

С. С. Терехин, А. В. Станкевич, И. А. Тихомирова, А. В. Муравьев

Возможности метода лазерной доплеровской флоуметрии в оценке половых отличий и возрастных изменений гемомикроциркуляции

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.В37.21.0214.

В работе проанализированы результаты экспериментальной оценки состояния микроциркуляции и ее регуляторных механизмов, проведенной методом лазерной доплеровской флоуметрии в группах юношей и девушек одного возраста и у одних и тех же испытуемых с интервалом в четыре года.

Ключевые слова: микроциркуляция, лазерная доплеровская флоуметрия, возрастные изменения, половые отличия.

S. S. Terekhin, A. V. Stankevich, I. A. Tikhomirova, A. V. Muravyov

Capabilities of the Laser Doppler Flowmetry Method in Evaluation of Gender Differences and Age-Related Changes of Hemomicrocirculation

The results of experimental evaluation of the state of microcirculation and its regulatory mechanisms by the Laser Doppler Flowmetry method in groups of persons of the same age (young men and women) and the same persons after 4-year period of time are analyzed in this study.

Keywords: microcirculation, Laser Doppler Flowmetry, age-related changes, gender differences.

Введение

Метод лазерной доплеровской флоуметрии – неинвазивный современный диагностический метод оценки тканевого кровотока [11], который основан на зондировании ткани лазерным излучением. Обработка отраженного от ткани излучения основана на выделении из зарегистрированного сигнала доплеровского сдвига частоты отраженного сигнала, пропорционального скорости движения эритроцитов. В ходе исследования проводится *флоуметрия*, то есть регистрация изменения потока крови в микроциркуляторном русле. Амплитуда отраженного сигнала формируется в результате отражения излучения от ансамбля эритроцитов, движущихся с разными скоростями и по-разному количественно распределенных в артериолах, капиллярах, венах и артериоло-венулярных анастомозах. Поэтому в методе ЛДФ применяется алгоритм усреднения, который позволяет получить средний доплеровский сдвиг частоты по всей совокупности эритроцитов, попадающих в зондируемую область. В результате такого усреднения методом ЛДФ оценивается изменение потока эритроци-

тов. Мощность отраженного излучения складывается из отдельных актов отражения излучения на каждом эритроците и, следовательно, зависит от их концентрации. На выходе прибора формируется результат флоуметрии – сигнал, амплитуда которого пропорциональна скорости и количеству эритроцитов [2]. Кроме того, важной особенностью метода ЛДФ, ограничивающей его широкое применение в клинике, является вариабельность ЛДФ-сигнала, которая обусловлена пространственной неоднородностью распределения кровеносных сосудов тестируемой области и временной изменчивостью перфузии ткани [6].

Несмотря на имеющиеся достижения в изучении микрогемодинамики, актуальным остается комплексное изучение функционирования системы микроциркуляции в разных возрастных категориях. Опубликованные на сегодняшний день данные о возрастных особенностях системы гемомикроциркуляции разнородны и зачастую противоречивы. Так, по данным М. El-Domyati и соавт. [9], оценка состояния микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии не позволила выявить различий в показателях мик-

рогемодинамики у лиц разных возрастных групп. Известно, что с возрастом характерные изменения претерпевает топография кожи и ее микрососудистая сеть. Исследование микрорельефа кожи с помощью сканирующего интерференционного профилометра у 50 женщин в возрасте от 20 до 74 лет, дополненное оценкой состояния микроциркуляции с использованием капилляроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии позволило заключить, что, наряду с глубокими изменениями рельефа, с возрастом снижается число функционирующих капилляров в коже, но за счет того, что истончается слой эпидермиса и повышается его прозрачность, показатели микроциркуляции и флукса, полученные методом лазерной доплеровской флоуметрии, могут не отличаться у пожилых и более молодых испытуемых [10]. Данные, свидетельствующие об изменении с возрастом реактивности системы микроциркуляции, получены в исследовании [4], авторы продемонстрировали снижение реакции микрососудистого (капиллярного) русла с возрастом при выполнении однократной тестирующей нагрузки аэробного характера.

Поскольку в строении кожи имеются и половые особенности, логично предположить, что состояние микроциркуляции и механизмов ее регуляции будут отличаться у лиц мужского и женского пола. Экспериментальные данные, полученные при оценке состояния периферического микрокровоотока методом ЛДФ у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца, в возрасте от 59 до 63 лет, позволили обнаружить достоверные отличия в показателях базального микрокровоотока (уровень перфузии и флукса) у лиц мужского и женского пола [1].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования было определить возможности метода лазерной доплеровской флоуметрии в оценке половых отличий и возрастных изменений гемомикроциркуляции в физиологических условиях.

