

**Требухов
Андрей Владимирович**

**Региональные особенности эндотелий-зависимой
вазорегуляции при действии пульсирующего, не пульсирующего,
прямого и обратного потока**

03.00.13 – физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных Алтайского государственного университета

Научный руководитель:

**доктор медицинских наук,
профессор Киселев В.Д.**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор Баскаков М.Б.

доктор биологических наук,
профессор Плотников М.Б.

Ведущая организация: Томский государственный университет

Защита состоится «__» _____ 2002 года в _____ на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 в Сибирском государственном медицинском университете (634050, г. Томск, Московский тракт, 2)

Томск, 2002

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107)

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Изучение механизмов, лежащих в основе регуляции артерий, является одной из центральных проблем в физиологии кровообращения. Открытие более 20 лет назад В.Н. Смешко и В.М. Хаютиным (1979) феномена чувствительности артерий к скорости кровотока и вязкости крови (В.М. Хаютин, 1987), установление роли эндотелия в этом процессе (Smiesko et al., 1983; Rubanui, 1988; и др.) создали новое представление о механизмах регуляции артериальных сосудов. За этот период были изучены молекулярно-клеточные основы поток - индуцированной регуляции диаметра артерий (Shicano et al., 1988; Griffiths, 1993; и др.), видовые, половые особенности этого вида регуляции (О.В. Филатова, 1993; А.М. Мелькумянц и соавт., 1989; и др.). На разных артериальных сосудах продемонстрирована способность артерий реагировать изменениями своего диаметра в ответ на изменение скорости кровотока (В.Н. Смешко и др., 1979; А.М. Мелькумянц и др., 1981; Gerova et al., 1983; 1992; Hintze, 1984; Kaiser et al., 1986; 1996; О.В. Иванова и соавт., 1998; и др.).

Однако поток - зависимая регуляция сосудов отдельных регионов авторами изучалась на разных видах животных, в отличающихся диапазонах потока и давления, временные и амплитудные характеристики которых *in vivo* подвержены изменением в различных организмах для потока крови. В этих работах, как правило, использовался единственный показатель («потоковой») реакции термина не только поперечная, но и продольная оси пульсация, выраженная в диаметре сосуда, индуцируемый увеличением объемной скорости потока *in vivo*, кратковременной фазой обратного или ретроградного потока, выраженная в процентах. Вышеназванные причины не позволяют корректно сопоставлять между собой реактивность артерий различных регионов к скорости потока (О.В. Филатова и соавт., 1998) и следовательно, в вопросе региональных особенностей эндотелий-зависимой, поток - индуцированной регуляции (ЭЗПИР) артерий до сих пор остается открытым. Но именно региональные артерии являются важным звеном, обеспечивающим периферический кровоток.

Таким образом, актуальность настоящей работы определяется отсутствием экспериментальных данных, позволяющих решить вопрос о региональных особенностях эндотелий-зависимой, поток - чувствительной регуляции при действии прямого и обратного потока, влияния статического и динамического компонента потока и давления на региональные биомеханические свойства артерий и роли эндотелия в этом процессе.

Цели и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение активности гладкой мускулатуры и, в частности, сочетанного влияния на неё особенностей эндотелий-зависимой поток - чувствительной регуляции и

4. В условиях естественного сердечного цикла эндотелий оказывает антиконстрикторный эффект на гладкие мышцы артерий.

Научная новизна. В работе проведено комплексное изучение на каждом из животных экспериментальной группы влияния сочетанного действия внутрисосудистого давления и потока, как взаимообусловленных контуров регуляции диаметра артерий, роли эндотелия сосудов в модуляции биомеханических свойств стенки артерий в зависимости от их региональной принадлежности, для прямого и ретроградного потоков при постоянном и пульсирующем давлении. Выявлен градиент чувствительности артерий к скорости и направлению потока. Чувствительность артерий к скорости антероградного потока максимальна у периферических сосудов и минимальна у центральных сосудов циркуляторного русла, для ретроградного потока эти соотношения обратные.

Найдено, что жесткость стенки артерии меняется в зависимости от направления потока. Ретроградный поток более эффективно, чем антероградный, релаксирует центральные артерии и повышает их объемную податливость, что минимизирует в системе обратный кровоток. Установлено, что зависимость жесткости стенки артерий от давления, при действии его пульсового компонента носит сложный, не линейный характер и зависит от величины преднагрузочного давления, фазы пульсовой волны и интактности эндотелия.

