

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.1:159.944:615.837

doi: 10.17223/19988591/48/5

Ю.А. Бондарчук^{1,2}, М.Н. Носова^{1,2}, И.И. Шахматов^{1,2}

¹ Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия

² Научно-исследовательский институт физиологии
и фундаментальной медицины, г. Новосибирск, Россия

Влияние длительности ультразвукового воздействия на состояние микроциркуляторного русла и системы гемостаза у крыс

С помощью ультразвукового воздействия с частотой 25 кГц, силой $7,73 \pm 0,03$ Вт/см² и уровнем звукового давления 89,0 дБ моделировали состояние неизбежного стресса у крыс. В качестве критериев развития психоэмоционального стресса использовались показатели микроциркуляции и гемостаза. Установлено, что 24-часовая и 7-дневная экспозиции ультразвука вызывали у опытных крыс состояние стресса, выражавшееся в формировании спазма сосудов микроциркуляторного русла, повлекшего за собой развитие ишемии тканей. Кроме того, выявлена вторичность сдвигов показателей гемостаза по отношению к изменениям микроциркуляторного русла, также демонстрирующих развитие стресс-реакции, подтвержденной данными по увеличению концентрации в крови адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортизола и результатами изменения поведенческих реакций в тесте «Открытое поле». У крыс, подвергшихся однодневной экспозиции ультразвуком, показатели гемостаза отреагировали более выраженными отклонениями по сравнению с таковыми после семидневного воздействия, что свидетельствует о формировании адаптации в ответ на длительное действие стрессора. Таким образом, полученные результаты исследования могут свидетельствовать о том, что диагностика параметров системы микроциркуляции и гемостаза является чувствительным способом оценки состояния психоэмоционального стресса.

Ключевые слова: психоэмоциональный стресс; ультразвуковое воздействие; микроциркуляторное русло; система гемостаза; тромбоэластометрия.

Введение

Одним из основных стрессорных факторов, воздействующих на человека в современном обществе, является ситуация хронической информационной неопределенности, вызывающая у него депрессивно-подобное состояние, играющее существенную роль в формировании психоэмоционального стресса [1]. Среди возможных носителей информации следует выделить

ультразвуковые волны, представляющие собой упругие звуковые колебания высокой частоты (свыше 20 кГц), обладающие материальными свойствами и несущие определенную энергию [2]. Ультразвук способен вызывать в организме человека нарушения гемодинамики в микроциркуляторном русле и показателях системы гемостаза.

В этой связи перспективным представляется изучение воздействия на лабораторных животных ультразвуковых волн переменных частот, являющихся у грызунов средством зоосоциальной коммуникации. Кроме того, выявлено, что у животных, способных воспринимать ультразвуковые волны, этот фактор вызывает еще и психоэмоциональный стресс. Так, излучатели с частотой 35, 38, 40 и 50 кГц раздражали и демобилизовали крыс [3]. Установлено, что колебания с частотой волн 22–25 кГц издаются животными при наличии источника опасности, после поражения в схватке, при болевом воздействии [4]. Ситуацию массированного неизбежного потока информации можно смоделировать воздействием ультразвукового излучения разной частоты, которое будет вызывать у крыс состояние стресса. В условиях же длительной экспозиции у животных возможно развитие депрессивно-подобного состояния [1].

Стрессорное воздействие за счет значительного повышения уровня катехоламинов в крови вызывает сужение сосудов и может приводить к развитию нарушений в системе микроциркуляции. Тем не менее вопросы патогенетического влияния стресса на сердечно-сосудистую систему до конца не изучены. Неблагоприятное воздействие факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, согласно современным представлениям, реализуется через нарушение функции сосудистого эндотелия [5]. В ранние сроки действия стрессоров происходит формирование эндотелиальной дисфункции, приводящей, например, в средних сосудах мышечного типа мозга человека к повышению сосудистого тонуса и увеличению периферического сопротивления [6].

Однако возникновение острой ишемии ткани зависит не только от состояния нейрогуморальной регуляции сосудистого тонуса, но и от реологических свойств крови, во многом определяемых системой гемостаза. Последняя является одной из наиболее реактивных систем организма, а важная роль гемостазиологических параметров в процессах адаптации к действию стрессорных факторов не вызывает сомнения [7]. Современный интегральный метод тромбоэластометрии, применяемый в рамках экспериментальных исследований, позволяет оценить формирование и последующий лизис фибринового сгустка; обнаруживает как гипо-, так и гиперкоагуляционные состояния; является надежным экспресс-тестом для диагностики гиперфибринолиза [8] и венозного тромбоэмболизма [9].

В настоящее время актуальными являются научные исследования, направленные на поиск возможных предикторов развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. В этой связи перспективным является

изучение роли показателей микроциркуляции и гемостаза в качестве критериев развития психоэмоционального стресса.

Цель работы – оценить влияние длительности ультразвукового воздействия на состояние микроциркуляторного русла и системы гемостаза у крыс.

Материалы и методики исследования

Исследования выполнены на 42 здоровых крысах-самцах линии Wistar 3-месячного возраста с массой тела 250 ± 20 г. Животные были разделены на три группы – 1 контрольную (Контроль) и 2 опытные, по 14 крыс в каждой. Животные получены из центрального вивария Алтайского государственного медицинского университета (г. Барнаул) и до начала экспериментов находились на карантине в течение 2 нед. Животные содержались при естественном освещении в клетках размером $57 \times 37 \times 20$ см, изготовленных из крупноячеистой проволоки, на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде. Температура воздуха в помещении составляла $+22,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$, атмосферное давление – $101,3 \pm 9,3$ кПа и плотность воздуха – $1,19 \pm 0,03$ кг/м³. Излучатели ультразвуковых волн устанавливали в вертикальной позиции на расстоянии 10 см с двух сторон от боковых стенок клетки и оставляли их в выключенном состоянии для контрольных животных (Контроль). Первую группу опытных животных (Группа 1) подвергали ультразвуковому воздействию с 24-часовой экспозицией, вторую (Группа 2) – 7-дневной экспозиции с помощью генератора-репеллента «Филин» (НПП «ДонКонт», Россия). Исследование параметров воздействия воздушного ультразвука от генератора проводили с помощью аттестованного в метрологическом плане шумомера-вибромметра анализатора спектра «Экофизика-110А» с ультразвуковым микрофоном (внесен в реестр средств измерений Российской Федерации с регистрационным номером 48906-12, свидетельство о государственной поверке № 465699, действительно до 04.03.2020 г.) на частоте 25 кГц в режиме «Ультразвук – 40К». Микрофон измерителя ультразвуковых колебаний располагали внутри клетки и ориентировали в сторону генератора «Филин». Уровень звукового давления составлял 89,0 дБ, плотность потока мощности или сила ультразвуковых колебаний – $7,73 \pm 0,03$ Вт/см² [10].