Материалы и методы

В исследование после получения устного информированного согласия были включены практически здоровые добровольцы (лица обоего пола). Для оценки половых отличий состояния микроциркуляции измерения показателей кожного микрокровоотока проводили в группах юношей ($n = 22$, средний возраст $20,9 \pm 0,7$ лет) и девушек ($n = 18$, средний возраст $20,4 \pm 0,8$ лет). С целью изучения возрастных изменений гемомикроциркуляции по-

казатели микрокровоотока фиксировали в одной и той же группе испытуемых ($n=8$) с интервалом в 4 года: первые измерения были проведены в 2008 году, повторные – в 2012 году.

Оценку состояния микроциркуляции производили методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью компьютеризованного анализатора ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Москва). Метод ЛДФ является относительным способом контроля микроциркуляции, так как калибровке измерений препятствуют объективные причины: гетерогенность распределения эритроцитов в ткани, пигментация, толщина эпидермиса, которые не контролируются при неинвазивных исследованиях. В 1992 г. European Laser Doppler Users Group (ELDUG) было предложено применять при исследованиях термин «перфузия», определяемый как произведение двух величин: скорости эритроцитов и концентрации. Амплитуда сигнала, пропорциональная указанному произведению, измеряется в относительных или перфузионных единицах (пф. ед.). ЛДФ-грамма содержит фрагменты с различными типами колебаний, отличающихся частотой и амплитудой. Происхождение этих колебаний связано с изменением перфузии в результате функционирования механизмов регуляции кровотока в микроциркуляторном русле вследствие эндотелиального, нейрогенного и миогенного факторов, изменяющих просвет сосудов и, как следствие, модулирующих число и скорость эритроцитов. Указанные колебания имеют также составляющие, обусловленные модуляцией потока крови сердечным ритмом со стороны приносящих артерий и дыхательным ритмом со стороны отводящих вен [7].

Световодный зонд устанавливали в зоне Захарьина – Геда на подушечке II пальца. Оценивали уровень перфузии (ПМ), среднеквадратичное отклонение (σ), коэффициент вариации K_v и амплитудно-частотные характеристики отраженного сигнала. Расчетные параметры М (среднеарифметическое значение ПМ), σ и K_v дают общую оценку состояния микроциркуляции крови. Более детальный анализ функционирования микроциркуляторного русла может быть проведен на втором этапе обработки ЛДФ-грамм базального кровотока при исследовании структуры ритмов колебаний перфузии крови. По величинам амплитуд колебаний микрокровоотока в конкретных частотных диапазонах возможно оценивать состояние функционирования определенных механизмов контроля перфузии [2].

Среди звеньев регуляции микрокровотока выделяют «пассивные» и «активные» механизмы, которые в полосе частот от 0,005 до 3 Гц формируют пять неперекрывающихся частотных диапазонов: 0,007–0,017 Гц – диапазон эндотелиальной активности; 0,023–0,046 Гц – диапазон нейрогенной (симпатической адренергической) активности; 0,05–0,145 Гц – диапазон миогенной (гладкомышечной) активности; 0,2–0,4 Гц – диапазон респираторного ритма; 0,8–1,6 Гц – диапазон кардиального ритма [12]. Регистрируемый в ЛДФ-грамме колебательный процесс является результатом наложения колебаний, обусловленных функционированием «активных» и «пассивных» механизмов.

С помощью вейвлет-преобразования рассчитывали амплитудно-частотный спектр колебаний и оценивали вклад эндотелиальных, нейрогенных и миогенных компонентов тонуса микрососудов, а также дыхательных и сердечных ритмов. Расчет миогенного и нейрогенного тонуса микрососудов осуществляли по формулам: $MT = (\sigma P_{cp}) / (A_m M)$, $NT = (\sigma P_{cp}) / (A_n M)$. Показатель шунтирования рассчитывали по формуле: $ПШ = MT/NT$, где MT – миогенный тонус; NT – нейрогенный тонус микрососудов [2].

Ввиду разброса результатов измерений амплитуд колебаний осуществлять диагностику работы того или иного механизма регуляции только по величинам амплитуд затруднительно. Поэтому анализировали нормированные ($A/3\sigma$) и приведенные характеристики (A/M) ритмов колебаний, то есть устанавливали вклад амплитуды колебаний определенной группы ритмов относительно средней модуляции кровотока (где A – амплитуда колебаний, σ – среднеквадратическое отклонение колебаний перфузии) и относительно

средней величины перфузии (M), которая зависит в том числе и от тонуса.