ского физиологического общества им. И.П. Павлова (Ростов-на-Дону, 1998); XVIII Съезде всероссийского физиологического общества им. И.П. Павлова (Казань, 2001); на заседании Алтайского отделения всероссийского физиологического общества по вопросу физиологии кровообращения – эндотелий-зависимой, поток – индуцируемой регуляции артериальных сосудов, регионарными особенностями этого

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 6 в центральной печати. По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 6 в центральной печати. По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 6 в центральной печати.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, 6 таблиц, 24 рисунков и 10 приложений. Материалы и методы исследования, главы собственных исследований и их обсуждение, заключения и выводы. Список литературы содержит 189 цитируемых источников, из них 80 отечественных и 109 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 24 рисунками и 10 таблицами.

Полученные результаты использовались на кафедре физиологии человека и животных Алтайского государственного университета в преподавании курсов «Физиологии человека и животных».

Материалы и методы исследования

Апробация работы. Материалы диссертации опубликованы на III Всероссийском симпозиуме по биомеханике сердца (Новосибирск, 1996); III Съезде физиологического общества им. И.П. Павлова Востока (Новосибирск, 1997); XVII Съезде всероссийского физиологического общества им. И.П. Павлова (Новосибирск, 1998); XVIII Съезде всероссийского физиологического общества им. И.П. Павлова (Казань, 2001); на заседании Алтайского отделения всероссийского физиологического общества по вопросу физиологии кровообращения – эндотелий-зависимой, поток – индуцируемой регуляции артериальных сосудов, регионарными особенностями этого

новка позволяла варьировать направлением и скоростью потока в системе до величин, вдвое превосходящие максимально – физиологические для сосудов данного вида животного.

Статические механические свойства артериальной стенки исследовались в условиях квазистатического гистерезиса, т.е. давление в артерии повышали на 10 мм рт.ст., дожидались стабилизации диаметра, регистрировали его и затем делали новый шаг давления.

Динамические механические свойства исследовались при осцилляции давления в системе с частотой 1,5 Гц задаваемой электрическим фрикционным насосом, а также в условиях естественного сердечного цикла *in situ et in vivo*. Перфузия сосуда при экстракорпоральном кровообращении производилась раствором Тирода с добавлением норадреналина, при $pH=7,39$ и давлении 100 мм рт.ст.

Для достижения физиологических значений вязкости в раствор добавляли раствор 3% желатина (В.М. Хаютин, 1987). С целью повышения исходного тонуса артерий к перфузионному раствору добавляли норадреналин в дозе 8 мкг/кг (Р. Блатнер, 1983).

О сосудистой реактивности при поток – зависимой вазодилатации судили по относительному приросту диаметра сосуда (D_0/D_n), значениям объемных ($VQ_{100\%}$) и линейных скоростей потока ($V_{L100\%}$), для которых имела место

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ
полная потоковая дилатация артерий. Способность артерий к максимальной вазодилатации тестировалась в опытах с папаверином в дозе 160 мг/кг.

