

Диагностика функционального состояния системы микроциркуляции на основе термометрии высокого разрешения

Подтаев С.Ю., Мизева И.А., Смирнова Е.Н.

Дан краткий обзор результатов исследований системы микроциркуляции с помощью термометрии высокого разрешения. Низкоамплитудные температурные колебания на поверхности кожи возникают вследствие периодического изменения тонуса поверхностных сосудов и коррелируют с изменениями кровотока. Спектральный анализ температурных колебаний позволяет оценивать вклад различных механизмов микроциркуляторной регуляции. Результаты получены в совместной работе сотрудников лаборатории гидродинамики ИМСС УрО РАН, специалистов Пермской медицинской академии и отделения современной механики Университета науки и технологии Китая. Метод контактной термометрии прост в применении, не требует дорогостоящего оборудования и может быть использован в широкой клинической практике для скрининговой диагностики эндотелиальной дисфункции при различных патологиях.

Кровообращение в микрососудах диаметром до 100 мкм, обеспечивающих процессы обмена между кровью и тканями, называют микроциркуляцией. Более широкий подход трактует микроциркуляцию как весь комплекс процессов обмена и транспорта жидкости в тканях, отводя для внутрисосудистых процессов понятие «микрорегуляция». Микроциркуляторное звено в сердечно-сосудистой системе можно определить как центральное, так как все другие звенья этой системы, по существу, призваны обеспечить основную функцию, выполняемую этим звеном, – транскapиллярный обмен. Принципиальное значение имеет оценка степени нарушений микроциркуляции при изучении патогенеза сахарного диабета, атеросклероза, синдрома Рейно, острого панкреатита и других заболеваний, так как данная система играет ключевую роль в развитии трофических нарушений. Наблюдается неуклонный рост интереса к изучению микроциркуляции (рис. 1). Необходимо отметить, что значительную часть в общем объеме публикаций занимают работы, посвященные разработке и развитию методов наблюдения и оценки состояния системы микроциркуляции [7].

Сосуды микроциркуляторного русла представляют собой своего рода тканевые «водопровод и канализацию, встроенные в стены дома», то есть тесно связаны с основой органов, состоящей из соединительной ткани. Эта конструкция известна как структурно-функциональный элемент органа или ткани. Соответственно строению структурно-функциональных элементов разных органов микроциркуляторные сосуды имеют свои особенности. Данная часть периферического органного кровеносного русла повсюду состоит из микроциркуляторных единиц типового состава. В них входят капилляры, мельчайшие артериолы и вены, артериоло-венулярные анастомозы, метартериолы и «предпочтительные каналы» (рис. 2), а также лимфоносные сосуды. В

типичной микроциркуляторной единице имеется одна приносящая артериола, снабженная выраженным мышечным слоем, и две выносящие посткапиллярные вены.

Для описания поведения микроциркуляторного русла традиционно привлекается понятие «сосудистый тонус» (*tonus* (лат.) – напряжение) – «общее сокращение сосуда». Факторы регуляции сосудистого тонуса вызывают сложные непериодические изменения перфузии (прохождения крови через ткань). Эти изменения могут быть зарегистрированы с использованием различных исследовательских методик. Одной из них является метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), широко используемый для исследования микрогемодинамики [2]. Метод основан на оптическом неинвазивном зондировании тканей монохроматическим сигналом. Отраженное от неподвижных компонентов ткани лазерное излучение не изменяет своей частоты, а отраженное от подвижных частиц (эритроцитов) имеет доплеровское смещение частоты относительно зондирующего сигнала. Спектральный анализ переменной составляющей ЛДФ-сигнала позволяет оценивать состояние сосудистого тонуса и действие механизмов регуляции кровотока в микроциркуляторном русле. В спектре колебаний кожного кровотока выделяют пять поддиапазонов, соответствующих различным факторам регуляции сосудистого тонуса [11].

Пульсовая волна (0,8–1,6 Гц). Амплитуда пульсовой волны, приносящейся в микроциркуляторное русло со стороны артерий, изменяется в зависимости от состояния тонуса резистивных сосудов.

