

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М. В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Ермолинский Петр Борисович

**Особенности микрореологии и сил взаимодействия
компонентов системы крови в норме и при
сердечно-сосудистых заболеваниях**

Специальность: 1.3.21. Медицинская физика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва — 2025

Диссертация подготовлена на кафедре общей физики и волновых процессов физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель: **Приезжев Александр Васильевич**, кандидат физико-математических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Ройтман Евгений Витальевич**, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел лабораторной диагностики, ведущий научный сотрудник;

Яминский Игорь Владимирович, доктор физико-математических наук, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, кафедра физики полимеров и кристаллов, профессор;

Кириллин Михаил Юрьевич, кандидат физико-математических наук, Институт прикладной физики имени А.В. Гапонова-Грехова РАН, отдел радиофизических методов в медицине, старший научный сотрудник.

Защита диссертации состоится «18» сентября 2025 г. в 17 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.011.9 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: РФ, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1. стр. 2, Физический факультет МГУ, аудитория 5-19.

E-mail: osminkinala@my.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский проспект, д.27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3462>

Автореферат разослан «____» июня 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета МГУ.011.9,
кандидат физико-математических наук

Л.А. Осминкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования микрореологии крови *in vitro* и *in vivo* в норме и патологии с помощью комплекса оптических методов обусловлена важной ролью реологических свойств крови в обеспечении нормального функционирования сердечно-сосудистой системы и их значительным влиянием на кровоток.

Микрореологические параметры крови отражают её текучие свойства в капиллярах и малых сосудах. По большей части они зависят от свойств клеток крови (таких как размеры клеток, их деформируемость и др.), а также от взаимодействия форменных элементов крови между собой (агрегация эритроцитов/тромбоцитов, взаимодействие клеток крови и сосудистого эндотелия и др.) [1].

Эритроциты — красные клетки крови, основная функция которых заключается в переносе кислорода к тканям и углекислого газа от тканей, обладают способностью обратимо деформироваться в сдвиговом потоке, что позволяет им проходить сквозь капилляры, диаметр которых меньше, чем их поперечные размеры [2]. Способность эритроцитов к деформации позволяет им также увеличивать площадь поверхности, что повышает эффективность газообмена [3]. Эритроциты при малых сдвиговых напряжениях в потоке крови способны обратимо и спонтанно взаимодействовать друг с другом. Данное взаимодействие приводит к созданию линейных и более сложных структур — эритроцитарных агрегатов, и называется агрегацией эритроцитов (АЭ) [4]. АЭ и деформируемость эритроцитов (ДЭ) существенным образом влияют на вязкость крови и микроциркуляцию во всем организме.

Тромбоциты играют важнейшую роль в поддержании системы кровообращения, участвуя в процессах тромбообразования и коагуляции крови. При повреждении стенки кровеносного сосуда тромбоциты активируются, адгезируются на повреждённой сосудистой стенке и взаимодействуют друг с другом посредством агрегации тромбоцитов (АТ) [5].

В организме процессы АЭ, ДЭ и АТ взаимовлияют друг на друга. К примеру, изменение ДЭ приводит к изменению АЭ [6, 7]. В свою очередь процесс АЭ в сосудах приводит к вытеснению тромбоцитов из центра сосуда к его стенке, что позволяет тромбоцитам лучше выполнять свои основные функции [8]. Также важно отметить, что сосудистый эндотелий оказывает воздействие на рассматриваемые процессы, значительно влияя на них [9].

В течение последних десятилетий болезни системы кровообращения остаются

основной причиной смерти в большинстве стран мира [10]. Основным подмножеством данных болезней являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). При ССЗ параметры крови, и в том числе, микроциркуляция крови, претерпевают значительные изменения, что приводит к ухудшению перфузии тканей, нарушениям системы гомеостаза и другим осложнениям [11]. К примеру, пониженная ДЭ приводит не только к нарушению способности эритроцитов проходить через терминальные капилляры, но и замедляет высвобождение вазоактивных медиаторов, необходимых для вазорегуляции [12]. Это в свою очередь может приводить к дисфункции эндотелия и различным сосудистым осложнениям, к примеру, артериальной гипертензии [13]. Повышенная АЭ и пониженная ДЭ наблюдаются при диабете 1-го и 2-го типа [14], артериальной гипертензии [15], ишемической болезни сердца [16], при острой артериальной/венозной непроходимости [17] и других ССЗ [4]. Повышенная АТ при ССЗ приводит также к повышенному риску образования тромбов [18].

Важно отметить, что в ряде случаев отклонение параметров микроциркуляции от нормы может указывать на активацию регуляторных функций организма, а не на наличие патологических процессов в организме [4, 19].

Несмотря на то, что кровь и её микроциркуляция исследуется много лет, остается много вопросов и неясностей по поводу процессов АЭ, ДЭ и АТ [20]. В частности, до конца не исследован(ы) механизм(ы) АЭ. Не полностью изучено влияние ряда факторов на АЭ: сосудистого эндотелия, белкового состава плазмы, влияние ДЭ на АЭ и многих других. На данный момент неизвестно, как между собой связаны различные параметры микроциркуляции в норме и при ССЗ. Фундаментальные и прикладные исследования параметров микроциркуляции крови позволят разработать новые методики её измерения, а также новые протоколы лечения пациентов с ССЗ, что обусловлено повышающимся интересом к оценке параметров микроциркуляции крови в медицинской науке. Данный интерес вызван тем, что реологические нарушения свойств крови, как правило, сопровождаются гиперкагуляцией, тромбозами и другими серьезными осложнениями [21].

Цель исследования заключалась в установлении количественных различий в микрореологических свойствах крови *in vitro* и *in vivo* в норме и при сердечно-сосудистых заболеваниях с применением оптических методов, а также в оценке влияния на эти свойства сосудистого эндотелия.

Задачи исследования:

1. Определить изменения микрореологических параметров крови и взаимосвязи между ними при сердечно-сосудистых заболеваниях с использованием оптических методов;
2. Количественно охарактеризовать взаимодействие эритроцитов с сосудистым эндотелием и агрегацию эритроцитов *in vitro* с использованием лазерного пинцета;
3. Установить зависимость влияния оксида азота и фибриногена при их различных концентрациях на агрегацию эритроцитов при наличии монослоя эндотелия;
4. Разработать новую установку лазерного агрегометра для количественного измерения параметров агрегации эритроцитов.

Научная новизна работы

1. Впервые методом лазерного пинцета проведены измерения сил взаимодействия эритроцит-эндотелий в физиологических условиях, а также исследовано модулирующее влияние фибриногена и оксида азота на это взаимодействие. Согласно анализу литературных данных, подобные измерения ранее не проводились с использованием лазерного пинцета.
2. Установлены количественные корреляции между различными параметрами микроциркуляции у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, выявившие ранее неизвестные взаимосвязи между реологическими показателями при ряде патологий, таких как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердий, а также сахарный диабет 2-го типа.
3. С помощью оптических методов количественно изучено влияние комплекса физиологических факторов (концентрация фибриногена, воздействие оксида азота, температуры и др.) на агрегацию эритроцитов, что позволило выявить новые закономерности их взаимодействия в норме и патологии.
4. Разработан и создан принципиально новый портативный лазерный эритроцитарный агрегометр с уникальным программным обеспечением. Продемонстрирована возможность измерения гистерезиса агрегации эритроцитов с использованием вибрационного механизма разбиения эритроцитарных агрегатов.