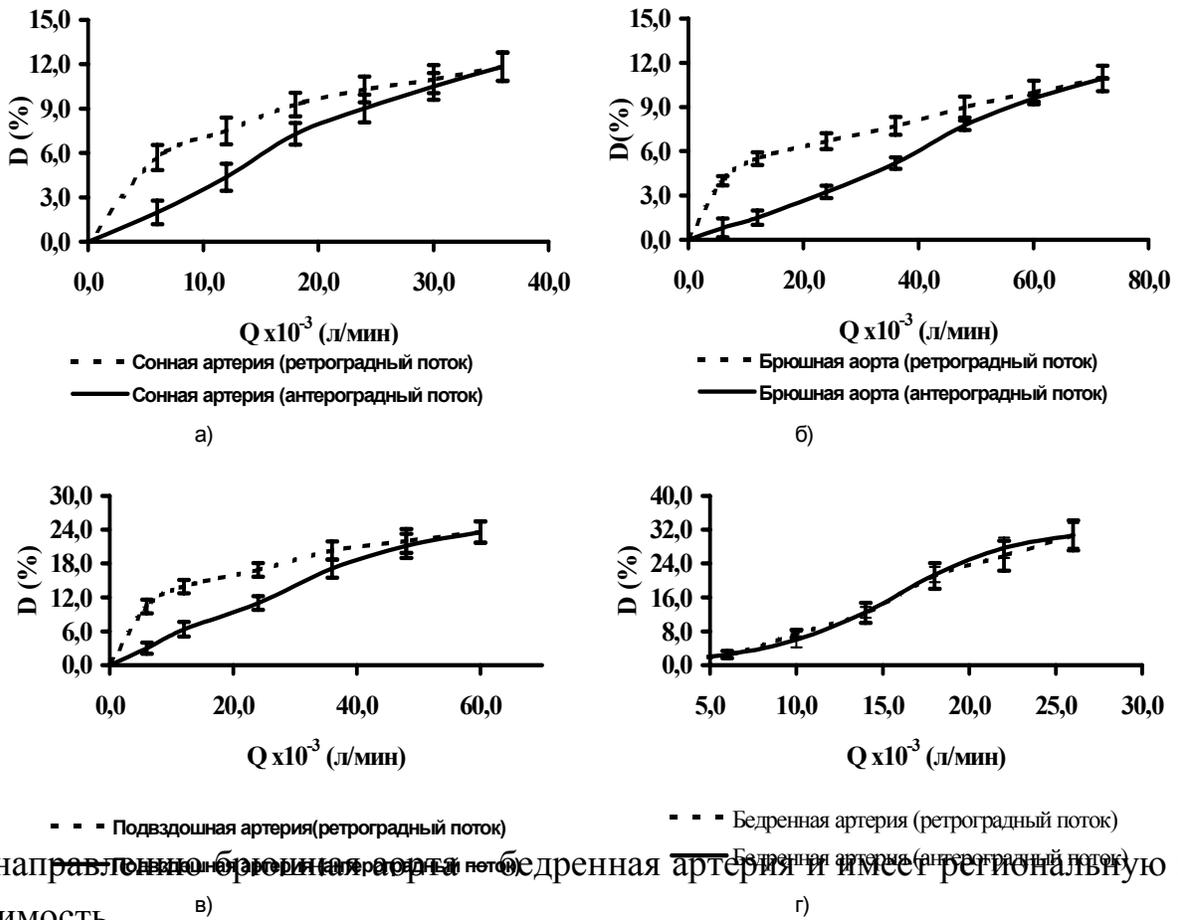
Регионарные особенности эндотелий - зависимой поток - чувствительной вазорегуляции при действии прямого и обратного потоков. Проведенный анализ зависимости диаметра сосуда от скорости потока показал, что при деэндоотелизованными сосудами. Деэндоотелизация производилась 30-ти секундной перфузией сосуда дистиллированной водой (В.М. Хаютин, 1987). О сохранности дилатации артерий. При восстановлении исходной скорости потока диаметр сосуда возвращался к исходному. Для оценки способности артерий к дилатации

лином и ацетилхолином (Р. Блатнер, 1983).
при действии потока мы проводили увеличение его скорости до предела релаксации артерий ($VQ_{100\%}$), для подтверждения достижения которого использовались тесты с папаверином.

Полученные данные обрабатывались пакетом прикладных программ Excel Установлено, что способность к максимальной вазодилатации неравнозначна в пределах групп сосудов и исчерпывается при превышении объемной скорости среднего (\bar{x}), ошибки среднего (Sx), расчет которых проводился по общепринятым формулам (Г.Ф. Лакин, 1990). На графиках указан доверительный интервал $\pm \Delta x$ (при $P=0,05$). Отличия значений определялось по критериям Вилкоксона и Стьюдента для равночисленных и неравночисленных выборок (при $P<0,05$).

Для возможности сопоставления и статистического сравнения реактивности артерий при поток - зависимой дилатации был проведен расчет относительного прироста диаметра сосуда (в процентах) внутри каждой из исследуемых

Смена направления потока на обратный (ретроградный поток) приводит к релаксации артерии в областях субмаксимальных потоков (т.е. меньших, чем $VQ_{100\%}$) – рис. 2.



по направлению потока в ретроградном и антероградном направлении. Бедренная артерия и имеет региональную зависимость.