Полученные данные представлены в виде средних значений с их стандартным отклонением ($M \pm \sigma$). Статистическую обработку результатов проводили с использованием параметрических критериев. В случае попарно связанных выборок (при оценке возрастных изменений микроциркуляции) использовали парный критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Показатели базального микрокровотока и механизмов его регуляции у юношей и девушек одного возраста представлены в табл. 1.

Несмотря на то, что показатель микроциркуляции в исследуемых группах достоверно не отличался, отмечена выраженная тенденция к росту уровня перфузии у юношей по сравнению с девушками. Вариабельность микрокровотока (флакс, σ) у лиц мужского пола на 39,9 % ($p < 0,05$) превышала аналогичный показатель у девушек. Выявлены и достоверные отличия в функционировании регуляторных влияний на микроциркуляцию в зависимости от пола: вклад эндотелиальных и миогенных ритмов в модуляцию микрокровотока у юношей был на 18,7 % ($p < 0,05$) и 21 % ($p < 0,05$) (соответственно) ниже, чем у девушек.

Для пульсовой волны у юношей также отмечены сниженные значения как нормированной (на 39,4 %, $p < 0,01$), так и приведенной амплитуды (на 45,7 %, $p < 0,001$) в сравнении с этими характеристиками для девушек.

Миогенный тонус микрососудов у юношей оказался повышенным на 41,8 % ($p < 0,01$) по сравнению с этим показателем в группе девушек.

Таблица 1

Показатели микроциркуляции и механизмов ее регуляции ($M \pm \sigma$)

Показатели		Девушки	Юноши
Показатель микроциркуляции, M (пф. ед.)		12,1±6,6	15,3±5,7
Среднеквадратичное отклонение, σ		1,58±0,80	2,21±0,93*
Коэффициент вариации, Kv		16,9±10,3	17,6±10,5
Эндотелиальные ритмы	Amax	1,04±0,47	1,10±0,57
	Amax/3 σ	20,3±5,9	16,5±6,1*

	Amax/M	11,2±6,7	9,03±6,8
Нейрогенные ритмы	Amax	1,01±0,55	0,98±0,42
	Amax/3σ	18,9±6,1	15,8±5,7
	Amax/M	10,1±6,1	8,43±6,73
Миогенные ритмы	Amax	0,776±0,341	0,694±0,281
	Amax/3σ	14,3±4,1	11,3±4,6
	Amax/M	7,3±3,7	5,7±4,2
Дыхательные ритмы	Amax	0,272±0,181	0,248±0,094
	Amax/3σ	5,47±1,1	4,13±1,97
	Amax/M	2,30±1,12	1,80±0,83
Сердечные ритмы	Amax	0,225±0,123	0,217±0,215
	Amax/3σ	4,67±2,10	2,83±1,29***
	Amax/M	2,38±1,31	1,29±0,55***
Нейрогенный тонус (НТ), отн. ед.		2,01±0,82	2,42±0,82
Миогенный тонус (МТ), отн. ед.		2,49±1,56	3,53±1,37**
Показатель шунтирования (ПШ), отн. ед.		1,34±0,44	1,49±0,45

Обозначения: Amax – максимальная амплитуда осцилляций микрокровотока; Amax/3σ – нормированная амплитуда осцилляций микрокровотока; приведенная амплитуда осцилляций микрокровотока; различия статистически значимы: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

По результатам исследований авторов [5] профили спектров колебательной активности параметров центральной и периферической гемодинамики значительно отличаются у мужчин и женщин. Полученные нами данные частично согласуются с результатами исследований [8], в которых было показано, что в условиях покоя у юношей-симпатотоников и нормотоников по сравнению со сходными группами девушек наблюдалось превышение значения показателя микроциркуляции соответственно на 18 и 28 %, однако этими авторами у юношей были зафиксированы более низкие значения коэффициента вариации и флакса. Наши данные свидетельствуют о том, что при сравнительно одинаковом уровне перфузии вариабельность микроциркуляции у юношей достоверно выше, что указывает на более активное функционирование регуляторных влияний по сравнению с микрокровотоком девушек. Несмотря на то, что максимальные амплитуды как активных, так и пассивных регуляторных влияний практически не от-

личались в исследуемых группах, вклад отдельных факторов в модуляцию микрокровотока достоверно отличался у юношей и девушек. Повышенный миогенный тонус микрососудов, снижение вклада эндотелиальных влияний и кардиоритма в модуляцию микроциркуляции у юношей указывает на наличие половых особенностей в регуляции микрокровотока. Сходные данные были получены и в исследовании [8]: у юношей симпато- и нормотоников функциональный вклад нейрогенного и миогенного ритмов в модуляцию кровотока был значительно ниже, а, как следствие, показатели нейрогенного и миогенного тонуса сосудов выше, чем в соответствующих группах девушек.

