

ПОПОВ А. В.¹, ЕРШОВА А. И.^{1, 2},
ПОДТАЕВ С. Ю.^{2, 3}

Исследование состояния эндотелиального механизма регуляции тонуса микрососудов у больных острым тяжелым панкреатитом

¹Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е. А. Вагнера, 614000, ул. Петропавловская д. 2, г. Пермь, Россия

²Институт механики сплошных сред Уральского отделения РАН, 614013, ул. ак. Королева д. 1, г. Пермь, Россия

³Научно-исследовательский центр «ФМ-Диагностика», 614000, ул. Ленина д. 10, г. Пермь, Россия
e-mail: ershovaa@inbox.ru

Реферат

Цель исследования — изучение эндотелиального механизма регуляции микроциркуляторного русла с помощью вейвлет-анализа колебаний кожной температуры у больных острым тяжелым панкреатитом (ОП).

Обследованы 22 больных тяжелым ОП. В контрольную группу вошли 12 здоровых лиц. Состояние микроциркуляции оценивали с помощью прибора «Микротест» (г. Пермь, Россия) при проведении контрлатеральной холодной пробы. Рассчитывали среднеквадратичные амплитуды колебаний в эндотелиальном частотном диапазоне в четырех временных интервалах: до, во время, в течение 3-х и последующих 6-ти минут после пробы.

Во время холодного прессорного теста у здоровых лиц амплитуды колебаний кожной температуры снижались, а после его завершения — восстанавливались в течение 3-х минут. При тяжелом ОП исходные амплитуды колебаний кожной температуры были ниже, чем у здоровых добровольцев, а статистически значимые изменения на холодную нагрузку и после нее отсутствовали. При проведении кластерного анализа выявлено 3 типа реакции микроциркуляции. Первый тип реакции характеризовался снижением амплитуд колебаний кожной температуры на холодную пробу и их восстановлением до исходных значений в течение 3-х минут после нагрузки. Второй тип реакции отличался отсутствием реакции как на холодное воздействие, так и после его завершения. При третьем типе наблюдалось повышение амплитуд колебаний в ответ на холодное воздействие и в течение 3-х минут после его окончания.

Пациенты с тяжелым ОП имеют аномально низкую активность эндотелиального механизма регуляции тонуса сосудов по сравнению со здоровыми лицами, сопровождающуюся тяжелыми нарушениями вазоконстрикции и вазодилатации. Наше исследование подтверждает возможность использования вейвлет-анализа низкочастотных температурных колебаний для изучения механизмов регуляции сосудистого тонуса микрососудов у больных острым тяжелым ОП.

Ключевые слова: острый тяжелый панкреатит, эндотелиальная дисфункция, вейвлет-анализ колебаний кожной температуры.

Введение

Острый панкреатит (ОП) занимает 3-е место среди заболеваний органов брюшной полости и служит одной из ведущих причин роста смертности населения в промышленно развитых странах [29]. Тяжелые формы ОП составляют 25–30 %, летальность при которых колеблется от 23 до 52 % [4, 5]. Отличительной чертой тяжелого ОП является развитие и прогрессирование полиорганной недостаточности [9], в патогенезе которой ключевую роль играет эндотелиальная дисфункция [6, 40]. Оценка состояния эндотелия позволяет выявлять самые ранние доклинические стадии различных заболеваний, когда еще отсутствуют структурные нарушения сосудистой стенки [40]. Для определения функции эндотелия применяют лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ). Этот метод основан на выделении осцилляций микрокровотока в определенной

полосе частот (0,02–0,0095 Гц), соответствующей эндотелиальным механизмам регуляции сосудистого тонуса [3]. Колебания кровотока с частотой в области 0,01 Гц связывают с эндотелиальной активностью, в частности, с активностью синтеза оксида азота (NO). Исследования, основанные на результатах тестов по ионофорезу ацетилхолина (эндотелийзависимого вазодилататора) и нитропруссиды натрия (эндотелийнезависимого вазодилататора) подтверждают, что осцилляции в области 0,01 Гц определяются активностью эндотелия [24, 25, 31]. Было показано, что реакция эндотелия, видимая в ЛДФ, может быть прослежена и в низкоамплитудных (~0,01 град) колебаниях кожной температуры [31, 34].

Лабораторная диагностика функции эндотелия теоретически может проводиться по снижению синтеза NO, но его определение практически невозможно из-за нестабильности и короткого периода жизни

молекулы. В качестве потенциальных маркеров дисфункции эндотелия рассматривается несколько субстанций, продукция которых может отражать функцию эндотелия: тканевой активатор плазминогена и его ингибитор, тромбомодулин, фактор Вилленбрандта. Диагностика хронической эндотоксической агрессии и эндотелиальной дисфункции в хирургии с практических позиций включает определение концентрации эндотоксина в плазме крови с помощью люмолюс-теста, а также концентрацию высокочувствительного С-реактивного белка, который широко используется в кардиологии для определения риска развития сосудистых осложнений. Все остальные маркеры до сих пор используются в основном в научных исследованиях, на практике они труднопроизводимы и дороги [1].

Для инструментальной оценки функции эндотелия в основном применяют косвенные неинвазивные методы: эндотелийзависимая вазодилатация плечевой артерии на введение ацетилхолина или серотонина, проба с реактивной гиперемией. Общим в методиках определения вазодилатирующей или вазоконстрикторной функции эндотелия является изучение действия эндотелийзависимого стимула на диаметр сосуда и/или кровотока по нему. Из фармакологических стимулов обычно используют ацетилхолин, а из механических — непродолжительную окклюзию сосуда. Действие стимулов изучается во время прямой ангиографической и ультразвуковой визуализации. Кровоток измеряют доплерографически, в том числе внутрисосудистыми датчиками. Недостатками УЗИ-метода являются отсутствие его стандартизации и значительная зависимость результатов теста от подготовки оператора.

На сегодняшний день можно констатировать, что пока не создана оптимальная методика для выявления дисфункции эндотелия, удовлетворяющая основным критериям, сформулированным в работе А. J. Flammer [14], а именно: предлагаемая методика должна быть воспроизводимой, неинвазивной (или причиняющей незначительный вред пациенту), недорогой, простой в использовании, отражать тяжесть заболевания и стратификацию риска осложнений и летальности.

