



* Η μέθοδος LASCA στη μελέτη της μικροκυκλοφορίας και της ενδοθηλιακής λειτουργίας στην αρτηριακή υπέρταση

**Α. Λαζαρίδης
Π. Δόλγυρας
Ε. Γκαλιαγκούση
Σ. Δούμα**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μικροκυκλοφορία αποτελείται από ένα δίκτυο μικρών αγγείων που βλάπτεται στην αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ) και επικοινωνεί με τα μεγάλα αγγεία μέσω ενός φαύλου κύκλου βλαπτικής αλληλεπίδρασης. Το δέρμα αποτελεί μία αντιπροσωπευτική αγγειακή κοίτη για τη μελέτη των διαταραχών της μικροκυκλοφορίας δεδομένου ότι οι διαταραχές του σχετίζονται με τη βλάβη σε άλλες αγγειακές κοίτες και αποτελούν δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου. Μία νέα μέθοδος εκτίμησης της δερματικής μικροκυκλοφορίας είναι η τεχνική κοκκιώδους αντίθεσης με λέιζερ (LASCA). Η μέθοδος LASCA είναι μία μη επεμβατική και ανέπαφη μέθοδος που επιτρέπει τη δυναμική μελέτη της άρδευσης της δερματικής μικροκυκλοφορίας σε αληθινό χρόνο και με τη μεγαλύτερη επαναληψιμότητα. Η εφαρμογή της μεθόδου στην ΑΥ συνίσταται στην εκτίμηση του βαθμού της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας της δερματικής μικροκυκλοφορίας, σε συνδυασμό με δοκιμασίες που περιλαμβάνουν την πρόκληση κάποιου ερεθίσματος.

🔑 Λέξεις-κλειδιά: μικροκυκλοφορία, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, λέιζερ, μετα-αποφρακτική αντιδραστική υπεραιμία

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μικροκυκλοφορία με βάση μορφολογικά κριτήρια περιλαμβάνει όλα τα αιμοφόρα αγγεία με διάμετρο <150 μm, συμπεριλαμβανομένων κάποιων μικρών αρτηριών, των αρτηριολίων, των τριχοειδών και των φλεβιδίων. Ωστόσο, η διάκριση αυτή δεν είναι καθολικά αποδεκτή καθώς δεν είναι γνωστό εάν τα αγγεία που ορίζονται ως «μικρές αρτηρίες», σύμφωνα με ανατομικά κριτήρια αλλά με διάμετρο >150 και <350 μm, θα μπορούσαν επίσης να συμπεριληφθούν στον ορισμό. Γι' αυτό έχει προταθεί ο ορισμός της μικροκυκλοφορίας σύμφωνα με λειτουργικά κριτήρια. Σύμφωνα με αυτόν τον ορισμό, στη μικροκυκλοφορία υπάγεται κατεξοχήν το αρτηριακό αγγειακό σκέλος που συνιστά τα «αγγεία

αντίστασης» (μικρές αρτηρίες και αρτηριόλια), τα οποία απαντούν στην αυξημένη αρτηριακή πίεση (ΑΠ) με τον μυογενή τόνο που οδηγεί σε αγγειοσύσπαση και μείωση της διαμέτρου τους^{1,2}. Μία από τις σημαντικότερες λειτουργίες της μικροκυκλοφορίας είναι η ρύθμιση της ροής του αίματος και ως επακόλουθο της ΑΠ μέσω αύξησης των περιφερικών αντιστάσεων. Επιπρόσθετα, η μικροκυκλοφορία συμβάλλει στην ανταλλαγή ύδατος, οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στην προσπάθεια να καλυφθούν οι μεταβολικές ανάγκες των ιστών^{3,4}.

Η δυσλειτουργία της μικροκυκλοφορίας έχει παρατηρηθεί σε διάφορες αγγειακές κοίτες και έχει περιγραφεί τόσο σε φυσιολογικές (γήρανση) όσο και σε παθολογικές καταστάσεις όπως η στε-

* Η εργασία έχει χρηματοδοτηθεί από την Ελληνική Εταιρεία Υπέρτασης.

Γ' Παθολογική Κλινική, ΑΠΘ, Γενικό Νοσοκομείο Παπαγεωργίου

✉ **Αλληλογραφία:** Αντώνιος Α. Λαζαρίδης, Δεληγιώργη 17, Θεσσαλονίκη 54642 • Τηλ.: 6977273883 • Email: spanbiol@hotmail.com

φαναία νόσος, ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) και η αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ)⁵⁻⁷. Στην ΑΥ οι διαταραχές της μικροκυκλοφορίας περιλαμβάνουν την ευτροφική αναδιαμόρφωση και την αγγειακή ερήμωση^{8,9}. Σε αυτές τις βλάβες συμβάλλει σημαντικά η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία με μηχανισμούς που αφορούν τη θρόμβωση, τη φλεγμονή, την αγγειοσύσπαση και την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικών βλαβών¹⁰⁻¹². Οι μηχανισμοί αυτοί οφείλονται πρωτίστως στην ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου (Nitric Oxide, NO), η οποία προκαλείται είτε λόγω μειωμένης σύνθεσής του από το ενδοθήλιο, είτε λόγω αυξημένης κατανάλωσής του. Στο επίπεδο της μικροκυκλοφορίας ωστόσο, η ενδοθηλιακή λειτουργία ρυθμίζεται μερικώς μόνο από το NO, και ουσίες όπως ο εξαρτώμενος από το ενδοθήλιο υπερπολωτικός παράγοντας (Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor, EDHF) παίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο¹³⁻¹⁵.