После прекращения воздействия исследовали показатели микроциркуляторного русла с использованием метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с анализом амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока на аппарате ЛАКК-02 (НПО «Лазма», Россия). Головка оптического зонда фиксировалась в области основания хвоста животного. Длительность записи ЛДФ-граммы составляла 5 мин. 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.

Уровень кортизола и АКТГ в крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе Immulite («DPS Cirus Inc.», США) [11].

Для оценки системы гемостаза использовали интегральный метод исследования – тромбоэластометрия. Тромбоэластометрию проводили на приборе «Rotem» («Pentapharm GmbH», Германия) с использованием реагента «Natem», в состав которого входит хлорид кальция [12].

В ходе расшифровки тромбоэластограммы учитывали следующие показатели [8]:

СТ (coagulation time) – время коагуляции (время от добавления стартового реагента до начала формирования тромба). Удлинение СТ может быть результатом недостатка факторов свертывания крови или избытка гепарина. Укорочение СТ свидетельствует о гиперкоагуляции [13].

CFT (clot formation time) – время начала образования сгустка. Изменение этого показателя зависит от содержания тромбина и фибриногена. В этот промежуток времени образовавшийся тромбин переводит фибриноген в фибрин. Удлинение CFT, как правило, вызвано нарушением функции и низким содержанием тромбоцитов, нарушениями полимеризации фибрина или дефицитом фибриногена. По-видимому, в этой фазе также участвует фактор XIII. Укорочение CFT указывает на гиперкоагуляцию [14, 15].

Угол альфа – угол, построенный по касательной к тромбоэластограмме из точки начала образования сгустка, выражается в градусах. Отображает скорость роста фибриновой сети и ее структурообразование, характеризует уровень фибриногена.

MCF (maximum clot firmness) – максимальная твердость сгустка. Является самой большой вертикальной амплитудой графика. Она отражает абсолютную прочность фибрина и тромбоцитов тромба. Низкий MCF является показателем уменьшения количества тромбоцитов или их функции, а также снижения уровня фибриногена или нарушения полимеризации фибрина или низкой активности фактора XIII. Механически слабый сгусток представляет собой серьезный риск развития кровотечения.

ML (maximum lysis) – максимальный лизис. Представляет собой разницу между максимальной амплитудой и наименьшей амплитудой, полученной после достижения максимума.

A10 – описывает плотность сгустка (или амплитуду), полученную через 10 мин и дает прогноз по ожидаемой плотности MCF на более ранней стадии.

Использование крыс в экспериментах осуществлялось в соответствии с требованиями Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986) и Директивами 86/609/ЕЕС [16]. Обезболивание и умерщвление животных проводили в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Статистический анализ проведен с использованием пакета прикладных программ StatSoft STATISTICA 10.0. Статистическую значимость различий

($p < 0,05$) оценивали при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни, так как признаки не подчинялись нормальному распределению.

Результаты исследования и обсуждение

В рамках научного направления по изучению влияния различных стрессорных факторов на человека особое внимание уделяется поиску способов формирования адаптивных резервов организма. С этой точки зрения факторы, вызывающие психоэмоциональный стресс, являются объектом повышенного интереса у исследователей, так как достаточно распространены в условиях техногенной среды обитания человека.

В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ воздействия различной длительности ультразвуковых волн, распространяющихся в воздушной среде, на крыс линии Wistar. Как уже было установлено и описано нами ранее, 24-часовая экспозиция ультразвука первично вызывала у опытных крыс выраженные нарушения в зоне микроциркуляции в виде вазоконстрикции и снижения дилатационного резерва, а вторично – значительные неблагоприятные сдвиги в системе гемостаза (гиперкоагуляцию, угнетение антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови), что является признаками развития стресса [17]. Развитие стресс-реакции подтверждено статистически значимым повышением в крови этих животных концентрации адренокортикотропного гормона (АКТГ) и кортизола. Так, концентрация АКТГ выросла на 227% ($p = 0,001$), а кортизола – на 37% ($p = 0,01$). Кроме того, как показано в ранее опубликованных результатах исследования (тест «Открытое поле»), для 90% протестированных крыс ультразвуковое облучение представляло собой стресс, затронувший отдельные элементы их поведения [18].

С точки зрения моделирования хронического воздействия определенный интерес представляет изучение влияния 7-дневной экспозиции стрессорного фактора, так как в исследованиях А.В. Горловой с соавт. [1] выявлено, что хроническое воздействие ультразвука переменных частот формирует ситуацию хронического неизбежного стресса и приводит к развитию депрессивно-подобного состояния у крыс.

Согласно полученным в нашей лаборатории данным, 24-часовая и 7-дневная экспозиции ультразвука вызывали у опытных крыс односторонние изменения в микроциркуляторном русле – достоверное снижение исследуемых активных и пассивных факторов модуляции кровотока по сравнению с контрольными животными (табл. 1).

О развитии вазоконстрикции у опытных животных при действии стрессора говорит снижение активных факторов – показателей микроциркуляции и флакса на 66 и 68% (Группа 1) и на 32 и 63% соответственно (Группа 2), характеризующих роль миогенного компонента как причины повышения значения пристеночного напряжения сдвига.

Таблица 1 [Table 1]

**Изменение показателей микроциркуляции у контрольных
(Контроль) и опытных животных после
24-часового (Группа 1) и 7-дневного (Группа 2) ультразвукового воздействия**
[Changes in microcirculation parameters in control (Control) and experimental ani-
mals after 24 hours (Group 1) and 7 days (Group 2) of ultrasound exposure]

Показатели [Parameters]	Контроль [Control], (n=14)	Группа 1 [Group 1], (n=14)	Группа 2 [Group 2], (n=14)
Показатель микро- циркуляции, пф. ед. [Microcirculation index, pf units]	7,5 [5,8–8,7]	2,5 [1,8–5,9] p1=0,002 (Δ1-66%)	5,1 [3,6–6,0] p1=0,01 (Δ1-32%) p2=0,14
Флакс, пф. ед. [Flax, pf units]	4,1 [3,3–4,6]	1,3 [0,9–1,8] p1=0,0001 (Δ1-68%)	1,5 [1,2–1,7] p1=0,0001 (Δ1-63%) p2=0,6
Эндотелиальные волны (VLF), пф. ед. [Endothelial waves, pf units]	8,8 [5,9–11,8]	2,2 [1,6–5,2] p1=0,001 (Δ1-75%)	3,2 [2,5–3,9] p1=0,003 (Δ1-63%) p2=0,3
Вазомоторные волны (LF), пф. ед. [Vasomotor waves, pf units]	9,8 [6,1–11,6]	2,1 [1,5–3,8] p1=0,0001 (Δ1-78%)	2,5 [2,2–3,1] p1=0,003 (Δ1-74%) p2=0,6
Дыхательные волны (HF1), пф. ед. [Respiratory waves, pf units]	4,9 [2,4–6,9]	1,5 [1,3–1,6] p1=0,0001 (Δ1-69%)	1,4 [0,9–2,2] p1=0,009 (Δ1-71%) p2=0,9
Пульсовые вол- ны (CF), пф. ед. [Pulse waves, pf units]	2,4 [1,5–3,2]	0,6 [0,45–0,62] p1=0,0001 (Δ1-75%)	0,5 [0,26–0,65] p1=0,001 (Δ1-79%) p2=0,6

