

**СУЧАСНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
ЕНДОТЕЛІЮ ТА МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ****ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)**

Дана робота є фрагментом наукової теми «Поліогранна недостатність у новонароджених: фактори ризику, механізм розвитку, принципи профілактики та інтенсивної терапії», № держ. реєстрації 0107U006285.

На сьогоднішній день існує два основні підходи до оцінки ендотеліальної регуляції судинного тону: інвазивний і неінвазивний. При інвазивному способі в судини вводиться ацетилхолін, що викликає ендотеліозалежне розширення судин, однак ангіографічний спосіб оцінки стану ендотелію – коштовний і не завжди доступний метод. Його недоцільно застосовувати для моніторингу змін функції ендотелію під впливом проведеного лікування. Тому все більше поширення одержують неінвазивні методи. В їх основі лежить відомий факт розширення артерій у відповідь на збільшення кровотоку, виявлений більше 60 років тому [17]. Довгий час вважалося, що цей феномен залежить від периферичних нервових механізмів. Однак в 1985 р. U. Pohl і J. Holtz довели вирішальну роль ендотелію в регуляції просвіту судини у відповідь на збільшення кровотоку *in vivo* [9].

Відомо, що ендотеліальні клітини чутливі до швидкості плинку крові. Напряга зсуву викликає деформацію клітин ендотелію. Цю деформацію сприймають чутливі до розтягнення іонні канали ендотелію, що призводить до збільшення вмісту Ca^{2+} у цитоплазмі й збільшенню продукції оксиду азоту (NO) [12].

Таким чином, при збільшенні кровотоку магістральні артерії розширюються, а при його зменшенні – звужуються. Ця регуляція гідравлічного опору артерій є локальною, вона не залежить ні від нервових, ані від гуморальних впливів і визначається напруженою зсуву на ендотелій, що призводить до активації іонних каналів і секреції NO.

При неінвазивному методі вазомоторна функція ендотелію оцінюється по стану плечової або поверхневої стегнової артерії, інфузія вазоактивних субстанцій для індукування ендотеліозалежної вазодилатації (ЕЗВД) замінюється стимуляторами реактивної гіперемії, а нітрогліцерин призначається сублінгвально замість його внутрішньоартеріального введення з метою моделювання ендотеліозалежної вазодилатації (ЕНВД). Ці методи відносно прості й не представляють значного ризику або дискомфорту для пацієнта.

D. S. Celermajer і співавт. [15] була запропонована неінвазивна модифікація методу з використанням

потікзалежної вазодилатації в умовах реактивної гіперемії плечової або стегнової артерії, а при вивченні ЕНВД – сублінгвальний прийом нітрогліцерину. Метод оснований на здатності ендотелію вивільняти NO в умовах реактивної гіперемії. У своїх дослідженнях вони вимірювали діаметр плечової й стегнової артерій у процесі реактивної гіперемії й після сублінгвального прийому нітрогліцерину. Обидві процедури викликали дилатацію, однак перша з них була обумовлена ендотеліозалежним релаксуючим фактором, тобто була ЕЗВД, у той час як остання була викликана безпосереднім впливом препарату на гладкі м'язи судин, тобто була ЕНВД. Дилатацію оцінювали по зміні діаметра артерій за допомогою ультразвуку. Даний метод через механічну стимуляцію ендотелію периферичним кровотоком дає можливість неінвазивної оцінки ЕЗВД.

Реактивна гіперемія моделюється манжетовою оклюзією плечової артерії на 4-5 хв. Оцінка вазодилатації проводиться високочутливим ультразвуковим судинним датчиком (7 МГц) по зміні діаметра судини. У нормі плечова артерія розширюється на 0,2-0,5 мм. За оцінками експертів, середня помилка методу склала 0,04 мм, а максимальна помилка не перевищувала 0,1 мм. Ці дані послужили підставою для більш широкого впровадження методу.

Показано, що приріст діаметра плечової артерії на 4–8% істотно перевищує фонову варіабельність показника. У клінічних дослідженнях на великих когортах хворих збільшення діаметра артерії на 2% у результаті лікування є достатнім, щоб судити про поліпшення ендотеліальної функції.