Объект исследования: кровь здоровых доноров и пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями; агрегационные и микрореологические

свойства эритроцитов в норме и при патологии. **Предмет исследования:** количественные закономерности влияния различных факторов на микрореологические свойства клеток крови.

Теоретическая значимость работы состоит в выявлении фундаментальных закономерностей изменения микрореологических характеристик крови при физиологических и патологических состояниях, что вносит существенный вклад в понимание механизмов нарушений микроциркуляции, а также влияния различных аспектов на микрореологию крови.

Практическая значимость работы заключается в разработке новых протоколов измерения микрореологических параметров крови, а также в уточнении ряда аспектов микроциркуляции крови, что может служить основой для развития новых методов терапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Методология и методы исследования

В работе были использованы следующие оптические методы измерения микрореологических свойств крови *in vitro*: лазерный пинцет, лазерная агрегометрия, лазерная эктацитометрия, оптическая турбидиметрия. Также в работе был использован метод измерения параметров капиллярного кровотока *in vivo* — цифровая капилляроскопия.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Лазерный пинцет обеспечивает количественное измерение *in vitro* сил взаимодействия между одиночными эритроцитами здоровых доноров и клетками сосудистого эндотелия (HUVEC) в диапазоне 0,5 – 5 пН, что ниже диапазона сил межэритроцитарной агрегации (1,5 – 7 пН) и дезагрегации (2 – 13 пН).
2. Экспериментально установлено, что сила адгезии эритроцитов здоровых доноров к эндотелиоцитам (HUVEC), измеренная *in vitro* методом лазерного пинцета, достигает насыщения ($2,8 \pm 0,1$ пН) при концентрациях фибриногена выше 4 мг/мл.
3. Силы агрегации одиночных эритроцитов здоровых доноров, измеренные *in vitro* с помощью лазерного пинцета, на монослое эндотелиальных клеток (HUVEC) в плазме крови снижаются на $19 \pm 2\%$ при предварительной инкубации эндотелия с L-аргинином в концентрации 100 мкМ, что обусловлено влиянием эндотелиальной NO-синтазы.
4. Гидродинамическая прочность агрегатов и индекс агрегации эритроцитов, измеренные *in vitro* методом лазерной агрегометрии, положительно статисти-

чески значимо коррелируют (по Пирсону) у пациентов с артериальной гипертензией и фибрилляцией предсердий ($r = 0,5$), а также при сопутствующих заболеваниях: ишемической болезни сердца и/без сахарного диабета 2-го типа ($r = 0,3$ и $r = 0,5$).

Обоснование достоверности результатов

- достаточный объем экспериментальных данных, полученных в повторяющихся сериях измерений;
- строгая статистическая обработка с оценкой значимости различий;
- подтверждение ключевых выводов независимыми методами исследования.

Личный вклад автора

Все данные, представленные в диссертационной работе, получены автором лично с его активным участием в постановке целей, разработке методологии и проведении экспериментов. Построение всех графиков и рисунков, а также обработка результатов в диссертации проведены автором.

Автор не участвовал в непосредственном измерении характеристик микроциркуляции крови в ногтевом ложе на капилляроскопе у пациентов, т.к. работать с пациентами разрешено только квалифицированным врачам.

Публикации

По результатам диссертационного исследования автором опубликовано 20 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science, Scopus и РИНЦ, включая 7 публикаций в журналах, входящих в перечень ВАК.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были лично доложены автором диссертации на 21 российских и международных конференциях, из которых на 5-и устный доклад или постер были отмечены наградами.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, а также трех приложений. Полный объем диссертации составляет 183 страниц текста, включая 53 рисунка и 15 таблиц. Список литературы содержит 287 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность темы диссертации, формулируются цели и задачи исследований в рамках диссертационной работы, приводятся положения, выносимые на защиту.

Глава 1. Обзор литературы

В разделе 1.1 рассматриваются кровь как гетерогенная жидкость и её микро-реологические характеристики, включая описание эритроцитов (§1.1.1), тромбоцитов (§1.1.2) и общих представлений о микрореологии крови (§1.1.3). На рис.1 представлено упрощенное строение артерии/вены, где схематично представлены эритроцитарные агрегаты и другие форменные элементы крови.

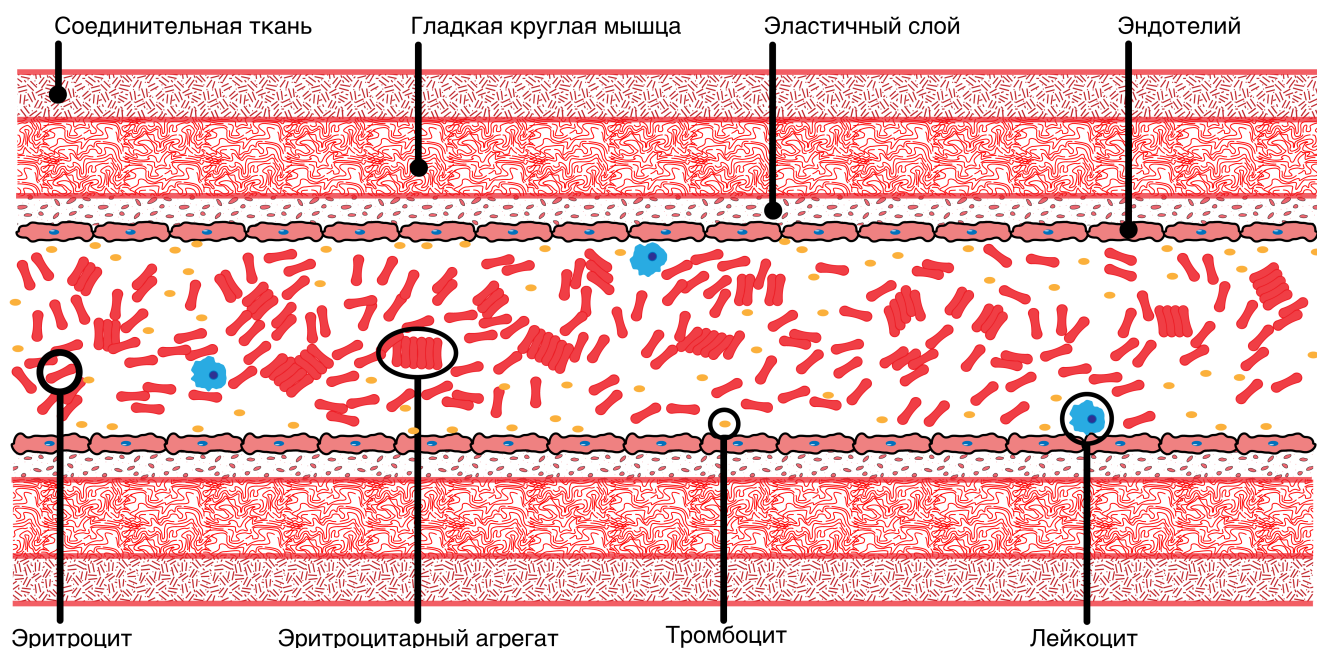


Рис. 1: Упрощенная схема строения артерии/вены.