Для оценки свойств эндотелия интерес представляет изучение кровотока в мелких сосудах, для регистрации кровотока в них наиболее широко используются оптические методы, такие как фотоплетизмография и ЛДФ. Специфичной функциональной пробой для оценки состояния эндотелиального механизма регуляции системы микроциркуляции во время ЛДФ-исследования считается тест с ионофорезом, однако он труднопроизводим на практике и для его использования необходимо специальное оборудование.

Информацию о функциональном состоянии системы микроциркуляции позволяет получить проба с локальным охлаждением [3, 28]. Представляется важным изучение микроциркуляторных реакций контрлатеральной конечности (непрямая холодовая проба) как системного ответа организма на холодовой прессорный тест [21]. Локальное охлаждение

реализует значительную часть своего сосудосуживающего эффекта через эндотелиальный механизм регуляции ингибирования NO-системы, уменьшая тем самым приток крови кожи [21]. Очевидно, что оценка нарушений микроциркуляции как одного из звеньев патогенеза тяжелого панкреатита дает возможность приблизиться к решению проблемы ранней диагностики развития полиорганной недостаточности и прогнозирования осложнений.

Цель — изучение эндотелиального механизма регуляции микроциркуляторного русла с помощью вейвлет-анализа колебаний кожной температуры у больных острым тяжелым панкреатитом.

Материал и методы исследования

Обследованы 22 больных острым тяжелым панкреатитом (15 мужчин и 7 женщин) в возрасте от 19 до 65 лет ($43,6 \pm 2,6$ года). Критериями включения, согласно классификации Атланты (2012) [9], считали наличие двух из трех признаков ОП:

- 1) боли в животе (острое начало, выраженные, локализующиеся в эпигастрии, иррадиирующие в спину);
- 2) повышение активности альфа-амилазы крови в 3 раза и более;
- 3) признаки ОП, выявленные при ультразвуковом исследовании (УЗИ) и/или компьютерной томографии (КТ) органов брюшной полости; а также наличие персистирующей органной недостаточности в течение 48 часов.

Критерии исключения: наличие хронического панкреатита в анамнезе; ОП в результате рака поджелудочной железы; наличие других заболеваний, вызвавших развитие полиорганной недостаточности (в том числе хронические заболевания печени, перитонеальный диализ); неконтролируемая системная гипертензия; сахарный диабет; беременность или лактация. При поступлении учитывали возраст, пол, этиологию, данные общего и биохимического анализов крови, коагулограммы, общего анализа мочи и диастазурию (таблица).

Органная недостаточность оценивалась по шкале SOFA. Развитие системных осложнений определяли по наличию системного воспалительного ответа SIRS и обострению сопутствующих заболеваний. Местные осложнения (острые перипанкреатические жидкостные скопления, псевдокисты, некрозы, нарушение эвакуации из желудка, тромбоз селезеночной или портальной вены и абсцессы) диагностировали с помощью УЗИ и/или КТ с контрастным усилением, которое выполнялось не ранее чем через 48 часов от начала заболевания [7] (таблица).

Для верификации тяжести ОП использованы индекс тяжести ОП — BCTSI [7] и шкала BISAP [38] (таблица).

Все пациенты госпитализированы в хирургическое отделение или отделение реанимации и интенсивной терапии Пермской краевой клинической больницы в период с 2009 по 2012 г. Они получали стандартную терапию, и, по показаниям, им предпринималось оперативное лечение [4].

В контрольную группу вошли 12 практически

Клиническая характеристика больных тяжелым ОП

Таблица	
Показатель	Значение (n)
Число больных	22
<i>Этиология</i>	
Алкогольный	5
Билиарный	5
Посттравматический	3
Идиопатический	9
Летальность	2
<i>Органная недостаточность</i>	28
Дыхательная	4
Почечная	4
Сердечно-сосудистая	8
Желудочно-кишечное кровотечение	1
Печеночная	11
<i>Системные осложнения</i>	
Обострения существующих заболеваний	12
SIRS	1,14 (0–4)
<i>Локальные осложнения</i>	28
Острые перипанкреатические жидкостные скопления	8
Псевдокисты	9
Некрозы	5
Нарушение эвакуации из желудка	2
Тромбоз селезеночной или портальной вены	0
Абсцессы	4
BISAP	1,73 (0–5)
BCTSI	6,4 (4–8)

здоровых лиц (6 женщин и 6 мужчин) в возрасте от 20 до 65 лет (44,7±1,2 года).

Исследование одобрено Медицинским этическим комитетом Пермской государственной медицинской академии. Каждый пациент подписывал информированное добровольное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных.

Изучение системной микроциркуляции проводилось при комнатной температуре 22,5±0,5 °С. Измерения осуществлялись после 4-х часового воздержания от курения. Пациенты не принимали какие-либо лекарства, влияющих на тонус сосудов (нитраты или антагонисты кальция). При проведении контралатеральной холодовой пробы пациенты находились в положении лежа на спине. Температуру кожи измеряли на ладонной поверхности дистальной фаланги указательного пальца правой руки прибором «Микротест» (г. Пермь, Россия), обеспечивающим разрешение по температуре 0,001 °С. Для уменьшения влияния внешних тепловых потоков датчик температуры был помещен в специально разработанный пластиковый корпус, выполненный из материала с низкой теплопроводностью ($\lambda < 0,02$ Вт/(м·К)). Холодовая проба проводилась погружением контралатеральной конечности (левой руки) в емкость с «ледяной» водой (при 0 °С) на 3 минуты.

Температура кожи регистрировалась непрерывно в течение 10 мин перед холодовым тестом, 3 мин во время холодовой пробы и 10 мин после завершения испытания. Частотно-временной анализ колебаний температуры проводился с использованием вейвлет-анализа [31]. Для реконструкции колебаний в частотном диапазоне 0,02–0,0095 Гц применяли обратное вейвлет-преобразование. В настоящее время является общепризнанным фактом соответствие диапазона 0,02–0,0095 Гц эндотелиальным колебаниям как в отечественной [3], так и в зарубежной литературе [8, 32]. Предлагаемый метод обратного вейвлет-преобразования — это способ обработки экспериментальных сигналов (в нашем случае температурных колебаний), позволяющий выделить колебания в определенной области спектра. При этом в амплитудах колебаний содержится та же информация, что и в спектральной характеристике. Изучались изменения кровотока не только в эндотелиальном, но и в других диапазонах (миогенном, нейрогенном), но эти данные не включены в рассмотрение. На рис. 1 показан результат вейвлет-фильтрации колебаний, полученный с помощью программного обеспечения прибора «Микротест».

