

# Metody oceny mikrokrążenia — laserowy skaner dopplerowski

## Assessment methods of microcirculation: laser Doppler imaging

Marcin Hellmann, Jolanta Neubauer-Geryk, Leszek Bieniaszewski

Zakład Fizjologii Klinicznej Katedry Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

### STRESZCZENIE

**Uogólniona dysfunkcja mikrokrążenia występuje w przebiegu wielu chorób, między innymi: cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, niewydolności nerek czy choroby wieńcowej. Ilościowa ocena reaktywności mikrokrążenia jest szczególnie trudna ze względu na niewielkie wymiary naczyń, ich niejednorodną morfologię oraz zróżnicowany przepływ krwi. W ostatnich latach do nieinwazyjnych badań reaktywności mikrokrążenia obwodowego wprowadzono laserowy skaner dopplerowski.**

*Choroby Serca i Naczyń 2012, 9 (2), 106–109*

**Słowa kluczowe:** mikrokrążenie, laserowy skaner dopplerowski, śródbłonek

### ABSTRACT

**In natural history of many diseases including diabetes, hypertension, renal insufficiency or coronary artery disease, generalized microcirculatory dysfunction is present. The quantitative assessment of microcirculation reactivity is difficult because of extremely small vessels size, differences in its morphology and blood flow distribution. In recent years the laser Doppler imaging was introduced to peripheral microcirculation studies as a new non-invasive technique.**

*Choroby Serca i Naczyń 2012, 9 (2), 106–109*

**Key words:** microcirculation, laser Doppler imaging, endothelium

#### Adres do korespondencji:

lek. Marcin Hellmann  
Zakład Fizjologii Klinicznej  
Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii GUmed  
Dębinki 7, 80–211 Gdańsk  
tel.: 58 349 23 40, faks: 58 349 23 41  
e-mail: marcin.hellmann@gmail.com

### WPROWADZENIE

Choroby układu sercowo-naczyniowego są główną przyczyną zgonów w krajach uprzemysłowionych. Wspólną cechą wszystkich tych schorzeń są zmiany strukturalne bądź czynnościowe zachodzące w naczyniach, które powodują zaburzenia przepływu krwi [1]. Dysfunkcja śródbłonna jest kluczowym zjawiskiem w patogenezie chorób układu sercowo-naczyniowego i wyprzedza zmiany strukturalne w naczyniach, jak również wystąpienie objawów klinicznych [2, 3].

Śródbłonek wpływa na napięcie ściany naczyń poprzez wydzielanie tlenu azotu (NO, *nitric oxide*), prostacyklin, endoteliny 1 (ET-1, *endothelin-1*) oraz śródbłonkowego czynnika hiperpolaryzującego (EDHF, *endothelium-derived hyperpolarizing factor*). Ponadto nieuszkodzony śródbłonek hamuje agregację płytek krwi, kontroluje przepuszczalność naczyń, wpływa na migrację leukocytów oraz odpowiada za proliferację komórek mięśni gładkich. Niemniej jednak pojęcie funkcji śródbłonna najczęściej odnosi się do zdolności uwalniania substancji wazodylacyjnych (NO, prostacykliny), które bezpośrednio rozkurczają mięśniówkę gładką ściany naczyniowej [3]. Dysfunkcja śródbłonna występuje w przebiegu wielu chorób, między innymi nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej, cukrzycy czy niewydolności serca [3–6]. Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że miejscowe zaburzenie funkcji mikrokrążenia może odzwierciedlać uogólnioną dysfunkcję układu krążenia, jak również wyprzedzać zmiany zachodzące w dużych naczyniach [2, 6].

Istnieje kilka nieinwazyjnych i stosowanych rutynowo technik oceny funkcji śródbłonna, wśród których należy wymienić wazodylację tętnicy ramiennej po niedokrwieniu (FMD, *flow-mediated vasodilation*), badanie podatności naczyń tętniczych (PWV, *pulse wave velocity*)

czy ocenę kompleksu błona środkowa–wewnętrzna (IMT, *intima-media thickness*). Wszystkie te metody cechuje uznana wartość kliniczna w monitorowaniu progresji choroby i ocenie efektów leczenia, niemniej jednak służą one badaniu dużych i średnich naczyń, nie dając wglądu w mechanizmy patologiczne zachodzące w mikrokrążeniu [4, 5].

