

Неинвазивная оценка вазомоторной и метаболической функции микрососудистого эндотелия в коже человека

Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Москва
Государственный научный центр «Институт медико-биологических проблем», Москва
e-mail: faa-micro@yandex.ru

Реферат

Взаимосвязь метаболических и микрогемодинамических процессов в коже оценивали в процессе острого фармакологического теста с метаболически активным препаратом «Актовегин» у 28 здоровых добровольцев. Функциональное состояние артериоларно-венулярного отделов микрососудистого русла кожи правого предплечья оценивали при помощи лазерной доплеровской флоуметрии с вейвлет-анализом осцилляций кровотока, параметры капиллярного кровотока с использованием метода компьютерной капилляроскопии в ногтевом ложе 4-го пальца правой кисти. Метаболический эффект (улучшение утилизации тканями кислорода и глюкозы) сопровождался достоверным увеличением амплитуды вазомоций в диапазонах эндотелиального ритма на 98 % ($p < 0,00006$), нейрогенного ритма на 50 % ($p < 0,003$) и миогенного ритма на 54 % ($p < 0,03$), увеличением скорости капиллярного кровотока на 90 мкм/с ($p < 0,02$), уменьшением размера перикапиллярной зоны на 15 мкм ($p < 0,0002$), снижением диастолического давления на 4 мм рт. ст. ($p < 0,03$). Полученные результаты демонстрируют тесную взаимосвязь процессов метаболизма и микрогемодинамики и позволяют предположить, что амплитудная активность в диапазоне эндотелиального ритма (0,0095–0,021 Гц) при лазерной доплеровской флоуметрии отражает не только вазомоторную, но и метаболическую функцию эндотелия микрососудов.

Ключевые слова: кожный кровоток, лазерная доплеровская флоуметрия, амплитудно-частотный вейвлет-анализ, капилляроскопия, капиллярный кровоток, эндотелий, микрогемодинамика и метаболизм, вазомоции.

Fedorovich A. A.

Non-invasive evaluation of vasomotor and metabolic functions of microvascular endothelium in human skin

Institute of Bio-Medical Problems Russian Academy of Science, Moscow, Russia
Russian Cardiology Research and Production Complex, Moscow, Russia
e-mail: faa-micro@yandex.ru

Abstract

Correlation between metabolic and microhemodynamic processes in skin was assessed through acute pharmacological test with metabolically active Actovegin in 28 healthy volunteers. Laser Doppler flowmetry in combination with wavelet analysis of blood flow oscillations was used to identify functional state of arteriolar-venular areas of microvascular bed in the right forearm skin; capillary blood flow parameters were assessed through computer capillaroscopy in the nail bed of the right hand 4th finger. The metabolic effect (improved oxygen uptake and glucose disposal by tissues) was accompanied by significant increase vasomotion in endothelial rhythm amplitude by 98 % ($p < 0.00006$), neurogenic rhythm amplitude by 50 % ($p < 0.003$) and myogenic rhythm amplitude by 54 % ($p < 0.03$), with capillary blood flow rate increasing by 90 $\mu\text{m/s}$ ($p < 0.04$), pericapillary zone reducing by 15 μm ($p < 0.0001$) and diastolic blood pressure dropping by 4 mmHg ($p < 0.02$). These results show close correlation between metabolic and microhemodynamic processes, which suggests that the amplitude activity within the range of endothelial rhythm (0.0095–0.021 Hz) during laser Doppler flowmetry does not reflect solely vasomotor but also metabolic function of microvascular endothelium.

Keywords: skin blood flow, laser doppler flowmetry, amplitude-frequency wavelet analysis, capillaroscopy, capillary blood flow, endothelium, microhemodynamic and metabolism, vasomotion.

Нарушение функции эндотелия является одним из универсальных механизмов патогенеза подавляющего большинства заболеваний органов сердечно-сосудистой системы [1]. Для оценки функции эндотелия разработан целый ряд лабораторных тестов [27–29] и инструментальных методов исследования [3, 9, 10, 12, 17].

В последнее десятилетие, благодаря применению амплитудно-частотного вейвлет-анализа осцилляций кровотока при лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), появилась техническая возможность оценивать функциональное состояние эндотелия на уровне микроциркуляторного русла (МЦР). Среди механизмов модуляции кровотока в микрососудах выделяют эндотелиальный, нейрогенный, миогенный, респираторный и кардиальный, которые в полосе частот от 0,0095 до 3 Гц формируют 5 неперекрывающихся частотных диапазонов [21].

Самый низкочастотный диапазон (0,0095–0,021 Гц) связывают с функциональной активностью микрососудистого эндотелия. Впервые на наличие устойчивых осцилляций кровотока на частоте $\approx 0,01$ Гц обратила внимание A. Stefanovska [20]. В 1998 году D. G. Buerk и C. E. Riva связали данный частотный диапазон с периодически изменяющейся концентрацией оксида азота [7], что в дальнейшем нашло свое подтверждение в целом ряде работ [2, 4, 14, 15, 22].

Однако эндотелий на уровне микрососудистого русла выполняет не только вазомоторную, но и метаболическую функцию, в связи с чем и было выдвинуто предположение, что функциональная активность эндотелия в частотном диапазоне около 0,01 Гц должна также проявляться и при активации обменных процессов. Для проверки данной гипотезы был выбран препарат, обладающий доказанной и выраженной метаболической активностью — «Актовегин» [18, 30].

Учитывая тесную взаимосвязь метаболических и гемодинамических процессов на уровне микроциркуляторного русла, была поставлена цель: оценить динамику параметров капиллярного кровотока и функциональное состояние резистивных микрососудов, регулирующих приток крови к капиллярам и ее отток, а также динамику осцилляций кровотока на частоте $\approx 0,01$ Гц при активации метаболических процессов.

Материал и методы исследования

Исследуемые

В исследовании приняли участие 28 здоровых некурящих мужчин 18–29 лет ($21,6 \pm 2,6$), которые за сутки до исследования не принимали алкоголь, а в день исследования отказывались от приема кофеинсодержащих и других тонизирующих напитков. Все испытуемые были проинформированы о целях и методах исследования и дали свое письменное согласие.

Исследование микроциркуляции

Капилляроскопия. Параметры капиллярного кровотока оценивали в области ногтевого ложа 4-го

пальца правой кисти при помощи компьютерного капилляроскопа КАПИЛЛЯРОСКАН-1 (ООО «Новые энергетические технологии», Россия), который позволяет оценивать капиллярное русло при увеличении $\times 380$, с разрешающей способностью 0,8 мкм в поле зрения 500×400 мкм. Исследование проводили в положении сидя после 15 минутного периода адаптации, при постоянной температуре в помещении 23 ± 1 °С. За 5 минут до начала исследования производили измерение температуры кожных покровов в области ногтевого ложа инфракрасным термометром «Beurer» (Германия). Руку испытуемого располагали в специальном мягком фиксирующем устройстве на уровне сердца. Оценивали размер перикапиллярной зоны (ПЗ) — линейный размер от наиболее близкой точки переходного отдела капилляра до максимально удаленной точки кожного сосочка (рис. 1) в микрометрах (мкм). Погрешность расчета линейных размеров составляет ± 3 мкм.

Запись видеосегментов капиллярного кровотока проводили на протяжении 10 секунд для каждого капилляра со скоростью 100 кадров в секунду. Благодаря применению программы анализа пространственно-временных диаграмм расчет скорости капиллярного кровотока (СКК) в микрометрах в секунду (мкм/с) производили в автоматическом режиме по средней линии в области переходного и прилегающих к нему артериального и венозного отделов капилляра (рис. 2) на протяжении 3–5 секунд. Погрешность расчета скорости кровотока составляет не более ± 80 мкм/с.

ПЗ рассчитывали по 5–6 капиллярам ($\approx 5,8$ капилляра на испытуемого), СКК — в 3–4 капиллярах ($\approx 3,6$ капилляра на испытуемого). Динамику СКК и ПЗ оценивали в одних и тех же капиллярах. Для анализа полученных результатов использовали усредненные значения ПЗ и СКК.

