

Динамика вейвлет-спектра при ауторегуляции мозгового кровотока

*Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва
e-mail: aleksandrin-54@mail.ru*

Реферат

В задачу исследования входило изучение динамики вейвлет-спектра мозгового кровотока в процессе его ауторегуляции при дозированной кровопотере. Мозговой кровоток регистрировали с помощью лазер-доплеровского флоуметра. При ауторегуляции наблюдалось увеличение нормированной амплитуды колебаний кровотока в нейрогенном и эндотелиальном диапазонах, в то время как в миогенном диапазоне она не изменялась.

Ключевые слова: мозговой кровоток, ауторегуляция, вейвлет-анализ.

Aleksandrin V. V.

The change of wavelet spectrum during autoregulation of cerebral blood flow

*Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow
e-mail: aleksandrin-54@mail.ru*

Abstract

We studied the changes of wavelet spectrum in cerebral blood flow during regulated hypovolemia produced by step hemorrhage. Cerebral blood flow was investigated by laser Doppler flowmetry. It was found the increase in amplitude of neurogenic and endothelial waves, but amplitude in myogenic wave was not changes.

Keywords: cerebral blood flow, autoregulation, wavelet transform.

Введение

Сосудистая система мозга обладает способностью к ауторегуляции — поддержанию постоянства объемной скорости кровотока в ответ на изменения перфузионного давления. Ауторегуляция, наряду с функциональной гиперемией, входит в число главных механизмов, управляющих мозговым кровотоком [6]. В настоящее время принято считать, что ведущую роль в ауторегуляции играет миогенный механизм, за счет которого осуществляется подстройка диаметра пинальных артериол к изменениям перфузионного давления [9]. Недавно это положение было доказано экспериментально [1]. Однако остается открытым вопрос о взаимодействии миогенного звена с другими факторами, влияющими на тонус сосудов. Одним из методических подходов для решения этого вопроса является вейвлет-анализ колебаний мозгового кровотока, позволяющий вычленивать миогенные, нейрогенные, эндотелиальные и дыхательные составляющие сосудистого тонуса [5].

Целью исследования было изучение динамики вейвлет-спектра мозгового кровотока в ответ на кровопотерю.

Материал и методы исследования

Эксперименты проводили на белых половозрелых беспородных крысах-самцах массой 260–300 г под наркозом (хлоралгидрат внутривентрально в дозе 300 мг/кг) в соответствии с требованием приказа № 267 МЗ РФ от 19 июня 2003 г. Глубину наркоза оценивали по отсутствию болевой реакции.

Для измерения системного артериального давления (АД) и кровопотери у животного выделяли и катетеризировали обе бедренные артерии (гепарин внутриаартериально в дозе 500 Ед./кг). Голову жестко фиксировали в стереотаксическом станке (на 2 см выше туловища). Затем проводилась трепанация теменной кости («окно» 5×3 мм с сохранением твердой мозговой оболочки) для регистрации мозгового кровотока

цилиндрическим датчиком, который жестко фиксировали с помощью микроманипулятора. Лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ-граммы) в красном канале лазерного излучения (длина волны — 0,63 мкм) со спектральным вейвлет-анализом колебаний кровотока осуществляли с помощью аппарата ЛАКК-02 (Россия, НПП «Лазма», программная версия 2.2.0.507). Тестировали теменную область неокортекса крысы (координаты: AP — 5 мм, L — 3 мм). В зоне регистрации находились сосуды бассейна средней мозговой артерии, снабжающие кровью cortex temporalis (area 1) [3, 14].