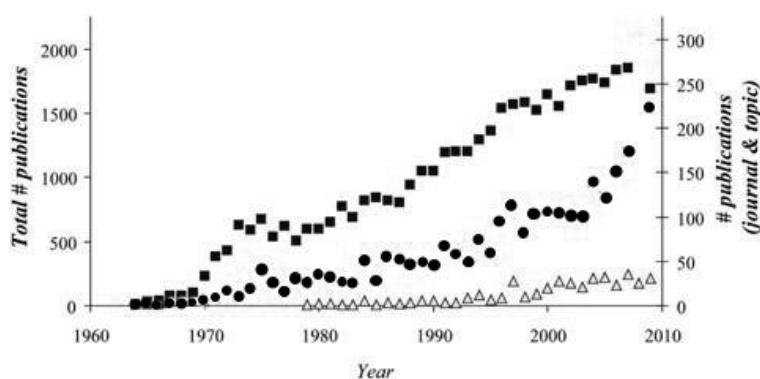


Рис. 1. График роста количества публикаций по теме «Микроциркуляция»: ■ – все публикации, ● – биофизические исследования, Δ – публикации, основанные на исследованиях при помощи лазерной доплеровской флоуметрии

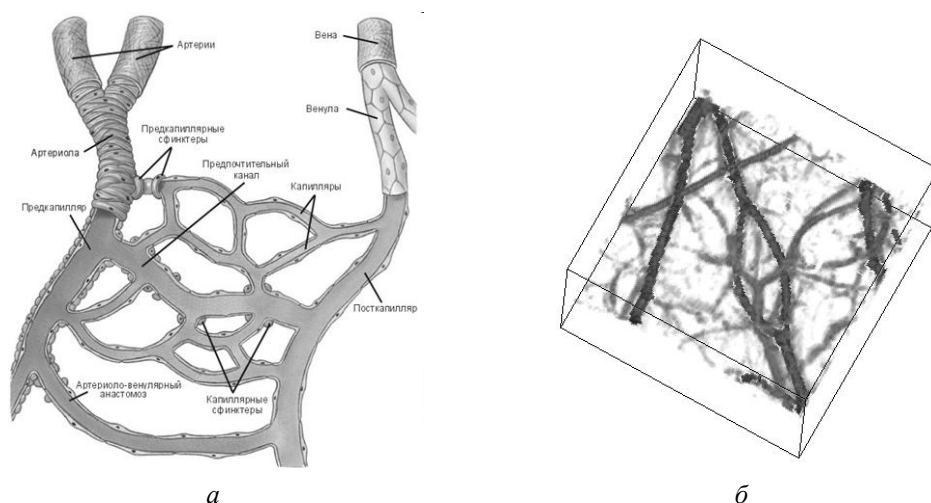


Рис. 2. Схема микрогемодиализирующей единицы (а) и изображение участка микроциркуляторного звена (in vivo), полученное методом оптоакустической томографии (б) [27]

Дыхательная волна (0,15–0,4 Гц) обусловлена динамикой венозного давления при легочной механической активности, присасывающим действием «дыхательного насоса». Дыхательные ритмы в системе микроциркуляции локализованы в венах.

Миогенные колебания (0,07–0,15 Гц), происхождение которых связывают с локальными пейсмекерами внутри гладких мышечных волокон. Исследованию миогенных колебаний в микроциркуляторном русле посвящено преобладающее число публикаций, относящихся к изучению и практическому применению осцилляций микрокровотока.

Нейрогенная активность (0,02–0,052 Гц). Физиологическая природа нейрогенных колебаний связана с низкочастотными симпатическими адренергическими (в основном терморегуляторными) влияниями на гладкие мышцы артериол и артериоларных участков артериоловеноулярных анастомозов (в тех участках кожи, где они имеются). Нейрогенная симпатическая активность накладывается на миогенные колебания резистивных микрососудов и подчиняет их.

Эндотелиальная активность. Эндотелий – однослойный пласт плоских клеток мезенхимного происхождения, выстилающий внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов. По современным представлениям, эндотелий – это активный эндокринный орган, самый большой в теле, диффузно рассеянный по всем тканям. Одна из функций эндотелия – синтез вазоактивных субстанций, в частности, оксида азота (NO) и простагландинов [10].

