



VIA MEDICA

www.fn.viamedica.pl

Marcin Hellmann, Jolanta Neubauer-Geryk, Leszek Bieniaszewski

Zakład Fizjologii Klinicznej, Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Badanie laserowo-dopplerowskie mikrokrążenia w chorobach nerek

Laser doppler imaging in kidney disease

ABSTRACT

In natural history of many diseases: including chronic kidney disease, hypertension, diabetes 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.

Forum Nefrologiczne 2012, vol. 5, no 1, 1–4

Key words: microcirculation, laser doppler technique, endothelium, kidney disease

Dysfunkcja śródbłonna jest kluczowym zjawiskiem w patogenezie schorzeń układu krążenia i wyprzedza zmiany strukturalne w naczyniach, jak również wystąpienie objawów klinicznych [1, 2]. Dysfunkcja śródbłonna, szczególnie często występująca w przewlekłej chorobie nerek, sprzyja zwiększonemu zagrożeniu incydentami ze strony układu krążenia [3, 4]. Ocenia się, że w tej grupie chorych śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych stanowi przyczynę ponad 50% zgonów. Wczesne wykrycie dysfunkcji śródbłonna może pozwolić na szacowanie ryzyka rozwoju powłok naczyniowych w tej grupie pacjentów [5].

Śródbłonek reguluje napięcie ściany naczyń poprzez wydzielanie tlenu azotu (NO, *nitric oxide*), prostacykliny, endoteliny 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 [2]. Dysfunkcję śródbłonna wykazano u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek w badaniach dużych i średnich naczyń [6]. Tymczasem, coraz więcej dowodów wskazuje, że dysfunkcja śródbłonna mikrokrążenia wyprzedza zmiany zachodzące w dużych naczyniach. Możliwość precyzyjnej oceny funkcji śródbłonna mikrokrążenia jest istotna w przewidywaniu ryzyka wystąpienia oraz progresji chorób układu krążenia [1].

Istnieje kilka stosowanych rutynowo nieinwazyjnych metod 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 badania dużych i średnich naczyń cechuje uznana wartość kliniczna w monitorowaniu progresji choroby i ocenie efektów leczenia [6–8].

Mikrokrążenie to część układu sercowo-naczyniowego, której badanie jest szczególnie trudne ze względu na niejednorodną morfologię, mikroskopijne wymiary naczyń oraz róż-

Adres do korespondencji:

lek. Marcin Hellmann
Zakład Fizjologii Klinicznej
Katedra Nadciśnienia Tętniczego
i Diabetologii GUMed
ul. Dębinki 7, 80–952 Gdańsk
tel./faks: (58) 349 2341
e-mail: marcin.hellmann@gmail.com

▶▶Dysfunkcja śródbłonna, szczególnie często występująca w przewlekłej chorobie nerek, sprzyja zwiększonemu zagrożeniu incydentami ze strony układu krążenia◀◀

nicowany przepływ krwi w zależności od miejsca badania [9]. 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 [10]. Wyjaśniły one funkcję regulacyjną śródbłonna naczyniowego. Niemniej jednak, wyniki tego typu badań, mimo swoich niewątpliwych zalet, są trudne do zastosowania w warunkach klinicznych [11].

W ciągu ostatnich dwudziestu lat udoskonalono wiele metod pozwalających badać mikrokrążenie *in vivo*. Jednak większość z nich, jak na przykład metoda izotopowa czy pletyzmografia, wykorzystuje się głównie w celach naukowych [9]. Metodami badania mikrokrążenia o uznanej obecnie wartości klinicznej są: kapilaroskopia, wideokapilaroskopia oraz termografia [12]. Wymienione nieinwazyjne techniki badania mikrokrążenia skórniego są zwykle przeprowadzane w warunkach podstawowych, a wyniki uzyskanych pomiarów oparte na ocenie jakościowej. 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 [8, 11].

Mimo że nie dysponujemy nieinwazyjnymi metodami oceny mikrokrążenia nerkowego czy wieńcowego, to coraz więcej badań wskazuje, że mikrokrążenie skórne jest reprezentatywne dla mikrokrążenia w innych narządach między innymi w nerkach [4, 6]. Wartość poznawcza technik badania mechanizmów regulacyjnych mikrokrążenia istotnie wzrasta po zastosowaniu stymulacyjnych testów opartych na prowokacji fizjologicznej bądź farmakologicznej [11].

