

# Динамика вейвлет-спектра мозгового кровотока при дозированной кровопотере

Александрин В.В.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН,  
125315, Москва, ул. Балтийская, 8.  
E-mail: alexandrinn-54@mail.ru

*Цель исследования — изучение динамики вейвлет-спектра мозгового кровотока в процессе ауторегуляции мозгового кровотока при дозированной кровопотере. Мозговой кровоток регистрировали лазер-доплером. При ауторегуляции наблюдалось увеличение амплитуды колебаний мозгового кровотока в нейрогенном и эндотелиальном диапазонах.*

**Ключевые слова:** мозговой кровоток, ауторегуляция, вейвлет-анализ

## Введение

Церебральная сосудистая система обладает способностью к ауторегуляции: поддержанию постоянства локального кровотока в ответ на изменения перфузионного давления. Происходит это за счет активного изменения диаметра пияльных артериол: констрикции при повышении давления и дилатации при его снижении [6]. На тонус артериол могут оказывать влияние несколько факторов: метаболические, нейрогенные, эндотелиальные и миогенные [2]. К настоящему времени доказано, что ведущую роль в ауторегуляции играет миогенный ответ [1]. Считается, что другие факторы модулируют миогенную реакцию [9], однако само понятие модуляции не имеет четкого определения, поскольку, как правило, все указанные механизмы исследуют по отдельности.

С появлением высокочувствительного метода непрерывной регистрации тканевого кровотока — лазерной доплеровской флоуметрии — были обнаружены его низкоамплитудные периодические колебания различной частоты [13]. Позднее было показано, что колебания можно разложить на спектр, где каждый диапазон может быть представлен эндотелиальными, нейрогенными, миогенными, дыхательными и кардиальными влияниями, на основании чего был разработан метод вейвлет-анализа колебаний кровотока, позволяющий наблюдать действие всех факторов не по отдельности, а в совокупности [10].

Целью настоящего исследования было изучение динамики вейвлет-спектра колебаний церебрального кровотока у крыс в ответ на дозированную кровопотерю.

## Материал и методы

Эксперименты проводили на белых половозрелых беспородных крысах-самцах массой 260—300 г под наркозом (хлоралгидрат внутривентриально в дозе 300 мг/кг) в соответствии с требованием приказа №267 МЗ РФ от 19.06.2003. Глубину наркоза оценивали по отсутствию болевой реакции. Для измерения системного артериального давления (АД) и кровопотери у животного выделяли и катетеризировали обе бедренные артерии (гепарин внутривенно в дозе 500 Ед./кг). Голову жестко фиксировали в стереотаксическом станке (на 2 см выше

туловища). Затем проводилась трепанация теменной кости («окно» 5 x 3 мм с сохранением твердой мозговой оболочки) для регистрации мозгового кровотока цилиндрическим датчиком, который жестко фиксировали с помощью микроманипулятора. Лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ-граммы) в красном канале лазерного излучения (длина волны 0,63 мкм) со спектральным вейвлет-анализом колебаний кровотока осуществляли с помощью аппарата ЛАКК-02 (Россия, НПП «Лазма», программная версия 2.2.0.507). Тестировали теменную область неокортекса крысы (координаты: AP — 5 мм, L — 3 мм). В зоне регистрации находились сосуды бассейна средней мозговой артерии, снабжающие кровью cortex temporalis (area 1) [1, 3]. Регистрацию показателей начинали проводить через 30 мин после окончания всех хирургических манипуляций в условиях температуры окружающей среды 20—21°C. Контрольной группе (n = 19) первую регистрацию показателей проводили через полчаса после окончания хирургических манипуляций. Однако эти данные не включались в расчет, поскольку еще через полчаса проводилась повторная регистрация, и если ее данные по величине мозгового кровотока совпадали с предыдущими, то это являлось показателем окончания постоперационной гиперемии и считалось фоном. Далее в контроле проводились еще две регистрации показателей через каждые полчаса. В опытной группе (n = 22) порядок первых регистраций показателей был аналогичным. После записи фоновых показателей начинали медленную кровопотерю с целью недопущения снижения мозгового кровотока вследствие резкого падения системного АД и исключения метаболического фактора в ауторегуляторном ответе. Первую кровопотерю осуществляли в пределах снижения системного АД до нижней границы ауторегуляции, которая у крыс при хлоралгидратном наркозе составляет порядка 50 мм рт. ст. [1]. После окончания кровопотери в течение 5—7 мин проходила стабилизация достигнутого давления, после чего проводилась первая регистрация мозгового кровотока. Затем осуществлялась вторая кровопотеря за пределами нижней границы ауторегуляции, после чего также проводили регистрацию мозгового кровотока в условиях стабилизированного давления. В среднем процеду-