Лазерная доплеровская флоуметрия. После исследования капиллярного кровотока испытуемые принимали горизонтальное положение на кушетке и также проходили 15-минутный период адаптации. За 5 минут до начала ЛДФ (10-я минута периода адаптации) производили измерение артериального давления, частоты сердечных сокращений на правой руке и температуры кожи инфракрасным термометром «Beurer» непосредственно в области исследования, которая располагается на 3–4 см проксимальнее лучезапястного сустава по средней линии наружной поверхности правого предплечья.

Функциональное состояние артериального и венозного отделов микрососудистого русла кожи исследовали при помощи одноканального лазерного анализатора кожного кровотока ЛАКК-02 в видимой красной области спектра (длина волны — 630 нм) и блока ЛАКК-ТЕСТ (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия), которые позволяют оценивать параметры перфузии в ≈ 1 мм³ кожи при постоянно поддерживаемой температуре в области исследования на уровне $+32$ °С.

Параметры базальной перфузии (БП) оценивали на протяжении шести минут. Амплитудно-частотный спектр (АЧС) осцилляций кровотока рассчитывали с использованием математического аппарата вейвлет-

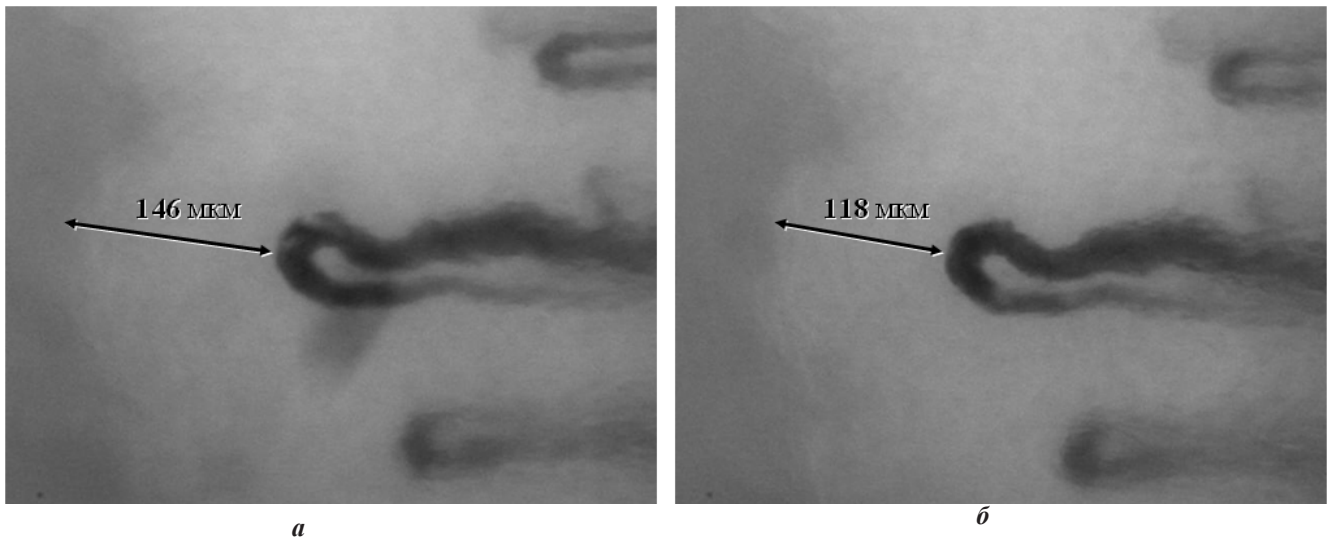


Рис. 1. Размер перикапиллярной зоны (ПЗ): *а* — исходный; *б* — через 2 часа после окончания инфузии «Актовегина»

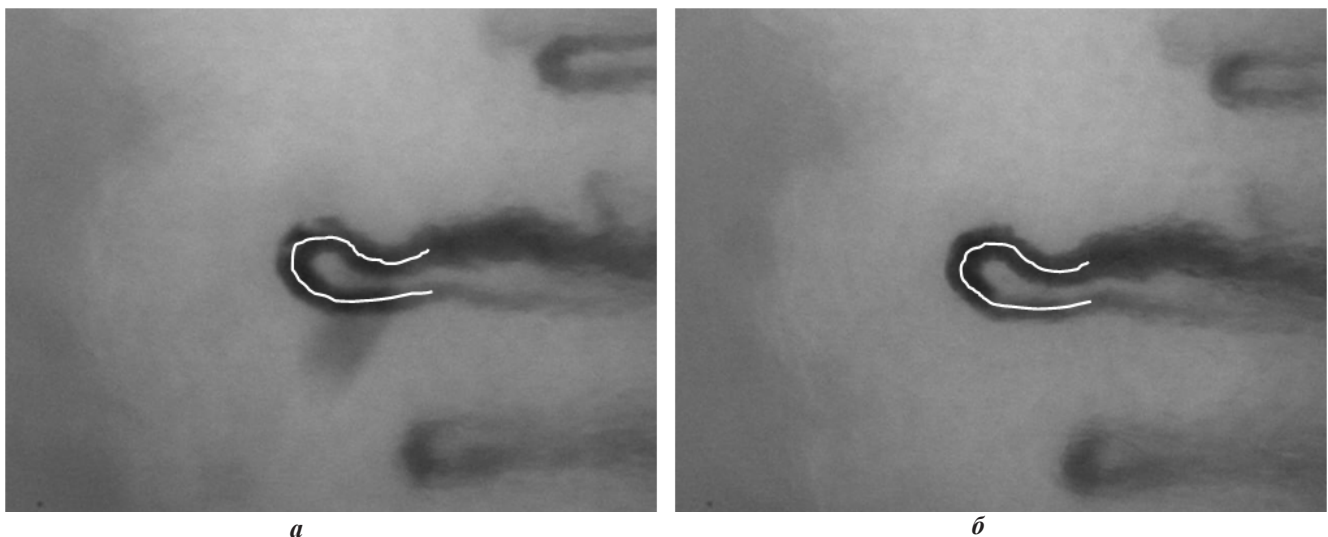


Рис. 2. Область расчета скорости капиллярного кровотока (белая линия) в одном и том же капилляре: *а* — исходно; *б* — через 2 часа после окончания инфузии «Актовегина»

преобразования. Усредненную по времени амплитуду вазомоций оценивали по максимальным значениям ($A_{\max}$) в соответствующем частотном диапазоне ($F_{\max}$) для эндотелиального (A_e), нейрогенного (A_n), миогенного (A_m), веноулярного (A_v) и кардиального (A_c) звеньев модуляции кровотока (рис. 3).

Значения уровня перфузии (M) и амплитуды звеньев модуляции кровотока оценивали в условных перфузионных единицах (пф), что обусловлено принципиальными трудностями при калибровке метода ЛДФ как *in vitro*, так и *in vivo* [5]. Кроме абсолютных значений амплитуды вазомоций ($A_{\max}$), оценивали функциональный вклад каждого регуляторного механизма в уровень тканевой перфузии по формуле $A_{\max}/M \times 100\%$.

После оценки БП выполняли пробу с пятиминутной артериальной окклюзией (ОП) по следующей схеме: в течение одной минуты регистрировали уровень базальной перфузии, затем быстро нагнетали давление в манжете тонометра, расположенной на плече, до значений, которые превышали исходное

систолическое АД на 50–60 мм рт. ст., и поддерживали его на протяжении пяти минут. После быстрой декомпрессии в течение шести минут регистрировали характер восстановления перфузии. Оценивали уровень постокклюзионной реактивной гиперемии (ΔM) в процентах, время ее развития ($T_{\max}$) и период полувосстановления кровотока ($T_{1/2}$) в секундах (с). ΔM рассчитывали по формуле $\Delta M = M_{\max}/M_{\text{bas}} \times 100\%$, где M_{bas} — средний уровень перфузии на протяжении одной минуты до окклюзии, $M_{\max}$ — максимальное значение уровня перфузии после декомпрессии, которое оценивали на протяжении 3–5 кардиоциклов.