Badanie mikrokrążenia można przeprowadzić w sposób nieinwazyjny za pomocą techniki laserowo-dopplerowskiej, która jako model badawczy wykorzystuje mikrokrążenie skórne. Metoda ta umożliwia miejscową ocenę ukrwienia i zmian przepływu krwi w odpowiedzi na testy prowokacyjne, wśród których najczęściej stosowane są: test pookluzyjnej reakcji

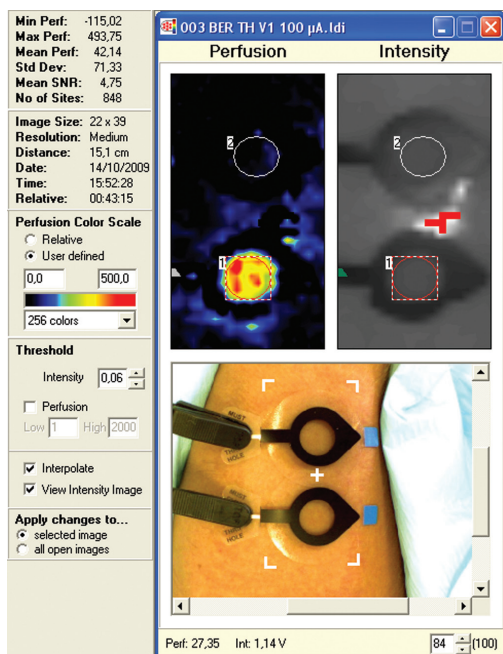
przekrwiennej (PORH, *post-occlusive reactive hyperemia*), test przekrwienia termicznego (LTH, *local thermal hyperemia*) oraz jonoforeza acetylocholina i nitroprusydku sodu. Stosując powyższe testy reaktywności naczyń, można pośrednio wnioskować o funkcji śródbłonna w organizmie [1, 2]. Pierwsze informacje o zastosowaniu techniki laserowo-dopplerowskiej w badaniach mikrokrążenia zostały podane w 1975 roku w pracy opublikowanej w *Nature* przez Sterna [13]. 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 mm³). Pomiar odbywa się za pomocą umieszczonej nad badanym obszarem sondy, która emituje światło lasera i rejestruje ukrwienie. Ogromną zaletą metody LDF jest fakt, że pomiaru dokonuje się w czasie rzeczywistym, co w połączeniu z testami stymulacyjnymi pozwala ocenić reaktywność mikrokrążenia. Aparat znalazł zastosowanie w badaniach naukowych i praktyce klinicznej. Wadą klasycznej punktowej rejestracji ukrwienia metodą laserowego przepływomierza dopplerowskiego okazała się zmienność przestrzenna mikrokrążenia [2, 9, 14]. 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*), który jest często wykorzystywany w badaniach naukowych oceniających wpływ leków na mikrokrążenie, ponieważ pozwala na tworzenie dwuwymiarowych map perfuzji badanego obszaru (ryc. 1).

Metoda laserowo-dopplerowska wykorzystuje monochromatyczne światło lasera o wąskim paśmie od czerwieni do pobliza podczerwieni. Aparat emituje w głąb tkanki wiązkę promieniowania, która rozchodzi się w jej obrębie. Fotony napotykają na swej drodze poruszające się krwinki, zmieniając częstotliwość swych drgań zgodnie ze zjawiskiem Dopplera. Światło powracające jest następnie analizowane przy użyciu systemu fotodetekcji, a aparat generuje napięcie, które jest wprost proporcjonalne do prędkości i liczby przemieszczających się krwinek w obszarze badania. Aparat rejestruje ukrwienie w badanym obszarze tkanki w arbitralnych jednostkach perfuzji (PU, *perfusion units*) [2, 9].

W badaniach z wykorzystaniem metody laserowo-dopplerowskiej wykazano nieprawidłową reakcję mikrokrążenia w teście przekrwienia

▶▶Coraz więcej badań wskazuje, że mikrokrążenie skórne jest reprezentatywne dla mikrokrążenia w innych narządach, między innymi w nerkach◀◀

▶▶Ogromną zaletą metody LDF jest fakt, że pomiaru dokonuje się w czasie rzeczywistym, co w połączeniu z testami stymulacyjnymi pozwala ocenić reaktywność mikrokrążenia◀◀



Rycina 1. Mapy perfuzji uzyskane za pomocą laserowego skanera dopplerowskiego

termicznego u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek [5, 6]. Zaburzenia mikrokrążenia skórno-ego obserwowano również u chorych dializowanych z nadciśnieniem tętniczym. W tej grupie chorych wykazano zaburzenie rozkurczu zależnego od śródbłonna w teście z acetylocholiną [15]. Z kolei, Cupisti i wsp. [16] na podstawie badań z wykorzystaniem metody LDF oraz stymulacji farmakologicznej w grupie pacjentów

z przewlekłą chorobą nerek bez towarzyszącego nadciśnienia tętniczego wykazali zachowaną funkcję śródbłonna u pacjentów.

