции включается сигнальный каскад: $H_2S \rightarrow PI3K \rightarrow CREB \rightarrow eNOS$, тем самым выдвигая на первый план новый аспект взаимодействия H_2S и NO в клеточных ответах (Montanaro et al., 2023). О том, что два газовых медиатора (сульфид водорода и оксид азота) тесно взаимодействуют друг с другом свидетельствуют данные о том, что H_2S , продуцируемый с помощью цистатионин γ -лиазы, поглощает сосудистый NO и контролирует его эндогенные уровни в

периферических артериях. Это способствует более точной и адресной регуляции клеточных функций, в том числе и, вероятно, клеток крови (Szijártó et al., 2018). Все вышесказанное может объяснить более эффективные микрореологические ответы эритроцитов на действие сразу обоих доноров газотрансмиттеров: НПН и NaHS, а также, выявленного в наших опытах, сочетанного влияния стимулятора NO-синтазы, L-аргинина с NaHS и пары «L-цистеин+NaHS».

Таким образом, можно заключить, что сероводород и оксид азота не только влияют на биосинтез друг друга, но и создают новые пути химического сигнального взаимодействия внутри клеток. Они играют регулирующую роль в сердечно-сосудистой системе и клетках крови, при этом используют сходные сигнальные механизмы или молекулярные мишени (Coletta et al., 2012; Montanaro et al., 2023).

Результаты исследования показали, что, нитропруссид натрия, как донор NO существенно влиял на микрореологию эритроцитов, повышая эластичность их мембран и уменьшая агрегатообразование. В большинстве клеток в качестве основной молекулярной мишени для NO рассматривают растворимую гуанилатциклазу (р-ГЦ) (Гусакова с соавт., 2017; Korhonen et al., 2005; King et al., 2014). В наших опытах ингибирование ее активности с помощью соединения ODQ (Bor-Kucukatay et al., 2003) устраняло влияние донора NO на деформируемость и агрегацию интактных эритроцитов и их восстановленных теней. В этой связи необходимо заметить, что в тенях эритроцитов цитоплазма была заменена изотоническим раствором Рингера, следовательно, можно полагать, что фермент р-ГЦ отсутствует. Вместе с тем наблюдаемый достоверный прирост деформируемости восстановленных теней эритроцитов под влиянием НПН ставит вопрос об альтернативной молекулярной мишени для действия NO. Известно, что этот ГТ может активировать цГМФ-независимый регуляторный механизм (Капилевич с соавт., 2003; Cohen et al., 2006). Например, показано, что NO модифицирует АТФ-чувствительные K^+ -каналы (Ishibashi et al., 1998). Кроме того, возможно, и нитрозилирование и транснаитрозилирование белков мембраны и цитоскелета эритроцитов (Cohen et al., 2006). В процессе приготовления теней эритроцитов происходит вымывание внутриклеточного содержимого, включая

растворимую гуанилатциклазу и её субстрат GTP. Это говорит о том, что действие NO на эластичность мембраны эритроцитов не обусловлено образованием цГМФ в цитоплазме, а происходит по другому механизму, каковым может быть нитрозилирование белков мембраны. Эффект ODQ, в таком случае, может быть обусловлен не подавлением активности р-ГЦ, а его побочным действием. Показано, что ODQ ингибирует гем-содержащие ферменты – синтазу окиси азота и ферменты цитохромы P-450, катализирующие образование NO из нитропруссиды (Feelisch et al., 1999). С другой стороны, опыты на интактных эритроцитах и на их восстановленных тенях, с последовательным ингибированием: 1) р-ГЦ с помощью ODQ и 2) NO-синтазы под действием L-NAME, продемонстрировали устранение положительного эффекта стимуляции синтеза оксида азота L-аргинином. Кроме того, мы показали, что метиленовый синий (МТС), как ингибитор активности циклического ГМФ (Yam et al., 2018), почти полностью устранял влияние НПН на деформируемость эритроцитов. После предварительной инкубации эритроцитов с МТС не наблюдалось прироста деформируемости эритроцитов под влиянием нитропруссиды натрия. Что касается агрегации, то прединкубация клеток с МТС значительно уменьшала эффект НПН. Поэтому изменения агрегации в этих условиях не были статистически достоверными.

Следовательно, можно предполагать, что положительные микрореологические эффекты NO в эритроцитах реализуются с помощью разных молекулярных сигнальных путей.

Донор другого газотрансмиттера – сульфид водорода, NaHS, сходным образом с НПН, влиял на деформируемость интактных эритроцитов и на их восстановленные тени. Имеются данные, свидетельствующие о том, что сульфид водорода может активировать р-ГЦ и цГМФ в качестве элемента сигнального пути (King et al., 2014). Результаты нашего исследования показали, что ингибитор активности цГМФ метиленовый синий, как и в опытах с НПН умеренно снизил деформируемость эритроцитов. На фоне действия МТС, NaHS значимо не изменил величины этой микрореологической характеристики эритроцитов. Вместе с тем агрегация эритроцитов хотя и снизилась под влиянием NaHS на фоне

прединкубации клеток с МТС, однако это изменение не было статистически достоверным.

Следовательно, опыты с ингибированием третьего элемента сигнального пути NO в эритроцитах, цГМФ (наряду с p-ГЦ и NO-синтазой), свидетельствуют о том, что в микрореологических ответах эритроцитов на донор H₂S может использоваться NO – сигнальный путь. В этой связи важно дополнить, что ингибитор NOS, L-NAME вызывал зависящее от концентрации снижение базального эндогенного уровня H₂S более, чем на 86%. С другой стороны, нитропруссид натрия (НПН) стимулировал подъем уровней H₂S в клетках (Kulkarni-Chitnis et al., 2019). Эти данные поддерживают гипотезу о тесном взаимодействии (кросс-общении) двух важных ауто- и паракринных регуляторов клеточных функций и объясняют полученные нами более выраженные микрореологические ответы эритроцитов на сочетанное применение двух доноров ГТ: нитропруссида натрия и гидросульфида натрия.

В наших опытах было установлено, что во всех трех группах микрореологические ответы эритроцитов на донор H₂S характеризовались достоверным приростом деформируемости и выраженным уменьшением агрегации эритроцитов. Одним из механизмов положительного влияния сероводорода на микрореологические свойства эритроцитов может быть способность сульфида водорода ингибировать активность фосфодиэстераз (ФДЭ) (Bucci et al., 2010). Было показано, что ингибирование активности ФДЭ и стимулирование аденилатциклазы повышает деформируемость эритроцитов и снижает их агрегацию (Muravyov, Tikhomirova, 2013). Вместе с тем полагают, что основной молекулярной мишенью для H₂S в клетках служат АТР-зависимые калиевые каналы (Ishibashi et al., 1998; Gheibi et al., 2018). В наших опытах инкубация эритроцитов с глибенкламидом, блокатором K_{АТР}-каналов (Gheibi et al., 2018) немного повышала деформируемость клеток. При этом предварительная инкубация эритроцитов с глибенкламидом не устраняла последующего положительного влияния NaHS на микрореологию эритроцитов. Следовательно, K_{АТФ}-каналы мембран эритроцитов не являются молекулярной клеточной

мишенью для сульфида водорода. Можно полагать, что зрелые эритроциты сохранили всего лишь реликты катионных каналов этого типа (Petkova-Kirova et al., 2024).

Известно, что эритроциты постоянно подвергаются воздействию различных механических сил при прохождении через сердечно-сосудистую систему и, особенно, в микрососудистом русле (Lew, Tiffert, 2017). При воздействии механических стимулов (например, напряжения сдвига) кальций проникает в клетку и вызывает отток калия, активирует Ca-зависимые калиевые каналы средней проводимости (Гардош-каналы) (Kaestner et al., 2020). Отток калия сопровождается потерей внутриклеточной жидкости, таким образом, объем RBC пропорционально уменьшается, а их возможность деформации возрастает (Kuck et al., 2020). При проверке этой гипотезы, мы блокировали каналы Гардоша клотримазолом. При этом наблюдали устранение повышения деформируемости и снижения агрегации эритроцитов под влиянием NaHS как у интактных эритроцитов, так и у восстановленных теней клеток. Известно, что под влиянием напряжения сдвига открываются механочувствительные кальциевые каналы эритроцитов, Piezo1 (Kaestner et al., 2020), Ca^{2+} поступает в клетки и стимулирует NO-синтазу (Ugurel et al., 2022) и Гардош-каналы (Rogers, Lew, 2021). Вполне вероятно, что в этих условиях (действие напряжения сдвига на мембраны эритроцитов) по NO-зависимому сигнальному пути, может регулироваться эластичность мембран эритроцитов. При этом протеинкиназа G (PKG), стимулированная с помощью цГМФ, фосфорилирует спектрины цитоскелета эритроцитов, что повышает их деформируемость (Grau et al, 2013; Bizjak et al., 2015). Кроме того, открытие Piezo1 каналов и последующий приток кальция, по-видимому, необходимы для эндогенной продукции NO в ответ на механический сдвиг, что сопровождается фосфорилированием RBC-NOS по сериновым Ser1177 (Kuck, et al., 2022). С другой стороны, H_2S может модулировать KCa каналы (Гардош эффект), что приводит к уменьшению объема эритроцитов для их транзитов через узкие обменные капилляры (Rogers, Lew, 2021).

Таким образом, во время циркуляции эритроциты испытывают большое разнообразие физических и химических раздражителей, таких как давление,

напряжение сдвига, гормоны или изменения осмолярности (Minetti, 2004; von Lindern, 2022). Эти сигналы транслируются в клеточные ответы через ионные каналы, которые модулируют функцию эритроцитов. Так прирост уровня Ca^{2+} в клетках выше порогового уровня (вызванное давлением или напряжением сдвига) способствует дегидратации эритроцитов путем активации кальций-зависимых калиевых каналов (Гардош-каналов или KCa3.1) (Romero, Hernández-Chinea, 2017). Это приводит к выходу K^+ и воды из эритроцитов и изменению объема, плотности и микрореологии эритроцитов (Lew et al., 2007).

