

**Государственное бюджетное учреждение Московской области
«Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского»**

На правах рукописи

**ГЛАЗКОВ
АЛЕКСЕЙ АНДРЕЕВИЧ**

**ЛАЗЕРНАЯ ДОПЛЕРОВСКАЯ ФЛОУМЕТРИЯ В
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ОЦЕНКЕ НАРУШЕНИЙ КОЖНОЙ
МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ**

03.03.01 – Физиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент

Куликов Дмитрий Александрович

Научный консультант:

доктор технических наук, доцент

Рогаткин Дмитрий Алексеевич

Москва – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Физиология микроциркуляции	13
1.1.1. Современные представления об анатомии микроциркуляторного русла и регуляции микроциркуляции	13
1.1.2. Особенности строения микроциркуляторного русла и регуляции микроциркуляции в коже	17
1.2. Характеристика микроциркуляторных нарушений, возникающих при различных состояниях	19
1.2.1. Нарушения микроциркуляции у пациентов с артериальной гипертонией	19
1.2.2. Нарушения микроциркуляции у пациентов с ишемической болезнью сердца.....	20
1.2.3. Микроциркуляция у пациентов с инфарктом миокарда и недостаточностью мозгового кровообращения	21
1.2.4. Нарушения микроциркуляции, связанные с сахарным диабетом и его осложнениями.....	22
1.2.5. Нарушения микроциркуляции при других заболеваниях	25
1.2.6. Возрастные изменения микроциркуляции	28
1.2.7. Заключение по разделу.....	30
1.3. Методы неинвазивной инструментальной оценки кожной микроциркуляции.....	31
1.4. Оценка кожной микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии	33
1.4.1. Функциональные пробы, применяемые для оценки микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии.....	34
1.5. Заключение по главе	37

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	39
2.1. Моделирование распределений	39
2.2. Характеристика обследуемых	43
2.3. Исследование кожной микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии	45
2.3.1. Алгоритм проведения холодовых проб	45
2.3.2. Алгоритм проведения окклюзионных проб	46
2.3.3. Алгоритм проведения постуральных проб	47
2.3.4. Алгоритм проведения тепловых проб	48
2.3.5. Алгоритм проведения постурально-тепловых проб	50
2.3.6. Алгоритм проведения окклюзионно-тепловых проб	50
2.4. Обработка ЛДФ-грамм	51
2.5. Статистический анализ данных	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	54
3.1. Критерии для изучения применимости лазерной доплеровской флоуметрии в персонализированной оценке состояния микроциркуляторного русла	54
3.2. Обоснование подходов к повышению диагностической информативности лазерной доплеровской флоуметрии в исследовании состояния микроциркуляции.....	58
3.2.1. Результаты проведения холодовых проб.....	58
3.2.2. Результаты проведения окклюзионных проб.....	60
3.2.3. Результаты выполнения постуральных проб	61
3.2.1. Результаты выполнения тепловых проб	63
3.2.2. Результаты выполнения комбинированных проб	66
3.2.3. Сопоставление результатов выполнения различных функциональных проб	70
3.3. Разработка методики исследования микроциркуляции	72

3.3.1. Алгоритм проведения функциональной пробы и параметры, характеризующие состояние кожной микроциркуляции.....	72
3.3.2. Факторы, влияющие на параметры, характеризующие реактивность микроциркуляторного русла	76
3.3.3. Оценка вероятности наличия микроциркуляторных нарушений	77
3.4. Обоснование возможности применения разработанной методики в персонализированной оценке состояния кожной микроциркуляции	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	88
ВЫВОДЫ	91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	92
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	94

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) широко применяется для оценки микроциркуляции крови с 1980 годов [144]. Принцип работы ЛДФ основан на зондировании ткани лазерным излучением, анализе отраженного света и доплеровского сдвига частот. Параметр микроциркуляции, регистрируемый в перфузионных единицах, пропорционален количеству и скорости движущихся элементов крови, преимущественно эритроцитов. Метод позволяет оценивать микроциркуляцию в различных локализациях (кожа, слизистые оболочки, надкостница, сетчатка глаза и др.) [17]. Кожа является наиболее частым объектом исследования вследствие простоты доступа и возможности проведения функциональных проб. Неинвазивное измерение кожной микроциркуляции с использованием функциональных проб дает возможность, помимо базовой микроциркуляции в покое, оценивать функциональное состояние регуляторных механизмов (эндотелиальную функцию, нервную регуляцию и др.) [17]. Считается, что состояние кожной микроциркуляции позволяет судить о состоянии системного микрокровотока [38, 103].

Состояние кожной микроциркуляции изменяется в процессе старения организма [84, 119]. Изучение кожной микроциркуляции, в том числе методом ЛДФ, позволило установить, что микроциркуляторные нарушения наблюдаются и при множестве патологических состояний: артериальная гипертензия [64, 90], сахарный диабет [17, 26, 54], вибрационная болезнь [11, 148] и др.

Несмотря на востребованность в научных исследованиях, метод не получил широкого распространения в медицинской практике. Это связано с тем, что ЛДФ позволяет выявлять значимые различия между группами, но недостаточно информативен при попытке выявить микроциркуляторные нарушения у конкретного пациента, что накладывает существенные ограничения на

использование ЛДФ как в клинике, так и в научных исследованиях с более сложным дизайном, чем простое сравнение групп (например, проспективная оценка риска развития заболевания) [18]. Однако интерес к методу не угасает: в последние годы в зарубежной литературе было опубликовано множество работ с его использованием в различных областях медицины [45, 122, 161, 179].

Регуляция микроциркуляции осуществляется посредством множества механизмов: местные метаболические, миогенные, нейровегетативные, гуморальные и др. Нарушение каждого из них может приводить к поражению микроциркуляции. Наиболее распространённым подходом к выявлению изменений в данных регуляторных механизмах является применение функциональных проб (холодовые, тепловые, окклюзионные, постуральные, дыхательные, фармакологические). Существующие алгоритмы проведения проб и интерпретации результатов направлены, как правило, на поиск изменений конкретного регуляторного механизма. Комплексное обследование пациента с целью установления факта наличия каких-либо отклонений от нормы становится трудозатратным и несёт в себе ряд методических ограничений: некоторые виды функциональных воздействий не могут быть проведены в рамках одного дня.