Раздел 1.2 охватывает вопросы агрегации эритроцитов, начиная с их физиологической роли (§1.2.1) и понятий агрегационной способности (§1.2.2), далее рассматриваются влияния макромолекулярных (§1.2.3) и клеточных факторов (§1.2.4), а также основные теоретические модели механизмов агрегации: модель «обедненного слоя», модель «мостиков», а также обобщенная модель. Приведен обзор данных об агрегации эритроцитов при социально-значимых заболеваниях (§1.2.6).

В разделе **1.3** рассматриваются физиологические аспекты и механизмы деформируемости эритроцитов (§1.3.1–1.3.2), а также изменения этого параметра при патологиях (§1.3.3).

В разделе **1.4** рассмотрены аспекты агрегации тромбоцитов, включая физиологическую роль (§1.4.1), механизмы (§1.4.2) и особенности при заболеваниях (§1.4.3).

Раздел **1.5** посвящен влиянию эндотелия на кровоток (§1.5.1) и адгезии эритроцитов к эндотелию в норме и патологии (§1.5.2).

В разделе **1.6** представлен обзор современных оптических методов измерения микрореологических параметров крови, включая лазерную агрегометрию (§1.6.2), лазерную эктацитометрию (§1.6.3), турбидиметрию (§1.6.4), оптический захват (§1.6.5), цифровую капилляроскопию (§1.6.6) и другие методы (§1.6.7).

Глава 2. Материалы и методы

В разделе **2.1** представлены сведения о материалах: подготовка образцов крови для исследования агрегации и деформации эритроцитов, агрегации тромбоцитов, а также подготовка эндотелия (§2.1.1). Рассматриваются этические аспекты работы с биологическими материалами (§2.1.2): все добровольцы и пациенты были проинформированы о цели исследования и дали письменное информированное согласие в соответствии с Хельсинкской декларацией. Работы в рамках диссертации получили разрешения Локального Этического Комитета МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова (№11/22 от 05.12.2022; №1/19 от 18.03.2019).

В разделе **2.2** подробно описаны методы исследования (см. рис.2). В подразделе §2.2.1 раскрывается методика лазерной агрегометрии эритроцитов, включая принципиальную схему установки, протокол измерения и определяемые параметры агрегации эритроцитов. Подраздел §2.2.2 посвящен лазерной эктацитометрии с описанием схемы установки, протокола и измеряемых параметров деформируемости эритроцитов. Метод оптической турбидиметрии и метод флуктуаций светопропускания для измерения агрегации тромбоцитов представлены в §2.2.3, включая технические аспекты установки, протокол и параметры измерения агрегации тромбоцитов. В §2.2.4 описан метод лазерного пинцета: от описания конструкции, протоколов измерения сил, калибровки лазерного пинцета до валидации метода измерения сил взаимодействия между эритроцитом и эндотелием, с указанием всех измеряемых параметров. Также в §2.2.5 описан метод цифровой капилляро-

скопии и соответствующие протоколы измерения.

Раздел **2.3** посвящен методам статистической обработки данных, включая оценку статистической значимости (§2.3.1) и расчету корреляций между исследуемыми параметрами (§2.3.2).



Рис. 2: Методы, использованные в данной работе. Красным цветом выделены методы, результаты по которым представлены в защищаемых положениях.

Глава 3. Микрореология крови при социально-значимых заболеваниях

В разделе **3.1** представлены данные о влиянии различных заболеваний на параметры агрегации и деформации эритроцитов, с указанием характеристик групп пациентов (§3.1.1) и обсуждением полученных результатов (§3.1.2). В частности, были измерены и проанализированы параметры агрегации и деформируемости эритроцитов: индекс агрегации эритроцитов (*AI (Aggregation index)*), характерное время агрегации эритроцитов ($T_{1/2}$), гидродинамическая прочность агрегатов (*CSS (Critical Shear Stress)*), а также индекс деформируемости эритроцитов при 3 Па (*DI (Deformation index)*). Полученные данные приведены на рис.3, и для каждой группы пациентов с различными заболеваниями был рассчитан критерий Шапиро-Уилка, который не соответствовал нормальности данных — статистическая значимость рассчитывалась с помощью теста Бруннера-Мюнцеля.

На рис.3а при анализе изменения параметра *AI* видно, что при артериальной гипертензии и ряде сопутствующих заболеваний видны статистически значимые различия между группами пациентов. В частности, на рис.3а видно, что при рассмотрении параметра *AI* для групп пациентов только с артериальной гипертен-

зией и дополнительными осложнениями наблюдаются статистически значимые отличия, к примеру, между группой пациентов с артериальной гипертензией и пациентов с артериальной гипертензией + фибрилляция предсердий ($p < 0,05$).

