

**А. В. Абрамцова, Л. В. Молчанова, С. В. Казначеев**

Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН  
ул. Академика Тимакова, 2, Новосибирск, 630017, Россия  
E-mail: molchan@soramn.ru

## **ИЗМЕНЕНИЕ ХРОМОФОРОВ КОЖИ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИШЕМИИ – РЕПЕРФУЗИИ**

Для динамической оценки основных хромофоров кожи (гемоглобина) выполнены исследования с моделированием ишемии и реперфузии предплечья. Изменение функционального состояния кожного кровотока вызывалось манжеточной пробой. Методом отражательной транскутанной спектроскопии оценивали оптическую плотность кожи в периоды окклюзии и восстановления кровотока. Найдена зависимость показателей оптической плотности кожи от преобладающей формы – окси- или дезоксигемоглобина – при изменении функциональных состояний микроциркуляторного русла.

*Ключевые слова:* кожа, микроциркуляция, хромофоры.

Профилактика и лечение патологических состояний, связанных с нарушением кровоснабжения органов и тканей, является одной из наиболее актуальных проблем медицины. Изучение микроциркуляции крови является предметом пристального внимания исследователей, так как ее нарушение считается важным звеном патогенеза значительного числа заболеваний. Регуляция микроциркуляции крови обеспечивается гуморальными и нейрогенными механизмами в соответствии с потребностями функционального состояния органов [1].

Уменьшенное содержание крови в органе или ткани вследствие затруднения тока ее по артериям вызывает гипоксию. При этом в регионе уменьшается количество эритроцитов, гемоглобина, а следовательно, и кислорода, доставляемого тканям [2].

Известно, что спектр гемоглобина регистрируется в видимом диапазоне. В особенности оптической плотности различных участков кожи человека вносит свой вклад не только гемоглобин, но и другие известные хромофоры: липофусцин и каротиноиды ( $\lambda = 460\text{--}490$  нм), порфирины ( $\lambda = 400, 410, 510, 620$  нм), гемсодержащие структуры ферментативных комплексов клеточных мембран ( $\lambda = 450$  нм), билирубин ( $\lambda = 460$  нм), меланин и т. д. [3; 4]. Однако даже наличие в тканях человека всех гемсодержащих ферментов не будет иметь

влияния на оптические характеристики кожи, так как их количество в организме в 250 раз меньше, чем гемоглобина крови [5]. При выполнении гемоглобином биологической функции по переносу кислорода в нем совершаются конформационные переходы, на что влияют  $pO_2$ , pH среды, температура, кванты света [6].

Для оценки системных изменений микроциркуляции используют несколько различных методов, регистрирующих реактивность сосудов в регионе [7]. Однако в настоящее время еще не существует способов, которые достаточно точно могли бы оценить состояние микрорайона *in vivo* у человека.

**Цель работы:** изучить особенности кожной микроциркуляции по изменению дериватов гемоглобина в микрорайоне при исследовании кратковременной трехминутной локальной ишемии и реперфузии.

### **Материал и методы**

Проведено обследование 15 практически здоровых мужчин, не имеющих патологии сердечно-сосудистой системы, средний возраст которых составлял  $46,3 \pm 3,8$  лет.

В настоящем исследовании использован метод отражательной транскутанной спектроскопии. Наиболее информативным и чувствительным методом в оценке параметров объемного кровенаполнения микро-

циркуляторного русла и оксигенации кожной ткани является фотометрия. Известно, что гемоглибиновый пигмент проявляет себя в качестве основного хромофора ткани. О преимущественном влиянии гемоглибиновых спектров на формирование оптической плотности кожи сообщается в фундаментальных исследованиях [4; 8; 9].

Для проведения исследования использовался лабораторный фотоколориметр «Спектротон» 5П1.500.001 ПСМ («Химавтоматика», Россия). Область его измерения охватывает видимый спектр оптического диапазона частот от 380 до 720 нм с интервалом 10 нм. Действие прибора основано на одновременном измерении коэффициентов отражения на 35-и фиксированных длинах волн в видимой области спектра за одну вспышку импульсной галогенной лампы. В регистрирующем устройстве используется шаровая интегрирующая сфера и набор интерференционных светофильтров. Математическая обработка результатов измерения проводится с помощью встроенного универсального программного контроллера.

Для представления результатов полученные коэффициенты отражения были переведены в значения оптической плотности, которые отражают меру поглощения кожей электромагнитных волн оптического диапазона частот:

$$D = \log(1 / R),$$

где  $D$  – оптическая плотность;  $R$  – коэффициент отражения.

Морфофункциональное состояние тканей экспериментального участка определялось по изменению оптической плотности.

*Модель исследования.* Исследование осуществлялось в два этапа.