Информацию об изменениях тонуса сосудов кожи также можно получить из данных измерения кожной температуры. Долгое время в работах по инфракрасной (ИК) термометрии этим флуктуациям не придавалось большого значения и они рассматривались как шумы, которые необходимо исключить во время обработки изображений. При дальнейших исследованиях было установлено, что низкоамплитудные температурные колебания на поверхности кожи возникают вследствие периодического изменения тонуса поверхностных сосудов [13]. Установлена статистически значимая корреляция между колебаниями температуры кожи и изменениями кровотока, регистрируемыми доплеровским флоуметром [6, 12]. Это позволяет использовать регистрацию и спектральный анализ колебаний температуры на поверхности кожи для анализа механизмов регуляции тонуса сосудистой системы, обусловленных миогенной, нейрогенной и эндотелиальной активностью.

В ИМСС УрО РАН в последние годы выполнен цикл работ по разработке и апробации метода диагностики системы микроциркуляции на основе термометрии высокого разрешения. Ниже дается краткий обзор результатов исследований микроциркуляции с помощью этого метода, полученных в совместной работе сотрудников лаборатории гидродинамики ИМСС УрО РАН (руководитель – профессор П.Г. Фрик), специалистов Пермской медицинской академии и отделения современной механики Университета науки и технологии Китая, (Hefei, China, руководитель – профессор Ying He).

Колебания кожной температуры при проведении непрямой холодовой пробы

Особый интерес представляет изучение реакции сосудистой системы на внешние воздействия – функциональные пробы. Одним из наиболее обоснованных тестов для функциональной оценки микрососудистого русла является холодовая проба, которая создает условия для выявления нарушений микроциркуляции уже на ранних этапах. В зависимости от целей исследования меняются продолжительность охлаждения, температура и объем охлаждаемой поверхности. В некоторых исследованиях описывается локальное охлаждение, однако наиболее информативным является применение холодового прессорного теста, при котором охлаждается большая поверхность кожи. Представляет интерес изучение микроциркуляторных реакций контралатеральной конечности (непрямая холодовая проба) как системного

ответа организма на холодовой прессорный тест [9]. В процессе проведения холодовой пробы кисть левой руки погружается в ванночку с водно-ледовой смесью (температура 0 °С) на 3 минуты, а регистрация температуры происходит на правой руке.

Пространственное распределение и динамику температурных изменений в некоторых случаях удобно оценивать с помощью ИК-термометрии. Пример температурных изменений на ладонной поверхности кисти во время контралатеральной холодовой пробы показан на рис. 3. Для этой демонстрации была использована ИК-камера Flir FC 5000 с разрешающей способностью по температуре 0,02 °С.

ИК-термометрия дает общую пространственную картину температурных изменений, но для получения информации о низкоамплитудных температурных колебаниях необходимо использовать дорогостоящие тепловизоры с высоким разрешением и сложные алгоритмы обработки сигналов. Контактная термометрия высокого разрешения значительно дешевле (что является важным преимуществом при широком клиническом использовании) и проще в применении. Современная электроника позволяет реализовать на практике устройства для регистрации температуры с разрешением порядка 0,001 °С. Типичные изменения температуры, зарегистрированные с помощью контактной термометрии во время непрямой холодовой пробы, показаны на рис. 4. В этом случае требуется следить за изменениями спектрального состава регистрируемого сигнала, происходящими на временах, сопоставимыми с периодом колебаний. Такие задачи выходят за рамки традиционного спектрального анализа, но хорошо решаются методами вейвлет-анализа.

Слово «вейвлет» (wavelet) означает «маленькая волна» и указывает на то, что, в отличие от традиционного спектрального анализа, в качестве эталонных сигналов используется семейство самоподобных функций, описывающих короткую осцилляцию заданной частоты вблизи заданного момента времени. При проведении исследования вейвлет заданного масштаба, как шаблон, «прикладывается» к анализируемому сигналу в самом его начале и постепенно продвигается до его конца. При этом для каждого положения вейвлета вычисляется степень соответствия (вейвлет-