Среднеквадратичные амплитуды колебаний рассчитывались в четырех временных интервалах:

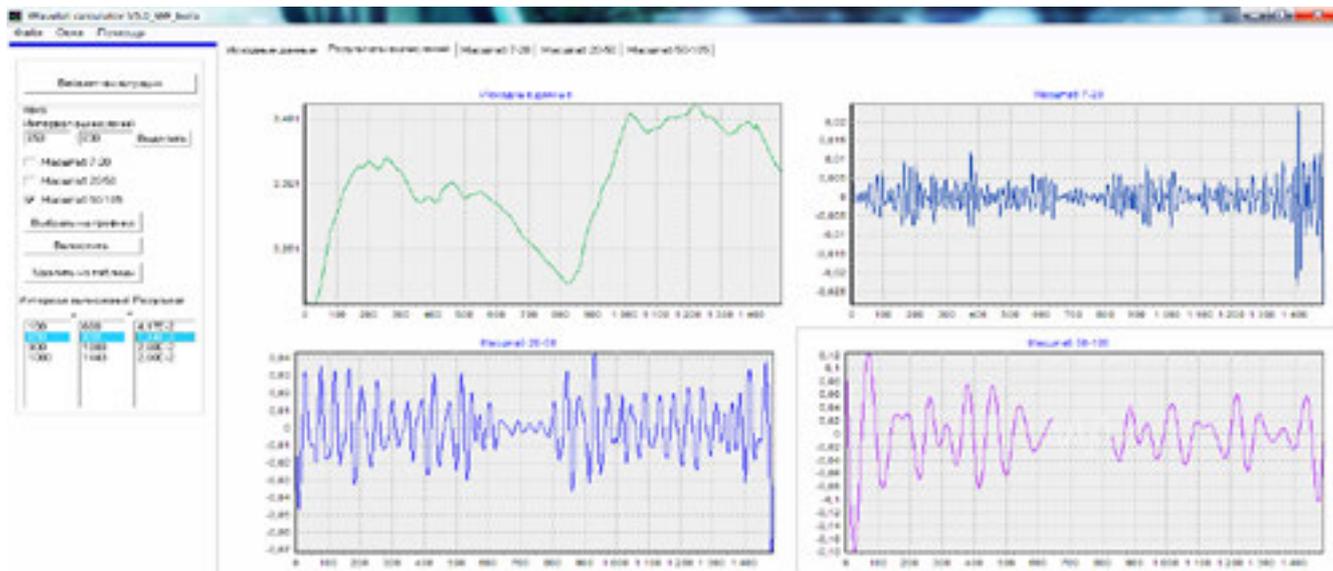


Рис. 1. Пример вейвлет-фильтрации колебаний кожной температуры во время проведения холодовой пробы

первый интервал — (A1) 100–600 с — выбран с учетом времени, необходимого для установления стационарного теплового режима в системе, ответ на холодовой тест (A2) оценивался в течение 650–830 с, для изучения динамики процесса восстановления анализировались первые 3 мин после холодового теста (A3) (900–1080 с) и последующие 6 мин (A4) (1080–1440 с). Статистический анализ проводился с использованием программы «Statistica 6.0». Применяли непараметрические тесты: тест Манна–Уитни для определения различий между группами, для сравнения изменчивости амплитуд колебаний кожной температуры был использован тест Вилкоксона. В группе больных острым тяжелым панкреатитом проведен кластерный анализ получаемых реакций на холодовую пробу методом К-средних. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее значение; m — стандартная ошибка среднего. Значения $p < 0,05$ считали значимыми.

Результаты исследования

Во время холодового прессорного теста у практически здоровых лиц амплитуды колебаний кожной температуры на 2-м пальце контралатеральной кисти в эндотелиальном диапазоне частот снизились на $41,0 \pm 6,4\%$, а после завершения холодового воздействия в течение 3 минут — увеличились на $80,7 \pm 22,8\%$ (рис. 2). При сравнении исходных амплитуд колебаний кожной температуры между контрольной группой и больными тяжелым ОП выявлено, что они были достоверно ниже, чем у здоровых добровольцев (рис. 3). На протяжении всего исследования у больных тяжелым ОП отсутствовали статистически значимые изменения амплитуд колебаний кожной температуры (рис. 4). Ввиду большого количества выбросов и крайних точек в общей выборке больных тяжелым ОП, представлялось целесообразным провести кластерный анализ. В качестве переменных выбраны среднеквадратичные амплитуды колебаний кожной температуры до, во время и после холодовой

пробы. Выявлены три типа реакции ($p < 0,001$), два из которых показаны на рис. 5. Первый тип реакции у шести человек характеризовался снижением амплитуд колебаний кожной температуры на холодовую пробу на $36,6 \pm 13,4\%$ ($p = 0,046$) и их восстановлением ($p = 0,046$) до исходных значений в течение 3 мин после нагрузки. Дальнейшие изменения амплитуд были недостоверны. Второй тип реакции наблюдался наиболее часто (14 больных) и отличался отсутствием реакции как на холодовое воздействие ($9,4 \pm 20,5\%$; $p > 0,05$), так и после его завершения. Третий тип реакции выявлен только у 2-х пациентов. У них наблюдалось повышение амплитуд колебаний в ответ на холодовое воздействие ($63,9 \pm 53,7\%$), продолжающееся в течение 3 мин после его окончания. В последние 6 мин исследования амплитуды снизились до исходных значений.

