



УДК 535.8, 612.111.6

## ОПТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО – МОЛОДКИНОЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ОСТРЫХ НАРУШЕНИЯХ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ



О. Е. Фадюкова, А. Е. Луговцов, А. В. Приезжев, В. Б. Кошелев

Фадюкова Ольга Евгеньевна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии и общей патологии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, olefa@hotmail.ru

Луговцов Андрей Егорович, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, anlug@bmp.ilc.edu.ru

Приезжев Александр Васильевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры общей физики и волновых процессов; старший научный сотрудник, Международный лазерный центр, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, avp2@mail.ru

Кошелев Владимир Борисович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и общей патологии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, vkoshelev@fbm.msu.ru

Анализировали гемореологические параметры при экспериментальном сахарном диабете (СД) и острых нарушениях мозгового кровообращения (ОНМК) у крыс с использованием лазерного агрегометра-деформометра эритроцитов и вискозиметра Брукфильд. Микрореологические параметры вычисляли путем анализа дифракционных картин от суспензии эритроцитов в сдвиговом потоке, а также при обработке зависимости интенсивности обратно рассеянного света от времени в процессе спонтанной агрегации и дезагрегации эритроцитов. У крыс с СД по сравнению с контролем на 21% уменьшалось время образования линейных агрегатов эритроцитов, и на 47% возрастала скорость образования линейных агрегатов. ОНМК снижали размер агрегатов на 20% по сравнению с контролем. Вязкость крови и деформируемость эритроцитов не изменялись, однако вязкость плазмы крови увеличилась на 7% у крыс с СД. Таким образом, СД ухудшает некоторые параметры гемореологии. Сопутствующие сахарному диабету ОНМК могут приводить к неоднозначным изменениям этих показателей реологии.

**Ключевые слова:** лазерная агрегометрия, лазерная дифрактометрия, агрегация эритроцитов, деформируемость эритроцитов, вязкость крови, сахарный диабет, острые нарушения мозгового кровообращения.

DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-111-120

### Введение

Ток крови по сосудам микроциркуляторного русла зависит в большой степени от реологических свойств крови, а именно от вязкости крови,

которая определяется вязкостью плазмы крови, гематокритом, агрегационными свойствами и деформируемостью эритроцитов (ДЭ) [1–3]. Развитие сахарного диабета сопровождается нарушением макро- и микрореологических свойств крови [1, 2, 4]. Роль гемореологических факторов в адекватной перфузии органов и тканей активно изучается. Однако их роль в патогенезе заболеваний, связанных с нарушением углеводного обмена и регуляцией артериального давления, недостаточно ясна и находится на начальном этапе изучения.

Сахарный диабет (СД) – серьезное хроническое системное заболевание, которое развивается, когда поджелудочная железа не вырабатывает достаточно инсулина или когда организм не может эффективно использовать выработанный им инсулин. По данным Государственного регистра сахарного диабета в Российской Федерации, на 1 января 2015 г. число больных СД в России составило более 4 млн человек. При этом количество больных СД выросло за 5 лет на 23% [5]. СД является социально значимым заболеванием, и исследование всех аспектов патогенеза этого заболевания является актуальным. В большинстве случаев СД сопутствуют другие заболевания, в первую очередь артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз [5, 6].

При заболеваниях разного генеза, таких как артериальная гипертензия, СД, инсульт, инфаркт и другие, обнаруживают синдром повышенной вязкости крови [1–3, 7, 8]. Проблема гипервязкости крови и гиперагрегации эритроцитов при сахарном диабете, существенно определяющая тяжесть болезни и многие осложнения у пациентов с СД, является еще далеко не решенной и актуальной. Любой прогресс в ее решении поможет улучшить качество и увеличить продолжительность жизни большого числа людей.

Целью нашей работы было исследовать реологические свойства крови на экспериментальной модели сахарного диабета у лабораторных крыс. В связи с тем, что СД часто сопровождается



сердечно-сосудистыми заболеваниями, в наши исследования мы также включили анализ реологических параметров у животных, у которых моделировали и СД, и ОНМК. Поскольку и при СД, и при ОНМК имеются нарушения гемореологии [7–9], мы ожидали, что при их сочетании такие изменения должны быть более выраженными.

### Материалы и методы

В опытах использовали самцов крыс массой  $330 \pm 4$  г линии Крушинского–Молодкиной (КМ), генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. При действии сильного звука у крыс линии КМ развивается судорожный припадок, в подавляющем большинстве случаев заканчивающийся тоническими судорогами [10, 11]. При длительной звуковой экспозиции по специально разработанной схеме у крыс линии КМ развивается гипертензивная энцефалопатия и возникают ОНМК преимущественно геморрагического типа [10, 11]. Животных содержали при свободном доступе к пище и воде. Эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также рекомендациями, изложенным в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [12].

Животных разделили на четыре группы: 1) «контроль» ( $n=8$ ); 2) крысы, которых подвергали аудиогенному стрессу (группа «ОНМК») ( $n=7$ ); 3) крысы с СД (группа «СД») ( $n=11$ ); 4) крысы с СД, которых подвергали аудиогенному стрессу (группа «СД+ОНМК»,  $n=11$ ). В начале эксперимента у всех животных оценивали концентрацию глюкозы в крови с помощью глюкометра Айчек (iCheck, UK). Пробы крови получали через разрез кожи на кончике хвоста при локальной анестезии лидокаином. Экспериментальный СД моделировали с помощью стрептозотоцина, избирательно токсичного для продуцирующих инсулин  $\beta$ -клеток островков Лангерганса [13]. Часть животных (группа «СД» и группа «СД+ОНМК») получала инъекцию стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг интраперитонеально. Стрептозотоцин разводили в 0.1 М цитратном буфере (рН=4.5), охлаждали до  $+4^\circ\text{C}$  и быстро вводили животному. Другой части крыс (группа «контроль» и группа «ОНМК») вводили 0.1 М цитратный буфер, охлажденный до  $+4^\circ\text{C}$ . Через 3 дня контролиро-

вали концентрацию глюкозы в крови для оценки эффективности действия введенного препарата. Животных брали в острый опыт через 6 недель после введения стрептозотоцина. Перед началом острого эксперимента у животных измеряли концентрацию глюкозы в крови.