I. Проводился выбор микрорайона кожи для последующей нагрузочной пробы. Регистрация коэффициентов отражения выполнялась с топографически близких участков кожи с различной интенсивностью кожного кровотока. Коэффициент отражения регистрировался в двух точках: вблизи большого пальца (проекция тенара кисти) и на медианной поверхности нижней трети предплечья.

II. Создавалась клиническая модель локальной ишемии – реперфузии (манжеточная проба) [7]. Проба проводилась по схеме:

1) регистрация исходных данных: проводились замеры коэффициентов отражения света в интервале  $\lambda = 450\text{--}650$  нм;

2) наложение тонометрической манжеты на среднюю треть левого плеча с созданием давления 200–220 мм рт. ст.;

3) окклюзия в течение 3-х мин;

4) повторная регистрация коэффициента отражения (на 3-й мин окклюзии);

5) снималась тонометрическая манжета и выполнялся очередной замер коэффициента отражения.

Исследование проводилось в зимний период (октябрь – февраль). Время регистрации замеров приходилось на первую половину светового дня (10.00–13.00) в условиях теплового комфорта в помещении ( $T$  воздуха = +22 °С). Эксперимент проводился в затемненной комнате, добровольцы находились в положении сидя.

Статистическая обработка показателей оптической плотности кожи выполнена с помощью пакета программ Statistica 5.5. Достоверность отличия результатов оценивали по критерию Стьюдента.

### Результаты исследования и обсуждение

*Первый эксперимент* был предназначен для выявления различий микрорайонов в двух близко лежащих топографических областях кожи верхней конечности. Неоднородность кровоснабжения экспериментальных регионов проявилась в различии оптической плотности ( $D$ ) кожи на исследуемых участках кожи ладони и предплечья.

Различия показателей оптической плотности на двух участках кожи представлены в виде разности между показателями оптической плотности кожи ладони и предплечья (рис. 1). Отличия наблюдались во всех представленных областях видимого спектра. Значения оптической плотности кожи на ладони в области спектра  $\lambda = 450\text{--}590$  нм были выше, чем на запястье. Достоверно отличимые значения выявлены на длинах волн 460 ( $p < 0,05$ ) и 530–590 нм ( $p < 0,01$ ). Выделяющиеся пики на длинах волн 540, 570, 580 нм соответствуют максимумам поглощения оксигемоглобина в растворе:  $\beta$ -полоса –  $\lambda = 542\text{--}544$  нм и  $\alpha$ -полоса –  $\lambda = 576\text{--}578$  нм [9].

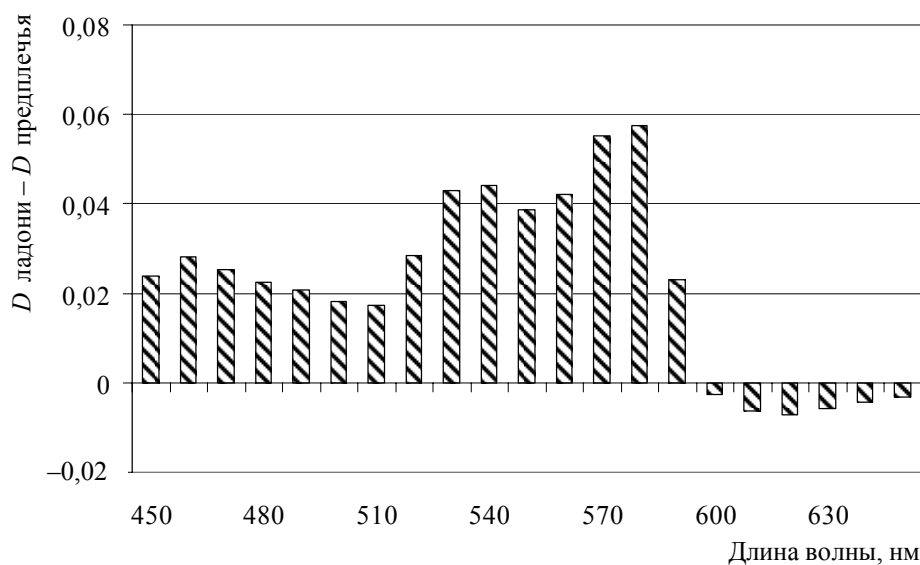


Рис. 1. Разность оптической плотности кожи между  $D$  ладони и  $D$  предплечья

Начиная с  $\lambda = 610$  нм показатели оптической плотности на ладони были меньше. Это связано с тем, что оксигемоглобин имеет меньшую способность поглощать электромагнитные волны в области длины волны от 620 до 680 нм, чем дезоксигемоглобин [4]. Полученные различия показателей оптической плотности ладони и предплечья определяются тем, что большая часть кожного кровотока ладони несет артериальную кровь. Известно, что для дермальных сосудов ладони характерны артериоловенозные анастомозы, где в условиях теплового комфорта 75 % крови протекает из артериолы в венозный клубочек кожи [4; 6].

