

УДК 616.5–003.9–073.43:612.135
© В. Г. Шестакова, 2017
<https://doi.org/10.18499/2225-7357-2017-6-4-59-62>

ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ТКАНЯХ РЕГЕНЕРАТА КОЖИ С ПОМОЩЬЮ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДОППЛЕРОГРАФИИ

В. Г. Шестакова

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет»
Минздрава России, г.Тверь, Россия

Цель – изучение микроциркуляции в тканях регенерата кожи с помощью ультразвуковой доплерографии.

Материал и методы. В эксперименте на лабораторных белых крысах-самках исследовано воздействие ангиоактивного препарата Неоваскулген на репарацию полнослойной раны кожи. Для оценки состояния микроциркуляторного русла формирующейся грануляционной ткани регенерата был использован ультразвуковой компьютеризированный прибор «Минимакс–Допплер-К». В результате обработки доплерограмм получены средняя систолическая линейная скорость кровотока, средняя систолическая объемная скорость кровотока, были рассчитаны индекс пульсации, индекс периферического сопротивления. Данные обработаны методами непараметрической статистики.

Результаты. При использовании ангиоактивного препарата показатели объемной скорости кровотока увеличиваются, что свидетельствует о лучшем кровоснабжении в зоне регенерирующей раны. Средняя систолическая линейная скорость кровотока также увеличивается, что связано с редукцией сосудов. Показатели индекса пульсации и периферического сопротивления снижаются. Показатели доплерографических исследований в полной мере соотносятся с микроскопической картиной и данными морфометрии, что может свидетельствовать о качественном изменении структур в зоне регенерата и зависимости скорости заживления раны от интенсивности кровотока в микроциркуляторном русле. Данные линейных и объемных скоростей кровотока позволили выявить повышенные, по сравнению с контролем, показатели суммарного поперечного сечения микрососудов и количества крови, поступающей в область регенерата в условиях стимулированного ангиогенеза.

Заключение. Допплерографическое исследование позволяет оценить течение всех этапов процесса заживления, в скрининговом режиме контролировать состояние микроциркуляторного русла в области регенерата, прогнозировать и корректировать процесс заживления.

Ключевые слова: регенерация, микроциркуляция, ангиогенез, грануляционная ткань, доплерография.

© V.G. Shestakova, 2017

Tver State Medical University, Tver, Russia

Evaluation of Microcirculation in Tissues of Skin Regenerate Using Ultrasound Dopplerography

The aim is to study microcirculation in the skin tissues regenerate using Doppler ultrasound.

Material and methods. In an experiment on laboratory white female rats, the effect of the angiovascular drug Neovascugen on the repair of a full-thickness skin wound was studied. To assess the state of the microcirculatory bed of the regenerating granulation tissue of the regenerate, the ultrasound computerized device Minimax-Doppler-K was used. The processing dopplerograms obtained average systolic blood flow linear velocity, the mean systolic volumetric blood flow rate were calculated pulsation index, peripheral resistance. The data were processed by nonparametric statistics.

Results. With the use of an angioactive drug, the volumetric flow velocity is increased, indicating a better blood supply in the area of the regenerating wound. The average systolic linear velocity of blood flow also increases, which is associated with vascular reduction. The indicators of the index of pulsation and peripheral resistance are reduced. Data on the linear and volume velocities of the blood flow made it possible to reveal elevated, in comparison with the control, indicators of the total cross-section of microvessels and the amount of blood entering the region of the regenerate under conditions of stimulated angiogenesis.

Conclusion. Doppler examination allows to evaluate the course of all stages of the healing process, in the screening mode to monitor the microcirculatory bed in the regenerate area, to predict and correct the healing process.

Key words: regeneration, microcirculation, angiogenesis, granulation tissue, dopplerography.

Введение

Ультразвуковая доплерография является сравнительно новым методом исследования микроциркуляции, который позволяет не только оценить общий уровень периферической перфузии, но и выявить особенности кровотока в микроциркуляторном русле в зоне заживления, что особенно важно при оценке характера репаративного процесса. Метод

ультразвуковой доплерографии использует эффект изменения частоты сигнала отраженного движущегося объекта на величину, пропорциональную скорости движения отражателя. Наличие отраженного сигнала свидетельствует о присутствии кровотока в зоне ультразвуковой локации. Распространение и отражение ультразвуковых колебаний – два основных процесса, на которых основана диагностика ультразвуковой аппаратурой. В ре-

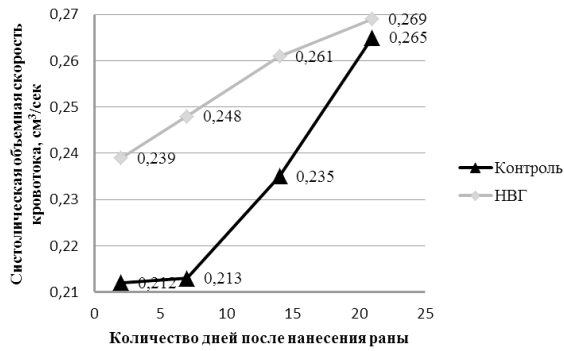


Рис. 1. График изменения объемной скорости кровотока после нанесения раны в группах сравнения ($p=0.0001$).