ры кровопотери, стабилизации системного АД и регистрации кровотока занимали порядка получаса.

Для вейвлет-анализа использовали 480-секундные записи. Оценка колебательной составляющей общей перфузии проводилась по среднему квадратичному отклонению колебаний кровотока, а с помощью вейвлет-анализа (программа 2.2.0.507, НПП «Лазма», Россия) определяли нормированные амплитуды колебаний кровотока в четырех диапазонах частот, соответствующих эндотелиальным, нейрогенным, миогенным и дыхательным составляющим сосудистого тонуса, по формуле:

$$A_{\max} = \frac{100\%}{M},$$

где:

$A_{\max}$  — средняя максимальная амплитуда колебаний кровотока в соответствующем диапазоне (перфузионные единицы, п.е.);

$M$  — показатель микроциркуляции, отражающий усредненную перфузию микрососудистого русла (п.е.) [4].

Для крыс это следующие частотные диапазоны:

- от 0,01 до 0,04 Гц — эндотелиальный оксид азота;
- от 0,04 до 0,15 Гц — нейрональные симпатические адренергические влияния;
- от 0,15 до 0,4 Гц — миогенный тонус;
- от 0,4 до 2 Гц — дыхательные влияния [3].

К сожалению, представленная программная версия не охватывала диапазон колебаний свыше 2 Гц, вследствие чего кардиоритм не оценивался. Для оценки достоверности различий средних значений параметров проводили анализ с применением t-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

В контроле на протяжении периода регистрации мозговой кровотока не изменялся, составляя в среднем 38—41 п.е. Нормированная амплитуда колебаний кровотока во всех исследуемых диапазонах была стабильной (таблица).

Частоты для эндотелиальных, нейрогенных, миогенных и дыхательных колебаний в среднем составляли  $0,021 \pm 0,002$ ,  $0,068 \pm 0,002$ ,  $0,23 \pm 0,01$  и  $0,76 \pm 0,05$  Гц соответственно.

В опытной группе фоновые показатели не отличались от контроля (таблица, рис. 1). Медленное снижение системного АД до нижней границы ауторегуляции не приводило к падению кровотока (рис. 2), но повышало нормированной амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном и нейрогенном диапазонах (таблица, рис. 2). В то же время в миогенном и дыхательном диапазонах нормированная амплитуда колебаний не изменялась. После снижения системного АД в среднем до 34 мм рт. ст. наступал срыв ауторегуляции: мозговой кровотока уменьшался вдвое. При этом наблюдалось не только сохранение повышенной нормированной амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном и нейрогенном диапазонах, но и повышение нормированной амплитуды колебаний в миогенном и дыхательном диапазонах (таблица, рис. 3). Кроме того, наблюдался сдвиг частот колебаний: миогенного в сторону уменьшения ( $0,17 \pm 0,01$  Гц,  $p < 0,05$  по сравнению с контролем), а дыхательного — в сторону увеличения ( $1,11 \pm 0,09$  Гц,  $p < 0,05$  по сравнению с контролем).

Рассмотрим возможные механизмы наблюдаемых изменений.

