

УДК 531/534: [57+61]

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ И ТРАНСКАПИЛЛЯРНОГО ОБМЕНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ЛАЗЕРНОГО МЕТОДА

С.Н. Багаев, В.Н. Захаров, В.А. Орлов, С.В. Панов, Ю.Н. Фомин

Институт лазерной физики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 13/3, e-mail: lss@laser.nsc.ru

Аннотация. Представлены результаты исследований биомеханики микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена, достигнутые неинвазивным лазерным высокочувствительным методом. Получены новые экспериментальные факты о перемещениях стенок микрососудов и связи их с сократительной деятельностью гладкомышечных элементов. Выявлено, что интенсивность сокращений мышечных клеток регулируется скоростью кровотока за счет специфического электрического взаимодействия движущихся эритроцитов со стенками микрососудов. Обнаруженная связь частоты колебаний стенок артериол и венул со скоростью кровотока в них и существующие противоречия в традиционных представлениях о транскапиллярном обмене позволили сформулировать новую концепцию о его механизмах, основанных на принципах биоэлектричества.

Ключевые слова: артериолы, капилляры, венулы, микрогемоциркуляция, транскапиллярный обмен, лазерный метод, высокочастотные колебания стенок микрососудов, ионные токи, электрическое взаимодействие эритроцитов и гладкомышечных клеток.

Введение

Интерес к исследованию микрососудистого русла системы кровообращения обусловлен громадной ролью капилляров в осуществлении главнейших процессов жизнедеятельности организма, трофическом обеспечении органов и их непосредственном участии в тканевом и клеточном дыхании. От согласованной работы сердца, крупных кровеносных магистралей и микрососудов звена микрогемоциркуляции системы кровообращения в целом зависят здоровье и продолжительность жизни человека.

Познание закономерностей капиллярного кровотока и транскапиллярного обмена необходимо для создания новых медицинских технологий в диагностике, лечении и профилактике многих заболеваний. Среди них – болезни сердца, кровеносных сосудов, головного мозга и других органов, которые проявляются значительными нарушениями кровообращения, в первую очередь, на капиллярном уровне. Это, прежде всего, вопросы профилактики и терапии нарушений регионарного, в частности, коронарного, мозгового, почечного и печеночного кровообращения, общей недостаточности кровообращения и различных видов шока. В эффективности решения этой проблемы заинтересованы также хирурги, которые на основе новых явлений и

законов, управляющих этими явлениями, получают возможность целенаправленного улучшения технологии искусственного кровообращения и создания аппаратов нового поколения для ее осуществления, позволяющих исключить многочисленные осложнения в сердечно-сосудистой хирургии. Со времен Гарвея, Левенгука и Мальпиги до настоящего времени получено много информации о звене микрогемодикуляции сердечно-сосудистой системы.

Для исследований в этой области знания используются самые последние достижения оптики (люминесцентный, ультрафиолетовый, интерференционный, фазовоконтрастный микроскопы), оптические квантовые генераторы, достижения электроники (электронный и телевизионный микроскопы), новые типы датчиков и усилителей. Однако, несмотря на эти достижения, с помощью указанных приборов проблему биомеханики микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена авторы статьи решить не смогли. Существующие ограничения не позволяли развить функциональный аспект в исследовании звена микрогемодикуляции. Поэтому до настоящего времени в этой области знания отмечается, в основном, морфологическая направленность исследований.

Поскольку традиционные представления о транскапиллярном обмене, основанном на диффузионном механизме, в известной степени противоречивы, авторами предложен новый подход к исследованиям биомеханики микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена. В основу нового подхода было заложено представление об активном взаимодействии стенок микрососудов с кровью. С помощью оригинального лазерного метода авторами обнаружено неизвестное ранее явление образования акустического поля в просвете микрососудов, доказавшее правильность выдвинутых идей. Поскольку жизнедеятельность всех без исключения клеток в организме связана с биоэлектричеством, исследованиями обосновывается существование электрического взаимодействия движущихся в потоке крови эритроцитов с гладкомышечными клетками стенок микрососудов.

Фазочувствительный лазерный метод для изучения биомеханики микрососудов

Исследование транспортной функции сердечно-сосудистой системы в звене микрогемодикуляции требовало создания особой техники и методики эксперимента, позволяющих, не нарушая целостности живой материи и не возмущая биологические процессы, наблюдать особенности функционирования организма на тканевом и клеточном уровне. Процессы транскапиллярного обмена, требующие изучения, характеризуются малыми перемещениями и скоростями исследуемых микрообъектов (микрососудов и компонентов крови). Такой класс движений доступен для изучения методом высокоразрешающей спектроскопии светового рассеяния. Понимая необходимость и важность таких экспериментов, авторами была создана специальная уникальная лазерная установка и разработана оригинальная методика исследования микрососудистого русла системы кровообращения [1, 2].

В отличие от известных методов исследования динамических характеристик микрообъектов, основанных на анализе светового рассеяния, разработанный спектроскопический метод и аппаратура обладают, как минимум, на порядок более высокой чувствительностью к слабому рассеянию и, соответственно, более высокой точностью, что связано с особенностями использования фазосинхронизованных лазерных источников с частотным сдвигом их излучений и методов обработки сигналов. Фазовая чувствительность используемого в исследованиях спектрометра

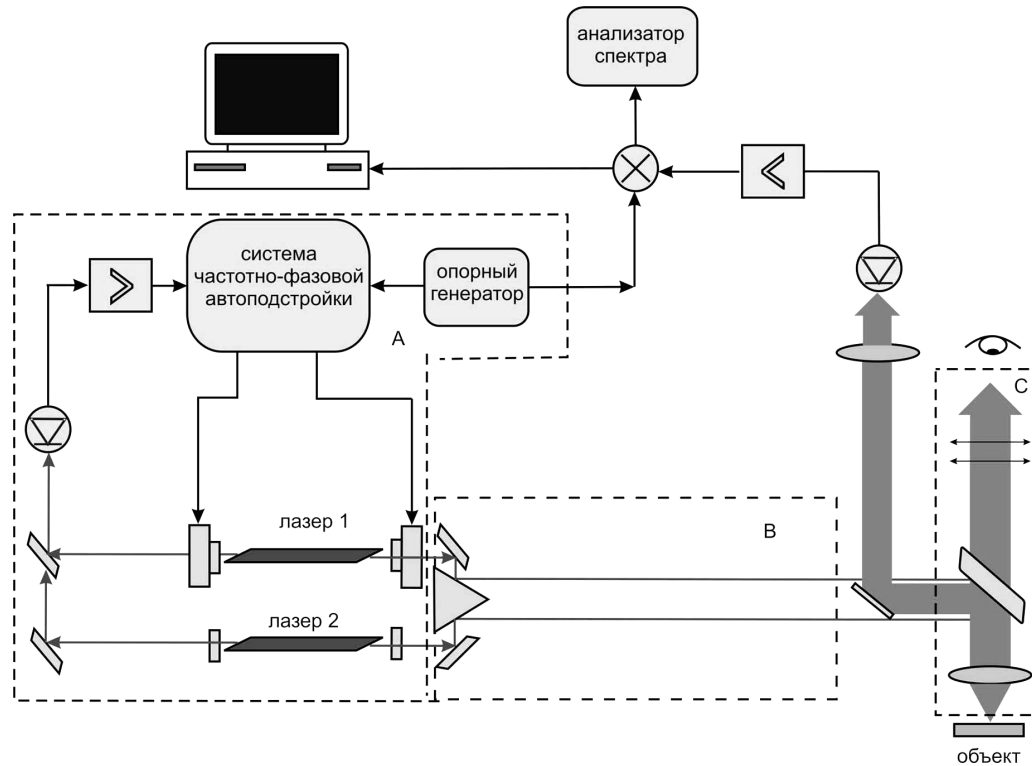


Рис. 1. Схема лазерной установки

светового рассеяния с высоким частотным $5 \cdot 10^4$ Гц и временным 10^{-5} с разрешением позволяет путем измерения малых перемещений $d \ll 1$ мкм и скоростей $V \ll 1$ мкм/с изучать явления и закономерности движения микрообъектов различной природы, а также их динамические свойства на малых временных и пространственных масштабах.

В связи с этим разработан комплекс методик регистрации и обработки сигналов рассеяния, обеспечивающий новые возможности фазочувствительного лазерного спектрометра светового рассеяния для исследования динамических свойств микрообъектов. Для бесконтактного, неинвазивного изучения микроциркуляции крови и трансапиллярного обмена на живых объектах была создана специальная прецизионная лазерная установка, не имеющая аналогов в мире. Уже в первых экспериментах возможности уникальной установки позволили убедиться в том, что традиционные представления о трансапиллярном обмене, основанные на диффузионном механизме, неверны.