Крыс групп ОНМК и СД+ОНМК за 2.5 ч до получения проб крови для гемореологических исследований подвергали звуковому воздействию по стандартной схеме [10, 11]. Через 2.5 ч после звукового воздействия животных наркотизировали (хлоралгидрат, 450 мг/кг), получали пробы крови из нижней полой вены. Затем животных умертвляли передозировкой наркоза и оценивали внутричерепные кровоизлияния. В качестве антикоагулянта использовали EDTA (2 мг/мл). Кровь центрифугировали при 1500 g в течение 5 мин при комнатной температуре [14]. Определяли гематокрит с использованием гематокритной центрифуги СМ-70 и доводили его до стандартного значения 40% для измерения агрегации эритроцитов [2, 14]. Полученную таким же образом плазму крови использовали для определения ее вязкости. Для оценки кажущейся вязкости крови использовали цельную кровь.

Кажущуюся вязкость цельной крови и вязкость плазмы крови определяли с помощью ротационного вискозиметра Брукфильд (Brookfield, США) для неньютоновских жидкостей LV DV-II+ с измерительной системой конус/плита для малых образцов (шпиндель СРЕ-40) при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Агрегацию и деформируемость эритроцитов оценивали оптическим методом с помощью автоматического коаксиально-цилиндрического лазерного агрегометра-деформометра эритроцитов «РеоАДВ-КФ» (ООО «РеоМедЛаб», Россия); реологический зазор – 1.0 мм,  $\lambda = 630$  нм).

Кинетику агрегации и дезагрегации эритроцитов исследовали путем измерения интенсивности обратного светорассеяния. Процесс спонтанной агрегации эритроцитов в цельной крови регистрировали в течение 2 мин после остановки вращения наружного цилиндра ( $\dot{\gamma} = 4500 \text{ c}^{-1}$ ). Процесс дезагрегации эритроцитов оценивали при пошаговом увеличении скорости сдвига от  $\sim 2.5$  до  $\sim 130 \text{ c}^{-1}$ . Полученная при исследовании агрегации эритроцитов кривая светорассеяния ( $I$ ) в полулогарифмических координатах может быть представлена как сумма двух экспонент [15]:  $I(t) = I_1 e^{-t/T_1} + I_2 e^{-t/T_2}$ , где  $T_1$  – характерное время образования линейных



агрегатов, а  $T_2$  – характерное время образования трехмерных агрегатов. Для оценки характерного размера эритроцитарных агрегатов используют параметр  $A$ , представляющий собой разность сигнала обратного рассеяния  $I_a$ , измеренного в момент начала процесса агрегации и в момент ее окончания. Полученная при дезагрегации эритроцитов кривая зависимости интенсивности обратного светорассеяния ( $I_d$ ) от скорости сдвига ( $\dot{\gamma}$ ) спрямляется в полулогарифмических координатах. Процесс распада агрегатов эритроцитов при пошаговом увеличении скорости сдвига от 2.5 до  $\sim 130 \text{ c}^{-1}$  описывается с использованием параметра  $\beta$  (показатель гидродинамической прочности агрегатов) – котангенса угла наклона прямой  $\ln I_d(\dot{\gamma})$ , где  $I_d$  – интенсивность обратного светорассеяния, измеряемая в процессе дезагрегации ( $d$ ),  $\dot{\gamma}$  – скорость сдвига.

Прочность крупных агрегатов оценивали, используя параметр  $I_{2.5} = 100\% \cdot (I_0 - I_{2.5})/I_0$ , где  $I_{2.5}$  – интенсивность обратного светорассеяния, соответствующая скорости сдвига  $2.5 \text{ c}^{-1}$ , а  $I_0$  – разность между  $I$ , характеризующей состояние максимальной агрегации эритроцитов, и  $I$ , характеризующей конечный результат последующей дезагрегации в сдвиговом потоке. Параметру  $I_{2.5}$  присваивается отрицательный знак для соблюдения соответствия увеличения его значения при возрастании прочности агрегатов [16].

Деформируемость эритроцитов в сдвиговом потоке (при скоростях сдвига от 5 до  $4500 \text{ c}^{-1}$ ) исследовали методом эктацитометрии [17]. Образцы крови разбавляли в 500 раз 1.5%-ным раствором высокомолекулярного полиэтиленоксида (ММ =  $4 \cdot 10^6$ ) до получения суспензии. Луч лазера, проходящий через взвесь эритроцитов, испытывает дифракцию Фраунгофера, и на чувствительный элемент видеокамеры, установленный в фокальной плоскости линзы, проецируется дифракционная картина, усредняемая по большому числу эритроцитов, попадающих в лазерный пучок при движении в потоке суспензии за единицу времени. Индекс деформируемости (вытянутости под действием сдвигового напряжения в потоке) эритроцитов определяли как  $P = (a - b)/(a + b)$ , где  $a$  и  $b$  – большая и малая полуоси эллипсов, которыми моделируются уровни одинаковой интенсивности. Графики зависимости усреднённого индекса деформируемости эритроцитов от скорости сдвига в полулогарифмической шкале аппроксимировали прямой по методу наименьших квадратов

и определяли точку перегиба  $\dot{\gamma}_0$  графика  $P(\ln \dot{\gamma})$ , соответствующую пределу текучести мембраны эритроцитов, и тангенс угла наклона  $\text{tg} \alpha$  этого графика, характеризующий вязкость внутреннего наполнения эритроцитов. Предельную деформацию эритроцитов в потоке оценивали с помощью индекса деформируемости,  $P_{\text{max}}$  – при максимальной скорости сдвига  $\dot{\gamma}_{\text{max}} = 4500 \text{ c}^{-1}$  [18].