Таблица

**Средние ( $M \pm m$ ) значения показателей артериального давления и микроциркуляции в динамике у крыс в контрольной группе ( $n = 19$ ) и в опытной группе после двух хирургических кровопотерь ( $n = 22$ )**

Группа животных	Регистрируемые показатели		
	Фоновый уровень	После 1-й кровопотери	После 2-й кровопотери
Системное АД, мм рт. ст.			
Контрольная группа	$84,4 \pm 0,6$	$83,8 \pm 0,5$	$83,1 \pm 0,6$
Опытная группа	$84,3 \pm 0,4$	$50,2 \pm 0,5^*$	$34,3 \pm 0,5^*$
Мозговой кровотока, перфузионные единицы			
Контрольная группа	$38,6 \pm 3,9$	$41,2 \pm 4,8$	$40,5 \pm 4,3$
Опытная группа	$33,6 \pm 2,7$	$30,5 \pm 3,1$	$16,2 \pm 1,7^*$
Эндотелиальный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная группа	$0,87 \pm 0,11$	$0,83 \pm 0,11$	$0,79 \pm 0,08$
Опытная группа	$1,14 \pm 0,13$	$1,67 \pm 0,16^*$	$2,64 \pm 0,31^*$
Нейрогенный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная группа	$1,21 \pm 0,10$	$1,14 \pm 0,11$	$1,05 \pm 0,09$
Опытная группа	$1,31 \pm 0,11$	$2,50 \pm 0,44^*$	$2,41 \pm 0,43^*$
Миогенный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная группа	$1,02 \pm 0,03$	$0,96 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,03$
Опытная группа	$1,04 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,05$	$1,75 \pm 0,23^*$
Дыхательный ритм (нормированная амплитуда)			
Контрольная группа	$1,12 \pm 0,28$	$1,32 \pm 0,13$	$1,07 \pm 0,09$
Опытная группа	$1,35 \pm 0,13$	$1,43 \pm 0,16$	$1,86 \pm 0,19^*$

Примечание. \* — достоверность  $p < 0,05$  по сравнению с контролем (t-критерий Стьюдента)

Экспериментально, с использованием электрохимических датчиков было доказано, что самые медленные колебания кровотока совпадают по диапазону частот с периодическими флуктуациями концентрации оксида азота [7]. С одной стороны, это послужило основанием для того, чтобы связать колебания в низкочастотном диапазоне с эндотелиальными влияниями [10], а с другой стороны, позволяет допустить, что эндотелий секретирует вазоактивные вещества квантами. Последнее допущение подкрепляется концепцией Е.Б. Манухиной о наличии депо оксида азота в стенках мозговых сосудов [11].

В наших исследованиях увеличение амплитуды колебаний в эндотелиальном диапазоне наблюдалось как в период собственно ауторегуляции мозгового кровотока, так и при ее срыве. Это позволяет предположить активное участие эндотелия в поддержании постоянства кровотока в условиях кровопотери.

Увеличение амплитуды колебаний кровотока в нейрогенном диапазоне свидетельствует о снижении симпатических адренергических влияний [4]. Поэтому наши данные вполне укладываются в представление об ослаблении адренергических констрикторных влияний на мозговые сосуды в условиях централизации кровообращения, которая всегда наступает при кровопотере.

Сложнее проанализировать механизм изменения миогенного тонуса. В гладкомышечных клетках артериол с участием рианодиновых рецепторов эндоплазматического ретикула происходит упорядоченное опорожнение и заполнение внутриклеточных хранилищ ионов кальция. Синусоидальные колебания уровня кальция представляют собой быстрые симметричные колебания постоянной частоты, наложенные на сдвиг фоновой концентрации  $Ca^{2+}$  [5]. Исследованиями, проведенными *in vitro*, доказано, что освобождение ионов кальция из саркоплазматического ретикула и обратный захват вызывают ритмические сокращения миоцитов с частотой 0,15—0,4 Гц [13].

На изолированных сосудах было также показано, что миогенный ответ артериол в ответ на снижение внутрисосудистого давления не приводит к увеличению амплитуды колебаний концентрации ионов кальция, а лишь снижает их частоту [12]. Этот факт позволяет объяснить отсутствие изменений амплитуды колебаний в миогенном диапазоне в период ауторегуляции в наших опытах. Согласно нашим данным, увеличение амплитуды колебаний наблюдается лишь при срыве ауторегуляции, т.е. при максимальной дилатации артериол. Это согласуется с фактом увеличения амплитуды колебаний концентрации ионов кальция в миоцитах артериол в условиях их максимальной дилатации после блокады Rho-киназы [8].