Примечание. Результаты представлены в таблице в виде (m [25–75%]), где m – медиана в выборочной совокупности; [25–75%] – 25-й и 75-й перцентиль; Δ1 – статистически значимая разница групп опытных животных (Группа 1) и (Группа 2) с контрольными животными (Контроль) при $p < 0,05$; p1 – уровень статистической значимости различий опытных групп с контрольными животными; p2 – уровень статистической значимости различий опытных групп между собой; пф. ед. – перфузионные единицы; n – количество животных в исследуемой группе.

[Note. The results are presented in the table in the form (m [25-75%]), where m - The median in the sample; [25-75%] - 25th and 75th percentile; Δ1 - Statistically significant difference between groups of experimental animals (Group 1) and (Group 2) with control animals (Control) at $p < 0.05$; p1 - The level of statistical significance of differences between experimental groups and control animals; p2 - The level of statistical significance of differences between experimental groups; Pf units - Perfusion units; n - Number of animals in the study group].

В таких сдвиговых потоках необходимо учитывать взаимодействие тром-
боцитов с эритроцитами. В экспериментах *in vivo*, выполненных на белых
крысах в условиях иммобилизационного стресса, показано усиление экс-
прессии на мембранах эритроцитов бета-адренорецепторов и снижение

осмотической резистентности эритроцитов. Индуцированная адреналином агрегация эритроцитов повышает взаимодействие последних с активированными тромбоцитами, увеличивая тем самым риск развития микроциркуляторных и тромботических осложнений [19]. При травме сосуда около 1% наименее стойких эритроцитов вытекающей крови разрушается, что способствует образованию тромбоцитарной пробки и фибринового сгустка [20].

Тромбообразование внутри сосуда ведет к нарушению кровотока и трофики жизненно важных органов и тканей и как следствие к развитию большого количества заболеваний, например: инфаркт миокарда, тромботический инсульт, легочная эмболия. Применение метода тромбоэластометрии позволяет проследить картину свертывания крови от начала коагуляции до процесса фибринолиза с определением вязкоупругих свойств сгустка в цельной крови. Долгое время роль эритроцитов в формировании тромбов считалась пассивной, при этом рассматривалось только их влияние на реологию [21]. При исследовании же гемостазиологических параметров методом тромбоэластометрии необходимо учитывать, что активация тромбоцитарного звена гемостаза в сочетании с повышенной агрегацией эритроцитов, которая усиливает вязкость крови и уменьшает ее текучесть, могут рассматриваться как взаимодополняющие звенья, усугубляющие сосудистую патологию [22]. Подтверждением этого служат данные об ухудшении деформационных свойств эритроцитов, интенсификации агрегатообразования с формированием патологических агрегатов при артериальной гипертонии. Для небольших кровеносных сосудов и мест сужения сосудистого русла, где размеры форменных элементов становятся сопоставимыми с геометрией потока, справедливо утверждение, что динамика тромбоцитов, их адгезия и агрегация в кровеносном сосуде постоянно находятся под влиянием гораздо более многочисленных эритроцитов [22]. В таких областях русла для прогнозирования процессов разрабатываются математические модели, показавшие, что эритроциты, вероятно, не могут сильно повлиять на уже сформировавшийся тромб, однако их присутствие может изменить гемодинамику и транспорт тромбоцитов к поврежденной стенке сосуда [23], усиливающийся при увеличении гематокрита [24].

В настоящее время установлена взаимосвязь психоэмоциональных факторов с нарушением функционального состояния эндотелия. Психоэмоциональный стресс приводит к активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, симпатoadреналовой системы, гиперсекреции провоспалительных цитокинов, что способствует развитию у пациентов эндотелиальной дисфункции (ЭД) [25]. Формирующаяся ЭД в результате нарушения баланса в продукции вазорегулирующих факторов эндотелием сосудов связана, прежде всего, со снижением биодоступности эндотелиального оксида азота (NO). В ранние сроки действия стрессоров снижается секреция вазодилататора NO и растет продукция вазоконстриктора эндотелина-1.

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу развития эндотелиальной дисфункции у крыс из опытных групп, так как в условиях постоянно

повышенного пристеночного напряжения сдвига функциональный резерв эндотелия истощается. Уменьшение притока крови в микроциркуляторное русло у опытных животных зарегистрировано на основании снижения амплитуды эндотелиальных волн на 75 и 63% в опытных группах 1 и 2 и снижение амплитуды вазомоторных волн на 78 и 74% соответственно, что неизбежно приводит к развитию стаза и нарушению метаболизма тканей за счет шунтирования кровотока. По данным И.С. Луцкого [6], полученным при исследовании гемодинамики мозга человека, уже на начальном этапе влияния хронического психоэмоционального напряжения развивающаяся на фоне дисбаланса вазорегулирующих факторов ЭД оказывает стимулирующее действие на процессы ремоделирования сосудов. В крупных сосудах эластического типа ремоделирование приводит к утолщению интимо-медийных структур, а в средних сосудах мышечного типа – к повышению сосудистого тонуса, увеличению периферического сопротивления и как следствие снижению линейной скорости кровотока.

В пользу повышения тонуса резистивных сосудов и градиента артериовенозного давления говорит и снижение пассивных факторов модуляции кровотока у животных в опытных группах 1 и 2: пульсовых волн (на 75 и 79%) и дыхательных волн (на 69 и 71%). Наблюдаемая нами совокупность изменений активных и пассивных факторов у опытных крыс в обеих группах доказывает сформировавшийся спазм сосудов микроциркуляторного русла, приводящий к обеднению нутритивного кровотока, развитию ишемии тканей и снижению показателя перфузии. Вазоконстрикторный эффект, полученный в нашей работе, скорее, развился по причине стрессорного воздействия, а не в результате прямого действия ультразвуковых волн, поскольку при короткой длине волны ультразвука через границу воздух–биологические ткани проходит всего лишь около 0,1% энергии. В биологических тканях существует линейная зависимость поглощения УЗ от частоты в связи с большой неоднородностью тканей. В нашем эксперименте использовалось излучение низкой частоты, поэтому возможно предположить слабое его поглощение тканями [26].

Динамика изменения показателей гемостаза, исследованных методом тромбозластометрии, представлена в табл. 2.