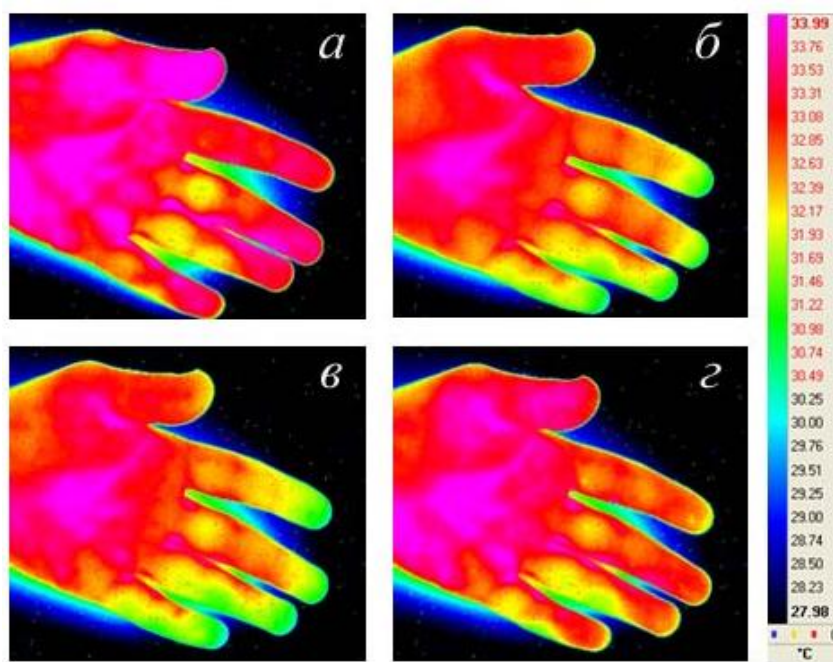


Рис. 3. Поле температур, зарегистрированное ИК-камерой во время проведения контралатерального холодового теста:

а – до начала охлаждения, б – через 2 минуты после начала охлаждения,
в – через три минуты после начала охлаждения (максимальное охлаждение),
г – через 3 минуты после окончания холодового теста