Τα τελευταία χρόνια, η μελέτη των διαταραχών της μικροκυκλοφορίας έχει συμβάλει σημαντικά στη διερεύνηση της παθοφυσιολογίας των καρδιαγγειακών παθήσεων και τη σταδιοποίηση του καρδιαγγειακού κινδύνου^{2,16-19}. Πιο συγκεκριμένα, έχει φανεί πως οι αλλαγές στα μικρά αγγεία επηρεάζουν το φαινότυπο των μεγάλων αγγείων και αντιστρόφως, οι αλλαγές των μεγάλων αγγείων επηρεάζουν το φαινότυπο των μικρών αγγείων. Η σχέση αυτή έχει τη μορφή ενός φαύλου κύκλου βλαπτικής αλληλεπίδρασης παρά μιας γραμμικής αλληλουχίας συμβάντων με συγκεκριμένη χρονική συσχέτιση^{20,21}.

Ένα σημαντικό εργαλείο στη μελέτη της μικροκυκλοφορίας είναι το δέρμα δεδομένου ότι αποτελεί μία εξαιρετικά προσβάσιμη και αντιπροσωπευτική αγγειακή κοίτη που έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο γενικευμένης αγγειακής λειτουργίας²².

Μία νέα μέθοδος στην εκτίμηση της μικροκυκλοφορίας του δέρματος είναι η ανάλυση κοκκιδώδους αντίθεσης με λέιζερ (Laser Speckle Contrast Analysis, LASCA). Η μέθοδος LASCA είναι μία μη επεμβατική, ανέπαφη και ταχεία μέθοδος λέιζερ, που επιτρέπει την εκτίμηση *in vivo* και σε αληθινό χρόνο της ιστικής άρδευσης. Επιπρόσθετα, η μέθοδος LASCA παρουσιάζει τη μεγαλύτερη επαναληψιμότητα σε σχέση με τις άλλες τεχνικές λέιζερ και δίνει τη δυνατότητα μελέτης της μικροκυκλοφορίας σε ένα μεγαλύτερο τμήμα ιστού²³⁻²⁵. Στον τομέα της ΑΥ, η μέθοδος LASCA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας της δερματικής μικροκυκλοφορίας. Το παρόν άρθρο αποτελεί μία ανασκόπηση της μεθόδου LASCA, των

πλεονεκτημάτων αυτής αλλά και των εφαρμογών της στην κλινική πρακτική και κυρίως στην ΑΥ.

ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η μικροκυκλοφορία του δέρματος είναι οργανωμένη σε δύο οριζόντια πλέγματα που εντοπίζονται στη δερμίδα (κυρίως δέρμα). Το κάτω οριζόντιο πλέγμα εντοπίζεται στη συμβολή δερμίδας-υποδερμίδας και αποτελείται από διαπυραίνοντες αγγειακούς κλάδους που εξορμώνται από τους υποκείμενους μυς και το υποδόριο λίπος και δίνουν γένεση στα αρτηριόλια και τα φλεβίδια που συνδέονται απευθείας μέσω ανιόντων και κατιόντων κλάδων με τα αρτηριόλια και φλεβίδια του άνω οριζόντιου πλέγματος στη θηλώδη δερμίδα. Το μεγαλύτερο μέρος της μικροκυκλοφορίας του δέρματος βρίσκεται στο άνω οριζόντιο πλέγμα, που εντοπίζεται 1-1,5 mm κάτω από την επιφάνεια του δέρματος, και από το οποίο σχηματίζονται οι τριχοειδικές αγκύλες των δερματικών θηλών. Τα αρτηριόλια της θηλώδους δερμίδας έχουν διάμετρο περίπου 17-26 μm και αποτελούνται από έσω προς τα έξω από μία στιβάδα ενδοθηλιακών κυττάρων, το υπο-ενδοθηλιακό ελαστικό πέταλο, δύο στιβάδες λείων μυϊκών κυττάρων κι ακολούθως τη βασική μεμβράνη. Οι ελαστικές ίνες προοδευτικά ελαττώνονται με την ελάττωση της διαμέτρου των αγγείων, κι έτσι στα αγγεία με διάμετρο 10-12 μm που συνιστούν τα τριχοειδή, οι ελαστικές ίνες όπως και τα λεία μυϊκά κύτταρα απουσιάζουν πλήρως από το αγγειακό τοίχωμα, το οποίο αποτελείται πια μόνο από ένα στοίχο ενδοθηλιακών κυττάρων και τη βασική μεμβράνη²⁶. Στον πήχyu, και υπό συνθήκες ηρεμίας, έχει φανεί ότι η μικροκυκλοφορία του δέρματος ευθύνεται για το 30% περίπου της ολικής αιματικής ροής, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό αποδίδεται στην αιμάτωση των σκελετικών μυών^{27,28}.