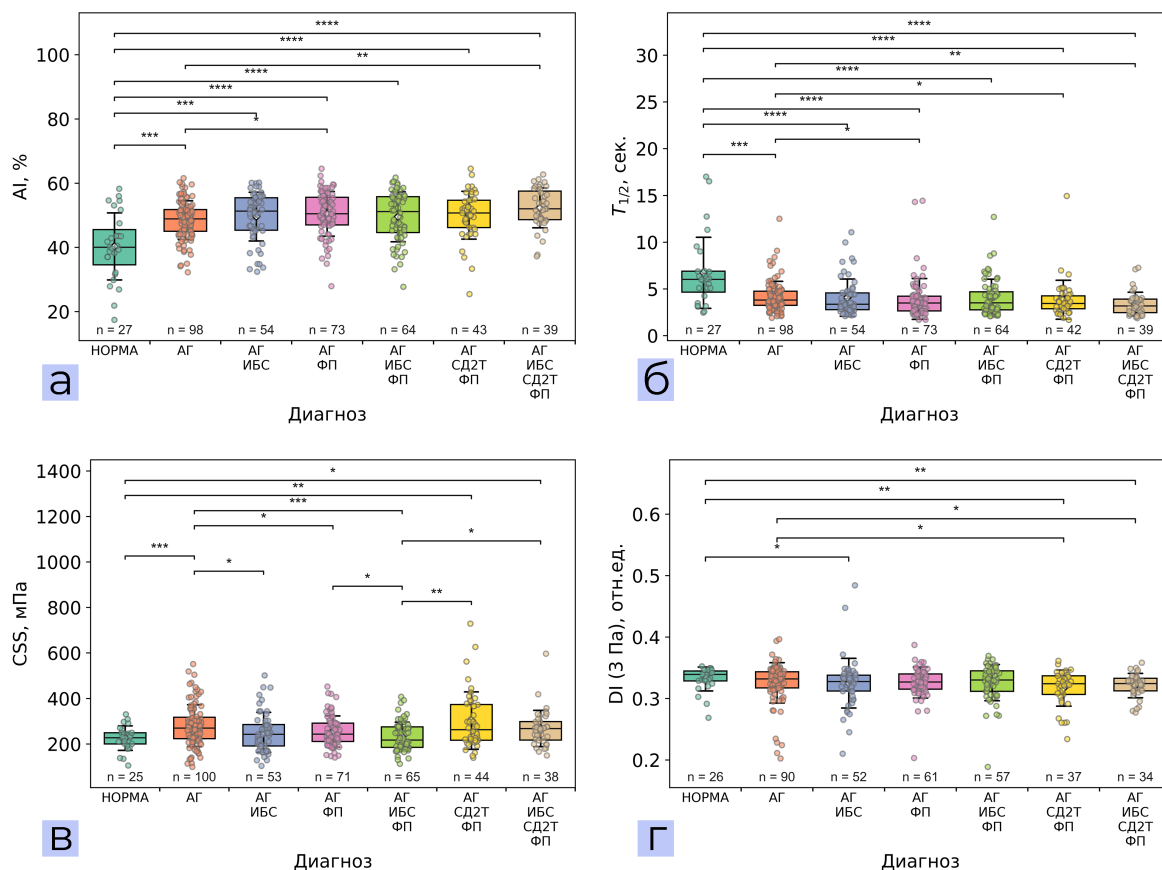


Рис. 3: (а) Индекс агрегации AI (10 сек.), (б) характерное время АЭ $T_{1/2}$, (в) гидродинамическая прочность агрегатов CSS и индекс деформируемости при DI 3 Па для групп пациентов с различными болезнями и сопутствующими заболеваниями. Артериальная гипертензия (АГ); ишемическая болезнь сердца (ИБС); сахарный диабет 2-го типа (СД2Т); фибрилляция предсердий (ФП). Статистическая значимость рассчитана с помощью теста Бруннера-Мюнцеля. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$, **** : $p < 0,0001$. Несоответствие количества значений для определенной группы при рассмотрении разных параметров связано с наличием выбросов в данных. Коробчатая диаграмма: прямоугольник показывает межквартильный размах (Q1–Q3) с медианой (линия внутри), усы — стандартные отклонения, белые ромбы — средние значения.

Раздел 3.2 включает сравнительный корреляционный анализ микрореологических параметров крови *in vivo* и *in vitro* для различных клинических групп (§3.2.1–3.2.2). В частности, было показано, что индекс агрегации эритроцитов (AI) положительно коррелирует с гидродинамической прочностью агрегатов (CSS) у пациентов¹ с ФП (АГ+ФП; АГ+ИБС+ФП; АГ+ИБС+СД2Т+ФП) и здоровых добровольцев, но не в группах АГ, АГ+ИБС и АГ+СД2Т+ФП (табл. 1).

¹ АГ – артериальная гипертензия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; СД2Т – сахарный диабет 2-го типа; ФП – фибрилляция предсердий.

Таблица 1: Корреляция параметров *AI* и *CSS* у пациентов с различными патологиями. Красным цветом выделены группы, где обнаружены положительные статистически значимые корреляции.

Диагноз	N	Коэффициент корреляции Пирсона (r)	Статистическая значимость (p value)
АГ	97	0,13	0,211
АГ+ИБС	52	0,27	0,056
АГ+СД2Т+ФП	43	0,12	0,460
АГ+ФП	71	0,51	0
АГ+ИБС+ФП	64	0,31	0,012
АГ+ИБС+СД2Т+ФП	38	0,48	0,002

Полученные данные можно объяснить следующим образом: при ФП нарушение кровотока приводит к турбулентности, что вызывает рост *AI* и *CSS* для стабилизации эритроцитарных скоплений; ИБС, сопровождающаяся атеросклерозом и воспалением, изменяет состав плазмы, опосредованно влияя на оба параметра; СД2Т снижает деформируемость эритроцитов, нарушая процесс агрегации и ослабляя корреляцию *AI–CSS*, за исключением случаев сочетания с ИБС, где системное воспаление восстанавливает эту взаимосвязь. При АГ компенсаторное повышение *AI* не сопровождается ростом *CSS* из-за адаптации организма к хронически высокому давлению. Таким образом, корреляция между *AI* и *CSS* определяется комбинацией патологий: ФП усиливает взаимосвязь, ИБС и СД2Т модулируют её выраженность, а АГ не оказывает значимого влияния.

В разделе 3.3 рассматривается капиллярный кровоток у здоровых людей и пациентов с ишемической болезнью сердца и фибрилляцией предсердий, с описанием обследованных групп (§3.3.1) и анализом результатов (§3.3.2).

Глава 4. Влияние внешних и внутренних факторов, включая сосудистый эндотелий, на взаимодействия клеток крови

В разделе 4.1 рассмотрено влияние нитропруссид натрия (донора оксида азота) на микрореологические свойства эритроцитов, включая описание условий подготовки образцов (§4.1.1) и обсуждение полученных данных по прочности агрегатов, агрегации и деформируемости эритроцитов (§4.1.2).

Раздел 4.2 посвящен анализу влияния фибриногена на взаимодействие эритроцитов и эндотелия (§4.2.1–4.2.2). В частности, была получена зависимость силы взаимодействия эритроцитов и эндотелия от концентрации фибриногена. Полученные результаты показали, что с увеличением концентрации фибриногена, добавленного в сыворотку крови, сила взаимодействия между эритроцитом и эн-

дотелием монотонно возрастает вплоть до концентрации фибриногена 4 мг/мл, а в диапазоне от 4 до 8 мг/мл сила взаимодействия достигает насыщения (см. рис.4). На основании данных результатов можно сделать вывод, что концентрация фибриногена не является ведущим фактором адгезии эритроцитов к эндотелию для эритроцитов при концентрации фибриногена, превышающей физиологическую норму (2-4,5 мг/мл [22]).