$T_{\max}$ измеряли от момента декомпрессии до достижения $M_{\max}$. Для расчета $T_{1/2}$ сначала определяли уровень перфузии, равный половине ($M^{1/2}$) от максимального прироста перфузии, по формуле $M^{1/2} = (M_{\max} - M_{\text{bas}})/2 + M_{\text{bas}}$, после чего определяли время достижения $M^{1/2}$ относительно $M_{\max}$. Амплитудно-частотному вейвлет-анализу подвергали период восстановления от момента достижения $M_{\max}$ и до конца пробы (рис. 4).

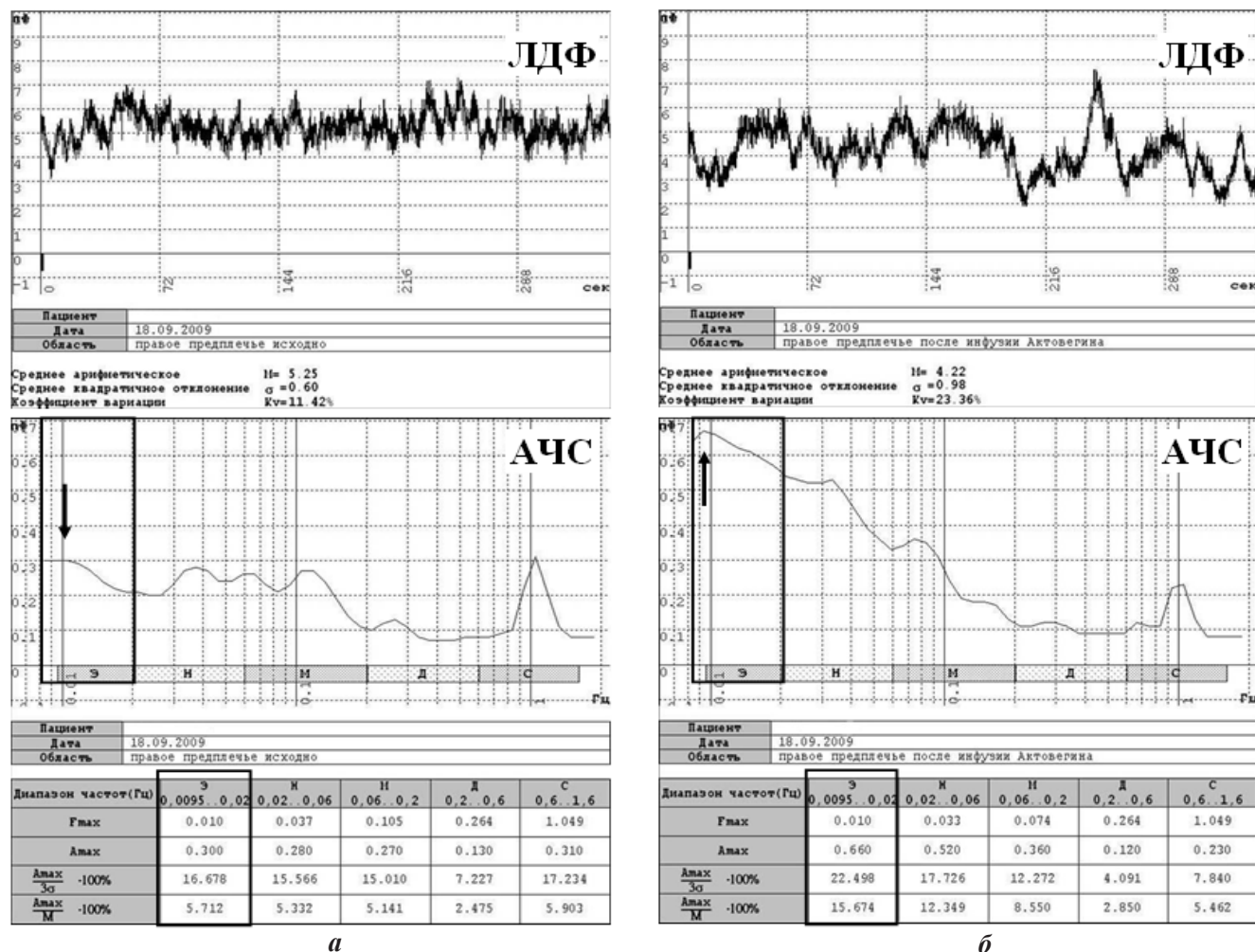


Рис. 3. Базальная перфузия (ЛДФ) и амплитудно-частотный спектр (АЧС) отраженного сигнала: *а* — исходно; *б* — через 2 часа после окончания инфузии «Актовегина». В АЧС стрелками указаны максимальные значения амплитуды эндотелиальных вазомотий (A_z) в соответствующем частотном диапазоне (0,0095–0,021 Гц), который выделен прямоугольником

Учитывая неравномерность кровоснабжения кожных покровов [6], область исследования на предплечье отмечали маркером и динамику функционального состояния микрососудов оценивали в одной и той же области кожного покрова.

Экспериментальный протокол

Исследование исходных параметров микроциркуляции выполняли в 900–1000. Сразу после окончания флоуметрии проводили инфузию 250 мл 10 %-го раствора «Актовегина» со скоростью 2,0 мл/мин в левую кубитальную вену (1000–1230). Исходя из того, что максимальный эффект после внутривенного введения препарата развивается в интервале 2–6 часов, контрольное исследование для оценки динамики микроциркуляторных процессов проводили ровно через 2 часа после окончания инфузии — в 1430–1530.

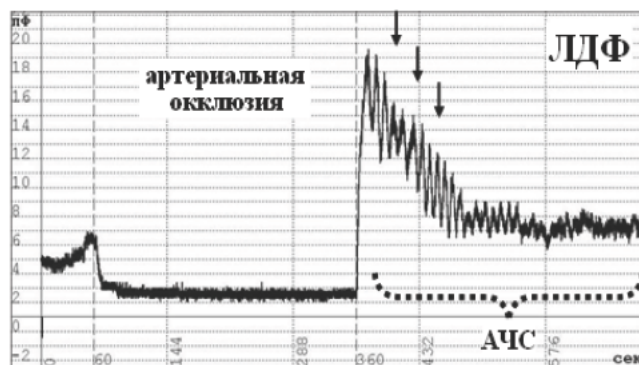
Для исключения влияния на параметры микроциркуляторного кровотока таких факторов, как суточные колебания активности регуляторных механизмов системы микроциркуляции кожи (биоритмы), самого факта внутривенной инфузии с возможными элементами гемодилюции, было проведено контрольное исследование динамики микроциркуляторного кровотока на фоне инфузии метаболически нейтрального препарата.

Группу контроля составили 14 испытуемых, которые продемонстрировали наиболее существенный прирост амплитуды эндотелиального ритма после инфузии «Актовегина» по данным ЛДФ. Эксперимент проводился по аналогичному для «Актовегина» протоколу, но вместо 250,0 мл «Актовегина» в левую кубитальную вену вводили 250,0 мл физиологического раствора (0,9 % NaCl). Полученные данные представлены в виде средних значений с их стандартным отклонением ($M \pm SE$) или в виде медианы, 25, 50 и 75 персантилей с минимальными и максимальными значениями. Для оценки достоверности динамики параметров микроциркуляторного кровотока использовали тест Wilcoxon. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Обработку полученных результатов проводили при помощи программы «StatSoft Statistica v6.0» (StatSoft Inc., USA).

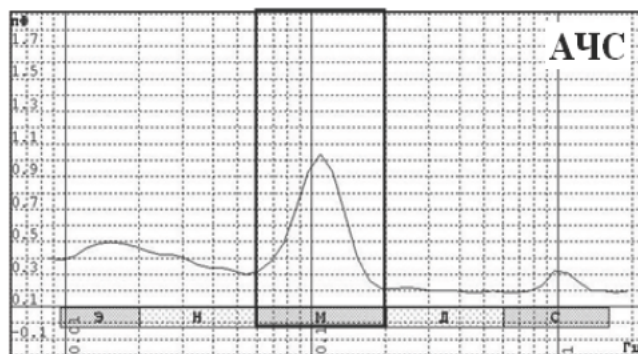
Результаты исследования и их обсуждение

Капиллярный кровоток

Динамика параметров капиллярного кровотока показана в табл. 1. Через 2 часа после окончания инфузии «Актовегина» отмечается достоверное уменьшение размера перикапиллярной зоны ($p < 0,0002$) и увеличение скорости капиллярного кровотока ($p < 0,02$).