У животных в опытной группе 1 отсутствовали статистически значимые изменения времени коагуляции на начальном этапе свертывания (СТ) ($p=0,3$), хотя, по данным коагуляционных тестов, мы наблюдали гиперкоагуляцию по внешнему пути плазменного гемостаза и на его конечных этапах [17]. В опытной Группе 2 наблюдалось удлинение СТ на 36,8% ($p=0,01$); подобное изменение времени коагуляции может быть результатом недостатка факторов свертывания крови [8] или сдвигом баланса в системе активаторы–ингибиторы в пользу последних. Сопоставление гемокоагуляционных сдвигов при воздействии стрессорных факторов любой природы выявило общие черты: первоначальное появление гиперкоагулемических и лишь за-

тем гипокоагулемических изменений, например, при гипертермическом воздействии [27]. При исследовании состояния коагуляционного гемостаза в ходе воздействия гиперкапнической гипоксии первичной реакцией системы также зафиксирована гиперкоагуляция, однако более длительное воздействие приводило к развитию гипокоагуляционных сдвигов [28].

Таблица 2 [Table 2]

**Изменение показателей гемостаза у контрольных
(Контроль) и опытных животных после 24-часового
(Группа 1) и 7-дневного (Группа 2) ультразвукового воздействия
[Changes in hemostasis parameters in control (Control)
and experimental animals after 24 hours (Group 1)
and 7 days (Group 2) of ultrasound exposure]**

Показатели [Parameters]	Контроль [Control], (n=14)	Группа 1 [Group 1], (n=14)	Группа 2 [Group 2], (n=14)
Время коагуляции, с [Coagulation time (CT), s]	180,5 [165,75–202,25]	204,5 [171,5–225,25] p1=0,3	247,0 [194–251] p1=0,01 (Δ1+36,8%) p2=0,1
Время начала образования сгустка, с [Clot formation time (CFT), s]	76,0 [63,25–106,5]	133,0 [91,5–159,75] p1=0,009 (Δ1+75%)	64,0 [49–87] p1=0,5 p2=0,006 (Δ2-51,8%)
Угол альфа, градус [Alpha angle (ALP), degree]	72,0 [68,25–76,5]	66,5 [63,0–71,5] p1=0,013 (Δ1-7,6%)	78,0 [73–80] p1=0,1 p2=0,008 (Δ2+17,2%)
Максимальная твердость сгустка, мм [Maximum clot firmness (MCF), mm]	68,0 [62,0–69,5]	69,0 [66,25–70,75] p1=0,2	70,0 [64–72] p1=0,1 p2=0,5
Максимальный лизис [Maximum lysis (ML)], %	4,0 [1–7,5]	0,0 [0–0] p1=0,007 (Δ1-100%)	1,0 [0–1] p1=0,007 (Δ1-75%) p2=0,1
Плотность сгустка через 10 минут, мм [Clot density after 10 minutes (A10), mm]	39,5 [12,75–49,5]	58,0 [52,5–61,75] p1=0,002 (Δ1+46,8%)	64,0 [57–67] p1=0,0008 (Δ1+62%) p2=0,1

Примечание. Результаты представлены в таблице в виде (m [25–75%]), где m – медиана в выборочной совокупности; [25–75%] – 25-й и 75-й перцентиль; Δ1 и Δ2 – статистически значимая разница групп опытных животных (Группа 1) и (Группа 2) с контрольными животными (Контроль) и между собой при $p < 0,05$; p1 – уровень статистической значимости различий опытных групп с контрольными животными; p2 – уровень статистической значимости различий опытных групп между собой; n – количество животных в исследуемой группе.

[Note. The results are presented in the table in the form (m [25-75%]), where m - The median in the sample; [25-75%] - 25th and 75th percentile; Δ1 and Δ2 - Statistically significant difference between groups of experimental animals (Group 1) and (Group 2) with control animals (Control) and between experimental groups at $p < 0.05$; p1 - The level of statistical significance of differences between experimental groups and control animals; p2 - The level of statistical significance of differences between experimental groups; n - Number of animals in the study group].

Отсутствие достоверного изменения показателя максимальной твердости сгустка (MSF) в обеих опытных группах указывало на стабильность количества тромбоцитов с сохранением их способности к агрегации.

Увеличение времени формирования сгустка (CFT) в крови опытных животных Группы 1 на 75% ($p=0,009$) в комплексе со снижением значений угла альфа (ALP) на 7,6% ($p=0,013$) демонстрировало нарушение процесса полимеризации фибрина, одной из причин которого может быть дефицит фибриногена, формирующийся из-за расходования последнего на образование тромба. Наряду с этим, в опытной Группе 2 статистически значимого изменения CFT и ALP в крови животных не зафиксировано. Полученные нами результаты говорят в пользу предположения, что 7-дневное ультразвуковое воздействие не вызывало нарушения процесса полимеризации фибрина либо дефицитного состояния тромбоцитов или фибриногена, что подтверждается также ростом амплитуды плотности сгустка на 10-й мин от начала его образования (A10) на 62%.

Установлено, что после 24-часовой и 7-дневной экспозиции наблюдалось уменьшение показателя максимального лизиса (ML) на 100 и 75% по сравнению с контролем, свидетельствующее об угнетении фибринолитической активности. Сниженный фибринолитический потенциал, проявляющийся в удлинении времени лизиса сгустка, представляет собой фактор риска венозной тромбоэмболии, а также артериального тромбоза [29]. Нашими исследованиями ранее установлено, что по окончании однократного гипотермического воздействия методом тромбозластометрии зафиксирован гиперкоагуляционный сдвиг на фоне выраженного угнетения активности фибринолитической системы [30], что подтверждает развитие стресс-реакции у крыс при действии стрессорного фактора, зафиксированное и в нашем исследовании [17].

Результаты представленного нами исследования 7-дневной экспозиции ультразвука согласуются с результатами влияния 7-дневного гипертермического воздействия на крыс, в котором отмечены аналогичные реакции: гипокоагуляция и угнетение фибринолитической активности плазмы крови при неизменной концентрации фибриногена [27]. Однако необходимо отметить, что в опытной Группе 2 мы получили меньшую выраженность снижения показателя максимального лизиса по сравнению с опытной Группой 1. Такие данные в совокупности с отсутствием признаков нарушения процесса полимеризации фибрина и ростом амплитуды плотности сгустка на 10-й мин от начала его образования у опытных крыс после 7-дневной экспозиции ультразвука, по-видимому, свидетельствуют о тенденции к постепенной стабилизации показателей системы гемостаза. Из вышеизложенного можно сделать заключение, что изменения микроциркуляторного русла в ответ на 7-дневное воздействие ультразвука сопровождаются не столь значительными сдвигами гемостазиологических параметров, как показано в исследованиях влияния 24-часовой экспозиции, вызывающей стресс-реакцию.