Статистический анализ данных выполнен с использованием непараметрических критериев: парного критерия Вилкоксона для оценки внутригрупповых различий и критерия Манна – Уитни для анализа межгрупповых отличий. Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ . Данные представлены в виде среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

### Результаты исследования

Исходная концентрация глюкозы в крови крыс линии КМ контрольной группы была  $6.1 \pm 0.2$  ммоль/л и была практически такой же во всех остальных группах. Инъекция 0.1 М цитратного буфера не вызывала изменения уровня глюкозы в крови ( $6.1 \pm 0.3$  ммоль/л,  $p > 0.05$ ). Инъекция стрептозотоцина приводила к развитию стойкой гипергликемии и значимому увеличению концентрации глюкозы в крови до  $34 \pm 2$  ммоль/л в группе «СД» и до  $34.7 \pm 2.5$  ммоль/л в группе «СД + ОНМК» ( $p < 0.05$  по сравнению с контролем). Гематокрит в контрольной группе составлял  $45 \pm 1.5\%$ , практически таким же был и в других группах.

У крыс линии КМ как с сахарным диабетом так и без него, подвергнутых звуковому воздействию, оценивали параметры, характеризующие возбудимость ЦНС и ОНМК. Латентный период до начала судорожного припадка, характеризующий судорожную готовность, значимо не изменился у крыс линии КМ с диабетом, однако интенсивность судорожного припадка у них была снижена (рис. 1, а, б). Если у большинства крыс без СД развивались эпилептиформные судороги максимальной интенсивности (тонические судороги с остановкой дыхания и цианозом – 4 балла по балльной шкале), то у большинства животных с СД развивался судорожный припадок меньшей интенсивности (клонические судороги на брюшке или на боку – 2 или 3 балла) (рис. 1, б). Вместе с тем итоговые нарушения движений при длительной звуковой

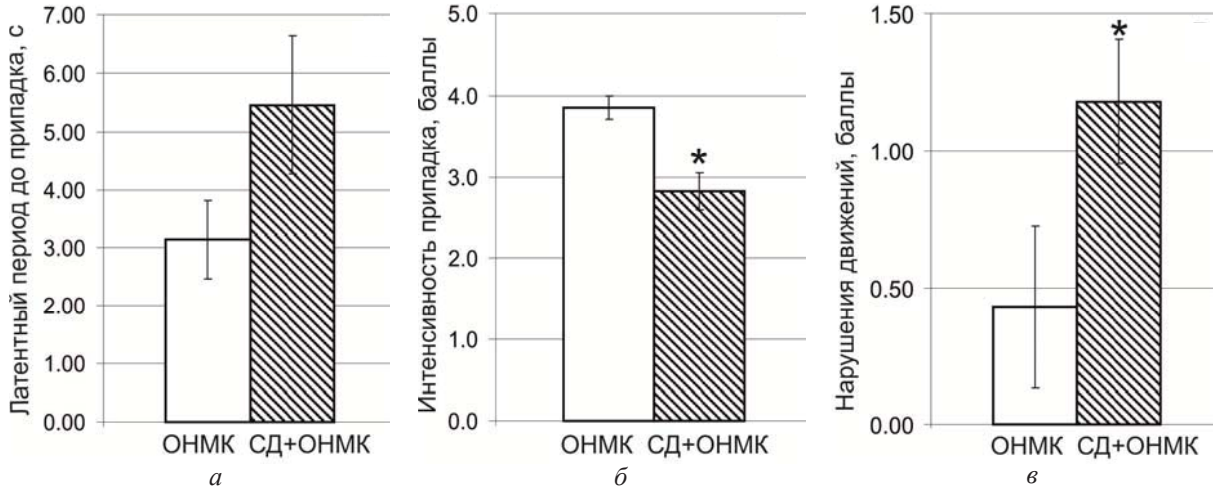


Рис. 1. Латентный период до судорожного припадка (а), интенсивность судорожного припадка (б), степень нарушения движений (в) у крыс линии КМ с сахарным диабетом во время звуковой экспозиции; \*  $p < 0.05$  по сравнению с контролем

экспозиции, отражающие ОНМК, были сильнее выражены у крыс с сахарным диабетом ( $p < 0.05$ , рис. 1, в). При морфологическом исследовании у части животных обнаружили кровоизлияния, однако различий между группами не выявили.

Вязкость плазмы крови была значимо выше в группе крыс линии КМ с СД. При этом в группе СД+ОНМК вязкость плазмы крови не отличалась от контроля (рис. 2).

При СД и ОНМК кажущаяся вязкость крови не изменилась (рис. 3).

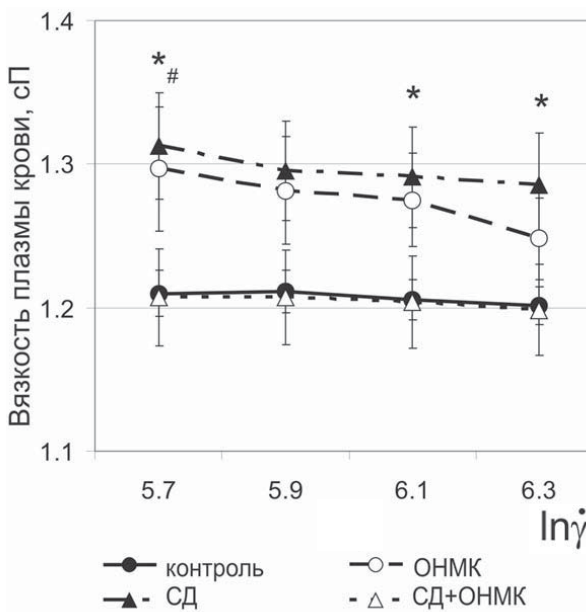


Рис. 2. Вязкость плазмы крови у крыс линии КМ с сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения; \*  $p < 0.05$  по сравнению с контролем, #  $p < 0.05$  – СД по сравнению СД + ОНМК