Схема созданной установки представлена на рис. 1. Блок А представляет собой систему двух He–Ne лазеров мощностью 1 мВт, синхронизированных между собой по фазе с помощью быстродействующей частотно-фазовой системы автоподстройки (ЧФАП). Разность частот лазеров в системе определяется частотой опорного генератора и составляет 1 МГц. Блок В формирует два параллельных лазерных пучка дифференциальной доплеровской схемы измерения малых скоростей и перемещений. Блок С представляет собой оптическую систему настройки на объект. Излучение двух зондирующих лазеров, проходя через систему зеркал, фокусируется с помощью объектива микроскопа на объект исследования. Рассеянное назад суммарное излучение собирается с помощью приемной линзы на фотодетектор. Сигнал биений с фотодетектора на частоте 1 МГц, проходя через электронный усилитель, поступает на смеситель. На выходе смесителя выделяется синусоидальный сигнал в области 5–30 кГц. Этот сигнал визуально исследуется на анализаторе спектра и одновременно поступает на вход АЦП. Запись сигнала в память компьютера осуществляется с частотой 96 кГц.

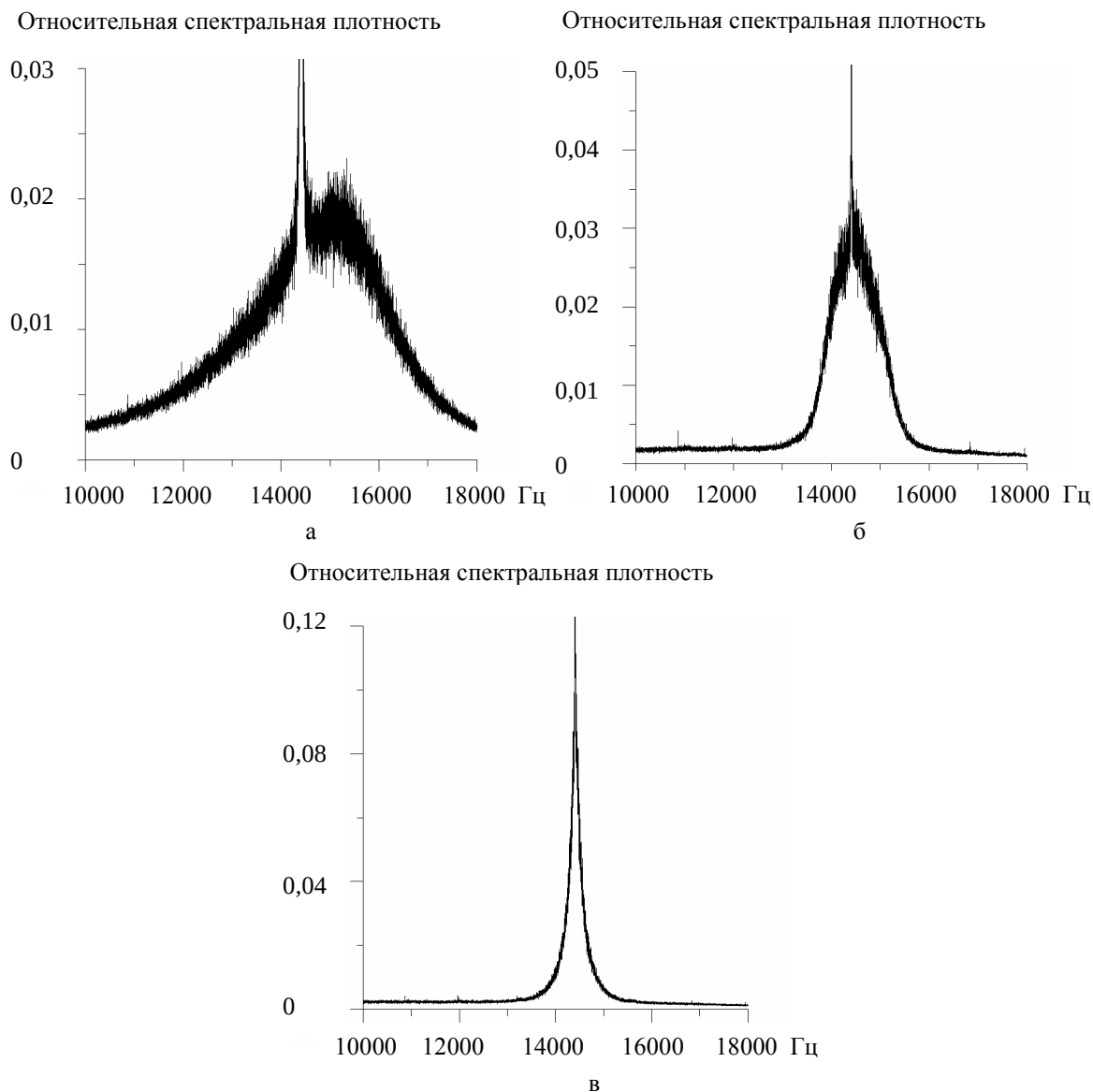


Рис. 2. Спектры сигналов светового рассеяния от стенок микрососудов: а – венола, б – артериола, в – капилляр

Для решения выдвинутой авторами проблемы необходимо было выбрать живой объект, удобный для оптических исследований. В качестве такого объекта в первых экспериментах использовалась прудовая лягушка. Перед опытом лягушку вводили в наркоз для обездвиживания, без нарушения сердечно-сосудистой деятельности. С помощью микроскопа находили микрососуд на плавательной перепонке и осуществляли фокусировку излучения лазеров на него. Важнейшие результаты этих экспериментов заключались в следующем. Обнаружено неизвестное ранее явление образования акустического поля в просвете микрососудов – артериолах, капиллярах и венолах. Оно заключается в том, что при микроциркуляции в системе кровообращения возникают акустические колебания стенок микрососудов с амплитудой менее или порядка 1 мкм в диапазоне частот 1–2 кГц в артериолах, капиллярах и венолах [1, 2]. Авторы предположили, что обнаруженное явление обусловлено сократительной деятельностью мышечных элементов артериол и венул, от которых колебания передаются в капилляры. Наблюдаемое явление демонстрируется на рис. 2, где

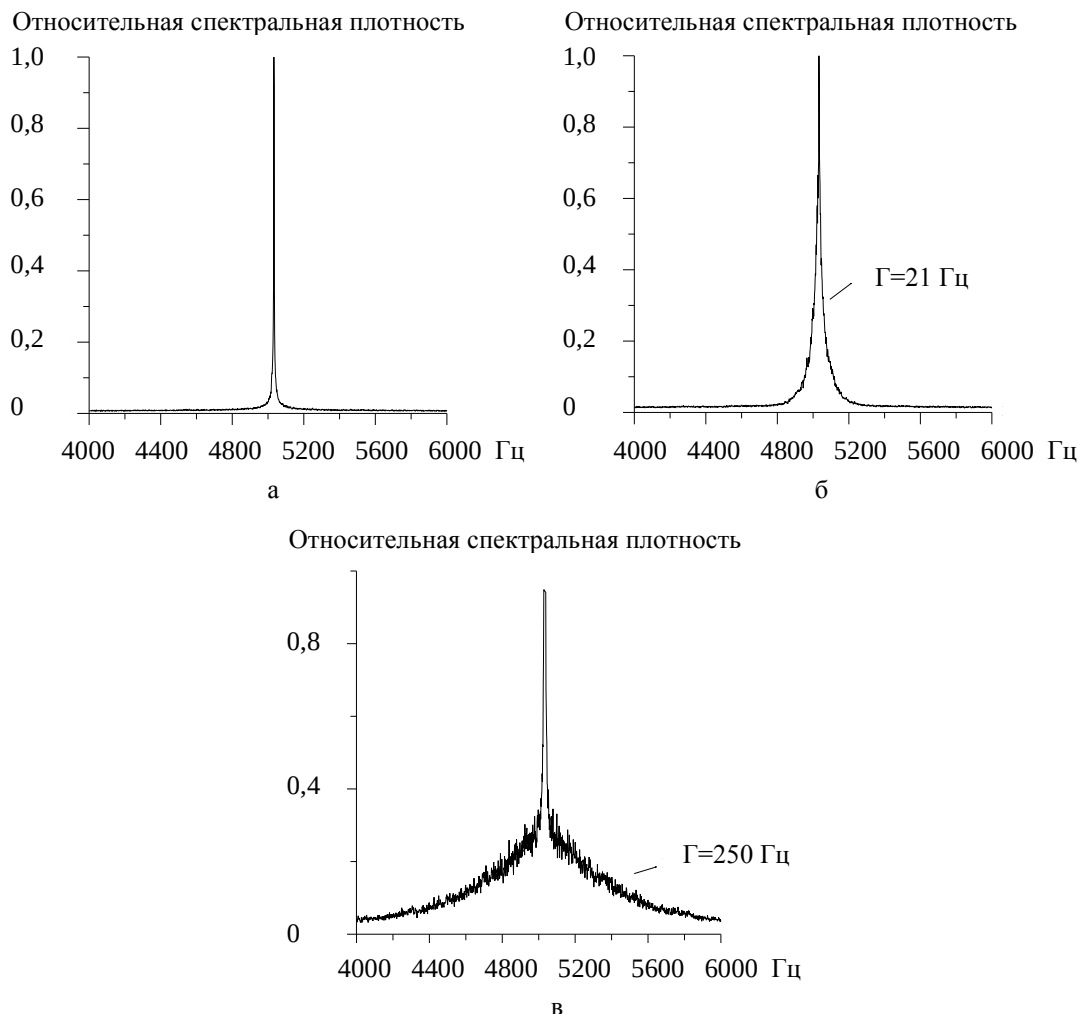


Рис. 3. Спектры рассеяния от микрососудов: а – участок перепонки лягушки без кровеносных сосудов, б – капилляр, в – артериола

представлены спектральные плотности сигналов рассеяния от движущихся микрососудов, полученные осреднением Фурье–спектров за время наблюдения 1 мин: а – венула, б – артериола, в – капилляр.