Таким образом, актуальным является поиск подходов, позволяющих в рамках однократного обследования персонализировано сделать вывод о состоянии кожной микроциркуляции у конкретного пациента и, при выявлении признаков нарушений, провести более подробное обследование. Необходимо создание неинвазивной методики, позволяющей с высокими диагностическими характеристиками устанавливать факт отсутствия или наличия нарушений микроциркуляции у конкретного обследуемого.

Степень разработанности темы

Проблемам применения метода ЛФД в оценке нарушений кожной микроциркуляции посвящены работы множества научных коллективов. Первые

публикации, посвящённые ЛДФ были опубликованы в 1980 годах. Интерес к методу не спадает и на настоящее время: в базе данных PubMed за 2015-2020 годы проиндексировано более 1000 статей, содержащих метод ЛДФ в ключевых словах. Авторы рассматривают физиологические аспекты и особенности исследования кожной микроциркуляции методом ЛДФ, характеризуют состояние микроциркуляции при различных заболеваниях.

Так, в работах множества коллективов показано, что при сахарном диабете у пациентов выявляется снижение гиперемических реакций на нагрев, на окклюзионное воздействие, на фармакологические пробы с нитропруссидом натрия, ацетилхолином и др. [54, 79, 106]. Опубликованы данные, что у пациентов с артериальной гипертонией наблюдаются изменения в реактивности микроциркуляторного русла [84, 105, 172]. Также изменения в системе микроциркуляции выявляются и при таких заболеваниях, как болезнь Рейно [140], вибрационная болезнь [129], преэклампсия [150].

Однако, данные работы преимущественно посвящены выявлению микроциркуляторных нарушений при различных патологических состояниях внутри групп пациентов и не рассматривают возможности применения различных функциональных проб для персонализированного выявления изучаемых микроциркуляторных нарушений. Обнаруживаемая величина различий в таких исследованиях достаточна для установления факта статистической значимости групповых различий, но недостаточна для проведения диагностики у единичного обследуемого. Это приводит к необходимости длительных многократных измерений, которые, зачастую не могут быть проведены в рамках одного дня.

Настоящая работа посвящена изучению возможностей улучшения диагностических характеристик метода ЛДФ в персонализированной оценке кожной микроциркуляции при помощи физиологически обоснованных подходов: поиска проб, вызывающих регуляторные ответы максимальной интенсивности и позволяющих в рамках однократного обследования сделать вывод о наличии или отсутствии микроциркуляторных изменений у конкретного обследуемого.

Цель исследования

Улучшить диагностические характеристики метода лазерной доплеровской флоуметрии для персонализированной оценки кожной микроциркуляции.

Задачи исследования

1. Сформулировать и обосновать критерии применимости ЛДФ в персонализированной оценке состояния микроциркуляторного русла, проанализировать информативность различных статистических критериев.
2. Предложить физиологически обоснованные подходы к повышению чувствительности и специфичности метода лазерной доплеровской флоуметрии в персонализированной оценке микроциркуляции.
3. На основании предложенных подходов разработать методику исследования микроциркуляции, включающую алгоритмы проведения измерений и расчёта пострегистрационных параметров, характеризующих состояние микроциркуляторного русла.
4. Обосновать возможность применения разработанной методики в персонализированной оценке состояния кожной микроциркуляции на примере здоровых лиц и пациентов с микроциркуляторными нарушениями различного генеза.

Научная новизна работы

Обоснована возможность использования стандартизированной разности средних (СРС) для оценки диагностических характеристик метода ЛДФ в персонализированной оценке состояния кровотока. В отличие от стандартного способа проведения ROC-анализа, расчёт чувствительности и специфичности на основании СРС может быть проведён без доступа к первичным данным на

основании средних арифметических значений и стандартных отклонений (в т.ч. и в случаях групп с различными дисперсиями).

Создана методика измерений, включающая новый алгоритм проведения функциональных проб и способы пострегистрационной обработки данных. Доказано, что увеличение скорости нагрева при проведении тепловой пробы до 1,5-2 °С/с приводит к повышению величины выявляемых различий между лицами с нарушениями микроциркуляции и без них и росту показателя СРС. Предложены расчётные параметры (площадь под микроциркуляторной кривой, наклон микроциркуляторной кривой, прирост сосудистой проводимости), которые позволяют не только оценивать величину гиперемических реакций при тепловой и окклюзионной пробе, но и анализировать скорость развития гиперемии.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе исследования были сформулированы и обоснованы физиологические подходы к повышению информативности метода лазерной доплеровской флоуметрии в персонализированной оценке микроциркуляции. Было показано, что тепловое воздействие является наиболее информативным в выявлении различия между пациентами с нормальной и нарушенной микроциркуляцией по сравнению с холодным, окклюзионным, постуральным.

Продемонстрировано, что применение алгоритмов пострегистрационной обработки данных, характеризующих динамику изменений перфузии и сосудистой проводимости в момент тепловых проб с быстрым нагревом и проб с комбинированным функциональным воздействием позволяет увеличивать диагностическую информативность метода. Была создана методика оценки микроциркуляции, обладающая высокими чувствительностью и специфичностью и позволяющая персонализированно оценивать вероятность наличия микроциркуляторных нарушений.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Показатель СРС может быть использован для оценки диагностических возможностей неинвазивных методов исследования микроциркуляции в персонализированной оценке состояния кровотока.
2. Применение функциональных тепловых проб со скоростью нагрева 1,5-2 °С/с в сочетании с окклюзионным воздействием позволяет снижать вариабельность измерений, увеличивать информативность метода лазерной доплеровской флоуметрии в исследовании состояния кожной микроциркуляции.
3. Параметры, характеризующие динамические изменения (реактивность) перфузии на тепловое и комбинированное воздействие (прирост перфузии, площадь под микроциркуляторной кривой, прирост сосудистой проводимости), обладают более высокими диагностическими характеристиками в персонализированной оценке состояния микроциркуляции в сравнении с параметрами, описывающими абсолютные значения перфузии на различных этапах выполнения проб (базовый уровень перфузии, уровень перфузии в момент гиперемии и т.д.).
4. Разработанная методика исследования микроциркуляции с применением комбинированных функциональных проб и расчётом параметров, характеризующих реактивность микроциркуляторного русла, может быть использована для персонализированной вероятностной оценки наличия нарушений микроциркуляции.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования определяется использованием современного диагностического оборудования и программного обеспечения, применением корректных методов статистической обработки данных, репрезентативностью выборок пациентов, включённых в исследование,

достаточным для обоснования выводов объёмом наблюдений, публикациями по теме работы в рецензируемых научных журналах (в том числе и в зарубежных, индексируемых базами данных WoS и Scopus).