Регистрацию показателей начинали проводить через 30 минут после окончания всех хирургических манипуляций в условиях температуры окружающей среды 20–21 °С. В контрольной группе (n=19) первую регистрацию показателей проводили через полчаса после окончания хирургических манипуляций. Однако эти данные не включались в расчет, поскольку еще через полчаса проводилась повторная регистрация, и если ее данные по величине мозгового кровотока

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

совпадали с предыдущими, то это являлось показателем окончания постоперационной гиперемии и считалось фоном. Далее в контроле проводились еще две регистрации показателей через каждые полчаса. В опытной группе ($n=22$) порядок первых регистраций показателей был аналогичным. После записи фоновых показателей начинали медленную кровопотерю с целью недопущения снижения мозгового кровотока вследствие резкого падения системного АД и исключения метаболического фактора в ауторегуляторном ответе. Первую кровопотерю осуществляли в пределах снижения системного АД до нижней границы ауторегуляции, которая у крыс при хлоралгидратном наркозе составляет порядка 50 мм рт. ст. [1]. После окончания кровопотери в течение 5–7 минут проходила стабилизация достигнутого давления, после чего начиналась регистрация мозгового кровотока. Затем осуществлялась вторая кровопотеря за пределами нижней границы ауторегуляции, после чего также проводили регистрацию мозгового кровотока в условиях стабилизированного давления. В среднем процедуры кровопотери, стабилизации системного АД и регистрации кровотока занимали порядка полчаса.

Для вейвлет-анализа использовали 480-секундные записи. Оценка колебательной составляющей общей перфузии проводилась по среднему квадратичному отклонению колебаний кровотока, а с помощью вейвлет-анализа (программа 2.2.0.507, НПП «Лазма», Россия) определяли нормированные амплитуды колебаний кровотока в четырех диапазонах частот, соответствующих эндотелиальному, нейрогенному, миогенному и дыхательным составляющим сосудистого тонуса [5] по формуле:

$$A_{\max} 100 \% / M,$$

где $A_{\max}$ – средняя максимальная амплитуда колебаний кровотока в соответствующем диапазоне (перфузионные единицы, п. е.); M – показатель микроциркуляции, отражающий усредненную перфузию микрососудистого русла (п. е.) Для крыс это следующие частотные диапазоны: от 0,01 до 0,04 Гц – эндотелиальный оксид азота; от 0,04 до 0,15 Гц – нейрональные симпатические адренергические влияния; от 0,15 до 0,4 Гц – миогенный тонус; от 0,4 до 2 Гц – дыхательные влияния [3, 11].

К сожалению, представленная программная версия не охватывала диапазон колебаний свыше 2 Гц, вследствие чего кардиоритм не оценивался. Для оценки достоверности различий средних значений параметров проводили анализ с применением t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования

В контроле на протяжении периода регистрации мозговой кровотока не изменялся, составляя в среднем 38–41 п. е. Нормированная амплитуда колебаний кровотока во всех исследуемых диапазонах была стабильной (таблица). Частоты для эндотелиальных, нейрогенных, миогенных и дыхательных колебаний в среднем составляли $0,021 \pm 0,002$; $0,068 \pm 0,002$; $0,23 \pm 0,01$ и $0,76 \pm 0,05$ Гц соответственно.

В опытной группе фоновые показатели не отличались от контроля (таблица; рис. 1). Медленное снижение системного АД до нижней границы ауторегуляции не приводило к падению кровотока (рис. 2), но повышало нормированной амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном и нейрогенном диапазонах (таблица; рис. 2). В то же время в миогенном и дыхательном диапазонах нормированная амплитуда колебаний не изменялась.

После снижения системного АД в среднем до 34 мм рт. ст. наступал срыв ауторегуляции: мозговой кровоток уменьшался вдвое. При этом наблюдалось не только сохранение повышенной нормированной амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном и нейрогенном диапазонах, но и повышение нормированной амплитуды колебаний в миогенном и дыхательном диапазонах (таблица; рис. 3).

Кроме того, наблюдался сдвиг частот колебаний: миогенного – в сторону уменьшения ($0,17 \pm 0,01$ Гц, $p < 0,05$ по сравнению с контролем), а дыхательного – в сторону увеличения ($1,11 \pm 0,09$ Гц, $p < 0,05$ по сравнению с контролем).

Обсуждение результатов

Стабильность показателей в контроле поднимает вопрос о степени возможного снижения модулирующих влияний в условиях наркоза. Сравнительные исследования, проведенные в лаборатории Стефановской [10], показали, что разные типы наркоза по сравнению с бодрствующим состоянием действительно снижали амплитуды колебаний кожного кровотока у пациентов в эндотелиальном, нейрогенном и миогенном диапазонах, однако не влияли на эндотелийзависимую (ионофоретическое подведение ацетилхолина) и эндотелий-независимую (ионофоретическое подведение нитропруссид натрия) дилатацию.