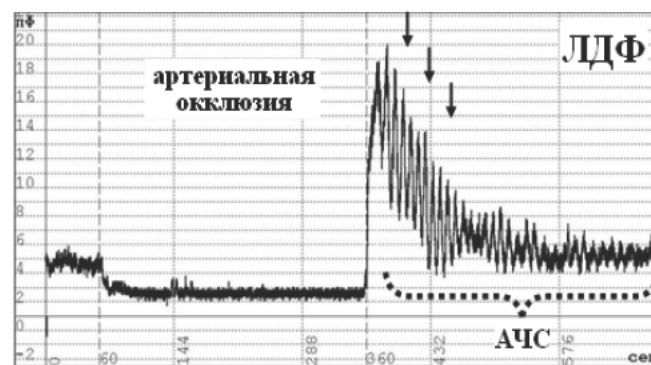
Пациент	
Дата	18.09.2009
Область	окклюзионная проба исходно



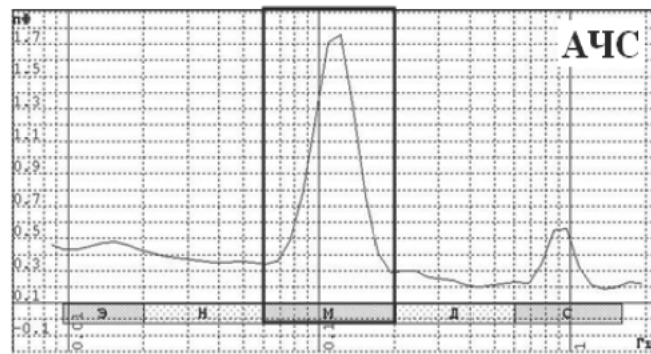
Пациент	
Дата	18.09.2009
Область	окклюзионная проба исходно

Диапазон частот(Гц)	Э	Н	П	Д	С
Гмах	0.015	0.038	0.109	0.239	0.967
Амах	0.400	0.240	0.930	0.110	0.220

а



Пациент	
Дата	18.09.2009
Область	окклюзионная проба после инфузии Актовегина



Пациент	
Дата	18.09.2009
Область	окклюзионная проба после инфузии Актовегина

Диапазон частот(Гц)	Э	Н	П	Д	С
Гмах	0.015	0.040	0.122	0.239	0.966
Амах	0.380	0.250	1.660	0.200	0.460

б

Рис. 4. Проба с пятиминутной артериальной окклюзией (ОП). ЛДФ-грамма на протяжении всей пробы (ЛДФ) и амплитудно-частотный спектр (АЧС) периода восстановления (обозначен фигурными скобками): а — ОП исходно; б — ОП через 2 часа после окончания инфузии Актовегина. Стрелки в ЛДФ указывают осцилляции кровотока, обусловленные функционированием миогенного компонента вазомоций (0,06–0,15 Гц), прямоугольники в АЧС — диапазон миогенного ритма с максимальными значениями амплитуды осцилляций

Динамика параметров капиллярного кровотока

Таблица 1

Параметр	Исходно	Актовегин	Wilcoxon
Температура кожи (°C)	32,8±3,0	32,1±1,9	н/д
Размер перикапиллярной зоны (мкм)	137,8±24,4	122,6±21,38	p<0,0002
Скорость капиллярного кровотока (мкм/с)	375,2±80,5	464,9±110,9	p<0,02

Динамика параметров базальной перфузии

Таблица 2

Параметр	Исходно	Актовегин	Wilcoxon
Температура кожи (°C)	32,2±2,0	32,0±1,4	н/д
САД (мм рт. ст.)	117,3±8,8	117,9±7,5	н/д
ДАД (мм рт. ст.)	77,1±5,5	73,7±8,2	p<0,03
ПАД (мм рт. ст.)	40,4±7,2	43,6±8,9	н/д
АД _{ср} (мм рт. ст.)	90,4±5,8	88,2±6,9	p<0,04
ЧСС (уд./мин)	61,1±8,5	60,4±8,1	н/д

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

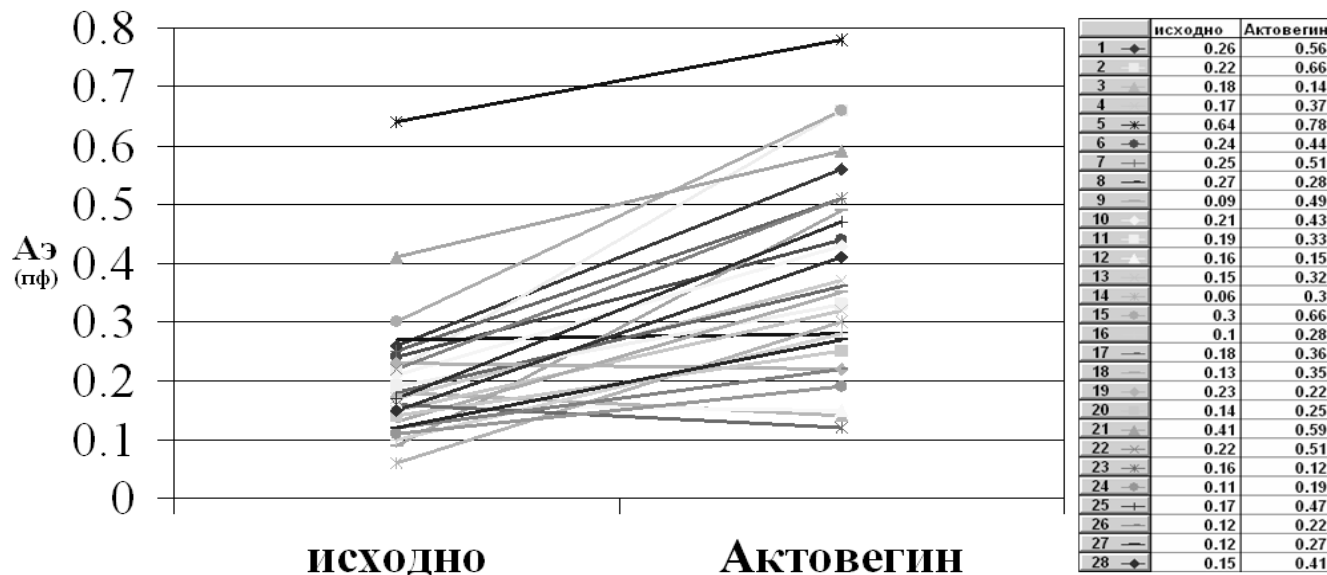


Рис. 5. Индивидуальная динамика амплитуды вазомоций в диапазоне эндотелиального ритма ($A_{\text{э}}$)

Лазерная доплеровская флоуметрия

Базальная перфузия. Динамика температуры кожи в области исследования и артериального давления за 5 минут до начала ЛДФ приведена в табл. 2. Из полученных данных видно, что на фоне действия «Актовегина» отмечается незначительное, но достоверное снижение ДАД и АД_{ср}.

Индивидуальная динамика основного анализируемого параметра — величины амплитуды вазомоций в диапазоне эндотелиального ритма ($A_{\text{э}}$) — показана на рис. 5. Из полученных данных видно, что через 2 часа после окончания инфузии «Актовегина» только у четверых испытуемых (<15 %) имеет место незначительное (0,01–0,04 пф) снижение амплитуды вазомоций в диапазоне эндотелиальной активности.

Параметры микроциркуляторного кровотока и функциональная активность регуляторных механизмов на уровне пре- и посткапиллярных микрососудов приведены на рис. 6 и 7.