Заключение

Настоящее исследование показало, что ультразвуковое воздействие низкой частоты вызывает развитие стресс-реакции у крыс, подтвержденное повышением концентрации в крови гормонов АКТГ и кортизола, а также результатами изменения поведенческих реакций в тесте «Открытое поле». Изменения микроциркуляторного русла в ответ на психоэмоциональный стресс, смоделированный ультразвуковым воздействием, имели одинаковую направленность и выраженность у опытных крыс как после суточного, так и 7-дневного воздействия стрессора. Отклонения гемостазиологических параметров от нормы, имеющие вторичный характер, также подтверждают развитие стресс-реакции. Таким образом, показано, что ультразвуковое воздействие моделирует состояние хронического неизбежного стресса у опытных животных, а высокая чувствительность к стрессорному воздействию и доступность лабораторной диагностики микроциркуляторных и гемостазиологических показателей позволяют использовать их для оценки состояния психоэмоционального стресса и адаптированности организма. Возвращение некоторых параметров системы гемостаза в ответ на 7-дневное стрессорное воздействие к показателям, характерным для контрольных животных, может быть расценено как проявление начальных этапов адаптации к стрессорному фактору.

Литература

1. Горлова А.В., Павлов Д.А., Ушакова В.М., Зубков Е.А., Морозова А.Ю., Иноземцев А.Н., Чехонин В.П. Динамика развития депрессивно-подобного состояния у крыс, стрессированных хроническим воздействием ультразвука переменных частот // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163, № 3. С. 271–274.
2. Перцов С.С., Коплик Е.В., Сахаров Д.С., Судаков К.В., Каркищенко Н.Н. Информационное ультразвуковое взаимодействие у крыс // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2012. № 2. С. 109–118.
3. Nweke F.U. Test to investigate the use of ultrasound as an alternative means of repelling and eradicating rodents // Journal of Electrical and Electronics Engineering. 2015. Vol. 10, № 4. PP. 91-93. doi: [10.9790/1676-10439193](https://doi.org/10.9790/1676-10439193)
4. Takahashi N., Kashino M., Hironaka N. Structure of Rat Ultrasonic Vocalizations and Its Relevance to Behavior // PLoS One. 2010. Vol. 5, № 11. PP. 109-115. doi: [10.1371/journal.pone.0014115](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014115)
5. Gwartz P.A. Teaching the interrelationship between stress, emotions, and cardiovascular risk using a classic paper by Walter Cannon // Adv. Physiol. Educ. 2008. Vol. 32, № 32 (1). PP. 18-22. doi: [10.1152/advan.00051.2007](https://doi.org/10.1152/advan.00051.2007)
6. Луцкий И.С. Влияние хронического психоэмоционального стресса на формирование эндотелиальной дисфункции, процессы ремоделирования сосудов и снижение мозгового кровотока // Кубанский научный медицинский вестник. 2015. № 3 (152). С. 65–72.
7. Носова М.Н., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Бондарчук Ю.А., Киселев В.И. Влияние однократной физической нагрузки на параметры гемостаза у спортсменов // Фундаментальные исследования. 2011. № 9-1. С. 107–110.

8. Стоменская И.С., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., Тимофеева Н.Ю. Тромбоэластометрия – метод лабораторной диагностики нарушений системы гемостаза // Медицинский альманах. 2017. № 2 (47). С. 96–98.
9. Chojnowski K., Gorski T., Robak M., Trelinski J. Effects of Rivaroxaban Therapy on ROTEM Coagulation Parameters in Patients with Venous Thromboembolism // J. Adv. Clin. Exp. Med. 2015. № 24 (6). PP. 995-1000. doi: [10.17219/acem/42147](https://doi.org/10.17219/acem/42147)
10. Schumake S.A. Electronic Rodent Repellent Devices: A Review of Efficacy Test Protocols and Regulatory Actions. // National Wildlife Research Center Repellents Conference. Mason J.R. editor. USDA, National Wildlife Research Center, Fort Collins, CO; 1995. PP. 253–270.
11. Жебентяев А.И., Каткова Е.Н. Иммуноферментный метод анализа // Вестник фармации. 2013. №2 (60). С. 90–97.
12. Ярец Ю.И. Тромбоэластография: основные показатели, интерпретация результатов. Гомель : ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2018. 26 с.
13. Момот А.П., Тараненко И.А., Цывкина Л.П. Состояние тромботической готовности – возможности современной диагностики и перспективы // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. 2013. № 1. С. 20–23. doi: [10.18411/d-2016-062](https://doi.org/10.18411/d-2016-062)
14. Ройтман Е.В. «Проблема гемостаза» в лабораторной диагностике // Лаборатория ЛПУ. 2016. № 8. С. 29–36.
15. Рыжков С.В., Полонская Е.И., Заболотная Е.В., Жилина Е.Б., Алехина М.А., Курбатова Э.В., Курбатов М.Г., Демидова А.А. Клиническая значимость проведения тромбоэластографии в практике акушера-гинеколога // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 12. С. 101–104.
16. European Convention for the Protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986. 51 p.
17. Носова М.Н., Бондарчук Ю.А., Шахматов И.И., Мацюра А.В., Маршалкина П.С., Прокопец Д.А. Развитие признаков дистресса у крыс на фоне однократного ультразвукового воздействия // Казанский медицинский журнал. 2019. Т. 100, № 1. С. 140–146. doi: [10.17816/KMJ2019-140](https://doi.org/10.17816/KMJ2019-140)
18. Мацюра А.В., Антоненко Т.В., Улитина О.М., Бондарчук Ю.А., Шахматов И.И., Карманова Т.А., Коргополова И.С. Влияние ультразвука на поведение серых крыс // Ukrainian Journal of Ecology. 2018. Т. 8, № 2. С. 1–4. doi: http://ojs.mdpu.org.ua/index.php/biol/article/view/_3021
19. Голубева М.Г. Некоторые аспекты антистрессогенного действия тиролиберина и его синтетического аналога на эритроциты // Тромбоз, гемостаз и реология. 2012. № 3 (51). С. 48–51.
20. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита : Экспресс-издательство, 2010. 827 с.
21. Du V.X., Huskens D., Maas C., Al Dieri R., de Groot P.G., de Laat B. New insights into the role of erythrocytes in thrombus formation // Semin. Thromb. Haemost. 2014. Vol. 40. PP. 72–80. doi: [10.1055/s-0033-1363470](https://doi.org/10.1055/s-0033-1363470)
22. Голубева М.Г. Современные представления о влиянии эритроцитов на реактивность тромбоцитов в процессе тромбогенеза // Успехи современной биологии. 2017. Т. 137, № 6. С. 586–592. doi: [10.7868/S0042132417060059](https://doi.org/10.7868/S0042132417060059)
23. Kamada H., Imai Y., Nakamura M., Ishikawa T., Yamaguchi T. Computational analysis on the mechanical interaction between a thrombus and red blood cells: possible causes of membrane damage of red blood cells at microvessels // Med. Eng. Phys. 2012. Vol. 34, № 10. PP. 1411–1420. doi: [10.1016/j.medengphy.2012.01.003](https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2012.01.003)
24. AlMomani T., Udaykumar H.S., Marshall J.S., Chandran K.B. Micro-scale dynamic simulation of erythrocyte-platelet interaction in blood flow // Ann. Biomed. Eng. 2008. Vol. 36, № 6. PP. 905–920. doi: [10.1007/s10439-008-9478-z](https://doi.org/10.1007/s10439-008-9478-z)