Mikrokrążenie to część układu sercowo-naczyniowego, której badanie jest szczególnie trudne ze względu na mikroskopijne wymiary naczyń ( $< 200 \mu\text{m}$ ), niejednorodną morfologię oraz zróżnicowany przepływ krwi w zależności od miejsca badania [7]. Najwięcej informacji na temat budowy i fizjologii mikrokrążenia dostarczyły badania naczyń *in vitro*. Izolowane naczynia można poddawać rozciąganiu na miografie oraz badać wpływ bodźców zewnętrznych, takich jak substancje wazoaktywne. Takie podejście, mimo że inwazyjne, pozwala na ocenę reaktywności naczyń bez uwzględnienia wpływu układu nerwowego, krążących we krwi hormonów i metabolitów oraz naturalnych bodźców mechanicznych. Najlepszym przykładem tego typu badań są doświadczenia, których wyniki opublikowali w 1980 w *Nature* Furchgott i Zawadzki [8, 9]. Wyjaśniły one funkcję regulacyjną śródbłonna naczyniowego. Niemniej jednak wyniki tego typu badań, mimo swoich niewątpliwych zalet, są trudne do zastosowania w warunkach klinicznych [9].

W czasie ostatnich 20 lat udoskonalono wiele metod pozwalających badać mikrokrążenie *in vivo*. Większość z nich, jak na przykład metoda izotopowa czy pletyzmografia, jest wykorzystywana głównie w celach naukowych [7]. Metodami badania mikrokrążenia o uznanej wartości klinicznej są termografia, kapilaroskopia i wideokapilaroskopia [10]. Wymienione techniki badania mikrokrążenia zwykle stosuje się w warunkach podstawowych, a wyniki uzyskanych pomiarów są oparte na ocenie jakościowej. Użyteczność tych technik w badaniu mechanizmów regulacyjnych mikrokrążenia istotnie się zwiększa po zastosowaniu testów fizjologicznych lub farmakologicznych [9].

### LASEROWY SKANER DOPLEROWSKI

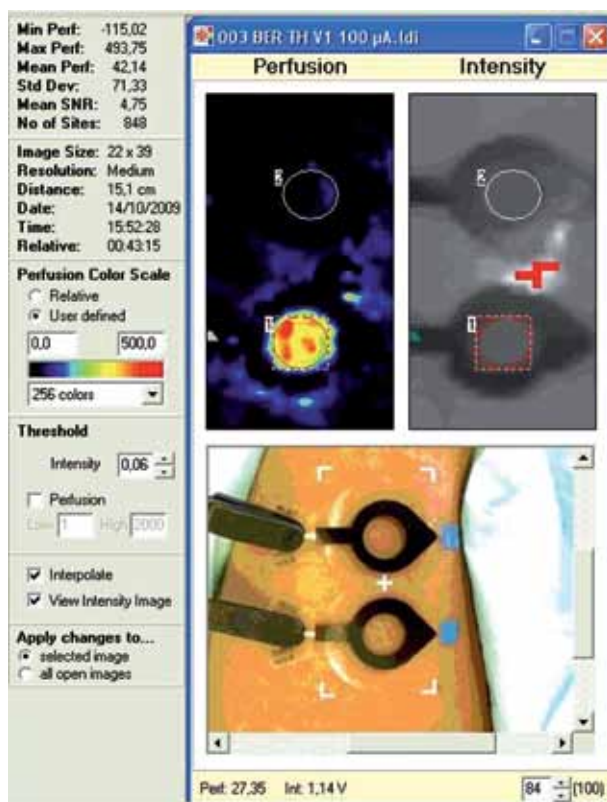
Mikrokrążenie u człowieka można również oceniać w sposób nieinwazyjny techniką laserowo-dopplerowską. Metoda ta umożliwia miejscową ocenę ukrwienia i zmian przepływu krwi w odpowiedzi na leki podane ogólnoustrojowo oraz testy prowokacyjne, wśród których najczęściej stosowane są: test pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH, *post-occlusive reactive hyperemia*), test przekrwienia termicznego (LTH, *local thermal hyperemia*), mikrodializa i jonoforeza substancji wazoaktywnych (głównie acetylocholina i nitroprusydek sodu) [2, 3].