Основные результаты и положения диссертации доложены и обсуждены на конференциях «Advanced Technologies & Treatments for Diabetes» (Италия, Милан, 3-6 февраля 2016); XI международной конференции «Микроциркуляция и гемореология» (Россия, Ярославль, 3-5 июля 2017); III международном заседании Российского общества молодых эндокринологов (РОМЭ) (Белоруссия, Минск, 20-21 октября 2018), «Advanced Technologies & Treatments for Diabetes» (Германия, Берлин, 20-23 февраля 2019), III Всероссийском Конгрессе по геронтологии и гериатрии (Россия, Москва, 16-20 мая 2019), XII Международной конференции «Микроциркуляция и гемореология» (Россия, Ярославль, 2019), VII Всероссийской школе-конференции по физиологии и патологии кровообращения (Россия, Москва, 3-6 февраля 2020), «Advanced Technologies & Treatments for Diabetes» (Испания, Мадрид, 19-22 февраля 2020).

Личный вклад соискателя

Соискатель самостоятельно провёл анализ литературных источников по теме диссертационной работы, сформулировал цель и задачи научного исследования, провёл измерение микроциркуляции у 248 обследуемых, обработал полученные данные с использованием методов статистического анализа, сформулировал выводы и практические рекомендации, подготовил к публикации основные результаты.

Сведения о внедрении результатов исследования

Материалы диссертации внедрены в учебную программу лекций и практических занятий, проводимых факультетом усовершенствования врачей

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Разработанные в ходе диссертационного исследования алгоритмы проведения функциональных проб и количественные критерии для определения состояния сосудов кожи применяются АО «Елатомский приборный завод» при разработке нового медицинского оборудования для неинвазивной оценки состояния сосудов (Акт внедрения № 181 от 02.06.2020).

Объём и структура работы

Диссертация изложена на 115 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы; иллюстрирована 25 рисунками, содержит 21 таблицу; список литературы включает 192 источника, из них 42 отечественных и 150 иностранных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Физиология микроциркуляции

Ряд авторов под термином «микроциркуляция» определяют процесс, объединяющий транспорт биологических жидкостей на уровне тканей [27], при этом микроциркуляция может подразделяться на микрогемодициркуляцию и микролимфоциркуляцию [17]. Процесс микроциркуляции сопровождается транспортом газов, воды, растворенных веществ между кровью (лимфой) и тканями организма [17, 27]. При этом большинство существующих инструментальных методов оценки микроциркуляции, таких как лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), лазерная доплеровская визуализация, спекл-контрастная визуализация, видеокапилляроскопия и др., непосредственно регистрируют механический процесс движения крови в кровеносном русле [15, 24, 67, 123]. Таким образом, при использовании методов неинвазивной оценки состояния микроциркуляторного русла более актуальным становится другое определение, согласно которому микроциркуляция – это процесс движения крови по сосудам малого диаметра, относящимся к микроциркуляторному руслу [13, 101].

1.1.1. Современные представления об анатомии микроциркуляторного русла и регуляции микроциркуляции

Микроциркуляторное русло – это иерархически устроенный структурный элемент сердечно-сосудистой системы, в котором происходят основные обменные процессы [13]. В капиллярном звене микроциркуляторного русла осуществляется транспорт газов, воды, растворенных веществ между кровью и тканевой жидкостью [101].

К микроциркуляторному руслу относят сосуды диаметром менее 100 мкм [13, 80, 147], некоторые авторы включают в микроциркуляторное русло сосуды диаметром до 150 мкм [92, 168]. Микроциркуляторное русло состоит из артериол, капилляров, венул и артериовенозных анастомозов [17, 168].

Артериолы – это звено сосудистого русла, по направлению тока крови следующее за артериями. Одни авторы описывают артериолы, как сосуды диаметром от 5 до 100 мкм [117], другие указывают диаметр от 50 до 100 мкм [20], третьи не выделяют минимального размера и относят к артериолам мелкие артерии диаметром до 100 мкм [97]. Стенка артериол представлена тремя оболочками: *tunica intima*, *tunica media*, *tunica externa* [4]. Внутренний слой (*t. intima*) представлен эндотелиоцитами, лежащими на базальной мембране и внутренней эластической мембраной, которая может отсутствовать в артериолах малого диаметра. Отростки эндотелиоцитов, проникая через фенестрированную эластическую мембрану, образуют контакты с миоцитами среднего слоя. Средний слой (*t. media*) – это выстилка из 1-2 слоев миоцитов, как правило, расположенных поперечно (циркулярно). Наружный слой артериол (*t. externa*) выражен слабо и зачастую сливается с окружающей соединительной тканью [4, 97]. Артериолы, являющиеся первым звеном микроциркуляторного русла, выполняют в системе кровообращения функцию резистивных сосудов, отвечающих за общее периферическое сопротивление, поддержание уровня артериального давления, регулирующих кровенаполнение органов и тканей [41].

Авторы учебников и руководств по физиологии не сходятся во мнении относительно выделения следующего звена микроциркуляторного русла – метартериол. Руководства по физиологии и гистологии А.Г. Камкина, J.E. Hall, В.Л. Быкова объединяют понятие «метартериола» с понятием «прекапилляр» [4, 13, 101]. Согласно этим руководствам, метартериолы отходят от артериол, имеют единичные миоциты в своей стенке, дают начало капиллярам, содержат прекапиллярные сфинктеры и могут выступать в качестве шунтирующих сосудов, то есть впадать в венулы. T. Sakai и Y. Hosoyamada в своем обзоре пишут, что

понятия «метартериола» и «прекапиллярный сфинктер» были введены в физиологическую практику в работах В.В. Zweifach [160, 192]. В.В. Zweifach привел убедительные доказательства наличия этих структур на примере ткани брыжейки лягушки [192]. Его иллюстрации были использованы при написании руководств по физиологии, в том числе и руководства А.С. Guyton [101]. Проведя анализ актуальных публикаций по физиологии и гистологии, проведенных с использованием трансмиссионной электронной микроскопии и сканирующей электронной микроскопии, Т. Sakai сделал вывод, что описанные В.В. Zweifach метартериолы и прекапиллярные сфинктеры являются специфическими для ткани брыжейки, но при этом в литературе отсутствуют убедительные доказательства наличия данных структур в мозге, миокарде, коже, скелетных мышцах, печени, почках, тонком кишечнике и др. [160]. Таким образом, вопрос выделения метартериол, как самостоятельной анатомической структуры остается дискуссионным [17].