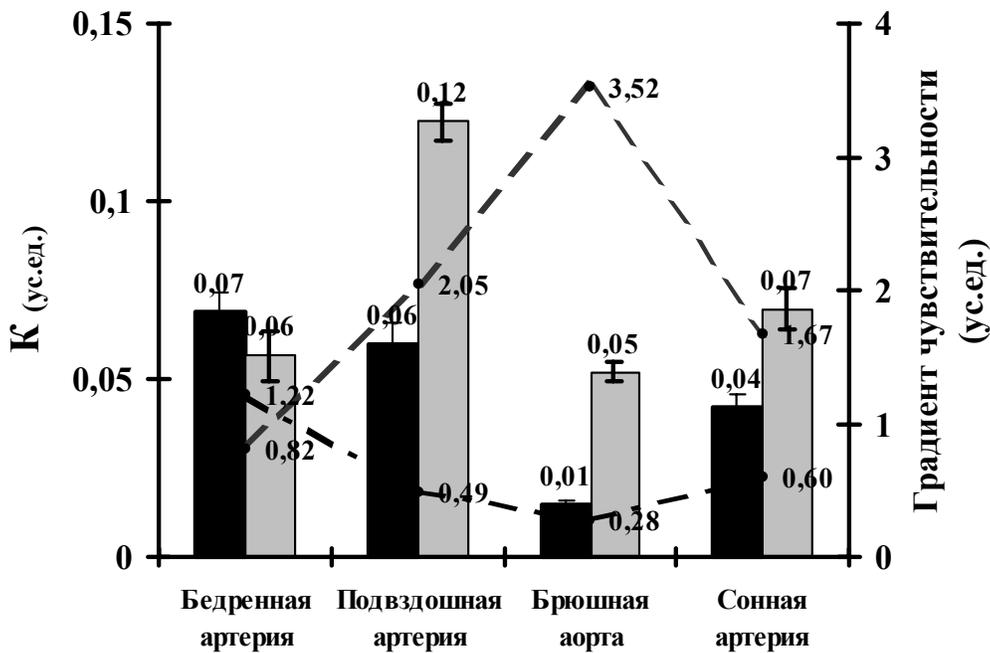
Эффективность диаметра (и площади) сосуда от ретроградного потока в исследуемых группах находится в диапазоне средне-пороговых скоростей потоков ($V_{100\%}$) для каждой из исследуемых групп сосудов и увеличивается от периферических артерий к центральным. Максимальной способностью к ограничению линейных скоростей потока обладает бедренная артерия.

Для оценки вклада эндотелия в этот процесс была проведена серия опытов с сосудами, эндотелий которых был разрушен. Проведение деэндоотелизации сосудов предотвращало их вазомоторные реакции при изменении скорости и вектора потока, что указывало на зависимость выявленных свойств сосудов от целостности эндотелия.

Для сравнения потоковой реактивности стенок артерий и влияния её на количественную гидродинамику потока был проведен пошаговый расчет ($M=0$). Расчет чувствительности артерий к напряжению сдвига производился по формуле: $K = (\Delta D/D_0) / (\Delta \tau / \tau_0)$, где D – диаметр сосуда, τ – напряжение сдвига. Результаты расчета приведены в таблице 1.

Градиент чувствительности артерий к напряжению сдвига при антероградном потоке возрастает от центральных сосудов (брюшная аорта) к периферическим (бедренная артерия).

При ретроградном потоке, наоборот, градиент чувствительности возрастает от периферических сосудов (бедренная артерия) к центральным (брюшная аорта).



подвздошная артерия, $E_{ант} = 0,33 \pm 0,02 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - бедренная артерия, $E_{ант} = 1,6 \pm 0,02 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - сонная артерия.

Смена вектора потока с антероградного на ретроградный повышает модуль упругости стенки артерий, максимум которого приходится на брюшную аорту,

что совпадает с традиционным представлением о жесткости артерий (К) в зависимости от диаметра сосуда ($E_{рег} = 3,2 \pm 0,02 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - брюшная аорта, $E_{рег} = 1,2 \pm 0,08 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - подвздошная артерия, $E_{рег} = 0,37 \pm 0,02 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - бедренная артерия, $E_{рег} = 1,6 \pm 0,1 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - сонная артерия).