В исследованиях Z. Li et al. [11] амплитуда эндотелиального ритма кожного кровотока у крыс выше, чем мозгового кровотока в наших исследованиях. Такая повышенная амплитуда в эндотелиальном диапазоне характерна и для кожного кровотока человека [4], но для мозгового кровотока это не является характерным.

Ранее нами было показано, что фармакологическая блокада в условиях хлоралгидратного наркоза эндотелиальных, нейрогенных или миогенных механизмов вызывает значительное увеличение амплитуд колебаний мозгового кровотока у крыс в соответствующих диапазонах частот на 80, 45 и 67 % [3]. Сопоставление этих фактов позволяет сделать заключение о сохранении нормальной реактивности сосудов в контрольных условиях.

На фоне снижения системного АД в пределах ауторегуляции мы регистрировали активацию модулирующих влияний в эндотелиальном и нейрогенном диапазонах. Каков возможный механизм этих изменений? Увеличение амплитуды колебаний в эндотелиальном диапазоне рассматривается как увеличение сопряженных с оксидом азота влияний на сосудистый тонус [5].

Средние значения показателей артериального давления и микроциркуляции ($M \pm m$)
в контрольной группе ($n=19$) и опытной группе ($n=22$)

Таблица

Группа животных	Регистрируемые показатели		
Системное АД, мм рт. ст.			
Контрольная	84,4±0,6	83,8±0,5	83,1±0,6
Опытная	84,3±0,4	50,2±0,5*	34,3±0,5*
Мозговой кровоток, п. е.			
Контрольная	38,6±3,9	41,2±4,8	40,5±4,3
Опытная	33,6±2,7	30,5±3,1	16,2±1,7*
Эндотелиальный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная	0,87±0,11	0,83±0,11	0,79±0,08
Опытная	1,14±0,13	1,67±0,16*	2,64±0,31*
Нейрогенный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная	1,21±0,10	1,14±0,11	1,05±0,09
Опытная	1,31±0,11	2,50±0,44*	2,41±0,43*
Миогенный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная	1,02±0,03	0,96±0,04	0,95±0,03
Опытная	1,04±0,03	1,11±0,05	1,75±0,23*
Дыхательный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная	1,12±0,28	1,32±0,13	1,07±0,09
Опытная	1,35±0,13	1,43±0,16	1,86±0,19*

* — достоверность $p < 0,05$ по сравнению с контролем (t-критерий Стьюдента).