Артериовенулярные анастомозы (артериовенозные шунты) – это прямые сосудистые соединения между артериолами и венами, которые обходят капиллярное звено микроциркуляторного русла [4]. Эти шунты участвуют в процессах терморегуляции и распространены в коже (в частности, в неволосистой). Важная особенность нервной регуляции артериовенозных шунтов заключается в том, что холинергическая и адренергическая иннервация этих сосудов контролируется терморегуляторным центром мозга [13].

Обменные процессы происходят в капиллярном звене микроциркуляторного русла. Диаметр капилляров также не определен однозначно: разные авторы относят к капиллярам сосуды диаметром от 3 до 12 мкм [4], от 5 до 10 мкм [13], от 7 до 8 мкм [17] и др. Структура стенки капилляров состоит из монослоя эндотелиоцитов, лежащих на базальной мембране и единичных перицитов [13]. Стенка эндотелиоцитов имеет множество кавеол. Кавеолы могут углубляться внутрь эндотелиоцитов, образуя везикулы, везикулярные каналы [165]. Помимо везикулярных каналов в стенке капилляров присутствуют поры, количество и

размеры которых зависят от функции ткани: в мозге поры имеют крайне малый диаметр и пропускают только малые молекулы, такие как молекулы воды, кислорода, углекислого газа, в то время, как поры в капиллярах печени проницаемы и для крупных белковых молекул [70].

Из капиллярной сети кровь собирается в вены. Строение стенки венулы аналогично строению стенки артериол, однако их гладкомышечные клетки выражены слабее, имеют меньший тонус и расположены менее упорядоченно [51].

Суммарная площадь сечения сосудов, по которым циркулирует кровь в результате процесса кровообращения, увеличивается с 4 см^2 (сечение аорты) до $2000\text{-}3000 \text{ см}^2$, при этом линейная скорость кровотока снижается с 20 см/с до $0,5 \text{ мм/с}$. Характер тока крови при этом меняется с пульсового на ламинарный [117].

М. Jacob et al. (2016) в обзоре литературы выделили следующие факторы, регулирующие микроциркуляцию:

1. Миогенная реакция
2. Нейровегетативный контроль
3. Гуморальные и тканевые медиаторы
4. Локальная метаболическая регуляция
5. Напряжение сдвига, сигнальные молекулы местного действия [113].

Традиционно, гладкомышечный тонус прекапиллярных резистивных сосудов объясняется механической ауторегуляцией кровотока, противоположенной изменениям артериального давления [41]. Адаптация тонуса резистентных артериол к системному артериальному давлению была описана W.M. Bayliss : повышение артериального давления на уровне артериол приводит к увеличению тонуса гладкой мускулатуры сосудов, чтобы сохранить приток крови к органам на постоянном уровне в широком диапазоне давления (прежде всего к мозгу, сердцу, почкам, печени, каротидным телам), при условии отсутствия изменений в функциональном состоянии органа [60]. Падение артериального давления имеет противоположный эффект. Этот ответ вызван изменениями транспорта ионов Na^+ и Ca^{2+} через чувствительные к растяжению мембранные

ионные каналы. Другим механизмом, регулирующим микроциркуляцию посредством влияния на тонус резистивных артериол, являются автономная нервная система (обычно адренергическая, холинергическая и неадренергическая/нехолинергическая иннервация ограничена половыми органами и желудочно-кишечным трактом) [41]. Вазоактивные гуморальные и тканевые медиаторы включают ангиотензин II, брадикинин, вазопрессин, свободные катехоламины, натрийуретические пептиды и многие другие, действующие через рецепторные каналы гладкомышечных и эндотелиальных клеток [5]. Местные метаболические эффекты, особенно выраженные в терминальных артериолах, вызваны прежде всего изменениями pO_2 , pCO_2 , pH, осмолярностью, концентрацией ионов калия и высвобожденными катаболитами, такими как аденозин. Напряжение сдвига, вызванное движением крови и возникающее на поверхности клеток эндотелия, вызывает высвобождение оксида азота (NO) [39]. Это механизм положительной обратной связи: дилатация терминальных артериол, вызванная, например, метаболическими сигналами, приводит к росту потока крови, что увеличивает напряжение сдвига и приводит к высвобождению NO, который оказывает местное воздействие, а также приводит к дилатации приносящих сосудов. Гликокаликс эндотелия участвует в механотрансдукции в этом механизме [30]. Повреждение гликокаликса, вызванное воспалением, ишемией и другими патологическими состояниями, ослабляет дилатацию и локальную регуляцию кровотока [19].

1.1.2. Особенности строения микроциркуляторного русла и регуляции микроциркуляции в коже

Кожа является наиболее доступным органом для изучения микроциркуляции [103, 174]. Кожная микроциркуляция взаимосвязана с состоянием микроциркуляции в остальных органах и тканях [103], что позволяет не только использовать кожу как модельный орган для изучения поражения

микроциркуляции при различных заболеваниях [168, 177], но и в перспективе применять измерение кожной микроциркуляции как способ оценки риска развития системных микроциркуляторных нарушений [159].

Кровеносные сосуды кожи объединены в два сплетения, расположенные в поверхностных и глубоких слоях кожи параллельно ее поверхности [116, 180]. Большинство сосудов поверхностного сплетения состоят из резистивных терминальных артериол, папиллярных петель и посткапиллярных венул [118]. Папиллярные петли представлены капиллярами. Эти петли расположены вблизи от границы между дермой и эпидермисом. Кровоток через эти петли регулируется тонусом иннервируемых артериол [136].

Несмотря на тот факт, что второе сосудистое сплетение не относится к микроциркуляторному руслу и содержит сосуды более крупного диаметра, особенности его строения должны учитываться при оценке микроциркуляции [118]. В основном это сплетение представлено артериями и венами, поднимающимися из более глубоких тканей. Из артерий этого сплетения отходят восходящие артериолы, поднимающиеся к верхнему сплетению, и «латеральные» артериолы, кровоснабжающие волосяные фолликулы, потовые железы. Восходящие артериолы сопровождаются венами и расположены через каждые 1,5-1,7 мм [190]. Эта особенность кровотока может влиять на локальную гетерогенность кожного кровотока, регистрируемую методами неинвазивной диагностики, в том числе методом лазерной доплеровской флоуметрии [128].