25. Омельяненко М.Г., Шумакова В.А., Суховой Н.А., Шапова Н.Н. Психэмоциональные нарушения и эндотелиальная дисфункция в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированных с атеросклерозом // Сибирский медицинский журнал. 2014. Т. 29, № 3. С. 18–24.
26. Шевченко Е.В., Хлопенко Н.А. Действие ультразвука на организм // Сибирский медицинский журнал. 2006. № 2. С. 96–99.
27. Николаев В.Ю., Шахматов И.И., Киселев В.И., Москаленко С.В. Система гемостаза у крыс при долговременной гипертермической нагрузке // Сибирский научный медицинский журнал. 2015. № 35 (2). С. 43–46.
28. Schobersberger W., Hoffmann G., Gunga H. Interaktionen von Hypoxie und Hämostase - Hypoxie als prothrombotischer Faktor in der Höhe? // Wien. Med. Wochenschr. 2005. № 155. PP. 157–162. doi: [10.1007/s10354-005-0163-7](https://doi.org/10.1007/s10354-005-0163-7)
29. Жалылов А.С., Баландина А.Н., Купраш А.Д., Шривастава А., Шибeko А.М. Современные представления о системе фибринолиза и методах диагностики ее нарушений // Вопросы гематологии / онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2017. Т. 16, № 1. С. 69–82. doi: [10.24287/1726-1708-2017-16-1-69-82](https://doi.org/10.24287/1726-1708-2017-16-1-69-82)
30. Лычева Н.А., Шахматов И.И. Состояние системы гемостаза и микроциркуляторного русла в постгипотермическом периоде у крыс // Программа и научные труды Научной конференции молодых ученых по медицинской биологии ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА / под ред. Е.Н. Ильиной, Е.С. Кострюковой. М. : ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 2016. С. 85–86.

*Поступила в редакцию 09.03.2019 г.; повторно 24.06.2019 г.;
принята 07.11.2019 г.; опубликована 27.12.2019 г.*

Авторский коллектив:

Бондарчук Юлия Алексеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной физиологии, Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40); с.н.с., Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины (Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2661-5965>

E-mail: bondarchuk2606@yandex.ru

Носова Марина Николаевна – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры нормальной физиологии, Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40); м.н.с., Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины (Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4).

E-mail: mn.nosova@gmail.com

Шахматов Игорь Ильич – проф., д-р мед. наук, зав. кафедрой нормальной физиологии, Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40); г.н.с., Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины (Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>

E-mail: iish59@yandex.ru

For citation: Bondarchuk YuA, Nosova MN, Shakhmatov II. Effect of ultrasound exposure duration on the state of microcirculation and hemostasis system in rats. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;48:97-114. doi: [10.17223/19988591/47/5](https://doi.org/10.17223/19988591/47/5) In Russian, English Summary

Yulia A. Bondarchuk^{1,2}, Marina N. Nosova^{1,2}, Igor I. Shakhmatov^{1,2}

¹Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation

²Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

Effect of ultrasound exposure duration on the state of microcirculation and hemostasis system in rats

In modern society, people are often subjected to chronic unavoidable stress provoking depressive-like states that play a significant role in the formation mechanisms of psycho-emotional stress. In view of this, the need to create an experimental model of psycho-emotional stress as a cause of cardiovascular disease development arose. By means of ultrasound waves which cause the depressive-like state in animals, it is possible to create such model as long as ultrasound has material properties and certain energy. We used the parameters of microcirculation and hemostasis as criteria for psycho-emotional stress development. Stress stimulation results in vasoconstriction and can be associated with the development of microcirculatory disorders due to a significant increase in blood levels of catecholamines. The development of acute tissue ischemia depends both on the state of neurohumoral regulation of vascular tone, and on the rheological blood properties. Hemostasis system is one of the most reactive body systems, and hemostasiological parameters play an important role in the process of adaptation to the effect of stress factors. Currently, studies aimed at finding possible predictors of cardiovascular diseases and their complications are relevant. In this regard, it seems promising to study the role of microcirculatory and hemostasis parameters as criteria for psycho-emotional stress development. The aim of this research was to assess the effect of ultrasound exposure duration on the state of microcirculation and hemostasis system in rats.

The study was performed on 42 Wistar male rats divided into three groups: 1 control group and 2 experimental groups subjected to a 24-hour (Group 1) and a 7-day (Group 2) ultrasound exposure using a repellent-generator "Filin" (SPE "DonKont" Ltd., Russia) at a frequency of 25 kHz. Emitters were installed in a vertical position at a distance of 10 cm on both sides of the side cell walls made of coarse-meshed wire. The microphone of the ultrasonic vibration meter was located inside the cell and oriented towards the generator "Filin". The sound pressure level was 89.0 dB and the power flow density was 7.73 ± 0.03 W/cm². After exposure termination, microcirculation parameters were studied by laser Doppler flowmetry (LDF) method with analysis of the amplitude-frequency spectrum of blood flow oscillations by LAKK-02 apparatus (SPE "LAZMA" Ltd., Russia). The optical probe was fixed at the base of the animal's tail. The recording duration of LDF-gram was 5 minutes. The main microcirculation parameters were recorded, and the analysis of the amplitude-frequency spectrum of blood flow oscillations in the frequency range of 0.005 to 3 Hz was conducted. Four non-overlapping frequency ranges were formed in this range that allowed to estimate the state of "active" and "passive" links of micro-blood flow regulation. Blood levels of ACTH and cortisol were determined by enzyme immunoassay (EIA). The hemostasis system was assessed by an integral method, thromboelastometry. Thromboelastometry was performed by the "Rotem" device ("Pentapharm GmbH", Germany) using the "Natem" reagent which includes calcium chloride. The statistical significance was assessed using the non-parametric Mann-Whitney U-test. The use of rats in experiments was carried out in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