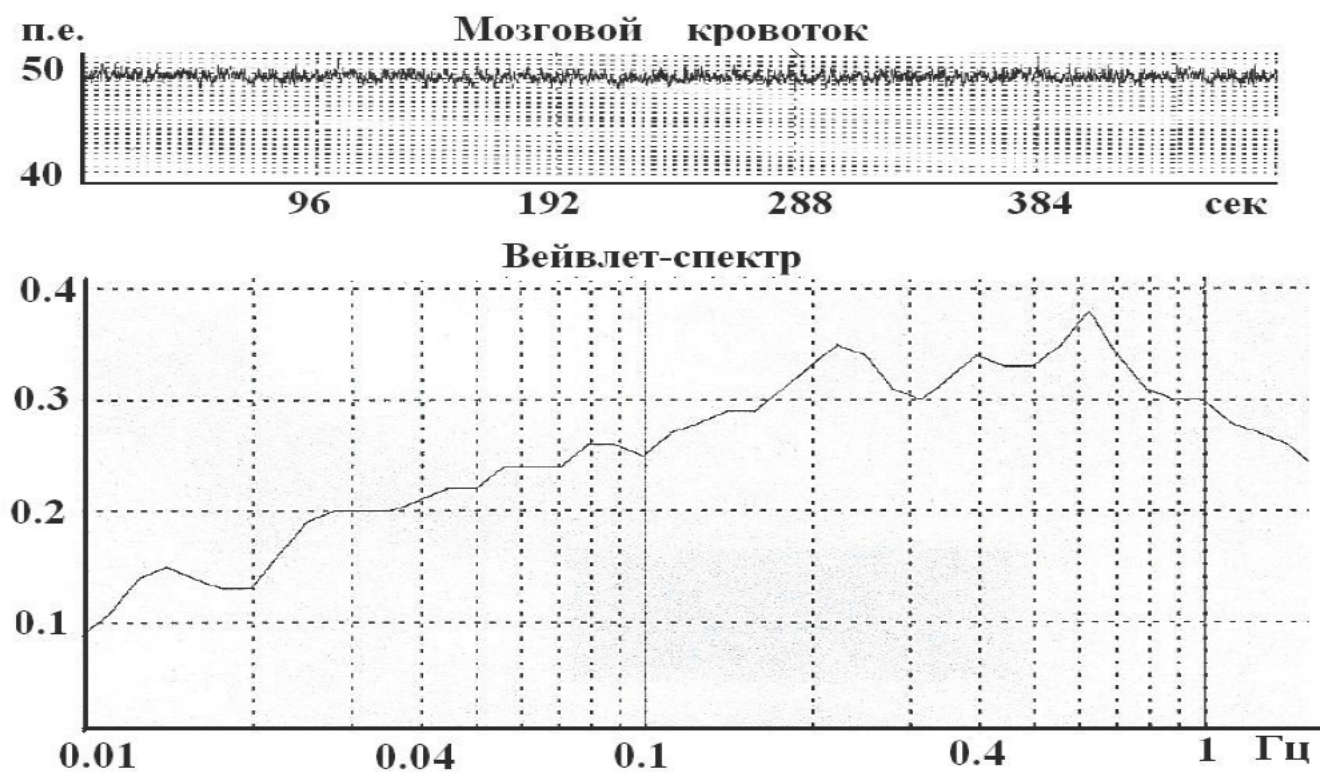


Рис. 1. Пример фоновой записи ЛДФ-граммы мозгового кровотока (верхняя кривая) и ее спектральный амплитудно-частотный вейвлет-анализ (нижняя кривая). По оси абсцисс: время, с (мозговой кровоток); частота осцилляций, Гц (вейвлет-спектр). По оси ординат: величина кровотока, п. е. (мозговой кровоток), амплитуда осцилляций, п. е. (вейвлет-спектр)