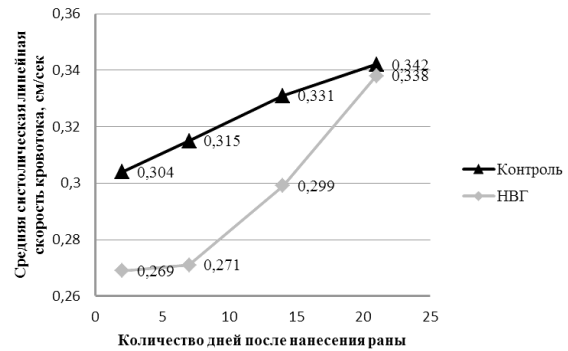


Рис. 2. График изменения средней систолической линейной скорости кровотока после нанесения раны ($p=0.0001$).

альном кровотоке одновременно присутствуют отражатели, движущиеся в кровяном русле с различными скоростями, и, следовательно, на приемный элемент ультразвукового датчика поступает спектр сигналов с разными доплеровскими частотами, анализ которых дает возможность оценивать состояние микроциркуляции в исследуемой области. По данным Э. А. Богдановой с соавт. (1998) и В. И. Козлова с соавт. (1998) [1, 2], регистрируемый при ультразвуковой доплерографии сигнал дает характеристику кровотока в микрососудах объема ткани 1–1,5 мм³. Регистрируются интегральные параметры по 3×10^4 эритроцитов, находящихся в зондируемом участке кожи в данный момент [7].

Материал и методы исследования

Исследования были выполнены на 40 белых беспородных половозрелых крысах, подобранных по принципу аналогов с учетом массы тела (200–250 г), пола (самки) и возраста (6–8 мес.) Все животные содержались в стандартных условиях вивария с учетом требований к работе с экспериментальными животными [3]. Выведение животных из эксперимента проводили в соответствии с Приказом № 742 от 13.11.84 «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». На проведение исследования получено разрешение этического комитета ТГМУ. Крысам под эфирным наркозом на дорсальной поверхности тела наносили стандартные полнослойные кожные раны площадью 225 мм², что в среднем составляло 14,5 % от площади тела. Было сформировано 2 группы: контрольная ($n=20$) и подопытная ($n=20$). Крысам контрольной группы паравульнарно двукратно (на 2- и 7-е сутки) вводили 0,1 мл физиологического раствора. Животным подопытной группы аналогичным способом вводили 0,1 мл раствора Неоваскулгена. Препарат Неоваскулген представляет собой высокоочищенную сверхскрученную форму плазмиды pCMV-VEGF165, ко-

дирующей эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) под контролем промотора.

Допплерографическое исследование микроциркуляции в области раны было проведено с помощью ультразвукового компьютеризированного прибора «Минимакс–Допплер-К». Были использованы ультразвуковые датчики, работающие на частоте 25 МГц. Состояние микроциркуляции определялось автоматически, с помощью программного обеспечения прибора. Местом конкретного расположения датчика была выбрана точка на границе с повреждением, с углом постановки 60° к поверхности, что дает возможность получить данные с наибольшего числа микрососудов. Ультразвуковой сигнал с группы различных по характеру сосудов грануляционной ткани выражался звуком в виде слабых по амплитуде пульсаций. В результате обработки доплерограмм мы получали следующие данные: среднюю систолическую линейную скорость кровотока (см/с), среднюю систолическую объемную скорость кровотока (мл/с), также были рассчитаны индексы: PI – индекс пульсации (Гослинга), RI – индекс периферического сопротивления (Пурсело). Значения данных индексов рассчитывались прибором автоматически с учетом регистрируемых значений линейных скоростей по кривой максимальной скорости.

Данные были обработаны методами непараметрической статистики с использованием программы SPSS, 19.0.

Результаты и их обсуждение

В результате обработки доплерограмм, полученных на разных этапах заживления мы получили данные о динамике линейных и объемных скоростей кровотока.

На графике отражены показатели средней систолической объемной скорости кровотока, т.е. количества крови, поступающей в исследуемый участок ткани, в единицу времени (рис. 1).

При использовании ангиоактивного



Рис. 3. График изменения индекса пульсации (Гослинга) после нанесения раны ($p=0.0001$).