Из полученных данных (рис. 6) видно, что уровень тканевой перфузии увеличился незначительно и недостоверно. «Пассивные» механизмы модуляции кровотока (пульсовой ($A_{\text{с}}$) на «входе» в систему микроциркуляции и дыхательный-венулярный ($A_{\text{в}}$) на «выходе») связаны с изменением продольного градиента давления в МЦР, который, в свою очередь, обусловлен периодическим изменением АД на входе в МЦР (пульсовое АД) и вариацией давления в венах в ходе дыхательных циклов. Амплитудная активность кардиального ритма, которая отражает функциональное состояние артериолярных сосудов, демонстрирует отсутствие увеличения притока артериальной крови, но на этом фоне отмечается достоверное увеличение амплитуды респираторно зависимых осцилляций кровотока, которые отражают функциональное состояние веноулярных микрососудов.

На рис. 7 приведена динамика со стороны функциональной активности основных тонусформирующих механизмов модуляции, которые создают поперечные колебания кровотока в микрососудах посредством чередования сокращения и расслабления гладкомы-

шечных клеток микрососудов — вазомоций. Из полученных данных видно, что наиболее выраженное увеличение амплитуды вазомоций и функционального вклада в общий уровень тканевой перфузии отмечается со стороны эндотелиального ритма. На этом фоне отмечается менее выраженное, но достоверное увеличение функциональной активности и вклада в уровень тканевой перфузии со стороны как симпатической нервной системы (нейрогенный ритм), так и со стороны базального тонуса гладкомышечных клеток (миогенный ритм).

Постокклюзионная реактивная гиперемия. Динамика дилататорного ответа микрососудистого русла кожи в процессе постокклюзионной реактивной гиперемии при пятиминутной артериальной окклюзии приведена в таблице 3. Полученные данные демонстрируют отсутствие динамики со стороны дилататорного резерва (ΔM), но на этом фоне отмечается достоверное укорочение $T_{1/2}$ ($p < 0,02$) и увеличение амплитуды миогенных вазомоций ($p < 0,02$) в период восстановления.

Контрольное исследование. Динамика параметров эндотелиального ритма как критерия отбора в контрольную группу через 2 часа после внутривенной инфузии 250,0 мл «Актовегина» и 250,0 мл метаболически нейтрального 0,9 % NaCl приведена на рис. 8. Динамика всех исследуемых параметров микроциркуляторного кровотока приведена в табл. 4.

Из полученных данных видно, что через 2 часа после окончания инфузии физиологического раствора достоверной динамики не получено ни для одного из анализируемых параметров микроциркуляторного кровотока, кроме амплитуды респираторно-зависимых осцилляций.

Учитывая ангиоархитектонику МЦР кожи и длину волны лазера, которая позволяет проникать в ткани на глубину не более 1 мм, следует, что в зондируемый объем попадают микрососуды диаметром 10–35 мкм [6], которые включают терминальные и прикапиллярные артериолы, капилляры, посткапиллярные и собирательные безмышечные вены из поверхностных венозных сплетений, а также артериоло-венулярные

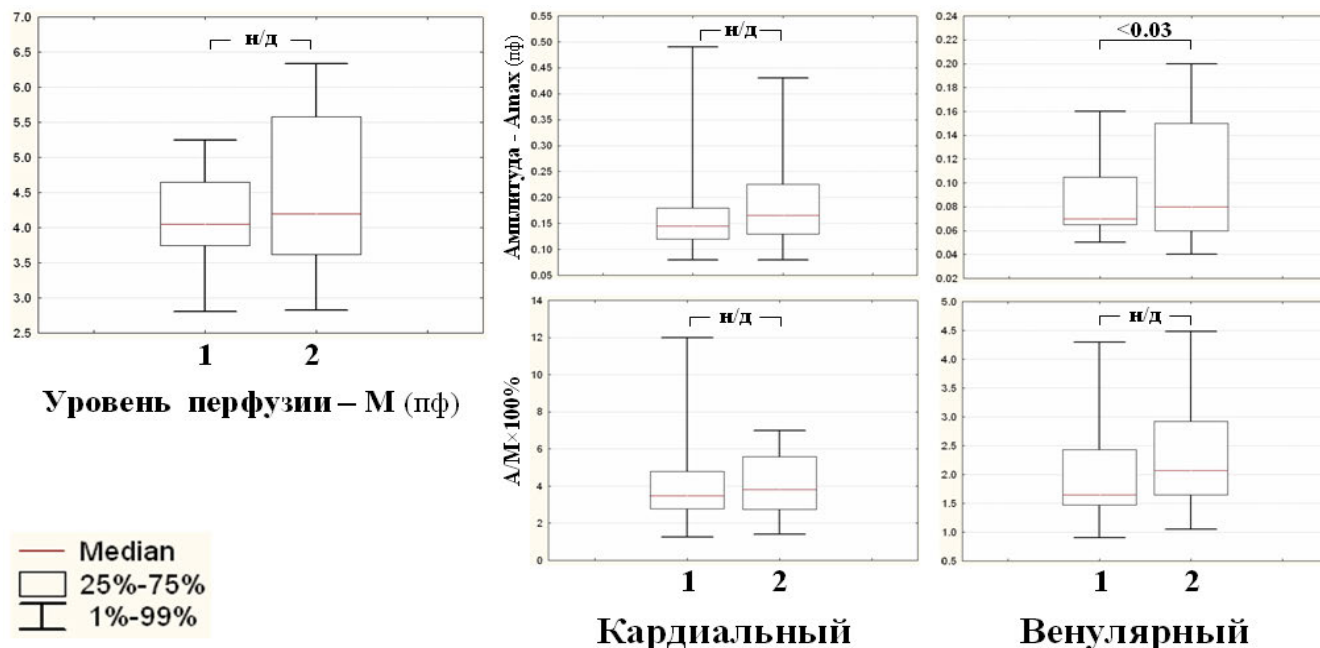


Рис. 6. Динамика уровня тканевой перфузии и функциональной активности «пассивных» механизмов модуляции кровотока: 1 — исходные значения; 2 — через два часа после окончания инфузии «Актовегина»

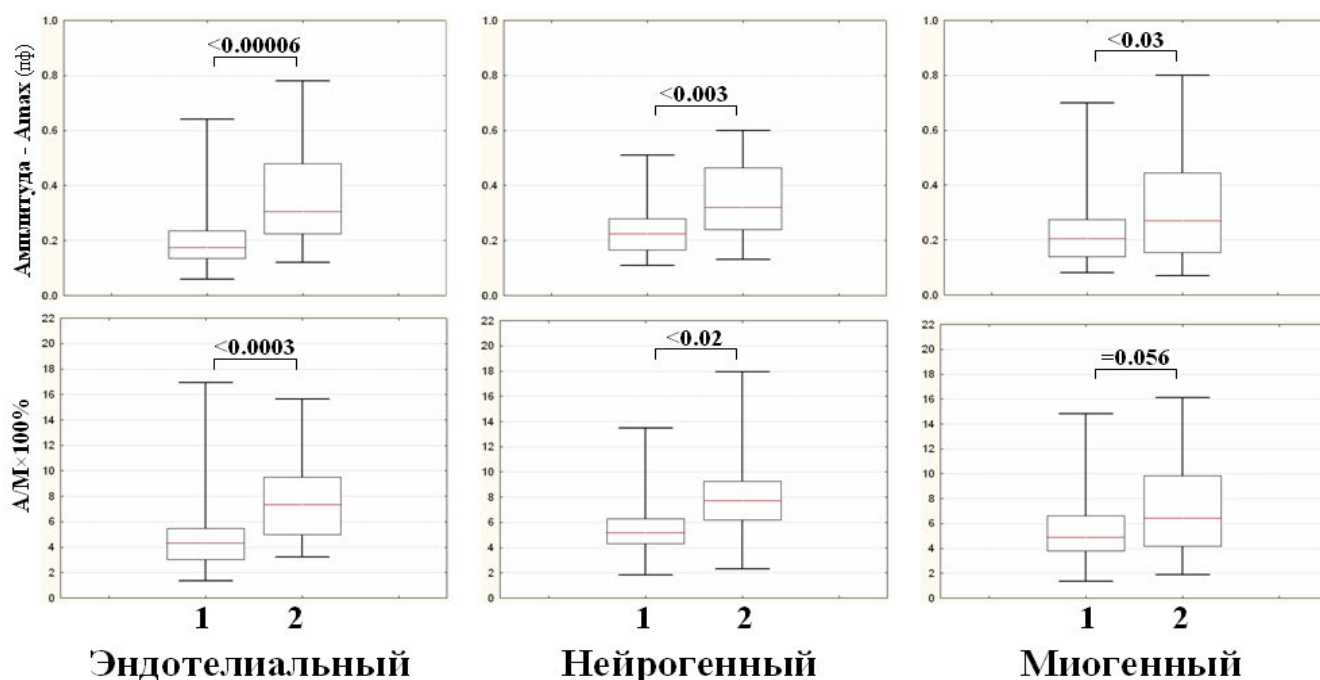


Рис. 7. Динамика тонусформирующих механизмов модуляции кровотока: 1 — исходные значения. 2 — через два часа после окончания инфузии «Актовегина»