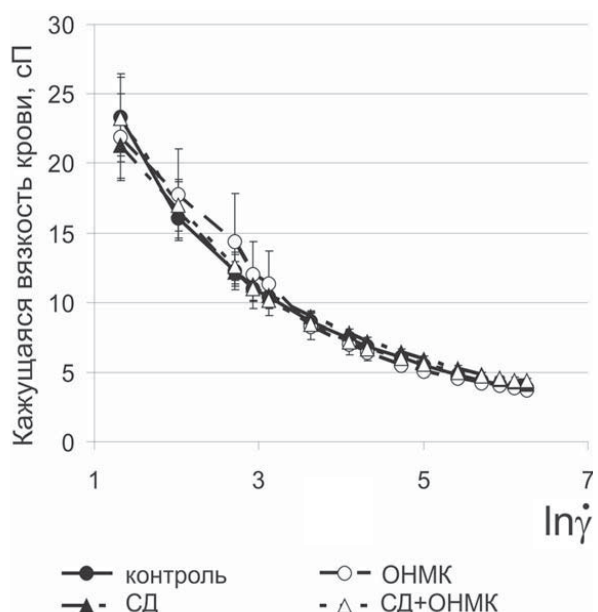


Рис. 3. Кажущаяся вязкость крови у крыс линии КМ с сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения

Показатели деформируемости эритроцитов у крыс с экспериментальным СД и ОНМК значимо не изменились (таблица).

При анализе параметров агрегации мы обнаружили, что у крыс с СД по сравнению с контролем уменьшилось характерное время



**Показатели деформируемости эритроцитов у крыс линии КМ с сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения**

Группы	$P_{\max}$ , отн.ед.	$tg\alpha$ , отн.ед.	$\ln(\check{Y}_0)$ , отн.ед.
Контроль	$0.44 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.002$	$3.04 \pm 0.16$
ОНМК	$0.46 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.002$	$2.79 \pm 0.13$
СД	$0.45 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.002$	$2.98 \pm 0.11$
СД+ОНМК	$0.45 \pm 0.01$	$0.08 \pm 0.001$	$3.17 \pm 0.11$

образования линейных агрегатов  $T_1$  на 21% и увеличилась скорость образования линейных агрегатов  $K_t$  на 47% ( $p < 0.05$ ). ОНМК вызывали снижение характерного размера агрегатов  $A$  на

20% по сравнению с контролем ( $p < 0.05$ , рис. 4). Однако у крыс линии КМ с СД + ОНМК параметры агрегации не отличались от контрольных значений (см. рис. 4).

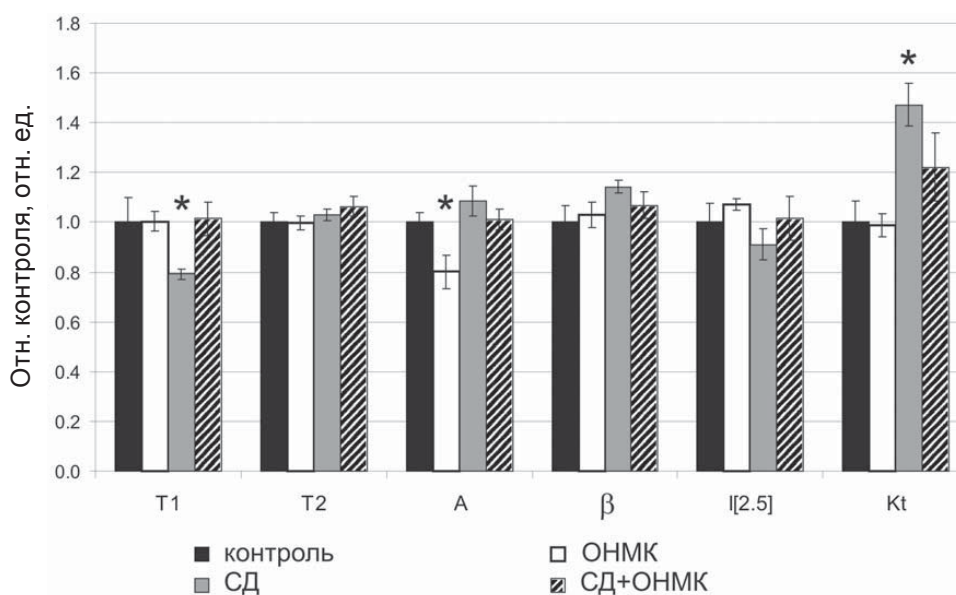


Рис. 4. Агрегация эритроцитов у крыс КМ с экспериментальным сахарным диабетом и острыми нарушениями мозгового кровообращения.  $T_1$  – характерное время спонтанного образования линейных агрегатов;  $T_2$  – характерное время образования трехмерных агрегатов;  $A$  – характерный размер эритроцитарных агрегатов;  $\beta$  – показатель общей гидродинамической прочности агрегатов;  $I_{2.5}$  – параметр, характеризующий прочность самых крупных агрегатов;  $K_t$  – скорость образования линейных агрегатов. Результаты нормированы относительно контрольной пробы; \*  $p < 0.05$  по сравнению с контролем

### Результаты и их обсуждение

В наших опытах через 6 недель после введения стрептозотоцина у крыс линии КМ развивалась стойкая гипергликемия: концентрация глюкозы в крови была увеличена в 5.8–6 раз по сравнению с исходными значениями. У животных развился инсулинзависимый диабет. Для экспериментального моделирования острой артериальной гипертензии, сопровождающейся ОНМК, крыс линии КМ подвергали звуковому воздействию. В группе крыс с экспериментальным сахарным диабетом практически не изме-

нился латентный период до начала судорожного припадка, однако на 27% снижалась интенсивность судорожного припадка по сравнению с таковой в группе крыс без диабета. Такое снижение возбудимости ЦНС у крыс с СД мы связываем с проявлением диабетической невропатии, которая, по данным литературы, возникает значительно раньше при развитии гипергликемии у животных со стрептозотоциновым диабетом, чем нарушения в органах-мишенях [19]. В условиях гипергликемии увеличивается концентрация побочного продукта гликолиза метилглиоксала.