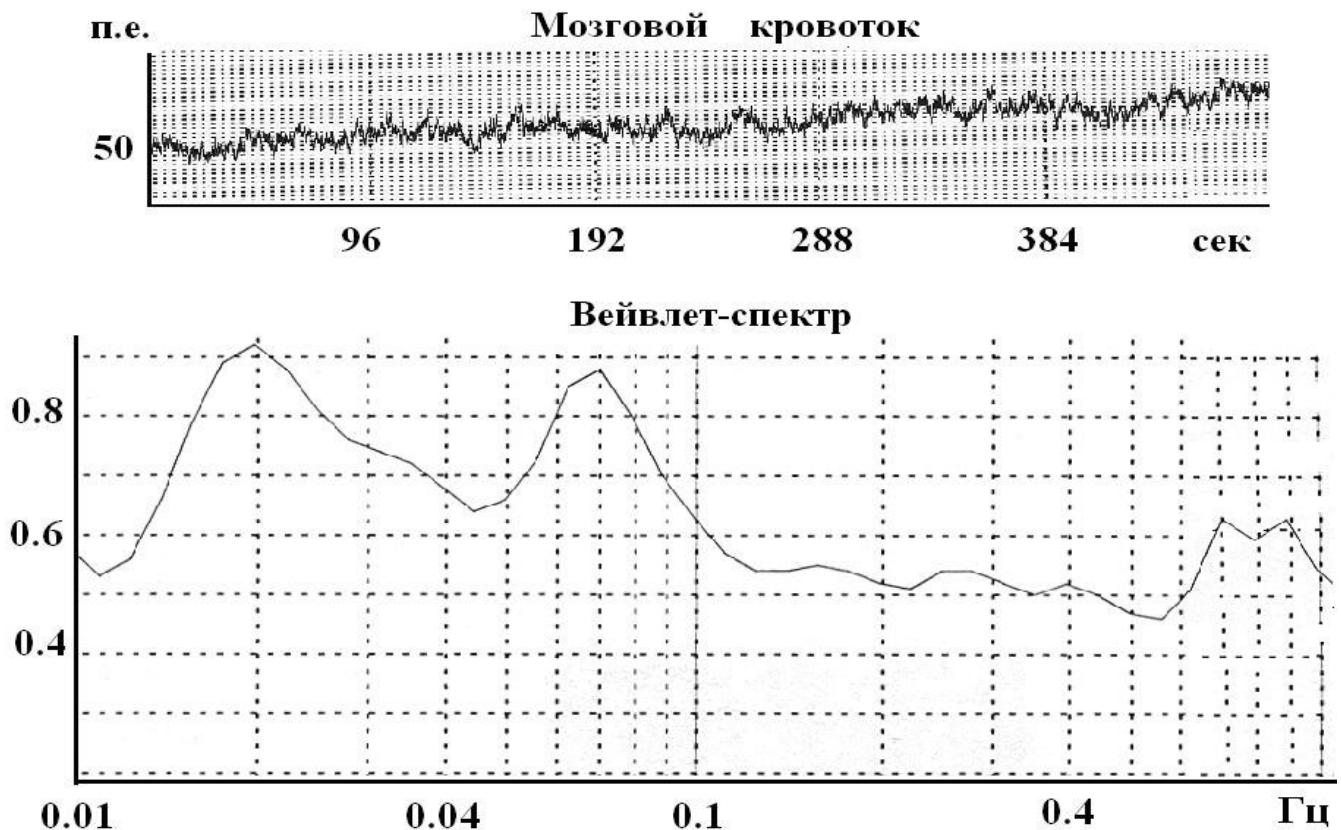


Рис. 2. Пример записи ЛДФ-граммы мозгового кровотока (верхняя кривая) и ее спектральный амплитудно-частотный вейвлет-анализ (нижняя кривая) после снижения системного АД в пределах ауторегуляции мозгового кровотока. Наблюдается появление высокоамплитудных осцилляций в эндотелиальном (0,02 Гц) и нейрогенном (0,07 Гц) диапазонах и отсутствие изменений в миогенном диапазоне. По оси абсцисс: время, с (мозговой кровоток); частота осцилляций, Гц (вейвлет-спектр). По оси ординат: величина кровотока, п. е. (мозговой кровоток), амплитуда осцилляций, п. е. (вейвлет-спектр)

Ранее было доказано, что блокада синтазы оксида азота снижает как величину мозгового кровотока, так и сдвигает нижнюю границу ауторегуляции в сторону более высокого давления [8], что позволяло предполагать активное участие оксида азота в этих процессах. И в самом деле, позднее было показано увеличение концентрации оксида азота в неокортексе крыс в условиях кровопотери, в то время как блокада синтазы оксида азота устраняла эту реакцию [7].

Увеличение амплитуды колебаний в нейрогенном диапазоне, напротив, трактуется как ослабление констрикторных адренергических влияний [5], в данной ситуации на пиальные артериолы, что действительно имеет место в условиях централизации кровообращения в ответ на кровопотерю [2]. Таким образом, потенциальные модулирующие влияния – нейрогенные и эндотелиальные – проявляют свое действие на фоне кровопотери.

В то же время требует объяснения отсутствие реакции со стороны миогенной составляющей спектра в свете того, что ранее нами была доказана ведущая роль миогенной реакции в процессе ауторегуляции мозгового кровотока в ответ на кровопотерю [1]. Исследованиями, проведенными *in vitro*, доказано, что ритмические сокращения миоцитов частотой 0,15–0,4 Гц обусловлены освобождением и обратным захватом ионов кальция из саркоплазматического ретикулума с участием рианодиновых рецепторов [13].

