

MIKROKRĄŻENIE W BADANIACH NAUKOWYCH

Rainer C. Klopp, MD, PhD

Institut für Mikrozirkulation

Biomedizinischer Forschungscampus Berlin-Buch

Robert-Rössle Strasse 10

13125 Berlin-Pankow NIEMCY

Wprowadzenie

Istnieje potrzeba wypracowania pogłębionych koncepcji opisujących biomechaniczne zasady przepływu krwi w układzie krążenia w celu poznania fizjologii tych procesów oraz możliwości wykorzystania tej wiedzy w aplikacjach klinicznych.

W rozważaniach na temat krążenia traktowanego całościowo (*in toto*) istnieje zasadnicza różnica biofizyczna między przepływem krwi w naczyniach o średnicy $> \sim 100 \mu\text{m}$ i w tych o średnicy $< 100 \mu\text{m}$, definiowanym przy pomocy liczby Reynoldsa (Re). Liczba Reynoldsa jest bezwymiarowa i opisuje stosunek sił bezwładności do sił lepkości w płynącej cieczy. Jest ona formą liczbowego wyrażenia względnego znaczenia tych dwóch rodzajów sił dla danych warunków przepływu oraz jest wskazówką, kiedy może wystąpić przepływ turbulentny, przykładowo we krwi:

$$Re = \frac{v \cdot l}{\eta}$$

gdzie v jest prędkością strumienia, l długością charakterystyczną, a η lepkością kinetyczną medium danego strumienia (krwi).

Wartość $Re > 1$ jest charakterystyczna dla makrokrążenia (tętnice i żyły), natomiast wartość $Re < 1$ jest charakterystyczna dla mikrokrążenia (tętniczki, naczynia włosowate i żyłki). W mikrokrążeniu zmienia się charakterystyka przepływu krwi w następstwie wystąpienia pewnego zjawiska rozdzielania mieszaniny komórek i osocza, w którym pokonany zostaje bardzo wysoki opór przepływu obwodowego i możliwe jest krążenie krwi.

W makrokrążeniu określona pojemność minutowa serca (ang. cardiac output - CO) jest przenoszona do układu naczyń krwionośnych poprzez siłę skurczu oraz kurczliwość mięśnia sercowego będącą efektem aktywności serca (pojemność wyrzutowa serca, ang. Stroke Volume - SV oraz tętno, ang. Heart Rate - HR). Pojemność minutowa serca wpływa na konieczną różnicę ciśnień pomiędzy układem tętniczym (wysokie ciśnienie) i układem żylnym (niskie ciśnienie).

$$CO = SV \cdot HR$$

Opór przepływu obwodowego i właściwości sprężystomechaniczne ścian tętnic (w szczególności aorty) wyznaczają charakterystykę przepływu krwi i okresowość w makrokrążeniu.

Mikrokrążenie jest czynnościowo najważniejszym aspektem ludzkiego krążenia jako miejsce wymiany substancji z komórkami tkanek oraz pierwsze miejsce immunoreaktywności. Znane prawa mechaniki płynów, pochodzące z równania ciągłości Eulera, tracą swoją zasadność w tym obszarze. Krew w mikrokrążeniu jest mieszaniną osocza i komórek różnych rozmiarów, która zachowuje się jak płyn w rozumieniu fizycznym, ale raczej przypomina sypki materiał na taśmociągu.

Dysfunkcja lub zaburzenia mikrokrążenia przyczyniają się do dużej liczby chorób. Nieprawidłowości mikrokrążenia są albo czynnikami przyczynowymi albo wpływającymi na przebieg choroby. Zaburzenia mikrokrążenia są często wyzwalane przez zakłócenia w makrokrążeniu, ale wykazują powtarzalną tendencję do uzyskiwania własnej dynamiki, często odpornej na leczenie, ze znaczną niezależnością od zdarzeń w zakresie makrokrążenia. Przykładem mogą być owrzodzenie podudzi (łac. *ulcus cruris*) z przewlekłą niewydolnością

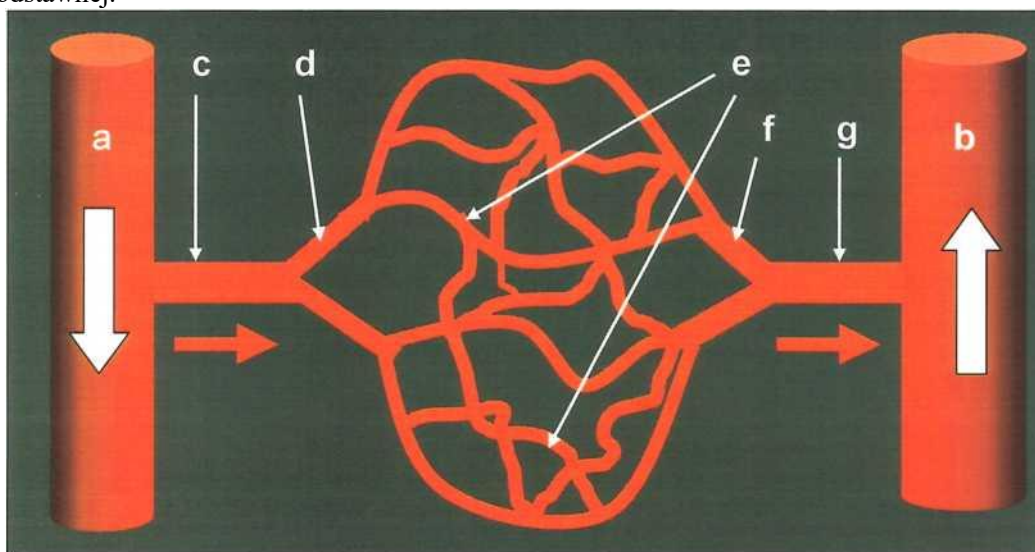
żylną III stopnia, zaburzenia krążenia i zmiany martwicze związane z cukrzycą typu II oraz różne przewlekłe zaburzenia gojenia się ran.

Dostosowywanie się układu krążenia do aktualnego zapotrzebowania organizmu wynikającego z procesów wymiany komórkowej jest najważniejszym warunkiem prawidłowej sprawności fizycznej i umysłowej. Utrzymanie lub przywrócenie skutecznej regulacji układu krążenia krwi w zależności od zapotrzebowania ze strony narządów jest zatem kluczowe zarówno w profilaktyce jak i w terapii. Optymalna regeneracja, przywrócenie stanu normalnego lub wspomoczenie procesu gojenia nie są możliwe bez odpowiedniego udziału mikrokrążenia.

Aby zrozumieć fizjologiczne prawa mikrokrążenia wpływające na miejscową regulację przepływu krwi w narządach, ich dysfunkcje oraz możliwe opcje terapeutyczne, należy wziąć pod uwagę parametry fizykochemiczne, fizjologiczne, związane z mechaniką przepływu płynów oraz sprężysto-mechaniczne.

Aktualny stan wiedzy biofizycznej i fizjologicznej o mikrokrążeniu

Związany z mikrokrążeniem obszar przepływu krwi obejmuje tętniczki, naczynia włosowate i żyłki (Ryc. 1). Struktura ścian tętniczek większego kalibru składa się z pojedynczej warstwy śródbłonka od strony światła naczynia, błony podstawnej oraz dwóch lub trzech warstw komórek mięśni gładkich. Tętniczki małego kalibru posiadają do swojej dyspozycji tylko jedną warstwę mięśni gładkich, które są ustawione w nieregularny sposób z orientacją w kierunku naczyń kapilarnych. Analogiczna sytuacja ma miejsce w żyłkach małego i dużego kalibru. Ściana naczyń włosowatych składa się tylko z śródbłonkowej osłonki otaczającej światło naczynia oraz błony podstawnej.



Rycina 1. Schematyczne przedstawienie obszaru mikrokrążenia pomiędzy małą tętnicą (a) a małą żyłą (b); odgałęzienie tętniczki dużego kalibru (c), odgałęzienie tętniczki małego kalibru (d), sieć naczyń włosowatych (e), odgałęzienie żyłki małego kalibru (f), odgałęzienie żyłki dużego kalibru (g).

Wymiana substancji odbywa się w naczyniach włosowatych. Substraty z osocza krwi dostarczają składniki odżywcze, a usuwane zostają końcowe produkty przemiany materii. Wymiana następuje na odcinku przezkapilarnego strumienia przepływu na długości naczynia włosowatego i jest efektem oddziaływania ciśnienia hydrostatycznego i koloidoosmotycznego na tętnicznym i żylnym końcu naczynia włosowatego. W osoczu są ponadto transportowane osoczowe czynniki układu immunologicznego. Cząsteczki hemoglobiny w erytrocytach są odpowiedzialne za wymianę gazów (tłenu i dwutlenku węgla) we krwi, która zachodzi w wyniku różnicy w gradiencie ich stężeń pomiędzy krwią a komórkami. Paradygmat dysfunkcji mikrokrążenia zakłada wystąpienie zaburzenia w procesie dyfuzji.

