

## МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ

Чуян Е.Н., Трибрат Н.С.

В статье описаны физические основы метода лазерной доплеровской флоуметрии и методические аспекты проведения исследования микрокровотока этим методом.

Ключевые слова: метод лазерной доплеровской флоуметрии, микроциркуляторное русло.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время существует ряд методов исследования микроциркуляторного русла. Среди них выделяют микроскопические техники [1], в частности офтальмоскопия, компьютерная TV-микроскопия сосудов конъюнктивы глазного яблока, ногтевого ложа, сосудов кожи. Они позволяют оценить структуру и диаметр микрососудов, состояние их тонуса, выявить различные внутри- и внесосудистые изменения (замедление кровотока, сладж, стаз, липидные включения и т.д.). Ряд методов позволяет определить линейную скорость кровотока. Однако данные методы исследования не позволяют оценить тканевой кровоток в целом, выявить особенности его регуляции. Существуют методы оценки тканевого кровотока [2], в том числе окклюзионная плетизмография, вымывание радиоактивных изотопов, флоорисцентная микроангиография, введение меченых микросфер и т.д. Однако некоторые из них нашли применение лишь в экспериментальной медицине из-за сложности применения у человека, другие связаны с необходимостью использования дорогостоящей техники. Кроме того, вышеперечисленные методы исследования микрокровотока позволяют лишь косвенно оценить особенности регуляции периферической гемодинамики [3].

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) является новым независимым методом исследования микроциркуляции, позволяющим не только оценить общий уровень периферической перфузии, но и выявить особенности регуляции кровотока в микроциркуляторном русле. Достоинством метода ЛДФ является его возможность измерения микрокровотока *in vivo* и безконтактно, что очень важно для тестирования микрогемодинамики, которая изменяет свои показатели при любой попытке подключения датчиков к капиллярам [4]. Другой важной особенностью ЛДФ является возможность получения большого количества измерений (тысячи в минуту), их регистрации и обработки в реальном масштабе времени [5-7], что, в частности, позволяет создавать мониторинговые системы ЛДФ. Последние в перспективе дают возможность анализировать весь спектр ритмических процессов в микрососудах от пульсовых до циркадных [4]. Данный метод исследования кожного микрокровотока широко распространен за рубежом [8], однако в Украине он практически не используется. Поэтому необходимо систематизировать и обобщить литературные данные о применении метода ЛДФ для оценки тканевой гемомикроциркуляции. В

связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось описание методических аспектов применения метода ЛДФ для исследования микроциркуляции.

#### ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МЕТОДА ЛДФ

Для исследования процессов микроциркуляции методом ЛДФ применяется зондирование ткани лазерным излучением. В ходе проведения исследований обеспечивается регистрация изменения потока крови в микроциркуляторном русле – флоуметрия [9].

Доставка лазерного излучения к ткани и прием отраженного сигнала в приборах осуществляется с помощью световодного зонда, состоящего из трех световодных моноволокон, где одно световодное волокно используется для передачи зондирующего излучения, а два других являются приемными, по которым отраженное излучение доставляется к прибору для фотометрирования и дальнейшей обработки (рис. 1).

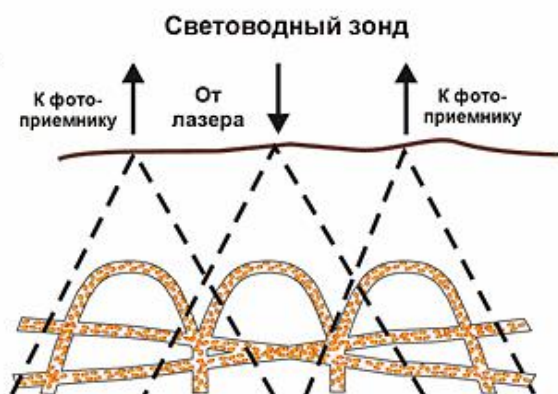


Рис.1. Схема зондирования ткани лазерным излучением [9].

Специфика работы флоуметра заключается в том, что в пределах диаграммы направленности локатора находится большое количество движущихся целей – клеток крови, а среда, в которой распространяется зондирующий сигнал имеет значительное поглощение [4].

В зависимости от задач исследования микроциркуляции крови применяются лазерные источники мощностью 1-2 мВт, излучающие в диапазоне от зеленой до ближней инфракрасной длины волны. Глубина зондируемого слоя ткани определяется длиной волны: чем короче длина волны, тем тоньше слой. Это обстоятельство объясняется различным поглощением излучения в биологических тканях молекулами меланина, гемоглобина,  $\beta$ -каротина, билирубина [9].

В отличие от ультразвуковых методов диагностики, основанных на эффекте Доплера, при применении более коротковолнового зондирующего лазерного излучения возможно получить отраженный сигнал наибольшей амплитуды от отдельных эритроцитов из более тонкого слоя ткани, около 1мм [9]. Этот слой зондирования может содержать в зависимости от типа ткани следующие звенья

гемомикроциркуляторного русла: артериолы, прекапилляры, капилляры, посткапиллярные венулы, венулы и артерио-венулярные анастомозы (АВА).

Поглощение излучения молекулами гемоглобина является наиболее значительным для коротковолнового излучения – это приводит к уменьшению величины детектируемого рассеяного излучения. Толщина зондируемого слоя ткани может составлять от 0,5 до 2 мм в диапазоне от зеленой до инфракрасной длины волны [10].