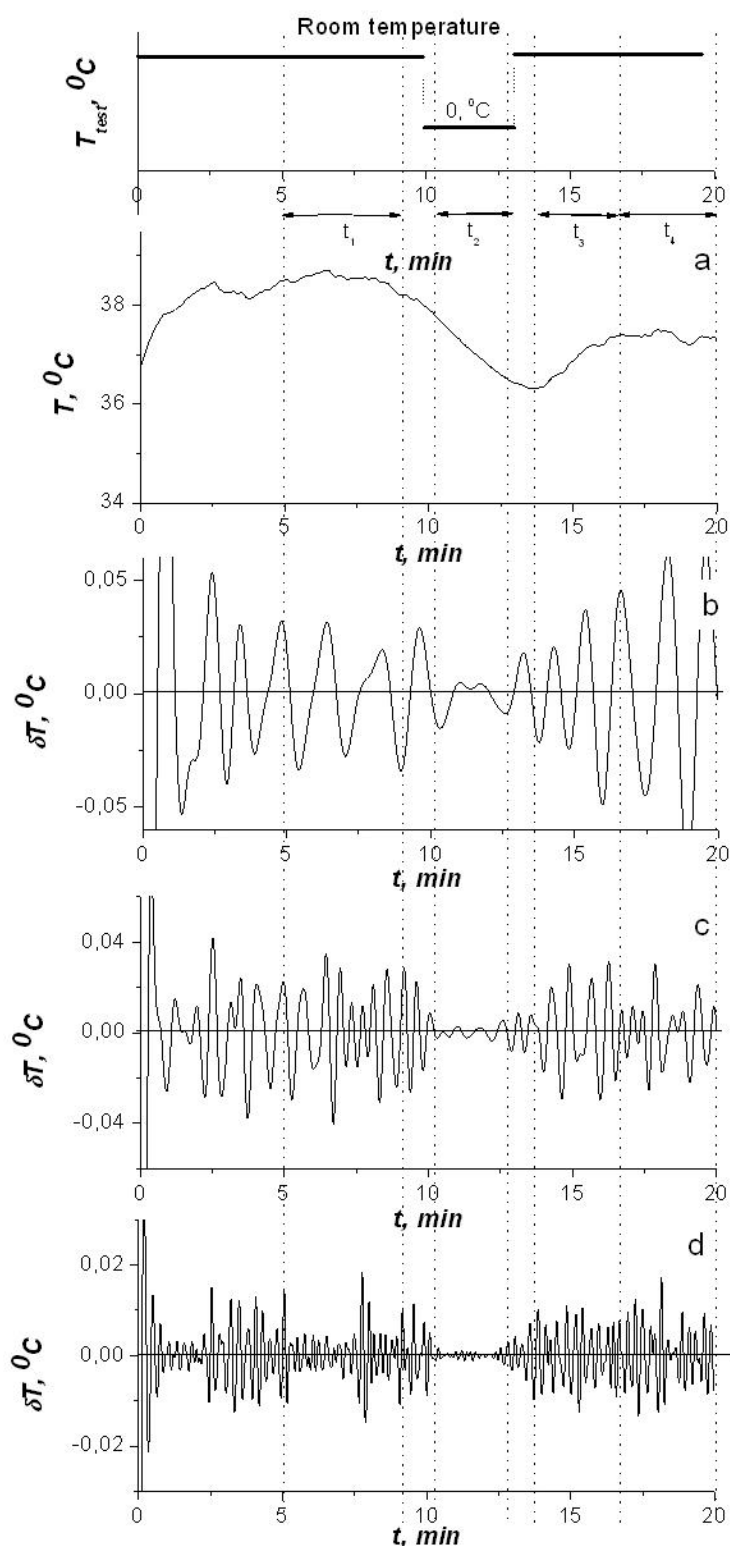


Рис. 4. Схема эксперимента (вверху), термограмма (а) и результат вейвлет-фильтрации в различных частотных диапазонах, соответствующих эндотелиальному (b), нейрогенному (c) и миогенному (d) механизмам регуляции сосудистого тонуса

коэффициент) сигнала и вейвлета. В результате получается вейвлет-плоскость – таблица или график зависимости вейвлет-коэффициента от масштаба (частоты) и времени. На вейвлет-плоскости можно видеть, как меняется со временем спектральный состав сигнала, или узнать, в какие моменты в сигнале появлялись всплески различной продолжительности.

Подробно математические основы метода изложены в книге [4], а пример

использования в медицине приведен в статье [5]. Данным методом можно провести фильтрацию сигналов, восстанавливая по отдельности составляющие, отвечающие интервалу частот, связанных с определенным механизмом регуляции кровотока. На рис. 4 показан результат вейвлет-фильтрации термограммы (а) в трех частотных диапазонах, соответствующих эндотелиальному (b), нейрогенному (с) и миогенному (d) механизмам регуляции сосудистого тонуса.

Математическое моделирование колебаний кожной температуры

Целью теоретического исследования является вопрос о связи колебаний тонуса сосудов в коже и тканях с поверхностной температурой. Новизна работы заключается в том, что внимание уделяется не стационарным решениям, а пульсациям поля скорости и температуры. Для решения этой задачи совместно с проф. Y. Не (Китай) была построена математическая модель кисти руки человека. В решении используется магниторезонансное изображение кисти руки человека, по которому восстанавливается положение кости, ткани и основных кровеносных сосудов (рис. 5). Кровь в кисть руки поступает по артериям, протекает по сосудам микроциркуляторного звена и возвращается по венам. Течение крови в крупных сосудах задает зависящий от времени приток артериальной крови в микроциркуляторное звено, поток пульсирующий (в нем сохраняется «память» о пульсациях сердца), но на выходе из микроциркуляторного звена давление постоянно, что хорошо согласуется с натурными наблюдениями. Для течения крови в крупных сосудах (диаметр более 1 мм) решается одномерная задача о потоке идеальной жидкости по цилиндрическому каналу с эластичными стенками. В микроциркуляторной системе плотность капилляров составляет величину порядка 200 микрососудов на 1 мм^3 , поэтому решение задачи для каждого выделенного сосуда очень сложно и не имеет практического смысла. Эффективным методом упрощения течения крови в микроциркуляторном русле является приближение перфузии через пористую среду, в котором ткань рассматривается как жесткий матрикс. Для решения задачи о потоке в микроциркуляторном русле используется уравнение Дарси. Плотность микрососудистой сетки может отличаться на порядок в разных тканях, с этим связан параметр проницаемости пористой среды (таблица). При изучении процесса теплопереноса в живых тканях используется уравнение Пенне [11]. Тепло может продуцироваться из-за процесса метаболизма, но в данной модели мы его не учитываем. Важным допущением этой модели является то, что весь теплообмен между кровью и тканью происходит в капиллярах. Охлаждение на поверхности кожи осуществляется за счет теплоизлуче-