Экспериментально зарегистрированные колебательные движения стенок микрососудов выражаются в симметричном уширении спектров рассеянного сигнала, а не в виде отдельных ярко выраженных спектральных компонентов. Для обсуждаемых на рис. 2 спектров исключением является случай с венулой, где некоторая асимметрия в спектральной плотности обусловлена наличием доплеровского сигнала от движущихся эритроцитов. В том, что наблюдаемые перемещения стенок кровеносных каналов в звене микроциркуляции нестационарны, авторы убедились путем изучения спектров, наблюдаемых за короткие промежутки времени.

Регистрация колебаний стенок микрососудов

Итак, обнаружено существование высокочастотных колебаний стенок микрососудов, ориентированных поперек их продольной оси. Для раскрытия сущности изучаемого явления требовались дополнительные исследования, направленные на поиск механизма, приводящего к наблюдаемым колебаниям, а также целесообразности

существования локальных перемещений сосудистых стенок в звене микрогемоциркуляции. С этой целью были проведены две серии сравнительных экспериментов [3]. В первой серии опытов доказана повторяемость обнаруженного явления у разных типов лягушек.

Сравнивались экспериментальные данные, полученные у прудовых и шпорцевых лягушек. Выявлено отличие спектров сигналов рассеяния, полученных от микрососудов шпорцевой и прудовой лягушек. Это отличие видно из сравнения спектров, представленных на рис. 2 и 3. Узкая часть ширины линий рассеяния (рис. 3), порядка нескольких герц, с одной стороны, указывает на высокую разрешающую способность лазерной установки, с другой – на неподвижность исследуемого живого объекта в целом. Показательным является спектр сигнала рассеяния, полученный с межсосудистой зоны плавательной перепонки шпорцевой лягушки, где нет микрососудов (рис. 3а). Этот случай указывает на небольшое уширение в спектре, связанное с медленной, низкоамплитудной подвижностью перепонки в целом. Далее представлены спектры рассеяния со стенок микрососудов шпорцевой лягушки. На рис. 3б изображен спектр рассеяния, полученный от капилляра, а на рис. 3в – от артериолы. В двух последних примерах спектры имеют уширенный симметричный пьедестал, который характеризует степень подвижности стенки исследуемого микрососуда.

В ходе сравнительных экспериментов было обращено внимание, во-первых, на то, что у шпорцевых лягушек скорость кровотока в микрососудах значительно меньше, чем у прудовых, а, во-вторых, что наблюдаемое уширение линии рассеяния в спектрах, полученных с микрососудов шпорцевых лягушек, в среднем на порядок меньше, чем у прудовых лягушек. Эти два факта указывали на причинно-следственную связь объемной скорости кровотока в микрососудах с наблюдаемым уширением спектров рассеяния с их стенок. Далее требовалось провести дополнительные опыты, подтверждающие связь частоты колебаний стенок микрососудов со скоростью кровотока, и непосредственно зарегистрировать движение стенок микрососудов путем детектирования их поперечных перемещений. В связи с этим проведена вторая серия опытов.

Во второй серии экспериментов лягушек целенаправленно вводили в глубокий наркоз, при котором наступало резкое угнетение сердечно-сосудистой деятельности, наблюдаемое под микроскопом в виде выраженного снижения скорости кровотока в микрососудах. При малой скорости кровотока ~ 10 мкм/с наблюдалась узкая линия рассеяния, что показано на рис. 4а и 4б (артериола и венола). Малое уширение спектров являлось следствием резкого угнетения сердечно-сосудистой деятельности. Таким образом, в состоянии глубокого наркоза животного наблюдаемая малая скорость кровотока соответствует малому уширению спектра рассеяния. По мере выхода лягушки из наркоза отмечена динамика изменения этих взаимоотношений, а именно, при увеличении скорости кровотока одновременно увеличивалась ширина пьедестала линии рассеяния, обусловленная восстановлением и активацией сердечно-сосудистой деятельности.

В случае, когда разностный волновой вектор ориентировался вдоль потока крови в микрососуде, одновременно регистрировались скорость кровотока и уширение линии рассеяния (рис. 5). При этом доплеровский сдвиг на уровне 100 Гц, обусловленный движением эритроцитов, соответствует уширению пьедестала линии рассеяния порядка 200 Гц. Аналогичный факт наблюдался авторами ранее, когда доплеровский сдвиг порядка 1 кГц соответствовал уширению линии рассеяния $2\Gamma = 2-3$ кГц в первых экспериментах (рис. 2).

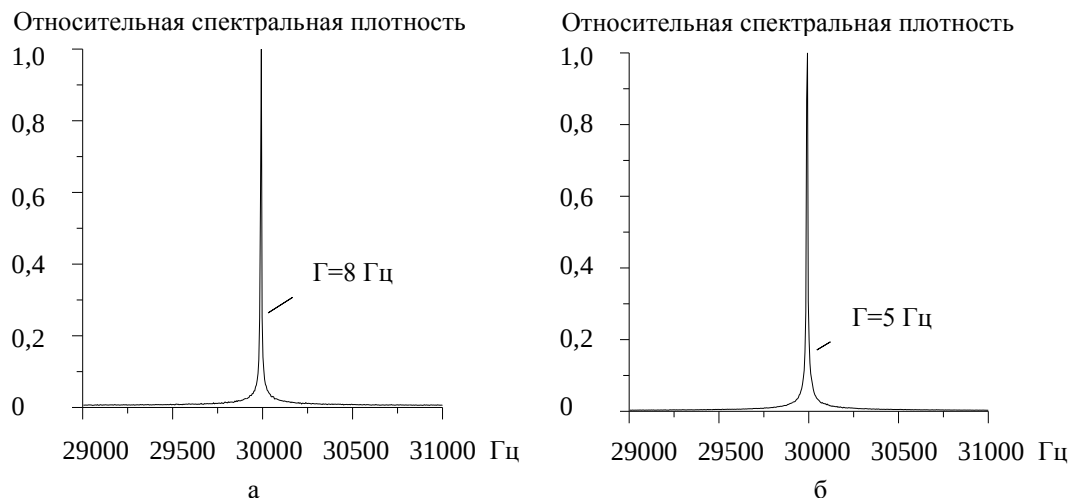


Рис. 4. Спектры рассеяния от микрососудов при сильном угнетении сердечно-сосудистой деятельности: а – венула, б – артериола

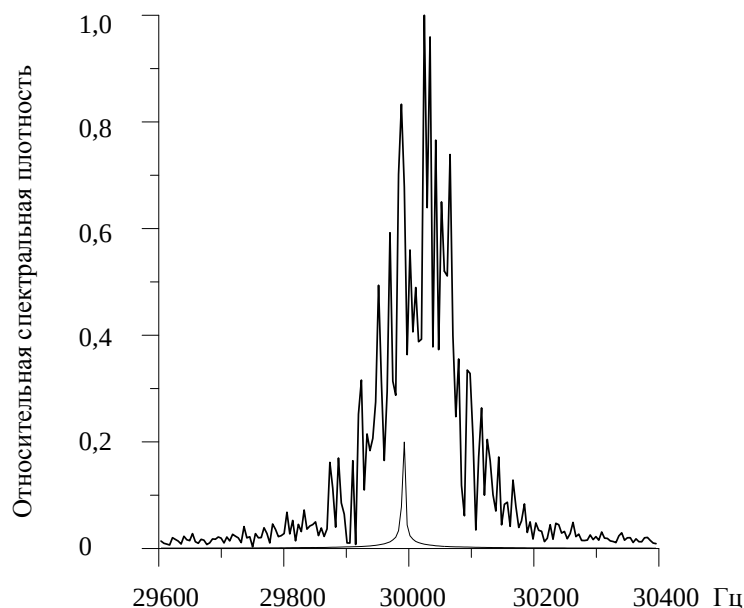


Рис. 5. Спектр рассеяния от артериолы при геометрии, чувствительной к доплеровскому сдвигу

Таким образом, была доказана линейная зависимость наблюдаемого уширения линии рассеяния на микрососудах от скорости кровотока в них. Выдвинутые идеи о том, что стенка микрососуда имеет поперечные периодические перемещения и «следит» за потоком крови в нем, нашли дополнительные подтверждения. То, что стенки микрососудов действительно совершают периодические поперечные движения по отношению к продольной оси, было обосновано путем прямого детектирования их перемещений и скоростей. Это достигалось путем использования алгоритма обработки сигналов, разработанного авторами, для регистрации перемещений единичной микрочастицы в жидкости [4].