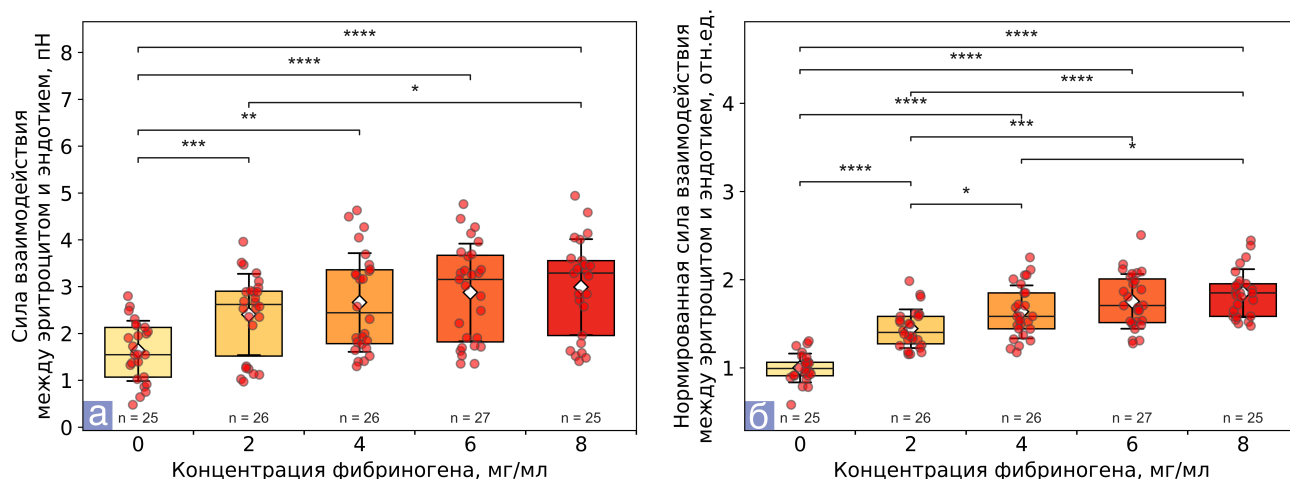


Рис. 4: (а) Зависимость силы взаимодействия и (б) нормированная (по концентрации 0 мг/мл для каждого донора) зависимость силы взаимодействия между эритроцитом и эндотелием от концентрации бычьего фибриногена, добавляемого в сыворотку крови. Статистическая значимость рассчитана с помощью теста Манна-Уитни (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$). Каждая точка представляет собой одно измерение с одним из образцов от четырех здоровых доноров. Коробчатая диаграмма: прямоугольник показывает межквартильный размах (Q1–Q3) с медианой (линия внутри), усы — стандартные отклонения, белые ромбы — средние значения.

В разделе 4.3 исследуется эффект L-аргинина (субстрат NO-синтазы эндотелия и эритроцитов) и L-NAME (ингибитор NO-синтазы) на взаимодействие эритроцитов с эндотелием, включая подготовку образцов (§4.3.1) и анализ результатов (§4.3.2). В частности, было показано, что добавление L-аргинина к эритроцитам в плазме непосредственно перед экспериментом не вызывает статистически значимых изменений в агрегации эритроцитов (см. рис.5, образец 1 и 2) (см. рис.5). Однако предварительная инкубация эндотелия с L-аргиномом вызывает значительное снижение сил агрегации и дезагрегации эритроцитов (на рис.5, сравнение образцов 1 и 3-4). Предварительная инкубация эндотелия с L-NAME нивелирует эффект добавления L-аргинина, что свидетельствует о том, что данный эффект обусловлен влиянием эндотелиальной NO-синтазы.

В разделе 4.4 приведены данные зависимости агрегации эритроцитов от тем-

пературы (§4.4.1–4.4.2).

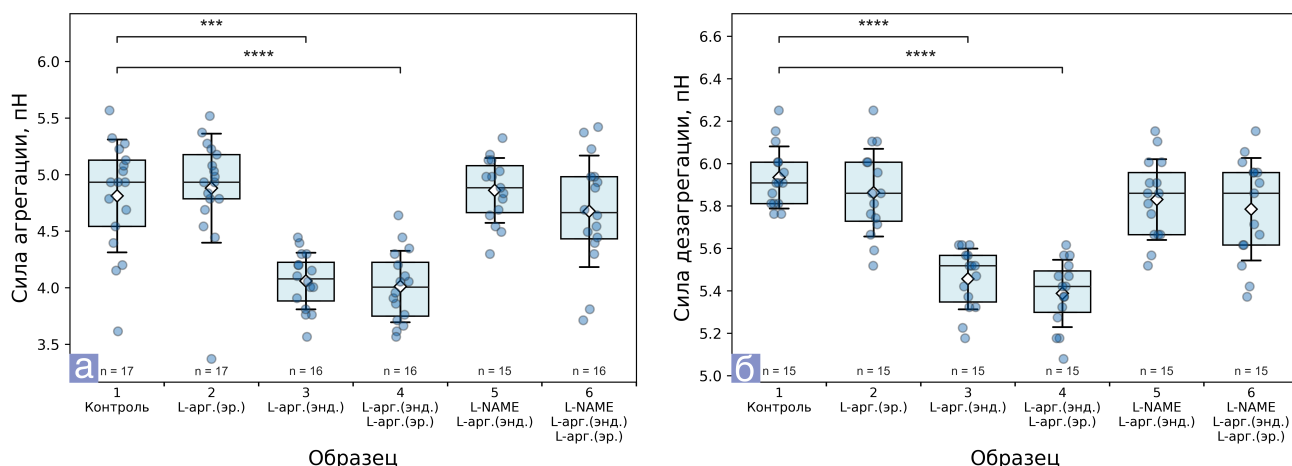


Рис. 5: (а) Зависимость силы агрегации, (б) силы дезагрегации, от образца при добавлении L-аргинина/L-NAME. Статистическая значимость рассчитана с помощью теста Манна-Уитни и графически отображена только между 1 и 3, а также 1 и 4 образцами (* * * : $p < 0,001$, * * * * : $p < 0,0001$). Каждая точка представляет собой одно измерение с одним из образцов от четырех здоровых доноров. Коробчатая диаграмма: прямоугольник показывает межквартильный размах (Q1–Q3) с медианой (линия внутри), усы — стандартные отклонения, белые ромбы — средние значения.

Глава 5. Создание портативного эритроцитарного агрегометра

Данная глава посвящена разработке и апробации портативного агрегометра для исследования агрегации эритроцитов. Разработанный портативный лазерный эритроцитарный агрегометр позволяет *in vitro* измерять параметры спонтанной агрегации эритроцитов, а также параметр гистерезиса агрегации. Основные технические характеристики устройства:

- габариты: 19x14x14 см. (ДхШхВ);
- масса устройства: 1 кг;
- объём исследуемой пробы: около 100 мкл;
- время измерения спонтанной агрегации эритроцитов: 2-3 мин.;
- время измерения параметра гистерезиса агрегации эритроцитов: 8,5 мин.;
- точность измерений: менее 15% от измеряемого значения;
- непрерывная работа: до 8 часов в день;
- источник излучения: лазер 650 нм, мощностью до 10 мВт;
- наличие вибрационного мотора (частота 0-150 Гц) и фотоприёмника;
- интерфейс подключения к ПК: USB.

Принципиальная схема установки портативного эритроцитарного агрегометра

модели «ПЛАК 1»² приведена на рис.6.

Преимуществами разработанного устройства по сравнению с существующими аналогами (такими как *RheoScan* и *LORRCA* (см.[23])) являются: регистрация параметра гистерезиса агрегации эритроцитов, портативность, малая себестоимость прибора (до 5 тыс. руб.) и расходных материалов (до 20 руб. на измерение), а также простота конструкции и сборки. Устройство ориентировано на применение в биофизических лабораториях, научных центрах и, потенциально, в частной клинической практике.

