

УДК 612.135]+[616.15-008.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-60-64

БЛАЖКО А. А.<sup>1</sup>, ШАХМАТОВ И. И.<sup>1, 2</sup>,  
КИСЕЛЁВ В. И.<sup>1, 2</sup>, ЛЫЧЕВА Н. А.<sup>1, 2</sup>,  
МОСКАЛЕНКО С. В.<sup>1</sup>

## Изменения микроциркуляции у крыс по данным лазерной доплеровской флоуметрии при физической нагрузке, сопровождающейся развитием состояния тромботической готовности

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России

656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения РАН

656031, Россия, г. Барнаул, ул. Папанинцев, д. 126

e-mail: Blazhko\_1990@mail.ru

Статья поступила в редакцию 05.10.17; принята к печати 23.10.17

### Реферат

*Введение.* Значительная физическая нагрузка может приводить к повреждению различных органов и систем, включая систему микроциркуляторного русла.

*Материал и методы.* Экспериментальные группы животных подвергались 4-часовой и 8-часовой физической нагрузке. У экспериментальных животных исследовалось состояние микроциркуляторного русла методом лазерной доплеровской флоуметрии.

*Результаты исследования.* 4-часовая физическая нагрузка у крыс не вызывала снижения показателя микроциркуляции. После 8-часовой физической нагрузки у крыс отмечалось уменьшение показателя микроциркуляции и дальнейшее снижение показателя флукса.

*Выводы.* Изменения показателей микроциркуляции при 8-часовой нагрузке могут являться одним из признаков развития состояния тромботической готовности и повышенного риска тромбообразования.

**Ключевые слова:** физическая нагрузка, микроциркуляция, лазерная доплеровская флоуметрия, эндотелиальная дисфункция

*Для цитирования:* Блажко А. А., Шахматов И. И., Киселёв В. И., Лычева Н. А., Москаленко С. В. Изменения микроциркуляции у крыс по данным лазерной доплеровской флоуметрии при физической нагрузке, сопровождающейся развитием состояния тромботической готовности. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2017;16(4):60–64. doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-60-64

UDK 612.135]+[616.15-008.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-60-64

BLAZHKO A. A.<sup>1</sup>, SHAKHMATOV I. I.<sup>1, 2</sup>,  
KISELEV V. I.<sup>1, 2</sup>, LYCHEVA N. A.<sup>1, 2</sup>,  
MOSKALENKO S. V.<sup>1</sup>

## Changes of microcirculation in rats detected by laser Doppler flowmetry at physical load accompanied by the development of thrombotic readiness

<sup>1</sup> FSBEI HE Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 656038, Russian Federation, 656038, Russian Federation, Barnaul, Lenina Prospekt, 40

<sup>2</sup> FSBSI Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine of SB RAS, 656031, Russia, 656031, Russian Federation, 656038, Russian Federation, Barnaul, Papanintsev Ulits, 12b

e-mail: Blazhko\_1990@mail.ru

Received 05.10.17; accepted 23.10.17.

**Summary**

**Introduction.** A considerable physical load can lead to the damage of various organs and systems including the system of the microcirculatory bloodstream.

**Materials and methods.** The experimental groups of animals were exposed to 4-hour and 8-hour physical load. The state of the microcirculatory bloodstream was examined by means of laser Doppler flowmetry.

**Results.** 4-hour physical load did not cause any reduction of the microcirculation parameter in rats. 8-hour physical load led to a decrease of the microcirculation parameter and further reduction of flux parameter.

**Conclusions.** Such changes of microcirculation parameters can be one of the symptoms of development of the state of thrombotic readiness and high risk of thrombosis in rats after 8-hour physical load. **Key words:** physical load, microcirculation, laser Doppler flowmetry, endothelial dysfunction

**Key words:** physical load, microcirculation, laser Doppler flowmetry, endothelial dysfunction

**For citation:** Blazhko A. A., Shakhmatov I. I., Kiselev V. I., Lycheva N. A., Moskalenko S. V. Changes of microcirculation in rats detected by laser Doppler flowmetry at physical load accompanied by the development of thrombotic readiness. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2017;16(4):60–64. doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-60-64