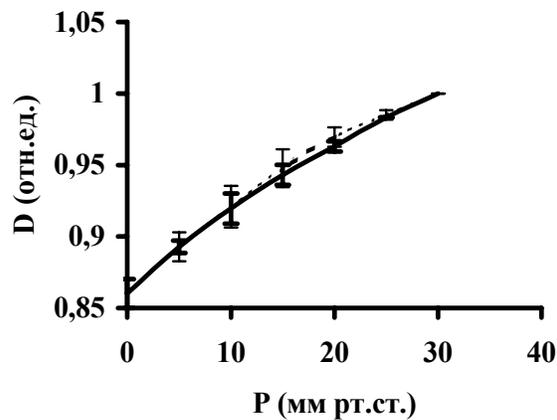
Механические свойства артерий, зависящие от сосудистого региона и вектора потока. Анализ зависимости дифференциального модуля упругости от давления (E-P) показал, что наибольшей вариативности при смене вектора потока

потокковой модуляции был проведен расчет дифференциального модуля упругости стенки артерий (E) по Hudetz (1979) и их межгрупповое сравнение при помощи статистических методов (с шагом $\pm 10 \text{ мм рт.ст.}$) растяжении внутрисосудистым давлением

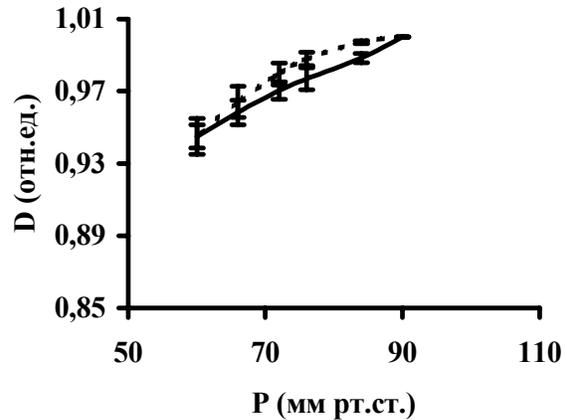
В опытах с деэндоотелизованными сосудами показано, что выявленные различия биомеханических свойств сосудов в условиях прямого и обратного потоков зависят от интактности эндотелия.

Установлено, что модуль упругости в условиях релаксации артерии потоком убывает в ряду групп артерий брюшная аорта - бедренная артерия более чем в 7 раз: $E_{ант} = 2,4 \pm 0,016 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - брюшная аорта, $E_{ант} = 0,82 \pm 0,05 \times 10^6 \text{ Н/м}^2$ - бедренная артерия.

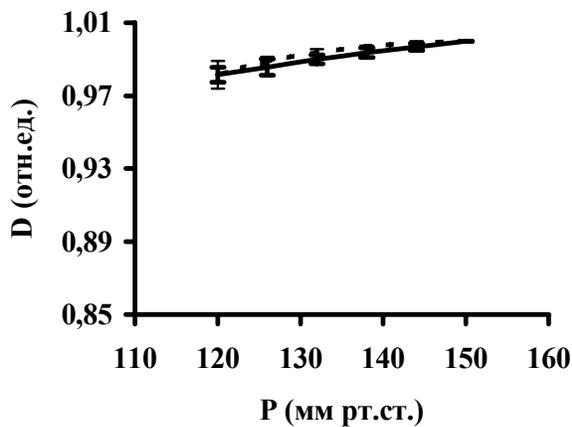
Исследование вазомоторной активности артерий и их биомеханических свойств при действии пульсового компонента давления и потока в зависимости от величины давления проводилось в условиях экстракорпоральной перфузии гемодинамически изолированного сосуда в заданных диапазонах да-



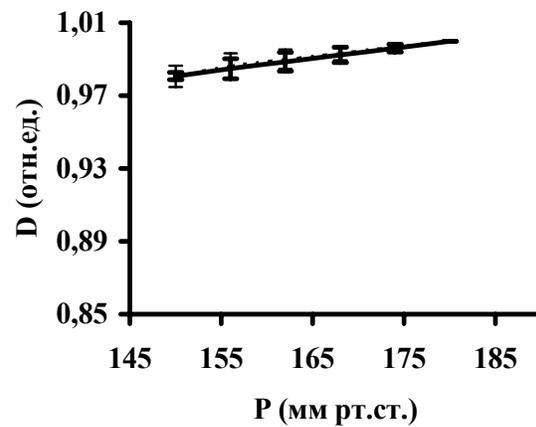
а)



б)



в)



г)

Для сопоставления и количественной оценки изменений упруго-вязких свойств стенки сосудов, как показателя активности их ГМ при действии пульсового компонента давления, и потока, был проведен поддиапазонный расчет площадей петель гистерезиса зависимости диаметр – давление (D-P), как геометрической разности площадей участков, лежащих под кривой нагружения и разгрузки: $\Delta S = |S_1 - S_2|$, где S1, S2 - геометрические площади участков лежащих под соответствующей кривой.