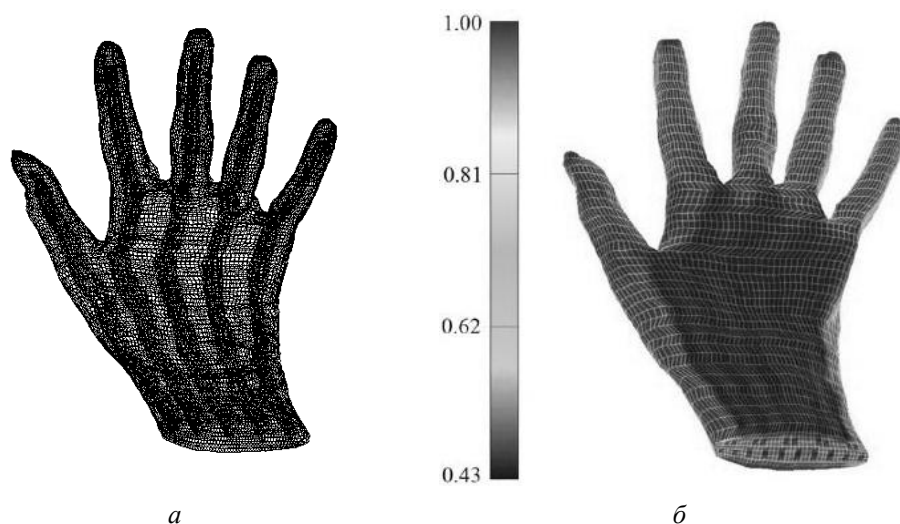


Рис. 5. Расчетная сетка и поле температур

Значения параметров, использованных в численных исследованиях

Параметр	Дермис	Эпидермис	Сухожилия	Ткань	Кости	Кровь
Теплоемкость, c_s (Дж/кг К)	3391	3391	3768	3500	2094	3300
Плотность, ρ (кг/м ³)	1200	1200	1270	1250	1418	1100
Теплопроводность, λ (Вт/м К)	0,53	0,21	0,35	0,36	2,21	0,5
ω – перфузия ткани кровью, (мл/мл/мин)	24/100	0	3,43/100	24/100	2/100	

ния, конвекции и испарения. При задании граничных условий на поверхности кожи эти механизмы учтены. Подробно вывод уравнений дан в работе [8].

Под колебаниями сосудистого тонуса в МЦР мы понимаем изменения диаметра артериол, включение шунтирующих капилляров, изменение количества активных капилляров путем открытия или закрытия артериоловеноулярных анастомозов. Все это приводит к изменению эффективной пористости ткани. Существенным недостатком такой модели является невозможность отследить, какой именно из трех вышеперечисленных механизмов привел к изменению потока крови через МЦР, тем не менее он позволяет смоделировать изменение температуры на поверхности кожи.

Положив изменение пористости по гармоническому закону в отсутствие контралатерального холодового воздействия, линейное убывание пористости во время пробы, можно воспроизвести результаты эксперимента с контралатеральной холодной пробой (рис. 6).

До 600-й секунды система находится в покое, пористость тканей меняется по гармоническому закону (моделирование вазомоций), в момент времени 600 с – начало холодной пробы, которое смоделировано уменьшением проницаемости среды по линейному закону. На 720-й секунде система начинает возвращаться в начальное состояние.

Работа по численному исследованию полей температур и скорости кровотока находится на начальном этапе, и развитие данного подхода позволит смоделировать влияние функциональных проб на систему микроциркуляции. Предполагается провести работы по изучению распространения колебаний различной частоты, исследовать поле скорости течения крови и поверхностной температуры кожи кисти в зависимости от частоты и амплитуды колебаний.