Koncentrując się na tej części wymiany substancji, możemy przytoczyć prawo dyfuzji, które mówi:

$$\Delta m = D \frac{A \cdot \Delta c \cdot \Delta t}{\Delta x}$$

gdzie m oznacza masę, D stałą dyfuzji, A pole powierzchni, przez które zachodzi dyfuzja, c stężenie, t czas, a x drogę dyfuzji.

Sz szczególnie interesująca pod względem biologicznym jest zależność pomiędzy drogą dyfuzji a czasem dyfuzji, której nie można łatwo wyprowadzić z prawa dyfuzji. Można rozwiązać równanie dyfuzji dla D :

$$\Delta x \sim \sqrt{\Delta t}$$

Oznacza to, że dziesięciokrotne zwiększenie drogi dyfuzji x skutkuje stukrotnym zwiększeniem czasu dyfuzji. Ta zależność czasu dyfuzji od drogi dyfuzji jest biofizyczną przyczyną zmiennych grubości kapilar różnych tkanek, odpowiadających ich potrzebom odnośnie wymiany substancji. W związku z tym zaburzone mikrokrążenie jest w pierwszej kolejności powiązane z zakłóconą dystrybucją mieszaniny osocza i komórek krwi w sieci naczyń włosowatych.

Dla zasadniczych rozważań nad strumieniem przepływu przyjęto proste założenie, że krew zachowuje się jak ciecz jednorodna (mechanika ośrodków ciągłych). Strumień przepływu Q jest ilorazem objętości przepływu ΔV w jednostce czasu Δt :

$$Q = \frac{\Delta V}{\Delta t} \quad \left[\frac{\mu m^3}{\text{sec}} \right]$$

Warunkiem jakiegokolwiek przepływu jest różnica ciśnień Δp , a ponadto należy wziąć pod uwagę opór przepływu R (prawo Ohma):

$$Q = \frac{\Delta p}{R}$$

Opór przepływu R w naczyniu typu rura jest zależny od promienia naczynia r , całkowitej długości pojedynczego naczynia l_1 oraz od ilorazu naprężenia stycznego ścinającego τ i szybkości ścinania γ w średnicy rury, co przedstawia się jako:

$$Q = \xi \frac{r^4 \cdot \Delta p}{\frac{\tau}{\gamma} \cdot \sum_{i=1}^n l_i}$$

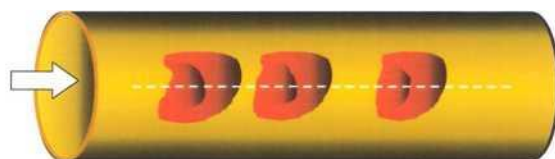
gdzie ξ = współczynnik proporcjonalności

To równanie może być zastosowane wyłącznie jakościowo z powodu wyidealizowanego założenia jednorodności krwi jako ośrodka cyrkulacji. Niewątpliwie znaczenie ma zależność strumienia przepływu Q od promienia naczynia r :

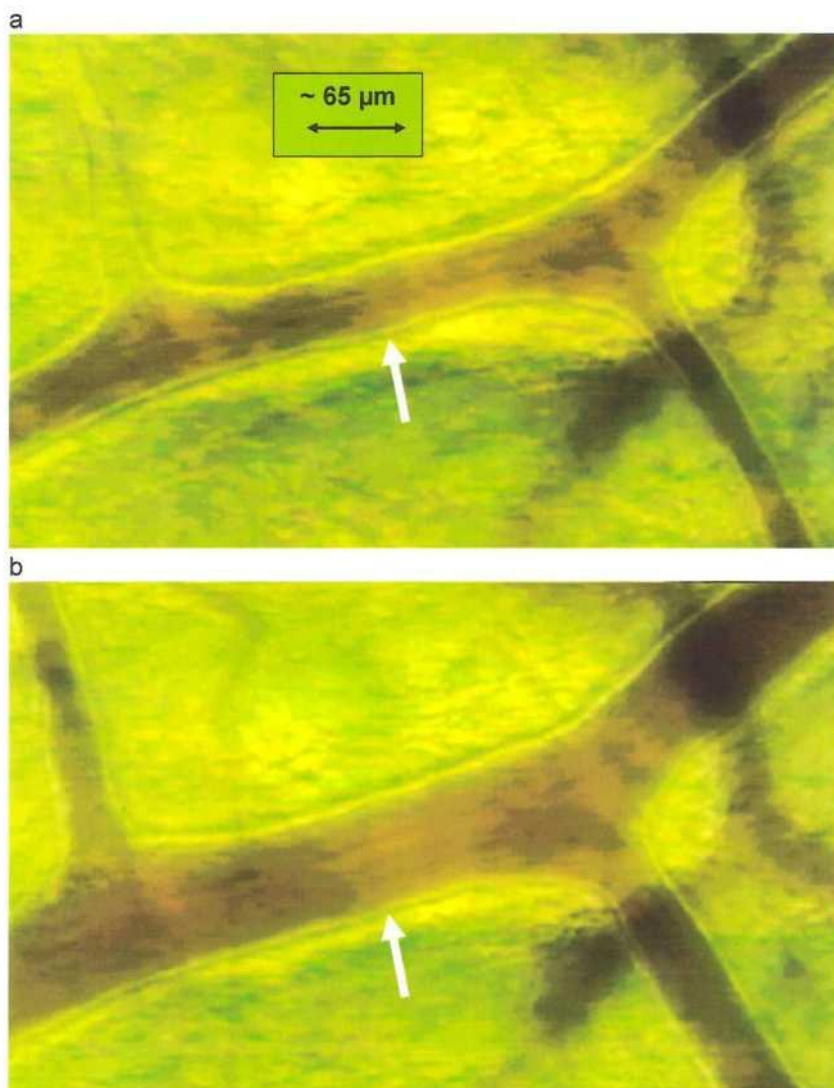
$$Q \sim r^4$$

Uwzględniając założenie, że wszystkie wymiary pozostają stałe, podwojenie promienia r oznacza 16-krotne zwiększenie strumienia przepływu Q . Wypadkowy wzrost przepływu krwi do sieci kapilar jest współmierny do wzrostu promienia tętniczek dużego kalibru. Rycina 2 ilustruje przykład przyżyciowej obserwacji mikroskopowej. Jak można wywnioskować z wyżej wspomnianego równania przepływu, obniżenie oporu przepływu jest sprzężone z przepływem w tym krążeniu. Stan skurczu na odcinkach tętniczek dużego kalibru jest osiąganym poprzez nerwowe lub hormonalne sygnały docierające do komórek mięśni gładkich w naczyniach mikrokrążenia (dawniej zwanych naczyniami oporowymi).

Pełne wyjaśnienie regulacji perfuzji narządowej nie jest jeszcze kompletne. Należy wziąć pod uwagę kolejne prawo biofizyki w celu wyjaśnienia rozdziału osocza i komórek krwi w mikronaczyniach $< 100 \mu m$.



Zauważ, że prędkość przepływu krążenia powoduje ruch komórek krwi i osocza z różnymi prędkościami w krążeniu, co powoduje ich rozdzielanie.



Rycina 2. Przykład przyżyciowej obserwacji mikroskopowej tętniczki jelitowej (strzałka) ukazujący zróżnicowane rozszerzenie naczyń tego samego obszaru mikrokrążenia w dwóch oddzielnych w czasie momentach obserwacji.

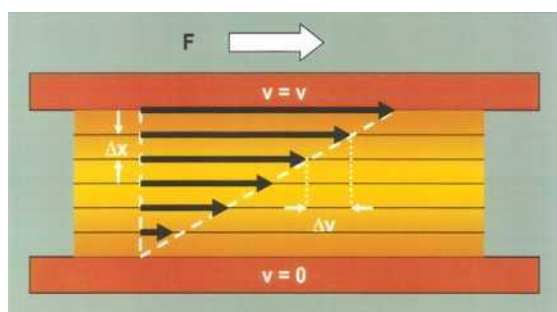
W ośrodku płynnym cząsteczki o większej energii kinetycznej (masie) mają, z przyczyn fizycznych, większą prędkość przepływu. W kontekście krwi jako ośrodka przepływu tymi cząsteczkami będą komórki krwi, które są kierowane w stronę prądu centralnego. Wolniejsze osocze krwi porusza się preferencyjnie z prądami obwodowymi. To rozdzielanie mieszaniny osocza i komórek jest bardziej wyraźne, kiedy zwiększa się prędkość przepływu krwi.