Это вещество и ряд других соединений обладают высокой гликирующей активностью, что способствует образованию конечных продуктов усиленного гликирования (advanced glycation end-products), участвующих в развитии диабетических осложнений [20]. Интересно, что в норме метилглиоксаль в ЦНС является конкурентным частичным агонистом ГАМК(А) рецепторов и поэтому его накопление при гипергликемии, вероятно, также может способствовать снижению возбудимости ЦНС у крыс КМ с СД [21]. В группе крыс с диабетом при финальном звуковом воздействии нарушения движений в баллах в среднем были в 2.7 раза выше, чем в группе без диабета. Во время эпилептиформных судорог происходит многократное увеличение мозгового кровотока [11]. Однако возросшие метаболические потребности возбужденных нейронов в кислороде и глюкозе не удовлетворяются [22]. Это позволяет заключить, что нарушения движений, которые регистрируются во время длительной звуковой экспозиции, отражают не только нарушения мозгового кровообращения геморрагического типа, возникающие вследствие разрывов венозных сосудов при повышении артериального давления выше верхней границы ауторегуляции мозгового кровотока, но и прогрессирующую гипоксию нервной ткани [10, 11]. В связи с этим в наших опытах более выраженные нарушения движения у крыс линии КМ с сахарным диабетом по сравнению с крысами без диабета, по-видимому, отражают более высокую кислородную недостаточность нейронов мозга при сильном возбуждении. Это может быть обусловлено не только изменением гемореологии, определяющей кровоток в сосудах микроциркуляторного русла, но и вызванными СД изменениями на уровне самих кровеносных сосудов и их регуляции. Как следствие, развивается ухудшение адекватного кровоснабжения нервной ткани при диабете [23].

В наших экспериментах у крыс линии КМ со стрептозотоциновым СД кажущаяся вязкость крови не изменилась, однако увеличилась вязкость плазмы крови на 7% у крыс с СД по сравнению с контролем. Согласно литературным данным, при СД обычно регистрируют увеличение вязкости плазмы [1, 4], тогда как не всегда обнаруживают изменение вязкости крови при инсулинзависимом диабете, но находят ее увеличенной при инсулиннезависимом диабете [7].

Мы не обнаружили изменения деформируемости эритроцитов при СД и ОНМК у крыс линии КМ. Эритроциты, деформируясь при

прохождении через микрососуды и регионы с низким парциальным давлением кислорода, выделяют такие важные регуляторные вещества, как АТФ и оксид азот, и способствуют расширению сосудов и гиперемии [24, 25]. В литературе имеются данные о снижении деформируемости эритроцитов при СД, которое четко коррелирует с развитием таких осложнений диабета, как микроангиопатии [9].

У крыс с ОНМК снижение характерного размера агрегатов эритроцитов на 20% по сравнению с контролем могло быть обусловлено изменением формы клеток при ОНМК, что послужило препятствием к образованию агрегатов.

При стрептозотоциновом СД у крыс увеличилась агрегация эритроцитов по сравнению с контролем: уменьшилось характерное время образования линейных агрегатов  $T_1$  на 21% и увеличилась скорость образования линейных агрегатов  $K_1$  на 47%. В литературе есть данные о росте агрегации эритроцитов и увеличении кинетики агрегации при СД [7, 26]. Ускоренное образование агрегатов при СД, по-видимому, может способствовать нарушению микроциркуляции.

При СД на протяжении 100–120 дней своей жизни эритроциты находятся в гипергликемических условиях и подвергаются модификации, изменяющей их агрегационные и деформационные свойства и, как следствие, их поведение в сосудах [1, 4, 7, 9]. В патогенезе СД имеет значение неферментативное гликозилирование белков плазмы и мембраны эритроцитов, которое может приводить к изменению их функции и увеличивает иммуногенность [27]. Гликированный гемоглобин (HbA1c) является предвестником сосудистых осложнений диабета и смертности [28]. Гликирование поверхностных и цитоплазматических белков эритроцитов, белков плазмы крови, по-видимому, может изменять взаимодействие эритроцитов и приводить к усилению их агрегации. При СД в плазме крови повышается концентрация фибриногена и понижается уровень альбумина – важных компонентов агрегации эритроцитов согласно «мостиковой» модели [1, 29]. Повышенная концентрация фибриногена при СД увеличивает вязкость плазмы и может способствовать повышенной агрегации эритроцитов [1, 2]. Патологическая агрегация сопровождается перераспределением эритроцитов в прекапиллярных сетях и уменьшением плотности содержащих эритроциты («функциональных») капилляров. Выраженная патологическая агрегация эритроцитов, особенно в сочетании с



другими процессами, создает основу для развития микроциркуляторной патологии [3].

В группе СД с ОНМК мы ожидали обнаружить увеличение выраженности гемореологических нарушений по сравнению с группой СД и группой ОНМК. Однако, напротив, в этой группе все нарушения гемореологии, обнаруженные при СД, нивелировались: параметры агрегации эритроцитов и вязкость плазмы не отличались от значений в контроле. Механизм этого явления требует дополнительных исследований.