Интересно заметить, что сигнальный механизм действия H_2S на клетки может быть связан с сульфгидрацией, которая способствует полимеризации актина, не влияя при этом на его деполимеризацию (Гусакова с соавт., 2017). Следовательно, в эритроцитах этот процесс может модифицировать белки цитоскелета, изменять эластичность мембраны и деформируемость клетки в целом (Bizjak et al., 2015).

Таким образом, получены убедительные факты, свидетельствующие об умеренном, статистически достоверном положительном влиянии доноров NO и H_2S на микрореологические свойства эритроцитов и их восстановленные тени. Вместе с тем, проведенное исследование не дало исчерпывающего ответа на вопрос: какие наиболее вероятные внутриклеточные сигнальные механизмы реализуются при изменениях микрореологии эритроцитов при действии этих газотрансмиттеров. Как было сказано выше, ингибирование активности р-ГЦ с помощью ODQ устраняло положительное влияние на деформируемость эритроцитов донора NO . Известно, что активация р-ГЦ повышает уровень цГМФ (Wobst et al., 2015). Далее, этот вторичный мессенджер модулирует фосфодиэстеразу, ионные каналы мембраны или цГМФ-зависимую протеинкиназу для регулирования физиологических функций, включая вазодилатацию, агрегацию и деформируемость эритроцитов (Starzyk et al., 1999; Derbyshire, Marletta, 2012). Такое разнообразие эффектов цГМФ может объяснить разные ответы клеток на ингибирование ее активности. Известно, что изменение агрегации эритроцитов связано с метаболизмом Ca^{2+} (Muravyov et al., 2015). В свою очередь, стимулирование гуанилатциклазного сигнального пути приводит к ингибированию

входа Ca^{2+} в клетки (Cohen et al., 2006). Сходные агрегационные ответы на НПН и NaHS эритроцитов, прединкубированных, с ODQ и L-NAME, могут быть связаны с активацией Ca^{2+} /кальмодулин механизмов клеточной регуляции (Kaestner et al., 2020). Кроме того, можно полагать, что хотя H_2S и NO модулируют независимые сигнальные пути, в то же время имеется ряд свидетельств кросс-общения между этими двумя газотрансмиттерами (Coletta et al., 2012; Montanaro et al., 2023).

Таким образом, данные, полученные в этом исследовании, свидетельствуют о заметном положительном влиянии доноров газотрансмиттеров на микрореологические свойства эритроцитов и их восстановленных теней.

Для исследования нарушений и восстановлений клеточных функций в сосудистой системе, используется модель инкубации клеток с альфа-1-агонистом адренорецепторов фенилэфрином (Choi et al., 2022). При этом известно, что человеческие эритроциты имеют мембранные α -1-адренорецепторы (Sundquist et al., 1992). При инкубации эритроцитов с фенилэфрином наблюдали небольшое достоверное снижение деформируемости и более чем на 70% увеличение агрегации эритроцитов. Известно, что изменение агрегации эритроцитов связано с активацией входа Ca^{2+} в эритроциты (Muravyov, Tikhomirova, 2012). Тогда как при стимулировании NO-зависимого сигнального пути в клетках происходит ингибирование входа этого катиона в клетки (Cohen et al., 2006). Наши данные подтверждают это предположение. Предварительная инкубация эритроцитов с фенилэфрином не устраняла прирост деформируемости и выраженное снижение агрегации эритроцитов под влиянием доноров ГТ, нитропруссид натрия и NaHS. Важно заметить, что субстраты эндогенного синтеза (стимуляторы активности NOS и цистионин- γ -лиазы) L-аргинин и L-цистеин умеренно повышали деформируемость эритроцитов и снижали до исходного уровня, повышенную фенилэфрином, агрегацию клеток. Таким образом, доноры газотрансмиттеров и субстраты их эндогенного синтеза устраняли негативные изменения микрореологических характеристик эритроцитов, вызванные стимулированием альфа-1-адренорецепторов фенилэфрином.

Выводы

1. Методами корреляционного анализа было показано, что у здоровых лиц макрореологические (вязкость плазмы и гематокрит) и микрореологические (деформируемость и агрегация эритроцитов) характеристики, оказывают сходный по величине вклад в текучесть цельной крови. При этом транспортный потенциал крови существенно больше зависит от ее текучести (на 63%), чем от концентрации эритроцитов (Hct, на 10%).
2. Доноры газотрансмиттеров (NO и H₂S), такие как нитропруссид натрия и гидросульфид водорода, а также субстраты их синтеза L - аргинин и L - цистеин, положительно влияют на микрореологические свойства эритроцитов и на их восстановленные тени. Они статистически достоверно повышают деформируемость на 4-11% и снижают агрегацию эритроцитов более чем на 30%. На модели микрореологических ответов эритроцитов было выявлено, что два донора ГТ при их совместном действии проявляли достоверно больший положительный эффект. Кроме того, на моделях симпатической активации, с помощью фенилэфрина, было найдено, что негативные изменения их микрореологических характеристик практически полностью восстанавливаются под влиянием доноров газотрансмиттеров и L-аргинина и L-цистеина.
3. У лиц с повышенным АД выявлено увеличение ВК за счет прироста ВП, АЭ и снижения их деформируемости. Это сочеталось с существенным повышением степени неньютоновости крови и уменьшением ее транспортного потенциала. Корреляционный анализ показал достоверную отрицательную связь деформируемости эритроцитов с показателем неньютоновости крови и положительную с индексом эффективности транспорта кислорода кровью. Установленное у лиц с повышенным АД снижение деформируемости эритроцитов и существенное влияние этой микрореологической характеристики на текучесть крови, успешно корректировалось с помощью доноров ГТ и субстратов их синтеза.
4. У лиц с ИзбМТ так же, как в группе лиц с артериальной гипертонией, установлено повышение ВК за счет прироста ВП, агрегации эритроцитов и снижение их деформируемости. Это сочеталось с существенным повышением

степени неньютоновости крови и уменьшением ее транспортного потенциала. Корреляционный анализ показал достоверную отрицательную связь деформируемости эритроцитов с показателем неньютоновости крови и положительную, с индексом эффективности транспорта кислорода кровью. С помощью доноров ГТ и субстратов их синтеза негативные изменения микрореологических характеристик эритроцитов были успешно скорректированы до показателей здоровых лиц.

5. Опыты с ингибированием рГЦ и NOS показали, что положительные микрореологические ответы на оксид азота и L-аргинин в основном связаны с активацией гуанилатциклазного сигнального каскада. Что касается сероводорода, то в эритроцитах этот ГТ может использовать, для своих микрореологических эффектов, как ГЦ - цГМФ сигнальный путь, так и кальций-зависимые калиевые каналы (Гардош-каналы).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбертс, Б. Молекулярная биология клетки: В 3 т. /Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рафф, К. Робертс, Дж. Уотсон // –М. – Мир. – 1994. – 517 с.
2. Баталова, Е.А. Роль концентрации эритроцитов в изменениях текучести цельной крови и ее транспортного потенциала / Е.А. Баталова, А.В. Муравьев, П.В. Михайлов // Ярославский Педагогический Вестник (серия "Физико-математические и естественные науки"). – 2010. – № 1. – С. 95–101.
3. Борисюк, М.В. Системный анализ механизмов регуляции сродства крови к кислороду. Внутриэритроцитарная регуляция сродства гемоглобина к кислороду / М.В. Борисюк // Успехи физиол. наук. – 1983. – Т. 14. – № 1. С. 85–101.
4. Галенок, В.А. Гемореология при нарушениях углеводного обмена / В.А. Галенок, Е.В. Гостинская, В.Е. Диккер // – Новосибирск. – Наука. – 1987. – 258 с.
5. Горизонтов, П.Д. Гомеостаз, его механизмы и значение / П.Д. Горизонтов // Гомеостаз. 2-е изд., Под ред. П.Д. Горизонтова. – М. – Медицина. – 1981. – С. 5–28.
6. Гусакова, С.В. Влияние монооксида углерода и сероводорода на трансмембранный ионный транспорт / С.В. Гусакова, И.В. Ковалев, Ю.Г. Бирулина, Л.В. Смаглий, И.В. Петрова // Биофизика. – Т. 62. – № 2. – С. 290–297.
7. Дедов, И.И. Ожирение. Клинические рекомендации / И.И. Дедов, Н.Г. Мокрышева, Г.А. Мельниченко, Е.А. Трошина с соавт. // Consilium Medicum. – 2021. – Т. 23. – № 4. – С. 311–325.
8. Джонсон, П. Периферическое кровообращение / П. Джонсон // пер. с англ. Л. Василец, Г. Копылова, Т. Кузнецова, Н. Соколова, науч. ред. Г.И. Косицкий. – Медицина. – 1982. – 440 с.
9. Доссон, Р. Справочник биохимика / Р. Доссон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К.Джонс // М. – Мир. – 1991. – 544 с.

10. Ершов, Э.Б. Распространение коэффициента детерминации на общий случай линейной регрессии, оцениваемой с помощью различных версий метода наименьших квадратов (рус., англ.) // ЦЭМИ РАН Экономика и математические методы. – Москва: ЦЭМИ РАН. – 2002. – Т. 38. – вып. 3. – С. 107–120.
11. Зинчук, В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В.В. Зинчук // Усп. физиол. наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С. 66–78.
12. Ивенс, И. Механика и термодинамика биологических мембран / И. Ивенс, Р. Скейлак // М. – Мир. – 1982. – 304 с.
13. Каро, К. Механика кровообращения / К. Каро, Т. Педли, Р. Шротер, У. Сид // пер. с англ. Е.В. Лукошкова, А.Н. Рогоза, науч. ред. С.А. Регирер, В.М. Хаютина. – М. – Мир. – 1981. – 624 с.
14. Капилевич, Л.В. Роль циклических нуклеотидов в регуляции тонуса легочных артерий кролика / Л.В. Капилевич, А.В. Носарев, И.В. Ковалев, Е.Ю. Дьякова, М.Б. Баскаков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 6. – С. 714–717.
15. Кобалава, Ж.Д. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации / Ж.Д. Кобалава, А.О. Конради, С.В. Недогода, Е. В. Шляхто с соавт. // Российский кардиологический журнал. – 2024. – Т. 29. – № 9. – С. 230–329.
16. Кириченко, М.Н. Применение методов светорассеяния в медицине и экологии / М.Н. Кириченко, Л.Л. Чайков, М.А. Казарян // Альтернативная энергетика и экология (ISJAEE). – 2019. – № 1/3. – С. 80–103.
17. Куприянов, В.В. Микроциркуляторное русло / В.В. Куприянов, Я.Л. Караганов, В.И. Козлов // М. – Медицина. – 1975. – 216 с.
18. Левтов, В. Реология крови / В.А. Левтов, С.А. Регирер, Н.Х. Шадрина // М. – Медицина. – 1982. – 272 с.
19. Лиховецкая, З.М. Реология крови в гематологии и трансфузиологии / З.М. Лиховецкая // Патифизиология крови. – М. – 2004. – С. 67–72.