**Введение**

Физическая нагрузка как наиболее распространенный вид стрессорного воздействия на человека при регулярном использовании может повышать устойчивость организма к различным факторам среды за счет механизмов перекрестной адаптации [1, 9]. В то же время сверхпороговая физическая нагрузка может приводить к повреждению различных органов и систем, вызывая в организме состояние дистресса [6, 12]. Сегодня является актуальным изучение влияния значительной физической нагрузки на состояние организма, так как такие нагрузки связаны с повышением риска для сердечно-сосудистых событий, в том числе внезапной сердечной смерти [16]. Нами было показано, что сверхпороговая 8-часовая физическая нагрузка у крыс вызывает развитие состояния тромботической готовности [2]. Однако понятие «состояние тромботической готовности» включает в себя не только лабораторно выявляемые изменения со стороны системы гемостаза, но и клинические признаки предтромботического состояния [7], к которым можно отнести нарушения микроциркуляции. Также значимая роль в повышении риска тромбообразования принадлежит эндотелиальной дисфункции [3, 4]. Стрессорное воздействие за счет значительного повышения уровня катехоламинов в крови вызывает сужение сосудов и может приводить к развитию нарушений в системе микроциркуляции [8]. Так как микроциркуляторное русло осуществляет транспортную функцию сердечно-сосудистой системы, обеспечивает трансапиллярный обмен [13], а также определяет эффективную адаптацию организма к выполнению мышечных нагрузок и обеспечивает транспорт дыхательных газов [14], представляется важным изучить изменения состояния системы микроциркуляции при действии физической нагрузки.

**Цель** исследования – изучить влияние однократной физической нагрузки, вызывающей развитие состояния тромботической готовности, на показатели микроциркуляции у крыс.

**Материал и методы исследования**

Исследования были выполнены на 30 крысах-самцах линии Wistar массой 250±20 г. Животные были разделены на три группы (интактная группа (10 животных) и две экспериментальные группы животных (по 10 животных в каждой группе)). Эксперимен-

тальные животные подвергались 4-часовой и 8-часовой физической нагрузке в виде навязанного бега в тредбане со скоростью вращения 6–8 м/мин. Ранее нами было показано, что данные режимы физической нагрузки вызывают у крыс развитие начальных проявлений и непосредственно состояния тромботической готовности после 4-часового и 8-часового воздействия соответственно [2, 12].

Для исследования состояния микроциркуляторного русла применялся метод лазерной доплеровской флоуметрии с анализом амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока на аппарате «ЛАКК-02» (НПО «Лазма», Россия). При этом регистрировались основные параметры микроциркуляции, а также проводился анализ амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока в полосе частот от 0,005 до 3 Гц. В этой полосе формировалось четыре неперекрывающихся частотных диапазона, позволяющих оценить состояние «активных» и «пассивных» звеньев регуляции микрокровотока [11]. Головка оптического зонда фиксировалась в основании хвоста экспериментального животного. Известно, что изучение одной какой-либо области микроциркуляции, доступной для исследования, может дать представление о системе микроциркуляции в целом [10]. Длительность записи ЛДФ-граммы составляла 7 мин.

Использование крыс в экспериментах осуществлялось в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и Директивами – 86/609/ЕЕС. Обезболивание животных проводилось в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Экспериментальные исследования, описываемые в данной работе, были выполнены с разрешением Локального этического комитета ФГБОУ ВО «АГМУ» Минздрава РФ от 5 сентября 2017 г., протокол № 5.

Полученные в ходе исследования данные, приведены в таблице.

Статистический анализ проводился на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0» (StatSoft, США). Достоверность различий оценивалась при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни, так как признаки не подчинялись нормальному распределению. Различия считались достоверными при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение**

Как следует из данных, приведенных в таблице, 4-часовая физическая нагрузка не вызывала у крыс снижения показателя микроциркуляции, однако отмечалось уменьшение модуляции кровотока в микрососудистом русле, о чем говорит уменьшение показателя флакса на 22 % ( $p_1=0,017$ ). По итогам 4-часового воздействия было установлено снижение амплитуды вазомоторных волн на 48 % ( $p_1=0,018$ ).

8-часовая физическая нагрузка вызывала у крыс снижение показателя микроциркуляции на 43 % ( $p_1<0,001$ ) и снижение флакса на 42 % ( $p_1=0,001$ ) по сравнению с интактными животными, а также снижение этих показателей соответственно на 52 % ( $p_2<0,001$ ) и 25 % ( $p_2=0,023$ ) – по сравнению с крысами после 4-часовой нагрузки.