Полученные результаты представлены в таблице 2. Видно, что наибольшая площадь петель гистерезиса наблюдается в интервале давлений 60-90 мм рт.ст., а наименьшая площадь - в интервале давлений 150-180 мм рт.ст. ($p < 0.05$).

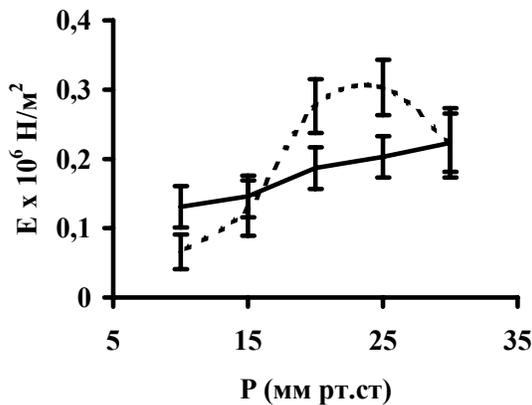
Наиболее вариативной частью исследуемых кривых, как видно из рисунков, является ветвь нагружения петли гистерезиса кривой D - P. Данная ветвь характеризует упруго-вязкие свойства сосудистой стенки и может служить показателем активности ГМ сосуда (О.В. Филатова, 1999).

Рис. 5. Максимальный поддиапазонный пульсовый прирост диаметра аорты кролика D (%) от давления (при пульсовом давлении 30 мм рт. ст., $x \pm \Delta x$).

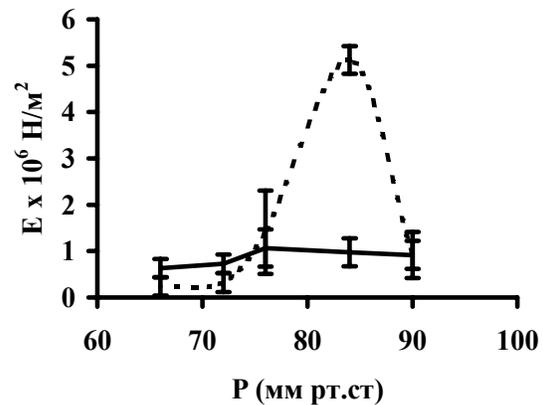
Таблица 2. Площади петель гистерезиса зависимости диаметр-давление в фиксированных диапазонах пульсовых давлений ($n=16, x \pm \Delta x$).

H/M^2 , соответственно начальным давлениям для диапазонов 0-30 и 150-180 мм рт.ст.

Наибольшей вариативностью значений E от величины давления характеризуется ветвь разгрузки (катакрота) кривой E - P , в то время как при нагружении сосуда давлением (фаза анакроты) зависимость E - P приближается к линейной. В конце цикла нагрузка - разгрузка сосуда давлением модуль E стенки артерии ниже, чем в начале цикла.



а)



б)

ный на основании значений величин E количественный анализ показал, что восходящая и нисходящая ветви петли гистерезиса (фаза анакроты) в диапазоне осцилляций давлений 0 до 30 мм рт.ст. определяется работой эластического компонента стенки артерии. В диапазоне давлений 60-90 мм рт.ст. E артериальной стенки выше, чем в диапазоне 0-30 мм рт.ст. и изменяется от $6,3 \pm 2,0$ до $9,2 \pm 2,5 \times 10^5 \text{ H}/\text{M}^2$ в фазу анакроты и от $5,1 \pm 0,9 \times 10^5$ до $2,4 \pm 0,08 \times 10^5 \text{ H}/\text{M}^2$ в фазу катакроты. В этом диапазоне давлений как восходящая (анакрота), так и нисходящая (катакрота) ветви петли гистерезиса определяются работой мышечно-эластического компонента стенки артерии, с вариацией активности