Другой важной особенностью кожной микроциркуляции являются существенные различия между волосистой и неволосистой кожей [94]. Наличие поверхностного и глубокого сплетений, папиллярных петель характерно как для волосистой (nonglabrous), так и для неволосистой (glabrous) кожи в то время, как наличие артериовенозных анастомозов характерно преимущественно для неволосистой кожи [149]. При этом в процессе терморегуляции и температурной вазодилатации на волосистой коже принимают участие немиелинизированные

ноцицептивные С-волокна, которые поражаются при ряде заболеваний (например, при сахарном диабете) [159].

1.2. Характеристика микроциркуляторных нарушений, возникающих при различных состояниях

В многочисленных исследованиях кожной микроциркуляции было показано, что микроциркуляторные нарушения наблюдаются при множестве состояний. Изменения кожной микроциркуляции наблюдаются в процессе старения организма [84, 119]. Артериальная гипертензия [64, 90], сахарный диабет [23, 26, 54], вибрационная болезнь [11, 129] и др. заболевания также связаны с развитием микроциркуляторных нарушений, которые могут быть обнаружены при исследованиях кожной микроциркуляции.

1.2.1. Нарушения микроциркуляции у пациентов с артериальной гипертонией

При артериальной гипертонии происходят изменения в микрососудистой сети [146]. В частности, при гипертонии в значительной степени изменяются функциональные характеристики артериол, что приводит к ухудшению капиллярной перфузии [111, 184]. Повышенное сопротивление является следствием уменьшения внутреннего диаметра сосудов, увеличения отношения стенка-просвет, уменьшения количества мелких артерий и артериол, измененного эндотелия, нарушения реологических свойств крови [182].

Изменения микроциркуляции ассоциированы как с функциональными изменениями (снижение выделения простаглицина и оксида азота вместе с повышенным выделением тромбоксана и эндотелина-1), так и со структурными изменениями сосудов (например, атеросклеротические бляшки, стенозы, кальцификация и т.д.) [44, 183].

Дисфункция эндотелия развивается даже при небольшом стаже артериальной гипертензии [87]. В исследовании J.A. Panza et al. (1990) было выявлено, что эндотелий-опосредованная вазодилатация нарушена у пациентов с эссенциальной гипертензией [46]. Эндотелиальные изменения у пациентов с гипертонической болезнью ассоциированы с активацией циклооксигеназы, которая снижает доступность оксида азота (NO) за счет окислительного стресса, что сопровождается уменьшением эндотелий-зависимой вазодилатации [87]. Хроническое повышение артериального давления вместе с механическим напряжением в стенке сосуда ведет к образованию атеросклеротических бляшек, что приводит к уменьшению просвета сосудов. Со временем у пациентов с артериальной гипертензией развивается выраженный артериосклероз периферических сосудов [34, 157]. Структурные изменения стенок сосудов еще больше ограничивают артериолярный просвет, что приводит к значительному снижению регуляторной функции артерий сопротивления.

1.2.2. Нарушения микроциркуляции у пациентов с ишемической болезнью сердца

Многочисленные исследования подтверждают нарушение кожной микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца [3, 57, 58, 110].

Так, M.E. Sanchez-Garcia et al. (2018) стремились оценить, существует ли связь между наличием у пациента ишемической болезни сердца и функциональными и структурными аномалиями капилляров, измерения производились с помощью видеокапилляроскопии. В результате исследования были выявлены функциональные и структурные микрососудистые нарушения у пациентов с ишемической болезнью сердца [152].

Стоит отметить, что общим пусковым фактором развития патологических процессов, связанных с ишемической болезнью сердца, является нарушение функции эндотелия, вследствие которого изменяется баланс медиаторов

вазодилатации и вазоконстрикции, происходит повышение сосудистого тонуса. Этот тезис подтверждает исследование S.C. Agarwal et al. (2012), авторы которого оценивали кожную микроциркуляцию сорока восьми пациентов с ишемической болезнью сердца с помощью лазерной доплеровской флоуметрии и нескольких проб (тепловая проба, ионофорез ацетилхолина, постокклюзионная реактивная гиперемия). Результаты исследования показали, что кожная микроциркуляторная вазодилатация нарушена у пациентов с ишемической болезнью сердца. Авторы считают, что нагревание – предпочтительный способ оценки эндотелиальной функции сосудов в сочетании с лазерной доплеровской флоуметрией [121]. Утолщение сосудистой стенки, лейкоцитарное пропитывание, механическое повреждение избыточным давлением крови запускают процесс апоптоза эндотелиальных клеток и предрасполагают сосуды к развитию и прогрессированию атеросклероза [83, 137].

А.С. Клинова и др. (2016) исследовали кожную микроциркуляцию у мужчин с ишемической болезнью сердца и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) I-IV функционального класса (ФК) с помощью метода лазерно-доплеровской флоуметрии в сочетании с окклюзионной пробой. Исследование показало, что по мере прогрессирования ХСН нарастает дисфункция эндотелия, снижение функциональных резервов микроциркуляторного кровотока наиболее выражено в группе больных ИБС с ХСН III-IV ФК в сравнении с группой с ХСН I-II ФК [14].

1.2.3. Микроциркуляция у пациентов с инфарктом миокарда и недостаточностью мозгового кровообращения

У пациентов с острым инфарктом миокарда происходит активация нейрогуморальной системы. Помимо активации симпатической нервной системы, инфаркт миокарда также ведет к высвобождению многих вазоконстрикторных веществ (компоненты системы ренин-ангиотензин, аргинин-вазопрессин,

эндотелин). Активация нейрогуморальной системы сначала действует как компенсаторный механизм для поддержания притока крови к жизненно важным органам, несмотря на падение сердечного выброса. Перераспределение сердечного выброса связано с увеличением среднего периферического сопротивления. Периферический кровоток нормализуется через семь дней после неосложненного острого инфаркта миокарда, что совпадает с нормализацией уровня катехоламинов в крови. Однако степень и продолжительность нейрогуморальной активации в значительной степени связаны со степенью дисфункции левого желудочка [162].

Острая недостаточность мозгового кровообращения – клинический синдром, характеризующийся внезапным началом очаговой или глобальной потери церебральной функции сосудистого происхождения [158]. Ишемический инсульт активировать сложные процессы, которые способствуют восстановлению адекватного кровотока в зоне инсульта. Первый (кратковременный) ответ на церебральную ишемию может быть представлен перераспределением кровотока от нормальных к поврежденным областям. Он облегчает восстановление кровотока через активацию коллатерального кровообращения и сосудистых анастомозов. Долгосрочный ответ включает в себя нейрогенез, ангиогенез (ремоделирование сосудов), синаптическую пластичность [12, 126, 191].