### Заключение

Таким образом, у крыс с экспериментально вызванным сахарным диабетом мы обнаружили увеличение агрегации эритроцитов преимущественно за счет ускорения образования линейных агрегатов и увеличение вязкости плазмы крови. Эти изменения могут быть не только следствием патологического состояния, но могут способствовать его прогрессированию, а также развитию осложнений. Эксперименты на животных расширяют аналитические возможности, так как в клинической практике зачастую трудно точно определить начало развития патологического процесса, адекватно подобрать контрольную группу пациентов, а также для больных недопустима отмена терапевтического лечения и применения фармакологических средств. Анализ изменений реологических параметров у людей с СД, механизмов этих изменений, направленный подбор адекватной терапии могут снизить прогрессирование осложнений и улучшить уровень жизни пациентов с СД.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 14-15-00602).

### Список литературы

1. Муравьев А. В., Чепоров С. В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови). Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. 178 с.
2. Фирсов Н. Н., Джанашия П. Х. Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию. М. : Изд-во РГМУ, 2008. 274 с.
3. Соколова И. А. Агрегация эритроцитов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2010. Т. 9, № 4. С. 4–26.
4. Муравьев А. В., Замышляев А. В., Тихомирова И. А., Чучканов Ф. А., Булаева С. В., Маймистова А. А. Изменение реологического профиля у больных диабетом 1 и 2 типа при лечении Тренталом // Клиническая фармакология и терапия. 2009. № 2. С. 87–90.
5. Дедов И. И., Шестакова М. В., Викулова О. К. Государственный регистр сахарного диабета в Российской Федерации : статус 2014 г. и перспективы развития // Сахарный диабет. 2015. Т. 18, № 3. С. 5–23. DOI: 10.14341/DM201535-22.
6. Sowers J. R., Epstein M. Risk factors for arterial disease in diabetes : hypertension // Diabetic Angiopathy / ed. J. E. Tooke. L. : Arnold Publ., 1999. P. 45–63.
7. Le Devehat C., Vimeux M., Khodabandehlou T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004. Vol. 30. P. 97–300.
8. Fisher M., Meiselman H. J. Hemorheological factors in cerebral ischemia // Stroke. 1991. Vol. 22. P. 1164–1169.
9. Cahn A., Livshits L., Srulevich A., Raz I., Yedgar S., Barshtein G. Diabetic foot disease is associated with reduced erythrocyte deformability // Intern. Wound J. 2016. Vol. 13, № 4. P. 500–504.
10. Крушинский Л. В. Формирование поведения животных в норме и патологии. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1960. 264 с.
11. Фадюкова О. Е., Кузнецов В. С., Крушинский А. Л., Кошелев В. Б. Крысы Крушинского – Молодкиной – модель нарушений мозгового кровообращения : ишемическое прекондиционирование и устойчивость к звуковому стрессу // Формирование поведения животных в норме и патологии : К 100-летию со дня рождения Л. В. Крушинского (1911–1984) : сб. науч. ст. М. : Изд-во «Языки славянской культуры», 2013. С. 392–402.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств : в 2 ч. / отв. ред. А. Н. Миронов. М. : Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.
13. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // Diabetologia. 2008. Vol. 51, № 2. P. 216–226.
14. Baskurt O. K., Boynard M., Cokelet G. C., Connes P., Cooke B. M., Forconi S., Liao F., Hardeman M. R., Jung F., Meiselman H. J., Nash G., Nemeth N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. L. New guidelines for hemorheological laboratory techniques // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009. Vol. 42, № 2. P. 75–97.
15. Priezzhev A. V., Firsov N. N., Lademann J. Light Scattering Diagnostics of Red Blood Cell Aggregation in Whole Blood Samples. Chapter 11 // Handbook of Optical Biomedical Diagnostics / ed. V. V. Tuchin. First ed. Bellingham : SPIE Press, WA, 2002. P. 651–674.
16. Korotaeva T. V., Firsov N. N., Bjelle A., Vishlova M. A. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2007. Vol. 36, № 4. P. 335–343.
17. Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E. Diffraction by the Erythrocytes and Deformability Measurements // Advanced Optical Flow Cytometry : Methods and Disease Diagnoses / ed. V. V. Tuchin. First ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2011. P. 133–154. DOI: 10.1002/9783527634286.ch6.



18. Фирсов Н. Н., Приезжев А. В., Климова Н. В., Тюрина А. Ю. Основные закономерности деформационного поведения эритроцитов в сдвиговом потоке // Инженерно-физический журн. 2006. Т. 79, № 1. С. 114–120.
19. Kalichman M. W., Dines K. C., Bobik M., Mizisin A. P. Nerve conduction velocity, laser Doppler flow, and axonal caliber in galactose and streptozotocin diabetes // Brain Res. 1998. Vol. 810, № 1–2. P. 130–137.
20. Allaman I., Bélanger M., Magistretti P. J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis // Front. Neurosci. 2015. Vol. 9. P. 1–12.
21. Distler M. G., Plant L. D., Sokoloff G., Hawk A. J., Aneas I., Wuenschell G. E., Termini J., Meredith S. C., Nobrega M. A., Palmer A. A. Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABA<sub>A</sub> receptor agonist methylglyoxal // J. Clin. Invest. 2012. Vol. 122, № 6. P. 2306–2315.
22. Zhao M., Ma H., Suh M., Schwartz T. H. Spatio-temporal dynamics of perfusion and oximetry during ictal discharges in the rat neocortex // J. Neurosci. 2009. Vol. 29, № 9. P. 2814–2823.
23. Huang J. Y., Li L. T., Wang H., Liu S. S., Lu Y. M., Liao M. H., Tao R. R., Hong L. J., Fukunaga K., Chen Z., Wilcox C. S., Lai E. Y., Han F. In vivo two-photon fluorescence microscopy reveals disturbed cerebral capillary blood flow and increased susceptibility to ischemic insults in diabetic mice // CNS Neurosci. Ther. 2014. Vol. 20, № 9. P. 816–822.
24. González-Alonso J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans // J. Physiol. 2012. Vol. 590, № 20. P. 5001–5013.
25. Ulker P., Yaras N., Yalcin O., Celik-Ozenci C., Johnson P. C., Meiselman H. J., Baskurt O. K. Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells // Nitric Oxide. 2011. Vol. 24, № 4. P. 184–191.
26. Cloutier G., Zimmer A., Yu F. T., Chiasson J. L. Increased shear rate resistance and fastest kinetics of erythrocyte aggregation in diabetes measured with ultrasound // Diabetes Care. 2008. Vol. 31, № 7. P. 1400–1402.
27. Wu W. C., Ma W. Y., Wei J. N., Yu T. Y., Lin M. S., Shih S. R., Hua C. H., Liao Y. J., Chuang L. M., Li H. Y. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus // PLoS One. 2016. Vol. 11, № 1: e0146780. DOI: 10.1371/journal.pone.0146780.
28. Вельков В.В. Гликозилированный гемоглобин в диагностике сахарного диабета и в оценке риска его осложнений // Клинико-лабораторный консилиум. 2008. № 4. С. 32–45.
29. Jain A., Gupta H. L., Narayan S. Hyperfibrinogenemia in patients of diabetes mellitus in relation to glycemic control and urinary albumin excretion rate // J. Assoc. Physicians India. 2001. Vol. 49. P. 227–230.