анастомозы. Гладкомышечный компонент с преимущественно гуморальным механизмом регуляции тонуса имеют прекапиллярные артериолы, а также артериоло-венулярные анастомозы, где доминирует нейрогенный (симпатический) механизм регуляции тонуса.

Микрососуды, в структуре которых имеются гладкомышечные клетки, что предполагает наличие вазомоторных механизмов регуляции, составляют не более 30 % от общего количества сосудов в данном тканевом объеме. Подавляющее большинство (≈ 70 %) микрососудов кожи на глубине до 1 мм состоит в основном из одного слоя эндотелиальных клеток,

что является структурной основой для обменных процессов. На фоне действия метаболически активного препарата «Актовегин» наиболее выраженная динамика отмечается в самом низкочастотном диапазоне ($\approx 0,01$ Гц), который отражает функциональную активность эндотелия микрососудов.

Прирост A_0 в среднем по группе составил 98 % ($p < 0,00006$), что свидетельствует о существенном вкладе данного регуляторного механизма в модуляцию микрокровотока. Если рассматривать амплитудную активность эндотелиального ритма только с позиций вазомоторной составляющей, то увеличение A_0 должно сопровождаться пропорциональным уве-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

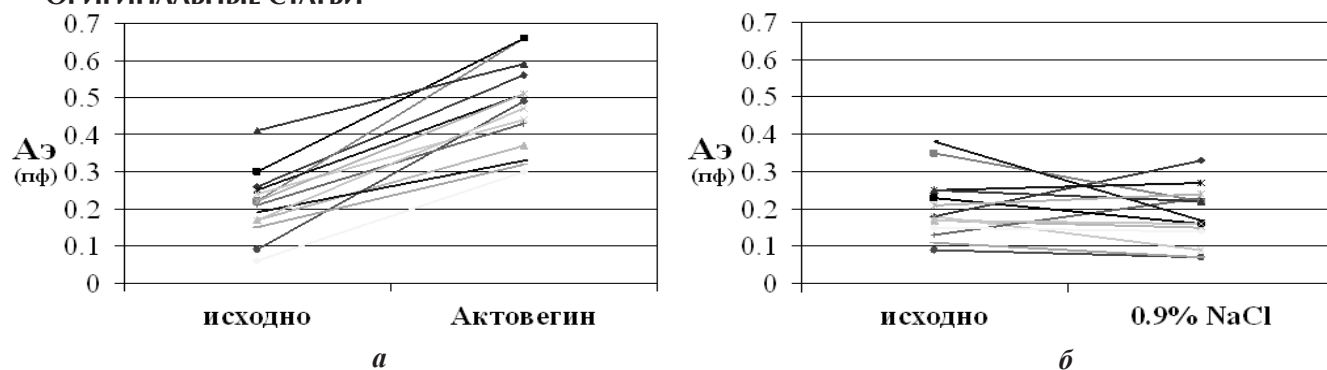


Рис. 8. Динамика амплитуды эндотелиального ритма (A_z) в контрольной группе через 2 часа после окончания инфузии: а — «Актовегина»; б — 0,9 % NaCl

личением и амплитуды пульсовых колебаний (A_c), и уровня перфузии (M). Но достоверной динамики со стороны данных параметров не получено. Суммарную величину тонуса микрососудов определяет не только эндотелиальный компонент, но и симпатическая нервная система (A_n) и собственный базальный тонус гладкомышечных клеток микрососудов (A_m). Базальный тонус миоцитов модулируется со стороны внутреннего просвета сосуда эндотелиальными факторами, а со стороны наружного слоя — симпатической нервной системой. Совокупность функционирования всех трех регуляторных механизмов и определяет конечный тонус артериол.

На фоне «Актовегина» мы получили однонаправленное изменение функциональной активности всех трех тонусформирующих механизмов модуляции кровотока. Достоверное увеличение амплитуды (снижение тонуса) миогенного ритма в среднем по группе на 54 % ($p < 0,03$) и амплитуды нейрогенного ритма на 50 % ($p < 0,003$) позволяет сделать предположение, что около 50 % прироста A_z приходится на его вазомоторную составляющую.

Несмотря на отсутствие корреляционных зависимостей между функциональным состоянием тонусформирующих звеньев модуляции микроциркуляции и уровнем АД, можно с достаточной долей уверенности предполагать, что незначительное, но достоверное снижение диастолического ($p < 0,03$) и среднего АД ($p < 0,04$) является следствием снижения тонуса прекапиллярных артериол.

Сделать данное предположение позволяют результаты классической работы В. В. Zweifach, который на нормо-, гипо- и гипертензивных кошках показал, что наибольший градиент давления отмечается в микрососудах диаметром < 50 мкм [31, 32]. В зондируемом при ЛДФ объеме кожи подавляющее большинство микрососудов с гладкомышечным компонентом относится именно к артериолам малого диаметра (< 50 мкм), функциональную активность которых мы и оцениваем. Еще одним наглядным показателем снижения тонуса прекапиллярных артериол и капиллярных сфинктеров служит достоверное увеличение скорости капиллярного кровотока в среднем по группе на 90 мкм/с ($p < 0,02$).

Снижение тонуса метартериол оказывает влияние не только на параметры центральной и капиллярной гемодинамики, но может также иметь и непосред-

ственный метаболический эффект. Сегодня считается уже установленным фактом, что переход кислорода в ткань начинается еще на уровне артериол диаметром порядка 200 мкм. Наиболее резкое снижение pO_2 отмечается в сосудах диаметром 15–20 мкм, но главную роль в транспорте кислорода среди артериоларных сосудов имеют прекапиллярные артериолы диаметром 7–12 мкм [11, 13], где количество гладкомышечных элементов минимально. Структурной особенностью прекапиллярных артериол является то, что в их стенке эластические элементы полностью отсутствуют, а соседние мышечные клетки, спирально обвивающие эндотелиальную трубку, располагаются на значительном расстоянии друг от друга. Вследствие этого на протяжении прекапиллярных артериол имеются участки, в которых сосудистая стенка состоит только из эндотелиальных клеток, снаружи от которых располагается базальная мембрана. В промежутках, свободных от миоцитов, стенка метартериол вступает в прямой контакт с периваскулярной соединительной тканью, что создает структурные предпосылки для участия данных микрососудов в обменных процессах. Снижение тонуса гладкомышечных клеток метартериол способствует увеличению площади сосудистой стенки, свободной от миоцитов, т. е. приводит к увеличению обменной поверхности микрососудов на докапиллярном уровне. Таким образом, можно сделать предположение, что увеличение вазомоторной функции микрососудистого эндотелия на уровне прекапиллярных артериол сопряжено непосредственно и с метаболическим эффектом. Другой морфологической особенностью прекапиллярных артериол является наличие большого количества миоэндотелиальных контактов по типу нексусов, что облегчает регуляцию гладкомышечных клеток эндотелиальными факторами.