По сравнению с интактными животными данные амплитудно-частотного анализа у крыс после 8-часовой физической нагрузки свидетельствовали об угнетении активных механизмов регуляции кровотока: снижении амплитуды эндотелиальных колебаний на 50 % ( $p_1=0,031$ ), а также амплитуды вазомоторных волн, выявленной у крыс еще после 4-часовой физической нагрузки, на 58 % ( $p_1=0,003$ ).

У крыс, подвергшихся 8-часовой физической нагрузке, было зарегистрировано уменьшение амплитуды пульсовой волны на 77 % ( $p_1=0,035$ ) по сравнению с интактными животными и на 56 % ( $p_2=0,007$ ) по сравнению с животными после 4-часовой нагрузки. При этом амплитуда дыхательных колебаний у крыс, подвергшихся 8-часовому воздействию, повышалась

на 42 % ( $p_1=0,006$ ) по сравнению с интактными животными и на 69 % ( $p_2<0,001$ ) по сравнению с крысами после 4-часовой нагрузки.

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют, что после 4-часовой физической нагрузки у крыс происходят нарушения активных механизмов регуляции кровотока, связанных, вероятно, с увеличением миогенной активности и активацией симпатoadренальной системы [5, 8]. Однако это не сопровождается снижением показателя микроциркуляции, так как при повышении миогенного тонуса прекапилляров, по-видимому, включается механизм контроля, связанный с высвобождением оксида азота эндотелием, который препятствует развитию вазоконстрикторного эффекта [17].

8-часовая физическая нагрузка у крыс приводит к снижению показателя микроциркуляции и показателя флакса, что свидетельствует об уменьшении притока крови в микроциркуляторное русло, а также об уменьшении модуляции кровотока. Отмеченное снижение амплитуды эндотелиальных волн, вероятно, обусловлено сокращением содержания эндотелиального оксида азота, что может свидетельствовать о развитии эндотелиальной дисфункции [4, 5, 15].

По завершении 8-часовой физической нагрузки отмечается снижение амплитуды низкочастотных волн, что говорит об угнетении активных механизмов регуляции микроциркуляторного русла, проявляющемся в развитии спазма сосудов микроциркуляции и росте периферического сопротивления. Такая реакция может быть обусловлена активацией симпато-

**Изменение показателей микроциркуляции экспериментальных и интактных крыс****Change in microcirculation indices of experimental and intact rats**

Показатель, пф. ед.	Интактные крысы (n=10)	4-часовая физическая нагрузка (n=10)	8-часовая физическая нагрузка (n=10)
ПМ	6,9 [5,8–8,8]	8,1 [5,8–11,1], $p_1=0,774$	3,9 [3,6–5,0], $p_1<0,001(\Delta_1 - 43 \%)$ , $p_2<0,001(\Delta_2 - 52 \%)$
СКО ( $\sigma$ )	3,6 [2,9–4,9]	2,8 [2,5–3,3], $p_1=0,017$ ( $\Delta_1 - 22 \%$ )	2,1 [1,6–2,5], $p_1=0,001(\Delta_1 - 42 \%)$ , $p_2=0,023(\Delta_2 - 25 \%)$
Эндотелиальные волны (VLF)	10,9 [7,2–18,5]	8,5 [6,1–10,6], $p_1=0,235$	5,4 [4,1–7,1], $p_1=0,031(\Delta_1 - 50 \%)$ , $p_2=0,059$
Вазомоторные волны (LF)	11,1 [6,3–17,3]	5,8 [3,7–7,2], $p_1=0,018$ ( $\Delta_1 - 48 \%$ )	4,7 [3,5–5,9], $p_1=0,003(\Delta_1 - 58 \%)$ , $p_2=0,496$
Дыхательные волны (HF1)	5,0 [2,7–7,0]	4,2 [1,9–5,2], $p_1=0,086$	7,1 [6,5–8,7], $p_1=0,006(\Delta_1 + 42 \%)$ , $p_2<0,001(\Delta_2 + 69 \%)$
Пульсовые волны (CF1)	3,3 [1,1–4,0]	2,5 [1,7–3,1], $p_1=0,628$	1,1 [1,0–1,4], $p_1=0,035(\Delta_1 - 77 \%)$ , $p_2=0,007(\Delta_1 - 56 \%)$

Примечание: результаты представлены в виде (m [25–75 %]), где m – медиана в выборочной совокупности; [25–75 %] – 25-й и 75-й перцентиль;  $\Delta_1$  – статистически значимая разница экспериментальной группы с интактными животными при  $p_1<0,05$ ;  $p_1$  – уровень значимости различий экспериментальной группы с интактными животными;  $\Delta_2$  – статистически значимая разница экспериментальных групп между собой при  $p_2<0,05$ ;  $p_2$  – уровень значимости различий экспериментальных групп между собой; ПМ – показатель микроциркуляции; пф. ед. – перфузионные единицы; СКО ( $\sigma$ ) – флакс, среднеквадратичное отклонение амплитуд колебаний кровотока; n – количество животных в исследуемой группе.