Pierwsze informacje o zastosowaniu techniki laserowo-dopplerowskiej w badaniach mikrokrążenia zaprezentowano w 1975 roku, w pracy opublikowanej w *Nature* przez Sterna [11]. Za początek rozwoju tej metody uważa się konstrukcję laserowego przepływomierza dopplerowskiego (LDF, *laser Doppler flowmetry*), który pozwala na ocenę przepływu krwi w bardzo małej objętości tkanki ( $1 \text{ mm}^3$ ). Pomiar odbywa się za pomocą umieszczonej nad badanym obszarem sondy, która emituje światło lasera i rejestruje ukrwienie. Ogromną zaletą metody LDF jest fakt, że pomiar jest dokonywany w czasie rzeczywistym, co w połączeniu z testami stymulacyjnymi pozwala ocenić reaktywność mikrokrążenia. Aparat znalazł zastosowanie w badaniach naukowych i w praktyce klinicznej. Jednak niewątpliwą wadą klasycznej punktowej rejestracji ukrwienia metodą laserowego przepływomierza dopplerowskiego okazała się zmienność przestrzenna mikrokrążenia [3, 7]. Rozwiązaniem technicznym, które pozwoliło zmniejszyć wpływ tego ograniczenia na powtarzalność pomiaru, jest obrazowanie ukrwienia w znacznie większym obszarze za pomocą laserowego skanera dopplerowskiego (LDI, *laser Doppler imaging*) (ryc. 1). Jest on często wykorzystywany w badaniach naukowych, w których ocenia się wpływ leków na mikrokrążenie, ponieważ pozwala na tworzenie dwuwymiarowych map perfuzji badanego obszaru (ryc. 2) [2].

W metodzie laserowo-dopplerowskiej wykorzystuje się monochromatyczne światło lasera o wąskim paśmie



Rycina 1. Laserowy skaner dopplerowski



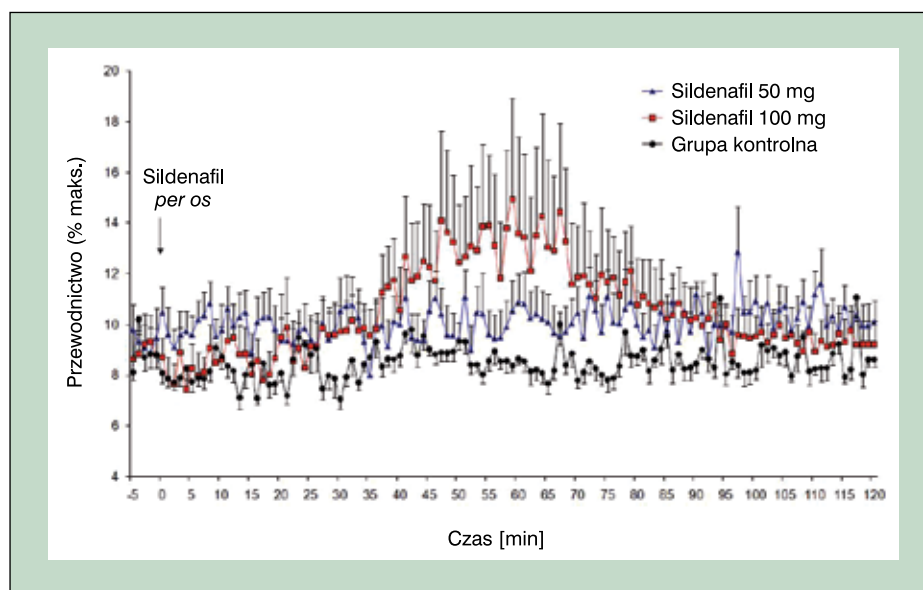
**Rycina 2.** Mapy perfuzji uzyskane za pomocą laserowego skanera doplerowskiego

od czerwieni do pobliza podczerwieni. Aparat emituje w głąb tkanki wiązkę promieniowania, która rozchodzi się w jej obrębie. Fotony napotykają na swej drodze po-

ruszające się krwinki, zmieniając częstotliwość swych drgań zgodnie ze zjawiskiem Dopplera. Powracające światło jest następnie analizowane przy użyciu systemu fotodetekcji, a aparat generuje napięcie, które jest wprost proporcjonalne do prędkości i liczby przemieszczających się w obszarze badania krwinek [3, 7].

Głównym ograniczeniem techniki laserowo-doplewskiej jest fakt, że nie jest możliwy pomiar bezwzględnych wartości perfuzji (w ml/min). Aparat rejestruje ukrwienie w badanym obszarze tkanki w arbitralnych jednostkach perfuzji (PU, *perfusion unit*) lub w miliwoltach (1 PU = 10 mV). Większość autorów przedstawia wyniki jako przewodnictwo (CVC, *cutaneous vascular conductance*), dzieląc przepływ krwi przez średnie ciśnienie tętnicze (mV/mm Hg) (ryc. 3). Takie podejście wydaje się bardziej uzasadnione, ponieważ uwzględnia ewentualne różnice i zmiany ciśnienia tętniczego [2, 3].