Skutki naprężenia stycznego ścinającego τ i szybkości ścinania γ dla strumienia przepływu Q we wspomnianym powyżej równaniu mogą być wyjaśnione przy pomocy prostego doświadczenia i przyjęciu założeń wyidealizowanych (Rycina 3). Zakładamy obecność płynu pomiędzy dwiema płytami podzielonymi na warstwy na powierzchni A . Dolna płyta jest nieruchoma i tylko górna płyta porusza się dzięki sile F równoległej do warstw płynu. Obserwacje pokazują, że ze względu na zróżnicowany efekt międzywarstwowej siły tarcia F_R poszczególne warstwy przemieszczane są z różnymi prędkościami. Istnieje teraz gradient prędkości $\Delta v/\Delta x$, jak wspomniano powyżej. Prawo tarcia Newtona zastosowane do określenia wartości F_R jest następujące:

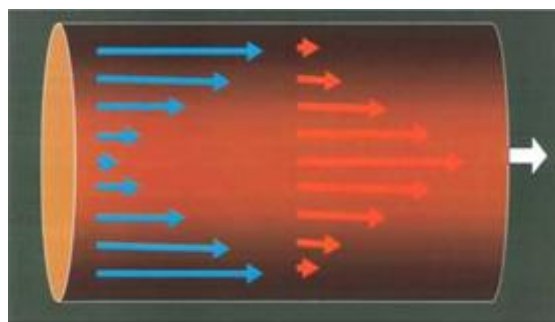
$$F_R = \eta^* A \frac{\Delta v}{\Delta x}$$

gdzie η jest stałą proporcjonalności (stała materialna ośrodka przepływu, wytrzymałość kinematyczna - lepkość). Ponieważ wyidealizowane założenia ośrodka przepływu nie są spełnione w dużym zakresie, w następującym równaniu lepkości wykorzystywana jest lepkość pozorna η^* , co daje równanie:

$$\eta^* = \frac{\left(\frac{F_R}{A}\right)}{\left(\frac{\Delta v}{\Delta x}\right)} = \frac{\tau}{\gamma}$$

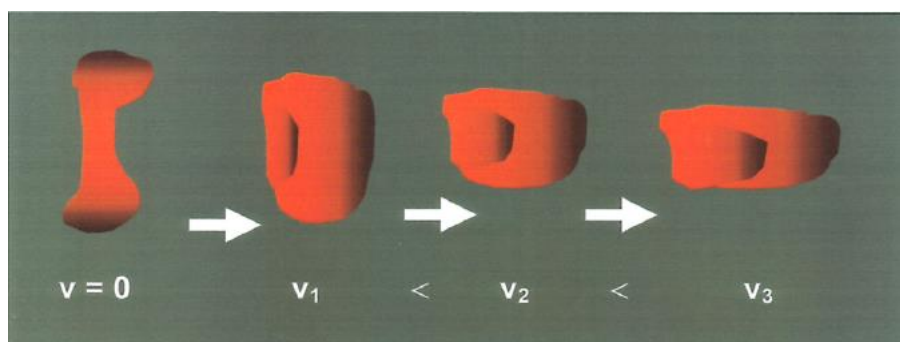


Rycina 3. Profil przepływu w rurze.



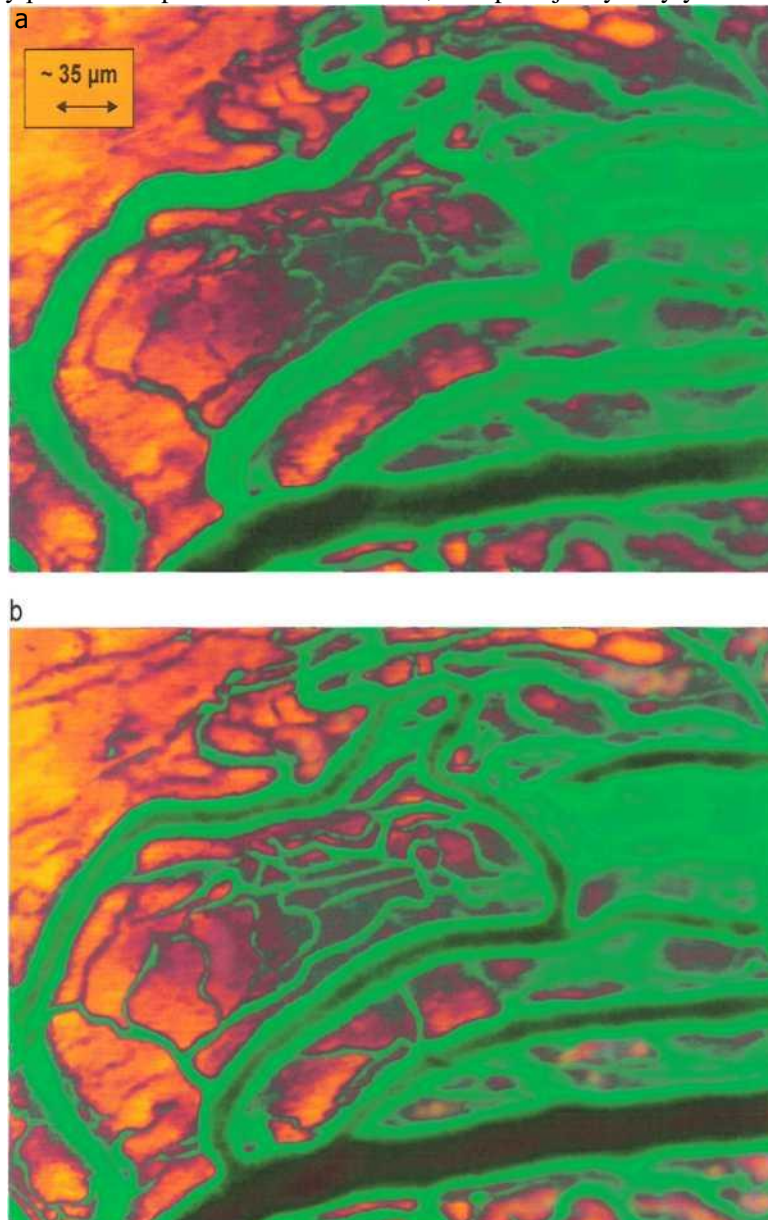
Rycina 4. Naprężenie stycznego ścinające τ i szybkość ścinania γ .

Zależność pomiędzy naprężeniem stycznym ścinającym τ i szybkością ścinania γ jest w ten sposób wyjaśniona w równaniu warunkowym strumienia przepływu krwi Q . W naczyniu, w którym odbywa się przepływ, prędkość ośrodka przepływu v jest najwyższa, kiedy siły tarcia są najmniejsze (w strumieniu środkowym) i odwrotnie, kiedy prędkość jest najniższa, to siły tarcia są największe (przy ścianie naczynia). Prędkość przepływu ma również wpływ na wygląd czerwonych krwinek. Błona komórkowa przejawia pewne cechy plastyczności (sztywność, niepodatność), które pozostają pod wpływem chwilowej prędkości przepływu. Rycina 5 pokazuje schematycznie, że wraz ze wzrostem prędkości przepływu krew staje się coraz rzadsza.



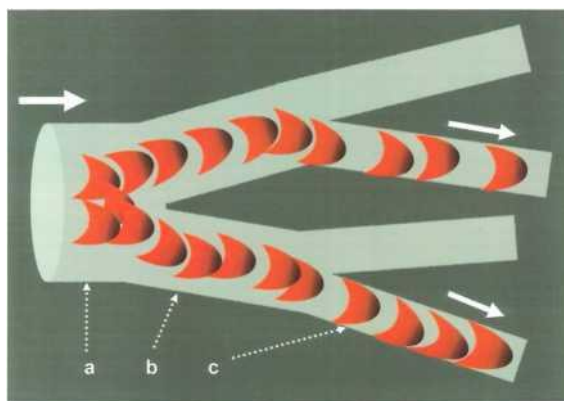
Rycina 5. Schematyczne przedstawienie przekroju czerwonych krwinek przy różnych prędkościach przepływu v .

Następnym przedmiotem rozważań jest rozkład mieszaniny osocza i komórek krwi w układzie mikrokrążenia, w szczególności w sieci naczyń włosowatych. Badanie tego samego obszaru mikrokrążenia narządowego przy różnych poziomach aktywności podporowych komórek mięszszowych ujawniło, że komórki krwi nigdy nie przepływają przez wszystkie możliwe drogi przepływu włosniczowego w danym momencie (Ryc. 6). Podczas fazy spoczynku narządu niewiele kapilar jest perfundowanych komórkami krwi. Tolerowane są dłuższe ścieżki dyfuzji. Wymagania metaboliczne komórek organizmu i wymiana substancji zwiększają się wraz z aktywnością, co wymaga krótszych szlaków transportu. Na tym etapie duża liczba naczyń włosowatych, które do tej pory były przeważnie perfundowane osoczem, transportuje erytrocyty.