адреналовой системы и развитием стресс-реакции в организме [5].

Кроме того, повышение амплитуды дыхательных волн у крыс после 8-часовой нагрузки указывает на снижение микроциркуляторного давления и ухудшение оттока крови, что может сопровождаться застойными явлениями в зоне микроциркуляции [5].

Таким образом, 8-часовая однократная физическая нагрузка, в отличие от 4-часового воздействия, вызывает у крыс выраженные изменения в микроциркуляторном русле: угнетение тканевого кровотока, спазм сосудов перекапиллярного звена, признаки застойных явлений, угнетение активных механизмов регуляции, эндотелиальную дисфункцию. Такие изменения показателей микроциркуляции являются еще одним признаком, характеризующим состояние тромботической готовности и повышенный риск тромбообразования у крыс после 8-часовой физической нагрузки.

### Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

### Литература / References

1. Агаджанян Н. А., Баевский Р. М., Береснева А. П. Учение о здоровье и проблемы адаптации. – Ставрополь: СГУ, 2000. – 203 с. [Agadzhanyan N.A., Bayevsky R.M., Beresneva A.P. Teaching about health and adjustment problems. Stavropol: SSU; 2000: 203. In Russian].

2. Блажко А. А., Шахматов И. И., Лычева Н. А., Москаленко С. В. Снижение риска развития состояния тромботической готовности при воздействии сверхпороговой физической нагрузки у крыс на фоне предварительного приема пантогематогена // Современные проблемы науки и образования. 2016. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24255> (дата обращения: 24.09.2017). DOI: 10.17513/spno.24255. [Blazhko A.A., Shakhmatov I.I., Lycheva N.A., Moskalenko S.V. Risk reduction of thrombotic state of readiness under the influence of suprathreshold physical load in rats on the background of the anticipatory administration of pantogematogen. Modern problems of science and education [Internet]. 2016. Available from: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24255> (accessed: 24.09.2017). DOI: 10.17513/spno.24255. In Russian].

3. Зубаирова Л. Д., Мустафин И. Г., Набиуллина Р. М. Патогенетические подходы к исследованию маркеров венозного тромбоза // Казанский медицинский журнал. – 2013. – № 94 (5). – С. 685–691. [Zubairova L.D., Mustafin I.G., Nabiullina R.M. Pathogenetic approach to venous thrombosis markers examination. Kazan medical journal. 2013; 94(5): 685-691. In Russian].

4. Иванов А. Н., Гречихин А. А., Норкин И. А., Пучиньян Д. М. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – № 13 (4). – С. 4–11. [Ivanov A.N., Grechikhin A.A., Norkin I.A., Puchinyan D.M. Methods of endothelial dysfunction diagnosis. Regional Haemodynamics and Microcirculation. 2014; 13(4): 4-11. In Russian].

5. Крупаткин А. И. Колебания кровотока – новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – № 13 (1). – С. 83–99. [Krupatkin A.I. Bloodstream fluctuations – new diagnostic language in microcirculation research. Regional Haemodynamics and Microcirculation. 2014; 13(1): 83-99. In Russian].

6. Меерсон Ф. З., Пиенникова М. Г. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256 с. [Meerson F.Z., Pshennikova M.G. Adaptation to stress situations and physical loads. Moscow: Meditsina; 1988: 256. In Russian].

7. Момот А. П., Цывкина Л. П., Тараненко И. А. и др. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности. – Барнаул, 2011. – С. 18–19. [Motot A.P., Tsyvkina L.P., Taranenko I.A. et al. Modern methods of thrombotic readiness detection. Barnaul, 2011: 18-19. In Russian].

8. Перфилова В. Н., Тюренков И. Н., Лебедева С. А. и др. Изменения функционирования системы микроциркуляции под влиянием нового производного ГАМК-соединения рглу-147 при хроническом стрессорном воздействии // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – № 6 (4). – С. 64–67. [Perfilova V.N., Tyurenkov I.N., Lebedeva S.A., et al. Change of microcirculation system function under the influence of new GABA derivative - RGPU-147 compound at chronic stress exposure. Regional Haemodynamics and Microcirculation. 2007; 6(4): 64-67. In Russian].

9. Пиенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2001. – № 3. – С. 28–40. [Pshennikova M.G. Stress phenomenon. Emotional stress and its role in pathology. Journal of Pathophysiology and Experimental Therapy. 2001; 3: 28-40. In Russian].

10. Тихомирова И. А., Муравьев А. В., Петроченко Е. П., Михайлов С. Г. Микроциркуляция и реология крови при нарушениях кровообращения. – Ярославль: Канцлер, 2011. – С. 12–13. [Tikhomirova I.A., Muravyev A.V., Petrochenko Ye.P., Mikhailov S.G. Microcirculation and blood rheology by circulation disorders. Yaroslavl: Kantsler; 2011: 12-13. In Russian].

11. Федорович А. А. Функциональное состояние регуляторных механизмов микроциркуляторного кровотока в норме и при артериальной гипертензии по данным лазерной доплеровской флоуметрии // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2010. – № 9 (1). – С. 49–60. [Fedorovich A.A. The functional state of regulatory mechanisms of the microcirculatory blood flow in normal conditions and in arterial hypertension according to laser Doppler flowmetry. Regional Haemodynamics and Microcirculation. 2010; 9(1): 49-60. In Russian].

12. Шахматов И. И. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки на реакцию системы гемостаза // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 3. – С. 144–150. [Shakhmatov I.I. Single physical exercises and immobilization of different duration impact haemostatic system reactions. Fundamental research. 2010; 3: 144-150. In Russian].

13. Baskurt O.K., Yalcin O., Meiselman H.J. Hemorheology and vascular control mechanisms. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004; 30: 169-178.

14. Gonzalez-Alonso J., Crandall C. G., Johnson J. M. The cardiovascular challenge of exercising in the heat. J. Physiol. 2008; 586(1): 45–53.

15. Mahe G., Abraham P., Durand S. Laser method can also be used for endothelial function assessment in clinical practice. J. Atheroscler. Thromb. 2013; 20(5): 512–513.

16. Marijon E., Uy-Evanado A., Reinier K. et al. Sudden Cardiac Arrest During Sports Activity in Middle Age. Circulation. 2015; 131: 1384-1391.

17. Meyer M.F., Rose C.J., Hylsman J.O. et al. Impaired 0.1-Hz vasomotion assessed by laser Doppler anemometry as an early index of peripheral sympathetic neuropathy in diabetes. Microvasc. Res. 2003; 65: 88-95.

### Информация об авторах

**Блашко Александр Александрович** – преподаватель кафедры нормальной физиологии АГМУ, г. Барнаул, Россия, e-mail: blazhko\_1990@mail.ru.

**Шахматов Игорь Ильич** – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой нормальной физиологии АГМУ, г. Барнаул, Россия; старший научный сотрудник, НИИ ФФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия, e-mail: iish59@yandex.ru.

**Киселёв Валерий Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры нормальной физиологии АГМУ, г. Барнаул, Россия; начальник лаборатории физиологии, патологии гемостаза и гемодинамики НИИ ФФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия, e-mail: vik@agmu.ru.

**Лычева Наталья Александровна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии АГМУ, г. Барнаул, Россия; младший научный сотрудник НИИ ФФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия, e-mail: natalia.lycheva@yandex.ru.

**Москаленко Светлана Валерьевна** – преподаватель кафедры нормальной физиологии АГМУ, г. Барнаул, Россия, e-mail: sunrisemsv@gmail.com.

### Author information

**Blazhko Alexander A.** – assistant, Department of Normal Physiology, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: blazhko\_1990@mail.ru.

**Shakhmatov Igor' I.** – DM, Associate Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation; Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: iish59@yandex.ru.

**Kiselev Valeriy I.** – DM, Professor, Corresponding Member of RAS, Department of Normal Physiology, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation; Head of Department of Physiology and Pathology of Hemostasis and Hemodynamic Laboratory, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: vik@agmu.ru.

**Lycheva Natal'ya A.** – PhD, Associate Professor, Department of Normal Physiology, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation; Junior Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: natalia.lycheva@yandex.ru.

**Moskalenko Svetlana V.** – assistant, Department of Normal Physiology, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: sunrisemsv@gmail.com.