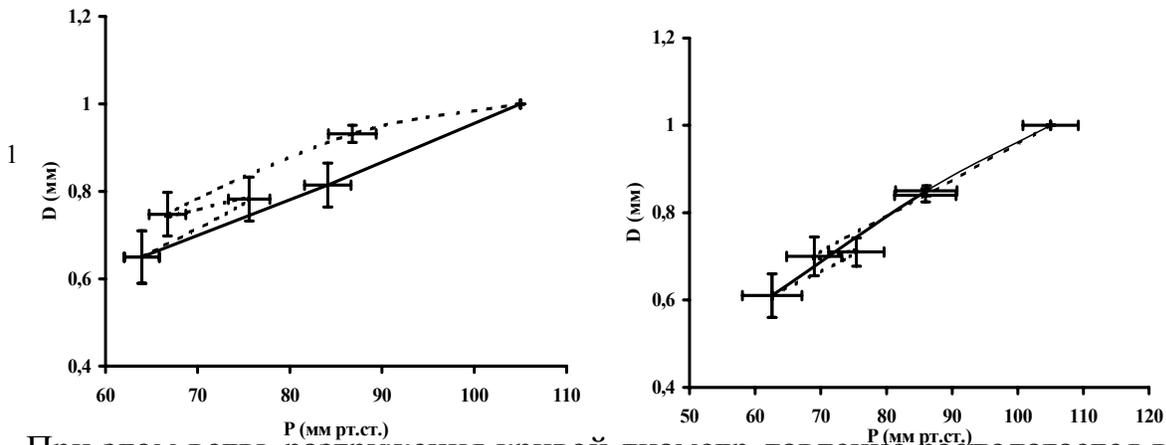
Рис. 6. Зависимость дифференциального модуля упругости (E) стенки гладкомышечного элемента в фазу катакроты. Восходящая ветвь петли гистерезиса, в этом диапазоне давлений, определяется свойствами активной гладкой

мускулатуры стенки артерии, а нисходящая ветвь — пассивной мускулатурой и эластином. Модуль упругости стенки артерий (E) в начале фазы катакроты выше, чем для соответствующих значений давлений в фазу анакроты. К концу фазы катакроты E стенки артерий становится ниже, чем для соответствующих значений давлений в фазу анакроты. В диапазоне давлений 0-30 мм рт.ст. модуль упругости (E) артериальной стенки изменяется от $1,3 \pm 0,3$ до $2,2 \pm 0,4 \times 10^5 \text{ H}/\text{M}^2$ в фазу анакроты и от $3,0 \pm 0,3$ до $0,6 \pm 0,3 \times 10^5 \text{ H}/\text{M}^2$ в фазу катакроты. Проведенный анализ давлений более 150 мм рт.ст. (интервал 150-180) E артериальной стенки не

кации в условиях естественного сердечного цикла, полученных *in vitro* закономерностей, была проведена серия опытов, выполненных на 16 сосудах с интактным эндотелием и на 8 сосудах с удаленным эндотелием.

В этой серии исследования производилась одновременная запись изменения диаметра сосуда и давления в ходе сердечного цикла. В качестве объекта исследования была выбрана общая сонная артерия.

Анализ поведения стенки артерии в ходе естественного сердечного цикла показал, что артерия демонстрирует упруго - вязкие свойства, которые проявляются феноменом гистерезиса зависимости диаметр сосуда – давление (рис.7. п.1. а).



2 При этом ветвь _{а)} разгрузки кривой диаметр-давление располагается выше, чем ветвь _{б)} нагружения для аналогичных точек давления.

Проведенный сравнительный анализ упруго-вязких свойств интактного и деэндетелизованного сосудов _{а)} _{б)} показал (рис. 7 п.1. а, б), что интактный эндотелий оказывает релаксирующий эффект на стенку артерии в ходе пульсовой волны давления, проявление которого приходится, главным образом, на фазу катакроты пульсовой волны давления.

На основании расчета модуля упругости (E) установлено, что активность гладких мышц артериальной стенки вариативна по отношению к фазам пульсовой волны давления и зависит от интактности эндотелия. Анализ биомеханических свойств артерии показал, что взаимоотношение модуль упругости - давление

в ходе сердечного цикла характеризуется сложностью поведения: относительно линейный прирост модуля упругости от давления сохранен в анакроту и нарушается в катакроту пульсовой волны давления (рис. 7 п.2. а, б).

Деэндетелизация сосуда сопровождается тонизацией его стенки, снижением модуля упругости (E) от давления (P) для стенки сонной артерии кролика в ходе площади петель гистерезиса ($S_{\text{инт}} = 2,04 \pm 0,12 \text{ см}^2$, $S_{\text{дэ}} = 0,5 \pm 0,08 \text{ см}^2$), значений сердечного цикла в случае сосуда с интактным эндотелием (n=16, $\bar{x} \pm \Delta x$) (в) и модуля упругости и отсутствием достоверных различий между значениями модулей упругости для фаз анакроты и катакроты пульсовой волны давления.