Согласно представленным расчетам разности показателей оптической плотности между исследуемыми участками, на ладони четко прослеживаются максимумы оксигемоглобина, а на предплечье они были менее выражены, при этом не выделялась  $\alpha$ -полоса  $\lambda = 570$ –580 нм. Следовательно, отсутствие четких пиков  $\alpha$ - и  $\beta$ -полос оксигемоглобина по показателям оптической плотности кожи указывает на другое соотношение дериватов гемоглобина в области запястья.

Во второй части работы, согласно модели исследования, рассматривалась реакция микрорайона на нагрузочную (манжеточную) пробу. Для исследований была выбрана область предплечья.

Показаны различия оптической плотности кожи *in vivo* в состояниях, вызванных изменением локальной микроциркуляции

на предплечье (рис. 2). Полученные результаты анализировали с точки зрения физического взаимодействия светового потока с биотканью и сопоставляли с физиологическим состоянием кожной ткани при ишемии и реперфузии [7].

На третьей минуте манжеточной пробы регистрировалось уменьшение показателей оптической плотности в диапазоне от 450 до 580 нм, а после 580 нм наблюдалось увеличение оптической плотности, что свидетельствовало о конформационных изменениях гемоглобина и переходе его в дезоксиформу (см. рис. 2, а).

На первой минуте реперфузии, при которой проявляется реактивная гиперемия, наблюдалось значительное увеличение оптических показателей кожи на длинах волн от 450 до 600 нм (см. рис. 2, б). Далее на длинах волн свыше 620 нм показатели приобретали отрицательные значения по отношению к исходным. Это может указывать на то, что в первую минуту реперфузии происходит увеличение кровенаполнения ткани.

На десятой минуте эксперимента отмечалось восстановление кровоснабжения тканей (см. рис. 2, в). Так, в диапазоне длин волн от 450 до 590 нм значения оптической плотности кожи сдвигались в сторону исходных.

При завершении эксперимента, на 30-й минуте, оптические показатели кожи практически возвращались к исходному состоянию (см. рис. 2, г).