В разделе **5.1** проводится обзор существующих лазерных агрегометров и их особенностей.

В разделе **5.2** описано численное моделирование влияния вибраций на сдвиговые скорости в кювете агрегометра: рассмотрены используемый программный комплекс и начальные условия (§5.2.1), влияние параметров вибраций (§5.2.2), а также зависимость от геометрии кюветы (§5.2.3).

Раздел **5.3** содержит подробное описание созданного устройства: принципиальная и электрическая схемы (§5.3.1–5.3.2), конструкция (§5.3.3), программное обеспечение (§5.3.4) и протокол измерения (§5.3.5), включая методы оценки спонтанной агрегации и гистерезиса агрегации эритроцитов.

В разделе **5.4** представлены экспериментальные результаты, включая зависимости от гематокрита (§5.4.1), толщины кюветы (§5.4.2), гистерезис агрегации (§5.4.3), а также данные о воспроизводимости измерений (§5.4.4). Впервые было продемонстрировано применение вибрационного механизма дезагрегации эритроцитов для измерения гистерезиса агрегации, который для здорового донора составил порядка 22,5%. Проведенные исследования на крови здоровых людей показали повторяемость результатов при последовательных измерениях; относительная погрешность параметров AI (10 сек.) и $T_{1/2}$ составила 11%.

Сделанный прибор отличается высоким уровнем кастомизации, а также возможностью быстрой и легкой замены комплектующих. На базе данного агрегометра и программного обеспечения можно в короткие сроки сделать новую схему агрегометра, необходимого для конкретного эксперимента.

Раздел **5.5** посвящен возможностям дальнейшего усовершенствования разработанного устройства.

²Аббревиатура ПЛАК образована от Портативный Лазерный Агрегометр Крови

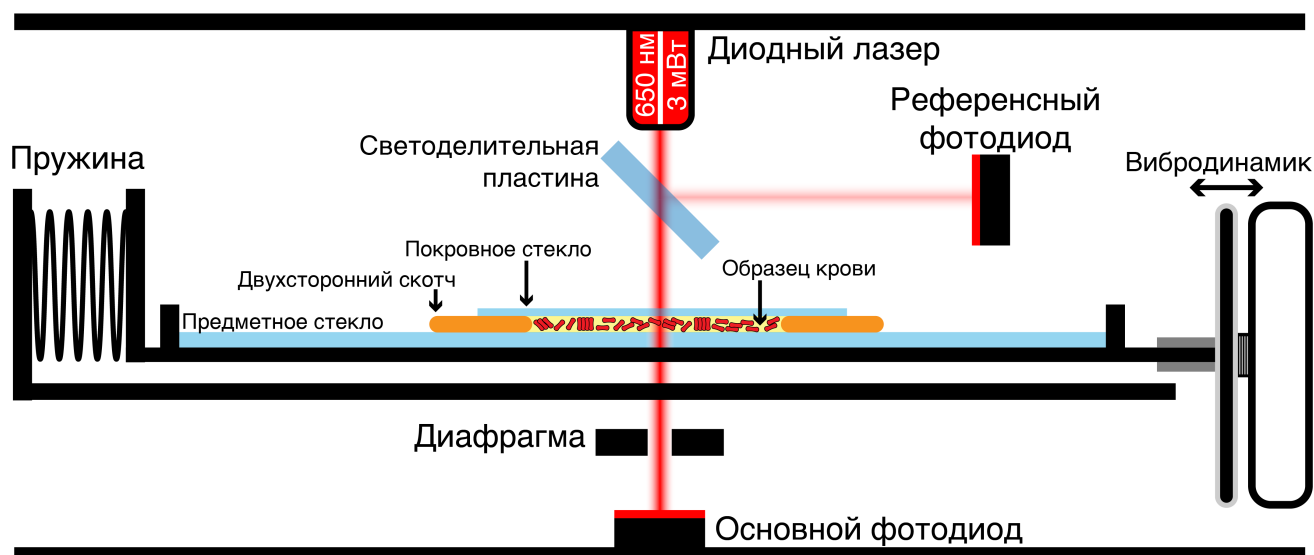


Рис. 6: Принципиальная схема портативного эритроцитарного агрегометра модели «ПЛАК 1». Лазерный пучок разделяется на два пучка: один пучок попадает на референсный фотодиод, а второй проходит через кювету с образцом крови и попадает на основной фотодиод. Вибродинамик позволяет создавать вибрации, индуцирующие дезагрегацию эритроцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что сопутствующие артериальной гипертензии заболевания усиливают агрегацию эритроцитов *in vitro* и *in vivo*. Для разных групп пациентов выявлены специфические корреляции между параметрами агрегации эритроцитов, в частности, между прочностью агрегатов (*CSS*) и индексом агрегации (*AI*). Статистически значимая положительная корреляция ($r = 0,5$) обнаружена при артериальной гипертензии и фибрилляции предсердий ($r = 0,3$), а также при сочетании ишемической болезни сердца с сахарным диабетом ($r = 0,5$). У других групп пациентов такой корреляции не наблюдается.
2. Методом лазерного пинцета впервые было показано, что эритроциты здоровых доноров взаимодействуют с сосудистым эндотелием в физиологических условиях *in vitro* в аутологичной плазме крови с силами порядка 1 пН, тогда как эритроциты взаимодействуют друг с другом с силами порядка 5 пН.
3. Силы взаимодействия между эритроцитами и сосудистым эндотелием зависят от концентрации фибриногена в плазме крови: они линейно увеличиваются с ростом концентрации фибриногена от 0 до 4 мг/мл, достигая значения насыщения порядка $2,8 \pm 0,1$ пН.
4. Методом лазерного пинцета показано, что оксид азота (NO) влияет на агрега-

цию и деформируемость эритроцитов: при инкубации L-аргинина (100 мкМ) с эндотелием в аутологичной плазме агрегация эритроцитов на монослое эндотелия снижается на $19 \pm 2\%$. Эффект обусловлен действием эндотелиальной NO-синтазы.

5. Показано, что влияние донора NO — нитропрусида натрия (НПН) — на агрегацию и деформируемость эритроцитов *in vitro* зависит от антикоагулянта. При концентрации НПН 200 мкМ гидродинамическая прочность агрегатов увеличивается на $8 \pm 1\%$ в крови с гепарином лития и не изменяется при использовании ЭДТА. Эффект обусловлен присутствием Ca^{2+} в гепаринизированной крови и его отсутствием при стабилизации крови ЭДТА.
6. Разработана установка портативного лазерного эритроцитарного агрегометра, позволяющая измерять параметры гистерезиса агрегации и спонтанной агрегации эритроцитов. Впервые продемонстрировано применение вибрационного механизма для оценки гистерезиса агрегации, составляющего около 22,5% у здорового донора.

ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Научные статьи, опубликованные в журналах, индексируемых в базах Web of Science, Scopus, RSCI:

1. Умеренков Д. А., **Ермолинский П. Б.**, Луговцов А. Е., Дячук Л. И., Приезжев А. В. Оптические измерения микрореологических параметров крови и анализ их связи с её вязкостью при сердечно-сосудистых заболеваниях // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. — 2024. — Т. 24, № 4. — С. 361-373. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ = 0.444 / 0.8 печ.л. / вклад автора 0.1.
2. **Ermolinskiy P. B.**, Lugovtsov A. E., Maksimov M. K., Umerenkov D. A., Moldon P. A., Sveshnikova A. N., Pshonkin A. V., Smetanina N. S., Priezzhev A. V. Interrelation of blood microrheological parameters measured by optical methods and whole blood viscosity in patients suffering from blood disorders: a pilot study // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. — 2024. — Vol. 10, no. 2. — P. 020306. SJR (Scopus) = 0.210 (Q4) / 0.6 печ.л. / вклад автора 0.4.
3. **Ермолинский П. Б.**, Луговцов А. Е., Семенов А. Н., Приезжев А. В. Эритроцит в поле пучка лазерного пинцета // Квантовая электроника. — 2022. — Т. 52,

- № 1. — С. 22-27. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ = 1.060 / 0.4 печ.л. / вклад автора 0.4. Переводная версия: **Ermolinskiy P. B.**, Lugovtsov A. E., Semenov A. N., Priezzhev A. V. Red blood cell in the field of a beam of optical tweezers // *Quantum Electronics*. — 2022. — Vol. 52, no. 1. — P. 22-27. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ = 1.245 / 0.4 печ.л. / вклад автора 0.4.
4. Масляницына А., Каданова И., Незнанов А., **Ермолинский П.**, Гурфинкель Ю., Пигуренко А., Дячук Л., Луговцов А., Приезжев А. Микрореологические свойства крови и капиллярный кровоток при артериальной гипертензии и сахарном диабете второго типа: исследование оптическими методами *in vitro* и *in vivo* // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. — 2020. — Т. 9, № 2. — С. 53—63. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ = 0.724 / 0.6 печ.л. / вклад автора 0.2.
 5. Maslianitsyna A. I., **Ermolinsky P. B.**, Lugovtsov A. E., Priezzhev A. V. Study by optical techniques of the dependence of aggregation parameters of human red blood cells on their deformability // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. — 2020. — Vol. 6, no. 2. — P. 020305. SJR (Scopus) = 0.210 (Q4) / 0.4 печ.л. / вклад автора 0.2.
 6. **Ermolinskiy P. B.**, Maslyanitsina A. I., Lugovtsov A. E., Priezzhev A. V. Temperature dependencies of the aggregation properties of RBC in dextran solutions *in vitro* // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. — 2020. — Vol. 6, no. 2. — P. 020501. SJR (Scopus) = 0.210 (Q4) / 0.3 печ.л. / вклад автора 0.3.
 7. **Ermolinskiy P. B.**, Lugovtsov A. E., Maslyanitsina A. I., Semenov A. N., Diachuk L., Priezzhev A. V. Interaction of erythrocytes in the process of pair aggregation in blood samples from patients with arterial hypertension and healthy donors: measurements with laser tweezers // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. — 2018. — Vol. 4, no. 3. — P. 030303-1–030303-8. SJR (Scopus) = 0.210 (Q4) / 0.5 печ.л. / вклад автора 0.3.
 8. Semenov A. N., Lugovtsov A. E., **Ermolinskiy P. B.**, Priezzhev A. V. Laser aggregometry assessment of blood microrheology in a slit fluidic channel covered with endothelial cells // *Journal of Biophotonics*. — 2024. — Vol. 17, no. 12. — e202400379. Impact Factor (WoS) = 2.0 (Q3) / 0.8 печ.л. / вклад автора 0.25.
 9. Maksimov M. K., **Ermolinskiy P. B.**, Scheglovitova O. N., Sklyankina N. N., Muravyov A. V., Lugovtsov A. E., Priezzhev A. V. RBC aggregation, deformation, and adhesion to endothelium: role of nitric oxide derived from L-arginine and

- sodium nitroprusside // Journal of Innovative Optical Health Sciences. — 2024. — Vol. 17, no. 05. — P. 2440001. Impact Factor (WoS) = 2.3 (Q2) / 0.8 печ.л. / вклад автора 0.3.
10. **Ermolinskiy P.**, Gurfinkel Y., Sovetnikov E., Lugovtsov A., Priezzhev A. Correlation between the capillary blood flow characteristics and endothelium function in healthy volunteers and patients suffering from coronary heart disease and atrial fibrillation: a pilot study // Life. — 2023. — Vol. 13, no. 10. — life13102043. Impact Factor (WoS) = 3.2 (Q1) / 1.1 печ.л. / вклад автора 0.1.
 11. **Ermolinskiy P.**, Maksimov M., Lugovtsov A., Muravyov A., Tikhomirova I., Priezzhev A. Effect of sodium nitroprusside on the microrheological properties of red blood cells in different media // Journal of Innovative Optical Health Sciences. — 2023. — Vol. 17, no. 05. — P. 2342001. Impact Factor (WoS) = 2.3 (Q2) / 0.6 печ.л. / вклад автора 0.3.
 12. **Ermolinskiy P. B.**, Maksimov M. K., Muravyov A. V., Lugovtsov A. E., Scheglovitova O. N., Priezzhev A. V. Forces of interaction of red blood cells and endothelial cells at different concentrations of fibrinogen: measurements with laser tweezers in vitro // Clinical Hemorheology and Microcirculation. — 2023. — Vol. 86, no. 3. — P. 303-312. Impact Factor (WoS) = 2.1 (Q3) / 0.6 печ.л. / вклад автора 0.3.
 13. Semenov A. N., **Ermolinskiy P. B.**, Yakimov B. P., Lugovtsov A. E., Shirshin E. A., Muravyov A. V., Shin S., Wagner C., Priezzhev A. V. Changes in red blood cells biomechanical properties induced by albumin and fibrinogen membrane adsorption: a study using flow cytometry and optical tweezers // Series on Biomechanics. — 2022. — Vol. 36, no. 1. — P. 32-38. SJR (Scopus) = 0.202 (Q4) / 0.4 печ.л. / вклад автора 0.2.
 14. Semenov A., Lugovtsov A., **Ermolinskiy P.**, Lee K., Priezzhev A. Problems of red blood cell aggregation and deformation assessed by laser tweezers, diffuse light scattering and laser diffractometry // Photonics. — 2022. — Vol. 9, no. 4. — P. 9040238. Impact Factor (WoS) = 2.1 (Q2) / 1.1 печ.л. / вклад автора 0.1.
 15. Kapkov A. A., Semenov A. N., **Ermolinskiy P. B.**, Lugovtsov A. E., Priezzhev A. V. Forces of RBC interaction with single endothelial cells in stationary conditions: measurements with laser tweezers // Journal of Innovative Optical Health Sciences. — 2021. — Vol. 14. — P. 2142005. Impact Factor (WoS) = 2.3 (Q2) / 0.7 печ.л. / вклад автора 0.1.
 16. Maslianitsyna A., **Ermolinskiy P.**, Lugovtsov A., Pigurenko A., Sasonko M.,

