

Klinická mikrocirkulace – od prosté observace k precizní analýze a interpretaci dat

Prudký rozvoj neinvazivních optických technologií, které umožňují vizualizaci mikrocirkulační sítě, byl odstartován vynálezem Warrena Gronera s následným zavedením techniky Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging do experimentálního a klinického výzkumu [1]. OPS technologie a CYTOSCAN mikroskopy byly postupně nahrazeny novou generací komerčně dostupných Microscan™ videomikroskopů využívajících vylepšenou metodu známou jako Sidestream dark-field (SDF) imaging. SDF mikroskopie poskytuje větší rozlišení, kontrast a hlubší tkáňový průnik, a to při zachování snadné ruční manipulace se sondou SDF videomikroskopu [2]. U člověka je použitelná na povrchu sliznic a na povrchu některých orgánů. Nejčastějším vyšetřením v humánních studiích je tedy mikrocirkulace sublinguální oblasti, v perioperačním období byla vyšetřována mikrocirkulace povrchu jater, slizniční mikrocirkulace tenkého i tlustého střeva, vyšetřován byl peroperačně i povrch mozku a kortex ledviny po dekapsulaci. Hlavním problémem v prvních letech SDF videomikroskopie byla značná časová a softwarová náročnost off-line analýzy získaných videosekvencí s dynamickou morfologií mikrocirkulace. Byly tedy získávány dynamické záznamy chování mikrocirkulační sítě v reálném čase, ale vyjma hrubých patologií je nebylo možné rychle popsat či interpretovat. V posledních letech proto bylo věnováno obrovské úsilí vývoji automatické softwarové analýzy umožňující redukovat časovou náročnost a přiblížit se analýze v reálném čase, tedy dostupné bezprostředně po vyšetření [3].

Největší výzvou ve výzkumu mikrocirkulace pak nadále zůstává správná interpretace získaných dat, systém řízení tkáňové perfuze na úrovni mikrocirkulace a možnosti jejího terapeutického ovlivnění. Velká pozornost byla a je dosud věnována sjednocení postupů při analýzách mikrocirkulační sítě tak, aby výsledky jednotlivých experimentálních i klinických studií s technologií OPS a SDF byly porovnatelné. V oblasti výzkumu mikrocirkulace pomocí nových optických technologií zůstává ale několik klíčových problémů a otázek jak v metodologii, tak v interpretaci získaných dat. Počet klinických studií zaměřených na mikrocirkulaci sice strmě stoupá, ale kvalita metodologie mikrocirkulačních vyšetření, jejich analýzy a vědecká interpretace změn v mikrocirkulaci se rozvíjejí a zdokonalují o poznání pomaleji, i když určitý malý posun byl již učiněn v podobě prvních publikovaných doporučení pro analýzu mikrocirkulace [4]. Jak tedy dosáhnout kvalitní opakovatelné metodologie a vědecky podložené interpretaci získaných dat?

Autoři Čundrle jr. et al. se zaměřili na jeden z více metodických problémů, a to na interindividuální a intra-individuální variabilitu v hodnocení základních mikrocirkulačních parametrů. Tyto informace jsou důležité pro samotný autorský kolektiv jakékoli práce studující mikrocirkulaci, nicméně tato informace je ve světovém písemnictví v rámci metodiky uváděna jen výjimečně. Význam těchto informací podstatně stoupá při hodnocení dynamických parametrů mikrocirkulace s hodnocením charakteru proudění („flow motion“) – hlavně parametr MFI (microvascular flow index). Očekávaným výsledkem byl nález větší interindividuální variability při hodnocení mikrocirkulace mukózy ilea ve srovnání se sublinguální oblastí, větší variabilita byla též zjištěna u patologicky nízkých hodnot MFI v oblasti ileostomatu. Obdobné výsledky byly zjištěny pro statický parametr TVD (total vessel density – cm/cm^2). K interpretaci těchto nálezů nutno však vzít v úvahu zcela odlišnou strukturu i funkci mikrocirkulace střevní mukózy a sublinguální oblasti. Předně FCD (functional capillary density – cm/cm^2) jako přímý parametr dodávky nutrientů do tkání dosahuje v oblasti mukózy tenkého střeva v závislosti na počtu zobrazených klků hodnot 500–550 cm/cm^2 , tyto hodnoty jsou v sublinguální oblasti méně než poloviční. Samotný tento fakt činí analýzu intestinální mikrocirkulace mnohem obtížnější, zejména pak v hodnocení dynamických parametrů. Komplikovanost hodnocení charakteru krevního toku („flow motion“) v kapilárách klků dokládá práce Szaboa et al., kdy byly studovány periodické fluktuace kapilárního toku v klcích a jejich změny na modelu hemoragického šoku s následnou resuscitací [5]. Autoři navrhuji, jak objektivně analyzovat fluktuace kapilárního toku a její změny.