Το δέρμα αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο ερευνητικό εργαλείο δεδομένου ότι είναι ένας εξαιρετικά προσβάσιμος ιστός, και η μικροκυκλοφορία αυτού έχει χρησιμοποιηθεί ως αγγειακό μοντέλο σε μια πληθώρα μελετών. Πιο συγκεκριμένα, και μέχρι του παρόντος, το δέρμα έχει χρησιμοποιηθεί ως πρότυπο κυκλοφορίας για τη μελέτη αγγειακών μηχανισμών σε μια πλειάδα νοσημάτων όπως π.χ. ο ΣΔ, η χρόνια νεφρική νόσος (XNN), η στεφανιαία νόσος, η παχυσαρκία και η συστηματική σκλήρυνση²⁹⁻³¹. Επίσης, η μικροαγγειοπάθεια στο επίπεδο των δερματικών αγγείων έχει φανεί ότι συσχετίζεται με τη βλάβη σε άλλες αγγειακές κοίτες κι επομένως μπορεί να αποτελέσει ένα δείκτη

καρδιαγγειακού κινδύνου³²⁻³⁵. Ως αποτέλεσμα, η μικροκυκλοφορία του δέρματος έχει προταθεί ως μοντέλο γενικευμένης αγγειακής λειτουργίας²².

ΜΕΘΟΔΟΣ LASCA

Οι μέθοδοι εκτίμησης της μικροκυκλοφορίας του δέρματος περιλαμβάνουν επεμβατικές και μη επεμβατικές τεχνικές. Στις μη επεμβατικές τεχνικές περιλαμβάνονται αυτές με χρήση λέιζερ, μεταξύ των οποίων ξεχωρίζει ως πιο καινούρια η μέθοδος LASCA.

Η μέθοδος LASCA αναπτύχθηκε το 1982 για τη μελέτη της αιματικής ροής του αμφιβληστροειδούς και το 1995 μετατράπηκε σε μια πλήρως ψηφιακή τεχνική για τη χαρτογράφηση της δερματικής τριχοειδικής μικροκυκλοφορίας. Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου στηρίζεται στο φωτισμό μιας καθορισμένης επιφάνειας ιστού (Region Of Interest, ROI) με μια συνεκτική δέση φωτός λέιζερ. Ακολούθως, οι ακτίνες που ανακλώνται από τα μετακινούμενα σωματίδια του ιστού που ακτινοβολείται (τα ερυθρά αιμοσφαίρια στην περίπτωση του δέρματος) λαμβάνονται από έναν αισθητήρα σύλληψης εικόνας (Charged-Coupled Device, CCD) μιας ψηφιακής κάμερας και δημιουργούν ένα παρεμβατικό μοτίβο με σκοτεινές και φωτεινές περιοχές (Speckle Pattern). Λόγω της συνεχούς κίνησης των φωτιζόμενων σωματιδίων, το μοτίβο αυτό παρουσιάζει διακυμάνσεις της έντασης συναρτήσει του χρόνου, κι επομένως είναι δυναμικό. Το φαινόμενο αυτό όταν συλλαμβάνεται μέσα στο χρόνο συνεχώς καταγραφής (χρόνος έκθεσης) από την ψηφιακή κάμερα δημιουργεί ένα θολερό μοτίβο. Σε γενικές γραμμές, όσο ταχύτερη είναι η αιματική ροή στο δεδομένο χρόνο έκθεσης, τόσο πιο ταχείες είναι οι διακυμάνσεις της έντασης του μοτίβου προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο ένα μεγαλύτερο βαθμό θολερότητας του μοτίβου. Ακολούθως, ο βαθμός θολερότητας του μοτίβου ποσοτικοποιείται με τη βοήθεια μιας χωρικής στατιστικής εξίσωσης (Speckle Contrast, K) και μετατρέπεται από την κάμερα σε έγχρωμη εικόνα βασισμένη σε pixels. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μία δυναμική, δυσδιάστατη απεικόνιση της άρδευσης της μικροκυκλοφορίας του δέρματος^{25,36,37}.

Σε επίπεδο ανάλυσης δεδομένων, η μέθοδος LASCA δίνει τη δυνατότητα ποσοτικής ανάλυσης της μικροκυκλοφορίας του δέρματος με τη βοήθεια ειδικού λογισμικού που υπολογίζει μονάδες άρδευσης (Laser Speckle Perfusion Units, LSPU) και όχι απόλυτες μονάδες ροής (π.χ. ml/min)³⁸. Ως αποτέλεσμα, η μέθοδος χρησιμοποιείται κυρίως

για την εκτίμηση των μεταβολών της ιστικής άρδευσης σε συνδυασμό με μεθόδους που περιλαμβάνουν την εφαρμογή ενός ερεθίσματος (δοκιμασίες αντιδραστικότητας), όπως η μετα-αποφρακτική αντιδραστική υπεραϊμία (POst-occlusive Reactive Hyperemia, PORH), η ιοντοφόρηση με ακετυλχολίνη και η τοπική θερμική υπεραϊμία (Local Thermal Hyperemia, LTH)³⁹.