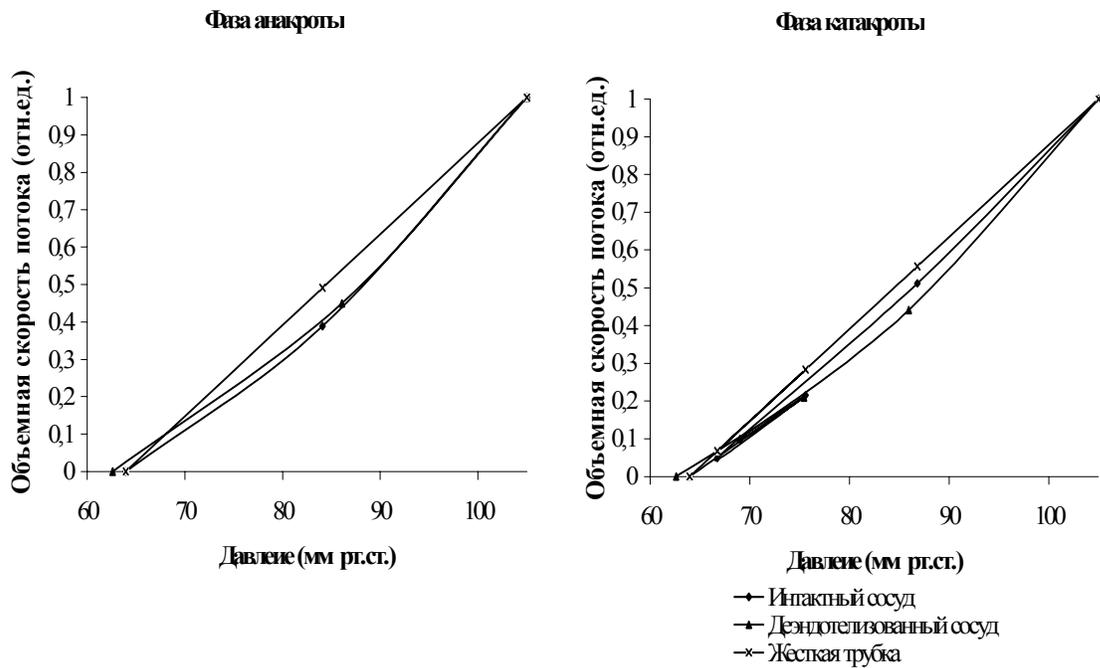


Рис.8. Относительный прирост объемной скорости кровотока в сосуде в ходе сердечного цикла (значение потока приведены относительно единицы). Данные математического моделирования.

Форма кривой объёмная скорость потока – давление (Q-P) для реальных сосудов отлична от аналогичной кривой для жесткой трубки. Прирост кровотока в сегменте сосуда, как следует из проведенных расчетов нелинейный. В фазу анакроты кривые зависимости Q-P у интактного и эндотелизованного сосудов совпадают, а крутизна спада кривой в фазу катакроты варьирует и зависит от присутствия эндотелия. Скорость снижения кровотока в период катакроты у эндотелизованного сосуда больше, чем в период анакроты, а для интактного сосуда эти соотношения обратные.

ВЫВОДЫ

Эндотелий *in vivo* оказывает антиконстрикторный эффект на гладкую мускулатуру артериального сосуда и обеспечивает поддержание гемодинамических характеристик кровотока в условиях физиологической нестационарности давления. В пределах кровеносной системы организма выявляется регионально-зависимый характер вазомоторных ответов на изменение величины и вектора внутрисосудистого потока. При антероградном кровотоке градиент имеет нарастающий характер, а при ретроградном – убывающий в условиях ретроградного кровотока.

Проблема влияния эндотелия на динамические механические свойства стенок артерий. Материалы XIX-XIXI междунароной научной конференции «Студент и научно-технический прогресс». – Новосибирск: Изд-во НГУ, 1995. – С. 35-36.

сийского физиологического общества им. Павлова: Тез.докл. Ростов–на-Дону, 1998.

7. Киселев В.Д., Кондыков А.А., Поморова Ю.Г., Требухов А.В., Филатова О.В. Анализ биомеханических свойств артериальной стенки в зависимости от давления и вектора потока. // Известия АГУ. Барнаул, 2000.вып. 3. С.84-86.

8. Требухов А.В., Требухова Е.Е. Анतिकонстрикторный эффект эндотелия магистральных сосудов. // Известия АГУ. Барнаул, 2001.вып. 3. С.56-59.