Освобождение ионов кальция из ретикулума может также проходить через инозитолтрифосфатные рецепторы, которые связаны с процессами, запускаемыми через адренергические терминалы на мембране миоцитов. На изолированных сосудах было также показано, что миогенный ответ артериол в ответ на снижение внутрисосудистого давления не приводит к увеличению амплитуды колебаний концентрации ионов кальция, освобождаемых из саркоплазматического ретикулума, а лишь снижает их частоту [12]. Этот факт позволяет объяснить отсутствие изменений амплитуды колебаний, но сдвиг частоты миогенного диапазона в период ауторегуляции в наших опытах. Сопоставление литературных и наших собственных данных позволяет предположить, что миогенная реакция, направленная на поддержание постоянства натяжения сосудистых стенок [1], осуществляется через рианодиновые рецепторы эндоплазматического ретикулума миоцитов, в то время как через другие рецепторы, инозитолтрифосфатные, осуществляется подстройка миогенной реакции к адренергическим влияниям.

В наших опытах обращает на себя внимание сохранение эндотелиальных влияний на сосудистый тонус даже при срыве ауторегуляции мозгового кровотока (таблица; рис. 3), что подтверждает представление о защитном участии этого звена в условиях патологии [4].

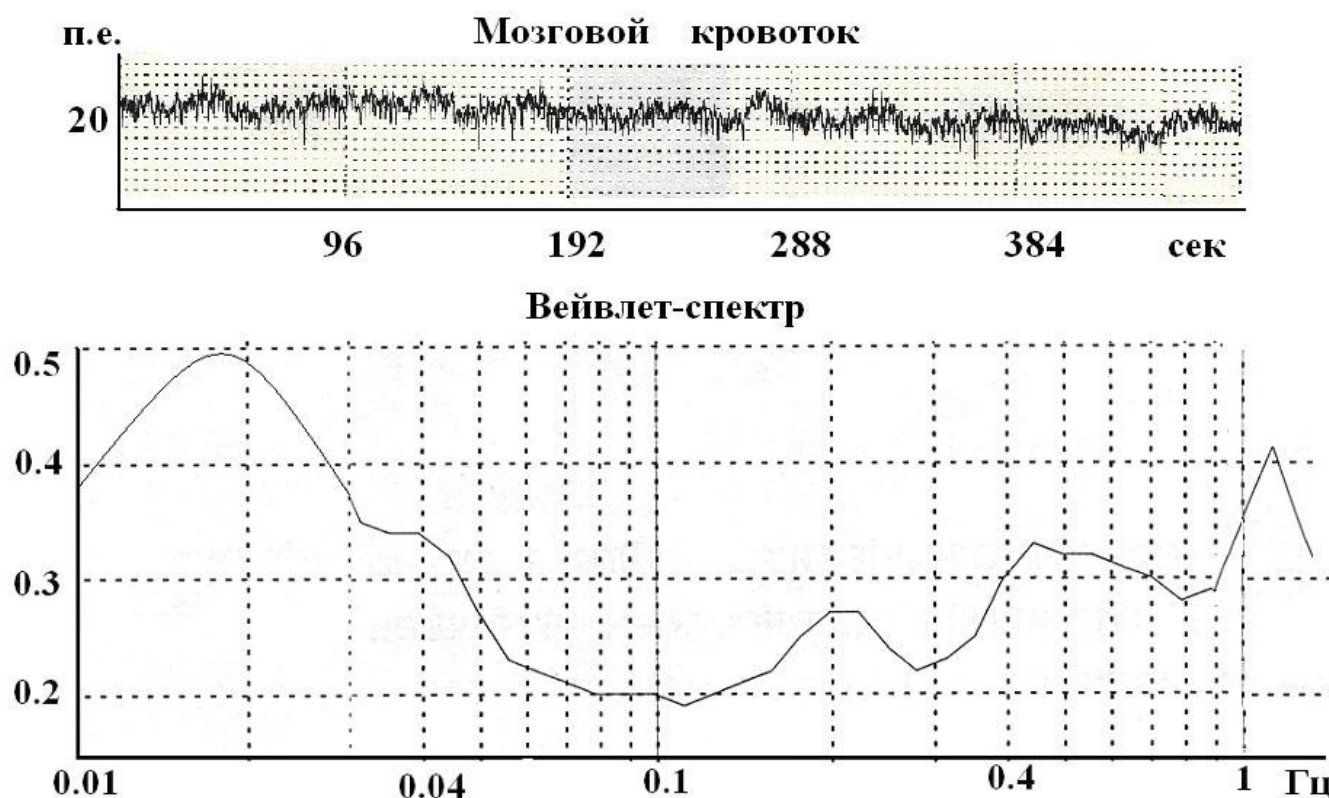


Рис. 3. Пример записи ЛДФ-граммы мозгового кровотока (верхняя кривая) и ее спектральный амплитудно-частотный вейвлет-анализ (нижняя кривая) при срыве ауторегуляции мозгового кровотока. Наблюдается сохранение высокоамплитудных осцилляций в эндотелиальном (0,018 Гц) и нейрогенном (0,043 Гц) диапазонах, а также их появление в миогенном (0,2 Гц) и дыхательном (1,1 Гц) диапазонах. По оси ординат: величина кровотока, п. е. (мозговой кровоток), амплитуда осцилляций, п. е. (вейвлет-спектр)

Увеличение как амплитуды, так и частоты колебаний в дыхательном диапазоне можно объяснить повышением частоты и глубины дыхательных экскурсий в условиях сниженного системного АД. Таким образом, проведенные нами исследования показали хорошее совпадение результатов вейвлет-анализа колебаний мозгового кровотока с результатами, по-

лученными с использованием других методических приемов. Продемонстрировано, что в пределах ауторегуляции мозгового кровотока наблюдается изменение модулирующих влияний со стороны нейрогенного и эндотелиального звеньев при стабильности миогенной части спектра колебаний.

Литература