20. Лобов, Г.И. Роль сероводорода в регуляции фазных и тонических сокращений лимфатических сосудов и узлов / Г.И. Лобов, Ж.В. Непиющих // 2020.
21. Лобов, Г.И. Роль NO и H₂S в регуляции тонуса церебральных сосудов при хронической болезни почек / Г.И. Лобов, И.Б.Соколова // 2020.
22. Лобов, Г.И. Роль K⁺-каналов и сероводорода в регуляции тонуса церебральных артерий нефроэктомированных крыс / Г.И. Лобов, Г.Т. Иванова // Интегративная физиология. – 2021. – Т. 2. – № 1. – С. 88–95.
23. Лобов, Г.И. Роль оксида азота и эндотелиальной гиперполяризации в релаксации брыжеечных артерий крыс с метаболическим синдромом / Г.И. Лобов, И.А. Царева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – Т. 178. – № 10. – С. 406–411.
24. Муравьев, А.В. Новый капиллярный полуавтоматический вискозиметр / А.В. Муравьев, В.Е. Туров, И.В. Колбаско // Мат. международн. конф. «Гемореология в микро- и макроциркуляции». – Ярославль. – 2005. – С. 28.
25. Муравьев, А.В. Гемореология (Экспериментальные и клинические аспекты реологии крови) / А.В. Муравьев, С.В. Чепоров // Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского. – 2009. – 178 С.
26. Муравьев, А.В. Влияние газотрансммиттеров на мембранную эластичность и микрореологию эритроцитов / А.В. Муравьев, П.В. Авдонин, И.А. Тихомирова, С.В. Булаева, Ю.В. Малышева // Биологические мембраны. – 2019. – Т. 36. – № 4. – С. 281–289.
27. Муравьев, А.В. Коррекция микрореологических характеристик эритроцитов донорами газотрансммиттеров / А.В. Муравьев, И.А. Тихомирова, Е.П. Петроченко, С.В. Булаева, Е.Л. Волкова, А.В. Замышляев //В сборнике: Микроциркуляция, реология крови и кислородный гомеостаз. Сборник материалов международного симпозиума в рамках ежегодной научно-практической конференции "Чтения Ушинского". Под научной редакцией А.В. Муравьева, В.В. Зинчука. – Ярославль. – 2022. – С. 137–142.

28. Муравьев, А.В. Роль газовых медиаторов (СО, NO И H₂S) в регуляции кровообращения: анализ участия микрореологии клеток крови / А.В. Муравьев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20. – № 1 (77). – С. 91–99.
29. Новицкий, В.В. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая, Т.С. и др. // Бюллетень сибирской медицины – 2006. – Т. 5. – № 2. – С. 62–69.
30. Новицкий, В.В. Патофизиология / В.В. Новицкий, Е.Д. Гольдберг, О.И. Уразова // ГЭОТАР-Медиа.—. 2009. – Т. 1. – 848 с.
31. Пятакова, Н.В. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме действия лекарственных средств / Н.В. Пятакова, И.С. Северина // Биомед.химия. – 2012. – Т. 58. – № 1. – С. 32–42.
32. Савицкий, Н.Н. Некоторые методы исследования и функциональной оценки системы кровообращения. / Н.Н. Савицкий // М. – Медгиз – 1956. – 329 с.
33. Северина, И.С. Растворимая форма гуанилатциклазы в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота и в регуляции процесса агрегации тромбоцитов. / И.С. Северина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995.—. Т. 3. – С. 230–235.
34. Северина, И.С. Растворимая форма гуанилатциклазы в молекулярном механизме физиологических эффектов / И.С. Северина // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – С. 939–997.
35. Селезнев, С.А. Комплексная оценка кровообращения в экспериментальной патологии / С.А. Селезнев, С.М. Вашетина, Г.С. Мазуркевич // Ленинград. – Медицина – 1976. – 207 с.
36. Соколова, И.А. Синдром повышенной вязкости крови // И.А. Соколова, В.Б. Кошелев // Технологии живых систем. – 2011. – Т. 8. – № 6. – С. 78–81.
37. Соколова, И.А. Аномальная агрегация эритроцитов в условиях течения и в покое / И.А. Соколова, В.Б. Кошелев, А.А. Фабричнова, А.А. Глазков // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2024. – № 1.

38. Тихомирова, И.А. Влияние некоторых физико–химических констант плазмы на процесс агрегатообразования эритроцитов / И.А. Тихомирова, А.В. Муравьев, П.В. Михайлов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – № 2 (14). – С. 51–54.
39. Тихомирова, И.А. Роль экстрацеллюлярных, мембранных и внутриклеточных факторов в процессе агрегации эритроцитов /И.А. Тихомирова // автореф. дис. д–ра. биол. наук: 03.00.13. –2006. – 47 с.
40. Уилкинсон, У.Л. Неньютоновские жидкости: Гидромеханика, перемешивание и теплообмен / У.Л. Уилкинсон // Пер. с англ. З.П. Шульмана; Под ред. А. В. Лыкова. – М. – Мир. – 1964. – 216 с.
41. Фирсов, Н.Н. Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию: монография / Н.Н. Фирсов, П.Х. Джанашия // Росс. гос. мед. Ун-т. – М. – 2008. – 276 с.
42. Фолков, Б. Кровообращение / Б. Фолков, Э. Нил // пер. с англ. Н.М. Верич. – М. – Медицина. – 1976. – 462 с.
43. Холл, Дж. Э. Медицинская физиология по Гайтону и Холлу / Дж. Э. Холл // Дж. Э. Холл. – 2–е, испр. и доп. – М. – Логосфера. – 2018. – 1328 с.
44. Шошенко, К.А. Архитектоника кровеносного русла / К.А. Шошенко, А.С. Голубь // Новосибирск – Наука. – 1982. – 168 с.
45. Эккерт, Р. Физиология животных: Механизмы адаптации / Р. Эккерт, Д. Ренделл, Дж. Огастин // М. – Мир. – 1991. – 424 с.
46. Abbasian, M. Effects of different non-Newtonian models on unsteady blood flow hemodynamics in patient-specific arterial models with in-vivo validation / M. Abbasian, M. Shams, Z. Valizadeh, A. Moshfegh, A. Javadzadegan, S. Cheng // Comput Methods Programs Biomed. – 2019.– 186. – P. 105–185.
47. Abbasian, M. Effects of different non-Newtonian models on unsteady blood flow hemodynamics in patient-specific arterial models with in-vivo validation / M. Abbasian, M. Shams, Z. Valizadeh, A. Moshfegh, A. Javadzadegan, S. Cheng // Comput Methods Programs Biomed. – 2020. – Vol. 186:105185. doi: 10.1016/j.cmpb.2019.105185.

48. Abbasian, M. Synthesis and characterization of poly methyl methacrylate-b-polystyrene copolymer multi-walled carbon nanotubes via ATRP and NMRP techniques / M. Abbasian, S.G. Karaj-Abad, M. Hosseinzadeh, S. Asadi, S. Esmaeily Shoja // *Int. J. New. Chem.*, 2023. – Vol. 10. – Issue 2. – P. 65–83.
49. Ajmani, R. S. Hypertension and hemorheology / R. S. Ajmani // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 1997. – Vol. 17. – № 6. – P. 397–420.
50. Alexy, T. Rheologic behavior of sickle and normal red blood cell mixtures in sickle plasma: implications for transfusion therapy / T. Alexy, E. Pais, J. K. Armstrong et al. // *Transfusion.* – 2006. – Vol. 46. – № 6. – P. 912–918.
51. Alexy, T. Physical Properties of Blood and their Relationship to Clinical Conditions / T. Alexy, J. Detterich, P. Connes, K. Toth, E. Nader, P. Kenyeres, J. Arriola–Montenegro, P. Ulker, M.J. Simmonds // *Front Physiol.* – 2022. – Vol. 13. doi: 10.3389/fphys.2022.906768. PMID: 35874542; PMCID: PMC9298661.
52. Ali, M.Y. Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? / M.Y. Ali, C.Y. Ping, Y.Y. Mok, L. Ling, M. Whiteman, M. Bhatia, P.K. Moore // *Br J Pharmacol.* – 2006 – Vol. 149, № 6. – P. 625–34.
53. Angelkort, B. Blood Fluidity and Coagulation Phenomena in Chronic Arterial Occlusive Disease / B Angelkort, K Boateng, N MaurinView et al. // *Journal of International Medical Research.* – 1980. – Vol. 8. – №3. – P. 242–6.
54. Angelkort, B. Influence of risk factors and coagulation phenomena on the fluidity of blood in chronic arterial occlusive disease / B Angelkort, H Kieseewetter // *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* – 1981 – Vol.156 – P.185–8.
55. Artmann, G.M. Microscopic photometric quantification of stiffness and relaxation time of red blood cells in a flow chamber / G.M. Artmann // *Biorheology.* – 1995. – Vol. 32. – P. 553–570.
56. Balligand, J.L. Nitric oxide synthases and cardiac muscle. Autocrine and paracrine influences. *Arterioscler* / J.L. Balligand, P.J. Cannon // *Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17. – P. 1846–1858.