Оценка состояния микроциркуляции у одних и тех же лиц с интервалом в четыре года позволила выявить достоверные возрастные изменения как показателей микрокровотока, так и функционирования регуляторных механизмов микроциркуляции (рис. 1 и 2).

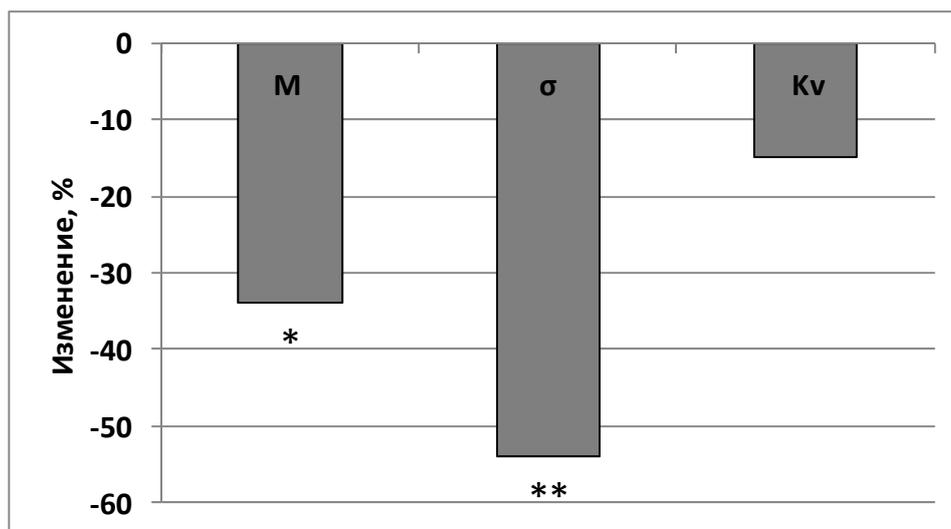


Рис. 1. Возрастные изменения показателей микроциркуляции

Обозначения: M – показатель микроциркуляции; σ – среднее квадратичное отклонение показателя микроциркуляции; Kv – коэффициент вариации.

Если в 2008 году средний возраст обследуемых составлял $20,0 \pm 1,85$ лет, то в 2012 году он составил $24,0 \pm 1,85$ лет. Показатель микроциркуляции за 4 года снизился на 34 % ($p < 0,05$), вариабельность микрокровотока уменьшилась на 54 % ($p < 0,001$), что говорит о возрастных изменениях кожного микрокровотока и снижении тканевой перфузии с возрастом. Снижение вариабельности микроциркуляции (о чем свидетельствуют изменения с возрастом параметров σ и Kv) указывает на изменения в системе регуляции микрокровотока за четырехлетний период. Несмотря на то, что значения приведенных

амплитуд регуляторных ритмов достоверно не изменились за период с 2008 по 2012 г., вклад различных ритмов в модуляцию кровотока (показатель $\text{Амакс}/3\sigma$) претерпел значительные изменения с возрастом. Вклад активных факторов регуляции микроциркуляции (эндотелиальных, нейрогенных и миогенных ритмов) возрос за указанный период, в то время как для пассивных (кардиальных и респираторных ритмов) отмечена выраженная тенденция к уменьшению нормированных амплитуд (рис. 2).