1. Александрин В. В. Миогенное звено в ауторегуляции церебрального кровотока // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2007. Т. 6. № 1. С. 148–149.
2. Александрин В. В., Александров П. Н., Хугаева В. К. Влияние адреноблокаторов на реактивность микрососудов мозга при ишемии // Фармакология мозгового кровообращения. М.: ВИНТИ, 1991. С. 112–115.
3. Александрин В. В., Лузянин Б. П., Иванов А. В., Кубатиев А. А. Влияние гипергомоцистеинемии на мозговой кровоток по данным вейвлет-анализа // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2011. № 2. С. 13–18.
4. Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н. Н. Петрищева. СПб.: СПбГМУ, 2003. 184 с.
5. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова. М.: Медицина, 2009. 254 с.
6. Attwell D., Buchan A. M., Charpak S. et al. Glial and neuronal control of brain blood flow // Nature. 2010. Vol. 468 (7321). P. 232–243.
7. Bauser-Heaton H. D., Bohlen H. G. Cerebral microvascular dilation during hypotension and decreased oxygen tension: a role for nNOS // Am. J. Physiol. 2007. Vol. 293. P. H2193–H2201.
8. Jones S. C., Easley K. A., Radinsky C. R. et al. Nitric oxide synthase inhibition depresses the height of the cerebral blood flow-pressure autoregulation curve during moderate hypotension // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2003. Vol. 23. P. 1085–1095.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

9. Koller A., Toth P. Contribution of Flow-Dependent Vasomotor Mechanisms to the Autoregulation of Cerebral Blood Flow // *J. Vasc. Res.* 2012. Vol. 49. P. 375–389.
10. Landsverk S. A., Kvandal P., Stefanovska A., Kirkeboen K. A. The effects of general anesthesia on human skin microcirculation evaluated by wavelet transform // *Anesthesia and analgesia.* 2007. Vol. 105. P. 1012–1019.
11. Li Z., Tam E. W., Kwan M. P. et al. Effects of prolonged surface pressure on the skin blood flow motions in anaesthetized rats-an assessment by spectral analysis of laser Doppler flowmetry signals // *Phys. Med. Biol.* 2006. Vol. 51. P. 2681–2694.
12. Mufti R. E., Brett S. E., Tran C. T. et al. Intravascular pressure augments cerebral arterial constriction by inducing voltage-insensitive Ca^{2+} waves // *J. Physiol.* 2010. Vol. 588. № 20. P. 3983–3993.
13. Peng H. Hypothesis for the initiation of vasomotion // *Circ. Res.* 2001. Vol. 88. P. 810–815.
14. Zilles K. The cortex of the rat. A stereotaxic atlas. Berlin, 1985.