57. Baskurt, O.K. Cellular determinants of low shear blood viscosity / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // *Biorheology*. – 1997. – Vol. 34. – № 3. – P. 235–247.
58. Baskurt, O.K. Blood rheology and hemodynamics / O.K. Baskurt, H.J. Meiselman // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2003. – Vol. 29. – № 5. – P. 435–450.
59. Baskurt, O.K. Hemorheology and vascular control mechanisms / O.K. Baskurt, O. Yalcin, H.J. Meiselman / *Clinical Hemorheology and Microcirculation* – 2004. – Vol. 30. – № 3–4. – P. 69–78.
60. Baskurt, O.K. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // *Indian J. Exp. Biol.* – 2007. – Vol. 45. – № 1. – P. 25–31.
61. Baskurt, O.K. Handbook of Hemorheology and Hemodynamics / O.K. Baskurt, M.R. Hardeman, M.W. Rampling and Meiselman H.J. // *Biomedical and Health Research*. – 2007. – Vol. 69. – 468 p.
62. Baskurt, O.K. In vivo correlates of altered blood rheology / O.K. Baskurt // *Biorheology*. – 2008. – Vol. 45. – № 6.–. P. 629–38.
63. Beltowski, J. Hydrogen Sulfide and Endothelium-Dependent Vasorelaxation / J. Beltowski, A. Jamroz-Wisniewska // *Molecules*. – 2014. – Vol. 19. – P. 21183–21199.
64. Bennekou, P. The voltage-gated non-selective cation channel from human red cells is sensitive to acetylcholine / P. Bennekou // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1993. – Vol. 1147. – № 1. – P. 165–167.
65. Bennekou, P. The human red cell voltage-regulated cation channel. The interplay with the chloride conductance, the $\text{Ca}(2^+)$ -activated $\text{K}(^+)$ channel and the $\text{Ca}(2^+)$ pump / P. Bennekou, B.I. Kristensen, , P. Christophersen // *J Membr Biol*. – 2003. – Vol. 195(1). – P. 1–8.
66. Bennett, V. Spectrin-based membrane skeleton: a multipotential adaptor between plasma membrane and cytoplasm / V. Bennett // *Physiol Rev*. – 1990. – Vol. 70. – № 4. – P. 1029–65.
67. Bishop, J.J. Effect of erythrocyte aggregation on velocity profiles in venules / J.J. Bishop, P.R. Nance, A.S. Popel et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. – 2001. – Vol. 280. – № 1. – P. 222–236.

68. Bishop, J.J. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules / J.J. Bishop, P.R. Nance, A.S. Popel et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 286. – № 1. – P. 113–120.
69. Bizjak, D.A. Increase in red blood cell-nitric oxide synthase dependent nitric oxide production during red blood cell aging in health and disease: A study on age dependent changes of rheologic and enzymatic properties in red blood cells. / D.A. Bizjak, C. Brinkmann, W. Bloch, M. Grau // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol.10. – № 4. – e0125206. doi.org/10.1371/journal.pone.0125206.
70. Bor-Kucukatay, M. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability / M. Bor-Kucukatay, B. Wenby, H. J. Meiselman et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 284. – № 5. – P. 1577–1584.
71. Brunati, M. The Lyn-catalyzed Tyr phosphorylation of the transmembrane band 3 protein of human erythrocytes / M. Brunati, L. Bordin, G. Clari, V. Moret // *Eur. J. Biochem.* – 1996. – Vol. 240. – P. 394–399.
72. Brun, J.F. Longitudinal study of relationships between red cell aggregation at rest and lactate response to exercise after training in young gymnasts / J.F. Brun, J.F. Monnier, A. Charpiat et al. // *Clin. Hemorheol.* – 1995. – Vol. 15. – P. 147–156.
73. Brun, J.F. Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning / J.F. Brun // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2002. – Vol. 26. – № 2. – P. 63–79.
74. Brun, J.F. Exercise hemorheology: Moving from old simplistic paradigms to a more complex picture / J.F. Brun, E. Varlet-Marie, A.J. Romain, M. Guiraudou, de E.R. Mauverger // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2013. – Vol. 55. – № 1. – P.15–19.
75. Brun, J.F. Blood rheology as a mirror of endocrine and metabolic homeostasis in health and disease1 / J.F. Brun, E. Varlet-Marie, M. Richou, J. Mercier, E. Raynaud de Mauverger // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2018. – Vol. 69. – № 1–2. – P. 239–265.
76. Bucci, M. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity / M. Bucci, A. Papapetropoulos, V. Vellecco, Z. Zhou, A. Pyriochou, C.

- Roussos, F. Roviezzo, V. Brancialeone, G. Cirino // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2010. – Vol. 30. – № 10. – P. 1998–2004.
77. Cabrales, P. Plasma viscosity regulates systemic and microvascular perfusion during acute extreme anemic conditions / P. Cabrales, AG. Tsai. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – № 5. – P. 2445–52.
 78. Carvalho, F.A. Transient inability to manage proteobacteria promotes chronic gut inflammation in TLR5-deficient mice / F.A. Carvalho, A.V. Maria, J.M. Braz Nogueira, J. Guerra, J. Martins-Silva, C. Saldanha // *Cell Host Microbe. Clin Hemorheol Microcirc.* – 2006. – Vol. 35. – № 1–2. – P.341–7.
 79. Carlisi, M. Comparison between whole blood viscosity measured and calculated in subjects with monoclonal gammopathy of undetermined significance and in patients with multiple myeloma: Re-evaluation of our survey / M. Carlisi, S. Mancuso, R. Lo Presti, S. Siragusa, G. Caimi // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2021. – Vol. 79. – № 3. – P. 475–483.
 80. Carlisi, M. Calculated whole blood viscosity and albumin/fibrinogen ratio in patients with a new diagnosis of multiple myeloma: relationships with some prognostic predictors / M. Carlisi, R. Lo Presti, S. Mancuso et al. // *Biomedicines.* – 2023. – Vol. 11. – № 3. – P. 964.
 81. Carlisi, M. Calculated haemorheological profile and laboratory parameters in new diagnosed multiple myeloma patients: retrospective analysis according to survival / M. Carlisi, R. Lo Presti, G. Caimi et al. // *Ther Adv Hematol.* – 2024. – Vol. 15. P. 1–14.
 82. Chen, K. Nitric oxide production pathways in erythrocytes and plasma / K. Chen, A.S. Popel // *Biorheology.* – 2009. – Vol. 46. – P. 107–119.
 83. Chen Q.F. Peripheral Arterial Disease in Type 2 Diabetes Is Associated with an Increase in Fibrinogen Levels / Q.F. Chen, D. Cao, T.T. Ye, H.H. Deng, H. Zhu // *Int J Endocrinol.* – 2018.– Nov 8;2018:3709534. doi: 10.1155/2018/3709534.
 84. Chien, S. Red cell aggregation by macromolecules: roles of surface adsorption and electrostatic repulsion / S. Chien, K.M. Jan // *J Supramol Struct.* – 1973. – Vol. 1. – № 4. – P. 385–409.

85. Chien, S. Viscoelastic properties of human blood and red cell suspensions / S. Chien, R.G. King, R. Skalak, S. Usami, A.L. Copley // *Biorheology*. – 1975. – Vol. 12. – № 6. – P.341–6.
86. Chien, S. Clinical rheology in cardiovascular disease / Chien S. // *Bibl Anat.* – 1977. – Vol. 16. – № 2. – P. 472–4.
87. Chien, S. Blood rheology in myocardial infarction and hypertension / S. Chien // *Biorheology*. – 1986. – Vol. 23. – P. 757–762.
88. Cicco, G. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension / G. Cicco, A. Pirrelli // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 1999. – Vol. 21. – № 3–4. – P. 169–177.
89. Cilek, N. Signaling mechanisms in red blood cells: A view through the protein phosphorylation and deformability / N. Cilek, E. Ugurel, E. Goksel, O. Yalcin // *J Cell Physiol.* – 2024. – Vol. 239. – № 3. – e30958. doi: 10.1002/jcp.30958.
90. Cohen, C.M. Regulation and post-translational modification of erythrocyte membrane and membrane-skeletal proteins / C.M. Cohen, P. Gascard // *Semin Hematol.* – 1992. – Vol. 29. – № 4. – P. 244–92.
91. Cohen, R.I. Nitric oxide modifies the sarcoplasmic reticular calcium release channel in endotoxemia by both guanosine-3',5' (cyclic) phosphate-dependent and independent pathways / R.I. Cohen, D. Wilson, S.F. Liu // *Crit Care Med.* – 2006. – Vol. 34. – № 1. – P. 173–81.
92. Choi, J.E. Yap1-mediated Flr1 expression reveals crosstalk between oxidative stress signaling and caffeine resistance in *Saccharomyces cerevisiae* / J.E. Choi, S.H. Heo, W.H. Chung // *Front. Microbiol.* – 2022. – Vol. 13. – doi: 10.3389/fmicb.2022.1026780.
93. Coletta, C. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation / C. Coletta, A. Papapetropoulos, K. Erdelyi, G. Olah et al. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2012. – Vol. 109. – № 23. – P. 9161–6.
94. Connes, P. Pathophysiology of exertional death associated with sickle cell trait: can we make a parallel with vaso-occlusion mechanisms in sickle cell disease? /

- P. Connes, K.G. Harmon, M.F. Bergeron // *Br J Sports Med.* – 2013. – Vol. 47. – № 4 – P. 190.
95. Copley, A. L. Apparent viscosity and wall adherence of blood systems. Flow properties of blood and other biological systems. / A. L. Copley // Pergamin Press. – 1960. – P. 97–117.
 96. Creteur, J. Normovolemic hemodilution improves oxygen extraction capabilities in endotoxic shock / J. Creteur, D. De Backer, Q.H. Sun // *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology.* – 2001 – Vol.91. – № 4. – P.1701–7.
 97. Danielczok, J.G. Red Blood Cell Passage of Small Capillaries Is Associated with Transient Ca^{2+} -mediated Adaptations / J.G. Danielczok, E. Terriac, L. Hertz, P. Petkova-Kirova, F. Lautenschläger, M.W. Laschke, L. Kaestner // *Front Physiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 979. doi: 10.3389/fphys.2017.00979.
 98. Das, B. Redblood cell velocity profiles in skeletal muscle venules at low flow rates are described by the Casson model / B. Das, J.J. Bishop, S. Kim et al. // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2007. – Vol. 36. – № 3. – P. 217–233.
 99. De Oliveira, S. Modulation of erythrocyte deformability by PKC activity / S. De Oliveira, A.S. Silva-Herdade, C. Saldanha / *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2008. – Vol. 39. – № 1–4. – P 363–73.
 100. Derbyshire, E.R. Structure and regulation of soluble guanylate cyclase / E.R. Derbyshire, M.A. Marletta // *Annu Rev Biochem.* – 2012. – Vol 81. – P. 533–59.
 101. De Simone, G. Risposta cardiovascolare al "test al freddo" in soggetti obesi. Effetto della dieta ipocalorica normosodica [Cardiovascular response to the cold test in obese subjects. Effect of a hypocaloric, normal sodium diet] / De G. Simone, M. Mancini, S. Turco, T. Marotta et al. / *Minerva Endocrinol.* – 1990. Vol. 15. – № 4. – P. 231–3.
 102. Dhas, Y. Association of vitamin D deficiency with insulin resistance in middle-aged type 2 diabetics / Y. Dhas, J. Banerjee, G. Damle, N. Mishra // *Clin Chim Acta.* – 2019. – Vol. 492. – P. 95–101.