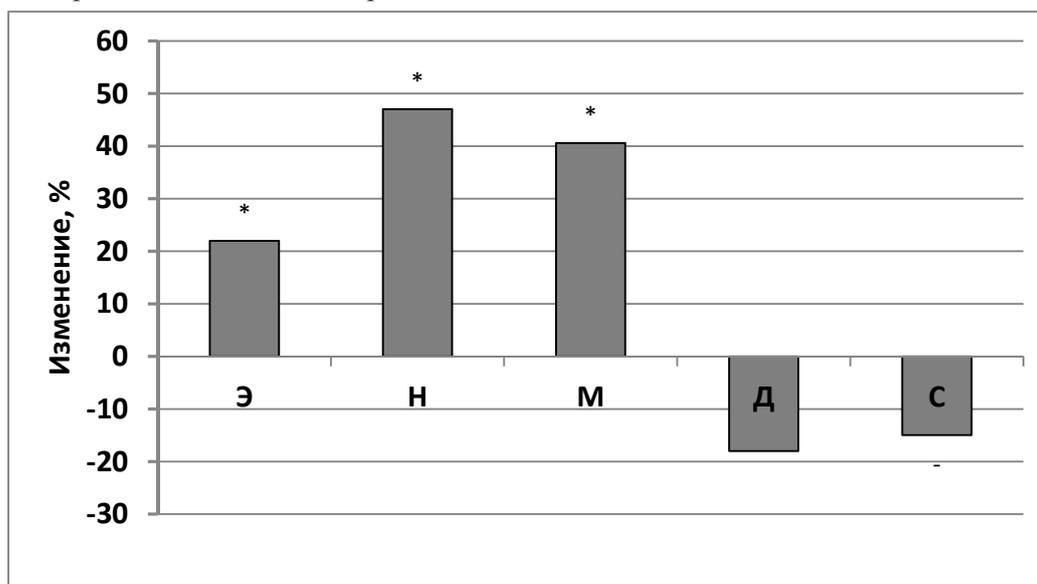


Рис. 2. Возрастные изменения нормированных амплитуд ($\text{Амакс}/3\sigma$) активных и пассивных факторов модуляции микроциркуляции

Обозначения: Э – амплитуды эндотелиального генеза, Н – нейрогенные, М – миогенные, Д – дыхательные и С – сердечные осцилляции микрокровотока.

В литературе сведений об изменениях функционирования системы микроциркуляции в данном возрастном периоде (с 20 до 24 лет) нам обнаружить не удалось, опубликованы результаты амплитудно-частотного анализа ритмических составляющих доплерограмм, которые свидетельствуют о том, что у соматически здоровых лиц пожилого возраста амплитуды эндотелиальных ритмов, нейрогенных и миогенных колебаний снижены, а уровни пассивных модуляций повышены по сравнению с соматически здоровыми лицами молодого возраста, однако различия статистически несущественны. У соматически здоровых лиц пожилого возраста нейрогенный тонус был статистически значимо увеличен, а миогенный тонус и индекс эффективности

микроциркуляции статистически значимо снижены в сравнении со здоровыми лицами молодого возраста [3].

Снижение амплитуд регуляторных влияний отмечено при сравнении групп здоровых людей: 18–20 лет (62 испытуемых) и старше 45 лет (40 испытуемых), что указывает на экономизацию функций и изменение соотношения регуляторных влияний с возрастом [2].

Таким образом, можно заключить, что метод лазерной доплеровской флоуметрии является информативным и обеспечивает возможность регистрации возрастных изменений и половых особенностей состояния гемомикроциркуляции и ее регуляторных механизмов.

Библиографический список

1. Каменская, О. В. Особенности микрососудистой реактивности и половой диморфизм у пациентов с ишемической болезнью сердца [Текст] / О. В. Каменская, Л. М. Булатецкая, А. М. Чернявский // Региональное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, № 3(43). – С. 18–22.
2. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови [Текст] : руководство для врачей / под ред. А. И. Курпаткина, В. В. Сидорова. – М. : Медицина. – 2005. – 256 с.
3. Маклакова, Н. В. Возрастные особенности микрососудистой реактивности у больных бронхиальной астмой [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. н. / Н. В. Маклаков. – Астрахань, 2010. – 24 с.
4. Михайлов, П. В. Возрастные особенности изменений микроциркуляторных характеристик в ответ на дозированную физическую нагрузку [Текст] / П. В. Михайлов [и др.] // Ярославский педагогический вестник. – 2012. – № 2. – Т. III (Естественные науки). – С. 119–123.
5. Наумова, В. В., Земцова, Е. С. Особенности медленных колебаний гемодинамики у мужчин и женщин [Текст] / В. В. Наумова, Е. С. Земцова // Физиология человека. – 2009. – № 35(5). – С. 47–53.
6. Сидоров, В. В. Физические основы метода лазерной доплеровской флоуметрии и его применение в неврологической практике [Текст] / В. В. Сидоров [и др.] // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2003. – № 12. – С. 26–35.
7. Сидоров, В. В., Сахно, Ю. Ф. Возможности метода лазерной доплеровской флоуметрии для оценки состояния микроциркуляции крови [Текст] / В. В. Сидоров, Ю. Ф. Сахно // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2003. – № 2. – С. 122–127.
8. Тверитина, Е. С., Федорова, М. З. Реактивность микрососудов кожи у юношей и девушек с разным тонусом вегетативной нервной системы [Текст] / Е. С. Тверитина, М. З. Федорова // Региональное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, № 1 (41). – С. 45–51.
9. El-Domyati M., Attia S., Saleh F. et al. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin // Exp Dermatol – 2002. – N 11. – P. 398–405.
10. Li L., Mac-Mary S., Marsaut D. et al. Age-related changes in skin topography and microcirculation // Arch Dermatol Res – 2006. – N 297. – P. 412–416.
11. Rajan V., Varghese B., van Leeuwen T. G., Streenbergen W. Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry // Lasers Med Sci – 2009. – N 24. – P. 269–283.
12. Szyguła R. The changes in cutaneous microcirculation in judo athletes before the preparation period and in the competition period // Medicina Sportiva. – 2008. – Vol. 12. – № 1. – P. 8–13.