Используя метод ЛДФ с оптической спектроскопией, С. Е. Thorn et al. определили 2 типа колебаний насыщения крови кислородом. Первый тип не сопровождается существенным изменением в уровне дезоксигемоглобина, и авторы связывают его с изменением объема притекающей в микрососудистое русло артериальной крови. Второй тип колебаний характеризуется увеличением концентрации дезоксигемоглобина, который индуцирован активностью эндотелиального и нейрогенного (симпатического) механизмов модуляции кровотока [24].

Динамика постокклюзионной реактивной гиперемии

Таблица 3

Параметр		Исходно	Актовегин	Wilcoxon
ΔМ ОП (%)		467,1±170,7	464,8±122,2	н/д
T _{max} (с)		25,4±11,5	28,2±10,0	н/д
T _{1/2} (с)		46,8±15,5	37,6±14,6	p<0,02
АЧС периода восстановления, пф	A _з	0,403±0,237	0,437±0,168	н/д
	A _н	0,341±0,141	0,368±0,227	н/д
	A _м	0,619±0,332	0,835±0,419	p<0,02
	A _в	0,144±0,061	0,143±0,051	н/д
	A _с	0,386±0,244	0,360±0,148	н/д

Динамика параметров микроциркуляторного кровотока в контрольной группе

Таблица 4

Показатель		Актовегин – 250,0 (n=14)		p	0,9 % NaCl – 250,0 (n=14)		p
		исходно	инфузия		исходно	инфузия	
САД (мм рт. ст.)		119,2±8,4	120,8±6,4	н/д	116,5±7,5	115,4±8,1	н/д
ДАД (мм рт. ст.)		77,3±6,3	73,1±10,1	=0,058	73,8±7,9	73,8±5,8	н/д
ПАД (мм рт. ст.)		42,3±6,0	46,5±8,3	н/д	43,1±6,0	41,5±6,6	н/д
АД _{ср} (мм рт. ст.)		91,0±6,4	88,5±8,5	=0,071	87,8±7,2	87,8±5,8	н/д
ЧСС (уд./мин.)		60,0±5,7	60,9±8,1	н/д	59,9±7,4	58,2±8,5	н/д
t, °C		31,8±2,1	32,4±1,8	н/д	32,9±1,7	32,8±1,1	н/д
М (пф)		4,28±0,62	4,56±0,86	н/д	3,87±0,64	4,11±0,66	н/д
Аэ (пф)		0,209±0,09	0,418±0,166	<0,004	0,205±0,091	0,175±0,078	н/д
Ан (пф)		0,255±0,098	0,309±0,094	н/д	0,241±0,127	0,270±0,132	н/д
Ам (пф)		0,298±0,195	0,338±0,204	н/д	0,325±0,198	0,281±0,195	н/д
Ав (пф)		0,086±0,031	0,106±0,049	н/д	0,092±0,037	0,073±0,018	=0,066
Ас (пф)		0,175±0,066	0,195±0,088	н/д	0,157±0,059	0,146±0,058	н/д
ΔМ ОП (%)		393,7±113,1	449,1±77,3	=0,086	427,6±117,9	462,6±137,1	н/д
T _{max} (с)		24,9±11,9	28,2±10,7	н/д	26,2±11,7	30,1±12,1	н/д
T½ (с)		47,6±17,1	35,3±9,2	=0,069	53,7±18,7	57,8±24,2	н/д
АЧС периода восстановления, пф	A _э	0,391±0,119	0,41±0,107	н/д	0,552±0,249	0,453±0,116	н/д
	A _н	0,335±0,105	0,304±0,114	н/д	0,327±0,113	0,351±0,167	н/д
	A _м	0,633±0,241	0,931±0,513	<0,05	0,687±0,266	0,686±0,325	н/д
	A _в	0,121±0,037	0,129±0,037	н/д	0,155±0,078	0,152±0,035	н/д
	A _с	0,326±0,195	0,396±0,111	н/д	0,398±0,2	0,436±0,149	н/д
ПЗ (мкм)		138,4±25,4	124,0±24,8	<0,02	124,3±15,2	129,4±18,2	н/д
СКК (мкм/с)		343,1±92,4	469,6±155,7	<0,03	365,1±175,1	425,6±134,6	н/д

Позднее авторы показали, что время экстракции кислорода у испытуемых с повышенным индексом массы тела достоверно больше, чем у испытуемых без признаков ожирения [25]. Мы не имели технической возможности оценивать изменения степени насыщения крови кислородом и не учитывали массу тела испытуемых, что является недостатком данной работы. Учитывая достоверную динамику амплитуды осцилляций кровотока в диапазонах эндотелиальной, нейрогенной, миогенной и респираторной активности, а также хорошо известные клинические эффекты препарата [8], можно предположить, что на фоне действия «Актовегина»

возможно наличие обоих типов колебаний уровня насыщения крови кислородом. Наиболее важным, на наш взгляд, показателем метаболической активности микрососудистого эндотелия является уменьшение размера перикапиллярной зоны, который отражает степень гидратации интерстициального пространства. Существенное уменьшение размеров ПЗ на фоне действия «Актовегина» указывает на то, что в фильтрационно-реабсорбционном механизме обмена преобладают процессы реабсорбции. Фильтрационно-реабсорбционный механизм обмена напрямую связан с гемодинамическими параметрами кровотока, так как основан на разности гидростати-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ческого и коллоидно-осмотического давления крови. Процессы фильтрации сопряжены непосредственно с амплитудой пульсовых колебаний, которая отражает гемодинамические параметры притекающей к микроциркуляторному руслу артериальной крови, а процессы реабсорбции — с амплитудой веноулярного ритма. Прирост A_c в среднем по группе составил крайне незначительную и недостоверную величину. Это обусловлено тем, что только у 15 испытуемых отмечается прирост A_c , у 4 данный показатель остался без изменений, а у 9 человек отмечается уменьшение A_c . На этом фоне уменьшение ПЗ различной степени выраженности получено у всех без исключения (100 %) испытуемых. Между динамикой амплитуды A_c и динамикой ПЗ получена отрицательная корреляционная зависимость — $r = -0,58$; $p < 0,01$. Даже в тех случаях, когда отмечается существенный рост A_c , что предполагает увеличение процессов фильтрации, отмечается уменьшение ПЗ, что указывает на преобладание процессов реабсорбции. В пользу доминирования процессов реабсорбции свидетельствует и динамика амплитуды веноулярного ритма. Достоверное повышение A_v ($p < 0,03$), вероятнее всего, обусловлено увеличением объемного компонента в результате возросших процессов реабсорбции.

Уменьшение размера ПЗ стало неожиданной находкой. Преобладание в фильтрационно-реабсорбционном механизме обмена процессов реабсорбции может быть прямым следствием улучшения энергетического метаболизма самих эндотелиальных клеток, но нельзя исключать наличия у «Актовегина» и осмотического действия, хотя за полувековую историю применения данного препарата этот эффект ни разу никем отмечен не был.

Еще одним проявлением улучшения метаболической активности микрососудистого эндотелия можно считать результаты пробы с артериальной окклюзией. В процессе пятиминутной тканевой ишемии неизбежно развиваются существенные сдвиги тканевого гомеостаза, для восстановления которого требуется не только адекватный приток крови, но и определенное функциональное состояние микрососудистого эндотелия, на уровне которого происходят обменные процессы. Период полувосстановления кровотока отражает процессы восстановления тканевого гомеостаза. Чем длиннее данный временной интервал, тем медленнее идут процессы восстановления. В пользу метаболической составляющей $T_{1/2}$ говорит и тот факт, что именно в данный промежуток времени отмечается наиболее выраженное снижение миогенного тонуса, который проявляется в увеличении амплитуды миогенных вазомоций. Результаты амплитудно-временного вейвлет-анализа при пробе с трехминутной артериальной окклюзией демонстрируют наиболее выраженное снижение миогенного тонуса на 25–120-й секундах после пуска кровотока [26]. В физиологической интеграции управления микрокровоотоком именно миогенный тонус является последним звеном контроля кровотока перед капиллярным руслом, что довольно наглядно продемонстрировано при ЛДФ-метрии в единичном капилляре кожи человека [16].