Обсуждение результатов

В последние годы методы исследования кожной микроциркуляции вызвали значительный интерес среди клиницистов. Кожа человека, являясь динамичной структурой, оказалась очень удачной моделью неинвазивного исследования микроциркуляции для определения механизмов сосудистых патологий при различных заболеваниях [27]. Во многих исследованиях продемонстрирована корреляция сосудистых реакций, наблюдаемых в различных сосудистых бассейнах по всему телу (например, коронарная артерия, плечевая артерия и микроциркуляция кожи), у здоровых людей и у пациентов, имеющих эндотелиальную дисфункцию [11, 13, 19]. В то же время пока неизвестно, в какой степени нарушения кожного кровотока коррелируют с изменениями висцерального кровотока в контексте острой хирургической патологии. В наших наблюдениях у всех больных тяжелым ОП отмечались нарушения регуляции сосудистого тонуса при проведении контралатеральной холодовой пробы. Исходные амплитуды колебаний кожной температуры в эндотелиальном диапазоне

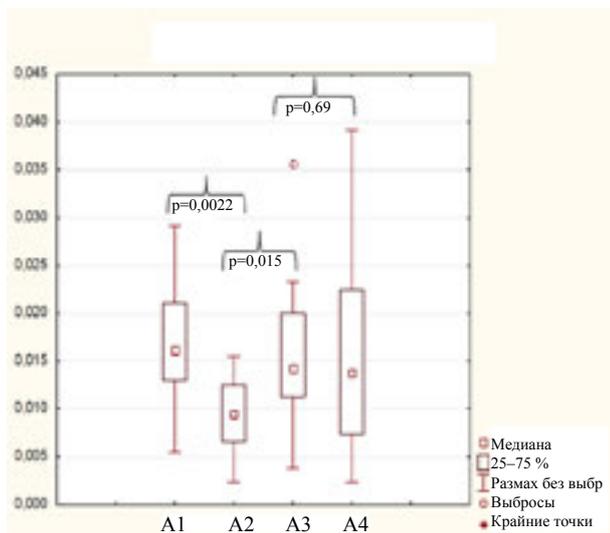


Рис. 2. Изменения амплитуд колебаний кожной температуры у практически здоровых лиц в эндотелиальном диапазоне частот: A1 — средневекторная амплитуда колебаний кожной температуры в покое; A2 — во время холодной пробы; A3 — в течение 3 мин после пробы; A4 — в течение последующих 6 мин

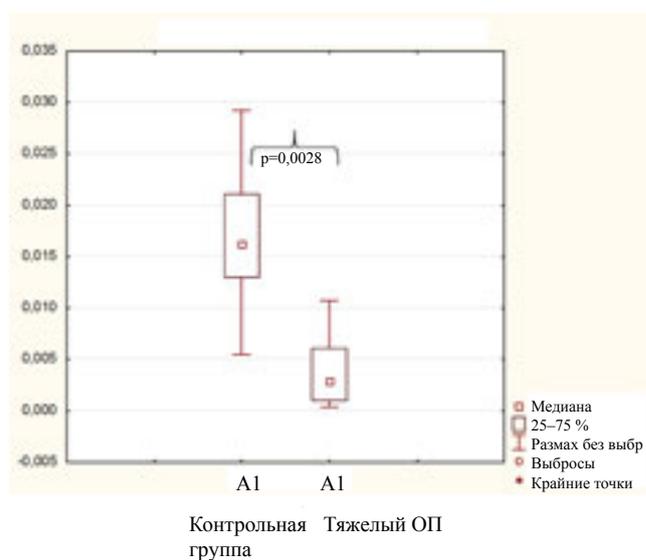


Рис. 3. Исходные средневекторные амплитуды колебаний кожной температуры в эндотелиальном диапазоне частот в контрольной группе и у больных острым тяжелым панкреатитом

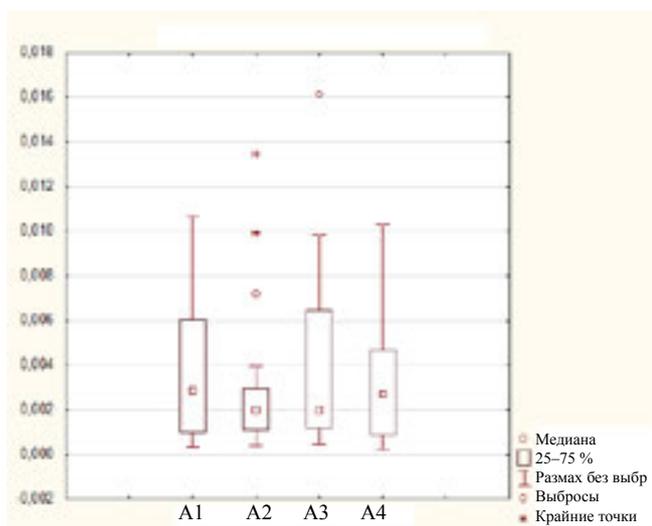


Рис. 4. Изменения амплитуд колебаний кожной температуры у больных острым тяжелым панкреатитом в эндотелиальном диапазоне частот

частот у них были значительно ниже, чем у здоровых добровольцев. Несмотря на то, что данные термометрии высокого разрешения по оценке кожного кровотока лишь условно могут быть перенесены на нарушения микроциркуляции других сосудистых регионов, патогенетически связанных с острым панкреатитом, мы получили убедительные результаты о взаимосвязи нарушений системной микроциркуляции с тяжестью воспаления поджелудочной железы. Ключевым медиатором в этом процессе считают повреждение эндотелиоцитов, что приводит к каскаду вредных эффектов, включающих вазоконстрикцию и фиксированные структурные изменения микрососудов [10]. Острый панкреатит и вызванную им полиорганную недостаточность нередко связывают с резким падением артериального давления [6]. Хотя механизмы, лежащие в основе гипотонии, по-прежнему раскрыты не полностью, был предположен

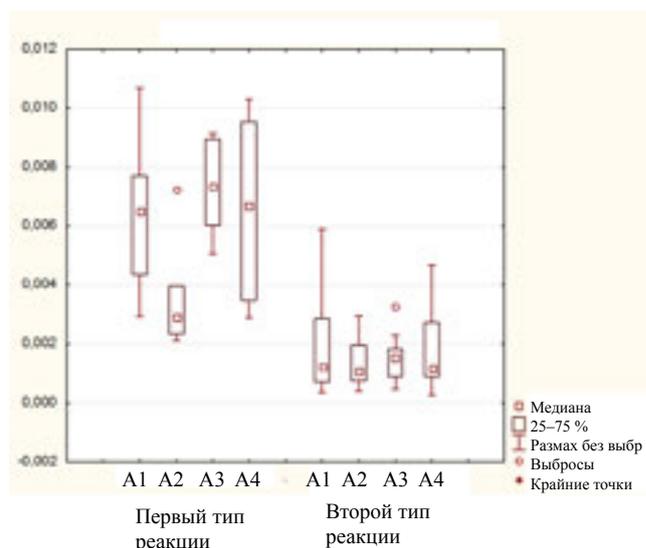


Рис. 5. Результат кластерного анализа изменений амплитуд колебаний кожной температуры в эндотелиальном диапазоне частот у больных тяжелым острым панкреатитом

сбой в физиологическом равновесии между сосудорасширяющими и сосудосуживающими медиаторами [12]. Кроме того, нарушения микроциркуляции могут быть обусловлены окислительным стрессом, который наблюдается при остром воспалении поджелудочной железы [16, 17].