#### Образец для цитирования:

Фадюкова О. Е., Луговцов А. Е., Приезжев А. В., Кошелев В. Б. Оптическое исследование реологических свойств крови у крыс линии Крушинского – Молодкиной при сахарном диабете и острых нарушениях мозгового кровообращения // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 111–120. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-111-120.

#### Optical Study of Blood Rheological Properties for Krushinsky – Molodkina Strain Rats with Diabetes Mellitus and Acute Disturbances of the Cerebral Circulation

O. E. Fadyukova, A. E. Lugovtsov,  
A. V. Priezzhev, V. B. Koshelev

Olga E. Fadyukova, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, olefa@hotmail.ru

Andrei E. Lugovtsov, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, anlug@bmp.ilc.edu.ru.

Alexander V. Priezzhev, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, avp2@mail.ru.

Vladimir B. Koshelev, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia, vkoshelev@fbm.msu.ru

**Background and Objectives:** The aim of the study was to assess the hemorheological parameters for rats with experimental diabetes and acute disturbances of the cerebral circulation. **Materials and Methods:** For modeling of the acute cerebral circulation disturbances (ACCD) the epilepsy-prone rats of Krushinsky–Molodkina strain were used. During the application of the

specifically elaborated standard procedure of sound stimulation a strong sound impact leads to ACCD predominantly of the hemorrhagic type. Hemorheologic study was performed six weeks after streptozotocin administration used for modeling diabetes mellitus (DM). **Results:** Characteristic time of linear aggregates formation  $T_1$  decreases by 21% and the rate of linear aggregates formation  $K_f$  increases by 47% ( $p < 0.05$ ) for DM rats in comparison with the control group. ACCD lead to decreasing of the characteristic size of the aggregates by 20% in comparison to the control group ( $p < 0.05$ ). The erythrocyte deformability and whole blood viscosity were not changed, but the blood plasma viscosity was increased by 7% in diabetic rats compared to controls. **Conclusion:** Thus, DM impairs some of hemorheological parameters. However, ACCD associated with DM can lead to different changes in these parameters. Analysis of rheological parameters and the selection of adequate therapy can reduce the progression of complications and improve the quality of living with diabetes.

**Key words:** laser aggregometry, laser diffractometry, red blood cells aggregation and deformability, blood viscosity, diabetes mellitus, acute stroke.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Scientific Foundation (project no. 14-15-00602).