103. Diederich, L. On the Effects of Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide on Red Blood Cell Deformability / L. Diederich, T. Suvorava, R. Sansone, TCS 4th Keller, F. Barbarino et al. // *Front Physiol.* – 2018. – 9:332. doi: 10.3389/fphys.2018.00332.
104. Dintenfass, L. Blood viscosity factors in evaluation of submaximal work output and cardiac activity in men / L. Dintenfass, B. Lake // *Angiology.* – 1977. – Vol. 28. – P. 788–793.
105. Dintenfass, L. Clinical Applications of hemorheology / L. Dintenfass // In.: *The Rheology of blood, bloodvessels and associated tissues.* – Oxford Press. – 1981. – P. 22–50.
106. Dodge, J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes / J. Dodge, C. Mitchell, D. Hanahan // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1963. – Vol. 100. – № 1. – P. 119–130.
107. Ellsworth, M.L. The erythrocyte as a regulator of vascular tone / M.L. Ellsworth, T. Forrester, C.G. Ellis, H.H. Dietrich // *Am J Physiol.* – 1995. – Vol. 269. – P. 2155–2161.
108. Evans, E.A. Structure and deformation properties of red blood cells: concepts and quantitative methods / E.A. Evans // *Methods Enzymol.* – 1989. – Vol. 173. – P. 3–35.
109. Fan, F.C. Effects of hematocrit variations on regional hemodynamics and oxygen transport in the dog / F.C. Fan, R.Y. Chen, G.B. Schuessler, S. Chien // *Am J Physiol.* – 1980. – Vol. 238. – № 4. – P. 545–22.
110. Farina, J.Jr. Comparative study of isovolemic hemodilution with 3% albumin, dextran-40, and prophylactic enoxaparin (LMWH) on thrombus formation at venous microanastomosis in rats / J.Jr. Farina, C.E. Piccinato, A.D. Campos, M.A. Rossi // *Microsurgery.* – 2006. – Vol. 26. – № 6. – P.456–64.
111. Feelisch, M. The soluble guanylyl cyclase inhibitor 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a]quinoxalin-1-one is a nonselective heme protein inhibitor of nitric oxide synthase and other cytochrome P-450 enzymes involved in nitric oxide donor bioactivation

- / M. Feelisch, P. Kotsonis, J. Siebe, B. Clement, H.H. Schmidt // *Mol Pharmacol.* – 1999. – Vol. 56. – № 2. – P. 243–53.
112. Fónay, K. Secunder polycythaemia okozta hyperviscositas hatása a kisvérköri haemodinamikára és gázcserére idült cor pulmonales betegeknél [The effect of high blood viscosity, caused by secondary polycythemia, on pulmonary circulation and gas exchange in patients with chronic cor pulmonale] / K. Fónay, K. Zámbó, B. Radnai // *Orv Hetil.* – 1994. – Vol. 135. – № 19. – P. 1017–21.
 113. Forconi, S. Do hemorheological laboratory assays have any clinical relevance? / S. Forconi, M. Guerrini // *Clin. Hemorheol.* – 1996. – Vol. 16. – № 1. – P. 17–21.
 114. Foresto, P. Hemorheological alterations in hypertensive patients / P. Foresto, M. D'Arrigo, F. Filippini et al. // *Medicina (B Aires).* – 2005. – Vol. 65. – № 2. – P. 121–125.
 115. Förster, E. Methods of correlation and regression analysis / E. Förster, B. Renz // M. – Finance and Statistics. – 1981. – 302 p.
 116. Fu, G. X. Erythrocyte rheological properties but not whole blood and plasma viscosity are associated with severity of hypertension in older people / G. X. Fu, M. Ji, L. Han Z. et al. // *Z Gerontol Geriatr.* – 2017. – Vol. 50. – № 3. – P. 233–8.
 117. Gallagher, M. What are the threats to successful brain and cognitive aging / M. Gallagher, O.C. Okonkwo, S.M. Resnick, W.J. Jagust, T.L.S. Benzinger, P.R. Rapp // *Neurobiol Aging.* – 2019. – Vol. 83. – P. 130–134.
 118. Gardner, K. Modulation of spectrin-actin assembly by erythrocyte adducin / K. Gardner, V. Bennett // *Nature.* – 1987. – Vol. 328 (6128). – P. 359–62.
 119. Gheibi, S. Regulation of vascular tone homeostasis by NO and H₂S: Implications in hypertension / S. Gheibi, S. Jeddi, K. Kashfi, A. Ghasemi // *Biochem Pharmacol.* – 2018. – Vol. 149. – P. 42–59.
 120. Govekar, R.B. Protein kinase C isoforms in human erythrocytes / R.B. Govekar, S.M. Zingde // *Ann Hematol.* – 2001. – Vol. 80. – № 9. – P. 531–4.

121. Grau, M. RBC-NOS dependent S-nitrosylation of cytoskeletal proteins improves RBC deformability / M. Grau, S. Pauly, J. Ali, K. Walpurgis. M. Thevis, W. Bloch // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – e. 56759.
122. Grau, M. Diabetes: A Multifaceted Disorder / M. Grau, C. Pericas // Biomedicines. – 2022. – Vol. 14,10. – № 7. – P. 1698.
123. Green, B.D. GLP-1 and related peptides cause concentration-dependent relaxation of rat aorta through a pathway involving KATP and cAMP / B.D. Green, K.V. Hand, J.E. Dougan, B.M. McDonnell, R.S. Cassidy, D.J. Grieve // Arch Biochem Biophys. – 2008. – Vol. 478. – № 2. – P. 136–42.
124. Giuffrè, A. Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology / A. Giuffrè, J.B. Vicente // Oxid Med Cell Longev. – 2018:6290931. doi: 10.1155/2018/6290931.
125. Harkness, J. The viscosity of human blood plasma; its measurement in health and disease / J. Harkness // Biorheology. – 1971. – Vol. 8. – № 3. – P. 171–93.
126. Irwin, C. Matrix metalloproteinases in medial arterial calcification: potential mechanisms and actions / C.L. Irwin, R.J. Guzman // Vascular. – 2009. – Suppl 1:S40.
127. Ishibashi, Y. ATP-sensitive K⁺ channels, adenosine, and nitric oxide-mediated mechanisms account for coronary vasodilation during exercise / Y. Ishibashi, D.J. Duncker, J. Zhang, R.J. Bache // Circ Res. – 1998. – Vol. 82. – № 3. – P. 346–59.
128. Jayedi, A. Central fatness and risk of all cause mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of 72 prospective cohort studie / A. Jayedi, S. Soltani, M.S. Zargar, T.A. Khan, S. Shab-Bidar // BMJ. – 2020. – Vol. 370 – m3324. doi: 10.1136/bmj.m3324.
129. Johnson, P. Venous resistance and red cell aggregation / P. Johnson, M. Cabel, A. Popel // Abstr. Microcirculatory Soc. 41bt Annu. Conf. Anaheim, California. – 1994. – P. 82–83.
130. Kaestner, L. Calcium Channels and Calcium-Regulated Channels in Human Red Blood Cells / L. Kaestner, A. Bogdanova, S. Egee // Adv Exp Med Biol. – 2020. – Vol. 1131. – P. 625–648.

131. Kandangwa, P. Influence of right coronary artery motion, flow pulsatility and non-Newtonian rheology on wall shear stress metrics / P. Kandangwa, R. Torii, P.D. Gatehouse, S.J. Sherwin, P.D. Weinberg // *Front Bioeng Biotechnol.* – 2022. – Vol 10. – P. 962687.
132. Karkempetzaki, A.I. Piezo1 and Its Function in Different Blood Cell Lineages / A.I. Karkempetzaki, K. Ravid // *Cells.* – 2024. – Vol. 13. – № 6. – 482.
133. Kesmarky, G. Plasma viscosity: a forgotten variable / G. Kesmarky, P. Kenyeres, M. Rabai, K. Toth // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2008. – Vol. 39. - № 1-4. - P. 243-246.
134. Kim, S. Aggregate formation of erythrocytes in postcapillary venules / S. Kim, A. S. Popel, M. Intaglietta, P. C. Johnson / *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – Vol. 288. – № 2. – P. 584–590.
135. King, A.L. Hydrogen sulfide cytoprotective signaling is endothelial nitric oxide synthase-nitric oxide dependent / A.L. King, Polhemus, D.J., S. Bhushanb, H. Otsukab, K. Kondoa // *PNAS.* – 2014. – Vol. 111. – P. 3182–3187.
136. Kobayashi, J. Nitric oxide bioavailability for red blood cell deformability in the microcirculation: A review of recent progress / J. Kobayashi, K. Ohtake, I. Murata, K. Sonoda // *Nitric Oxide.* – 2022. – Vol. 129. – P. 25–29.
137. Koliymitra, C Impact of training volume and intensity on RBC-NOS/NO pathway and endurance capacity / C. Koliymitra, B. Holtkamp, P. Zimmer, W. Bloch, M. Grau // *Biorheology.* – 2017. – Vol. 54. – № 1. – P. 37–50.
138. Kon, K. Erythrocyte deformation in shear flow: influences of internal viscosity, membrane stiffness, and hematocrit / K. Kon, N. Maeda, T. Shiga // *Blood.* – 1987. – Vol. 69. – P. 727–734.
139. Korhonen, R. Nitric oxide production and signaling in inflammation / R. Korhonen, A. Lahti, H. Kankaanranta, E. Moilanen // *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* – 2005. – Vol. 4. – № 4. – P. 471–9. doi: 10.2174/1568010054526359.
140. Kuck, L. Piezo1 regulates shear-dependent nitric oxide production in human erythrocytes / L. Kuck, J.N. Peart, M.J. Simmonds // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2022. – Vol. 323. – № 1. – P. 24–37.