Нами установлено, что у здоровых добровольцев сужение сосудов во время холодной пробы сопровождалось уменьшением амплитуд осцилляций кожной температуры. После завершения холодной пробы амплитуды колебаний восстанавливали свои начальные значения в эндотелиальном частотном диапазоне в течение 3-х минут. Эту реакцию считали адекватным ответом на холодный тест [34]. Известно, что охлаждение и массивное раздражение терморецепторов кожи во время холодной пробы вызывают мощную активацию симпатического отдела нервной системы. Это влечет за собой кон-

стрикцию резистивных сосудов (артерий, артериол, артериоло-веноулярных анастомозов) и умеренное увеличение содержания катехоламинов плазмы крови [26]. Погружение руки в ледяную воду стимулирует не только холодовые рецепторы кожи, но и ноцицепторы, которые передают возбуждение как по механизму аксон-рефлекса, так и через центральную нервную систему [20, 37]. Холодовой стимул усиливает симпатическую активацию организма, что проявляется вазоконстрикцией и снижением кровотока на участках кожи, которые непосредственно не подвергаются холодовому воздействию, в том числе и на контралатеральной конечности [21]. Прекращение раздражения холодовых рецепторов после завершения холодового воздействия влечет за собой снижение симпатической активности и постепенное восстановление сосудистого тонуса.

Результаты изменений амплитуд колебания кожной температуры в диапазоне частот, соответствующем эндотелиальной активности, можно рассматривать с позиций неадренэргических механизмов регуляции тонуса сосудов. Известно, что пресинаптическая блокада высвобождения норадреналина из нервных окончаний не полностью устраняет вазоконстрикцию, вызванную местным охлаждением, показывая, что существуют и неадренэргические механизмы регуляции сосудистого тонуса [22, 30]. Предполагается, что не обусловленная нервным влиянием часть вазоконстрикторного ответа на местное охлаждение, возможно, включает в себя термозависимое угнетение базальной (эндотелиальной) активности синтазы оксида азота (СОА) [39]. Показано наличие термозависимой связи эндотелиального механизма регуляции сосудистого тонуса и установлено, что *in vitro* активность СОА снижается во время мягкого охлаждения [36]. Это предполагает, что для сохранения вазоконстрикции имеет значение температурное влияние на базальную функцию СОА. Установлено, что местное охлаждение оказывает системное влияние на активность СОА, а не только в месте его приложения, что вносит вклад в вазоконстрикторный ответ на контралатеральной конечности [18].

В группе больных с первым типом реакции также наблюдали сосудосуживающий ответ на холодовую пробу с последующей вазодилатацией в течение 3-х минут после прекращения нагрузки. Однако этот тип реакции нельзя рассматривать как «нормальный», так как амплитуды колебаний кожной температуры на протяжении всего исследования были достоверно ниже, чем у здоровых лиц, что уже само по себе свидетельствует о нарушении эндотелиального механизма вазорегуляции [33].

Второй тип характеризовался отсутствием реакции микроциркуляторного русла как на холодовое воздействие, так и после его завершения. Нарушение вазоконстрикции может быть связано с норэпинефринопосредованными генерализованными патологическими изменениями функции микрососудов [35], обусловленными окислительным стрессом, которому придают большое значение в патогенезе ОП [16]. Возможен и другой механизм нарушения вазоконстрикции — блокада системы NO и адренэргической

системы [39]. Отсутствие вазодилатации после прекращения холодового теста может быть связано и со снижением сосудорасширяющей восприимчивости к NO и/или к нитропруссиду натрия [10]. Рассматривается и аномально высокий, длительный спазм резистивных артерий на входе в микроциркуляторное русло, что не приводит к росту напряжения сдвига после теста и подъему эндотелиальных осцилляций после прекращения охлаждения [3]. Третий тип реакции микроциркуляции на холодовое воздействие характеризовался патологическим расширением микрососудов контралатеральной руки и их сужением после завершения теста.

Холодиндуцированное расширение сосудов, наблюдаемое как у здоровых лиц в начале охлаждения [39], так и у больных синдромом Рейно [28], вызвало особый интерес у врачей-клиницистов и расценивается ими как маркер патологии микроциркуляции. Показано, что холодиндуцированная блокада высвобождения норадреналина или блокада адренорецепторов подавляет сосудосуживающую реакцию [15] и проявляется ранней транзиторной вазодилатацией [39]. Не исключается возможность и другого механизма аномальной вазодилатации на холодовой стресс.

Известно, что у больных ОП стимуляция сенсорных нейронов может привести к высвобождению нейротрансмиттеров, которые оказывают сосудорасширяющий эффект. Так, вещество P и связанный с геном кальцитонина пептид (CGRP) могут взаимодействовать с эндотелиальными клетками и артериолами, вызывая расширение сосудов, отек и воспалительную инфильтрацию [16]. Казалось бы, высвобождение сосудорасширяющих пептидов должно служить защитным механизмом, улучшая перфузию крови в поджелудочной железе. Однако по причинам, до сих пор не выясненным, эти же пептиды могут привести и к прогрессированию заболевания [23]. Таким образом, наше исследование подтверждает результаты предыдущих работ [2], которые показывают, что оценка тонуса микрососудов может быть полезным методом обследования пациентов с ОП.

Заключение

Пациенты с тяжелым ОП имеют аномальные, по сравнению со здоровыми лицами, микрососудистые реакции. У них значительно снижаются амплитуды колебаний, связанные с эндотелиальным механизмом регуляции тонуса микрососудов, нарушаются процессы вазоконстрикции и вазодилатации. Наше исследование демонстрирует возможность использования вейвлет-анализа низкочастотных температурных колебаний для изучения эндотелиального механизма регуляции сосудистого тонуса у больных тяжелым ОП. В практической медицине определение степени эндотелиальной дисфункции может быть полезным для оценки тяжести ОП и мониторинга эффективности лечения.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда № 14-15-00809.