## References

1. Muravyov A. V., Cheporov S. V. *Gemoreologiya (eksperimental'nye i klinicheskie aspekty reologii krovi)* [Hemorheology (experimental and clinical aspects of blood rheology)]. Iaroslavl': Izd-vo IaGPU, 2009. 178 p. (in Russian).
2. Firsov N. N., Dzhanchashia P. H. *Vvedenie v eksperimental'nuiu i klinicheskuiu gemoreologiyu* [Introduction into experimental and clinical hemorheology]. Moscow, Izd-vo RGMU, 2008. 274 p. (in Russian).
3. Sokolova I. A. Agregatsiya eritrotsitov [Erythrocyte aggregation]. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya* [Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya], 2010, vol. 9, no. 4. pp. 4–26 (in Russian).
4. Muravyov A. V., Zamishlayev A. V., Tikhomirova I. A., Chuchkanov F. A., Bulaeva S. V., Maimistova A. A. Izmenenie reologicheskogo profilya u bol'nykh diabetom 1 i 2 tipa pri lechenii Trentalom [Alteration in rheological profile in patients with diabetes melitus type I and II under treatment with Trental]. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya [Klinicheskaya farmakologiya i terapiya]*. 2009, no. 2, pp. 87–90 (in Russian).
5. Dedov I. I., Shestakova M. V., Vikulova O. K. Gosudarstvennyi registr sakharnogo diabeta v Rossiiskoi Federatsii: status 2014 g. i perspektivy razvitiya [National register of diabetes mellitus in Russian Federation: status on 2014]. *Sakharnyi diabet [Sakharnyi diabet]*, 2015, vol. 18, no. 3, pp. 5–23. DOI: 10.14341/DM201535-22 (in Russian).
6. Sowers J. R., Epstein M. Risk factors for arterial disease in diabetes: hypertension. In: *Diabetic Angiopathy*. Ed. J. E. Tooke. London, U.K., Arnold Publ., 1999, pp. 45–63.
7. Le Devehat C., Vimeux M., Khodabandehlou T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2004, vol. 30, pp. 97–300.
8. Fisher M., Meiselman H. J. Hemorheological factors in cerebral ischemia. *Stroke*, 1991, vol. 22, pp. 1164–1169.
9. Cahn A., Livshits L., Srulovich A., Raz I., Yedgar S., Barshtein G. Diabetic foot disease is associated with reduced erythrocyte deformability. *Int. Wound J.*, 2016, vol. 13, no. 4, pp. 500–504.
10. Krushinsky L. V. *Formirovanie povedeniya zhivotnykh v norme i patologii* [Formation of animal behaviour in norm and in pathology]. Moscow, Moscow University Press, 1960. 264 p. (in Russian).
11. Fadyukova O. E., Kuzenkov V. S., Krushinsky A. L., Koshelev V. B. Krysy Krushinskogo–Molodkinoi – model' narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya: ishemiicheskoe prekontsionirovanie i ustoychivost' k zvukovomu stressu [Rats of Krushinsky–Molodkina strain – the model of cerebral circulation disturbances: ischemic preconditioning and the resistance to acoustic stress]. *Formirovanie povedeniya zhivotnykh v norme i patologii: K 100-letiyu so dnya rozhdeniya L. V. Krushinskogo (1911–1984)* [Formation of the animal behaviour in norm and pathology: on the 100th anniversary of the birth of L. V. Krushinsky (1911–1984)]. Moscow, Izd-vo «Zyazyki slavianskoi kul'tury», 2013, pp. 392–402 (in Russian).
12. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for preclinical studies of drugs]: in 2 pt. Ed. A. N. Mironov. Moscow, Grif i K, 2012, part 1. 944 p. (in Russian).
13. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 2008, vol. 51, no. 2, pp. 216–226.
14. Baskurt O. K., Boynard M., Cokelet G. C., Connes P., Cooke B. M., Forconi S., Liao F., Hardeman M. R., Jung F., Meiselman H. J., Nash G., Nemeth N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. L. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 75–97.
15. Priezzhev A. V., Firsov N. N., Lademann J. Light Scattering Diagnostics of Red Blood Cell Aggregation in Whole Blood Samples, Chapter 11. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. Ed. Valery V. Tuchin. First ed. Bellingham, SPIE Press, WA, 2002, pp. 651–674.
16. Korotaeva T. V., Firsov N. N., Bjelle A., Vishlova M. A. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2007, vol. 36, no. 4, pp. 335–343.
17. Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E. Diffraction by the Erythrocytes and Deformability Measurements. *Advanced Optical Flow Cytometry: Methods and Disease Diagnoses*. Ed. Valery V. Tuchin. First ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2011, pp. 133–154. DOI: 10.1002/9783527634286.ch6.
18. Firsov N. N., Priezzhev A. V., Klimova N. V., Tyurina A. Yu. Fundamental laws of the deformational behavior of erythrocytes in shear flow. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2006, vol. 79, no. 1, pp. 118–124.
19. Kalichman M. W., Dines K. C., Bobik M., Mizisin A. P. Nerve conduction velocity, laser Doppler flow, and axonal caliber in galactose and streptozotocin diabetes. *Brain Res.*, 1998, vol. 810, no. 1–2, pp. 130–137.
20. Allaman I., Bélanger M., Magistretti P.J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. *Front. Neurosci.*, 2015, vol. 9, pp. 1–12.
21. Distler M. G., Plant L. D., Sokoloff G., Hawk A. J., Aneas I., Wuenschell G. E., Termini J., Meredith S. C., Nobrega M. A., Palmer A. A. Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABAA receptor agonist methylglyoxal. *J. Clin. Invest.*, 2012, vol. 122, no. 6, pp. 2306–2315.
22. Zhao M., Ma H., Suh M., Schwartz T. H. Spatio-temporal dynamics of perfusion and oximetry during ictal discharges in the rat neocortex. *J. Neurosci.*, 2009, vol. 29, no. 9, pp. 2814–2823.



23. Huang J. Y., Li L. T., Wang H., Liu S. S., Lu Y. M., Liao M. H., Tao R. R., Hong L. J., Fukunaga K., Chen Z., Wilcox C. S., Lai E. Y., Han F. *In vivo* two-photon fluorescence microscopy reveals disturbed cerebral capillary blood flow and increased susceptibility to ischemic insults in diabetic mice. *CNS Neurosci. Ther.*, 2014, vol. 20, no. 9, pp. 816–822.
24. González-Alonso J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans. *J. Physiol.*, 2012, vol. 590, no. 20, pp. 5001–5013.
25. Ulker P., Yaras N., Yalcin O., Celik-Ozenci C., Johnson P. C., Meiselman H. J., Baskurt O. K. Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells. *Nitric Oxide*, 2011, vol. 24, no. 4, pp. 184–191.
26. Cloutier G., Zimmer A., Yu F. T., Chiasson J. L. Increased shear rate resistance and fastest kinetics of erythrocyte aggregation in diabetes measured with ultrasound. *Diabetes Care*, 2008, vol. 31, no. 7, pp. 1400–1402.
27. Wu W. C., Ma W. Y., Wei J. N., Yu T. Y., Lin M. S., Shih S. R., Hua C. H., Liao Y. J., Chuang L. M., Li H. Y. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 1, e0146780. DOI: 10.1371/journal.pone.0146780.
28. Vel'kov V. V. Glikozilirovannyi gemoglobin v diagnostike sakharnogo diabeta i v otsenke riska ego oslozhnenii [Glycosylated hemoglobin in diagnosis of diabetes mellitus and evaluation of the risks of its complications]. *Kliniko-Laboratornyj Konsilium*, 2008, no. 4, pp. 32–45 (in Russian).
29. Jain A., Gupta H. L., Narayan S. Hyperfibrinogenemia in patients of diabetes mellitus in relation to glycemic control and urinary albumin excretion rate. *J. Assoc. Physicians India*, 2001, vol. 49, pp. 227–230.

---

**Cite this article as:**

Fadyukova O. E., Lugovtsov A. E., Priezzhev A. V., Koshelev V. B. Optical Study of Blood Rheological Properties for Kruhinsky – Molodkina Strain Rats with Diabetes Mellitus and Acute Disturbances of the Cerebral Circulation. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 111–120 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-111-120.

---