- Gurfinkel Y., Priezzhev A. Multimodal diagnostics of microrheologic alterations in blood of coronary heart disease and diabetic patients // *Diagnostics*. — 2021. — Vol. 11., no. 1. — P. 76. SJR (Scopus) = 0.773 (Q2) / 0.6 печ.л. / вклад автора 0.2.
17. Semenov A. N., Lugovtsov A. E., Shirshin E. A., Yakimov B. P., **Ermolinskiy P. B.**, Bikmulina P. Y., Kudryavtsev D. S., Timashev P. S., Muravyov A. V., Wagner C., Shin S., Priezzhev A. V. Assessment of fibrinogen macromolecules interaction with red blood cells membrane by means of laser aggregometry, flow cytometry, and optical tweezers combined with microfluidics // *Biomolecules*. — 2020. — Vol. 10, no. 10. — P. 1448. SJR (Scopus) = 1.333 (Q1) / 1.2 печ.л. / вклад автора 0.1.
 18. **Ermolinskiy P.**, Lugovtsov A., Yaya F., Lee K., Kaestner L., Wagner C., Priezzhev A. Effect of red blood cell aging in vivo on their aggregation properties in vitro: measurements with laser tweezers // *Applied Sciences*. — 2020. — Vol. 10, no. 21. — P. 7581. SJR (Scopus) = 0.521 (Q2) / 0.6 печ.л. / вклад автора 0.5.
 19. Lugovtsov A. E., Gurfinkel Y. I., **Ermolinskiy P. B.**, Maslyanitsina A. I., Dyachuk L. I., Priezzhev A. V. Optical assessment of alterations of microrheologic and microcirculation parameters in cardiovascular diseases // *Biomedical Optics Express*. — 2019. — Vol. 10, no. 8. — P. 3974-3986. SJR (Scopus) = 0.896 (Q1) / 0.8 печ.л. / вклад автора 0.1.
 20. **Ermolinskiy P.**, Lugovtsov A., Maslyanitsina A., Semenov A., Dyachuk L., Priezzhev A. In vitro assessment of microrheological properties of erythrocytes in norm and pathology with optical methods // *Series on Biomechanics*. — 2018. — Vol. 32, no. 3. — P. 20-25. SJR (Scopus) = 0.202 (Q4) / 0.4 печ.л. / вклад автора 0.3.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Муравьев А. В., Михайлов П. В., Тихомирова И. А. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. — 2017. — Т. 16, № 2. — С. 90—100.
2. Huisjes R. [et al.]. Squeezing for life – properties of red blood cell deformability // *Frontiers in Physiology*. — 2018. — Vol. 9. — P. 1–22.
3. Regal S. [et al.]. A microfluidic device with biomimetic submicron slits to apprehend red blood cell splenic filtration // *Biophysical Journal*. — 2024. — Vol. 123, no. 3. — 305a.

4. Baskurt O., Neu B., Meiselman H. Red Blood Cell Aggregation. — Boca Raton, USA : CRC Press, 2011.
5. Bächer C. Blood platelets in the microcirculation - a theoretical and computational study : PhD thesis / Bächer Christian. — Universität Bayreuth, Bayreuther Graduiertenschule für Mathematik und Naturwissenschaften - BayNAT, 2021.
6. Lazari D. [et al.]. The relationship between aggregation and deformability of red blood cells in health and disease // *Frontiers in Physiology*. — 2020. — Vol. 11. — P. 1–6.
7. Maslianitsyna A. I. [et al.]. Study by optical techniques of the dependence of aggregation parameters of human red blood cells on their deformability // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. — 2020. — Vol. 6, no. 2. — P. 020305.
8. Czaja B. [et al.]. The influence of red blood cell deformability on hematocrit profiles and platelet margination // *PLOS Computational Biology*. — 2020. — Vol. 16, no. 3. — e1007716.
9. Wautier J.-L., Wautier M.-P. Cellular and molecular aspects of blood cell endothelium interactions in vascular disorders // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020. — Vol. 21, no. 15. — P. 5315.
10. Vos T. [et al.]. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019 // *The Lancet*. — 2020. — Vol. 396, no. 10258. — P. 1204–1222.
11. Guven G., Hilty M. P., Ince C. Microcirculation: physiology, pathophysiology, and clinical application // *Blood Purification*. — 2019. — Vol. 49, no. 1/2. — P. 143–150.
12. McMahon T. J. Red blood cell deformability, vasoactive mediators, and adhesion // *Frontiers in Physiology*. — 2019. — Vol. 10. — P. 1–10.
13. Drożdż D., Drożdż M., Wójcik M. Endothelial dysfunction as a factor leading to arterial hypertension // *Pediatric Nephrology*. — 2022. — Vol. 38, no. 9. — P. 2973–2985.
14. Williams A. [et al.]. Pathophysiology of red blood cell dysfunction in diabetes and its complications // *Pathophysiology*. — 2023. — Vol. 30, no. 3. — P. 327–345.

15. Lugovtsov A. E. [et al.]. Peculiarities of red blood cells aggregation and deformability in patients with arterial hypertension: assesment with optical techniques // 2018 International Conference Laser Optics (ICLO). — IEEE, 2018.
16. Preibsch H. [et al.]. Comparison of the simple red blood cell adhesiveness/aggregation test with the laser-assisted optical rotational cell analyzer: red blood cell aggregation in patients with coronary artery disease and a healthy control group // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. — 2017. — Vol. 65, no. 4. — P. 363–371.
17. Александрова Н. П., Фирсов Н. Н. Особенности реологии крови у больных острым артериальным и венозным тромбозом // *Тромбоз, гемостаз и реология*. — 2014. — Т. 3, № 59. — С. 67—71.
18. Khodadi E. Platelet function in cardiovascular disease: activation of molecules and activation by molecules // *Cardiovascular Toxicology*. — 2019. — Vol. 20, no. 1. — P. 1–10.
19. Thiriet M. Physiology and pathophysiology of microcirculation // *PanVascular Medicine* ed. by P. Lanzer. — Springer Berlin Heidelberg, 2015. — P. 591–637.
20. Jung F. History of the cutaneous microcirculation from antiquity to modern times // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. — 2024. — Vol. 86, no. 1/2. — P. 29–50.
21. Кузник Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. — Чита: Экспресс-издательство, 2010.
22. Guven B., Can M., Tekin A. Comparison of fibrinogen concentrations determined by the clauss method with prothrombin-derived measurements on an automated coagulometer // *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. — 2022. — Vol. 7, no. 6. — P. 1337–1345.
23. Priezzhev A. V. [et al.]. Optical study of RBC aggregation in whole blood samples and single cells // *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics, Second Edition, Volume 2: Methods*. — SPIE PRESS, 2016. — P. 5–37.