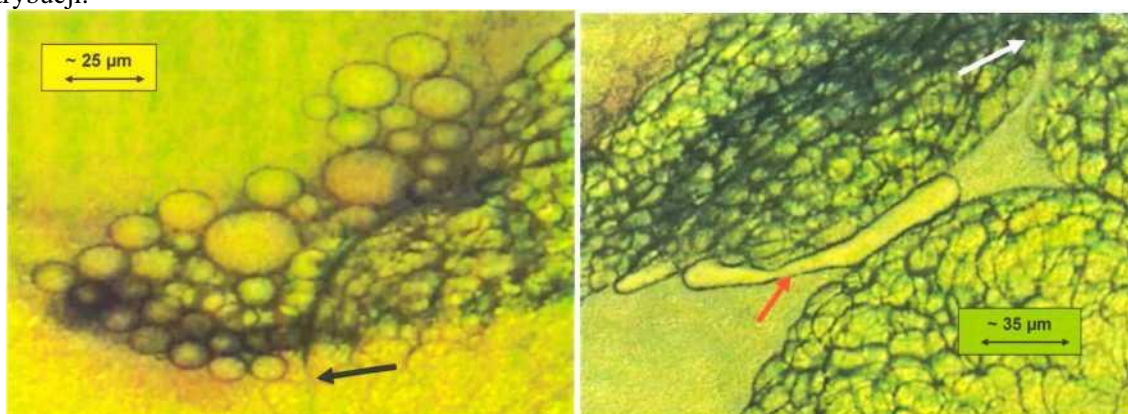
Rycina 6. Zmienny stan dystrybucji mieszaniny osocza i komórek krwi w sieci mikrokrążenia (a: faza spoczynku, b: faza aktywności) tkanki podskórnej obserwowany przyżyciowo w mikroskopie. Kolorowa korekcja oryginalnych klitek pokazuje na zielono perfuzje z komórkami krwi.

Rycina 7 przedstawia schematycznie stan zmian dystrybucji mieszaniny osocza i komórek krwi w sieci naczyń włosowatych.



Rycina 7. Schematyczne przedstawienie rozkładu mieszaniny osocza i komórek krwi w mikrokrążeniu (tętniczkach i kapilarach); a. tętniczka dużego kalibru, b. odgałęzienie tętniczki małego kalibru, c. odgałęzienie kapilary.

Różnica ciśnienia hydrostatycznego w tętniczkach w danym momencie czasu nie jest taka sama we wszystkich rozgałęzieniach sieci naczyń włosowatych. Eryocyty, transportowane w strumieniu osiowym tętniczek, są kierowane do włosniczek wykazujących największą różnicę ciśnień. Przez inne kapilary przeważnie przepływa osocze. Stany naczyń włosowatych stale się zmieniają między przepływem głównie komórek krwi albo osocza. Niezależnie od tego, w narządach, znajdujących się w spoczynku, z mniejszymi wymaganiami odnośnie wymiany substancji, komórki krwi przepływają przez mniejszą liczbę sieci naczyń włosowatych, natomiast wzrost aktywności narządu jest związany z większą wymianą substancji i zwiększoną liczbą komórek krwi. Najważniejszą cechą dysfunkcyjnego mikrokrążenia jest zaburzenie rozkładu dystrybucji mieszaniny komórek krwi i osocza w sieci naczyń włosowatych. Konsekwencją tego są wydłużone drogi dystrybucji.

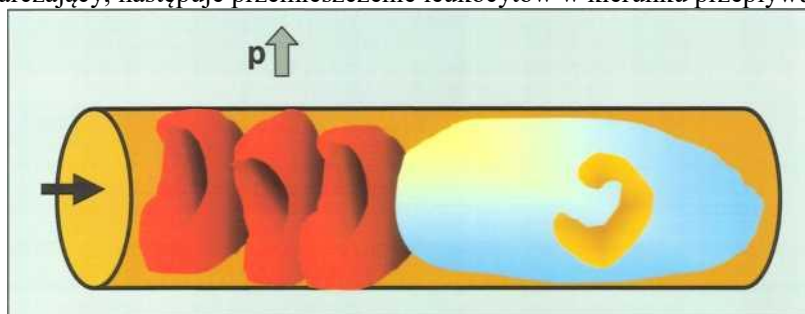


Rycina 8. a (po lewej). Przykład obserwacyjny z mikroskopii przyżyciowej początkowego przepływu chłonki wyjścia kropli tłuszczu z osocza krwi w żyłce do przestrzeni pozanaczyniowej; b (po prawej) przykład początkowego przemieszczania się fazy tłuszczowej (czerwona strzałka), która powstała z licznych kropelek tłuszczu na skutek ograniczenia powierzchni płynnych do limfatycznego naczynia włosowatego (biała strzałka).

Niezakłócone mikrokrążenie jest konieczne, aby pierwsze etapy komórkowych reakcji immunologicznych przebiegały bez przeszkód. Pierwsze etapy są następujące: transport i dotarcie krwinek białych, przyleganie białych krwinek do śródbłonna mikronaczynia oraz przenikanie leukocytów do tkanki. Zatem istnieje związek pomiędzy stanem czynnościowym mikrokrążenia a reakcjami odpornościowymi.

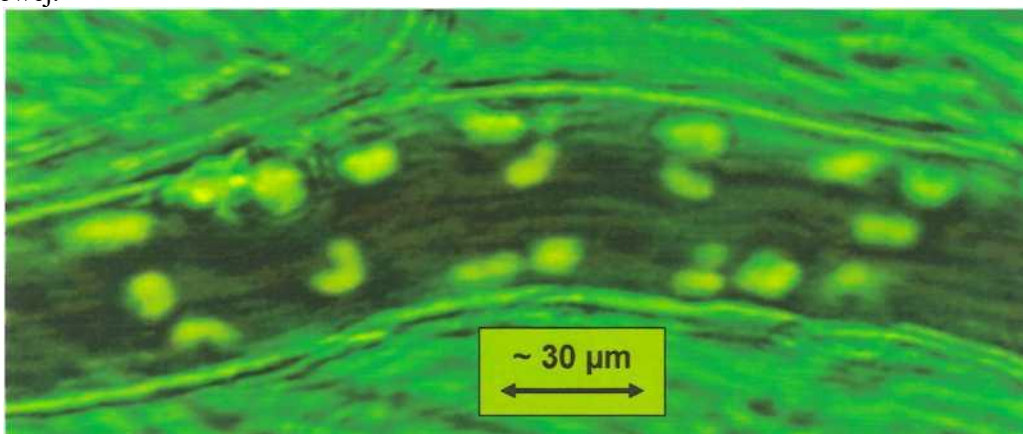
Znaczna część komórkowych reakcji immunologicznych zachodzi w obrębie żyłek. Rycina 9 obrazuje problem z przepływem mechanicznym dotyczącym transportu leukocytów przez kapilary do odpływu żylnego. W przeciwieństwie do erytrocytów, nieporadne i nieupostaciowane białe krwinki muszą być przez nie przepychane od tyłu przez naczynia włosowate. Najpierw leukocyty przemieszczające się z tętniczek małego

kalibru blokują kapilary, po czym napływające erythrocyty zwiększają ciśnienie hydrostatyczne. Gdy wzrost ciśnienia jest wystarczający, następuje przemieszczenie leukocytów w kierunku przepływu krwi.



Rycina 9. Schemat transportu białych krwinek przez naczynie włosowate.

Przechodzenie leukocytów do tkanek w kontekście reakcji immunologicznych zachodzi preferencyjnie w żyłkach. Rycina 10 pokazuje nagromadzenie oraz częściową adhezję białych krwinek z przykładu mikroskopii przyżyciowej.



Rycina 10. Nagromadzenie białych krwinek w żyłce i częściowe przyleganie do śródbłonka.

Fizjologiczne mechanizmy regulacji perfuzji narządowej są obecnie przedmiotem zainteresowania. O ile zasadnicze biomechaniczne zależności przepływu mieszaniny osocza i komórek w mikrokrażeniu (przy założeniach wyidealizowanych) były łatwe do zrozumienia, to rzeczywiste procesy są bardziej złożone.

Obecnie dyskusja obejmuje regulację perfuzji w odcinkach tętniczek dużego kalibru (patrz Ryc.). W tym obszarze zlokalizowane są receptory dla sygnałów nerwowych i hormonalnych służących regulacji średnicy, co jest realizowane poprzez stan skurczu komórek mięśni gładkich w ścianie naczynia. Nazywa się to tętniczą zmianą średnicy naczynia. Jest to efektywny czynnik regulacyjny z powodu $Q \sim r^4$. W okresie trwającym minuty lub godziny występują okresowe zmiany średnicy, w wyniku których dochodzi do powstania gradientów ciśnienia, które wywołują zorientowaną na występujące zapotrzebowanie adaptację całkowitej objętości perfuzji w tej strefie naczyniowej. Ścieżki dystrybucji i przepływu objętości krwi, która dociera do zwięzających się gałązek tętniczek małego kalibru oraz późniejszej sieci włosniczkowej, podlegają oddziaływaniu innego mechanizmu miejscowego. Ten mechanizm regulacyjny nie jest kontrolowany przez polecenia ośrodkowe, ponieważ ten odcinek tętniczek o małym kalibrze nie zawiera receptorów takich sygnałów nerwowych lub hormonalnych. Zmiany średnicy tętniczek małego kalibru występują na skutek samoistnych ruchów skurczowych komórek mięśni gładkich, które otaczają te odcinki naczyń jednowarstwowo, w sposób przerywany.