Суть разработанной процедуры состоит в "математическом гетеродинамировании" сигнала рассеяния, записанного в цифровой форме в память ЭВМ или в файл данных. В качестве гетеродина используется математический синусоидальный сигнал с частотой,

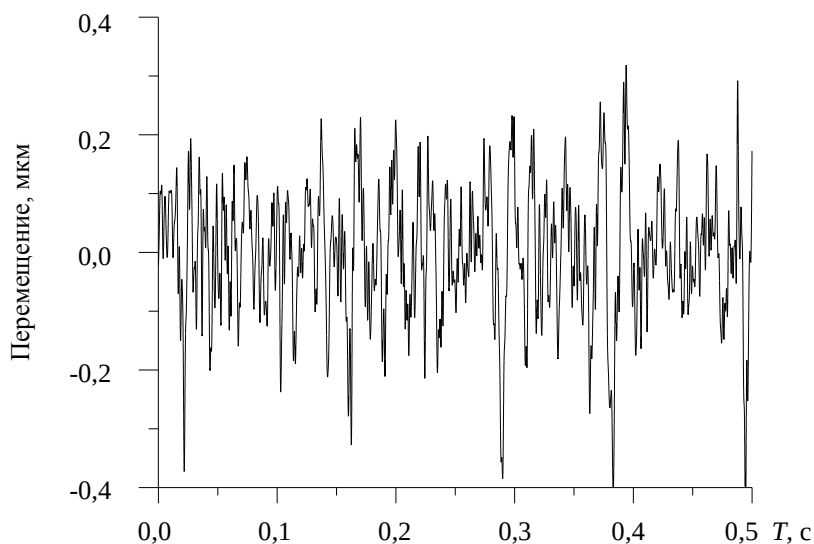


Рис. 6. Сигнал выделенных перемещений стенки микрососуда (артериолы)

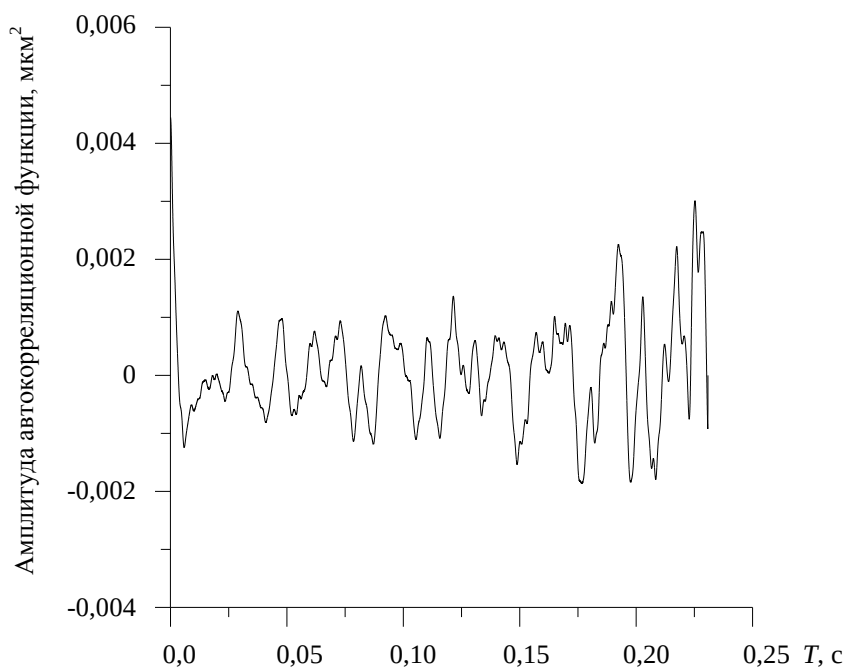


Рис. 7. Автокорреляционная функция перемещений

равной или близкой к частоте зарегистрированного сигнала рассеяния. Процедура выделения фазы сигнала рассеяния, а, следовательно, и перемещения частицы включает в себя вычисление произведений сигнала рассеяния на математический синусоидальный и косинусоидальный сигналы, цифровую узкополосную фильтрацию, численное дифференцирование, интегрирование и ряд алгебраических операций.

Для нахождения перемещения стенок микрососудов использовались данные, полученные в последней серии экспериментов. Продемонстрируем работу указанной выше процедуры на примере обработки сигнала рассеяния, полученного от артериолы. На рис. 6 показан результат обработки фрагмента сигнала за время наблюдения порядка 0,09 с в виде регистрируемых перемещений. Обратим внимание на то, что сигнал перемещений носит сложный осциллирующий характер. Чтобы исключить

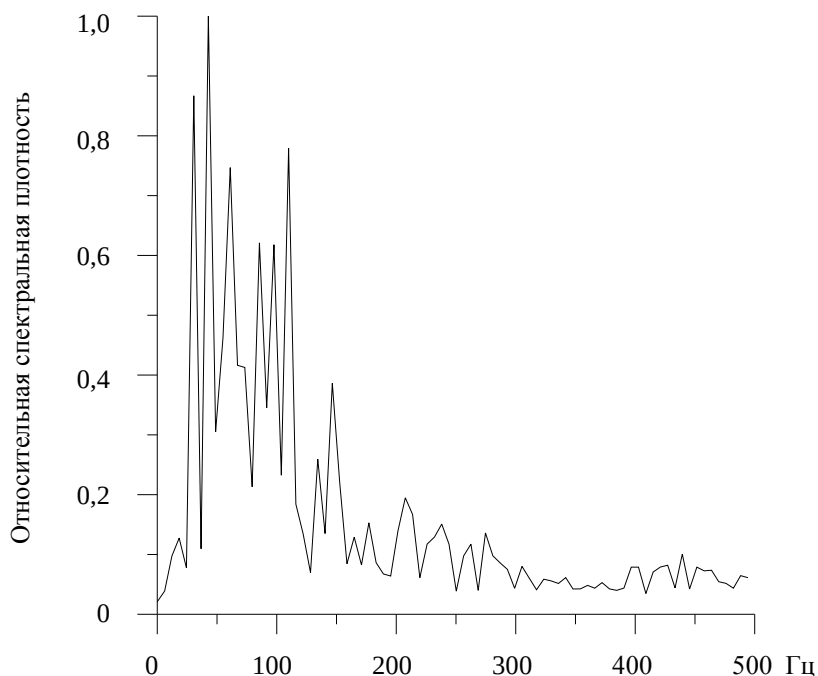


Рис. 8. Спектр автокорреляционной функции

случайную, недетерминированную часть в нем, полученный сигнал перемещений подвергался корреляционному анализу. Соответствующая ему автокорреляционная функция представлена на рис. 7. Можно отметить, что на графике автокорреляционной функции количество гармоник существенно уменьшилось по сравнению с сигналом, представленным на рис. 6. Это связано с тем, что процедура нахождения автокорреляций обладает фильтрующими свойствами.

Заметим, что присутствие в сигнале перемещений случайных флуктуаций авторы связывают с вкладом в рассеяние эритроцитов, беспорядочно поступающих в зону измерения с потоком крови. Несмотря на то, что перемещения, выделенные в автокорреляционной функции, носят упорядоченный характер, они представлены не одной, а рядом гармоник, амплитуды наиболее выраженных из которых в конкретном случае составляют $\sim 0,15$ мкм. То, что колебания стенок микрососудов содержат ряд гармоник, следует также из спектрального анализа автокорреляционной функции, график спектральной плотности которой представлен на рис. 8. На нем видно, что основные спектральные пики простираются в области до 150 Гц. Было интересно узнать, что покажет аналогичная обработка, если проанализировать сигналы, полученные впервые на прудовых лягушках. Прodelывая те же операции на экспериментальных данных, полученных ранее, авторы убедились на примере артериолы, что впервые наблюдаемое большое уширение спектрального пьедестала связано с более высокочастотными (~ 1 кГц) колебаниями стенок.

Обнаруженные авторами явные несоответствия в традиционных представлениях о микроциркуляции крови и транскапиллярном обмене требовали ответа на вопросы для разрешения выявленных следующих противоречий.

1. При относительно высокой скорости кровотока в капиллярах, равной 1 мм/с, т.е. малом времени контакта крови со стенкой капилляра (0,3–0,7 с), и медленных процессах молекулярной физической диффузии необходимо обеспечить высокую эффективность транскапиллярного обмена.
2. Существование в артериолах и венах гладкомышечного слоя относительно большой толщины при отсутствии понимания его функциональной роли в биомеханике микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена.