Литература

1. Бахтияров Р. З. Современные методы исследования функции эндотелия // *Росс. кардиол. журн.* 2004. № 2. С. 76–79.
2. Ершова А. И., Попов А. В., Подтаев С. Ю. и др. Оценка регуляции сосудистого тонуса у больных билиарнозависимым панкреатитом // *Пермский мед. журн.* 2013. № 5. С. 67–71.
3. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: рук-во для врачей / под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова. М.: Медицина, 2005. 256 с.
4. Кубышкин В. А., Мороз О. В., Степанова Ю. А. и др. Вопросы классификации острого панкреатита // *Анналы хирург. гепатол.* 2012. Т. 17. № 2. С. 86–94.
5. Черданцев Д. В., Арутюнян А. В., Арутюнян А. В. Состояние проблемы острого панкреатита в г. Красноярске и Красноярском крае // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* 2011. № 4. С. 310–313.
6. Черномидзе А. В. Коррекция гемодинамических нарушений как ключевой этап лечения острого панкреатита // *Хирург.* 2014. № 3. С. 68–74.
7. Balthazar E. J., Robinson D. L., Megibow A. J., Ranson J. H. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis // *Radiology.* 1990. Vol. 174. № 2. P. 331–336.
8. Bandrivsky A., Bernjak A., McClintock P., Stefanovska A. Wavelet phase coherence analysis: application to skin temperature and blood flow // *Cardiovasc. Eng.* 2004. Vol. 4. № 1. P. 89–93.
9. Banks P. A., Bollen T. L., Dervenis C. et al. Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus // *Gut.* 2013. № 62. P. 102–111. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302779.
10. Charkoudian N. Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans // *J. Appl. Physiol.* 1985. 2010. Vol. 109. № 4. P. 1221–1228.
11. Coulon P., Constans J., Gosse P. Impairment of skin blood flow during post-occlusive reactive hyperhemia assessed by laser Doppler flowmetry correlates with renal resistive index // *J. Hum. Hypertens.* 2012. Vol. 26. № 1. P. 56–63.
12. Duffy M. J., Mullan B. A., Craig T. R. et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation is a novel predictor of mortality in intensive care // *Crit. Care Med.* 2011. Vol. 39. № 4. P. 629–635.
13. DuPont J. J., Ramick M. G., Farquhar W. B. et al. NAD(P)H Oxidase-Derived Superoxide contributes to impaired cutaneous microvascular function in chronic kidney disease // *Hypertension.* 2013. Vol. 62. P. A209.
14. Flammer A. J., Anderson T., Celermajer D. S. et al. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice // *Circulation.* 2012. Vol. 126. № 6. P. 753–767.
15. Flouris A. D., Cheung S. S. Influence of thermal balance on cold-induced vasodilation // *J. Appl. Physiol.* 2009. Vol. 106. № 4. P. 1264–1271.
16. García M., Calvo J. J. Cardiocirculatory pathophysiological mechanisms in severe acute pancreatitis // *World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther.* 2010. Vol. 6. № 1 (1). P. 9–14.
17. Gül M., Eşrefoğlu M., Öztürk F. et al. The beneficial effects of pentoxifylline on caerulein-induced acute pancreatitis in rats // *Dig. Dis. Sci.* 2009. Vol. 54. № 3. P. 555–563.
18. Hodges G. J., Zhao K., Kosiba W. A., Johnson J. M. The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans // *J. Physiol.* 2006. Vol. 574. № 3. P. 849–857.
19. Holowatz L. A., Thompson-Torgerson C. S., Kenney W. L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function // *J. Appl. Physiol.* 2008. Vol. 105. № 1. P. 370–372.
20. Hornyak M. E., Naver H. K., Rydenhag B., Wallin B. G. Sympathetic activity influences the vascular axon reflex in the skin // *Acta. Physiol. Scand.* 1990. Vol. 139. № 1. P. 77–84.
21. Isii Y., Matsukawa K., Tsuchimochi H., Nakamoto T. Ice-water hand immersion causes a reflex decrease in skin temperature in the contralateral hand // *J. Physiol. Sci.* 2007. Vol. 57. № 4. P. 241–248.
22. Johnson J. M., Yen T. C., Zhao K., Kosiba W. A. Sympathetic, sensory, and nonneuronal contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. Vol. 288. № 4. P. 1573–1579.
23. Kaska M., Pospíšilová B., Slízová D. Pathomorphological changes in microcirculation of pancreas during experimental acute pancreatitis // *Hepatogastroenterology.* 2000. Vol. 47. P. 1570–1574.
24. Kvandal P., Stefanovska A., Veber M. et al. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines // *Microvasc. Res.* 2003. Vol. 65. № 3. P. 160–171.
25. Kvernmo H. D., Stefanovska A., Bracic M. et al. Spectral analysis of the laser Doppler perfusion signal in human skin before and after exercise // *Microvasc. Res.* 1998. Vol. 56. P. 173–182.
26. Lafleche B., Pannier B. M., Laloux B., Safar M. E. Arterial response during cold pressor test in borderline hypertension // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 1998. Vol. 275. № 2. P. 409–415.
27. Lenasi H. Assessment of human skin microcirculation and its endothelial function using Laser Doppler Flowmetry // *Medical Imaging / eds by Dr. Okechukwu Felix Erundu. InTech.* 2011. 412 p.
28. Minson C. T. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2010. Vol. 109. № 4. P. 1239–1246.
29. Nandy D., Mukhopadhyay D. Growth factor mediated signaling in pancreatic pathogenesis // *Cancers (Basel).* 2011. Vol. 24. P. 841–871.
30. Pérgola P. E., Kellogg D. L. Jr., Johnson J. M. et al. Role of sympathetic nerves in the vascular effects of local temperature in human forearm skin // *Am. J. Physiol.* 1993. Vol. 265. № 3 (Pt 2). P. H785–H792.
31. Podtaev S., Morozov M., Frick P. Wavelet-based correlations of skin temperature and blood flow oscillations // *Cardiovasc. Eng.* 2008. Vol. 8. № 3. P. 185–189.
32. Roustit M., Cracowski J. L. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods // *Microcirculation.* 2012. Vol. 19. № 1. P. 47–64.
33. Sandakov P. Y., Parshakov A. A., Popov A. V. et al. Features of neurogenic disorders and endothelial mechanisms of vasoregulation in patients with neuropathic and neuroischemic forms of diabetic foot // *World Applied Sciences Journal.* 2013. Vol. 23. № 7. P. 887–891.
34. Smirnova E., Podtaev S., Mizeva I., Loran E. Assessment of endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance during a cold pressor test // *Diab. Vasc. Dis. Res.* 2013. Vol. 10. № 6. P. 489–497.
35. Thompson C. S., Holowatz L. A., Kenney W. L. Attenuated noradrenergic sensitivity during local cooling in aged human skin // *J. Physiol.* 2005. № 564. P. 313–319.