Jest to nazywane spontaniczną autoregulacją średnicy naczyń i jest to najważniejszy miejscowy mechanizm regulacyjny perfuzji narządowej, ponieważ jest on odpowiedzialny za decydowanie o zjawisku rozdziału mieszaniny osocza i komórek krwi. Ten miejscowy mechanizm ma zatem decydujący wpływ na dystrybucję osocza i krwinek w sieci naczyń włosowatych (patrz. Ryc. 7). Mechanizm ten jest tak bardzo efektywny, że nawet nerwowe lub hormonalne wpływy ośrodkowe na tętniczki dużego kalibru, w pewnych okolicznościach, mogą często być przez jego działanie przewyżnione lub równoważone. Wyjaśnienie spontanicznej autoregulacji średnicy naczyń znajdujemy w komórkach mięśni gładkich, które filogenetycznie należą do najstarszych komórek ludzkiego organizmu i zachowały zdolność do niezależnego skurczu w odpowiedzi na bodziec fizyczny. Zdolność ta została utracona przez inne komórki w drodze ewolucji.

Okresowość zmian średnicy tętniczek dużego kalibru oraz spontaniczna autoregulacja średnicy tętniczek małego kalibru wykazują różne rytmy biologiczne, niemniej jednak są ze sobą powiązane fizycznie (patrz. Ryc. 1). Jak wynika z mikroskopowych obserwacji przyżyciowych przepływu fizjologicznego można rozpoznać w przybliżeniu 1 do 5 (średnio 3) oscylacji ścian naczyń na minutę. W stanach chorobowych (np. starszy pacjent z niewydolnością pochodzenia cukrzycowego) ruchy oscylacyjne ścian naczyń małego kalibru są dostrzegane jedynie w większych odstępach wynoszących wiele minut i występują w połączeniu ze zmniejszonymi amplitudami zmian. Na podstawie tych obserwacji można stwierdzić, iż wykrywane zakłócenia dystrybucji komórek krwi i osocza w strumieniu krwi w sieci włosniczkowej są powiązane z poznanymi skutkami wymiany substancji oraz reakcji immunologicznych.

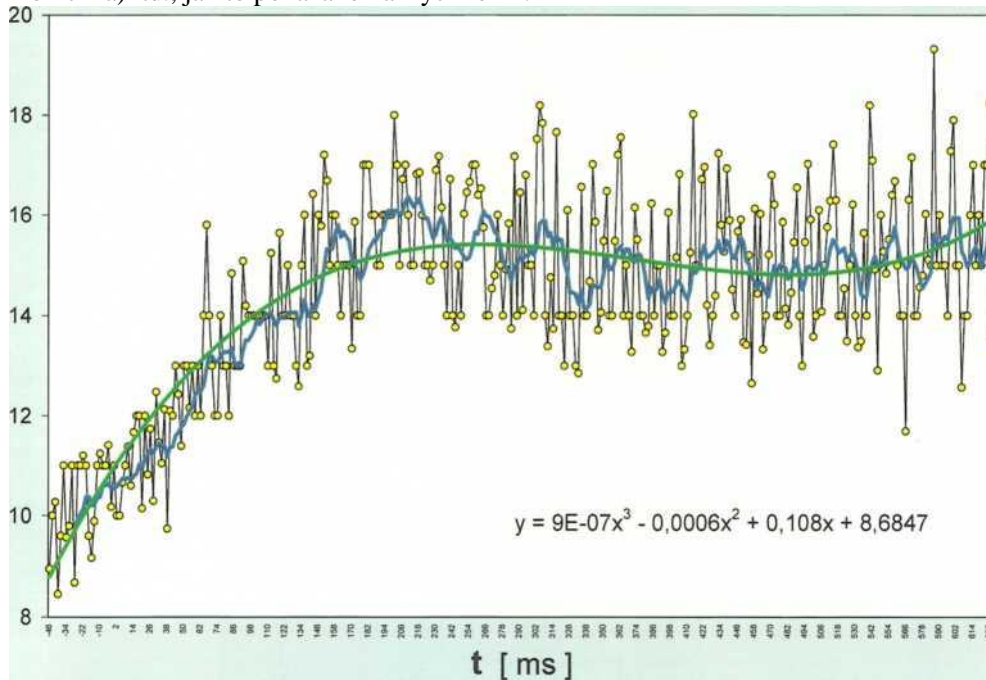
Mechanizm, będący podstawą synchronizacji różnych rytmów biologicznych w tętniczkach dużego i małego kalibru, jest obecnie przedmiotem badań. Wiadomo, że zjawisko to występuje w warunkach przepływu fizjologicznego, głównie w stanach ostrego stresu. Wpływ zwężenia tętniczki dużego kalibru zależy od ostrego stresu na wymianę substancji może być skompensowany przez zwiększoną częstość spontanicznych zmian średnicy tętniczek małego kalibru. Nie obserwujemy takiej zależności w warunkach stresu przewlekłego. Przyjmuje się, że pod wpływem długo działającego stresora spontaniczna autoregulacja średnicy stale zwężonej tętniczki dużego kalibru nie może już wystarczająco równoważyć dystrybucji krwi w sieci włosniczkowej i czasami dochodzi do reakcji odwrotnej. Konsekwencjami tego mogą być ograniczenia wymiany substancji, czynnościowe zmniejszenie podpory dla tkanek, uszkodzenia komórek (martwica, owrzodzenia), czy nawet śmierć komórkowa.

Spontaniczne cykle są inicjowane przez zależną od naprężenia stycznego regulację napięcia mięśniowego tętniczek, w której pośredniczy śródbłonek. Stan skurczu mięśni gładkich ścian naczyń pozostaje pod wpływem uwalnianego wysoce dyfuzyjnego tlenu azotu (NO), który powstaje w śródbłonku (patrz. Ryc. 4). Śródbłonek jest centralnym modulatorem funkcji naczyń. Powierzchnia śródbłonka od strony światła naczyń wpływająca na naprężenie styczne ścinające τ wyzwala molekularne mechanizmy enzymatyczne w komórkach śródbłonka. Dzięki temu tlenek azotu ma działanie relaksujące na komórki mięśni gładkich po aktywacji rozpuszczalnej cyklicznej guanylanowej.

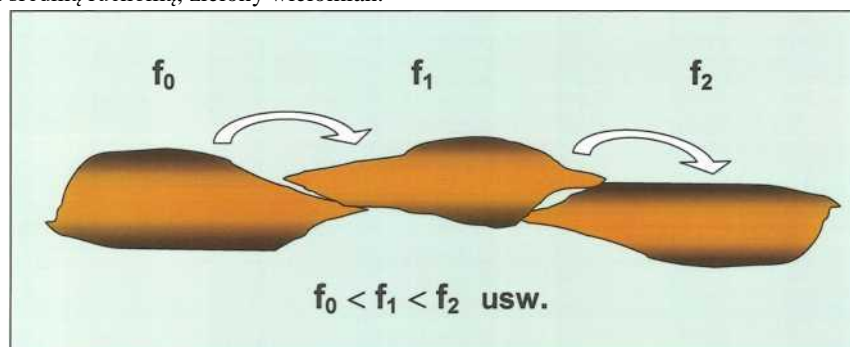
Obecnie dostępnych jest kilka opcji terapeutycznych leczenia dysfunkcji naczynioruchowych. W obszarze tętniczek dużego kalibru (z odpowiednim zasobem receptorów) możliwe jest skuteczne leczenie farmakologiczne (np. blokery receptorów beta). Zapewnia to nie tylko zmianę średnicy w obszarze tętniczek z odpowiadającym skutkiem na gradient ciśnienia i stan dystrybucji krwi, ale także wpływa na związane z tym zmniejszenie oporu obwodowego w krążeniu systemowym. Leki nie mają wpływu na spontaniczną autoregulację średnicy naczyń z powodu braku obecności tam odpowiednich receptorów. Bezpośredni wpływ na okresowość autoregulacji średnicy naczyń jest wyraźnie możliwy tylko poprzez nieodłączną, naturalną stymulację odpowiednim bodźcem fizycznym. Potwierdza to pogłębiona wiedza na temat zachowania oscylacji ścian tętniczek małego kalibru.

Rycina 11 ukazuje wyniki pomiarów strumienia przepływu w małych tętniczkach z metody badawczej opartej na bardzo wysokiej rozdzielczości (dane pomiarowe zbierane w odstępach 20 ms). Okresowość strumienia przepływu Q_{RBC} jest przejawem takich oscylacji ściany naczyń, dla których skurcze komórek

mięśni gładkich mają znaczenie. Bardzo podobną krzywą oscylacji uzyskuje się z porównywalnych pomiarów średnicy mikronaczyń w funkcji czasu. Każda komórka mięśni gładkich dostarcza składowej harmonicznej, która synchronizuje się z ich amplitudami i częstotliwościami, tworząc oscylacje złożone. Każda oscylacja złożona powstaje z oscylacji podstawowej i składowych harmonicznych. W tej „orkiestrze” komórek wyspecjalizowanych w tworzeniu harmonii (komórek mięśni gładkich) istnieją takie, które wykazują najmniejszą częstotliwość drgań (oscylacja podstawowa f_0). Funkcjonują one w zasadzie jako komórki „rozsynchronizowane” i przenoszą progresję oscylacji na kolejną najwyższą częstotliwość drgań f_1 (pierwsza harmoniczna), która z kolei przenosi się do innej komórki o następnej najwyższej częstotliwości drgań f_2 (druga harmoniczna) itd., jak to pokazano na Rycinie 12.