Najczęściej wykorzystywanym modelem badawczym w technice laserowo-doplewskiej jest mikrokrążenie skórne. W piśmiennictwie trwa dyskusja, czy mechanizmy i zaburzenia obserwowane w tym modelu mogą stanowić podstawę do wnioskowania o ogólnym stanie mikrokrążenia w organizmie [5]. Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że mikrokrążenie skórne może służyć jako reprezentatywny model badawczy do globalnej oceny funkcji mikrokrążenia. Z badań opublikowanych przez Ijzermana i wsp. w 2003 roku [13] wynika, że u pacjentów



**Rycina 3.** Wpływ sildenafilu podanego *per os* na mikrokrążenie obwodowe badane w obszarze skóry przedramienia u zdrowych osób. Obserwuje się zależne od dawki zmiany perfuzji w mikrokrążeniu po podaniu substancji wazodylatacyjnej (źródło [12])

obarczonych podwyższonym ryzykiem choroby wieńcowej występują zaburzenia mikrokrążenia skórniego (zaburzenia wazodylatacji zależnej od śródbłonka). Mikrokrążenie skórne było wielokrotnie wykorzystywane jako model służący do oceny mechanizmów naczyniowych w wielu stanach chorobowych, takich jak: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, niewydolność nerek, niewydolność serca czy twardzina układowa [5]. Ponadto badanie mikrokrążenia skórniego *in vivo* pozwala ocenić funkcję naczyń w naturalnym środowisku, w którym występują złożone współzależności między układem nerwowym, śródbłonkiem i mięśniami gładkimi naczyń. Wszystkie te mechanizmy kontrolują napięcie naczyń i tym samym odpowiadają za regulację przepływu krwi [9].

Ze względu na możliwość badania większego obszaru tkanki, jak również bezkontaktowość pomiarów i ich większą powtarzalność, laserowe skanery dopplerowskie zaczynają wypierać klasyczne przepływomierze laserowo-dopplerowskie. Techniki laserowo-dopplerowskie są dobrym narzędziem diagnostycznym w schorzeniach dermatologicznych, w których występują istotne zaburzenia mikrokrążenia. Dotyczy to zarówno oparzeń, stanów zapalnych, jak i zmian nowotworowych. W tych wskazaniach szczególnie cenny jest walor bezkontaktowości badania [2, 7]. Oprócz typowego zastosowania metody laserowo-dopplerowskiej do badań przepływu w skórze, bezkontaktowe laserowe skanery dopplerowskie zaczynają być wykorzystywane w badaniach śródoperacyjnych [7]. Ponadto, dzięki poszerzeniu LDI o jonoforezę różnych substancji farmakologicznych, można bardziej

selektywnie oceniać reaktywność mikrokrążenia. Badania takie, poza możliwością poznania nowych mechanizmów regulacji fizjologicznych, pozwalają wyciągać wnioski o dużej użyteczności klinicznej.

## PIŚMIENNICTWO

1. Neubauer-Geryk J., Bieniaszewski L. Metody oceny funkcji naczyń — pletyzmografia. *Choroby Serca i Naczyń* 2009; 6: 184–187.
2. Turner J., Belch J.J., Khan F. Current concepts in assessment of microvascular endothelial function using laser Doppler imaging and iontophoresis. *Trends Cardiovasc. Med.* 2008; 18: 109–116.
3. Cracowski J.L., Minson C.T., Salvat-Melis M., Halliwill J.R. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol. Sci.* 2006; 27: 503–508.
4. Neubauer-Geryk J., Bieniaszewski L. Metody oceny funkcji śródbłonka — wazodylatacja tętnicy ramiennej po niedokrwieniu. *Choroby Serca i Naczyń* 2007; 4: 190–196.
5. Holowatz L.A., Thompson-Torgerson C.S., Kenney W.L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J. Appl. Physiol.* 2008; 105: 370–372.
6. Minson C.T. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J. Appl. Physiol.* 2010; 109: 1239–1246.
7. Maniewski R., Liebert A. Metoda laserowo-dopplerowska w badaniach mikrokrążenia krwi. Akademia Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa 2003.
8. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 228: 373–376.
9. Tesselaaar E., Sjöberg F. Transdermal iontophoresis as an in-vivo technique for studying microvascular physiology. *Microvasc. Res.* 2011; 81: 88–96.
10. Szczekliak A. Choroby wewnętrzne. Medycyna Praktyczna, Kraków 2011.
11. Stern M.D. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 1975; 254: 56–58.
12. Blaise S., Hellmann M., Roustit M., Isnard S., Cracowski J.L. Oral sildenafil increases sodium nitroprusside iontophoresis induced skin hyperaemia in healthy volunteers. *Br. J. Pharmacol.* 2010; 160: 1128–1134.
13. Ijzerman R.G., de Jongh R.T., Beijk M.A. i wsp. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur. J. Clin. Invest.* 2003; 33: 536–542.