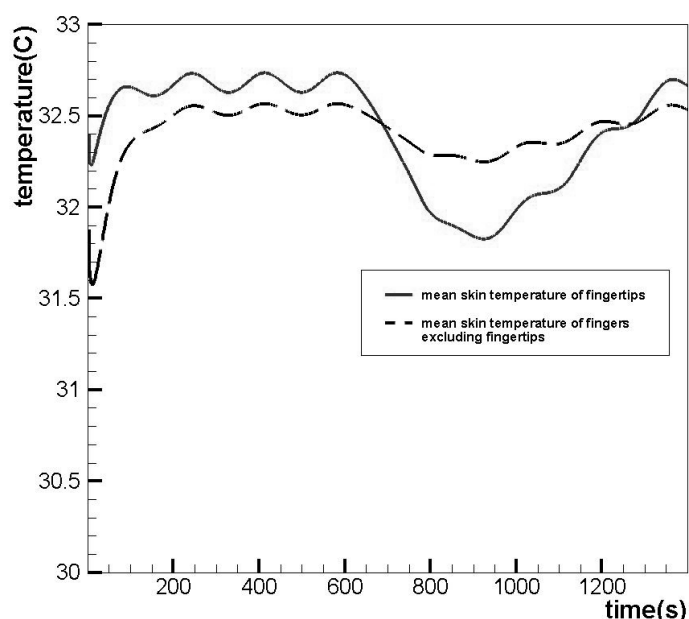


Рис. 6. Поведение кожной температуры на второй (сплошная линия) и на первой фаланге (пунктирная линия) указательного пальца

Исследования по клиническому применению метода сфокусированы на разработке диагностической методики оценки нарушений регуляции сосудистого тонуса при сахарном диабете (СД). Это заболевание называют чумой XXI века, и по некоторым оценкам, к 2030 году в мире будет насчитываться более 439 миллионов человек в возрасте от 20 до 79 лет, больных диабетом, и в два раза больше – с синдромом нарушения толерантности к глюкозе.

Основной причиной инвалидизации и летальности при СД являются микро- и макрососудистые осложнения, приводящие к развитию сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Диагностика диабетических осложнений в настоящее время осуществляется только на клинической стадии, а лечение в большинстве случаев направлено на уменьшение прогрессирования ангиопатий. Можно предположить, что стадия обнаружения нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) является той стадией, когда запускается процесс сосудистых изменений и проявляется эндотелиальная дисфункция. Именно эндотелию принадлежит главная роль в поддержании тонуса сосудов, гемостаза и развитии ремоделирования и местного воспаления. Само расположение эндотелия на границе с потоком крови делает его уязвимым к воздействию различных факторов риска развития сосудистых осложнений, в том числе к гипергликемии [1]. Для оценки эндотелиальной дисфункции на ранних этапах глюкометаболических нарушений использована методика непрямой холодовой пробы.

Обследование пациентов проходило в Клинике эндокринологии и диабета г. Перми. Группу СД составили пациенты с СД 2-го типа в возрасте 46–65 лет со средней длительностью заболевания 10 ± 1 год; группу НТГ – 18 пациентов в возрасте 31–60 лет. Группа контроля состояла из практически здоровых мужчин и женщин в возрасте от 39 до 60 лет. В исследование не включались пациенты с известными осложнениями в работе сердечно-сосудистой системы (инфаркт миокарда, стенокардия, нарушение мозгового и периферического кровообращения) и выраженными микрососудистыми расстройствами (ретинопатия 2-й и 3-й стадии, протеинурия).

Для оценки вклада различных механизмов регуляции сосудистого тонуса была выбрана величина среднеквадратичных амплитуд колебаний кожной температуры в соответствующем частотном диапазоне. Среднеквадратичные амплитуды колебаний вычислялись в четырех временных интервалах (см. рис. 4). Первый интервал t_1 – 300–500 с выбран с учетом выхода системы на стационарный тепловой режим и характеризует спокойное состояние человека. Среднеквадратичные амплитуды колебаний, полученные за этот период, использовались как исходный уровень для вычисления относительных изменений амплитуд во время и после пробы. Реакция на холодовую пробу регистрировалась во втором интервале t_2 (650–730 с). После холодового воздействия было фиксировано 2 интервала для оценки динамики восстановительного процесса: интервал t_3 – первые 3 минуты после холодовой пробы (830–960 с) и через 6 минут после начала воздействия – t_4 (960–1200 с). В контрольной группе амплитуда колебаний кожной температуры во время функциональной нагрузки в эндотелиальном, нейрогенном и миогенном диапазонах достоверно снижалась и восстанавливалась до исходных значений в течение 3 минут.