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥ LASCA

Η μέθοδος LASCA έχει χρησιμοποιηθεί για την απεικόνιση της ιστικής άρδευσης σε μια πληθώρα αγγειακών κοιτών τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους. Μία από τις πρώτες βιολογικές εφαρμογές της μεθόδου αφορούσε την απεικόνιση της άρδευσης του αμφιβληστροειδούς δεδομένου ότι αποτελεί έναν εξαιρετικά επιφανειακό ιστό, η δυσλειτουργία του οποίου συνδέεται με μια σειρά παθοφυσιολογικών διαταραχών, όπως η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και η εκφύλιση της ωχράς κηλίδας^{40,41}. Στον τομέα των νευροεπιστημών η μέθοδος έχει βρει πιο ευρεία εφαρμογή και χρησιμοποιείται για την απεικόνιση των μοτίβων της άρδευσης και της αγγειακής μορφολογίας του φλοιού του εγκεφάλου. Πιο συγκεκριμένα, η μέθοδος LASCA εφαρμόζεται κυρίως σε μοντέλα πρόκλησης αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, όπου δίδεται η δυνατότητα δυναμικής παρατήρησης των αλλαγών της ιστικής άρδευσης κατά τη διάρκεια ενός ισχαιμικού επεισοδίου τόσο στην ισχαιμη εγκεφαλική περιοχή όσο και στη λυκοφωτική ζώνη και τις μη ισχαιμες περιοχές του εγκεφάλου^{42,43}. Σε ανθρώπους, η μέθοδος LASCA έχει χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση της εγκεφαλικής άρδευσης τόσο κατά τη διάρκεια νευροχειρουργικών επεμβάσεων όσο και μετεγχειρητικά για την αξιολόγηση της ιστικής βιωσιμότητας, παρέχοντας με αυτόν τον τρόπο τη δυνατότητα βελτιστοποίησης τέτοιων επεμβάσεων^{44,45}. Επίσης, έχει εφαρμοστεί σε πειραματόζωα για την παρακολούθηση της ηπατικής μικροκυκλοφορίας αλλά και σε ανθρώπους κατά τη διάρκεια χειρουργικών επεμβάσεων μεταμόσχευσης ήπατος για τη διεγχειρητική παρακολούθηση της ηπατικής μικροκυκλοφορίας και της μετεγχειρητικής αποκατάστασης-βιωσιμότητας του ηπατικού ιστού^{46,47}. Επιπρόσθετα, η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας της μικροκυκλοφορίας του πέους σε μια προσπάθεια ελέγχου της αποτελεσματικότητας των φαρμάκων που χορηγούνται για στυτική δυσλειτουργία⁴⁸. Πιο πρόσφατα, οι Milstein και συνεργάτες χρησιμο-

ποίησαν τη μέθοδο διεγχειρητικά, κατά τη διάρκεια οισοφαγεκτομής, για την εκτίμηση της αιματικής αρδεύσης των αναστομοωτικών περιοχών⁴⁹.

Ο μη επεμβατικός χαρακτήρας της μεθόδου την έχει καταστήσει ιδανική και για τη μελέτη της μικροκυκλοφορίας του δέρματος που εντοπίζεται σε βάθος μέχρι 300 μm. Όσον αφορά τις εφαρμογές της μεθόδου στο δέρμα, αυτές περιλαμβάνουν τη μελέτη του φαινομένου Raynaud και των αγγειακών αλλαγών που το συνοδεύουν^{50,51}, την εκτίμηση του βαθμού επούλωσης των εγκαυμάτων⁵², καθώς και της μικροαγγειοπάθειας και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας της μικροκυκλοφορίας²³.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ LASCA ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η εκτίμηση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας της μικροκυκλοφορίας του δέρματος με τη μέθοδο LASCA προϋποθέτει, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, την εφαρμογή μιας δοκιμασίας αντιδραστικότητας όπως είναι η LTH, η ιοντοφόρηση με ακετυλχολίνη και η PORH, που αποτελεί και την πιο διαδεδομένη δοκιμασία⁵³⁻⁵⁵.

Η δοκιμασία PORH συνίσταται στην αιφνίδια αύξηση της δερματικής αιματικής ροής στην κοιλιακή επιφάνεια του πηγέως αμέσως μετά την άρση μιας ισχαιμης περιόδου. Η ισχαιμία περιόδου δημιουργείται με την εφαρμογή μιας περιχειρίδας στο άνω άκρο του ασθενούς ενώ στη συνέχεια ο αεροθάλαμος της περιχειρίδας πληρούται με στόχο την αύξηση της ΑΠ σε επίπεδα έως 50 mmHg πάνω από τη συστολική ΑΠ (ΣΑΠ) του ασθενούς. Παρά το γεγονός ότι στη βιβλιογραφία αναφέρονται επίπεδα ΑΠ στο εύρος 160-220 mmHg πάνω από τη ΣΑΠ του ασθενούς, έχει φανεί ότι δεν επηρεάζεται σημαντικά η αγγειοδιασταλτική απάντηση της δοκιμασίας, με την προϋπόθεση όμως ότι η εφαρμοζόμενη ΑΠ υπερβαίνει τη ΣΑΠ του ασθενούς^{56,57}. Επιπρόσθετα, αν και δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με την ιδανική διάρκεια της ισχαιμης περιόδου (1-15 λεπτά), έχει φανεί ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα στη διάρκεια της ισχαιμης περιόδου και της μέγιστης αγγειοδιασταλτικής απάντησης οπότε και συστήνεται η εφαρμογή ισχαιμης περιόδου για το ελάχιστο χρονικό διάστημα των 3 λεπτών^{57,58}. Από παθοφυσιολογική σκοπιά, η PORH είναι μια ενδοθηλιο-εξαρτώμενη δοκιμασία, κύριος ρυθμιστής της οποίας θεωρείται ο EDHF, ενώ ο ρόλος του NO είναι λιγότερο σημαντικός⁵⁹.