Таким образом, метод лазерной доплеровской флоуметрии позволяет комплексно оценивать состояние сосудов мозга в условиях *in vivo*. Показано активное участие в ауторегуляции эндотелиального звена на фоне постепенного ослабления адренергических влияний. Этот процесс сопровождается стабильным функционированием миогенного механизма, одной из возможных трактовок которого может быть развиваемое нами представление о поддержании постоянства натяжения сосудистых стенок артериол как главной цели ауторегуляторного ответа [6].

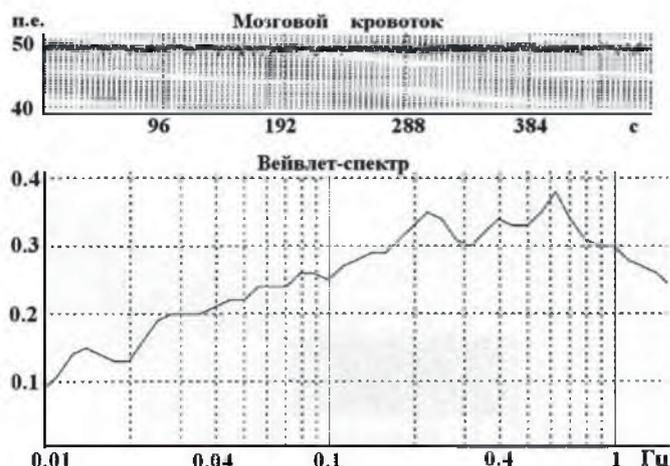


Рис. 1. Пример фоновой записи ЛДФ-граммы мозгового кровотока (верхняя кривая) и ее спектральный амплитудно-частотный вейвлет-анализ (нижняя кривая). По оси абсцисс: время, с (мозговой кровоток); частота осцилляций, Гц (вейвлет-спектр). По оси ординат: величина кровотока и амплитуда осцилляций в перфузионных единицах (п.е.).

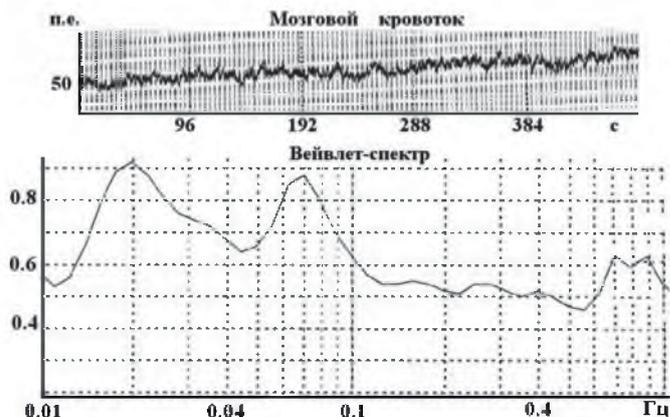


Рис. 2. Пример записи ЛДФ-граммы мозгового кровотока (верхняя кривая) и ее спектральный амплитудно-частотный вейвлет-анализ (нижняя кривая) после снижения системного АД в пределах ауторегуляции мозгового кровотока. Наблюдается появление высокоамплитудных осцилляций в эндотелиальном (0,02 Гц) и нейрогенном (0,07 Гц) диапазонах и отсутствие изменений в миогенном диапазоне. По оси абсцисс: время, с (мозговой кровоток); частота осцилляций, Гц (вейвлет-спектр). По оси ординат: величина кровотока и амплитуда осцилляций в перфузионных единицах (п.е.).