36. Venturini G., Colasanti M., Fioravanti E. et al. Direct effect of temperature on the catalytic activity of nitric oxide synthases types I, II, and III // *Nitric Oxide*. 1999. Vol. 3. № 5. P. 375–382.

37. Wallin B. G. Neural control of human skin blood flow // *J. Auton. Nerv. Syst.* 1990. Suppl. 30. S. 185–190.

38. Wu B. U., Johannes R. S., Sun X. et al. The early prediction of mortality in acute pancreatitis: a large

population-based study // *Gut*. 2008. Vol. 57. P. 1698–1703.

39. Yamazaki F., Sone R., Zhao K. et al. Rate dependency and role of nitric oxide in the vascular response to direct cooling in human skin // *J. Appl. Physiol.* 2006. Vol. 100. P. 42–50.

40. Zheng Y. J., Zhou B., Ding G. et al. Effect of serum from patients with severe acute pancreatitis on vascular endothelial permeability // *Pancreas*. 2013. Vol. 42. № 4. P. 633–639.

UDK [616.37-002-036.11]:611.018.74-072.7

Popov A.V.¹, Ershova A. I.^{1, 2}, Podtaev S. Yu.^{2, 3}

Investigation of the endothelium-dependent mechanism of microvascular tone regulation in patients with severe acute pancreatitis

¹Perm State Medical Academy, 614000, Petropavlovskaya str. 26, Perm, Russia

²Institute of continuous media mechanics UrB RAS, 614013, ak. Koroleva str. 1, Perm, Russia

³Research Center FM Diagnostics, 614000, Lenina str. 10, Perm, Russia

e-mail: ershovaa@inbox.ru

Abstract

Objective. To study the endothelium-dependent mechanism(s) of microvascular tone regulation using wavelet analysis of skin temperature fluctuations in patients with severe acute pancreatitis (AP).

Materials and methods. 22 patients with severe AP were examined. The control group included 12 healthy individuals. Microcirculation was assessed using «Microtest» device (Perm, Russia) during contralateral cold test. The amplitudes of RMS oscillations were calculated in the endothelial frequency range in four time periods: before the cold test, during it, and within 3 and 6 minutes after it.

Results. In healthy subjects the amplitudes of skin temperature oscillations significantly decreased during the test, and increased after exposure to cold. In severe AP the initial amplitudes of the skin temperature oscillations were lower than in healthy volunteers. There were no statistically significant changes to cold test and after it. The cluster analysis revealed 3 types of reactions of microcirculation. The first type is characterized by a decrease in the amplitudes of skin temperature oscillations during the cold test and recovery to baseline values within 3 minutes after it. The second type is characterized by a lack of reaction to cold exposure as well as after its completion. In the third type, the increase of oscillation amplitudes was observed in response to cold exposure and 3 minutes after it.

Conclusion. Patients with severe AP have abnormally low activity of endothelium-dependent vascular tone regulation accompanied by severe disorders of vasoconstriction and vasodilation. Our study confirms the possibility of using wavelet analysis of low-frequency temperature fluctuations to study the mechanisms of microvascular tone regulation in patients with severe AP.

Keywords: acute pancreatitis, endothelial dysfunction, skin temperature fluctuations.

References

1. Bahtijarov R.Z. Sovremennye metody issledovaniya funktsii jendotelija [Modern methods of research of endothelial function] // *Ros. kardiolog. zhurn.* [Russian cardiological journal]. 2004. N 2. P. 76–79. [In Russian].

2. Ershova A.I., Popov A.V., Podtaev S. Ju., et al. Ocenka reguljacii sosudistogo tonusa u bol'nyh biliarnozavisimym pankreatitom. [An assessment of regulation of a vascular tone in patients with biliar-mediated pancreatitis] // *Permskij medicinskij zhurnal*. [Perm medical magazine]. 2013. N5. P. 67–71. [In Russian].

3. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Lazernaja dopplerovskaja floumetrija mikrocirkuljacii krovi. [Doppler floumetry of blood microcirculation] // *Rukovodstvo dlja vrachej pod red. A.I. Krupatkina, V.V. Sidorova*. [The guideline for doctors under the editorship of A.I. Krupatkin, V. V. Sidorov]. Moscow: JSC Publishing House Medicine. 2005. 256 p. [In Russian].

4. Kubyshkin V.A., Moroz O.V., Stepanova Ju.A. et al. Voprosy klassifikacii ostrogo pankreatita [Questions of classification of acute pancreatitis] // *Annaly hirurgicheskogo gepatologii*. [Annals of surgical hepatology]. 2012. V. 17. N2. P. 86–94. [In Russian].

5. Cherdancev D.V., Arutjunjan A.V., Arutjunjan A.V. Sostojanie problemy ostrogo pankreatita v g. Krasnojarske i Krasnojarskom krae [State of the problem of acute pancreatitis in Krasnojarsk and Krasnojarsk Territory] // *Bjulleten' VSNC SO RAMN* [The bulletin of Russian Academy of Medical Science]. 2011. N 4. P. 310–313. [In Russian].

6. Chornomidz A.V. Korrekcija gemodinamicheskikh narushenij kak kljuchevoj jetap lechenija ostrogo pankreatita. [Correction of haemodynamic lesions as a key stage of acute pancreatitis treatment] // *Hirurg*. [Surgeon]. 2014. N 3. P. 68–74. [In Russian].

7. Balthazar E.J., Robinson D.L., Megibow A.J., Ranson J.H. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis // *Radiology*. 1990. V. 174. N2. P. 331–336.

8. Bandrivsky A., Bernjak A., McClintock P., Stefanovska A. Wavelet phase coherence analysis: application to skin temperature and blood flow // *Cardiovasc. Eng.* 2004. V. 4. N 1. P. 89–93.