Πολυάριθμες μελέτες με τη χρήση μεθόδων λείζερ σε συνδυασμό με τις παραπάνω δοκιμασίες έχουν αποδείξει ότι η ενδοθηλιακή λειτουργία του δέρματος είναι παθολογική στα καρδιαγγειακά νοσήματα και ειδικότερα την ΑΥ⁵³. Μέχρι του παρόντος, η μέθοδος LASCA ως νεότερη τεχνική έχει πολύ πιο περιορισμένη εφαρμογή. Σε μία μελέτη 30 ασθενών με πρόωμη στεφανιαία νόσο έναντι 30 υγιών εθελοντών, οι Souza και συνεργάτες διαπίστωσαν σημαντική ελάττωση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιασταλτικής απάντησης της μικροαγγειακής κυκλοφορίας του δέρματος μετά την εφαρμογή PORH και ιοντοφόρησης με ακετυλχολίνη, ευρήματα συμβατά με την ύπαρξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στη μικροκυκλοφορία του δέρματος⁶⁰. Σε μια μελέτη 50 ασθενών με ΣΔ τύπου Ι έναντι 30 υγιών εθελοντών, οι de Matheus και συνεργάτες διαπίστωσαν σημαντική ελάττωση των παραμέτρων της ενδοθηλιακής λειτουργίας της μικροκυκλοφορίας του δέρματος στους ασθενείς με ΣΔ έναντι των υγιών εθελοντών, ύστερα από εφαρμογή PORH και ιοντοφόρησης με ακετυλχολίνη⁶¹. Στον τομέα της ΑΥ, οι Cordovil και συνεργάτες εφάρμοσαν τη μέθοδο LASCA σε συνδυασμό με ιοντοφόρηση με ακετυλχολίνη και PORH και συνέκριναν τη δερματική μικροαγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία σε 50 νέους, υγιείς εθελοντές έναντι 50 ασθενών με ΑΥ και δυσλιπιδαιμία. Ως αποτέλεσμα, οι ερευνητές διαπίστωσαν στατιστικώς σημαντική μείωση των παραμέτρων της ενδοθηλιακής λειτουργίας της δερματικής μικροκυκλοφορίας στους ασθενείς με ΑΥ και δυσλιπιδαιμία έναντι των υγιών εθελοντών⁶².

Η μελέτη της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας της μικροκυκλοφορίας του δέρματος είναι σημαντική καθώς οι έρευνες έχουν δείξει ότι μπορεί να αποτελέσει δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου. Στο πλαίσιο αυτό έχει φανεί ότι η εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο, μικροαγγειακή δραστηριότητα των αγγείων του δέρματος σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο⁶³ ενώ, επίσης, αποτελεί έναν ανεξάρτητο δείκτη καρδιαγγειακής νόσου σε ασθενείς με ΣΔ τύπου ΙΙ ή ΧΝΝ τελικού σταδίου^{64,65}. Πιο πρόσφατα, φάνηκε ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία του δέρματος παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με τα αυξημένα επίπεδα λευκωματινουργίας και τη ΧΝΝ⁶⁶.

Αντιθέτως, η σχέση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας της μικροκυκλοφορίας του δέρματος με την αγγειακή δυσλειτουργία στη μακροκυκλοφορία παραμένει ακόμη αμφίβολη^{53,67-70}.

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ LASCA

Οι πολυάριθμες εφαρμογές που έχει βρει η μέθοδος LASCA τα τελευταία χρόνια οφείλονται στο μη επεμβατικό και ανέπαφο χαρακτήρα της μεθόδου καθώς και στη δυνατότητα που δίνει για παρατήρηση της μικροκυκλοφορίας σε ένα πολύ πιο ευρύ τμήμα ιστού σε σύγκριση με άλλες μεθόδους αναφοράς με τη χρήση λέιζερ, όπως η ροομετρία με χρήση λέιζερ doppler σε ένα σημείο (single point Laser Doppler Flowmetry, LDF) που παρουσιάζει υψηλή χωρική μεταβλητότητα^{71,72}. Επίσης η μέθοδος LASCA δίνει τη δυνατότητα δυναμικής μελέτης της μικροκυκλοφορίας σε αληθινό χρόνο, in vivo και με πολύ μεγάλη ταχύτητα σε αντίθεση με πιο εξελιγμένες τεχνικές λέιζερ doppler, όπως η απεικόνιση με λέιζερ doppler (Laser Doppler Imaging, LDI) που απαιτεί τη διεξαγωγή σάρωσης και επομένως παρουσιάζει χαμηλότερη χρονική ανάλυση^{23,53}. Ωστόσο, το μεγαλύτερο πλεονέκτημα που παρουσιάζει η μέθοδος LASCA σε σχέση με όλες τις άλλες τεχνικές λέιζερ, έγκειται στη μεγαλύτερη επαναληψιμότητα που παρουσιάζει η μέθοδος, όταν συνδυάζεται με τις δοκιμασίες PORH και LTH για την εκτίμηση της μικροαγγειακής δραστηριότητας του δέρματος^{24, 73-75}.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη των διαταραχών της μικροκυκλοφορίας είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας των καρδιαγγειακών παθήσεων. Μεταξύ των νέων μεθόδων εκτίμησης της μικροκυκλοφορίας ξεχωρίζει η μέθοδος LASCA. Η μέθοδος LASCA είναι μια καινοτόμος, μη επεμβατική, ανέπαφη και με τη μεγαλύτερη επαναληψιμότητα τεχνική λέιζερ, που δίνει τη δυνατότητα δυναμικής χαρτογράφησης της αιματικής άρδευσης, παρατήρησης της μικροκυκλοφορίας σε αληθινό χρόνο και εκτίμησης της μικροαγγειακής λειτουργίας και δραστηριότητας. Οι δυνατότητες της μεθόδου έχουν βρει εφαρμογή για τη μελέτη πολλαπλών ιστών, μεταξύ των οποίων ξεχωρίζει το δέρμα. Το δέρμα αποτελεί ένα εξαιρετικό μοντέλο για τη μελέτη των διαταραχών της μικροκυκλοφορίας δεδομένου ότι αποτελεί μια προσβάσιμη αγγειακή κοίτη, και οι διαταραχές της δερματικής μικροκυκλοφορίας σχετίζονται με τη βλάβη σε άλλες αγγειακές κοίτες αλλά και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Μεταξύ των εφαρμογών της μεθόδου LASCA στο δέρμα περιλαμβάνεται η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας της μικροκυκλοφορίας. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία της δερματικής μικροκυκλοφορίας απαντάται σε ποικίλα νοσήματα μεταξύ των οποίων και στην ΑΥ, όπου η