При взаимодействии лазерного излучения с тканью отраженный сигнал имеет две составляющие: постоянную и переменную. Постоянный сигнал обусловлен отражением от неподвижных структур зондируемой ткани и имеет ту же частоту, что и зондирующее излучение. Переменный сигнал связан с движущимися частицами – эритроцитами, его частота отличается от частоты падающего излучения в соответствии с доплеровским эффектом. Обработка отраженного от ткани излучения основана на выделении из зарегистрированного сигнала доплеровского сдвига частоты отраженного сигнала, пропорционального скорости движения эритроцитов. Доплеровский сдвиг частоты связан со скоростью движения эритроцитов следующим выражением:

$$\Delta f = 2nV/\lambda, \quad (1)$$

где  $\Delta f$  - доплеровский сдвиг частоты,

$n$  – показатель преломления и отражения излучения в ткани,

$V$  – скорость движения эритроцитов,

$\lambda$  – длина волны зондирующего излучения.

Следовательно, доплеровская частота пропорциональна скорости движения эритроцитов и зависит от архитектоники микрососудов в исследуемом объеме [4, 9].

В объеме  $1 \text{ мм}^3$  эритроциты движутся с разными линейными скоростями: от 0,68 до 3,87 мм/с в артериолах; от 0,1 до 0,6 мм/с в капиллярах и от 0,32 до 1,21 мм/с в венулах [11] (рис. 2; табл. 1).

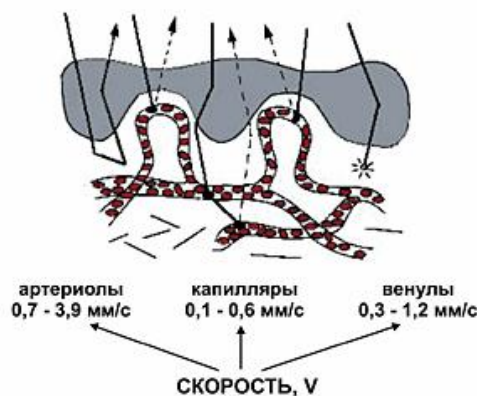


Рис. 2. Диапазоны скоростей эритроцитов в микроциркуляторном русле [9].

Различная скорость эритроцитов и их количество в сосудах микроциркуляторного русла вносят определенный вклад в формирование ЛДФ-сигнала (табл. 1). Расчеты, выполненные применительно к коже пальцев кисти,

показывают, что наибольшее количество эритроцитов присутствуют в венах. Поэтому примерно половина величины ЛДФ-сигнала формируется за счет тех эритроцитов, которые находятся в веноулярном звене микроциркуляторного русла. В других участках кожи, а также в слизистых оболочках могут быть иные структурные и функциональные отношения между микрососудами и содержанием эритроцитов, что может существенно влиять на формирование ЛДФ-сигнала [4]

Таблица 1

Распределение эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла кожи пальца руки человека и его влияние на формирование ЛДФ-сигнала ( по В.И. Козлову, 1999 [12])

Параметры	Типы микрососудов			
	Артериолы	Капилляры	Венулы посткапиллярные	Венулы
Количество микрососудов в 1 мм <sup>3</sup>	20	110	40	30
Количество эритроцитов	0,3x10 <sup>4</sup>	0,5x10 <sup>4</sup>	0,9x10 <sup>4</sup>	1,3x10 <sup>4</sup>
Линейная скорость эритроцитов, мм/с	2,3	0,6-0,8	0,8	2,3
Вклад в ЛДФ-сигнал, %	15	20	15	50

Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла могут быть ориентированы по отношению к фронту излучения под разными углами. Для того, чтобы от скоростного распределения эритроцитов по микрососудам перейти к распределению доплеровских частот, необходимо определить архитектуру микрососудов в исследуемом объеме. Максимальная частота доплеровского сдвига возникает, когда векторы направленности распространения фронта волны излучения и скорости движения эритроцитов параллельны. Для эритроцитов, которые движутся под углом к направлению зондирующего излучения, величина доплеровского сдвига частоты уменьшается пропорционально значению косинуса этого угла [9].

Объем зондируемой ткани в методе ЛДФ определяется геометрией и оптическими параметрами световодного зонда и составляет, как правило, около 1 мм<sup>3</sup> для излучения в красной области спектра. В этих условиях амплитуда принимаемого сигнала формируется в результате отражения излучения на ансамбле 3,5x10<sup>4</sup> эритроцитов, движущихся в среднем по 200 микрососудам с различными скоростями и по-разному количественно распределенных во всех отделах микрокапиллярного русла (см. табл. 1). 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 эритроцитов. Для этого проводят обработку отраженного сигнала электронным путем,

---

осуществляя усреднение по скоростям (доплеровским сдвигам частоты). Таким образом, мощность отраженного сигнала складывается из отдельных актов отражения излучения на каждом эритроците и, следовательно, зависит от их концентрации. На выходе прибора формируется результат флоуметрии определяемый как произведение линейной скорости эритроцитов на их концентрацию и представляет собой уровень перфузии единицы объема ткани за единицу времени [13]:

$$ПМ = N_{эр} \times V_{ср}, \quad (2)$$

где ПМ – параметр микроциркуляции,

$N_{эр}$  – концентрация эритроцитов,

$V_{ср}$  – линейная скорость эритроцитов.

В англоязычных публикациях встречаются разные названия измеряемого параметра микроциркуляции (ПМ) при ЛДФ: red (blood), cell flux, blood flux (flow), volume flux. В 1992 г. В Лондоне European Laser Doppler User Group (ELDUG) было рекомендовано применять при исследовании единый термин «Laser Doppler Perfusion» (перфузия) для описания выходного сигнала [9].

Амплитуда сигнала, пропорциональная указанному произведению, измеряется в относительных перфузионных единицах. Поток крови не может быть выражен в абсолютных единицах, например, в  $\text{мл/с/мм}^3$  [14], так как при окклюзии регистрируется броуновское движение остаточной крови, так называемый биологический ноль, который учесть при калибровке не представляется возможным.