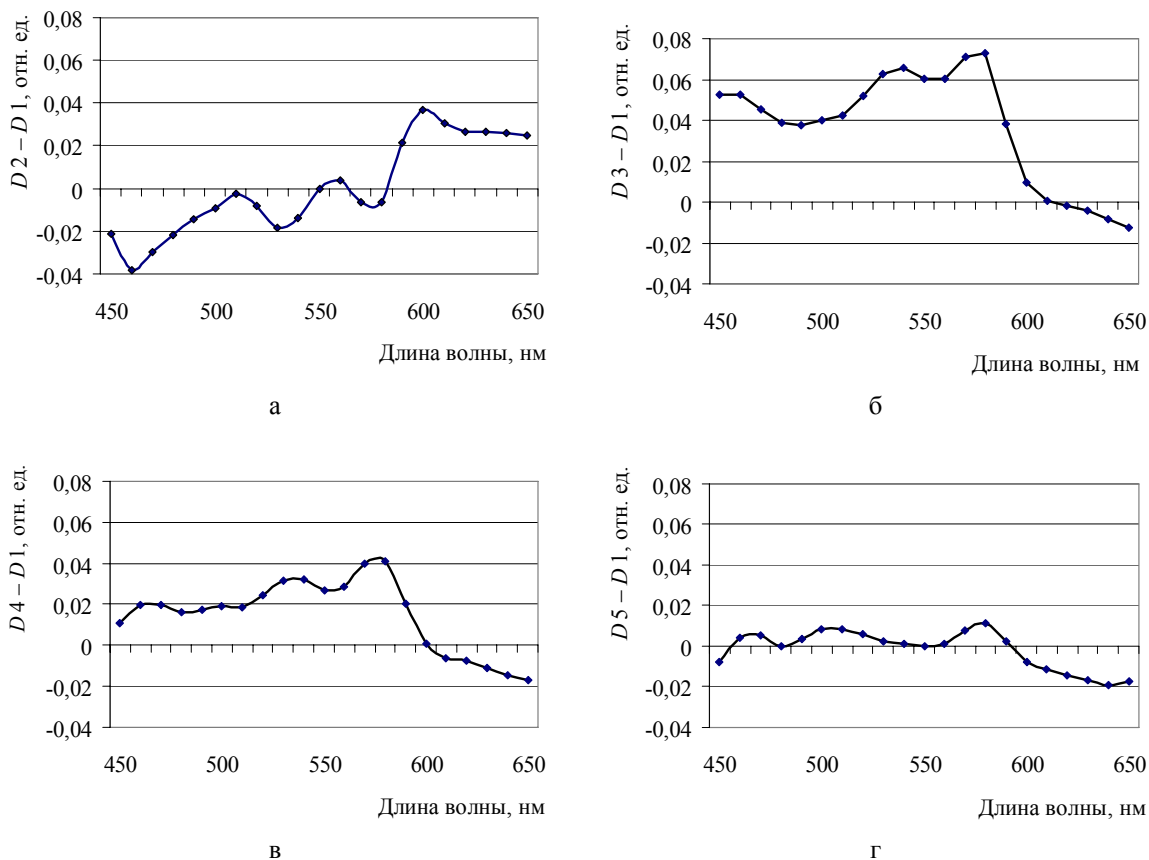


Рис. 2. Характеристика изменений хромофоров кожи предплечья:

а – на третьей минуте пережатия манжеткой (D<sub>2</sub>); б – на первой минуте реактивной гиперемии (D<sub>3</sub>); в – на десятой минуте после снятия манжетки (D<sub>4</sub>); г – на тридцатой минуте после снятия манжетки (D<sub>5</sub>). Исходные показатели оптической плотности (D<sub>1</sub>)

## Заключение

На основании данных, полученных в процессе исследования, найдены закономерности изменения оптической плотности кожи в зависимости от преобладающей формы окси- или дезоксигемоглобина, определена возможность оценки различия артериализации кожи.

Применение метода определения оптической плотности кожи и использование нагрузочной пробы дает возможность оценить участие дериватов гемоглобина в системе реализации транспорта кислорода и дает возможность прогнозировать адаптацию ткани к различным гипоксическим состояниям.

Регистрация оптических параметров кожной ткани на ладони и предплечье показала различное распределение хромофоров в микрорайонах.

При проведении манжеточной пробы выявлены характерные смещения максимумов и минимумов гемоглобина в период гипоксии и реактивной гиперемии, что, вероятно, объясняется не только количественно-качественными изменениями основного хромофора, но и качественными изменениями ткани.

Соотношение дериватов гемоглобина можно регистрировать не только *in vitro*, но и *in vivo* на любом участке тела человека, что в дальнейшем может открыть широкие возможности в оценке состояния отдельных органов и тканей живого организма. Использование «отражательной спектрофотометрии» дает возможность оценить различные, функциональные состояния микроциркуляции покровных тканей человека.

## Список литературы

1. Власов Т. Д. Механизмы гуморальной регуляции сосудистого тонуса // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2002. № 4. С. 68–73.

2. Тепляков А. Т., Гарганева А. А. Расстройства микроциркуляции при ишемической болезни сердца. Томск, 2001.

3. Молекулярно-клеточные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения / Ю. А. Владимиров, Г. И. Клебанов, Г. Г. Бюрисенко и др. // Биофизика. 2004. Т. 49, вып. 2. С. 339–350.

4. Синичкин Ю. П. и др. Спектроскопия кожи человека *in vivo*: спектры отражения / Ю. П. Синичкин, С. Р. Утц, Е. А. Пилипенко // Оптика и спектр. 1996. Т. 80, № 2. С. 260–267.

5. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, В. Г. Охотин и др. М., 1998.

6. Власов Ю. А. От молекулы гемоглобина к системе микроциркуляции. Новосибирск, 1993.

7. Микроциркуляция в кардиологии / В. И. Маколкин, В. И. Подзолков, В. В. Бранько и др. М., 2004.

8. Кузьмич С. В., Жаров В. П. Основные принципы и особенности транскутанной «отражательной» оксиметрии // Медицинская техника. 1993. № 3. С. 36–42.

9. Стародуб Н. Ф. Гетерогенная система гемоглобина: структура, свойства, синтез, биологическая роль. Киев, 1987.

Материал поступил в редколлегию 28.08.2007

**A. V. Abramtsova, L. V. Molchanova, S. V. Kaznacheev**

#### **Change Chromoforums Skin of the Top Finiteness of the Person at a Short-term Ischemia – Reperfusion**

For a dynamic estimation of the basic chromoforums skin (hemoglobin) are executed researches with modelling an ischemia and reperfusion forearms. Change of a functional condition skin of the blood flow was caused tonometric breakdown. A method reflective transcyturntes spectrophotometric estimated optical density of a skin in the periods occlusion and restoration of the blood flow. Dependence of parameters of optical density of a skin on the prevailing form oxi- or deoxihemoglobin is found at change of functional conditions microcirculation channels.

*Keywords:* skin, microcirculation, chromoforums.