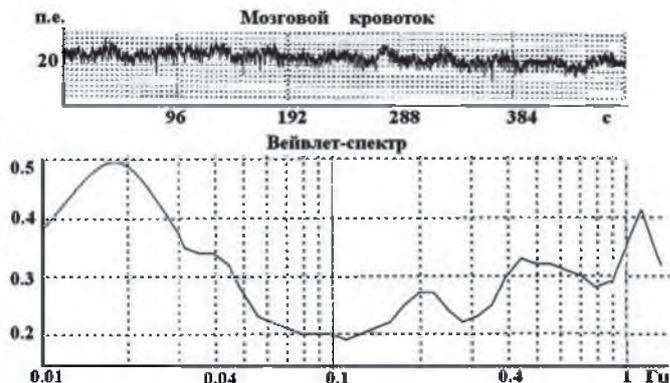


Рис. 3. Пример записи ЛДФ-граммы мозгового кровотока (верхняя кривая) и ее спектральный амплитудно-частотный вейвлет-анализ (нижняя кривая) при срыве ауторегуляции мозгового кровотока. Наблюдается сохранение высокоамплитудных осцилляций в эндотелиальном (0,018 Гц) и нейрогенном (0,043 Гц) диапазонах, а также их появление в миогенном (0,2 Гц) и дыхательном (1,1 Гц) диапазонах. По оси абсцисс: время, с (мозговой кровоток); частота осцилляций, Гц (вейвлет-спектр). По оси ординат: величина кровотока и амплитуда осцилляций в перфузионных единицах (п.е.).

### Список литературы

1. Александрин В.В. Миогенное звено в ауторегуляции церебрального кровотока // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2007. — Т. 6, №1. — С. 148—149.
2. Александрин В.В. Ауторегуляция мозгового кровотока в норме и в период постишемической гипоперфузии // Патогенез. — 2012. — Т. 10, №1. — С. 27—30.
3. Александрин В.В., Лузянин Б.П., Иванов А.В., Кубати-ев А.А. Влияние гипергомоцистеинемии на мозговой кровоток по данным вейвлет-анализа // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 2011. — №2. — С. 13—18.
4. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. (ред.) Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. — М.: Медицина, 2009. — 254 с.
5. Луценко В.К. Молекулярная патофизиология. — М.: Наука, 2004. — 265 с.
6. Alexandrin V.V. Relationship between myogenic reaction and autoregulation of cerebral circulation // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2010. — Vol. 150, №2. — P. 168—171.
7. Buerk D.G., Riva C.E. Vasomotion and spontaneous low frequency oscillations in blood flow and nitric oxide in cat optic nerve head // Microvasc. Res. — 1998. — Vol. 55. — Is. 1. — P. 103—112.
8. Gokina N.I., Park K.M., McElroy-Yaggy K., Osol G. Effects of Rho kinase inhibition on cerebral artery myogenic tone and reactivity // Journal of Applied Physiology. — 2005. — Vol. 98, №5. — P. 1940—1948.
9. Koller A., Toth P. Contribution of Flow-Dependent Vasomotor Mechanisms to the Autoregulation of Cerebral Blood Flow // J. Vasc. Res. — 2012. — Vol. 49. — P. 375—389.
10. Landsverk S.A., Kvandal P., Stefanovzka A., Kirkeboen K.A. The effects of general anesthesia on human skin microcirculation evaluated by wavelet transform // Anesthesia and analgesia. — 2007. — Vol. 105. — P. 1012—1019.
11. Mashina S.Y., Goryacheva A.V., Vlasova M.A., Malyshev I.Y., Manukhina E.B., Aleksandrin V.V., Vanin A.F. Adaptation to hypoxia prevents disturbances in cerebral blood flow during neurogenerative process // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2006. — Vol. 142, №2. — P. 169—172.
12. Mufti R.E., Brett S.E., Tran C.T., Rahman R.A., Anfinogenova Y. Intravascular pressure augments cerebral arterial constriction by inducing voltage-insensitive Ca<sup>2+</sup> waves // J. Physiol. — 2010. — Vol. 588, №20. — P. 3983—3993.
13. Peng H. Hypothesis for the initiation of vasomotion // Circ. Res. — 2001. — Vol. 88. — P. 810—815.

Поступила 26.11.2013

## ***The dynamic of wavelet transform of cerebral blood flow during gradual hemorrhage***

**Aleksandrin V.V.**

Institute of General Pathology and Pathophysiology,  
8, Baltiyskaya str., 125315, Moscow, Russia.  
E-mail: aleksandrin-54@mail.ru

*The dynamic of wavelet transform of cerebral blood flow during step hemorrhage was studied. Microcirculation was explored by laser Doppler flowmetry. The increase of amplitude in neurogenic and endothelial diaphragms of microcirculation was registered. The mechanisms of myogenic tone disturbances after hemorrhage are discuss.*

**Key words:** cerebral blood flow, autoregulation, wavelet transform