141. Kulkarni-Chitnis, M. Interaction between hydrogen sulfide, nitric oxide, and carbon monoxide pathways in the bovine isolated retina / M. Kulkarni-Chitnis, L. Mitchell-Bush, R. Belford, J. Robinson et al. // [J] AIMS Neuroscience. – 2019. – Vol. 6. – № 3. – P. 104–115.
142. Kwaan, HC The hyperviscosity syndromes / HC. Kwaan, A. Bongu // Semin Thromb Hemost. – 1999. – Vol. 25. – 2. P. 199-208.
143. Lanotte, L. Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions / L. Lanotte, J. Mauer, S. Mendez, D.A. Fedosov et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2016. – Vol. 113. – № 47. – P.13289–13294.
144. Letcher, R.L. Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects. Role of fibrinogen and concentration / R.L. Letcher, S. Chien, T.G. Pickering, J.E. Sealey, J.H Laragh // Am J Med. – 1981. – Vol. 70. – № 6. – P. 1195–1202.
145. Lew, V.L. Effects of age-dependent membrane transport changes on the homeostasis of senescent human red blood cells / V.L. Lew, N. Daw, Z. Etzion, T. Tiffert et al. // Blood. – 2007. – Vol. 110. – № 4 – P. 1334–42.
146. Lew, V.L. On the Mechanism of Human Red Blood Cell Longevity: Roles of Calcium, the Sodium Pump, PIEZO1, and Gardos Channels / V.L. Lew, T. Tiffert // Front Physiol. – 2017. – Vol. 8:977.
147. Lew, V.L. The circulatory dynamics of human red blood cell homeostasis: Oxy-deoxy and PIEZO1-triggered changes / Lew V.L. // Biophys J. – 2023. – Vol. 122. – № 3. – P. 484–495.
148. Lewis, A.H. Stretch and poke stimulation for characterizing mechanically activated ion channels / Lewis A.H. J. Grandl // Methods Enzymol. – 2021. – Vol. 654. – P. 225–253.
149. Liam, B.L. Dose response study of lidocaine 1% for spinal anaesthesia for lower limb and perineal surgery / B.L. Liam, C.F. Yim, J.L. Chong // Can J Anaesth. – 1998. – Vol. 45. – № 7. – P. 645–50.
150. Liepsch, D. An impact of non-Newtonian blood viscosity on hemodynamics in a patient-specific model of a cerebral aneurysm / D. Liepsch, S. Sindееv, S.V.

- Frolov // Journal of Physics Conference Series. – 2018. – Vol. 1084. – №1. – P. 012001.
151. Lipowsky, H. H. Microvascular rheology and hemodynamics / H. H. Lipowsky // Microcirculation. – 2005. – Vol. 12. – № 1. – P. 5–15.
 152. Lipowsky, H. H. Blood rheology aspects of the microcirculation In Hand book of hemorheology and hemodynamics / H.H. Lipowsky, O.K. Baskurt, M.R. Hardeman, M. W. Rampling, H.J. Meiselman //Amsterdam. – IOS Press. – 2007. – P. 307–321.
 153. Liu, N. Exogenous H₂S Attenuates Hypertension by Regulating Renin /N. Liu, M. Li, S. Liu, J. Kang, L. Chen, J. Huang, Y. Wang, H. Chen, W. Zhang // Exocytosis under Hyperglycaemic and Hyperlipidaemic Conditions. Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24. – № 2 :1690. doi: 10.3390/ijms24021690.
 154. Lobov G.I. Role of endogenous hydrogen sulfide in relaxation of the lymph node capsule in LPS-induced inflammation / G.I. Lobov // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2021. – Vol. 57. – № 6. – P. 1363–1372.
 155. London, M. The role of blood rheology in regulating blood pressure / M. London // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 1997. – Vol. 17. – P. 93–106.
 156. Lowe, G. D. O. Clinical Blood Rheology / G. D. O. Lowe // Florida. – CRC Press, Inc. Boca Raton. – 1988. – 233 p.
 157. Manno, S. Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by beta-spectrin phosphorylation and dephosphorylation / S. Manno, Y. Takakuwa, K. Nagao et. al. // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol. 270. – № 10. – P. 5659–5665.
 158. Manno, S. Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by protein 4.1 phosphorylation / S. Manno, Y. Takakuwa, N. Mohandas // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – № 9. – P. 7581–7587.
 159. Martini, J. Paradoxical hypotension following increased hematocrit and blood viscosity / J. Martini, B. Carpentier, A.C. Negrete, J.A. Frangos, M. Intaglietta // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2005. – Vol. 289. – № 5. – P. 2136–43.
 160. Martini, J. Mechanotransduction and the homeostatic significance of maintaining blood viscosity in hypotension, hypertension and haemorrhage / J. Martini, P.

- Cabrales, A.G. Tsai, M. Intaglietta // *Journal of Internal Medicine* – 2006. – Vol. 259. – № 4. – P.335–432.
161. Marini, E. Comparative Study of Different H₂S Donors as Vasodilators and Attenuators of Superoxide-Induced Endothelial Damage / E. Marini, B. Rolando, F. Sodano, F. Blua, G. Concina, S. Guglielmo, L. Lazzarato, K. Chegaev // *Antioxidants* (Basel). – 2023. – Vol. 12. – № 2. – 344. doi: 10.3390/antiox12020344.
 162. Meiselman, H.J. Red blood cell role in RBC aggregation: 1963–1993 and beyond / H.J. Meiselman. // *Clin. Hemorheol.* – 1993.–Vol. 13.– P.575–592.
 163. Meiselman, H.J. RBC aggregation: laboratory data and models / H.J. Meiselman, B. Neu, M.W. Rampling, O.K. Baskurt // *Indian J. Exp. Biol.* – 2007. – Vol. 45. – № 1. – P. 9–17.
 164. Messmer, K. Hemodilution in peripheral occlusive disease: A hemorheological approach / K. Mesmer, L. Sunder-Plassmann, B. Endrich et al. // *Clinical Hemorheology and Microcirculation.* – 1982. – Vol. 2. – № 5–6. – P. 721–731.
 165. Minetti, G. Differential sorting of tyrosine kinases and phosphotyrosine phosphatases acting on band 3 during vesiculation of human erythrocytes / G. Minetti, A. Ciana, C. Balduini // *Biochem. J.* – 2004. – Vol. 377. – Pt 2. – P. 489–497.
 166. Mohandas, N. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape / N. Mohandas, J. A. Chasis, S B. Shohet // *Semin Hematol.* – 1983. – Vol. 20. – № 3. – P. 225–242.
 167. Mohandas, N. Red cell membrane: Past, present, and future / N. Mohandas, P. G. Gallagher // *Blood.* – 2008. – Vol. 112. – № 10. – P. 3939–3948.
 168. Mokken, F.C. The clinical importance of erythrocyte deformability, a hemorrheological parameter / F.C. Mokken, M. Kedaria, C.P. Henny, M.R. Hardeman, A.W. Gelb // *Ann Hematol.* – 1992. – Vol. 64. – № 3. – P. 113–22.
 169. Montanaro, R. Hydrogen sulfide donor AP123 restores endothelial nitric oxide-dependent vascular function in hyperglycemia via a CREB-dependent pathway /

- R. Montanaro, V. Vellecco, R. Torregrossa, G.M. Casillo et al. // *Redox Biol.* – 2023. – 62:102657. doi: 10.1016/j.redox.2023.102657.
170. Mozar, A. Red blood cell nitric oxide synthase modulates red blood cell deformability in sickle cell anemia / A. Mozar, P. Connes, B. Collins, M.D. Hardy-Dessources, M. Romana, N. Lemonne, W. Bloch, M. Grau // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2016. – Vol. 64. – P. 47–53.
 171. Mueller, J.J. Measurement of the branching of $(2S) \rightarrow \pi^+\pi^-(1S)$ / J.J. Mueller, D. Potter, F. Sannes, P. Skubic et al. // *Physical review letters.* – 1981. – Vol. 46. – № 18. – P. 1181–1184.
 172. Muravyov, A.V. Effects of antihypertensive therapy on hemorheological profiles in female hypertensive patients with initially low or high whole blood viscosity / A.V. Muravyov, H.J. Meiselman, V.V. Yakusevich, A.V. Zamishlayev // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2002. – Vol. 26. – № 2. – P. 125–135.
 173. Muravyov, A.V. Role $\text{Ca}(2^+)$ in mechanisms of the red blood cells microrheological changes / A.V. Muravyov, I.A. Tikhomirova // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2012. – Vol. 740. – P. 1017–1038.
 174. Muravyov, A.V. Role of molecular signaling pathways in changes of red blood cell deformability / A.V. Muravyov, I.A. Tikhomirova // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2013. – Vol. 53 – P. 45–59.
 175. Muravyov, A.V. Signaling pathways regulating red blood cell aggregation / A. V. Muravyov, I. A. Tikhomirova // *Biorheology.* – 2014. – Vol. 51. – P. 135–145.
 176. Muravyov, A.V. Role of intracellular signaling systems in regulation of erythrocyte microrheology / A.V. Muravyov, S.G. Mikhailova, I.A. Tikhomirova // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* – 2015. – Vol. 9. – № 3. – P. 178–184.
 177. Muravyov, A.V. Red blood cell micromechanical responses to hydrogen sulfide and nitric oxide donors: Analysis of crosstalk of two gasotransmitters (H_2S and NO) / A.V. Muravyov, N. Antonova, I.A. Tikhomirova // *Series on Biomechanics.* – 2019. – Vol. 33. – № 2. – P. 34–40.