εφαρμογή της μεθόδου LASCA σε συνδυασμό με τις δοκιμασίες αντιδραστικότητας είναι ακόμη περιορισμένη, ωστόσο αποτελεί πρόσφορο έδαφος για περαιτέρω έρευνα.

SUMMARY

Lazaridis A, Dolgyras P, Gkaliagkousi E, Douma S

LASCA as a new method to evaluate microcirculation and endothelial dysfunction in arterial hypertension

Arterial Hypertension 2018; 27: 22-28.

Microcirculation is a complex network of small vessels that is affected in hypertension and communicates with the large vessels through a vicious cycle of harmful interactions. The skin is a representative vascular bed that has been extensively used in many studies evaluating the alterations of microcirculation, since skin alterations are related with damage in other vascular beds and thus, can represent an index of cardiovascular risk. Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) has been emerged as a new method to evaluate skin microcirculation. It is a non-invasive, contactless method that gives the opportunity of the dynamic study of the perfusion of skin microcirculation in real time and with the greatest reproducibility. The application of LASCA method in hypertension includes evaluation of endothelial dysfunction of skin microcirculation in combination with reactivity tests.

Key-words: microcirculation, endothelial dysfunction, laser, post-occlusive reactive hyperemia.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Christensen KL, Mulvany MJ. Location of resistance arteries. *J Vasc Res* 2001; 38(1): 1-12.
2. Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HAJ. Microcirculation in hypertension—a new target for treatment? *Circulation* 2001; 104: 735-740.
3. Mulvany MJ, Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiol Rev* 1990; 70(4): 921-61.
4. Feihl F, Liaudet L, Waeber B, Levy BI. Hypertension: a disease of the microcirculation? *Hypertension* 2006; 48(6): 1012-7.
5. Lerman A, Holmes DR, Herrmann J, Gersh BJ. Microcirculatory dysfunction in ST-elevation myocardial infarction: cause, consequence, or both? *Eur Heart J* 2007; 28(7): 788-97.
6. Panza JA, Garcia CE, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Cannon RO 3rd. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. Evidence that nitric oxide abnormality is not localized to a single signal transduction pathway. *Circulation* 1995; 91(6): 1732-8.
7. Li L, Mac-Mary S, Sainthillier JM, Nouveau S, de Lacharriere O, Humbert P. Age-related changes of the cutaneous mi-