Rycina 11. Zachowanie biorytmiczne strumienia przepływu Q_{RBC} w tętniczkach małego kalibru (fragment protokołu pomiarowego). Oś rzędnych: strumień przepływu Q_{RBC} w wartościach względnych, oś odciętych: czas (ms). Kolor niebieski oznacza średnią ruchomą, zielony wielomian.



Rycina 12. Rozwój częstości harmonicznych (f_1 i f_2) wzbudzonych przez oscylację podstawową f_0 komórek mięśni gładkich ściany mikronaczynia.

Następnym elementem rozważań jest zachowanie sprężystomechaniczne ściany tętniczki. Siła F działająca na powierzchnię ściany naczynia A , tj. naprężenie $a = F/A$, powoduje zmianę długości Δl w stosunku do długości początkowej l_0 . Na podstawie prawa sprężystości Hooke'a równanie przyjmuje postać:

$$\sigma \sim \frac{\Delta l}{l_0}$$

Na diagramie napięcia-rozciągania pokazano stosunkowo niewielką powierzchnię bezpośredniej proporcjonalności (sprężystości Hooke'a) oraz większy obszar zniekształceń plastycznych. Odtwarzalne siły sprężystości są słabsze od procesów aktywnych (energozależne aktywności komórek mięśni gładkich). Pomimo tego można dokonać analizy łącznej aktywności oscylacji ścian tętniczek małego kalibru. Oscylacja łączna jest rozkładana na swoje składowe harmoniczne (sinusoidalne) (oscylację podstawową i wyższe częstotliwości w trybie harmonicznym). Dla funkcji okresowej $f(t)$ z okresem T analiza Fouriera daje:

$$f(t) = a_0 + \sum_{n=1}^{\infty} [a_n \cos(2\pi n t / T) + b_n \sin(2\pi n t / T)]$$

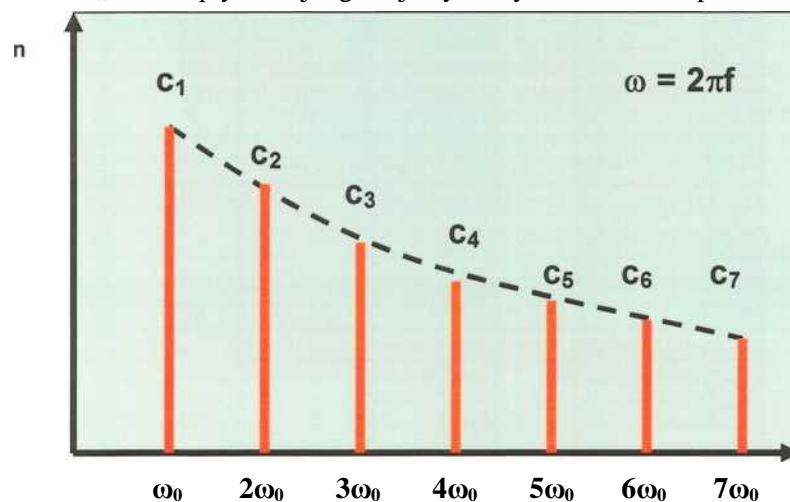
z

$$c_n = \sqrt{a_n^2 + b_n^2} \quad \text{oraz} \quad \varphi_n = \arctg(a_n / b_n)$$

gdzie c_n oznacza amplitudy, a φ_n stałe fazowe.

Wiedza o tych okresowościach ma zatem znaczenie dla zrozumienia spontanicznej autoregulacji średnicy naczynia. Rycina 13 przedstawia widmo amplitudy i częstotliwości. Zawartość zdefiniowanego obszaru A_{VM} (linia przerywana) jest rozpatrywana jako czynnościowy poziom naczynioruchowy. Tym samym, przykładowo, mniejsze amplitudy drgań tętniczek małego kalibru doprowadzają, poprzez ograniczenie zjawiska rozdziału komórek krwi od osocza, do zmniejszenia ilości włócnicek perfundowanych krwią, a zatem do wydłużenia drogi dyfuzji. Konsekwencją tego są ograniczenia w wymianie substancji, a zatem ograniczenia w czynnościach narządu.

Podsumowując, spontaniczna autoregulacja średnicy tętniczek jest najważniejszym mechanizmem regulującym perfuzję narządową. Zależna od naprężenia stycznego regulacja napięcia mięśniowego tętniczek, w której pośredniczy śródbłonek, jest możliwa tylko w warunkach szybkiego przepływu krwi (mikrohemodynamiczne „okno” optymalnej regulacji wymiany materiałów-odpowiedniej perfuzji).



Rycina 13. Widmo amplitudy i częstotliwości oscylacji złożonych. Częstotliwość oscylacji podstawowej ($\omega_0 = 2\pi f$) oraz harmonicznych $\omega_n = n\omega_0$ (gdzie $n=2,3,4,\dots$); c_n amplitudy; φ_n stałe fazowe.

Dalsze szczegóły dotyczące, pośród innych aspektów, zależności wydajności odpływu żylnego od funkcji komórkowych nie są tutaj omawiane w kontekście tego tematu. Obecnie przygotowywane jest drugie wydanie książki Kloppa *Microcirculation*, w którym zostaną uwzględnione nowe informacje z tego zakresu pozyskane w ostatnich 15 latach.

Najważniejsze konsekwencje zaburzeń mikrokrążenia są podsumowane na rycinie 14.



Rycina 14. Konsekwencje zaburzeń mikrokrążenia.

Fizykalna stymulacja fizyczna wadliwego mechanizmu spontanicznej autoregulacji średnicy tętniczek

Poniższa koncepcja jest istotna dla wszelkich klinicznych rozważań patofizjologicznych: w stanie niedoboru potrzebna jest stymulacja mechanizmów regulacyjnych ustroju poprzez odpowiedni bodziec fizjologiczny, aby mechanizmy te mogły usunąć występujące zaburzenie. Taki bodziec fizjologiczny musi być rozpoznawany przez ustrój jako stymulant.

Jak to zostało wcześniej omówione, dostępnych jest szereg wysoce skutecznych możliwości terapii farmakologicznej dotyczącej obszarów tętniczek dużego kalibru, które nie są odpowiednie dla odgałęzień tętniczek małego kalibru. Powoduje to liczne niepowodzenia skuteczności terapeutycznej w tym zakresie oraz oporność na leczenie.

Skuteczny wpływ różnych leków naczyniowych, np. beta-blokerów, na czynniki makrokrążenia i niektóre efekty mikrokrążenia na obszary tętniczek dużego kalibru są retrospektywnie znane od dawna (Klopp i in. 2006; 2007). Intensywne badania w ostatnich 10-15 latach umożliwiły zrozumienie znaczenia miejscowej regulacji perfuzji poprzez odcinki tętniczek małego kalibru. Ponieważ spontaniczna autoregulacja średnicy naczyń jest determinowana przez bodziec fizyczny, czyli naprężenie styczne ścinające przepływającą krew, wskazanym było poszukiwanie możliwości takiej opcji fizykoterapii, w której wrodzone czynniki regulacyjne ustroju mogłyby być, w przypadku takiej potrzeby, stymulowane zewnętrznie. Końcowym rezultatem tych rozważań była analiza zachowania drgań ściany naczyń małego kalibru w warunkach fizjologicznych i patologicznych (patrz. Ryc. 11, 12, 13).

Kontekst niniejszej rozprawy naukowej umożliwił przedstawienie złożoności fizjologicznych procesów regulacyjnych w odcinkach tętniczek małego kalibru i zachodzące tam biologiczne procesy molekularne tylko w podstawowym zakresie. Nie można zakładać *a priori*, że zorientowana na przyczyny stymulacja fizyczna fizykalna umożliwi uzyskanie efektów terapeutycznych, ale, przy korzystnym rozwoju sytuacji, może uda się odkryć metody leczenia wspomagającego.

W poszukiwaniu fali nośnej zapewniającej odpowiedni sygnał stymulacyjny rozważano zarówno fale sprężystomechaniczne jak i elektromagnetyczne, z których ostatecznie przeważała fala elektromagnetyczna.