178. Muravyov, A. Microrheological responses of red blood cells to gaseous mediators under physiological and pathophysiological conditions / A. Muravyov, P. Mikhailov, I. Tikhomirova, S. Bulaeva, R. Ostroumov, V. Zinchuk // *Series on Biomechanics*. – 2022. – Vol. 36. – № 1. – C. 21–31.
179. Nader, E. Blood Rheology: Key Parameters, Impact on Blood Flow, Role in Sickle Cell Disease and Effects of Exercise / E. Nader, S. Skinner, M. Romana, R. Fort et al. // *Front Physiol*. – 2019. – Vol. 10:1329. doi: 10.3389/fphys.2019.01329.
180. Nash, G. B. Effect of dehydration on the viscoelastic behavior of red cells / G. B. Nash, H. J. Meiselman // *Blood Cells*. – 1991. – Vol. 17. – № 3. – P. 517–522.
181. Negrean, V. Rheological changes in diabetic microangiopathy / V. Negrean, I. Suciu, D. Sâmpolean, A. Cozma // *Rom J Intern Med*. – 2004. – Vol. 42. – № 2. – P. 407–413.
182. Nunomura, W. Regulation of protein 4.1R interactions with membrane proteins by Ca^{2+} and calmodulin / W. Nunomura, Y. Takakuwa // *Front Biosci*. – 2006. – Vol. 11. – P. 1522–39.
183. Nwose, E.U. Whole blood viscosity assessment issues I: Extrapolation chart and reference values / E.U. Nwose // *North Am J Med Sci*. – 2010. – Vol. 2. – № 4. P. 165–169.
184. Olas, B. Gasomediators (NO, CO, and H_2S) and their role in hemostasis and thrombosis / B. Olas // *Clin Chim Acta*. – 2015. – Vol. 445. – P. 115–21.
185. Olearczyk, J.J. NO inhibits signal transduction pathway for ATP release from erythrocytes via its action on heterotrimeric G protein G_i / J.J. Olearczyk, A.H. Stephenson, J.A. Lonigro et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. – 2004. – Vol. 287 – P. 748–754.
186. Oonishi, T. Regulation of red blood cell filterability by Ca^{2+} influx and cAMP-mediated signaling pathways / T. Oonishi, K. Sakashita, N. Uyesaka // *Am J Physiol*. – 1997. – Vol. 273. – № 6. – C1828–34. doi: 10.1152/ajpcell.
187. Otoyama, I. L-cysteine improves blood fluidity impaired by acetaldehyde: In vitro evaluation / I. Otoyama, H. Hamada, T. Kimura, H. Namba, K. Sekikawa et al. //

- PLoS One. – 2019. – Vol. 14. – № 3. – e0214585. doi: 10.1371/journal.pone.0214585.
188. Pedley, T. J. The Fluid Mechanics of Large Blood Vessels. Cambridge Monographs on Mechanics and Applied Mathematics / T. J. Pedley // Cambridge-New York-Melbourne: Cambridge University Press. – 1980. – 446 p.
 189. Petrov, V. Regulation of human erythrocyte Na⁺/H⁺ exchange by soluble and particulate guanylate cyclase / V. Petrov, P. Lijnen // Am J Physiol. – 1996. – Vol. 271. – P. 1556–1564.
 190. Pinho, D. Visualization and Measurements of Blood Cells Flowing in Microfluidic Systems and Blood Rheology / D. Pinho, V. Carvalho, I.M. Gonçalves, S. Teixeira, R. Lima // A Personalized Medicine Perspective. J Pers Med. – 2020. – Vol. 10. – № 4. – P. 249.
 191. Piragine, E. Potential Effects of Natural H₂S-Donors in Hypertension Management / E. Piragine, V. Citi, K. Lawson, V. Calderone, A. Martelli // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12 – № 4:581. doi: 10.3390/biom12040581.
 192. Pirrelli, A. Arterial hypertension and hemorheology. What is the relationship? / A. Pirrelli // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 1999. – Vol. 21 – № 3–4. – P. 157–160.
 193. Pretorius, E. The adaptability of red blood cells / E. Pretorius // Cardiovasc. Diabetol. – 2013. – Vol. 12. – № 63. – P. 1–7.
 194. Pribush, A. Methodological aspects of erythrocyte aggregation / A. Pribush, N. Meyerstein // Recent Pat Anticancer Drug Discov. – 2007. – Vol. 2. – № 3. – P. 240–5.
 195. Pries, A. R. Resistance to blood flow in vivo: from Poiseuille to the «in vivo viscosity law» / A. R. Pries, T. W. Secomb // Biorheology. – 1997. – Vol. 34. – № 4–5. – P. 369–373.
 196. Pries, R. Rheology of the microcirculation / A.R. Pries, T.W. Secomb // Clin Hemorheol Microcirc. – 2003. – Vol. 29. – № 3–4. – P. 143–8.
 197. Pries, A. R. Modeling structural adaptation of microcirculation / A. R. Pries, T. W. Secomb // Microcirculation. – 2008. – Vol. 15. – № 8. – P. 753–764.

198. Propel, A.S. Microcirculation and hemorheology / A.S. Propel, P.C. Johnson // *Annu Rev Fluid Mech.* – 2005. – Vol.37. – P.43–69.
199. Reinke, W. Blood viscosity in small tubes: effect of shear rate, aggregation, and sedimentation / W. Reinke, P. Gaehtgens, P.C. Johnson // *Am J Physiol.* – 1987. – Vol. 253. – № 3. – Pt 2. – P. 540–7.
200. Reiner, M. Deformation and Flow / M. Reiner / London. – Lewis and Co. – 1949. – 148 p.
201. Rogers, S. PIEZO1 and the mechanism of the long circulatory longevity of human red blood cells / S. Rogers, V.L. Lew // *PLoS Comput Biol.* – 2021. – Vol. 17. – № 3. – e1008496. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008496.
202. Romero, P.J. The Action of Red Cell Calcium Ions on Human Erythrophagocytosis in Vitro. / P.J. Romero, C. Hernández-Chinea // *Front Physiol.* – 2017. – Vol. 4. – № 8. – 1008. doi: 10.3389/fphys.2017.01008.
203. Salazar Vázquez, B. Y. Microvascular benefits of increasing plasma viscosity and maintaining blood viscosity: counterintuitive experimental findings / B. Y. Salazar Vázquez, J. Martini, A. Chávez Negrete et al. // *Biorheology.* – 2009. – Vol. 46. – № 3. – P. 167–179.
204. Salazar Vázquez, B.Y. Cardiovascular benefits in moderate increases of blood and plasma viscosity surpass those associated with lowering viscosity / B.Y. Salazar Vázquez, J. Martini, A. Chávez Negrete, A.G. Tsai et al. // *Experimental and clinical evidence. Clin Hemorheol Microcirc.* – 2010. – Vol. 44.– № 2. – P. 75–85.
205. Salazar Vázquez, B.Y. Nonlinear cardiovascular regulation consequent to changes in blood viscosity / B.Y. Salazar Vázquez, P. Cabrales, A.G. Tsai, M. Intaglietta // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2011. – Vol. 49. – № 1–4. – P. 29–36.
206. Salazar Vázquez, B.Y. Influence of serological factors and BMI on the blood pressure/hematocrit association in healthy young men and women / B.Y. Salazar Vázquez, M.A. Salazar Vázquez, A. Chávez-Negrete, G. Escobedo et al. // *Vasc Health Risk Manag.* – 2014. – Vol. 6. – № 10. – P. 271–7.

207. Saldanha, C. Modulation of erythrocyte hemorheological properties by band 3 phosphorylation and dephosphorylation. / C. Saldanha, A.S. Silva, S. Gonçalves, J. Martins-Silva // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 2007. – Vol. 36. – P. 183–194.
208. Schmid-Schonbein, H. Blood rheology in hemoconcentration / H. Schmid-Schonbein // In. High Altitude Physiol. And Med. N. Y. Springer. – 1982. – P. 109–116.
209. Schmid-Schoenbein, G.W. In response to "Point:Counterpoint: There is/is not capillary recruitment in active skeletal muscle during exercise". / G.W. Schmid-Schoenbein, W.L. Murfee // J Appl Physiol. – 1985. – Vol. 104. – № 3. – P. 897. doi: 10.1152/japplphysiol.01293.2007.
210. Schmid-Schonbein, H. Erythrocyte aggregation: causes, consequences and methods of assessment. / H. Schmid-Schonbein, H. Malotta, F. Striesow / Tijdschr. NVKC. – 1990. – Vol. 15. – P. 88–97.
211. Secomb, T.W. Hsu R. Resistance to blood flow in nonuniform capillaries / T.W. Secomb // Microcirculation. – 1997. – Vol. 4. – № 4. – P. 421–7.
212. Secomb, T.W. Two-dimensional simulation of red blood cell deformation and lateral migration in microvessels. / T.W. Secomb, B. Styp-Rekowska, A.R. Pries // Ann. Biomed. Eng. – 2007. – Vol. 35. – P. 755–765.
213. Secomb, T.W. Theoretical models for regulation of blood flow / T.W. Secomb // Microcirculation. – 2008. – Vol. 15. – № 8 – P. 765–75.
214. Sélley, E. Exenatide induces aortic vasodilation increasing hydrogen sulphide, carbon monoxide and nitric oxide production / E. Sélley, S. Kun, I.A. Szijártó, B. Laczy et al. // Cardiovasc Diabetol. – 2014. – Vol. 13:69. doi: 10.1186/1475–2840–13–69.
215. Sharina, I.G. The Role of Reactive Oxygen and Nitrogen Species in the Expression and Splicing of Nitric Oxide Receptor. Antioxid Redox Signal. / I.G. Sharina, E. Martin // 2017. – Vol. 26. – № 3. – P. 122–136.
216. Shiga, T. Erythrocyte rheology / T. Shiga, N. Maeda, K. Kon // Crit Rev Oncol Hematol. – 1990. – Vol. 10. – № 1. – P. 9–48.