W innych badaniach wykazano istotnie statystycznie mniejszą reaktywność mikrokrążenia w odpowiedzi w teście przekrwienia czynnego w grupie pacjentów z przewlekłą chorobą nerek w porównaniu do grupy kontrolnej [3]. Linden i wsp. [3] wykazali ponadto zależność pomiędzy pogorszeniem funkcji śródbłonna a stopniem upośledzenia czynności filtracyjnej nerek, zwiększeniem stężenia końcowych produktów glikacji (AGE, *advanced glycation end-product*) oraz zwiększeniem ekspresji receptora dla AGE w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej.

Laserowo-dopplerowska ocena przepływu (LDF) w połączeniu z kapilaroskopią oraz podaniem fluoresceiny okazała się wysoce przydatna w określaniu stopnia toksyczności cyklosporyny u pacjentów po przeszczepieniu nerek. Prawidłowy wynik badania pozwolił na zrezygnowanie z badania biopsyjnego nerek u 40% chorych [17].

Wprowadzenie do diagnostyki i monitorowania leczenia chorób nerek metod laserowo-dopplerowskich oceny mikrokrążenia skórno-ego może pozwolić na jakościowo nowe wnioskowanie o stopniu uszkodzenia funkcji śródbłonna. Nieinwazyjna, powtarzalna ocena stopnia dysfunkcji śródbłonna może stanowić cenne uzupełnienie monitorowania progresji choroby lub efektów leczenia chorób nerek.

STRESZCZENIE

Uogólniona dysfunkcja mikrokrążenia występuje w przebiegu wielu chorób m.in.: przewlekłej chorobie nerek, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy czy choroby wieńcowej. Ilościowa ocena reaktywności mikrokrążenia jest szczególnie trudna ze względu na niewielkie wymiary naczyń, niejednorodną ich mor-

fologię oraz zróżnicowany przepływ krwi. W ostatnich latach do nieinwazyjnych badań reaktywności mikrokrążenia obwodowego wprowadzono laserowo skaner dopplerowski.

Forum Nefrologiczne 2012, tom 5, nr 1, 1–4

Słowa kluczowe: mikrokrążenie, metoda laserowo-dopplerowska, śródbłonek, choroby nerek

1. 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.
2. 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.
3. Linden E., Cai W., He J.C., Xue C., Li Z., Winston J., Vlasara H., Uribarri J. Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease results from advanced glycation end products (AGE)-mediated inhibition of endothelial nitric oxide synthase through RAGE activation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 3: 691–698.
4. McIntyre C.W., John S.G., Jefferies H.J. Advances in the cardiovascular assessment of patients with chro-

- nic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008; 6: 383–391.
5. Kruger A., Stewart J., Sahityani R. i wsp. Laser Doppler flowmetry detection of endothelial dysfunction in end-stage renal disease patients: correlation with cardiovascular risk. *Kidney Int.* 2006; 1: 157–164.
 6. Stewart J., Kohen A., Brouder D. i wsp. Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2004; 6: 2687–2696.
 7. Neubauer-Geryk J., Bieniaszewski L. Metody oceny funkcji śródblonka — wazodylatacja tętnicy ramiennej po niedokrwieniu. *Choroby Serca i Naczyń* 2007; 4: 190–196.
 8. 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.
 9. Maniewski R., Liebert A. Metoda laserowo-dopplerowska w badaniach mikrokrążenia krwi. *Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa* 2003.
 10. 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.
 11. Tesselaar E., Sjöberg F. Transdermal iontophoresis as an in vivo technique for studying microvascular physiology. *Microvasc. Res.* 2011; 81: 88–96.
 12. Szczekliki A. *Choroby wewnętrzne. Medycyna Praktyczna, Kraków* 2011.
 13. Stern M.D. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 1975; 254: 56–58.
 14. Minson C.T. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J. Appl. Physiol.* 2010; 109: 1239–1246.
 15. Farkas K., Nemcsik J., Kolossváry E., Járjai Z., Nádory E., Farsang C., Kiss I. Impairment of skin microvascular reactivity in hypertension and uraemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2005; 9: 1821–1827.
 16. Cupisti A., Rossi M., Placidi S. i wsp. Responses of the skin microcirculation to acetylcholine in patients with essential hypertension and in normotensive patients with chronic renal failure. *Nephron* 2000; 85: 114–119.
 17. Bongard O., Weimer D., Lemoine R. i wsp. Cyclosporine toxicity in renal transplant recipients detected by nailfold capillaroscopy with Na-fluorescein. *Kidney International* 2000; 58: 2559–2563.