In this research we revealed that in experimental rats, the 24-hour ultrasound exposure, primarily, caused significant disorders in microcirculation area in the form

of vasoconstriction and dilation reserve reduction, and, secondly, it led to significant adverse changes in the hemostasis system that is a sign of stress. Evidence of the development of stress reaction was significantly increased concentration of ACTH by 227% ($p=0.001$) and cortisol by 37% ($p=0.01$) in the blood of these animals and the test results of the animals according to the "Open Field" method. A statistically significant decrease in the studied active factors of blood flow modulation, microcirculation and flux rates (by 66% and 68%), that characterize the role of the myogenic component as a reason of increased value of the wall shear stress was observed. The reduction of passive factors, pulse and respiratory waves, was also obtained. In experimental rats after the 24-hour ultrasound exposure a drop by 75% and 69% in the parameters was recorded compared to the control animals, and in the 7-day exposure group it was by 79% and 71% (See Table 1). In summation, these changes prove a formed spasm of microcirculation vessels. Reduction of blood flow into microcirculation in experimental animals of both groups was registered on the basis of reducing the amplitude of endothelial waves (by 75 and 63%) and vasomotor waves (by 78 and 74%) which inevitably leads to the development of stasis and disruption of tissue metabolism due to a blood flow bypass. Unidirectional changes in microcirculation in rats of the two experimental groups were accompanied by secondary changes in the hemostasis system. Based on the analysis of deviations of hemostasiological parameters from the control values, stress reaction development was recorded in rats exposed to the 24-hour ultrasound and the tendency of smoothing the deviations of hemostasis parameters after the 7-day exposure (See Table 2) was observed. We found that after the 24-hour and the 7-day exposures there was a decrease in the maximum lysis (ML) by 100 and 75% compared with the control which indicates the inhibition of fibrinolytic activity and represents a risk factor for venous thromboembolism and arterial thrombosis. Lower evidence of the decline in ML after the 7-day exposure to stress factors together with the absence of signs of infringement of fibrin polymerization process and the growth of the clot density amplitude in the 10th minute after the beginning of its formation shows a tendency towards the gradual normalization of the hemostatic system. Thus, ultrasound exposure simulates the state of chronic unavoidable stress in experimental animals. The state of psycho-emotional stress is confirmed by the data on the increased concentration of hormones (ACTH and cortisol) in blood as well as by the results of testing on animals using the "Open Field" method. The study results indicate that the diagnosis of the microcirculation and hemostasis parameters is a sensitive way to assess the development of psycho-emotional stress and organism adaptedness. The return of some parameters of the hemostasis system in response to the 7-day stress exposure compared to the 24-hour exposure to the indicators specific for control animals can be regarded as a manifestation of the initial stages of adaptation to the stress factor.

The paper contains 2 Tables and 30 References.

Key words: psycho-emotional stress; ultrasound exposure; microcirculation; hemostasis system; thromboelastometry.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Gorlova AV, Pavlov DA, Ushakova VM, Zubkov EA, Morozova AY, Inozemtsev AN, Chekhonin VP. Dynamics of the development of depressive-like state in rats stressed by chronic exposure of ultrasound of variable frequency. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017;163(3):296-298. doi: [10.1007/s10517-017-3788-9](https://doi.org/10.1007/s10517-017-3788-9)
2. Pertsov SS, Koplík EV, Saharov DS, Sudakov KV, Karkischenko NN. Informatsionnoe

- ul'trazvukovoe vzaimodeystvie u krys [Call for interaction of ultrasound in rats]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiiy vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* = *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2012;2:109-118. In Russian
3. Nweke FU. Test to investigate the use of ultrasound as an alternative means of repelling and eradicating rodents. *J Electrical and Electronics Engineering*. 2015;10(4):91-93. doi: [10.9790/1676-10439193](https://doi.org/10.9790/1676-10439193)
 4. Takahashi N, Kashino M, Hironaka N. Structure of rat ultrasonic vocalizations and its relevance to behavior. *PLoS One*. 2010;5(11):109-115. doi: [10.1371/journal.pone.0014115](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014115)
 5. Gwartz PA. Teaching the interrelationship between stress, emotions, and cardiovascular risk using a classic paper by Walter Cannon. *Adv. Physiol. Educ.* 2008;32(32(1)):18-22. doi: [10.1152/advan.00051.2007](https://doi.org/10.1152/advan.00051.2007)
 6. Lutskiy IS. Vliyanie khronicheskogo psikhoemotsional'nogo stressa na formirovanie endotelial'noy disfunktsii, protsessy remodelirovaniya sosudov i snizhenie mozgovogo krovotoka [The chronic psycho-emotional stress is accompanied by endothelial dysfunction, promotes vascular remodeling and reduction of cerebral perfusion]. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik* = *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2015;3(152):65-72. In Russian
 7. Nosova MN, Shakhmatov II, Vdovin VM, Bondarchuk YuA, Kiselev VI. Vliyanie odnokratnoy fizicheskoy nagruzki na parametry gemostaza u sportsmenov [Effect of single physical exercise on the hemostatic parameters in athletes]. *Fundamental'nye issledovaniya* = *Fundamental research*. 2011;9-1:107-110. In Russian
 8. Stomenskaya IS, Kostrova OYu, Struchko GYu, Timofeeva NYu Tromboelastometriya - metod laboratornoy diagnostiki narusheniy sistemy gemostaza [Thromboelastometry - method of laboratory diagnostics of hemostasis system disorders]. *Meditsinskiy almanakh* = *Medical Almanac*. 2017;2(47):96-98. In Russian
 9. Chojnowski K, Gorski T, Robak M, Treliński J. Effects of rivaroxaban therapy on ROTEM coagulation parameters in patients with venous thromboembolism. *J. Adv. Clin. Exp. Med*. 2015;24(6):995-1000. doi: [10.17219/acem/42147](https://doi.org/10.17219/acem/42147)
 10. Schumake SA. Electronic Rodent Repellent Devices: A Review of efficacy test protocols and regulatory actions. *National Wildlife Research Center Repellents Conference*. Mason JR. editor. USDA, National Wildlife Research Center, Fort Collins, CO; 1995:253-270. Available at: <https://pdfs.semanticscholar.org/0266/79b5fc48a5ed8193ce3dfb0071f8f1b707ee.pdf> (access 25.07.2019)
 11. Zhebentyaev AI, Katkova EN. Immunofermentnyy metod analiza [Enzyme immunoassay method of analysis]. *Vestnik farmatsii*. 2013;2(60):90-97. In Russian
 12. Yarec YuI. Tromboelastografiya: osnovnye pokazateli, interpretatsiya rezul'tatov [Thromboelastography: key indicators and result interpretation]. Gmel': GU "RNPC RMiECh" Publ.; 2018. 26 p. In Russian
 13. Momot AP, Taranenko IA, Tsyvkina LP. Sostoyanie tromboticheskoy gotovnosti - vozmozhnosti sovremennoy diagnostiki i perspektivy [Thrombotic state of readiness - the possibilities of modern diagnostics and prospects]. *Meditsinskiy alfavit. Sovremennaya laboratoriya* = *Medical Alphabet. Modern Laboratory*. 2013;1:20-23. In Russian
 14. Roytman EV. Problema gemostaza" v laboratornoy diagnostike [Problem of hemostasis» in laboratory diagnosys]. *Laboratoriya LPU*. 2016;8:29-36. In Russian
 15. Ryzhkov SV, Polonskaja EI, Zabolotnjaja EV, Zhilina EB, Alekhina MA, Kurbatova EV, Kurbatov MG, Demidova AA. Klinicheskaya znachimost' provedeniya tromboelastografii v praktike akushera-ginekologa [Clinical significance of thromboelastography in practice an obstetrician-gynecologist]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2014;12:101-104. In Russian
 16. *European Convention for the Protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 51 p. Available at: <https://>