Bibliograficheskiy spisok

1. Kamenskaya, O. V. Osobennosti mikrososudistoy reaktivnosti i polovoy dimorfizm u patsiyentov s ishemicheskoy bolezn'yu serdtsa [Tekst] / O. V. Kamenskaya, L. M. Bulatetskaya, A. M. Chernyavskiy // Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya. – 2012. – T. 11, № 3(43). – S. 18–22.
2. Lazernaya dopplerovskaya fluometriya mikrotsirkulyatsii krovi [Tekst] : rukovodstvo dlya vrachey / pod red. A. I. Kurpatkina, V. V. Sidorova. – M. : Meditsina. – 2005. – 256 s.
3. Maklakova, N. V. Vozrastny'ye osobennosti mikrososudistoy reaktivnosti u bol'ny'h bronkhial'noy astmoy [Tekst] : avtoref. dis. ... kand. med. n. / N. V. Maklakov. – Astrahan', 2010. – 24 s.
4. Mihaylov, P. V. Vozrastny'ye osobennosti izmeneniy mikrotsirkulyatorny'h harakteristik v ovet na

dozirovannuyu fizicheskuyu nagruzku [Tekst] / P. V. Mihaylov [i dr.] // Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik. – 2012. – № 2. – Т. III (Yestestvenny'ye nauki). – S. 119–123.

5. Naumova, V. V., Zemtsova, Ye. S. Osobennosti medlenny'h kolebaniy gemodinamiki u muzhchin i zhenshchin [Tekst] / V. V. Naumova, Ye. S. Zemtsova // Fiziologiya cheloveka. – 2009. – № 35(5). – S. 47–53.

6. Sidorov, V. V. Fizicheskiye osnovy' metoda lazernoy dopplerovskoy floumetrii i yego primeneniye v nevrologicheskoy praktike [Tekst] / V. V. Sidorov [i dr.] // Biomeditsinskiye tekhnologii i radioelektronika. – 2003. – № 12. – S. 26–35.

7. Sidorov, V. V., Sahnо, Yu. F. Vozmozhnosti metoda lazernoy dopplerovskoy floumetrii dlya otsenki sostoyaniya mikrotsirkulyatsii krovi [Tekst] / V. V. Sidorov, Yu. F. Sahnо // Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika. – 2003. – № 2. – S. 122–127.

8. Tveritina, Ye. S., Fedorova, M. Z. Reaktivnost' mikrososudov kozhi u yunoshey i devushek s razny'm

tonusom vegetativnoy nervnoy sistemy' [Tekst] / Ye. S. Tveritina, M. Z. Fedorova // Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya. – 2012. – Т. 11, № 1 (41). – S. 45–51.

9. El-Domyati M., Attia S., Saleh F. et al. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin // Exp Dermatol – 2002. – N 11. – P. 398–405.

10. Li L., Mac-Mary S., Marsaut D. et al. Age-related changes in skin topography and microcirculation // Arch Dermatol Res – 2006. – N 297. – P. 412–416.

11. Rajan V., Varghese B., van Leeuwen T. G., Streenbergen W. Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry // Lasers Med Sci – 2009. – N 24. – P. 269–283.

12. Szyguła R. The changes in cutaneous microcirculation in judo athletes before the preparation period and in the competition period // Medicina Sportiva. – 2008. – Vol. 12. – N 1. – P. 8–13.