Увеличение амплитуды миогенных вазомоций на начальном этапе периода восстановления указывает на снижение базального тонуса миоцитов прекапиллярных артериол и капиллярных сфинктеров, что определяет поступление крови непосредственно в капиллярное русло и, соответственно, способствует ускорению процессов восстановления тканевого гомеостаза.

Полученные в ходе исследования результаты демонстрируют тесную взаимосвязь процессов метаболизма и микрогемодинамики. Улучшение процессов утилизации тканями кислорода и глюкозы не протекает изолированно, а сопряжено с изменениями функционального состояния как путей притока крови к капиллярам (артериолы) и путей ее оттока (посткапиллярные вены), так и с изменениями параметров гемодинамики на уровне капилляров. Изменения функционального состояния на уровне микрососудистого русла, как неотъемлемой части сердечно-сосудистой системы, оказывают влияние и на параметры центральной гемодинамики.

Отсутствие корреляционных зависимостей между различными параметрами микрокровотока свидетельствует о многогранности процессов, отвечающих за поддержание тканевого гомеостаза, где нет ведущих или определяющих механизмов. Есть целый комплекс, который, в зависимости от конкретной ситуации, за счет сдвига различных регуляторных механизмов в ту или иную сторону создает определенный баланс, обеспечивающий поддержание тканевого гомеостаза.

Непропорциональное увеличение амплитудной активности эндотелиального ритма относительно других вазомоторных механизмов и отчетливая динамика процессов трансэндотелиального обмена на уровне капилляров позволяют сделать заключение о том, что осцилляции кровотока на частоте $\approx 0,01$ Гц отражают не только вазомоторную, но и метаболическую функцию микрососудистого эндотелия, которая является локальным процессом и не зависит от центральных источников осцилляций в сердечно-сосудистой системе. Функциональная независимость эндотелиального механизма модуляции кровотока подтверждается работой L. W. Sheppard et al., которые показали отсутствие фазовой когерентности эндотелиального и нейрогенного механизмов модуляции кровотока с центральными источниками осцилляций [19]. Отсутствие увеличения функциональной активности микрососудистого эндотелия и других параметров микроциркуляции в ответ на инфузию метаболически нейтрального физиологического раствора подтверждает, что полученные нами результаты являются следствием непосредственного влияния препарата «Актовегин».

Снижение амплитудной активности микрососудистого эндотелия у 11 из 14 испытуемых при инфузии физиологического раствора, вероятнее всего, отражает процессы суточных колебаний вазомоторной активности микрососудов, что согласуется с работами T. Tenland [23].

Данное исследование демонстрирует, что использование современных методов неинвазивной оценки

микрогемодинамических процессов у человека открывает новые перспективы в изучении микро-сосудистых и сопряженных с ними метаболических нарушений при различных заболеваниях органов сердечно-сосудистой системы.

Литература

1. Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н. Н. Петрищева. СПб.: СПбГМУ, 2003. 181 с.
2. Тихонова И. В. и др. Исследование эндотелийзависимых колебаний кровотока в микроциркуляторном русле кожи человека // Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. 2006. № 92 (12). С. 1429–1435.
3. Anderson T. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans / T. Anderson // J. Am. Coll. Cardiol. 2002. № 34. P. 631–638.
4. Bernjak A. et al. Low-frequency blood flow oscillations in congestive heart failure and after β 1-blockade treatment // Microvasc. Res. 2008. № 76. P. 224–232.
5. Borgos J. Principles of instrumentation: Calibration and technical issues laser Doppler. London; Los Angeles; Nicosia: Med-Orion Publishing Company, 1994. P. 3–16.
6. Braverman I. M. The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organization // Microcirculation. 1997. № 4 (3). P. 329–340.
7. Buerk D. G., Riva C. E. Vasomotion and spontaneous low-frequency oscillation in blood flow and nitric oxide in cat optic nerve head // Microvasc. Res. 1998. № 55. P. 919–935.
8. Buchmayer F. et al. Actovegin®: a biological drug for more than 5 decades // Wien. Med. Wochenschr. 2011. № 161 (3–4). P. 80–88.
9. Celermajer D. S. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // Lancet. 1992. № 340. P. 1111–1115.
10. Chin-Dusting P. F. et al. Human forearm venous occlusion plethysmography: methodology, presentation and analysis // Clin. Sci. (Lond.). 1999. № 96. P. 439–440.
11. Ellsworth M. L., Pitmann R. N. Intraluminal gradient in microvascular oxygemoglobin saturation. Intern // J. Microcirc. Clin. Exp. 1984. № 3. P. 371–372.
12. Hayward C. S. et al. Assessment of endothelial function using peripheral waveform analysis // J. Am. Coll. Cardiol. 2002. № 40. P. 521–528.
13. Ivanov K. P. et al. Direct measurements of pO₂ of arterioles and capillaries of the brain // Pflug. Arch. 1982. № 393. P. 118–120.
14. Kvandal P. 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. № 65. P. 160–171.
15. Kvernmo H. D. et al. Oscillations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators // Microvasc. Res. 1999. № 57. P. 298–309.
16. Meyer M. F. et al. Impaired 0.1-Hz vasomotion assessed by laser Doppler anemometry as an early index of peripheral sympathetic neuropathy in diabetes // Microvasc. Res. 2003. № 65. P. 88–95.
17. Naka K. K. et al. Flow-mediated changes in pulse wave velocity: a new clinical measure of endothelial function // Eur. Heart. J. 2006. № 27. P. 302–309.
18. Obermaier-Kusser B. et al. Further evidence for a two-step model of glucose-transport regulation. Inositol phosphate-oligosaccharides regulate glucose-carrier activity // Biochem. J. 1989. № 261. P. 699–705.
19. Sheppard L. W. et al. Oscillatory dynamics of vasoconstriction and vasodilation identified by time-localized phase coherence // Phys. Med. Biol. 2011. № 56. P. 3583–3601.
20. Stefanovska A. Self-organization of biological systems influenced by electrical current // Thesis, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana, Slovenia. 1992.
21. Stefanovska A. et al. Wavelet analysis of oscillations in peripheral blood circulation measured by Doppler technique // IEEE Trans. Biomed. Eng. 1999. № 46. P. 1230–1239.
22. Stewart J. M. Noninvasive measure of microvascular nitric oxide function in humans using very low-frequency cutaneous laser Doppler flow spectra // Microcirculation. 2007. № 14. P. 169–180.
23. Tenland T. On Laser Doppler Flowmetry. Methods and Microvascular Application // Printed in Sweden by VTT-Gafiska, Vimmerby. 1982.
24. Thorn C. E. et al. Is mean blood saturation a useful marker of tissue oxygenation? // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2009. № 296. P. H1289–H1295.
25. Thorn C. E. et al. An association between vasomotion and oxygen extraction // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2011. № 301. P. H442–H449.
26. Tikhonova I. V. et al. Time-amplitude analysis of skin blood flow oscillations during the post-occlusive reactive hyperemia in human // Microvasc. Res. 2010. № 80. P. 58–64.
27. Vane J. R. The endothelium: maestro of blood circulation // Philos. Trans. R. Soc. Lond. 1994. № 343. P. 225–246.
28. Vane J. R. et al. Regulatory functions of the vascular endothelium // New Engl. J. Med. 1990. № 323. P. 27–36.
29. Widlansky M. E. et al. The clinical implications of endothelial dysfunction // J. Am. Coll. Cardiol. 2003. № 42. P. 1149–1160.
30. Ziegler D. et al. Treatment of symptomatic polyneuropathy with actovegin in type 2 diabetic patients // Diabet. Care. 2009. № 32. P. 1479–1484.
31. Zweifach B. W. Quantitative studies of microcirculatory structure and function. I: Analysis of pressure distribution in the terminal vascular bed in cat mesentery // Circ. Res. 1974. № 34. P. 843–857.
32. Zweifach B. W. Quantitative studies of microcirculatory structure and function. II. Direct measurement of capillary pressure in splanchnic mesenteric vessels // Circ. Res. 1974. № 34. P. 858–866.