Концентрация эритроцитов или тканевой гематокрит ( $N_{эр}$ ) определяется двумя факторами: капиллярным гематокритом ( $N_{кп}$ ) – объемным содержанием эритроцитов в капиллярной крови, оцениваемым в процентах, и количеством одновременно функционирующих капилляров ( $N_k$ ) в зондируемом объеме:

$$N_{эр} = N_{кп} \times N_k \quad (3)$$

Параметр  $N_k$  характеризует геометрию потока эритроцитов в ткани, которая зависит от общей гемодинамики строения микроциркуляторного русла и локальных органических особенностей микрокровотока, работы прекапиллярных сфинктеров и АВА, величины прекапиллярного и посткапиллярного сопротивления. Фактор  $N_{кп}$  в большой мере определяется реологическими параметрами крови [12].

Скорость  $V_{ср}$  является усредненной величиной, так как осуществляется одновременное зондирование эритроцитов, движущихся с разной скоростью по микрососудам различного типа и диаметра.

Таким образом, в неинвазивном методе ЛДФ результирующий параметр определяет динамическую характеристику микроциркуляции крови – изменение потока крови (перфузии ткани кровью) в единицу времени в зондируемом объеме.

#### ФОРМИРОВАНИЕ ЛДФ-СИГНАЛА И АНАЛИЗ ЛДФ-ГРАММЫ

В методе ЛДФ выходной сигнал непрерывно регистрируется в течение времени исследований, и диагностика состояния микроциркуляторного русла основывается на анализе графической записи изменении перфузии, которая называется ЛДФ-граммой (рис. 3).

ЛДФ-сигнал имеет постоянную и переменную от времени составляющие. Поэтому показатель микроциркуляции можно представить следующим выражением:

$$ПМ(t)=M+\delta ПМ(t) \quad (4)$$

M – постоянная составляющая средней перфузии в микроциркуляторном русле за определенный промежуток времени исследований, представляющая собой среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции. Этот показатель характеризует средний поток эритроцитов в единице объема ткани в зондируемом участке в интервале времени регистрации.

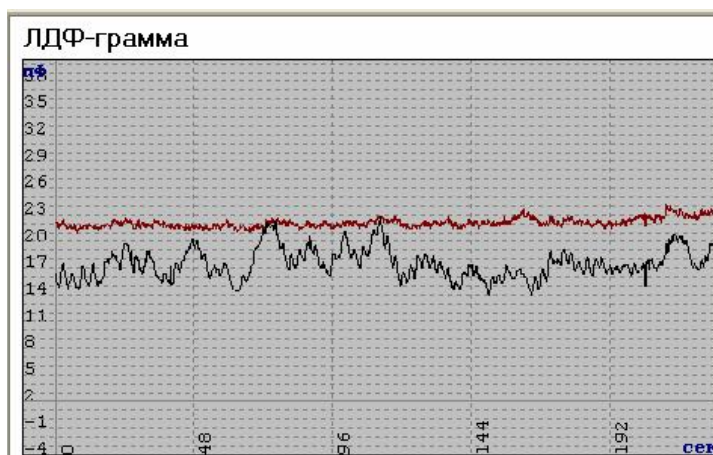


Рис. 3. Пример ЛДФ-граммы на мониторе компьютера.

Переменная составляющая ЛДФ-сигнала  $\delta ПМ(t)$  связана с обстоятельствами, изменяющими величину скорости и концентрацию эритроцитов, т.е. это механизмы контроля за перфузией.

В результате спектрального разложения ЛДФ-граммы на гармонические составляющие, выполняемого по программе амплитудно-частотного анализа, появляется возможность определить вклад различных ритмических составляющих флаксмоций (колебаний скоростей эритроцитов в микрососудах) в ЛДФ-грамме. Количественной величиной, характеризующей флаксмоции на ЛДФ-грамме, является среднее квадратичное отклонение ( $\sigma$ ) регистрируемых колебаний относительно среднего арифметического показателя микроциркуляции, именуемую в микрососудистой семантике как флакс. Каждая ритмическая компонента при спектральном анализе ЛДФ-граммы характеризуется двумя параметрами: частотой и амплитудой, измеряемой в перфузионных единицах. Представленные в амплитудно-частотном спектре ЛДФ-граммы колебания тканевого кровотока укладываются в диапазоне частот от 0,2 до 2,0 Гц [4].

Регистрируемый в ЛДФ-грамме колебательный процесс является результатом наложения колебаний, обусловленных активными и пассивными факторами. Ритмическая структура флаксмоций, выявляемая с помощью амплитудно-частотного анализа ЛДФ-граммы, есть результат суперпозиции различных

эндотелиальных, нейрогенных, миогенных, дыхательных, сердечных влияний на состояние микроциркуляции [12] (табл. 2, рис. 4).

Таблица 2.  
Ритмы флуктуаций потока эритроцитов в системе микроциркуляции

	Название	Частотный диапазон	Физиологическое значение
Пассивные факторы тканевой модуляции	Пульсовые волны (сердечные волны, cardio frequency)	0,8-0,16 Гц 50-90 кол/мин [9]	Обусловлены изменением скорости движения эритроцитов в микрососудах, вызываемым перепадами систолического и диастолического давления. Амплитуда отражает тонус резистивных сосудов.
	Дыхательные волны (респираторно-связанные колебания, high frequency)	0,15-0,4 Гц 12-24 кол/мин [9]	Связаны с веноулярным звеном. Обусловлены динамикой венозного давления при легочной механической активности, присасывающим действием «дыхательного насоса».
Активные факторы модуляции тканевой кровотока	Миогенные колебания (вазомоторные колебания, low frequency)	0,06-0,15 Гц или 3,6-9 кол/мин [14]; 4-7 кол/мин [15-17]	Обусловлены состоянием мышечного тонуса прекапилляров, регулирующим приток крови в нутритивное русло.
	Колебания в нейрогенном диапазоне	0,02-0,05 Гц [18] 1,2-3 кол/мин [9]	Обусловлены низкочастотным симпатическим адренергическим влиянием на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков АВА. Позволяют оценить периферическое сопротивление артериол. Увеличение амплитуды является индикатором снижения сопротивления и возможного усиления кровотока по АВА шунту при повышении миогенного тонуса.
	Эндотелиальные колебания (very low frequency)	0,0095-0,02 Гц [19]	Обусловлены функционированием эндотелия, а именно выбросом вазодилататора NO