препарата объемная скорость кровотока стабильно возрастает, при этом она выше, чем у животных контрольной группы ($p=0.0001$). Показатели систолической объемной скорости кровотока в опытной группе животных на 2-е сутки после нанесения раны в 1.13 раз больше, чем в контрольной группе, на 7-е сутки – в 1.16 раз больше, на 14-е сутки – в 1.11 раза, на 21-е сутки – в 1.02 раза больше. То есть в опытной группе регенерация раны протекает в условиях лучшего кровоснабжения. Поскольку, как указывает А.М.Чернух с соавт. (1984), при увеличении объемной скорости кровотока увеличивается площадь капиллярной фильтрации, а, следовательно, и величина транскапиллярного обмена в тканях.

Средняя систолическая линейная скорость кровотока, отражающая общую площадь суммарного поперечного сечения сосудов исследуемого участка ткани в группах сравнения, представлена на рис. 2.

Показатели средней систолической линейной скорости кровотока на ранних этапах регенерации раны (2–7-е сутки) в опытной группе стабильно низкие, в контрольной группе – выше. Средняя систолическая линейная скорость кровотока в опытной и контрольной группах на протяжении эксперимента растет ($p=0.0001$). При этом линейная скорость кровотока в контрольной группе на 2-е сутки эксперимента в 1.13 раза выше, чем в опытной группе, на 7-е сутки – в 1.19 раза выше, на 14-е сутки – в 1.11, на 21-е сутки – в 1.01 раза выше, что связано с аналогичной динамикой средней систолической объемной скорости кровотока и небольшой площадью поперечного сечения новообразованных сосудов в регенерате. В процессе регенерации раны происходит закономерная редукция сосудов, поэтому линейная скорость повышается, что также не противоречит закону Бернулли (чем меньше площадь поперечного сечения, тем больше линейная скорость).

Количественный анализ доплеровских кривых основывался не только на оценке величин скоростей кровотока, но и расчете индексов пульсации (Гослинга), и периферического сопротивления (Пурсело). Значения данных индексов рассчитывались прибором

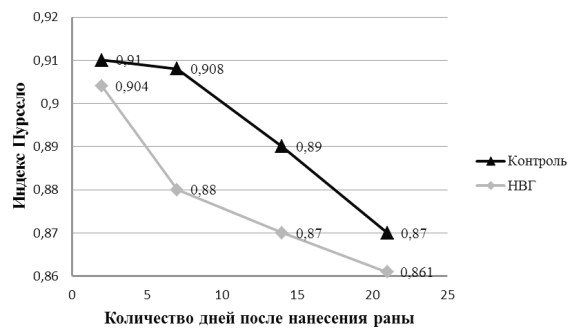


Рис. 4. График изменения индекса периферического сопротивления (Пурсело) после нанесения раны.

автоматически. На рис. 3. представлена динамика индекса Гослинга в процессе регенерации раны в группах сравнения.

Индекс пульсации имеет тенденцию к снижению в процессе заживления, более высокие показатели на 2-е сутки в подопытной группе свидетельствуют о значительном количестве незрелых сосудов, т. е. продолжающемся неоангиогенезе. Индекс пульсации снижается в обеих группах, но более выражено в опытной группе: на 7-е сутки индекс меньше в 1.03 раза, на 14-е сутки – 1.02, на 21-е сутки – 1.02 раза ($p=0.0001$). Показатели индекса пульсации снижаются на протяжении заживления с преобладанием такового в опытной группе, то есть сосудистое сопротивление кровотоку уменьшается.

Далее мы оценили динамику индекса периферического сопротивления (Пурсело), отражающего состояние сопротивления кровотоку дистальнее места измерения. На рис. 4 представлена динамика индекса Пурсело.

Периферическое сопротивление снижается и более интенсивно в подопытной группе, что свидетельствует о большем количестве микрососудов в зоне репарации, которые сохраняются и по завершении эпителизации дефекта. Индекс периферического сопротивления снижается в обеих группах, но более выражено в опытной группе: на 7-е сутки индекс в опытной группе меньше в 1.03 раза, на 14-е сутки – в 1.02 раза, на 21-е сутки – в 1.01 раза ($p=0.0001$). Снижение индекса Пурсело свидетельствует о микроциркуляторных изменениях в зоне репарации, а именно об улучшении кровотока в тканях, связанного с увеличением числа новообразованных сосудов. Этим объясняется влияние Неоваскулгена на процесс регенерации тканей – снижение индекса Пурсело отражает повышение эндотелиальной активности и свидетельствует о сохранении регуляторных механизмов тканевого обмена. Полученные данные не противоречат результатам исследования О. Н. Ступниковой (2007) и О. В. Халепо (2008) [4, 5].

Показатели доплерографических исследований в полной мере соотносятся с микроскопической картиной и данными морфо-

метрии, что может свидетельствовать о качественном изменении структур в зоне регенерата и зависимости скорости заживления раны от интенсивности кровотока в микроциркуляторном русле [6].