- crocirculation in vivo. *Gerontology* 2006; 52(3): 142-53.
8. Rizzoni D, Agabiti-Rosei E. Structural abnormalities of small resistance arteries in essential hypertension. *Intern Emerg Med* 2012; 7(3): 205-12.
 9. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad JJ, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, Struijker-Boudier HA. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation* 2008; 118(9): 968-76.
 10. Gkaliagkousi E, Douma S, Zamboulis C, Ferro A. Nitric oxide dysfunction in vascular endothelium and platelets: role in essential hypertension. *J Hypertens* 2009; 27(12): 2310-20.
 11. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323(1): 22-7.
 12. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 2007; 115(10): 1285-95.
 13. Cracowski JL, Gaillard-Bigot F, Cracowski C, Sors C, Roustit M, Millet C. Involvement of cytochrome epoxygenase metabolites in cutaneous postocclusive hyperemia in humans. *J Appl Physiol (1985)* 2013; 114(2): 245-51.
 14. Kang KT. Endothelium-derived Relaxing Factors of Small Resistance Arteries in Hypertension. *Toxicol Res* 2014; 30(3): 141-8.
 15. Garland CJ, Plane F, Kemp BK, Cocks TM. Endothelium-dependent hyperpolarization: a role in the control of vascular tone. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16(1): 23-30.
 16. Struijker-Boudier HA, Rosei AE, Bruneval P, Camici PG, Christ F, Henrion D, et al. Evaluation of the microcirculation in hypertension and cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2007; 28(23): 2834-40.
 17. Rizzoni D, Porteri E, Boari GE, De Ciuceis C, Sleiman I, Muesan ML, et al. Prognostic significance of small-artery structure in hypertension. *Circulation* 2003; 108(18): 2230-5.
 18. Mathiassen ON, Buus NH, Sihm I, Thybo NK, Mørn B, Schroeder AP, et al. Small artery structure is an independent predictor of cardiovascular events in essential hypertension. *J Hypertens* 2007; 25(5): 1021-6.
 19. Agabiti-Rosei E, Rizzoni D. Microvascular structure as a prognostically relevant endpoint. *J Hypertens* 2017; 35(5): 914-21.
 20. Laurent S, Boutouyrie P. The structural factor of hypertension: large and small artery alterations. *Circ Res* 2015; 116(6): 1007-21.
 21. Laurent S, Briet M, Boutouyrie P. Large and small artery cross-talk and recent morbidity-mortality trials in hypertension. *Hypertension* 2009; 54(2): 388-92.
 22. Holowatz LA, Thompson-Torgerson CS, Kenney WL. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J Appl Physiol (1985)* 2008; 105(1): 370-2.
 23. Roustit M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci* 2013; 34(7): 373-84.
 24. Tew GA, Klonizakis M, Crank H, Briers JD, Hodges GJ. Comparison of laser speckle contrast imaging with laser Doppler for assessing microvascular function. *Microvasc Res* 2011; 82(3): 326-32.
 25. Briers JD, Webster S. Laser speckle contrast analysis (LASCA): a non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow. *J Biomed Opt* 1996; 1(2): 174-9.
 26. Braverman IM. The cutaneous microcirculation. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2000; 5(1): 3-9.
 27. Cooper KE, Edholm OG, Mottram RF. The blood flow in skin and muscle of the human forearm. *J Physiol* 1955; 128(2): 258-67.
 28. Benjamin N, Calver A, Collier J, Robinson B, Vallance P, Webb D. Measuring forearm blood flow and interpreting the responses to drugs and mediators. *Hypertension* 1995; 25(5): 918-23.
 29. Bruning RS, Kenney WL, Alexander LM. Altered skin flow motion in hypertensive humans. *Microvasc Res* 2015; 97: 81-7.
 30. Roustit M, Simmons GH, Carpentier P, Cracowski JL. Abnormal digital neurovascular response to local heating in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47(6): 860-4.
 31. Rossi M, Nannipieri M, Anselmino M, Pesce M, Muscelli E, Santoro G, et al. Skin vasodilator function and vasomotion in patients with morbid obesity: effects of gastric bypass surgery. *Obes Surg* 2011; 21(1): 87-94.
 32. IJzerman RG, de Jongh RT, Beijik MA, van Weissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serné EH et al. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest* 2003; 33(7): 536-42.
 33. Yamamoto-Suganuma R, Aso Y. Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperaemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes-a novel index for detecting micro- and macrovascular dysfunction using laser Doppler flowmetry. *Diabet Med* 2009; 26(1): 83-8.
 34. Kruger A, Stewart J, Sahityani R, O'Riordan E, Thompson C, Adler S, et al. Laser Doppler flowmetry detection of endothelial dysfunction in end-stage renal disease patients: correlation with cardiovascular risk. *Kidney Int* 2006; 70(1): 157-64.
 35. Seliger SL, Salimi S, Pierre V, Giffuni J, Katzel L, Parsa A. Microvascular endothelial dysfunction is associated with albuminuria and CKD in older adults. *BMC Nephrol* 2016; 17(1): 82.
 36. Boas DA, Dunn AK. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. *J Biomed Opt* 2010; 15(1): 011109.
 37. Draijer M, Hondebrink E, van Leeuwen T, Steenbergen W. Review of laser speckle contrast techniques for visualizing tissue perfusion. *Lasers Med Sci* 2009; 24(4): 639-51.
 38. Briers JD. Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas* 2001; 22(4): R35-66.
 39. Iredahl F, Löfberg A, Sjöberg F, Farnebo S, Tesselaar E. Non-Invasive Measurement of Skin Microvascular Response during Pharmacological and Physiological Provocations. *PLoS One* 2015; 10(8): e0133760.
 40. Srienc AI, Kurth-Nelson ZL, Newman EA. Imaging retinal blood flow with laser speckle flowmetry. *Front Neuroenergetics* 2010; 2: pii: 128.
 41. Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H. Non-contact, two-dimensional measurement of tissue circulation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. *Exp Eye Res* 1995; 60(4): 373-83.
 42. Atochin DN, Murciano JC, Gürsoy-Ozdemir Y, Krasik T, Noda F, Ayata C, et al. Mouse model of microembolic stroke and reperfusion. *Stroke* 2004; 35(9): 2177-82.
 43. Shin HK, Dunn AK, Jones PB, Boas DA, Lo EH, Moskowitz MA, et al. Normobaric hyperoxia improves cerebral blood flow and oxygenation, and inhibits perinfarct depolarizations in experimental focal ischaemia. *Brain* 2007; 130(Pt 6): 1631-42.