1.2.4. Нарушения микроциркуляции, связанные с сахарным диабетом и его осложнениями

Сахарный диабет – тяжелое хроническое заболевание, характеризующееся нарушением всех видов обмена веществ и в первую очередь, углеводного [42]. Микрососудистые нарушения у пациентов с сахарным диабетом ассоциированы с более высокой заболеваемостью и смертностью [175]. Хотя между контрольными и здоровыми субъектами и пациентами с диабетом нет существенных гистологических различий в плотности кожных капилляров, у пациентов с сахарным диабетом преобладают функциональные изменения сосудов [108, 138,

163, 164]. Гипергликемия приводит к избытку эндотелиальных супероксидных радикалов, вследствие чего стимуляция оксида азота на Na^+/K^+ -АТФ-азу снижается, как и активность этого фермента [102].

Даже в преддиабетическом состоянии присутствуют нарушения эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой микрососудистой функции. А.Е. Caballero et al. (1999) показали, что вызванная ацетилхолином и нитропруссидом натрия вазодилатация кожных сосудов нарушена не только у пациентов с сахарным диабетом, но и у здоровых лиц с нормогликемией и с отягощенной наследственностью (родители страдали сахарным диабетом или нарушенной толерантностью к глюкозе) [134].

В результате мета-анализа D. Fuchs et al. (2017), исследователи показали очевидную взаимосвязь между сахарным диабетом и дисфункцией кожной микроциркуляции. При этом не было выявлено значимых различий между пациентами с сахарным диабетом первого и второго типа. Авторы рассматривали исследования, в которых микроциркуляцию оценивали с использованием лазерной доплеровской флоуметрии в сочетании с локальным нагревом [174]. Тепловая проба вызывает вазодилатацию с помощью различных механизмов (аксон-рефлекс, эндотелиальное выделение оксида азота и др.), поэтому грамотная интерпретация результатов исследований позволяет предположить, какие именно патогенетические звенья микроциркуляторного ответа нарушены [131].

Большое количество исследований показало, что при использовании методики ионофореза ацетилхолина у пациентов с сахарным диабетом вазодилатация менее выражена, чем у контрольной группы [100, 106, 133]. Ацетилхолин связывается с мускариновыми рецепторами на эндотелии, вызывая повышение продукции им NO, который приводит к расслаблению гладкомышечных клеток. Данный феномен называют эндотелий-зависимой вазодилатацией. Таким образом, снижение местной реакции на ацетилхолин может свидетельствовать о поражении эндотелия у пациентов с сахарным диабетом.

При диабете второго типа одной из важных патофизиологических причин нарушения кожного кровотока является потеря активного нейрогенного вазодилатирующего механизма в волосистой коже. Это объясняется тем фактом, что в волосистой и неволосистой коже различается регуляция микроциркуляторного русла, и основной компонент вазодилатации в волосистой коже – нейрогенный [151]. В исследовании К. В. Stansberry et al. (1999) получены данные, которые свидетельствуют о том, что у пациентов с сахарным диабетом второго типа нарушается нейрогенная вазодилатация в волосистой коже.

Важно также, что изменения в нижних и верхних конечностях возникают не одновременно. S. Aroga et al. (1998), доказали, что вазодилатация, индуцированная ацетилхолином и нитропруссидом натрия, была ниже на стопе, чем на предплечье у исследуемых пациентов [77]. Такие же данные относительно большего дефицита микроциркуляции в стопе получили К.В. Stansberry et al. (1999) [151]. M. Rendell et al. (1992), утверждают, что подобный феномен связан с более высоким давлением в нижней конечности, в связи с чем микроангиопатические процессы могут ускоряться [154]. Эти данные важны для понимания патофизиологии осложнений сахарного диабета, связанных с недостаточностью микроциркуляции.

Помимо макро- и микрососудистых осложнений при сахарном диабете происходит поражение нервной системы (диабетическая нейропатия). Диабетическая нейропатия – это распространенное осложнение сахарного диабета и самая распространенная форма нейропатии в развитых странах мира [76]. Патофизиология диабетической нейропатии включает в себя окислительный стресс, накопление полиолов, снижение функции оксида азота и вследствие этого развитие дисфункции эндотелия, нарушение Na^+/K^+ -АТФ-азной активности. Сосудистый фактор при диабетической нейропатии опосредован изменениями в метаболизме оксида азота (эндотелиальная функция). Происходит снижение экспрессии нейрональной синтазы оксида азота [102]. Стоит отметить, что поражение сосудов и нервов при сахарном диабете патофизиологически связаны между собой: как было сказано выше, диаметр сосудов регулируется в том числе

посредством их иннервации. В исследовании S. Arora et al. (1998), изучали кожную микроциркуляцию у 15 пациентов с диабетической нейропатией, 14 пациентов с сахарным диабетом без нейропатии и у 15 здоровых добровольцев с помощью лазерной доплеровской флоуметрии в сочетании с тепловой пробой и ионофорезом ацетилхолина и нитропрусида натрия. У пациентов с нейропатией ответ на стимулы был значительно снижен по сравнению с контрольной группой и с группой без нейропатии [77].

Диабетическая стопа – одно из наиболее тяжелых инвалидизирующих осложнений сахарного диабета. У пациентов с длительным стажем сахарного диабета обычно развивается периферическая нейропатия в сочетании с поражением периферических сосудов, что может способствовать развитию синдрома диабетической стопы [7, 99]. Пациенты с синдромом диабетической стопы имеют серьезные изменения в микроциркуляции из-за эндотелиальной дисфункции и нарушения нейронального аксон-рефлекса, что делает невозможным полноценное расширение сосудов в условиях стресса (травмы, инфекции), ткань находится в состоянии функциональной ишемии даже при наличии удовлетворительного кровотока [78].

Стоит отметить, что нарушения микроциркуляции при сахарном диабете наблюдаются уже на стадии предиабета и даже у людей с отягощенной наследственностью по сахарному диабету [50, 82, 134].

1.2.5. Нарушения микроциркуляции при других заболеваниях

Выше были описаны микроангиопатии, выявляющиеся при сердечно-сосудистых заболеваниях и нарушениях углеводного обмена. Однако известно, что изменения в системе микроциркуляции свойственны и другим более редким заболеваниям и состояниям.

К примеру, известно, что важным патогенетическим звеном развития феномена Рейно являются именно нарушения микроциркуляции. Феномен Рейно –

преходящее симметричное и порой болезненное состояние конечностей, характеризующееся вазоспазмом, который приводит к изменяющейся окраске кожных покровов (бледной, синюшной, красной) [170].