Istotne znaczenie przy ustalaniu wkładu energetycznego przekazywanego przez fizykalny sygnał stymulacyjny (przeniesienie znacznie mniejszego wkładu energetycznego z zależnej od naprężenia stycznego regulacji napięcia mięśniowego tętniczek małego kalibru, w której pośredniczy śródbłonek) miały warunki naturalne. Bardzo małe poziomy energii są wystarczające dla endogennej regulacji zależnej od naprężenia ścinającego płynącej krwi na powierzchni śródbłonna od strony światła naczynia oraz do tego, aby zapewnić śródbłonkowym konwerterom biokatalitycznym (enzymom) niezbędną energię aktywacji do zmniejszenia biologicznych procesów molekularnych, tak aby regulacja ta odbywała się w warunkach przepływu fizjologicznego. Efektywny bodziec fizykalny o gęstości strumienia elektromagnetycznego wynoszącej $\sim 100 \mu\text{T}$ został uznany za wystarczający.

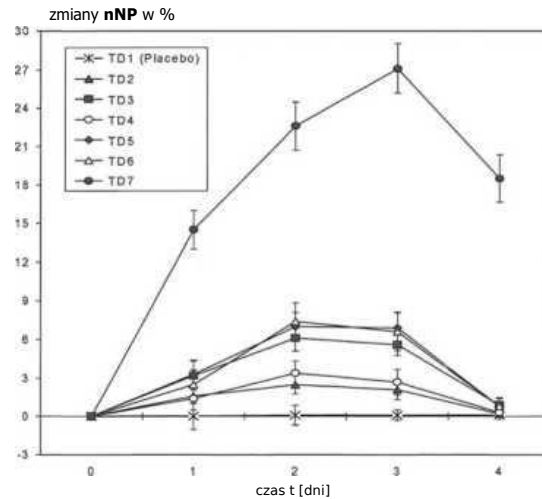
Ustalenie odpowiedniej konfiguracji sygnału zostało określone na podstawie wyników analiz oscylacyjnych zachowania ściany tętniczki podczas naturalnych drgań fizjologicznych. Za pomocą pola elektromagnetycznego jako nośnika energii do tkanek, bodziec fizykalny pod postacią sygnału złożonego (składającego się z sygnałów harmonicznych sinusoidalnych) o modulowanej amplitudzie, częstotliwości i fazie jest transportowany w określonym oknie częstotliwości około 5 do 40 Hz.

W ramach badania kontrolowanego z placebo dotyczącego biometrycznie określonej grupy mężczyzn w średnim wieku narażonych na łagodny przewlekły stres i różnorodne zakażenia zmierzone zostały charakterystyczne cechy mikrokrążenia w brzusznej tkance podskórnej za pomocą metod badawczych o wysokiej rozdzielczości po zastosowaniu różnych naprzemiennych pól elektromagnetycznych o takich samych gęstościach strumienia i w takich samych warunkach badawczych (Klopp i wsp. 2013d). Jako metodę pomiaru obrazowego użyto urządzenie do przyżyciowej mikroskopii laserowo-dopplerowskiej z wykorzystaniem metody połączonej światła padającego-przechodzącego z następczą komputerową obróbką obrazu.

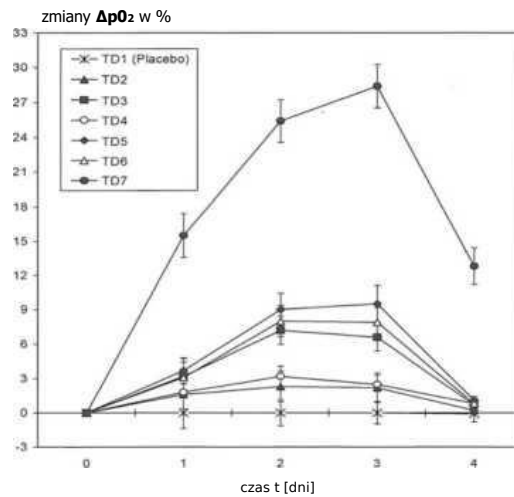
Zebrano następujące wartości pomiarowe: a) liczba węzłów perfundowanych krwinkami w określonej jednostce objętości tkanki nNP (jako miara stanu dystrybucji mieszaniny osocza i komórek krwi sieci mikrokrążenia); b) saturacja krwi żyłkowej ΔpO_2 ; oraz c) pole pod obwiednią widma amplitudy-częstotliwości spontanicznej zmiany średnicy tętniczek A_{VM} . Do analizy statystycznej zmierzonych danych użyto testu Wilcozona dla par obserwacji przy poziomie istotności $\alpha = 0.05$.

Stosowanym sprzętem badawczym były TD1: urządzenie placebo, TD2-TD6: urządzenia do wywoływania pól elektromagnetycznych naprzemiennych o prostych oscylacjach sinusoidalnych o modulacji kwadratowej, trójkątnej, piłokształtnej, sinusoidalnej i amplitudowej, oraz TD7: urządzenie z sygnałem o zmiennej modulacji amplitudy, częstotliwości i fazy, zgodnie z fizjologicznym zachowaniem oscylacyjnym ścian naczyń małego kalibru, z biorytmicznie zdefiniowanym sygnałem stymulacji.

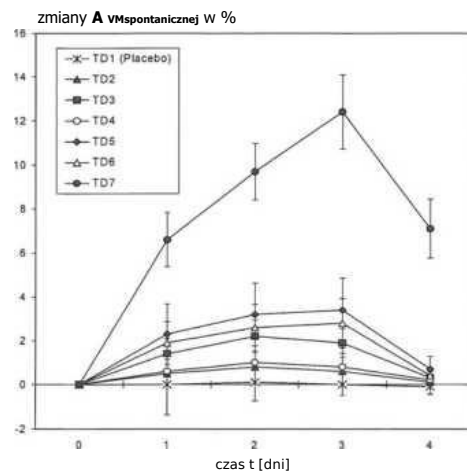
Terapie stosowano w określonych warunkach w 3-dniowych interwałach dwa razy dziennie przez 10 minut w odstępach 2-godzinnych. Czasy pomiarów dziennego zbierania danych były następujące: D0 - określenie wartości początkowych na jeden dzień przed rozpoczęciem badania; D1, D2, D3 – natychmiast po drugim zastosowaniu odpowiedniego dnia; D4 – określenie obniżenia zmian charakterystycznych po zakończeniu leczenia. Ryciny 15, 16 i 17 obrazują uzyskane dane.



Rycina 15. Zmierzone wartości cechy charakterystycznej „liczba węzłów perfundowanych krwinkami w zdefiniowanej jednostce sieci, nNP” (wartości średnie i odchylenia standardowe) po zastosowaniu urządzeń badawczych TD1-7.



Rycina 16. Zmierzone wartości cechy charakterystycznej „saturacja krwi żyłkowej pO₂” (wartości średnie i odchylenia standardowe) po zastosowaniu urządzeń badawczych TD1-7.



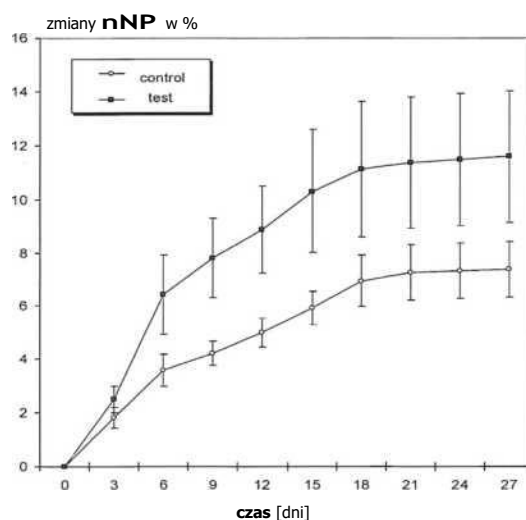
Rycina 17. Zmierzone wartości cechy charakterystycznej „pole pod obwiednią widma amplitudy-częstotliwości spontanicznej zmiany średnicy tętniczek A_{VM}” (wartości średnie i odchylenia standardowe) po zastosowaniu urządzeń badawczych TD1-7.

Badania wykazały, że tylko celowany, zdefiniowany biorytmicznie bodziec miał wpływ na zmianę średnicy tętniczek, a zatem regulację przepływu krwi w mikrokrążeniu w sposób istotny terapeutycznie, a tym samym odpowiedni do zastosowania profilaktycznego i uzupełniająco-terapeutycznego. TD 7 było jedyną jednostką testową spełniającą to wymaganie, podczas gdy urządzenie placebo nie miało żadnego efektu, a TD2-TD6 wywołało tylko minimalne zmiany.