9. Banks P.A., Bollen T.L., Dervenis C., et al. Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus //

- Gut*. 2013. N 62. P. 102-111. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302779.
10. Charkoudian N. Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2010. V. 109. N4. P. 1221-1228.
 11. Coulon P., Constans J., Gosse P. Impairment of skin blood flow during post-occlusive reactive hyperhemia assessed by laser Doppler flowmetry correlates with renal resistive index // *J. Hum. Hypertens.* 2012. V.26. N1. P.56-63.
 12. Duffy M.J., Mullan B.A., Craig T.R., et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation is a novel predictor of mortality in intensive care // *Crit. Care Med.* 2011. V. 39. N 4. P.629-635.
 13. DuPont J.J., Ramick M.G., Farquhar W.B., et al. NAD(P)H Oxidase-Derived Superoxide contributes to impaired cutaneous microvascular function in chronic kidney disease // *Hypertension*. 2013. V. 62. A209.
 14. Flammer A.J., Anderson T., Celermajer D.S. et al. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice // *Circulation*. 2012. V.126. N 6. P.753-767.
 15. Flouris A.D., Cheung S.S. Influence of thermal balance on cold-induced vasodilation // *J. Appl. Physiol.* 2009. V. 106. N4. P. 1264-1271.
 16. García M., Calvo J.J. Cardiocirculatory pathophysiological mechanisms in severe acute pancreatitis // *World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther.* 2010. V.6. N1(1). P. 9-14.
 17. Gül M., Eşrefoğlu M., Öztürk F., et al. The beneficial effects of pentoxifylline on caerulein-induced acute pancreatitis in rats // *Dig. Dis. Sci.* 2009. V. 54. N 3. P. 555-563.
 18. Hodges G.J., Zhao K., Kosiba W.A., Johnson J.M. The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans // *J. Physiol.* 2006. V.574. N Pt3. P. 849-857.
 19. Holowatz L.A., Thompson-Torgerson C.S., Kenney W.L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function // *J. Appl. Physiol.* 2008. V. 105. N 1. P. 370-372.
 20. Hornyak M.E., Naver H.K., Rydenhag B., Wallin B.G. Sympathetic activity influences the vascular axon reflex in the skin // *Acta. Physiol. Scand.* 1990. V.139. N 1. P.77-84.
 21. Isii Y., Matsukawa K., Tsuchimochi H., Nakamoto T. Ice-water hand immersion causes a reflex decrease in skin temperature in the contralateral hand // *J. Physiol. Sci.* 2007. V. 57. N 4. P. 241-248.
 22. Johnson J.M., Yen T.C., Zhao K., Kosiba W.A. Sympathetic, sensory, and nonneuronal contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. V. 288. N 4. P. 1573-1579.
 23. Kaska M., Pospisilová B., Slízová D. Pathomorphological changes in microcirculation of pancreas during experimental acute pancreatitis // *Hepatogastroenterology*. 2000. V. 47. P. 1570-1574.
 24. Kvandal P., Stefanovska A., Veber M., Kvernmo H.D., Kirkeboen K.A. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines // *Microvasc. Res.* 2003. V.65. N3. P. 160-171.
 25. Kvernmo H.D., Stefanovska A., Bracic M., Kirkeboen K.A., Kvernmo K. Spectral analysis of the laser Doppler perfusion signal in human skin before and after exercise // *Microvasc. Res.* 1998; V. 56 I. 3. P. 173-182.
 26. Laffleche B., Pannier B.M., Laloux B., Safar M.E. Arterial response during cold pressor test in borderline hypertension // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 1998. V. 275. N 2. P. 409-415.
 27. Lenasi H. Assessment of human skin microcirculation and its endothelial function using Laser Doppler Flowmetry // «Medical Imaging» edited by Dr. Okechukwu Felix Erundu. ISBN 978-953-307-774-1. Publisher: InTech. 2011. 412 p.
 28. Minson C.T. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2010. V. 109. N 4. P. 1239-1246.
 29. Nandy D., Mukhopadhyay D. Growth factor mediated signaling in pancreatic pathogenesis // *Cancers (Basel)*. 2011. V. 24. P. 841-871.
 30. Pérgola P.E., Kellogg D.L.Jr., Johnson J.M., et al. Role of sympathetic nerves in the vascular effects of local temperature in human forearm skin // *Am. J. Physiol.* 1993. V. 265. N3 Pt 2. P. H785-792.
 31. Podtaev S., Morozov M., Frick P. Wavelet-based correlations of skin temperature and blood flow oscillations // *Cardiovasc. Eng.* 2008. V. 8. N 3. P. 185-189.
 32. Roustit M, Cracowski J.L. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods // *Microcirculation*. 2012. V. 19. N 1. P. 47-64.
 33. Sandakov P.Y., Parshakov A.A., Popov A.V., et al. Features of neurogenic disorders and endothelial mechanisms of vasoregulation in patients with neuropathic and neuroischemic forms of diabetic foot // *World Applied Sciences Journal*. 2013. V. 23. N 7. P. 887-891.
 34. Smirnova E., Podtaev S., Mizeva I., Loran E. Assessment of endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance during a cold pressor test // *Diab. Vasc. Dis. Res.* 2013. V. 10. N 6. P. 489-497.
 35. Thompson C.S., Holowatz L.A., Kenney W.L. Attenuated noradrenergic sensitivity during local cooling in aged human skin // *J. Physiol.* 2005. N 564. P. 313-319.
 36. Venturini G., Colasanti M., Fioravanti E., et al. Direct effect of temperature on the catalytic activity of nitric oxide synthases types I, II, and III // *Nitric Oxide*. 1999. V. 3. N5. P. 375-382.
 37. Wallin B.G. Neural control of human skin blood flow // *J. Auton. Nerv. Syst.* 1990. Suppl.30. S. 185-190.
 38. Wu B.U., Johannes R.S., Sun X., et al. The early prediction of mortality in acute pancreatitis: a large population-based study // *Gut*. 2008. V. 57. P. 1698-1703.
 39. Yamazaki F., Sone R., Zhao K., et al. Rate dependency and role of nitric oxide in the vascular response to direct cooling in human skin // *J. Appl. Physiol.* 2006. V. 100. P. 42-50.
 40. Zheng Y.J., Zhou B., Ding G., et al. Effect of serum from patients with severe acute pancreatitis on vascular endothelial permeability // *Pancreas*. 2013. V. 42. N 4. P. 633-639.