Активные факторы контроля микроциркуляции - это миогенный, эндотелиальный и нейрогенный механизмы тонуса сосудов и просвета сосудов (см. рис. 4). Эти факторы контроля регуляции модулируют поток крови со стороны сосудистой стенки и реализуются через ее мышечный компонент [9]. Активные механизмы создают поперечные колебания кровотока, в результате чередования сокращения и расслабления мышц сосудов (рис. 5).

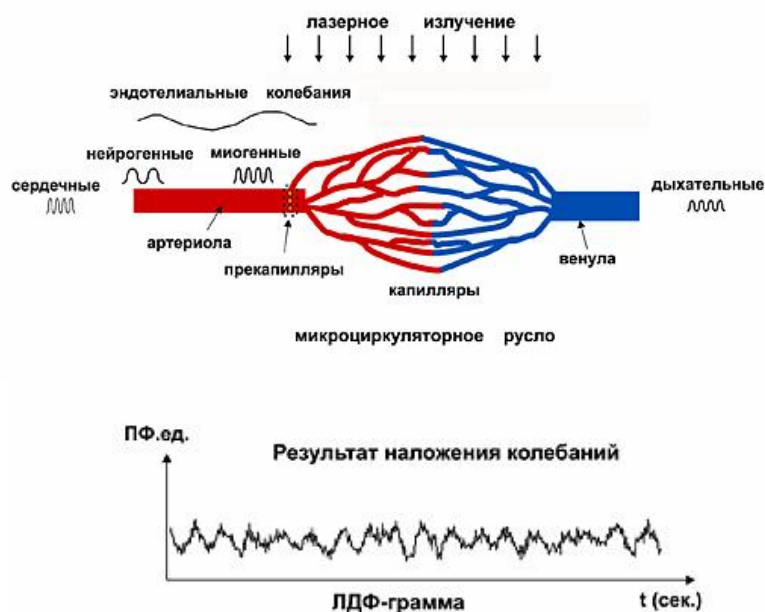


Рис. 4. Пространственная локализация воздействий на микроциркуляцию активных и пассивных факторов [9].



Рис. 5. Факторы, определяющие модуляцию кровотока [9].

Миогенная регуляция в чистом виде локализована на прекапиллярных сфинктерах. Периодические изменения диаметра просвета артериол называются вазомоциями. В физиологической интеграции управления микрокровоотком именно миогенный тонус является последним звеном контроля микрокровоотка перед капиллярным руслом. Происхождение вазомоций в диапазоне 0,06-0,15 Гц связывают с локальными пейсмейкерами внутри гладких мышечных волокон. Н. Schid-Shonbein с соавт. [20] прекапиллярную вазорелаксацию связывают с “гистамино”-похожей субстанцией, а А. Stefanovska и М. Brasic [14] придерживаются мнения, что миогенные колебания вызваны осцилляциями концентраций ионов  $Ca^{2+}$  через мембраны мышечных клеток. Аналогичное обоснование миогенных колебаний приведено В.И. Маколкиным [3]. Увеличение амплитуды колебаний в миогенном диапазоне свидетельствует о снижении периферического сопротивления, а следовательно, о вазодилатации. Уменьшение вазомоторных амплитуд вызывает повышение мышечного сопротивления и, следовательно, снижение нутритивного кровотока [9].



Важным диагностическим параметром миогенных колебаний кожного кровотока является ее частота. В публикациях А. Bollinger с соавт. [21] осцилляции кровотока в артериолах выделены в диапазон медленных колебаний 1-8 кол./мин. А. Stefanovska и М. Bracic [14] отнесли миогенные колебания к диапазону 3,6-9 кол./мин. (0,06-0,15 Гц). Для миогенных колебаний, соответствующих локальной местной регуляции мышечного тонуса, определяемого гладкими мышечными волокнами прекапилляров, частоты колебаний могут находиться в диапазоне 4-7 кол./мин [15]. Эти данные соответствуют волярной поверхности пальцев руки и ноги, а также коже на предплечье [9]. На рис. 6. представлена ЛДФ-грамма с выраженными миогенными колебаниями.

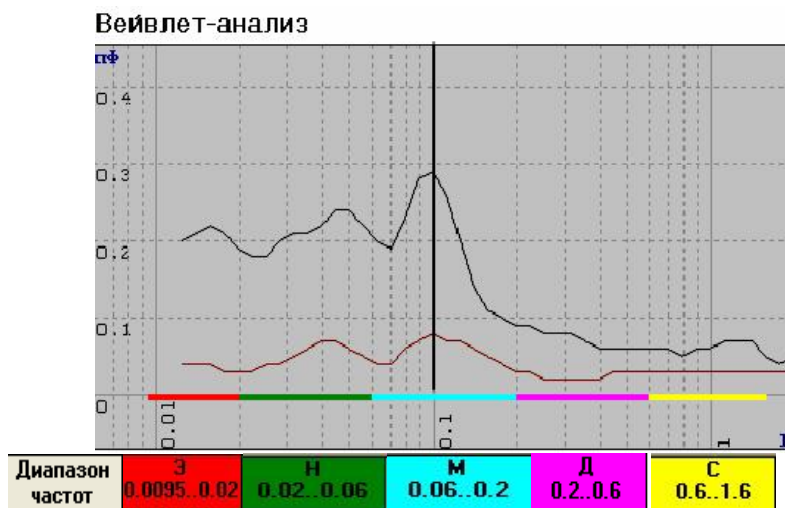


Рис. 6. ЛДФ-грамма с выраженными миогенными колебаниями и амплитудно-частотный спектр колебаний у испытуемого К.