Варіабельність результатів становить не більше 1%. Метод досить корисний для оцінки ранніх змін порушення тону артерій і їхньої зворотності й знайшов широке застосування як за кордоном, так і в Україні. До теперішнього часу накопичена значна кількість даних, що свідчить про наявність різного роду порушень у системі гемостазу при дисфункції ендотелію (ДЕ), і дає підставу використовувати показники гемостазу, як біохімічні маркери стану ендотеліальної функції.

Як потенційні маркери ДЕ розглядаються декілька субстанцій, продукція яких може відображувати функцію ендотелію: тканинний активатор плазміногену і його інгібітор, тромбомодулін, фактор Вілебранда [8].

Крім цього, для оцінки ендотеліальної регуляції судинного тону використовують різні підходи,

основані на визначенні біодоступності NO. Насамперед це вимірювання рівня стабільних метаболітів NO (нітратів і нітритів) у сироватці крові або сечі, а також непряма оцінка рівня й активності NO-синтетази (eNOS).

У цей час застосовується тільки непрямий метод оцінки продукції NO в організмі. У біологічних системах NO являє собою дуже нестабільну сполуку, що швидко перетворюється в іон нітриту (NO_2^-), але в присутності кров'яного Fe^{2+} і деяких інших перехідних металів NO_2^- перетворюється в більш стабільний іон нітрату (NO_3^-). В умовах організму, як метаболіти NO, переважають нітрати, які на відміну від інших метаболітів не піддаються швидким змінам під час забору й зберігання крові. Тому саме сумарна оцінка нітратів і нітритів є загальноприйнятим методом оцінки синтезу NO у біологічних рідинах, і непрямим методом оцінки активності eNOS [14].

Слід зазначити, що вивчення тільки метаболітів NO в плазмі або сечі не дозволяє одержувати повну інформацію про стан нітратпродукуючих систем. Здатність ендотелію продукувати NO є найважливішим показником його функціональної активності, що у свою чергу багато в чому визначається рівнем експресії й активністю ферменту eNOS. Оскільки можливість прямих вимірів активності й експресії eNOS у людини в умовах *in vivo* відсутній, основні результати по аналізу цих параметрів і впливу на них різних факторів були отримані на лабораторних тваринних і клітинних культурах.

Основним недоліком вивчення стану ендотелію є відсутність чітких діагностичних критеріїв (біохімічних, інструментальних). В опублікованій на початку 2005 р. оглядовій статті, присвяченій ДЕ, J. Deanfield і співавт., аналізуючи стан проблеми, приходять до висновку, що досі відсутня оптимальна методологія вивчення різних аспектів ДЕ, в тому числі й діагностичні критерії [11].

Порушення мікроциркуляції вступає як важлива патогенетична ланка в ряд типових патологічних процесів і у велику кількість окремих патологічних форм різних захворювань [7]. Однак, незважаючи на гадану неспецифічність судинних змін, при ряді нозологічних форм зміни мікроциркуляторного русла відрізняються своєрідністю. Їхні ступінь і характер допомагають із більшою вірогідністю оцінювати активність патологічного процесу, його тяжкість, проводити диференційну діагностику, описувати плин і ефективність лікування захворювання.

Інтерес до пошуків інформативного «вікна» в мікроциркуляторну систему організму людини визначив на початку нашого століття розвиток біомікроскопії як нового методу дослідження. До 50-х років можна відзначити лише поодинокі дослідження, пов'язані із застосуванням прижиттєвої біомікроскопії кон'юнктиви в клініці внутрішніх хвороб, тоді як кінець 70-х років характеризувався значним ростом кількості клінічних робіт, а також особливим зацікавленням морфологів до розшифровки особливостей васкуляризації кон'юнктиви [10].