Obdobnou problematikou variability získaných dat v závislosti na pozorovateli se velmi recentně zabývali Sallisalmi et al. [6], kteří došli k závěru, že pro uspokojivé výsledky v analýze mikrocirkulačních dat je nezbytná intenzivní školicí perioda a vytvoření záznamu o kvalitě získaných sekvencí a dat. Autoři se pozastavují nad tím, že doposud nebyl vytvořen skórovací systém a záznam pro hodnocení kvality a artefaktů videí ze SDF videomikroskopie. Toto je jedno z klíčových slabých míst metodologie SDF zobrazení, kterému je v literatuře věnována minimální pozornost. Bez jednotného systému pro hodnocení kvality SDF videomikroskopie bude porovnatelnost dat z různých studií na různých pracovištích jen minimální.

Vedle metodologie výzkumu mikrocirkulace je druhou problematickou oblastí interpretace získaných dat. Relativně jasná je interpretace při hodnocení statické-

ho parametru FCD, tedy hustoty perfundovaných kapilár, kde byl jasně prokázán vztah mezi FCD a dodávkou nutrientů do tkání, nepřímo pak mezi FCD a dodávkou kyslíku do tkání. Podstatně méně informací je však o tom, jaký je vztah mezi statisticky významným poklesem FCD a klinicky významným poklesem FCD, mnohdy je statisticky významný pokles FCD na hranici interindividuální variability v hodnocení, přičemž toto není v diskusi prakticky nikdy zmíněno. Z tohoto pohledu je vyhodnocení interindividuální variability, které uvádí ve své práci Čundrle jr. et al. velmi důležité.

Zcela odlišná je situace při hodnocení charakteru kapilárního proudění, které je běžně hodnoceno v desítkách klinických studií posledních let. Parametr MFI je velmi zjednodušenou proměnnou, která popisuje charakter kapilárního proudění, je to však semikvantitativní parametr zatížený velkou mírou subjektivity. Změny v periodické fluktuaci kapilárního toku (změny v amplitudě rychlosti a jejím trvání) byly pozorovány za různých patologických stavů, ale zde byly v experimentech základního výzkumu precizně měřeny časové změny rychlosti krevního toku v kapilárách (přehledně v práci Szabo et al. [5]). Tento fakt nové mikrocirkulační klinické studie prakticky vůbec nezmiňují a interpretaci zjednodušují na parametr MFI, který s měřenými rychlostmi vůbec nepočítá. Vezmeme-li k tomu navíc v úvahu faktor interindividuální variability, mohou být ve skutečnosti výsledky dynamických parametrů mikrocirkulace prakticky neinterpretovatelné, bez možnosti odlišit fyziologické změny od patologických.

Závěrem lze navrhnout, jakým směrem by mělo směřovat úsilí maximálně objektivizovat klinický výzkum mikrocirkulace v následujících letech. V metodice je třeba vytvořit a respektovat standardní protokol pro získávání kvalitních SDF videosekvencí s maximální mírou eliminace artefaktů a následně postupovat podle jednotného systému analýzy. V interpretaci našich pozorování a získaných objektivních dat je třeba vycházet z výsledků základního výzkumu v oblasti mikrocirkulace, přímá spolupráce s odborníky na zá-

kladní výzkum mikrocirkulace je zcela nezbytná. Jako velmi vhodný postup při výzkumu tkáňové a orgánové perfuze se nyní jeví kombinace více metod studujících přímo či nepřímo tkáňovou perfuzi, např. SDF zobrazení s tkáňovou oxymetrií či laserovou dopplerovskou flowmetrií. Tyto postupy s kombinací metod by mohly zlepšit interpretovatelnost získaných výsledků a přinést nové poznatky v patofyziologii mikrocirkulace.

Literatura

1. Groner, W., Winkelman, J. W., Harris, A. G., Ince, C., Bouma, G. J., Messmer, K., Nadeau, R. G. Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat. Med.*, 1999, 5, p. 1209–1212.
2. Milstein, D. M., Lindeboom, J. A. Sidestream dark-field imaging and image analysis of oral microcirculation under clinical conditions. In Gullo, A. ed. *Anaesthesia, Pain, Intensive Care and Emergency*. A.P.I.C.E. Springer-Verlag Italia, 2006, Part 2, p. 79–88.
3. Bezemer, R., Dobbe, J. G., Bartels, S. A. et al. Rapid automatic assessment of microvascular density in sidestream dark field images. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 2011, 49, p. 1269–1278.
4. De Backer, D., Hollenberg, S., Boerma, C., Goedhart, P., Büchele, G., Ospina-Tascon, G., Dobbe, I., Ince, C. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. *Crit. Care*, 2007, 11, 5, R101.
5. Szabó, A., Suki, B., Csonka, E., Eszlári, E., Kucsá, K., Vajda, K., Kaszaki, J., Boros, M. Flow motion in the intestinal villi during hemorrhagic shock: a new method to characterize the microcirculatory changes. *Shock*, 2004, 21, 4, p. 320–328.
6. Sallisalmi, M., Oksala, N., Pettilä, V., Tenhunen, J. Evaluation of sublingual microcirculatory blood flow in the critically ill. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2012, 56, p. 298–306.
7. Harris, A. G., Leiderer, R., Peer, F., Messmer, K. Skeletal muscle microvascular and tissue injury after varying durations of ischemia. *Am. J. Physiol.*, 1996, 271, H2388–2398.

MUDr. Zdeněk Turek
KARIM FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: turek@fnhk.cz