Физиологическая природа нейрогенных колебаний связана с низкочастотными симпатическими адренергическими влияниями на гладкую мускулатуру артериол и артериолярных участков АВА. Колебания, обусловленные симпатической активностью, имеют характерные частоты в диапазоне 1,2-3 кол./мин. (0,02-0,05 Гц) [16, 17, 20]. Этот частотный диапазон соответствует резонансной частоте резистивных сосудов 0,03 Гц [18]. При выраженной активации симпатических вазомоторных волокон симпатическая импульсация усиливается, приводя к увеличению нейрогенного компонента артериолярного тонуса, возрастанию жесткости сосудистой стенки и снижению амплитуд осцилляций кровотока в нейрогенном диапазоне; при хронической частичной подпороговой симпатической денервации или повышении температуры среды выше 24-25 °С их амплитуда может возрасть. В ЛДФ-грамме нейрогенная активация проявляется в виде аperiodических, асимметричных фрагментов снижения перфузии в результате проявления вазоконстрикторной симпатической активности (рис. 7). Вазоконстрикторные эпизоды отражают временную нейродинамическую активность, проявляющуюся в короткое время между длинными периодами «молчания». Ритмические колебания синусоидальной формы в

нейрогенном диапазоне активируются при условиях, когда работают механизмы терморегуляторного вазоспазма, а также при патологических дефектах, когда изменен контроль артериолярного тонуса симпатическими вазоконстрикторами [9]. Нейрогенная терморегуляторная активность в регуляции микрокровотока кожи значительно зависит от температуры окружающей среды и от психического состояния человека [20].

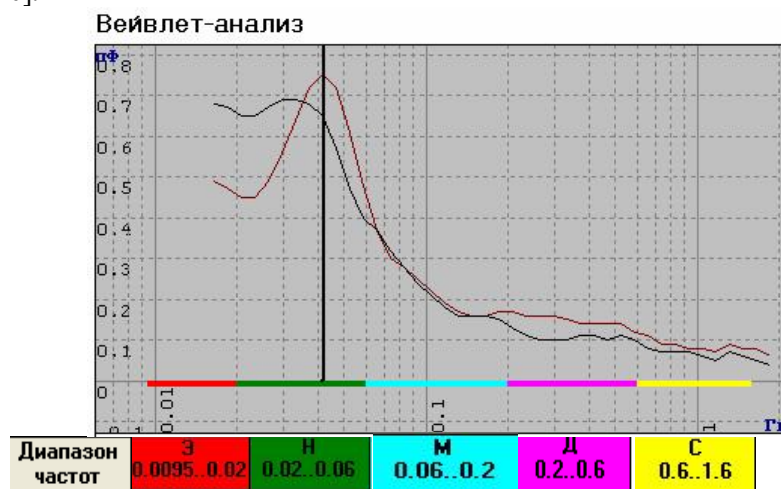


Рис. 7. ЛДФ-грамма с выраженными нейрогенными колебаниями и амплитудно-частотный спектр колебаний у испытуемого Р.

Микроваскулярный эндотелий осуществляет модуляцию мышечного тонуса секрецией в кровь периодически изменяющихся концентраций вазоактивных субстанций, в частности NO [14]. Ритмические процессы, которые воздействуют на транспортную функцию крови и содействуют обменным процессам, являются медленными динамическими процессами (колебания вблизи 0,01 Гц) (рис. 8).

Р. Kvandal с соавт. [19] обосновали, что среди двух вазодилататоров из ряда вазоактивных субстанций, выделяемых эндотелием, – оксида азота (NO) и простагландинов (PGs) – только NO ответственен за сокращение миоцитов с частотой около 0,01 Гц. Эндотелиальный выброс NO включен в физиологическую регуляцию мышечного тонуса и играет важную роль в регуляции давления и распределения потока крови. В условиях эксперимента это может проявляться в двух случаях: в ответ на механическую стимуляцию после прекращения окклюзии и в ответ на химическую стимуляцию ацетилхолином [9].

Н.D. Kvernmo с соавт. [22] предложена методика, позволяющая определить активность выброса NO путем сравнения сосудистых реакций в ответ на введение специфических агентов, вызывающих эндотелий-зависимую (ацетилхолин) и эндотелий-независимую (нитропруссид натрия) вазодилатацию.

Пассивные факторы, вызывающие колебания кровотока вне системы микроциркуляции – это пульсовая волна со стороны артерий и присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен. Эти колебания проникают с

кровотоком в зондируемую область микроциркуляторного русла. Пассивные факторы организуют продольные колебания кровотока, выражающиеся в периодическом изменении объема крови в сосуде (см. рис. 5).

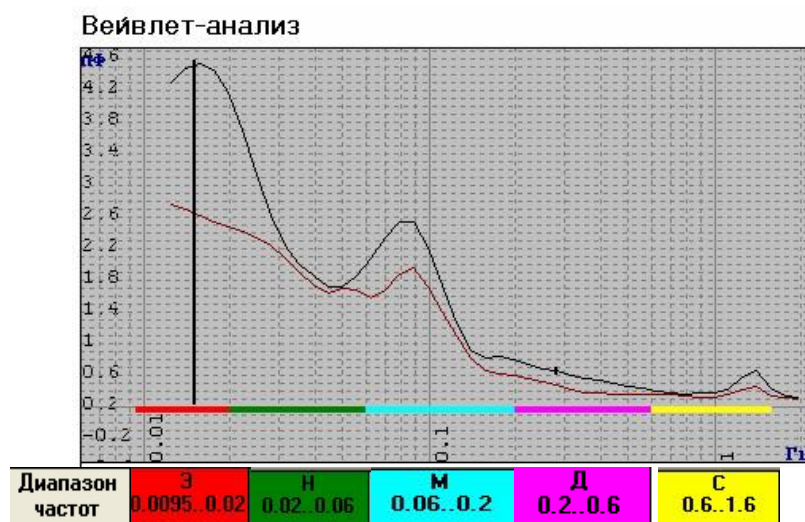


Рис. 8. ЛДФ-грамма с выраженными эндотелиальными колебаниями и амплитудно-частотный спектр колебаний у испытуемого М.