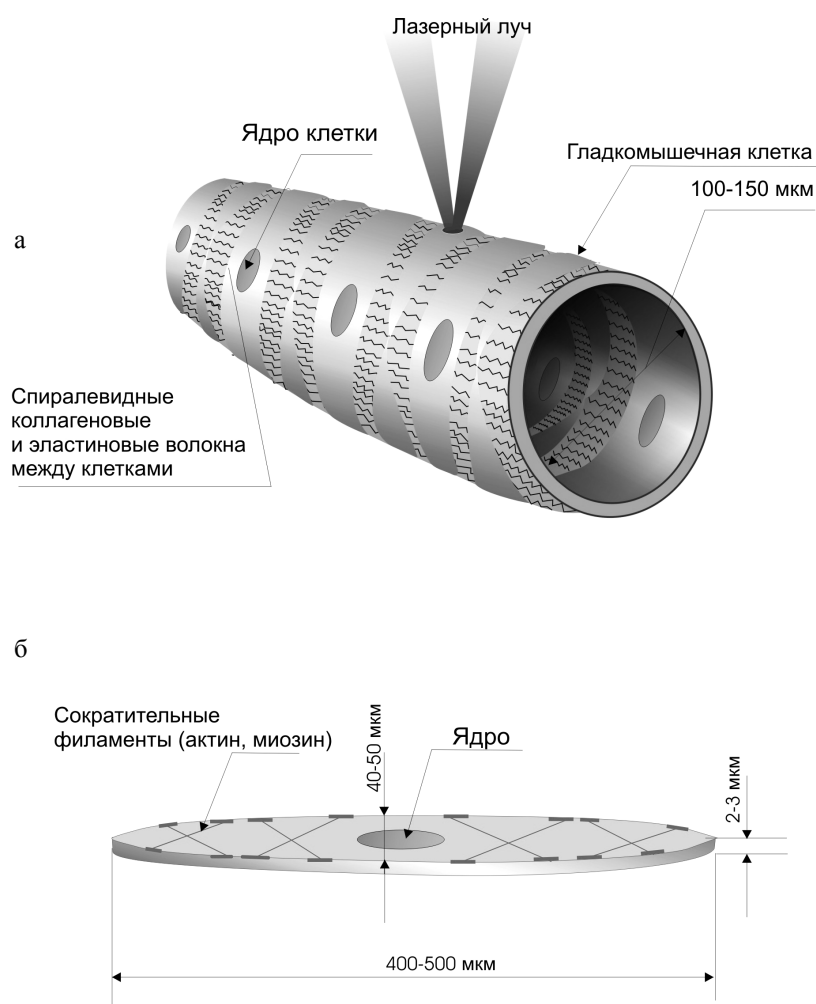


Рис. 9. Артериола в звене микрогемоциркуляции системы кровообращения (а – строение артериолы, б – гладкомышечная клетка)

Изучение роли мышечного слоя микрососудов

Поскольку у авторов возникла необходимость в выяснении функциональной роли мышечных элементов артериол и венул в микрогемоциркуляции, ниже приведено краткое описание известных морфофункциональных особенностей гладкомышечных элементов кровеносных сосудов.

Гладкомышечные клетки имеют длину примерно 400–500 мкм, ширину 40–50 мкм и толщину 2–3 мкм (рис. 9). Соединенные особыми межклеточными контактами (десмосомами), они образуют сеть с вплетенными в нее коллагеновыми волокнами. Из-за нерегулярного распределения миозиновых и актиновых нитей эти клетки лишены поперечной полосатости, характерной для сердечной и скелетной мускулатуры. В ходе сокращения миозин становится способным взаимодействовать с актином и начинает тянуть нити актина к центру саркомера. Вследствие такого движения уменьшается длина каждого саркомера и всей мышцы в целом. Важно отметить, что при такой системе генерации движения, получившей название системы скользящих нитей, не изменяется длина нитей. Укорочение является следствием лишь перемещения нитей друг относительно друга. Сигналом для начала мышечного сокращения является

повышение концентрации Ca^{2+} внутри клетки. Концентрация кальция в клетке регулируется с помощью специальных кальциевых насосов, встроенных в наружную мембрану и мембрану саркоплазматического ретикулума, который оплетает миофибриллы. Приведенная схема дает общее представление о механизме сокращения мышц.

Гладкие мышцы обладают миогенной (спонтанной) активностью. Во многих гладких мышцах кишечника и крупных кровеносных сосудов одиночное сокращение, вызванное потенциалом действия, продолжается несколько секунд. Сокращения с интервалом менее 2 с накладываются друг на друга, а при частоте выше 1 Гц сливаются в более или менее гладкий тетанус (состояние, при котором отдельные сокращения почти полностью сливаются). Миогенное возбуждение возникает в клетках–ритмоводителях (пейсмекерах), идентичных другим мышечным клеткам по структуре, но отличающихся электрофизиологическими свойствами. Препотенциалы, или пейсмекерные потенциалы, деполяризуют их мембрану до порогового состояния, вызывая потенциал действия. Из-за поступления в клетку катионов (главным образом Ca^{2+}) мембрана деполяризуется до нулевого уровня и даже на несколько миллисекунд меняет полярность до +20 мВ. За реполяризацией следует новый препотенциал, обеспечивающий генерирование следующего потенциала действия.

Интервал между потенциалами действия пейсмекера зависит как от скорости деполяризации, вызываемой препотенциалами, так и от разницы между исходным мембранным и пороговыми потенциалами. Возбуждение распространяется по гладкой мышце через особые «щелевые контакты» (нексусы) между плазматическими мембранами сопредельных мышечных клеток. Эти области с низким электрическим сопротивлением обеспечивают электротоническую передачу деполяризации от возбужденных клеток к соседним. Как только местный ток, протекающий через нексус, деполяризует мембрану до порогового уровня, возникает потенциал действия, который, в свою очередь, вызывает возбуждение в других электротонически сопряженных клетках. Таким образом, активность распространяется по мышце со скоростью около 5–10 см/с, и мышца ведет себя как единая функциональная единица, почти синхронно воспроизводя активность своего пейсмекера.

Для выявления роли гладкомышечных элементов артериол и венул в генерации высокочастотных поперечных перемещений стенок микрососудов и необходимости их сократительной деятельности в микроциркуляции крови и транскапиллярном обмене проведено дополнительное очень важное исследование [5, 6]. Выше авторы обосновали, что регистрируемое уширение спектра за большое время наблюдения $\tau \sim 1$ мин содержит множество гармоник, что характеризует изучаемый процесс движения как квазипериодический, но не гармонический. Анализ спектра частот показал, что обнаруженные колебания связаны конкретно с перемещениями стенки микрососуда, а не с движением эритроцитов в потоке крови, поскольку уширение, обусловленное временем пролета их через фокусируемое лазерное пятно, значительно меньше наблюдаемого. Допплеровский сигнал, связанный с однонаправленным движением эритроцитов, также не может быть основой для объяснения симметричного уширения, поскольку его единственный спектральный компонент на шкале частот должен находиться либо с левой, либо с правой стороны относительно несущей частоты.

Для того чтобы понять природу наблюдаемого уширения, авторы акцентировали свое внимание на изучении временной структуры сигналов рассеяния от микрососудов. При анализе таких сигналов обращал на себя внимание их цуговой, пульсирующий характер (рис. 10, 11). Средняя характерная длительность цугов в

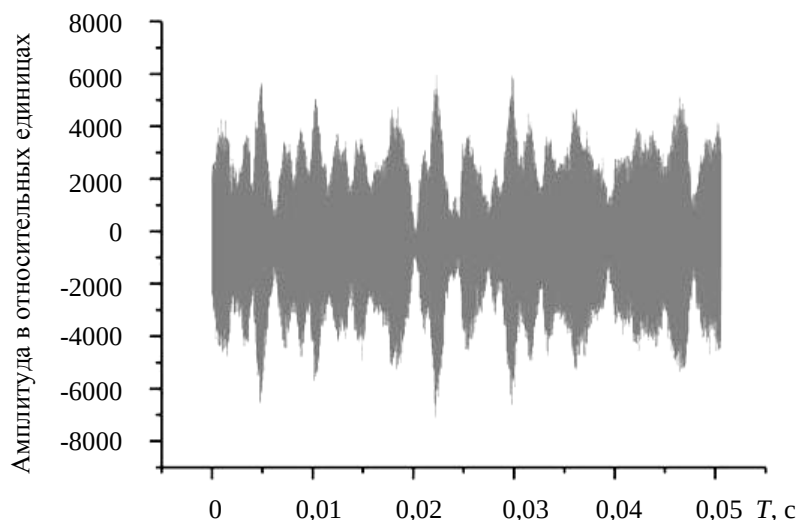


Рис. 10. Фрагмент видеосигнала от артериолы длительностью $T=0,05$ с (прудовая лягушка)