Традиційними об'єктами клініко-морфологічного аналізу мікроциркуляції є судини нігтьового ложа, шкіри й слизових оболонок [7]. Однак інформація, що одержується при їх дослідженні, виявляється недостатньою для оцінки стану мікроциркуляторної системи [18]. У той же час біомікроскопія кон'юнктиви очного яблука, завдяки поверхневому розташуванню судин і їхній орієнтації відносно досліджуваної поверхні, дозволяє детально оцінити як стан артеріол, прекапілярів, капілярів, посткапілярів, венул, так і кровотік в окремих мікросудинах. Крім того, цей метод дає можливість скласти уявлення про периваскулярний простір [5, 7]. До числа переваг кон'юнктивальної біомікроскопії належить також доступність об'єкта, відсутність значних особливостей анатомічного характеру, архітекtonіка судин кон'юнктиви, що представляє собою морфологічний субстрат кровотоку, не пов'язаного зі специфічними органічними функціями, а також гарна контрастність еритроцитарного потоку на білому фоні склери [2]. Для об'єктивності висновків при дослідженні кон'юнктивальних судин необхідно виключити локальні запальні й інші патологічні стани органу зору, що впливають на регіонарну мікроциркуляцію [13].

Результати багатьох досліджень підтверджують, що термінальне судинне русло кон'юнктиви відображує стан мікроциркуляторної системи в цілому. Порівняння результатів мікроскопії кон'юнктивальних мікросудин і гістологічного вивчення аналогічних ділянок кон'юнктивальної судинної мережі, одержаних для дослідження шляхом біопсії, підтверджує вірогідність і інформативність цього методу дослідження. Висока інформативність, безпека й простота визначила в останні роки провідне значення кон'юнктивальної біомікроскопії серед методів дослідження термінального судинного русла в клініці.

Існують дві точки зору на діагностичні можливості методу дослідження мікроциркуляторного русла кон'юнктиви очного яблука. Перша полягає в тому, що комплекс мікроциркуляторних змін не є специфічним для конкретного захворювання й може спостерігатися при різних патологічних станах, а констатація цих змін має тільки вказівне, але не справжнє діагностичне значення. При цьому може бути виділено кілька ступенів єдиного для різних захворювань процесу порушення мікроциркуляції, рівень яких визначається виразністю судинних, внутрішньосудинних і позасудинних змін.

Відповідно до іншої точки зору різні нозологічні форми відрізняються деякою специфічністю й відносною сталістю змін морфологічних параметрів мікроциркуляторного русла кон'юнктиви очного яблука [1]. Це підтверджується багатьма дослідженнями. Так, наприклад, установлена пряма залежність ступеню виразності змін судин мікроциркуляторного русла кон'юнктиви очного яблука від клінічної тяжкості захворювання [4].

ХХН протікає на тлі порушень мікроциркуляторного русла, у патогенезі яких мають значення наявні при даних захворюваннях зміни білкового складу

крові, гемокоагуляції, судинної проникності й гідрофільності тканин. Зменшення вмісту загального білка крові й підвищення судинної проникності супроводжуються збільшенням периваскулярного набряку й внутрішньосудинної агрегації еритроцитів. Збільшення гідрофільності тканин впливає, головним чином, на виразність периваскулярного набряку, а посилення коагуляційних властивостей крові, особливо в зв'язку з підвищенням фібриногену, зниженням гематокриту й концентрації альбумінів, збільшує як периваскулярні та внутрішньосудинні, так і судинні порушення мікроциркуляції [6].

Швидкість поширення пульсової хвилі по судинах не залежить від швидкості плинності крові, а визначається еластичністю судини, товщиною його стінки, діаметром і щільністю крові. Так, в аорті вона може становити 4-6 м/с, а в артеріях м'язового типу 8-12 м/с. Лінійна швидкість кровотоку по артеріях, звичайно, не перевищує 0,5 м/с. Зі збільшенням жорсткості судини швидкість пульсової хвилі зростає. З віком еластичність судин знижується, а швидкість поширення пульсової хвилі зростає. Величина швидкості залежить від тиску крові, а також стану функції ендотелію судин. Для оцінки швидкості поширення пульсової хвилі в артеріальних судинах використовують пальцеву фотоплетизмографію (ФПГ) [3].

При фотоплетизмографії ділянка тканин, у якій досліджується кровотік, наприклад, палець руки, розташовують на шляху променя світла між джерелом випромінювання й фотоприймачем. Оскільки поглинання світла в тканинах пропорційно обсягу крові, що проходить через освітлювану ділянку, то підсилюючи сигнал фотоприймача можна зареєструвати зміни його амплітуди, обумовлені артеріальною пульсацією судини. Фотоприймач перетворює інтенсивність ослабленого тканинами випромінювання в електричні сигнали, що надходять після посилення й обробки до мікропроцесорного

блоку, звідки на графічний дисплей і виводиться для графічного запису.