Процесс ангиогенеза может быть индуцирован повышением концентрации стимуляторов и, в первую очередь, семейством VEGF, который оказывает существенное влияние на эндотелиальные клетки незрелых сосудов, в отсутствии ростовых сигналов они подвергаются апоптозу. Более плотная сеть микрососудов обеспечивает дополнительный приток кислорода и биологически активных веществ, служит источником клеток фибробластического ряда, стимулирует рост эпителия и формообразование дериватов кожи.

Заключение

Данные линейных и объемных скоростей кровотока в микроциркуляторном русле регенерирующей раны позволили выявить повышенные, по сравнению с контролем, показатели суммарного поперечного сечения микрососудов и количества крови, поступающей в область регенерата в условиях применения Неоваскулгена. Допплерографическое исследование позволяет оценить течение всех этапов репаративного процесса, в скрининговом режиме контролировать состояние микроциркуляторного русла в области регенерата, прогнозировать и корректировать процесс заживления.

Список литературы

1. Богданова Э. А. Применение метода лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии. Метод. разработка под общ. ред. В.И. Маколкина. Москва, 1998.
2. Козлов В. И. Лазерная доплеровская флоуметрия и анализ коллективных процессов в системе микроциркуляции. Физиология человека. 1998; 6: 112–121.
3. Лоскутова З. Ф. Виварий. М.: Медицина, 1980: 15.
4. Ступникова О. Н. Метод лазерной доплеровской флоуметрии и его возможности в оценке изменений микроциркуляции суставов при ревматоидном артрите. Сибирский медицинский журнал. 2007; 2: 14–18.
5. Халепов О. В. Использование метода лазерной доплеровской флоуметрии для оценки роли микроциркуляторных нарушений при патологии (клинико-экспериментальное исследование). Вест. восст. мед.-ны. 2008; 3(25): 64–67.
6. Шестакова В. Г., Банин В. В., Баженов Д. В. Морфологическое и доплерографическое изучение кровоснабжения регенерата кожи в условиях стимулированного ангиогенеза. Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии: материалы Всероссийской конференции молодых специалистов. Рязань: ООП УИТТиОП, 2017. 73–76.
7. Hosoda G. Laser Doppler flowmetry for the early detection of hypertrophic burn scars. Int. Wound J. 2013; 10(5): 597–605.

References

1. Bogdanova E. A. Primenenie metoda lazernoy dopplerovskoy floumetrii v kardiologii. Metod. raz-rabotka pod obshch. red. V.I. Makolkina. Moskva, 1998.
2. Kozlov V. I. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya i analiz kollektivnykh protsessov v sisteme mik-rotsirkulyatsii. Fiziologiya cheloveka. 1998; 6: 112–121.
3. Loskutova Z. F. Vivariy. M.: Meditsina, 1980: 15.
4. Stupnikova O. N. Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii i ego vozmozhnosti v otsenke izmeneniy mikrotsirkulyatsii sustavov pri revmatoidnom artrite. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2007; 2: 14–18.
5. Khalepo O. V. Ispol'zovanie metoda lazernoy dopplerovskoy floumetrii dlya otsenki roli mikrotsirkulyatornykh narusheniye pri patologii (kliniko-eksperimental'noe issledovanie). Vest. vosst. medny. 2008; 3(25): 64–67.
6. Shestakova V. G., Banin V. V., Bazhenov D. V. Morfologicheskoe i dopplerograficheskoe izucheniye kro-vosnabzheniya regenerata kozhi v usloviyakh stimulirovannogo angiogeneza. Aktual'nye voprosy fun-damental'noy, eksperimental'noy i klinicheskoy morfologii: materialy Vserossiyskoy konfe-rentsii molodykh spetsialistov. Ryazan': OOP UITTiOP, 2017. 73–76.
7. Hosoda G. Laser Doppler flowmetry for the early detection of hypertrophic burn scars. Int. Wound J. 2013; 10(5): 597–605.

Сведения об авторе

Шестакова Валерия Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинский университет» Минздрава России. 170100 г.Тверь, ул. Советская д.4. shestvg@mail.ru

Поступила в редакцию 23.09.2017 г.

Для цитирования: Шестакова В.Г. Оценка микроциркуляции в тканях регенерата кожи с помощью ультразвуковой доплерографии. Журнал анатомии и гистопатологии. 2017; 6(4): 59–62. doi: 10.18499/2225-7357-2017-6-4-59-62
For citation: Shestakova V.G. Evaluation of microcirculation in tissues of skin regenerate using ultrasound dopplerography. Journal of Anatomy and Histopathology. 2017; 6(4): 59–62. doi: 10.18499/2225-7357-2017-6-4-59-62