Амплитуда пульсовой волны, приносящейся в микроциркуляторное русло со стороны артерий является параметром, который изменяется в зависимости от состояния тонуса резистивных сосудов. Увеличение амплитуды пульсовой волны означает увеличение притока крови в микроциркуляторное русло. Часто увеличение амплитуды может наблюдаться у пожилой группы индивидуумов вследствие снижения эластичности сосудистой стенки, а также у пациентов с гипертонической болезнью. Значительный рост амплитуд пульсовой волны может наблюдаться при тепловой гиперемии – при температуре нагрева около 42<sup>0</sup>С.

Частота пульсовой волны может изменяться от 0,6 Гц у спортсменов до 1,6 Гц у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы [9]. На рис. 9 представлен фрагмент ЛДФ-граммы с выраженными пульсовыми волнами.

Дыхательная волна в микроциркуляторном русле обусловлена распространением в микрососуды со стороны путей оттока крови волн перепадов давления в венозной части кровеносного русла и преимущественно связана с дыхательными экскурсиями грудной клетки. Место локализации дыхательной волны в системе микроциркуляции являются вены. Увеличение амплитуды дыхательной волны указывает на снижение микроциркуляторного давления. Ухудшение оттока крови из венозного звена может сопровождаться увеличением объема крови в микроциркуляторном русле, что приводит к росту амплитуды дыхательной волны в ЛДФ-грамме. Наиболее явно дыхательные волны проявляются при снижении градиента артериовенозного давления [21]. На рис. 10

представлен пример фрагмента ЛДФ-граммы при снижении давления в микроциркуляторном русле.

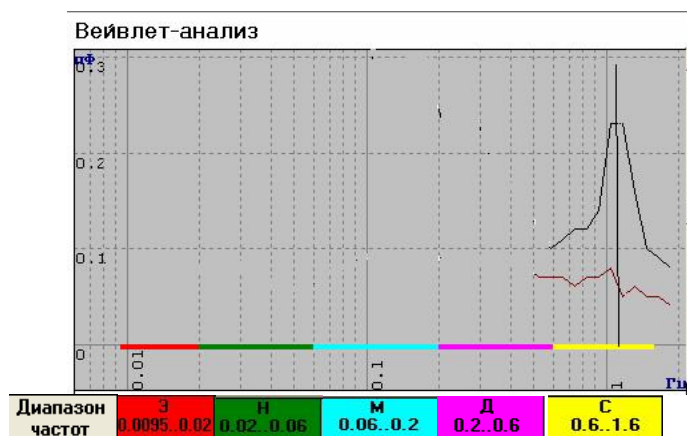


Рис. 9. Фрагмент ЛДФ-граммы с пульсовыми ритмами и амплитудно-частотный спектр у испытуемого Н.

Таким образом, исполнительным «объектом» или «мишенью» активных факторов контроля является мышечный компонент сосудистой стенки. Пассивные факторы также влияют на сосудистую стенку посредством колебаний кровотока. В физиологических условиях мишенью нейрогенной регуляции являются артериолы и АВА, миогенная регуляция в чистом виде локализована на прекапиллярах и сфинктерах, эндотелиальная регуляция диаметра сосудов затрагивает преимущественно прекапиллярное звено (артериолы и прекапилляры). В капиллярах регистрируются миогенные и пульсовые колебания, проникающие с кровотоком при движении крови через прекапилляры [15]. Регистрируемый в ЛДФ-грамме колебательный процесс является результатом наложения колебаний, обусловленных активными и пассивными факторами (см. рис. 4).

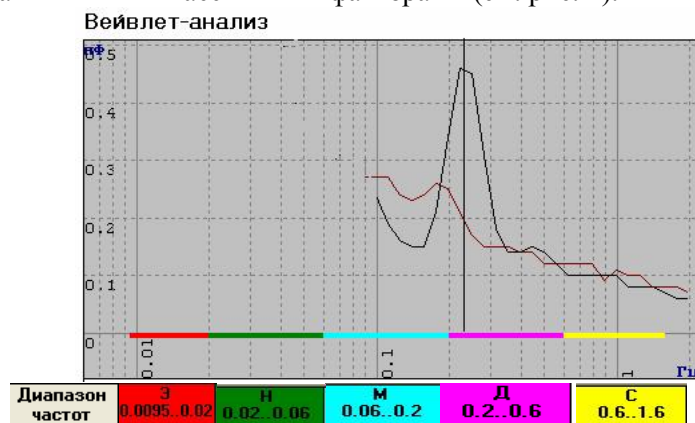


Рис. 10. Фрагмент ЛДФ-грамм при снижении градиента микроциркуляторного давления и амплитудно-частотный спектр у испытуемого Т.

---

Следовательно, микроциркуляторное русло находится под многоуровневым контролем, который организован через систему обратной связи. В процессе самоорганизации кровотока эндотелиальная активность, нейрогенный и миогенный механизмы контроля, пульсовые и дыхательные ритмы образуют положительные и отрицательные обратные связи. Работа активных механизмов обусловлена локальными физиологическими потребностями тканей. Возрастание или снижение амплитуд пассивных механизмов может являться следствием проявления функционирования активных механизмов контроля и наоборот [9].

#### МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТОДОМ ЛДФ

Для исследований микроциркуляции применяется несколько способов аппаратной реализации. Существует одноканальный и двухканальный способы зондирования ткани. Как правило, в одноканальных анализаторах используется лазерное излучение длиной волны 0,63 мкм. Данный способ зондирования следует применять для изучения кожного кровотока, кровотока в колоноскопических, эндоскопических исследованиях. Для этих целей используется анализатор ЛАКК-02 (производство НПП «Лазма», Россия) в первом (одноканальном) исполнении. Двухканальный способ зондирования имеет два варианта исполнения: два одинаковых или спектрально разных канала. Первый вариант позволяет осуществить контроль состояния перфузии на одной из областей, когда другая область является предметом исследования. Области могут быть симметричными, а также соседними, например патологическая и здоровая. В данном случае используется анализатор кровотока ЛАКК-02 в двухканальном исполнении. Во втором варианте применяется два зондирующих канала с лазерными источниками на разных длинах волн 0,63 мкм и 1,15 мкм. Данный способ позволяет исследовать микроциркуляцию в разных слоях по глубине на одной области ткани [9].

Для записи ЛДФ-гарммы датчики анализатора неподвижно фиксируют к месту исследования с помощью пластыря и устанавливают с помощью штативов для избежания регистрации артефактов. Время записи должно быть не менее 4 минут для регистрации достаточного количества циклов изменения показателей микроциркуляции.

При исследовании в положении лежа на спине или сидя, рука должна находиться на уровне сердца. В ходе диагностики, проводимой по единой методике, положение испытуемых должно быть одинаковым.

Для получения стабильной записи ЛДФ-граммы необходимо соблюдать условия стандартизации измерений в ходе проведения исследования:

1. Выбор тестируемой области. Метод ЛДФ не имеет ограничений в выборе тестируемой области, так как световодный зонд может быть установлен на любом участке тела в зависимости от задач исследования. Самым доступным органом для исследования микроциркуляции методом ЛДФ является кожа. В работе I. M. Braverman [23] представлены данные по анатомической пространственной неоднородности распределения микрососудов в дерме. Существуют зоны с насыщенным содержанием артериол и венул, а также зоны, окружающие указанные участки, где васкуляризация незначительно выражена. Лазерный световод может

быть установлен на зону с минимальной, средней или максимальной степенью васкуляризации, что и обуславливает вариабельность ЛДФ-сигнала.

Чаще всего для ЛДФ используют зону в области нижней трети предплечья, расположенной по срединной линии на 4 см выше основания шиловидных отростков локтевой и лучевой кости. Согласно мнению некоторых авторов [24], область наружной поверхности предплечья является обобщающей для оценки состояния микроциркуляторного русла, поэтому всегда рекомендуется для исследования. Выбор этой зоны обусловлен тем, что она, во-первых, бедна АВА, поэтому в большей степени отражает кровоток в нутритивном русле, во-вторых, является зоной Захарьина-Геда сердца, и, в третьих, кровоток в этой области меньше подвержен внешним воздействиям, по сравнению с областями, богатыми АВА. Для исследования нейрогенной регуляции сосудов лучшим объектом служит кожа подушечки II пальца кисти и I пальца стопы, наиболее богатые вегетативными и сенсорными нервными волокнами. В таблице 3 приведен стандартный перечень областей для проведения исследования методом ЛДФ.

Таблица 3.

Наиболее часто употребляемые области для регистрации ЛДФ [12]

Область	Локализация датчика
Кисть	Дорсальная (тыльная) поверхность IV пальца левой кисти, вентральная (волярная) поверхность IV пальца левой кисти Дорсальная поверхность II пальца кисти
Предплечье	Передняя поверхность в области нижней трети
Стопа	Волярная (подошвенная) поверхность большого пальца, Тыльная поверхность области I межпальцевого промежутка
Голень	Передняя поверхность в области нижней трети
Голова	Область лба и мочки уха
Слизистые оболочки	
Полость рта	Доступные для зондирования участки прадонта
Желудок	При эндоскопии с помощью специального зонда, видимого в рабочий канал эндоскопа
Мочевой пузырь	
Прямая кишка	

Проведение исследования в соответствующих зонах Захарьина-Геда дает косвенную оценку регуляции сосудов микроциркуляторного русла во внутренних органах [3].

2. Физическая активность испытуемого заключается в пребывании испытуемого перед проведением ЛДФ в спокойном состоянии в положении сидя или лежа не менее 10 минут.

3. Тепловой режим - в помещении при температуре 18<sup>0</sup>С обнаруживается преимущественная вазоконстрикция, обусловленная нейрогенной регуляцией; она незначительно проявляется в диапазоне 21-24<sup>0</sup>С и отсутствуют при 27<sup>0</sup>С.

4. Временная вариабельность. Перфузия подвергается как циркадианной ритмике так и инфрадианной [25].

---

Таким образом, обладая высокой чувствительностью к изменениям микрогемодинамической ситуации в сосудистом русле, метод ЛДФ имеет неоспоримое преимущество перед другими методиками исследования микроциркуляции, поскольку позволяет оценить состояние функционирования механизмов управления кровотоком.

#### ВЫВОДЫ

1. Метод лазерной доплеровской флоуметрии обеспечивает детальный анализ состояния микроциркуляции, основанный на выделении ритмических составляющих гемодинамических потоков в тканях.
2. Метод ЛДФ позволяет исследовать и оценивать механизмы активной и пассивной регуляции тканевого кровотока.