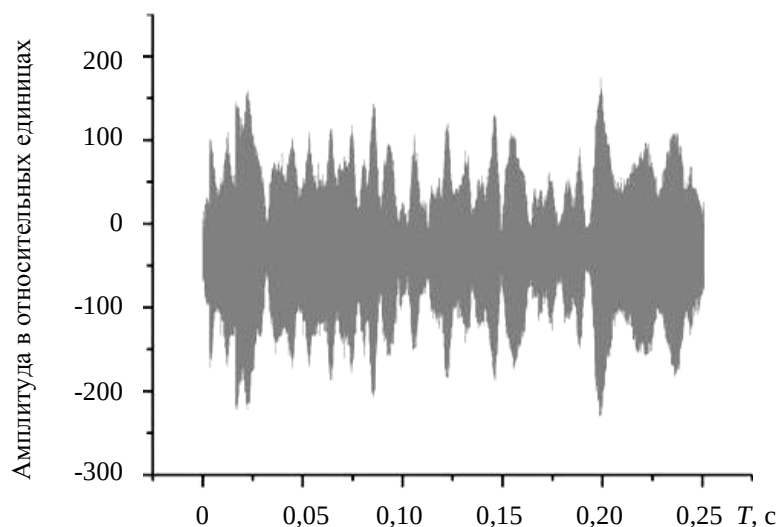


Рис. 11. Фрагмент видеосигнала от артериолы длительностью $T=0,25$ с (шпорцевая лягушка)

приведенных примерах составляла $\tau_1 \sim 10^{-3}$ с для прудовых лягушек и, соответственно, $\tau_2 \sim 10^{-2}$ с для шпорцевых. Таким образом, величины, соответствующие обратным временам $1/\tau_1 = \Delta\nu_1 \sim 10^3$ Гц и $1/\tau_2 = \Delta\nu_2 \sim 10^2$ Гц, собственно, сами указывают на происхождение наблюдаемого уширения в спектрах рассеяния. Поскольку регистрируемые цуги сигнала нерегулярны, а сами имеют большой разброс по длительности, то и средние спектры таких сигналов не должны состоять из четко выраженных симметричных спектральных компонентов и представляются сплошным континуумом, формирующим наблюдаемый пьедестал. Кроме того, авторы изучили поведение спектра сигнала рассеяния на уровне одной временной структурной единицы, т.е. на уровне одной пульсации.

В качестве примера продемонстрируем такой анализ на видеосигнале, изображенном на рис. 12, где присутствуют три пульсации. Оказалось, что спектр сигнала на участках ABC и EFG, представленных на этом рисунке, имеет симметричное распределение относительно реперной частотной подставки (рис. 13). Что касается спектральной плотности сигнала на участке CDE, то она представлена двумя спектральными компонентами, симметричными относительно несущей частоты.

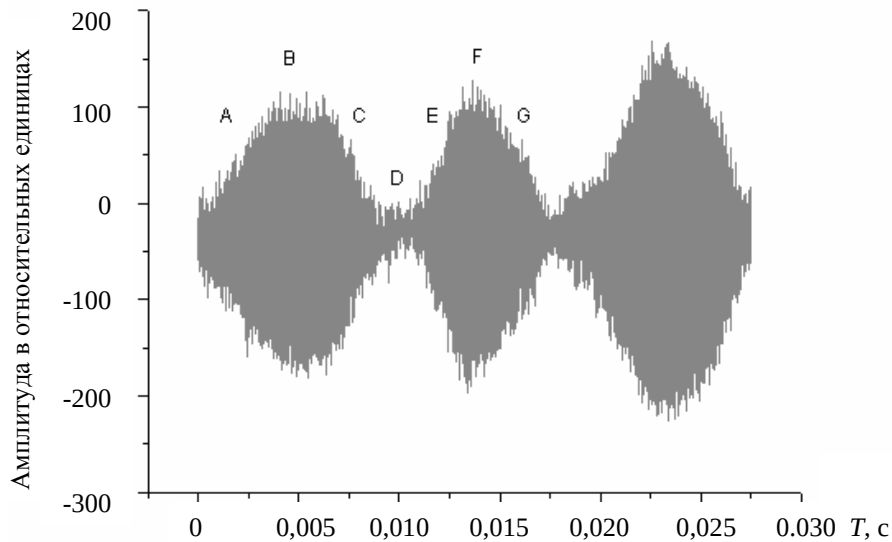


Рис. 12. Фрагмент видеосигнала рассеяния от артериолы длительностью $T=0,27$ с (шпорцевая лягушка)

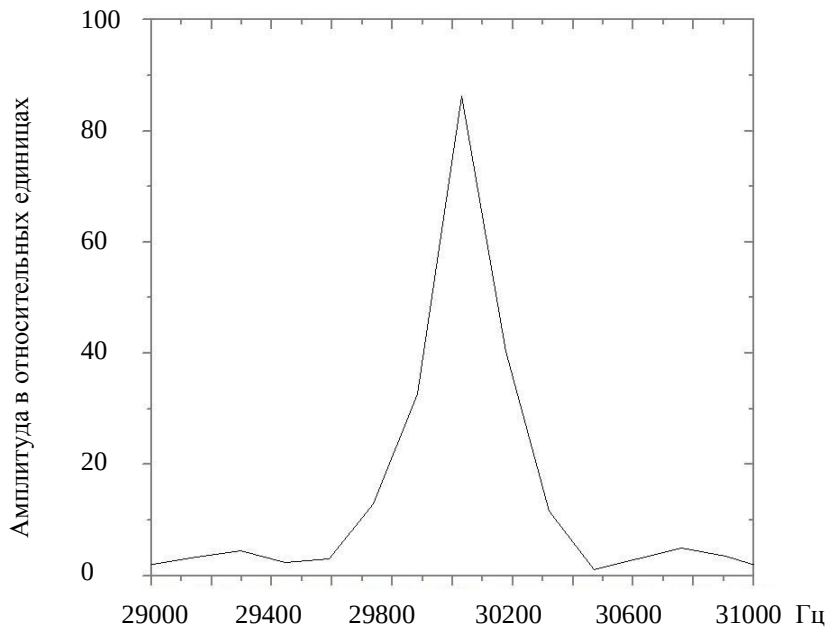


Рис. 13. Спектральная плотность сигнала рассеяния от фрагмента ABC на рис. 12

Авторы связывают наличие такого симметричного спектрального дублета на рис. 14 с локальным знакопеременным перемещением стенки изучаемого микрососуда. На участке CD рис. 12 микрососуд сжимается и соответствующий этой фазе движения регистрируется отрицательный доплеровский сдвиг $\Delta f_1 \approx -150$ Гц, обеспечивающий за время ее длительности $\tau=0,002$ с перемещение на величину $V\tau = \Delta f_1 \cdot \Lambda \cdot \tau = 150 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 10^{-3} = 0,6$ мкм ($\Lambda = \lambda/\theta = 2$ мкм – шаг интерференционной решетки). Во второй фазе движения (участок DE на рис. 12) стенка микрососуда возвращается в исходное положение, изменив соответственно направление движения согласно положительному доплеровскому сдвигу $\Delta f_2 \approx +150$ Гц. Это хорошо согласуется с результатом, представленным на рис. 8, где исследуемые перемещения зарегистрированы другим способом и уширением спектрального пьедестала, демонстрируемого на рис. 3в.

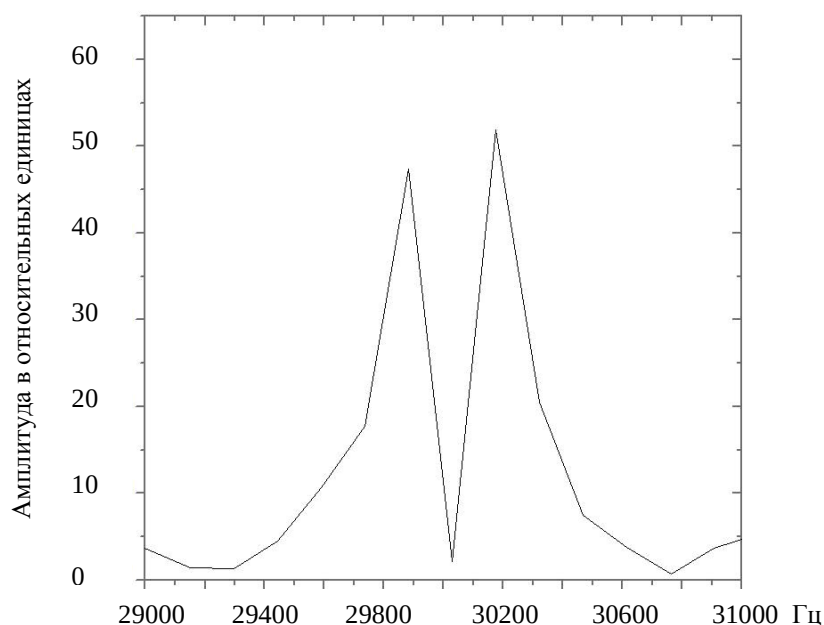


Рис. 14. Спектральная плотность сигнала рассеяния CDE на рис. 12

Анализ временных и спектральных характеристик сигналов рассеяния от микрососудов, в частности, артериол потребовал ответа на следующие два вопроса. Первый – чем обусловлено перемещение микрососудистой стенки? Второй – почему в видеосигнале наблюдается много пульсаций, частота и длительность которых жестко коррелируют со скоростью кровотока? Отвечая на первый вопрос, авторы пришли к выводу, что причиной колебательных перемещений микрососудов является активная сократительная работа их гладкомышечных элементов (рис. 9), а не кинетическая энергия кровотока, которая слишком мала, чтобы возбуждать поперечное движение стенок. Отвечая на второй вопрос, разъясним следующее. На рис. 9 наглядно показано морфологическое строение стенки микрососуда. Характерная гладкомышечная клетка, имеющая веретенообразную форму, при сворачивании в кольцо как раз опоясывает микрососуд по окружности его поперечного сечения. Такая, практически циркулярная ориентация одиночных гладкомышечных клеток обеспечивает строго поперечное перемещение стенки. Соседние гладкомышечные клетки плотно связаны между собой упругоэластическим каркасом, который представлен спиралевидными коллагеновыми и эластиновыми волокнами.