В исследовании Z. Stoyneva et al. (2016), оценивалась вегетативная реактивность микрососудистой циркуляции к симпатическим раздражителям и ее связь с первичным и вторичным феноменом Рейно. У пациентов с феноменом Рейно была выявлена аномальная кожная реактивность к центральным и местным аксон-рефлекторным симпатическим стимулам [135]. Это объясняется тем, что феномен Рейно характеризуется усиленной вазоспастической констрикцией, которая еще больше усиливается при стимуляции.

При феномене Рейно присутствует эндотелиальная дисфункция, снижена активность вазодилататоров, оксида азота, высвобождение вазоконстрикторного эндотелина-1 повышено [182]. В. Mosdósi et al. (2018) исследовали перфузию кожи и вызванную теплом гиперемия у пациентов с феноменом Рейно. У исследуемых был выявлен измененный по сравнению с контрольной группой микрососудистый ответ на тепловые раздражители [139].

Нарушение вазодилатации в сочетании со структурными ограничениями сосудистого снабжения у пациентов с феноменом Рейно способствует нарушению кровотока, что приводит к повреждению тканей и изъязвлениям [182].

Другое состояние, при котором выявляются нарушения микроциркуляции – преэклампсия. Характерные гемодинамические изменения, которые происходят во время нормальной беременности человека, включают периферическую вазодилатацию из-за усиленной эндотелий-зависимой сосудистой релаксации и сниженной сосудистой реактивности к вазоконстрикторным агонистам, которые вместе приводят к снижению общего сосудистого сопротивления и уменьшению артериального кровяного давления. Преэклампсия – наиболее тяжелая форма гестационной гипертензии, связанная с дисфункцией материнских сосудов [81].

В исследовании D. Yinon et al. (2006) оценивали эндотелиальную функцию у пациенток с преэклампсией и у женщин с неосложненной беременностью с

помощью плетизмографии. Было выявлено, что эндотелиальная дисфункция чаще встречается у пациенток с преэклампсией [150]. Это может быть объяснено тем, что плацентарная ишемия на поздних сроках беременности вызывает выброс плацентарных факторов, которые приводят к дисфункции эндотелиальных сосудистых гладкомышечных клеток у матери. Центральными факторами для эндотелиальной дисфункции у беременной с преэклампсией являются изменения в выработке вазодилатирующих веществ (NO, простагландин, гиперполяризационный фактор эндотелия) [62]. Еще один фактор, способствующий периферической вазоконстрикции – повышенная симпатическая активность у женщин с гестационной гипертензией и преэклампсией в третьем триместре [95].

Также известно, что нарушения микроциркуляции могут сопровождать аутоиммунные заболевания [10]. Примером может служить ревматоидный артрит. Ревматоидный артрит – наиболее распространенное системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся сниженной продолжительностью жизни пациентов [73, 98]. Сердечно-сосудистые заболевания (инфаркт, инсульт) – основная причина смерти при ревматоидном артрите. Причины высокого сердечно-сосудистого риска у таких пациентов до конца не изучены, однако есть предположение, что этот феномен может быть обусловлен эндотелиальной дисфункцией [127]. Есть исследования, демонстрирующие, что ревматоидный артрит сопровождается существенными изменениями в системе микроциркуляции, которые можно выявлять методом лазерной доплеровской флоуметрии [35]. E. Klimek et al. (2017) показали, что у пациентов с ревматоидным артритом нарушена сосудорасширяющая функция микрососудов кожи [49]. R. Bergholm et al. (2002) исследовали микроциркуляцию у пациентов с ревматоидным артритом и пришли к выводу, что у лиц с впервые диагностированным ревматоидным артритом действительно присутствует микроциркуляторная дисфункция, при чем она обратима при успешной терапии [107]. Согласно выводам мета-анализа M. Di Minno et al. (2015) у пациентов с ревматоидным артритом наблюдается

эндотелиальная дисфункция, что следует принимать во внимание для планирования адекватных стратегий профилактики осложнений и терапевтических подходов [71]. К факторам, обуславливающим эндотелиальную дисфункцию относятся: снижение доступности оксида азота, снижение экспрессии или активности эндотелиальной NOS, повышенная активность аргиназы, избыточная продукция супероксид-анионов, нарушенная продукция EDHF, увеличение синтеза простаноидов и увеличение производства ангиотензина II [56].

1.2.6. Возрастные изменения микроциркуляции

Старение организма – процесс во многом обусловленный и неразделимо связанный со старением сердечно-сосудистой системы. Известно, что с возрастом существенно увеличивается частота сердечно-сосудистых заболеваний [69, 145]. Согласно данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти во всем мире, так в 2016 году от сердечно-сосудистых заболеваний умерло 17,9 миллионов человек. Именно поэтому в концепции оценки биологического, а не календарного возраста человека, большое значение уделяется анализу состояния сердечно-сосудистой системы [93].

Таким образом, одной из важных «мишеней» старения является сердечно-сосудистая система человека, а заболевания сердечно-сосудистой системы – основная причина смертности во всем мире. Как было описано выше, ряд исследовательских работ демонстрирует, что такие возраст-ассоциированные заболевания сердечно-сосудистой системы, как артериальная гипертензия, стенокардия напряжения, инфаркт миокарда ассоциированы с нарушениями системы микроциркуляции крови, более того, нарушения микроциркуляции часто рассматриваются, как патогенетический фактор развития этих заболеваний [53, 58, 68, 114].

Кроме того, в литературе имеются данные, что старение само по себе приводит к возрастным изменениям микроциркуляции, в том числе кожной [43,

130, 178]. Однако, в большинстве подобных работ исследователи не акцентируются на подробном клиническом описании старших возрастных групп, что заставляет усомниться в однозначности вывода о том, что именно возраст сам по себе стал причиной изменений кожной микроциркуляции. Более того, в части исследований представленные фрагментарные клинические данные позволяют заключить, что группа пожилых людей значимо отличалась от молодых по заболеваниям сердечно-сосудистой системы, что ставит под сомнение умозаключения о преимущественно возрастных изменениях микроциркуляции у таких пациентов [43, 178]. Безусловно, возраст и возраст-ассоциированные заболевания сложно разделить, и непросто найти человека преклонного возраста, не страдающего от хронических заболеваний, в том числе от заболеваний сердечно-сосудистой системы, однако более глубокое понимание процессов патогенеза и характера возрастных изменений микроциркуляторного звена кровообращения необходимо для достижения «здорового старения».