#### Список литературы

1. Селезнев С.А., Назаренко Г.И., Зайцев В.С. Клинические аспекты микроциркуляции. – Л.: Медицина, 1985. – 208 с.
2. Hirase K., Shimizu A., Yokoi N., Nishida K., Kinoshita S. Age-related alteration of tear dynamics in normal volunteers. // *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*. – 1994. – V. 98. –N. 6. –P. 575-578.
3. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии. Пособие для врачей / Под ред. Маколкин В.И., Бранько В.В., Богданова С.А. и др. – М.: Россельхозакадемия, 1999. – 48 с.
4. Козлов В. И., Корси Л.В., Соколов В.Г. Лазерная доплеровская флоуметрия и анализ коллективных процессов в системе микроциркуляции // *Физиология человека*. –1998. – Т. 24. – №6. – С.112.
5. Bonner R.F., Nossal R., Modal for Laser Doppler measurements of blood flow in tissue microcirculation // *Appl. Optics*. – 1981. – V. 20. – P. 2097.
6. Арефьев И.М., Еськов Л.П. Метод спектроскопии оптического смещения в диагностике микроциркуляции крови // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. – 1981. – №2. – С.244.
7. Nilsson G.E. Signal processor for Laser Doppler tissue flowmeters // *Med. Biol. Eng. Comput.* – 1981. – V.22. – P. 343.
8. Fagrell B. Problems using laser Doppler on the skin in clinical practice, *Laser Doppler*. London, Los Angeles, Nicosia: Med. Orion publish. Company. – 1994. – P. 49-54
9. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. – М.: Медицина. – 2005 – 254с.
10. Anderson R.P., Parrish J.A. The optics of human skin // *J. Invest. Dermatol.* – 1981. – V.77. – P. 13.
11. Фолков Б., Нил Э. Кровообращение. – М., 1976. – 463 с.
12. Метод лазерной доплеровской флоуметрии. Пособие для врачей / Под ред. Козлов В.И., Мач Э.С., Литвин Ф.Б., Терман О.А., Сидоров В.В. – М. – 1999. – 48 с.
13. Almond N. *Laser Doppler flowmetry: Theory and practice*, Laser Doppler. – London –Los Angeles Nicosia: Med-Orion Publishing Company, 1994. –P. 17-31.
14. Stefanovska A., Bracic M., Physics of the human cardiovascular system // *Contemporary Physics*. – 1999. – 40, N1. – P. 31-35.
15. Mayer M.F., Rose C.J., Hulsmann J.-O. et.al. Impaired 0.1 – Hz vasomotion assessed by laser Doppler anemometry as an early index of peripheral sympathetic neuropathy in diabetes // *Microvascular Research*, 2003. – V. 65. – P. 88-95.
16. Крупаткин А.И. Клиническая нейроангиофизиология конечностей (периваскулярная иннервация и нервная трофика). – М.: Научный мир. – 2003. – 328с.
17. Крупаткин А.И., Сидоров В.В., Меркулов М.В. и др. Функциональная оценка периваскулярной иннервации конечностей с помощью лазерной доплеровской флоуметрии. Пособие для врачей. – М. – 2004. – 26с.

- 
18. Rosenbaum M., Race D. Frequency-response characteristics of vascular resistance vessels // *Am.J.Physiol.* — 1968.—V. 215. — P. 1397-1402.
  19. Kvandal P. Stefanovska A., Veber M. et. Al. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler Flowmetry, iontophoresis and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandins // *Microvascular Research.* — 2003. — 65. — P. 160-171.
  20. Schmid-Schonbein H., Ziege S., Grebe R. et.al. Synergetic Interpretation of Patterned Vasomotor Activity in Microvascular Perfusion: Descrete Effects of Miogenic and Neurogenic Vasoconstriction as well as Arterial and Venous Pressure Fluctuation // *Int. J. Micror.* — 1997. — V.17. — P. 346-359.
  21. Bollinger A., Yanar A., Hofmann U., Franzeck U.K. Is high-frequency flux motion due to respiration or to vasomotion activity? *Progress Appl. Microcirculation.* Basel: Karger. — 1993. — V. 20. — P. 52.
  22. Kvernmo H.D., Stefanovska A., Kirkeboen K.A., Kvernedo R. Oscillations in the Human Cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependent and Endothelium-Independent Vasodilators // *Microvascular Research.* — 1999. — V. 57. — P. 298-309.
  23. Braverman I. M., Keh A. and Goldminz D. Correlation on laser Doppler wave patterns with underlying microvascular anatomy // *J. Invest. Dermatol.* — 1990. — V.95. — P. 283.
  24. Мач Э.С. Лазер-Доплер флоуметрия в оценке микроциркуляции в условиях клиники. /Материалы первого Всероссийского симпозиума «Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике» // Москва, 1996. — С.56-64.
  25. Сидоров В.В., Ронкин М.А., Максименко И.М. Физические основы метода лазерной доплеровской флоуметрии и его применение в неврологической практике. // *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника.* — 2003. — №12. — С.26-35.

Чуян О.М., Трибрат Н.С. Методичні аспекти застосування методу лазерної доплерівської флоуметрії // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія“.* — 2008. — Т. 21 (60). — № 2. — С. 156-171.

У статті описані фізичні основи методу лазерної доплерівської флоуметрії і методичні аспекти проведення дослідження мікрокровотоку цим методом.

Ключові слова: метод лазерної доплерівської флоуметрії, мікроциркуляторне русло.

Chuyan E. N., Tribрат N.S. Methodical aspects of application of method of laser Doppler Flowmetry // *Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry».* — 2008. — V.21 (60). — № 2. — P. 156-171.

Physical bases of method of laser Doppler flowmetry and methodical aspects of conducting of research of blood microcirculation help of this method are described in the article

Keywords: microcirculation, laser Doppler Flowmetry

Пост упило в редакцию 30.04.2008 г.



---