Сокращение любого витка (одной клетки), которое происходит не быстрее чем 1 раз в миллисекунду, неизбежно сопровождается как деформацией самой клетки, так и упругой составляющей между клетками. При этом в эластическом каркасе накапливается потенциальная энергия. В момент расслабления гладкомышечной клетки накопленная упругая потенциальная энергия также быстро возвращает стенку в исходное положение, хотя миоцит еще не готов к следующему сокращению. Сокращение гладкомышечной клетки сопровождается передачей возбуждения в соседний виток через упругий каркас и щелевые контакты (нексусы) между клетками. Характерное время передачи возбуждения $T_{\text{возб.}} \sim 10^{-3}$ с, взятое из экспериментов авторов и не противоречащее известным данным, позволяет оценить максимальную скорость передачи возбуждений в сокращении стенки как $V = d/T_{\text{возб.}} = 50/10^{-3} = 5 \cdot 10^4$ мкм/с ($d=50$ мкм – характерная ширина гладкомышечной клетки). Полученное значение скорости 5 см/с хорошо согласуется с экспериментальными фактами. Каскадное последовательное сокращение миоцитов в виде бегущей волны, по существу, частично дает ответ на второй поставленный вопрос. Следует только пояснить, почему в

локальной области измерений (соизмеримой с шириной гладкомышечного витка) регистрируются перемещения, связанные с сокращениями соседних и удаленных гладкомышечных элементов микрососуда. Авторы объясняют этот эффект за счет быстрой передачи (со скоростью звука в жидкости) перепада давления из любой зоны микрососуда в измерительную область, где фокусируются зондирующие лазерные пучки.

Новые представления о трансапиллярном обмене

С позиций современных представлений о трансапиллярном обмене растворитель и растворенное вещество проходят через капиллярную эндотелиальную стенку тремя способами: диффузией, фильтрацией и пиноцитозом. Считается, что диффузия является ключевым механизмом в обеспечении обмена газами, веществами и продуктами обмена между капиллярами и клетками ткани. Согласно гипотезе Старлинга (рис. 15), отношение между гидростатическим и онкотическим давлениями и роль этих сил в регулировании транспорта жидкости через капиллярный эндотелий аналитически описываются уравнением:

$$Q_f = k \left[(P_c + \pi_i) - (P_i + \pi_p) \right],$$

где Q_f – поток жидкости; k – константа фильтрации для стенки капилляра; P_c – гидростатическое давление в капилляре; P_i – гидростатическое давление интерстициальной жидкости; π_p – онкотическое давление плазмы; π_i – онкотическое давление интерстициальной жидкости. Данная гипотеза не в полной мере отвечает современным представлениям о газообмене на уровне капилляра.

Согласно существующим теориям присоединение кислорода к гемоглобину с образованием оксигемоглобина происходит при высоком парциальном давлении кислорода, таком как в капиллярах легочных альвеол. При низком парциальном давлении кислорода связь между кислородом и гемоглобином становится непрочной, кислород освобождается и диффундирует в окружающие клетки. Гемоглобин можно считать полностью насыщенным кислородом при таком напряжении O_2 , при котором фактически насыщается 95% гемоглобина. В организме человека такое напряжение составляет примерно 75 мм рт. ст. При более высоком парциальном давлении O_2 может происходить дальнейшее его поглощение, но 100%-е насыщение гемоглобина достигается редко. При парциальном давлении кислорода около 30 мм рт. ст. только 50% гемоглобина находится в форме оксигемоглобина, а при нулевом парциальном давлении O_2 молекулы гемоглобина вообще не связывают кислород.

При повышении парциального давления CO_2 кривая диссоциации оксигемоглобина сдвигается вправо, и это явление называют эффектом Бора (рис. 16). Считается, что прежде, чем кислород пройдет через мембрану эритроцита и через капиллярную стенку в интерстициальное пространство, необходимо присутствие углекислого газа, который диффузионным образом проникает в просвет капилляра из интерстиция. Однако существование градиента давления на артериальном участке капилляра исключает поступление углекислого газа в просвет капилляра на этом участке. Поступление углекислого газа в капилляр может происходить только на венозном участке, где градиент давления изменил знак.

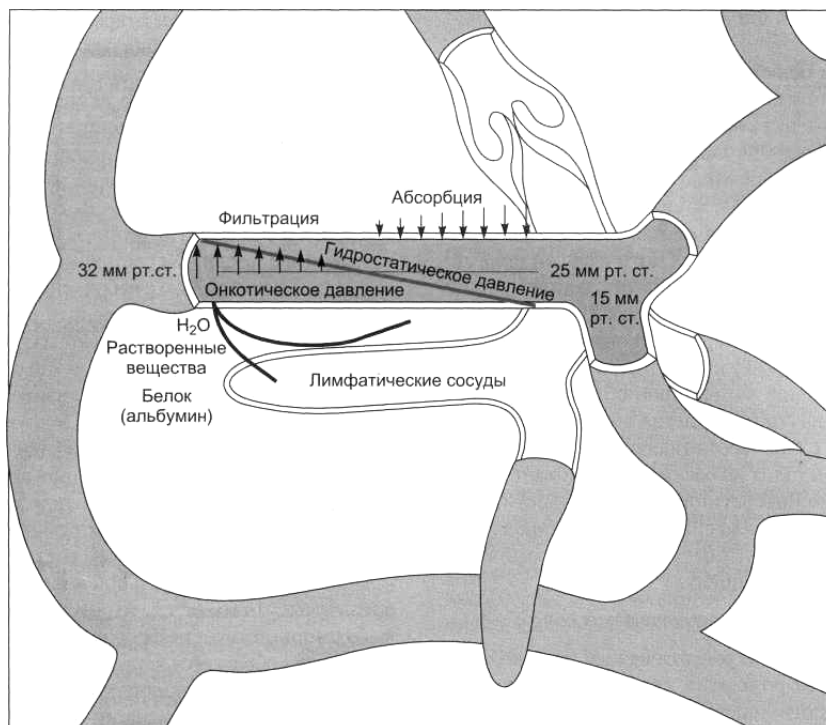


Рис. 15. Схематическое изображение факторов, ответственных за фильтрацию и абсорбцию через капиллярную стенку и образование лимфы [7]

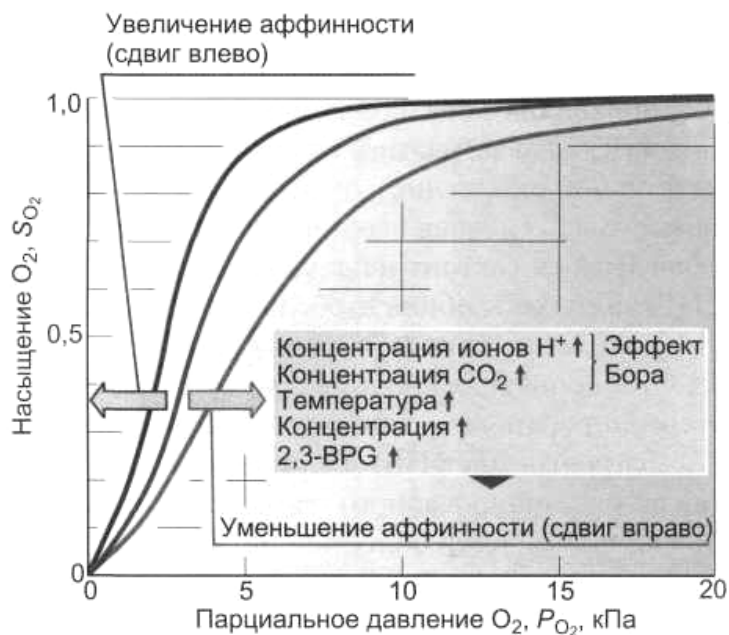


Рис. 16. Величины, которые влияют на аффинность гемоглобина к O₂. Уменьшение аффинности означает, что при одинаковом P_{O₂} Hb способен связывать O₂ в меньшей степени; кривая при этом сдвигается вправо. Это является причиной повышения приведенных факторов в эритроците. Уменьшение этих факторов влияет, наоборот, на повышение аффинности, т.е. вызывает сдвиг кривой влево [7]

Обнаруженное явление образования акустического поля в просвете микрососудов позволяет разрешить указанные противоречия и наметить путь дальнейших исследований. Авторами получены экспериментальные факты, имеющие важное научно-практическое значение в развитии новой концепции биомеханики микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена. Наиболее важные факты состоят в следующем:

- достигнута прямая регистрация поперечных перемещений стенок микрососудов – артериол, капилляров и венул;
- измерены амплитуды и частоты колебаний стенок микрососудов системы кровообращения;
- обнаруженные в экспериментах перемещения стенок микрососудов – результат сокращения гладкомышечных элементов артериол и венул;
- выявлена линейная связь между наблюдаемым уширением пьедестала в спектре рассеяния от стенок микрососудов со скоростью кровотока в них.