У пациентов с СД реакция на холодовую пробу отличалась от результатов контрольной группы. В диапазонах частот, соответствующих эндотелиальному и миогенному механизму регуляции сосудистого тонуса, после снижения амплитуды колебаний кожной температуры не восстанавливались, увеличение амплитуд непосредственно после пробы носило недостоверный характер, и не происходило увеличения амплитуд колебаний в течение последующих 10 минут после пробы. В нейрогенном диапазоне реакция сравнима с реакцией здоровых людей. Результаты группы НТГ

имели сходный характер с результатами группы СД в эндотелиальном и миогенном частотных диапазонах.

Таким образом, учитывая отсутствие статистически значимых различий между амплитудами колебаний кожной температуры во время и после пробы в эндотелиальном и миогенном диапазонах, можно заключить, что нарушения механизмов вазодилатации у больных СД и пациентов с НТГ имеют сходный характер. У пациентов НТГ имеются характерные для диабета изменения в эндотелиальном диапазоне колебаний амплитуд кожной температуры с сохранением физиологической реакции в нейрогенной части. Эти данные позволяют предположить, что эндотелиальная дисфункция имеет место на доклинической стадии диабета и в первую очередь проявляется поражением эндотелиальной части регуляции. При прогрессировании диабета патологический процесс усугубляется нарушением нейрогенных и миогенных эффектов вазодилатации.

Заключение

Метод контактной термометрии прост в применении, не требует дорогостоящего оборудования и может быть использован в широкой клинической практике для скрининговой диагностики как самостоятельно, так и в комплексе с другими методами оценки микроциркуляции.

Проведенные исследования подтвердили высокую чувствительность метода для выявления эндотелиальной дисфункции. Нарушение реакции на холодовую пресорную пробу в эндотелиальном диапазоне частот может быть признаком нарастающей эндотелиальной дисфункции и служить ранним предиктором дальнейших сосудистых расстройств.

Библиографический список

1. Балаболкин М.И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете // Сахарный диабет. – 2002. – № 4. – С. 8–17.
2. Крупаткин А.И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей / под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова / ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 256 с.
3. Попов А.В., Подтаев С.Ю., Фрик П.Г., Ершова А.И., Жукова Е.А. Исследование низкоамплитудных колебаний кожной температуры при проведении непрямой холодовой пробы // Региональное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – № 10-1. – С. 89–94.
4. Фрик П.Г. Турбулентность: подходы и модели: монография. Изд. 2-е, испр. и доп. – Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2010. – 342 с.
5. Фрик П.Г., Подтаев С.Ю., Попов А.В., Думлер А.А., Степанов Р.А. Оценка состояния сердечно-сосудистой системы на основе вейвлет-анализа данных неинвазивных измерений // Вестник Пермского научного центра. – 2010. – № 1. – С. 9–19.
6. Bandrivsky A., Bernjak A., McClintock P., Stefanovska A. Wavelet Phase Coherence Analysis: Application to Skin Temperature and Blood Flow // Cardiovasc Eng. 2004. – № 4. – P. 89–93.
7. Daly S.M., Leahy M.J. «Go with flow»: a review of methods in blood flow imaging // J. Biophotonics. 2012. – № 1. – P. 39.
8. He Y., Himeno R., Liu H., Yokota H., Sun Z.G. Finite element numerical analysis of blood flow and temperature distribution in three-dimensional image-based finger model // International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow. – 2008. – Vol. 18. – No. 7/8. – P. 932–953.

-
9. *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. – No. 4. – P. 241–248.
 10. *Kvernmo H.D., Stefanovska A., Bracic M., Kirkeboen K.A., Kvernebo K.* Spectral analysis of the laser Doppler perfusion signal in human skin before and after exercise // *Mic. Res.* – 1998. – № 56. – P. 173–182.
 11. *Pennes H.* Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm // *Journal of Applied Physiology.* – 1948. – Vol. 1. – No. 2. – P. 93–122.
 12. *Podtaev S., Morozov M., Frick P.* Wavelet-based correlations of skin temperature and blood flow oscillations // *Cardiovasc Eng.* – 2008. – № 8. – P. 185–189.
 13. *Shusterman V., Anderson K.P., Barnea O.* Spontaneous skin temperature oscillations in normal human subjects // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* – 1997. – № 273. – P. 1173–1181.
 14. *Zhang H.F., Maslov K., Wang L.V.* In vivo imaging of subcutaneous structures using functional photoacoustic microscopy // *Nature Protocols.* – 2007. – № 2. – P. 797–804.