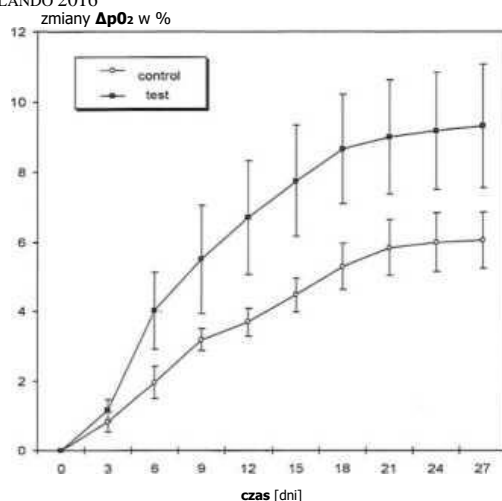
W innym badaniu kontrolowanym placebo Klopp i wsp. (2014) zbadali biometrycznie zdefiniowaną grupę pacjentów w podeszłym wieku z cukrzycą typu II i zaburzeniami gojenia ran w celu określenia zakresu, w jakim komplementarne zastosowanie biorytmicznie zdefiniowanego bodźca fizykalnego może przyczynić się do sukcesu terapeutycznego leczenia dysfunkcyjnej spontanicznej zmiany średnicy tętniczek. Podczas 27-dniowego okresu leczenia zbadano dwie podgrupy: a) grupę kontrolną ze standardowym leczeniem klinicznym; oraz b) grupę badawczą ze standardowym leczeniem klinicznym i uzupełniającym, wspomagającym zastosowaniem zdefiniowanego biorytmicznie fizykalnego sygnału stymulacji.

Jako metody pomiaru obrazowego użyto urządzenia do mikroskopii laserowo-dopplerowskiej z wykorzystaniem metody połączonej światła padającego-przechodzącego z następczą komputerową obróbką obrazu. Badanymi cechami charakterystycznymi były: a) liczba węzłów perfundowanych krwinkami w określonej jednostce objętości tkanki nNP (jako miara stanu dystrybucji mieszaniny osocza i komórek krwi sieci mikrokrążenia); b) saturacja krwi żyłkowej ΔpO_2 ; c) pole pod obwiednią widma amplitudyczęstotliwości spontanicznej zmiany średnicy tętniczek A_{VM} ; oraz d) liczba przylegających białych krwinek na zdefiniowanej powierzchni wewnętrznej ściany żyłki $A = 18,000 \text{ pm}^2$, nWBC/A (pierwszy etap komórkowych reakcji immunologicznych). Do analizy statystycznej zmierzonych danych użyto testu Wilcoxon dla par obserwacji przy poziomie istotności $\alpha = 0.05$.

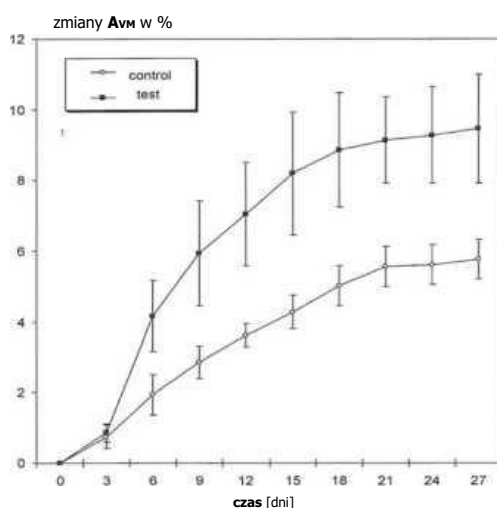
Leczenie wspomagające w okresie 27 dni odbywało się w 3-dniowych interwałach (2 aplikacje po 12 minut z 2-godzinnymi przerwami). Poniższe pomiary były wykonywane przy stałych ograniczeniach natychmiastowego leczenia następnego dnia po ostatnim cyklu leczenia codziennego: DO - określenie wartości początkowych przed rozpoczęciem badania; D3, D6, D9, ... D27 – wartości określone natychmiast po drugim zabiegu danego dnia. Miejscem dokonywania pomiarów był określony obszar tkanki podskórnej (odpowiadający obszarowi rany, kostce lub obszarowi stopy). Pomiarów dokonano na obwodzie rany (8 mm od krawędzi rany). Ryciny 18-21 obrazują uzyskane dane.



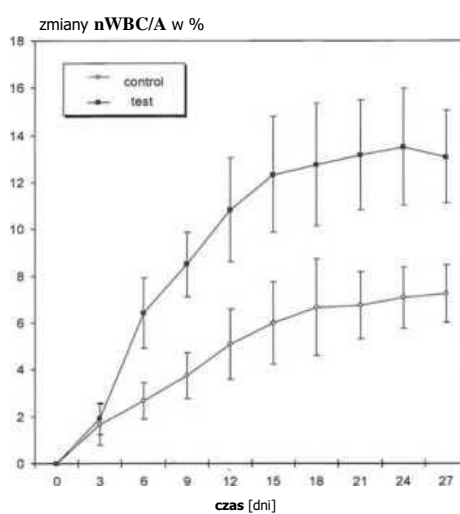
Rycina 18. Zmierzone wartości cechy charakterystycznej „liczba węzłów perfundowanych krwinkami w zdefiniowanej jednostce sieci, nNP” (wartości średnie i odchylenia standardowe).



Rycina 19. Zmierzone wartości cechy charakterystycznej „saturacja krwi żyłkowej pO_2 ” (wartości średnie i odchylenia standardowe).



Rycina 20. Zmierzone wartości cechy charakterystycznej „pole pod obwiednią widma amplitudy-częstotliwości spontanicznej zmiany średnicy tętniczek ΔvM ” (wartości średnie i odchylenia standardowe).



Rycina 21. Zmierzone wartości liczby białych krwinek przylegających do zdefiniowanej powierzchni wewnętrznej ściany żyłki nWBC/A (wartości średnie i odchylenia standardowe).

Planimetryczne badanie powierzchni rany wykazało istotne różnice wartości między grupami. W pomiarze D27 powierzchnia rany pacjentów z grupy kontrolnej zmniejszyła się o ~ 41%, podczas u gdy pacjentów w grupie badawczej zmniejszyła się o ~ 64%. Uzyskane dane pomiarowe potwierdzają wspomagające zastosowanie zdefiniowanego biorytmicznie bodźca fizykalnego dla optymalnego leczenia terapeutycznego wymiany materiału przy nieodpowiedniej regulacji perfuzji a także jako obiecujące działanie profilaktyczne. Wyniki badania tego i innych (Klopp i wsp. 2013a; 2013b; 2013c; 2014; 2016) można uznać za zachęcające do prowadzenia dalszych poszukiwań w tej dziedzinie.

Cytowane piśmiennictwo

- Klopp R, Schulz J, Niemer W. 2006. Effects of the beta-receptor blocker Nebivolol on the functional state of microcirculation of elderly patients. *Eur J Ger*, 8(S2):247-302.
- Klopp R, Schulz J, Niemer W. 2007. Effects of the beta-receptor blocker Nebivolol on the functional state of microcirculation of elderly patients with primary arterial hypertension. *Eur J Ger*, 9(1):31-8.
- Klopp R. In prep. Mikrozirkulation im Fokus der Forschung (2nd ed.). Triesen: Mediquant-Verlag.
- Klopp R, Niemer W, Schulz J. 2013a. Effects of physical stimulation of spontaneous arteriolar vasomotion in patients of various ages undergoing rehabilitation. *J Complement Integr Med*, 10(Suppl):S13-9.
- Klopp R, Niemer W, Schulz J, Ruhnau KJ. 2013b. Influence of a specific, biorhythmically defined physical stimulus on deficient vasomotion in small-caliber arterioles in the subcutis in patients with diabetic polyneuropathy. *J Complement Integr Med*, 10(Suppl):S21-7.
- Klopp R, Niemer W, Schulz J. 2013c. Complementary-therapeutic stimulation of deficient autorhythmic arteriolar vasomotion by means of a biorhythmically physical stimulus on the microcirculation and the immune system in 50-year-old rehabilitation patients. *J Complement Integr Med*, 10(Suppl):S29-37.
- Klopp R, Niemer W, Schmidt W. 2013d. Effects of various physical treatment methods on arteriolar vasomotion and microhemodynamic functional characteristics in case of deficient regulation of organ blood flow. Results of a placebo-controlled, double-blind study. *J Complement Integr Med*, 10(Suppl):S39-46.
- Klopp R, Schulz J, Niemer W, Ruhnau KJ. 2014. Wirkungen einer physikalischen Stimulierung der spontanen arteriolen Vasomotion auf die Mikrozirkulation und das Immunsystem bei Patienten mit Diabetes Typ II und Wundheilungsstörungen. *Z Gerontol Geriatr*, 47(5):415-24.
- Klopp R, Niemer W, Schulz J, Marksteder O, Abdulkerimova N. 2014. Untersuchungen zu Wirkungen adjuvanter Behandlungsmassnahmen. (BioKorrektur und Physikalische Gefäßtherapie) auf den Funktionszustand der Mikrozirkulation bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II. Ergebnisse einer placebokontrollierten Studie. *Archiv Euromedica*, 4(2):27-37.
- Klopp R, Niemer W, Schulz J, Marksteder O, Abdulkerimova N, Basler J. 2016. Adjuvante Anwendung der physikalischen Vasomotionsstimulation zur Konditionierung älterer Patienten mit Diabetes mellitus Typ II. *Archiv Euromedica*, 1:2-9.