44. Hecht N, Woitzik J, Dreier JP, Vajkoczy P. Intraoperative monitoring of cerebral blood flow by laser speckle contrast analysis. *Neurosurg Focus* 2009; 27(4): E11.
45. Parthasarathy AB, Weber EL, Richards LM, Fox DJ, Dunn AK. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow in humans during neurosurgery: a pilot clinical study. *J Biomed Opt* 2011; 15(6): 066030.
46. Stureson C, Milstein DM, Post IC, Maas AM, van Gulik TM. Laser speckle contrast imaging for assessment of liver microcirculation. *Microvasc Res* 2013; 87: 34-40.
47. Eriksson S, Nilsson J, Lindell G, Stureson C. Laser speckle contrast imaging for intraoperative assessment of liver microcirculation: a clinical pilot study. *Med Devices (Auckl)* 2014; 7: 257-61.
48. Verri V, Brandão A, Tibirica E. The evaluation of penile microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging in healthy volunteers. *Microvasc Res* 2015; 99: 96-101.
49. Milstein DM, Ince C, Gisbertz SS, Boateng KB, Geerts BF, Hollmann MW, et al. Laser speckle contrast imaging identifies ischemic areas on gastric tube reconstructions following esophagectomy. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(25): e3875.
50. Ruaro B, Sulli A, Alessandri E, Pizzorni C, Ferrari G, Cutolo M. Laser speckle contrast analysis: a new method to evaluate peripheral blood perfusion in systemic sclerosis patients. *Ann Rheum Dis* 2014; 73(6): 1181-5.
51. Pauling JD, Shipley JA, Hart DJ, McGrogan A, McHugh NJ. Use of Laser Speckle Contrast Imaging to Assess Digital Microvascular Function in Primary Raynaud Phenomenon and Systemic Sclerosis: A Comparison Using the Raynaud Condition Score Diary. *J Rheumatol* 2015; 42(7): 1163-8.
52. Lindahl F, Tesselaar E, Sjöberg F. Assessing paediatric scald injuries using Laser Speckle Contrast Imaging. *Burns*, 2013; 39(4): 662-6.
53. Hellmann M, Roustit M, Cracowski JL. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases? *Pharmacol Rep* 2015; 67(4): 803-10.
54. Minson CT. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J Appl Physiol (1985)* 2010; 109(4): 1239-46.
55. Holowatz LA, Thompson CS, Minson CT, Kenney WL. Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J Physiol* 2005; 563(Pt 3): 965-73.
56. Mahé G, Humeau-Heurtier A, Durand S, Leftheriotis G, Abraham P. Assessment of skin microvascular function and dysfunction with laser speckle contrast imaging. *Circ Cardiovasc Imaging* 2012; 5(1): 155-63.
57. Roustit M, Cracowski JL. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirculation* 2012; 19(1): 47-64.
58. Tee GB, Rasool AH, Halim AS, Rahman AR. Dependence of human forearm skin postocclusive reactive hyperemia on occlusion time. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 50(1): 73-8.
59. Lorenzo S, Minson CT. Human cutaneous reactive hyperaemia: role of BKCa channels and sensory nerves. *J Physiol* 2007; 585(Pt 1): 295-303.
60. Souza EG, De Lorenzo A, Huguenin G, Oliveira GM, Tibiricá E. Impairment of systemic microvascular endothelial and smooth muscle function in individuals with early-onset coronary artery disease: studies with laser speckle contrast imaging. *Coron Artery Dis* 2014; 25(1): 23-8.
61. de M Matheus AS, Clemente EL, de Lourdes Guimar es Rodrigues M, Torres Valença DC, Gomes MB. Assessment of microvascular endothelial function in type 1 diabetes using laser speckle contrast imaging. *J Diabetes Complications* 2017; 31(4): 753-7.
62. Cordovil I, Huguenin G, Rosa G, Bello A, Köhler O, de Moraes R, et al. Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res* 2012; 83(3): 376-9.
63. IJzerman RG, de Jongh RT, Beijk MA, van Weissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serné EH, et al. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest* 2003; 33(7): 536-42.
64. Kruger A, Stewart J, Sahityani R, O'Riordan E, Thompson C, Adler S, et al. Laser Doppler flowmetry detection of endothelial dysfunction in end-stage renal disease patients: correlation with cardiovascular risk. *Kidney Int* 2006; 70(1): 157-64.
65. Yamamoto-Suganuma R, Aso Y. Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperaemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes-a novel index for detecting micro- and macrovascular dysfunction using laser Doppler flowmetry. *Diabet Med* 2009; 26(1): 83-8.
66. Seliger SL, Salimi S, Pierre V, Giffuni J, Katznel L, Parsa A. Microvascular endothelial dysfunction is associated with albuminuria and CKD in older adults. *BMC Nephrol* 2016; 17(1): 82.
67. Gori T, Di Stolfo G, Sicuro S, Dragoni S, Lisi M, Parker JD, et al. Correlation analysis between different parameters of conduit artery and microvascular vasodilatation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006; 35(4): 509-15.
68. Shamim-Uzzaman QA, Pfenninger D, Kehrer C, Chakrabarti A, Kacirotti N, Rubenfire M, et al. Altered cutaneous microvascular responses to reactive hyperaemia in coronary artery disease: a comparative study with conduit vessel responses. *Clin Sci (Lond)* 2002; 103(3): 267-73.
69. Hansell J, Henareh L, Agewall S, Norman M. Non-invasive assessment of endothelial function - relation between vasodilatory responses in skin microcirculation and brachial artery. *Clin Physiol Funct Imaging* 2004; 24(6): 317-22.
70. Khalil A, Humeau-Heurtier A, Mahé G, Abraham P. Laser speckle contrast imaging: age-related changes in microvascular blood flow and correlation with pulse-wave velocity in healthy subjects. *J Biomed Opt* 2015; 20(5): 051010.
71. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res* 2010; 79(2): 102-8.
72. Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27(9): 503-8.
73. Humeau-Heurtier A, Abraham P, Durand S, Mahé G. Excellent inter- and intra-observer reproducibility of microvascular tests using laser speckle contrast imaging. *Clin Hemorheol Microcirc* 2014; 58(3): 439-46.
74. Puissant C, Abraham P, Durand S, Humeau-Heurtier A, Faure S, Lefthériotis G, et al. Reproducibility of non-invasive assessment of skin endothelial function using laser Doppler flowmetry and laser speckle contrast imaging. *PLoS One* 2013; 8(4): e61320.
75. Roustit M, Millet C, Blaise S, Dufournet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc Res* 2010; 80(3): 505-11.