Контур об'ємної пульсової хвилі формується в результаті взаємодії між лівим шлуночком і судинами великого кола кровообігу.

Перший пік утворюється за рахунок систолічної, прямої хвилі, сформованої систолічним об'ємом крові, що передається прямо від лівого шлуночка до пальців верхніх кінцівок. Другий пік утворюється за рахунок відбитої хвилі, що виникає через відбиття об'єму крові, що передається по аорті та великим магістральним артеріям до нижніх кінцівок, і прямою назад у висхідний відділ аорти й далі до пальців верхніх кінцівок.

Результати досліджень М. Ф. О'Рourke показують, що інтенсивність відбиття визначається тонусом дрібних м'язових артерій в основних місцях відбиття. Для оцінки виразності відбитої хвилі використовується показник – індекс відбиття (ІВ), що являє собою відношення амплітуди відбитої хвилі до амплітуди прямої хвилі.

Відбита хвиля відстоїть від прямої систолічної на час відбиття, що визначається проходженням пульсової хвилі вниз і відбиттям її назад. Час відбиття залежить від швидкості поширення пульсової хвилі та відстані, яку вона повинна пройти. Відстань у значній мірі визначається зростом пацієнта. Тому для характеристики поширення пульсової хвилі визначається спеціальний показник – індекс жорсткості (ІЖ), як відношення зросту пацієнта до часу відбиття пульсової хвилі [16].

Таким чином, контур периферичної об'ємної пульсової хвилі, отриманий за допомогою пальцевої фотоплетизмографії, визначається, головним чином, характеристиками великого кола кровообігу, швидкістю поширення хвилі тиску в аорті й великих еластичних артеріях, а також мікросудинним тонусом, тому відображує ступінь функціонального та морфологічного ремоделювання судинного русла [3].

Список літератури

1. Дакгаравичене Э. И. Суммарная оценка измерений кровеносных сосудов конъюнктивы глазного яблока / Э. И. Дакгаравичене, Р. Гельвинис // Материалы 23-й научн. конф. Каунасского мед. института. – Каунас, 1976. – С. 236-237.
2. Изучение микроциркуляции в эксперименте и клинике: науч. обзор / ВНИИМИ; под ред. В. В. Куприянова, В. Н. Колмыковой. – М., 1979. – 93 с. – 0.75 р.
3. Лебедев П. А. Диагностика функции сосудистого эндотелия у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями: метод. указания / П. А. Лебедев, Л. И. Калакутский, С. П. Власова, А. П. Горлов // Самарский государственный аэрокосмический университет. – Самара, 2004. – 18 с.
4. Микроциркуляция в кардиологии / Л. Т. Малая, И. Ю. Микляев, П. Г. Кравчук. – Х.: «Вища школа», 1977. – 278 с.
5. Наумец Л. В. Диагностические возможности метода конъюнктивальной микроскопии / Л. В. Наумец, Н. И. Волосок // Материалы международной конференции по микроциркуляции. – Москва, 1997. – С. 110-111.
6. Нефрология: руководство для врачей / [Тареев Е. М., Мухин М. А., Шилов Е. М. и др.]; под ред. И. Е. Тареевой – [2-е изд. перераб. и доп.]. – М.: Медицина, 2000. – 688 с.
7. Чернух А. М. Микроциркуляция / Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В.; под общ. ред. А. М. Чернуха. – [2-е изд., перераб. и доп.]. – М.: Медицина, 1984. – 429 с.: ил.; 22 см.
8. Blann A. D. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? / A. D. Blann, D. A. Tarberner // Brit. J. Haematol. – 1995. – Vol. 90. – P. 244-248.
9. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo / U. Pohl, J. Holtz, R. Busse [et al.] // Hypertension. – 1986. – Vol. 8 (1). – P. 37-44.
10. Elliott F. A. The effect of sludge on the arterial wall. In: 6th European Conference on microcirculation / F. A. Elliott, S. C. Leonberg // Basel. – 1971. – P. 371-375.