217. Sriram, K. Autoregulation and mechanotransduction control the arteriolar response to small changes in hematocrit / K. Sriram, B.Y. Salazar Vázquez, A.G. Tsai, P. Cabrales et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2012. – Vol. 303 – №9. – P.1096–106.
218. Somogyi, V. Effects of aging and gender on micro-rheology of blood in 3 to 18 months old male and female Wistar (CrI:WI) rats / V. Somogyi, K. Peto, A. Deak, B.N. Tanczos Nemeth / *Biorheology*. – 2018. – Vol. 54. – № 5–6. – P. 127–140.
219. Stadnick, H. Eadie-Hofstee analysis of red blood cell deformability / H. Stadnick, R. Onell, J.P. Acker, J.L. Holovati // *Clin Hemorheol Microcirc*. – 2011. – Vol. 47. – P. 229–39.
220. Starzyk, D. Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro / D. Starzyk, R. Korbut, R.J. Gryglewski // *J Physiol Pharmacol*. – 1999. – Vol. 50. – № 4. – P. 629–37.
221. Stoltz, J.F. Hemorheology: pathophysiological significance / J.F. Stoltz // *Acta Med Port*. – 1985. – Vol. 6. – № 7–8. – P. S4–13. PMID: 3914190.
222. Stoltz, J. F. Hemorheology in clinical practice. Introduction to the notion of hemorheologic profile / J. F. Stoltz, M. Donner, S. Muller, A. Larcen // *Vasc*. – 1991. – Vol. 6. – P. 261–270.
223. Stoltz, J.F. Aspects rhéologiques et biophysiques de l'adhésion et de l'agrégation cellulaire: importance en hémorhéologie [Rheologic and biophysical aspects of cellular adhesion and aggregation: importance in hemorheology] / J.F. Stoltz, B. Senger, J.C. Voegel, M. Delamaire et al. // *J Mal Vasc*. – 1995. – Vol. 20. – № 4. – P.247–51.
224. Stommen, A. Piezo1 Regulation Involves Lipid Domains and the Cytoskeleton and Is Favored by the Stomatocyte-Discocyte-Echinocyte Transformation / A. Stommen, M. Ghodsi, A.S. Cloos, L. Conrard, A.C. Dumitru et al. // *Biomolecules*. – 2023. – Vol.14. – № 1. – 51. doi: 10.3390/biom14010051.
225. Svetina, S. Model of Piezo1-Based Regulation of Red Blood Cell Volume / S. Svetina, T. Švelc Kebe, B.A. Božič // *Biophys J*. – 2019 – Vol. 116. – № 1. – P. 151–164.

226. Sundquist J. The alpha 1-adrenergic receptor in human erythrocyte membranes mediates interaction in vitro of epinephrine and thyroid hormone at the membrane $\text{Ca}(2^+)\text{-ATPase}$ / J. Sundquist, S.D. Blas, J.E. Hogan, F.B. Davis, P.J. Davis // *Cell Signal.* – 1992. – Vol. 4. – № 6. – 795–9.
227. Szijártó, I.A. Cystathionine γ -Lyase-Produced Hydrogen Sulfide Controls Endothelial NO Bioavailability and Blood Pressure / I.A. Szijártó, L. Markó, M.R. Filipovic, J.L. Miljkovic et al. // *Hypertension.* – 2018. – Vol. 71. – № 6. – P. 1210–1217.
228. Takakuwa, Y. Protein 4.1, a multifunctional protein of the erythrocyte membrane skeleton: structure and functions in erythrocytes and nonerythroid cells / Takakuwa Y. // *Int J Hematol.* – 2000. – Vol. 72. – № 3. – P. 298–309.
229. Takakuwa, Y. Regulation of red cell membrane protein interactions: implications for red cell function / Takakuwa Y. // *Curr Opin Hematol.* – 2001. – Vol. 8. – № 2. – P. 80–4.
230. Tanaka, J.W. Parts and Wholes in Face Recognition / J.W. Tanaka, M.J. Farah // *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section A.* – 1993. – Vol. 46. – № 2. – P.225–245.
231. Tamariz, L. Blood viscosity and hematocrit as risk factors for type 2 diabetes mellitus: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study / L.J. Tamariz, J. H. Young, J.S. Pankow et al. // *Am J Epidemiol.* – 2008. – Vol. 168. – № 10. – P. 1153–60.
232. Taqatqeh, F. More than a retrograde messenger: nitric oxide needs two кальций pathways to induce hippocampal long-term potentiation / F. Taqatqeh, E. Mergia, A. Neitz, U.T. Eysel, D. Koesling, T. Mittmann // *J Neurosci.* – 2009. – Vol. 29. – № 29. – P. 9344–50.
233. Truss, N.J. Gasotransmitters and platelets / N.J. Truss, T.D. Warner // *Pharmacol Ther. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 132. – № 2. – P. 196–203.
234. Tsai, A. G. Elevated plasma viscosity in extreme hemodilution increases perivascular nitric oxide concentration and microvascular perfusion / A.G. Tsai,

- C. Acero, P.R. Nance et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – Vol. 288. – № 4. – P. 1730–1739.
235. Ugurel, E. Proteomic Analysis of the Role of the Adenylyl Cyclase-cAMP Pathway in Red Blood Cell Mechanical Responses / E. Ugurel, E. Goksel, N. Cilek, E. Kaga, O. Yalcin // *Cells*. 2022. – Vol. 11. – № 7. – P. 1250.
 236. Ulker, P. Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes / P. Ulker, L. Sati, C. Celik-Ozenci et al. // *Biorheology*. – 2009. – Vol. 46. – № 2. – P. 121–132.
 237. Ustunova, S. Hydrogen Sulphide and Nitric Oxide Cooperate in Cardioprotection Against Ischemia/Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart / S. Ustunova, S. Takir, N. Yilmazer, H. Bulut, D. Altindirek et al // *In Vivo*. – 2020. – Vol. 34. – № 5. – P. 2507–2516.
 238. Uyklu, M. Role of hemoglobin oxygenation in the modulation of red blood cell mechanical properties by nitric oxide / M. Uyklu, H.J. Meiselman, O.K. Baskurt // *Nitric Oxide*. – 2009. – Vol. 21. – P 20–26.
 239. Vaisey, G. Piezo1 as a force-through-membrane sensor in red blood cells / G. Vaisey, P. Banerjee, A.J. North, C.A. Haselwandter, R. MacKinnon // *Elife*. – 2022. – Vol. 11. – e82621. doi: 10.7554/eLife.82621.
 240. Valeanu, L. Blood Rheology Alterations in Patients with Cardiovascular Diseases / L. Valeanu, C. Ginghina, S. Bubenek-Turconi // *Romanian Journal of Anaesthesia and Intensive Care*. – 2022. – Vol. 28. – № 2. – P.41-46.
 241. van Cromvoirt, A.M. Donor age and red cell age contribute to the variance in lorrca indices in healthy donors for next generation ektacytometry: A pilot study / A.M. van Cromvoirt, S. Fenk, A. Sadafi, E.V. Melnikova et al. // *Front. Physiology*. – 2021. – Vol. 12. – C. 639722.
 242. Vasileva, V. Regulation of PIEZO1 channels by lipids and the structural components of extracellular matrix/cell cytoskeleton / V. Vasileva, V. Chubinskiy-Nadezhdin // *J Cell Physiol*. – 2023. – Vol. 238. – № 5. – P. 918–930.

243. Vazquez, B.Y. Hematocrit and mean arterial blood pressure in pre- and postmenopause women / B.Y. Vázquez, M.A. Vázquez, M. Intaglietta, U. de Faire et al. // *Vasc Health Risk Manag.* – 2009. – Vol. 5. – № 2. – P.483–8.
244. Vázquez, B.Y. Blood pressure and blood viscosity are not correlated in normal healthy subjects. / Vázquez B.Y. // *Vasc Health Risk Manag.* – 2012. – Vol. 8. – P.1–6.
245. Vazquez, S.R. Anticoagulation clinic workflow analysis / S.R. Vazquez, J. Campbell, G. Hamann, C. George, L. Sprabery // *J Am Pharm Assoc.* – 2009. – Vol. 49. – № 1. – P. 78–85.
246. Vicaut, E. Red blood cell aggregation and microcirculation in rat cremaster muscle / E. Vicaut, X. Hou et al. // *Int. J. Microcirc.* – 1994. – Vol. 14. – P. 14–21.
247. Volkova, E. The contribution of red blood cell microrheological characteristics to impaired blood fluidity in peripheral arterial occlusive disease (PAOD) and their correction with gasotransmitters / E. Volkova, A. Zamyshlyayev, A.I. Tikhomirova, A. Muravyov et al. // *Series on Biomechanics.* – 2024. – Vol.38. – № 2. – P. 3.
248. von Lindern, M. The Function of Ion Channels and Membrane Potential in Red Blood Cells: Toward a Systematic Analysis of the Erythroid Channelome / M. von Lindern, S. Egée, P. Bianchi, L. Kaestner // *Front Physiol.* – 2022. – Vol. 13. – 824478. doi: 10.3389/fphys.2022.824478.
249. Yam, M.F. Vasorelaxant effect of sinensetin via the NO/sGC/cGMP pathway and potassium and calcium channels / M.F. Yam, C.S. Tan, R. Shibao // *Hypertens Res.* – 2018. – Vol. 41. – № 10. – P. 787–797.
250. Wajihah, S.A. A review on non-Newtonian fluid models for multi-layered blood rheology in constricted arteries / S.A. Wajihah, D.S. Sankar // *Arch Appl Mech.* – 2023. – Vol. 93. – № 5. – P. 1771–1796.
251. Wang, R. Gasotransmitters: growing pains and joys / R. Wang // *Trends Biochem Sci.* – 2014. – Vol. 39. – № 5. – P. 227–32.

252. Wobst, J. Role of sGC-dependent NO signalling and myocardial infarction risk / J. Wobst, T. Kessler, T.A. Dang, J. Erdmann, H. Schunkert // J Mol Med (Berl). – 2015. – Vol. 93. – № 4. – P. 383–94. doi: 10.1007/s00109-015-1265-3.
253. Wu, D. Hydrogen sulfide and autophagy: A double edged sword / D. Wu, H. Wang, T. Teng, S. Duan, A. Ji, Y. Li // Pharmacol Res. – 2018. – Vol. 131. – P. 120–127.
254. Zhao, W. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms / W. Zhao, R. Wang // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2002. – Vol. 283. – № 2. – H. 474–80. doi: 10.1152/ajpheart.00013.2002.