Эти результаты позволили авторам высказать идею о том, что стенка микрососуда «следит» за потоком крови в нем. Микрососуды пронизывают все органы и ткани живого организма, поэтому микрососудистое русло является местом, в котором, в конечном счете, реализуется транспортная функция сердечно-сосудистой системы и обеспечивается транскапиллярный обмен, создающий необходимый для жизни гомеостаз.

Дальнейший поиск решения выдвинутой фундаментальной проблемы транскапиллярного обмена системы кровообращения привел авторов к новым идеям. Авторы предполагают существование особого механизма регуляции обменных процессов, который заключается в следующем. Известно, что скорость кровотока в микрососудах регулируется нейрогуморальными факторами. Однако этого недостаточно, чтобы обеспечить необходимый уровень обмена веществ в зависимости от состояния организма.

Действительно, увеличение скорости кровотока в микрососудах при возрастании физической нагрузки в представлении традиционного диффузионного механизма транскапиллярного обмена должно приводить к уменьшению его интенсивности, что противоречит физиологическим условиям жизнедеятельности организма. В пользу такого утверждения говорят наши экспериментальные факты. Во-первых, обнаружено явление образования акустического поля в просвете микрососудов, связанное с высокочастотными колебаниями их стенок, которые генерируются сокращением гладкомышечных клеток артериол и венул в связи с электрохимическими процессами в их мембранах. Во-вторых, найдена прямая зависимость частоты колебаний стенок микрососудов от скорости кровотока. Новые научные факты потребовали их объяснения. Значит, существует промежуточный процесс, который регулирует частоту колебаний стенок микрососудов. Поскольку эритроциты являются переносчиками не только кислорода и углекислого газа, но и электрических зарядов, авторы считают, что существует электрическое взаимодействие между эритроцитами и гладкомышечными клетками микрососудов. Эритроцит, перемещаясь по микрососуду, возбуждает своим электрическим полем ближайшую пейсмекерную гладкомышечную клетку микрососуда, которая запускает сокращение трехслойного мышечного витка.

По пути движения заряженного эритроцита происходит его взаимодействие с другими витками гладкомышечных клеток. Чем больше поступательная скорость его движения, тем чаще включаются в процесс сокращения мышечные клетки микрососудов. Бегущая волна последовательных сокращений гладкомышечных клеток в направлении кровотока синфазна с процессом поступательного движения

эритроцитов в кровеносном канале. Этот повторяющийся процесс автоматически регулируется скоростью кровотока, зависящей от состояния организма.

Таким механизмом объясняется экспериментально найденная прямая зависимость частоты поперечных перемещений стенок микрососудов от скорости кровотока. На взгляд авторов, наряду с прямым взаимодействием эритроцита со стенкой микрососуда существует обратное взаимодействие, которое обуславливает освобождение эритроцита от кислорода. Активное взаимодействие стенки микрососуда с эритроцитом сопровождается увеличением количества ионов водорода в плазме крови микрососуда, обеспечивая не только изменение электрического заряда на эритроците, но и уменьшение энергии связи гемоглобина с кислородом (рис. 16). Несомненно, этот предполагаемый электробиологический механизм в газообмене как важнейшая часть в транскапиллярном обмене требует дальнейшего детального изучения. Такой подход позволит выяснить связь процессов трансмембранного транспорта ионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , H^+) с газообменом на тканевом и клеточном уровне.

Заключение

На основе полученных результатов исследований перемещений стенок микрососудов (артериол, капилляров и венул) системы кровообращения в акустическом диапазоне частот с помощью фазочувствительного лазерного метода выдвинута новая концепция обмена веществ, заключающаяся в том, что главнейшая его составляющая – газообмен, – в отличие от традиционных представлений, начинается в просвете артериол. Сокращения гладкомышечных элементов любой артериолы активно поставляют ионы водорода в плазму движущейся крови, обеспечивая, в соответствии с эффектом Бора, освобождение эритроцитов кислорода, который на артериальном участке капилляра, согласно феномену Старлинга, выходит за пределы его стенки в межклеточное пространство.

Предложенный механизм освобождения эритроцитов от кислорода обусловлен электрическим взаимодействием движущихся эритроцитов с гладкомышечными клетками микрососуда, темп сокращения которых определяется скоростью кровотока. Вторая стадия газообмена – удаление углекислого газа из межклеточного пространства через венозный участок капилляра и венулу – является обратным процессом по отношению к транспорту кислорода. Важнейшим фундаментальным результатом проводимых исследований будет теоретическое и экспериментальное обоснование выдвинутой концепции [8] как примера самоорганизации и самообеспечения транспортных систем живого организма. Дальнейшие экспериментальные исследования будут направлены на изучение электрофизиологических механизмов транскапиллярного обмена.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 05–02–1771.

Список литературы

1. *Bagayev, S.N.* The phenomenon of formation of an acoustic field in the lumens of microvessels of the blood circulation system / S.N. Bagaev, V.N. Zakharov, Yu.D. Obratsov, S.V. Panov, Yu.N. Fomin // Technical digest. – Moscow LAT 2002, June 22 – 27, 2002. – P. 147.
2. *Багаев, С.Н.* Исследование физических механизмов микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена лазерным методом / С.Н. Багаев, В.Н. Захаров, В.А. Орлов, С.В. Панов, Ю.Н. Фомин // Труды

- конференции «Методы изучения регионального кровообращения и микроциркуляции в клинике». – СПб., 2004. – С. 165–167.
3. Багаев, С.Н. Высокочувствительный лазерный метод в исследовании микроциркуляции крови и транскапиллярного обмена / С.Н. Багаев, В.Н. Захаров, В.А. Орлов, С.В. Панов, Ю.Н. Фомин, М.Г. Метелкин // Материалы VII Международной конференции «Актуальные проблемы электронного приборостроения». – Новосибирск, 2004. – Т. 5. – С. 11–22.
 4. Bagayev, S.N. The Study of Motility of Individual Microparticles by Phase Sensitive Laser Spectroscopy / S.N. Bagayev, V.A. Orlov, and S.V. Panov // Laser Physics. – 2000. – Vol. 10, No. 2. – P. 501–506.
 5. Bagayev, S.N. Investigation of Transcapillary Exchange by the Laser Method / S.N. Bagayev, Yu.N. Fomin, V.A. Orlov, S.V. Panov, V.N. Zakharov, and M.G. Metyolkin // Laser Physics. – 2005. – Vol. 15, No. 9. – P. 1292–1298.
 6. Bagayev, S.N. Investigation of Transcapillary Exchange by the Laser Method / S.N. Bagayev, Yu.N. Fomin, V.A. Orlov, S.V. Panov, V.N. Zakharov, and M.G. Metyolkin // Proceedings of the Fourth International Symposium «Modern Problems of Laser Physics». – 2005. – P. 531–538.
 7. Фундаментальная и клиническая физиология / под ред. А.Г. Камкина и А.А. Каменского. – М.: Издательский центр «Академия», 2004.
 8. Багаев, С.Н. Исследование биомеханики микроциркуляции крови методом фазочувствительной лазерной спектроскопии / С.Н. Багаев, В.Н. Захаров, В.А. Орлов, С.В. Панов, Ю.Н. Фомин // Основные научные результаты СО РАН в 2005 году. Ч. 2. Интеграционные проекты. – Новосибирск, 2006. – С. 194–195.

INVESTIGATION OF PHYSICAL MECHANISMS OF BLOOD MICROCIRCULATION AND TRANSCAPILLARY EXCHANGE BY USING THE PHASE SENSITIVE LASER METHOD

S.N. Bagayev, V.N. Zakharov, V.A. Orlov, S.V. Panov, Yu.N. Fomin (Novosibirsk, Russia)

The results of investigations of blood microcirculation biomechanics and transcapillary exchange with the use of the noninvasive high-sensitive laser method are presented. New experimental facts for the motion of the walls of microvessels and their interrelation with the contractive activity of smooth muscle elements have been obtained. It has been revealed that the contraction intensity of muscle cells is regulated by the blood flow velocity due to specific electric interaction of moving erythrocytes with the walls of microvessels. The detected relation between the oscillation frequency of the walls of arterioles and venules and the blood flow velocity in them as well as the existing contradictions in the traditional concepts of transcapillary exchange have made it possible to formulate a new concept of its mechanisms based on bioelectricity.

Key words: arterioles, capillaries, venules, microhemocirculation, transcapillary exchange, laser method, high-frequency oscillations of the walls of microvessels, ion currents, electric interaction between erythrocytes and smooth myocytes.

Получено 19 июля 2006