11. Endothelial function and dysfunction. Methodological issues for assessment in the different vascular beds: A statement by the Working group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension / J. Deanfield, A. Donald, C. Ferri, C. Giannattasio [et al.] // J. Hypertens. – 2005, Jan. – Vol. 23, Issue 1. – P. 7-17.
12. Flow activates endothelial potassium channel to release endogenous nitrovasodilator / J. P. Cooke, E. Rossitch, N. Andon [et al.] // Clin. Invest. – 1991. – Vol. 88. – P. 1663-1671.
13. Francois J. Importance clinique de l'angioscopie conjonctivale / J. Francois, A. Neetens // Ann. Oculist. – 1967. – Vol. 200, Issue 6. – P. 656-663.
14. Nitrite and nitrate determination in plasma: A critical evaluation / H. Moshage, B. Kok, R. Huzenga [et al.] // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41. – P. 892-896.
15. Non – invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D. S. Celermajer, K. E. Sorensen, V. M. Gooch [et al.] // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111-1115.
16. O'Rourke M. F. Wave reflection in the systemic circulation and its implications in ventricular function / M. F. O'Rourke, R. P. Kelly // J. Hypertens. – 1993. – Vol. 11. – P. 327- 337.
17. Schretzenmayr A. Über kreislaufregulatorische Vorgänge an den großen Arterien bei Muskelarbeit / A. Schretzenmayr // Arch. Ges. Physiol. – 1933. – Vol. 232. – P. 743-748.
18. Wells R. The microcirculation in clinical medicine / Wells R. – New-York, London: Academic Press, 1973. – 322 p.

УДК 616.13/.14 – 071

СУЧАСНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЕНДОТЕЛІЮ ТА МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ **Могильник А. І., Шумейко О. Г.**

Резюме. На сьогоднішній день існує два основні підходи до оцінки ендотеліальної регуляції судинного тону: інвазивний і неінвазивний. При інвазивному способі в судини вводиться ацетилхолін, що викликає ендотеліальне розширення судин, однак ангіографічний спосіб оцінки стану ендотелію – коштовний і не завжди доступний метод. Його недоцільно застосовувати для моніторингу змін функції ендотелію під впливом проведеного лікування. Тому все більше поширення одержують неінвазивні методи. В їх основі лежить відомий факт розширення артерій у відповідь на збільшення кровотоку, виявлений більше 60 років тому.

Ключові слова: судинний тонус, ендотеліальна регуляція, неінвазивні методи оцінки, мікроциркуляція.

УДК 616.13/.14 – 071

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ **Могильник А. И., Шумейко А. Г.**

Резюме. На сегодняшний день существует два основных подхода к оценке эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса: инвазивный и неинвазивный. При инвазивном способе в сосуды вводится ацетилхолин, вызывающий эндотелийзависимое расширение сосудов, однако ангиографический способ оценки состояния эндотелия – дорогой и не всегда доступный метод. Его нецелесообразно применять для мониторинга изменений функции эндотелия под влиянием проводимого лечения. Поэтому все большее распространение получают неинвазивные методы. В их основе лежит известный факт расширения артерий в ответ на увеличение кровотока, обнаруженный более 60 лет назад.

Ключевые слова: сосудистый тонус, эндотелиальная регуляция, неинвазивные методы оценки, микроциркуляция.

UDC 616.13/.14 – 071

Modern Methods of Investigation of Endothelial Function and Microcirculation **Mogylnik A. I., Shumeyko A. G.**

Summary. Currently, there are two main approaches to an assessment of an endothelial regulation of a vascular tone: invasive and noninvasive. At an invasive way Acetylcholinum causing an endotheliazavisimy vasodilatation, however an angiografichesky way of an assessment of a condition of an endothelium is entered into vessels – the road and not always an available method. It is inexpedient to apply to monitoring of changes of function of an endothelium under the influence of carried-out treatment. Therefore the increasing distribution is received by non-invasive methods. In their basis the known fact of an arteriectasia in reply to increase in the blood-groove, found lies more than 60 years ago.

Key words: vascular tone, endothelial regulation, noninvasive methods of an assessment, microcirculation.

Стаття надійшла 15.10.2012 р.

Рецензент – проф. Олійник С. А.