- rm.coe.int/168007a67b (access 21.03.2019)
17. Nosova MN, Bondarchuk YuA, Shakhmatov II, Matsyura AV, Marshalkina PS, Prokopets DA. Razvitiye priznakov distressa u krysa na fone odnokratnogo ul'trazvukovogo vozdeystviya [Distress symptoms development after a single episode of ultrasound exposure]. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*. 2019;100(1):140-146. doi: [10.17816/KMJ2019-140](https://doi.org/10.17816/KMJ2019-140) In Russian
 18. Matsyura AV, Antonenko TV, Ulitina OM, Bondarchuk YuA, Shakhmatov II, Karmanova TA, Korgopolova IS. Vliyaniye ul'trazvuka na povedeniye serykh krysa [The influence of ultrasound on the behavior of Brown Rats]. *Ukrainian J Ecology*. 2018;8(2):1-4. doi: http://ojs.mdpu.org.ua/index.php/biol/article/view/_3021 In Russian
 19. Golubeva MG. Some aspects of antistressogenic effect of thyroliberin and its synthetic analog on erythrocytes. *Tromboz, gemostaz i Reologia*. 2012;3(51):48-51. In Russian
 20. Kuznik BI. Kletochnye i molekulyarnye mekhanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii [Cellular and molecular mechanisms regulating the hemostasis system in normal and pathological conditions]. Chita: Ekspres-izdatel'stvo Publ; 2010. 827 p. In Russian
 21. Du VX, Huskens D, Maas C, Al Dieri R, de Groot P.G, de Laat B. New insights into the role of erythrocytes in thrombus formation. *Semin. Thromb. Haemost.* 2014;40:72-80. doi: [10.1055/s-0033-1363470](https://doi.org/10.1055/s-0033-1363470)
 22. Golubeva MG. Modern ideas about effects of erythrocytes on platelet reactivity in thrombogenesis. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*. 2017;137(6):586-592. doi: [10.7868/S0042132417060059](https://doi.org/10.7868/S0042132417060059) In Russian
 23. Kamada H, Imai Y, Nakamura M, Ishikawa T, Yamaguchi T. Computational analysis on the mechanical interaction between a thrombus and red blood cells: possible causes of membrane damage of red blood cells at microvessels. *Med. Eng. Phys.* 2012;34(10):1411-1420. doi: [10.1016/j.medengphys.2012.01.003](https://doi.org/10.1016/j.medengphys.2012.01.003)
 24. AlMomani T, Udaykumar HS, Marshall JS, Chandran KB. Micro-scale dynamic simulation of erythrocyte-platelet interaction in blood flow. *Ann. Biomed. Eng.* 2008;36(6):905-920. doi: [10.1007/s10439-008-9478-z](https://doi.org/10.1007/s10439-008-9478-z)
 25. Omel'yanenko MG, Shumakova VA, Sukhovey NA, Shchapova NN. Psychoemotional disorders and endothelial disfunction in cardiovascular diseases associated with atherosclerosis. *Siberian Medical Journal (Tomsk)*. 2014;29(3):18-24. In Russian
 26. Shevchenko EV, Kchlopenko NA. Dejstvie ul'trazvuka na organizm [Probable mechanisms of effects of low-intensive laser radiation]. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2006;21(2):96-99. In Russian
 27. Nikolaev VYu, Shakhmatov II, Kiselev VI, Moskalenko SV. The hemostatic system in rats at longtime hyperthermic load. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2015;35(2):43-46. In Russian
 28. Schobersberger W, Hoffmann G, Gunga H. Interaktionen von Hypoxie und Hämostase - Hypoxie als prothrombotischer Faktor in der Höhe? *Wien. Med. Wochenschr.* 2005;155:157-162. doi: [10.1007/s10354-005-0163-7](https://doi.org/10.1007/s10354-005-0163-7) In German
 29. Zhalyalov AS, Balandina AN, Kuprash AD, Shrivastava A, Shibeko AM. The overview of fibrinolysis system contemporary concepts and of its disorders diagnostic methods. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2017;16(1):69-82. doi: [10.24287/1726-1708-2017-16-1-69-82](https://doi.org/10.24287/1726-1708-2017-16-1-69-82) In Russian
 30. Lycheva NA, Shakhmatov II. Sostoyaniye sistemy gemostaza i mikrotsirkulyatornogo rusla postgipotermicheskoy periode u krysa [The state of the hemostasis system and the microcirculatory bed of the posthypothermic period in rats]. In: *Programma i nauchnye trudy Nauchnoy konferentsii molodykh uchenykh po meditsinskoy biologii FGBU FNKTS fiziko-khimicheskoy meditsiny FMBA* [Proceedings of the Sci. Conf. for Young Scientists in Medical Biology (Moscow, Russia, 19-20 April, 2016)]. Ilina EN and Kostryukova ES,

editors. Moscow: FNCC FCM FMBA of Russia Publ.; 2016. pp. 85-86. Available at: http://rcpcm.org/wp-content/uploads/2016/04/2016_FRCPC_YNG_Program-Proceedings.pdf
In Russian

*Received 09 March 2019; Revised 24 June 2019;
Accepted 07 November 2019; Published 27 December 2019*

Author info:

Bondarchuk Yulia A, Cand. Sci. (Med.), Altai State Medical University, 40 Lenina Pr., Barnaul 656038, Russian Federation; Senior Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, 4 Timakova Str., Novosibirsk 630117, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2661-5965>

E-mail: bondarchuk2606@yandex.ru

Nosova Marina N, Cand. Sci. (Biol.), Altai State Medical University, 40 Lenina Pr., Barnaul 656038, Russian Federation; Junior Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, 4 Timakova Str., Novosibirsk 630117, Russian Federation.

E-mail: mn.nosova@gmail.com

Shakhmatov Igor I, Dr. Sci. (Med.), Altai State Medical University, 40 Lenina Pr., Barnaul 656038, Russian Federation; Chief Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, 4 Timakova Str., Novosibirsk 630117, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>

E-mail: iiish59@yandex.ru