В условиях нормального функционирования микроциркуляторной системы кожи не все сосуды перфузируются, такие «закрытые» сосуды являются резервом, который используется в стрессовых условиях. В состарившихся сосудах из-за нарушений в динамическом контроле кровотока доступ к «резервным» сосудам затруднен [112]. Патофизиологически этот процесс обусловлен несколькими механизмами. Вызванная ацетилхолином, эндотелий-зависимая вазодилатация снижается с возрастом, старение также связано с дефицитом эндотелиальной доступности оксида азота. Увеличение продукции активных форм кислорода оксидазами NADPH и митохондриями способствует дисфункции эндотелия [88, 91, 132]. Вазоконстрикция кожи в ответ на низкую температуру тела зависит от адренергической стимуляции норэпинефрином, которая нарушается при старении. Интересно, что, несмотря на ограничение в динамических реакциях, возрастные изменения приводят к хронической вазоконстрикции, опосредованной локальной активацией передачи сигналов Rho-kinase [176]. Старение сосудов характеризуется отложением веществ, приводящих к атеросклерозу. Также в состарившихся тканях

нарушается ангиогенез, что приводит к уменьшению количества и плотности кровеносных сосудов в большинстве органов, включая кожу [1, 52].

Таким образом, на сегодняшний день имеются данные об изменениях в системе микроциркуляции, которые происходят с возрастом, однако трудно однозначно вычленить вклад возраста и возраст-ассоциированных заболеваний в развитие данного феномена.

1.2.7. Заключение по разделу

Дисфункция микрососудистого русла может наступать как вследствие физиологических факторов, так и при патологических состояниях (особое значение имеют сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет). Причем установлено, что изменения в микроциркуляторном русле кожи происходят за много лет до первых симптомов заболеваний, обусловленных дисфункцией микроциркуляторного русла, а также они предшествуют аномалиям в более крупных артериях. Хотя нарушения микроциркуляции не являются специфичными для какого-либо заболевания, необходимость исследования микроциркуляторного русла пациентов важна в клинической практике. Сама по себе микроциркуляторная дисфункция может привести к серьезным осложнениями, необходима диагностика этого состояния на ранних стадиях для применения соответствующей терапии. Также в совокупности с клиническими симптомами и другими диагностическими мероприятиями исследование микроциркуляции может помочь врачам диагностировать заболевания, оценивать их динамику и эффективность лечения. Совершенствование методов исследования функционирования микроциркуляторного русла в норме и при патологиях представляет собой одно из важных направлений для теоретической и практической медицины.

1.3. Методы неинвазивной инструментальной оценки кожной микроциркуляции

Существует довольно большое число прямых и косвенных, инвазивных и неинвазивных методов исследования процессов микроциркуляции. Наиболее известные из них, применяемые в экспериментальных и клинических лабораториях, – томографические, радиоизотопные, фотометрические исследования, ангиография, биопсия, капилляроскопия, биомикроскопия, офтальмоскопия, полярография, реовазография, капиллярорезистометрия, термография и др. [59, 156, 188]. С начала 1990-х гг. во всем мире стали появляться новые неинвазивные оптические диагностические технологии, такие как пульсоксиметрия, фотоплетизмография и ЛДФ, которые также оказались весьма эффективными в диагностике изменений микроциркуляторного звена кровообращения [28].

К косвенным неинвазивным методам оценки микроциркуляции можно отнести методы и устройства оптической инфракрасной (ИК) термометрии. Эти методы и устройства используют оптическое ИК-излучение и физическое явление испускания ИК-излучения нагретыми телами для оценки температуры поверхности исследуемого органа, которая в большой степени (хотя и не полностью) коррелирует с параметрами кровоснабжения поверхностных тканей исследуемого органа [185]. Устройство для ИК-термометрии содержит ИК-видеокамеру, калиброванную по интенсивности принимаемого излучения в температуре (°C) обследуемой поверхности биоткани. Этот метод имеет существенные недостатки: он не является прямым методом измерений динамических параметров МЦК, а лишь косвенно, через температуру поверхности, позволяет оценивать параметры микрогемодинамики, поэтому обладает низкой точностью [21, 185]. Температура исследуемой поверхности может зависеть от температуры внешней среды, испарения влаги с поверхности ткани, а не только от микрогемодинамики. Функциональные нагрузочные тесты в движении также труднореализуемы в

данном случае: объект должен быть неподвижен в поле зрения ИК-видеокамеры, локальное поверхностное нагревание не применимо, и т.д. Описанный выше метод не позволяет оценивать динамические параметры микроциркуляции, так как он не пересчитывает значения измеренной температуры в показатель перфузии тканей кровью. Результатом измерений служит температура поверхности [176].

К прямым неинвазивным методам оценки микрокровотока относится капилляроскопия. Цифровая компьютерная капилляроскопия представляет собой метод визуализации микрососудов с применением оптической техники, дающий возможность проводить неинвазивную оценку и морфологический анализ состояния поверхности капиллярной сети. Приборы для видеокапилляроскопии содержат видеокамеру с микрообъективом, что позволяет получать увеличенное в сотни раз изображение капилляров ногтевого ложа, и систему неподвижной фиксации пальца руки под микрообъективом. Это прямой, поэтому весьма точный метод оценки параметров микроциркуляции. С помощью устройства для видеокапилляроскопии получают видеоизображение движения форменных элементов крови по капиллярным петлям ногтевого ложа, передают его в компьютер и рассчитывают поток и скорость тока крови через капилляры, диаметр капилляров, их размеры, плотность, количество агрегатов форменных элементов крови в единицу времени и т.д. [156].

Метод также не лишен недостатков, ограничивающих его применение: поток крови оценивается только в капиллярах без учета других звеньев микроциркуляторного русла (артериол, венул и пр.); поток крови оценивается только в ногтевом ложе, при этом другие органы и ткани мало доступны данному методу; палец испытуемого во время исследований должен находиться неподвижно под микрообъективом, что исключает возможность проведения функциональных нагрузочных тестов в движении [115, 159].

1.4. Оценка кожной микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии

Метод ЛДФ основан на регистрации доплеровского сдвига частоты оптического излучения на движущихся форменных элементах крови при зондировании поверхности биоткани *in vivo* низкоинтенсивным лазерным излучением [96, 171]. Свет эффективно проникает в ткани неглубоко, на несколько миллиметров (только с такой глубины можно собрать достаточный для детектирования обратно рассеянный сигнал), поэтому объектом исследования являются мелкие поверхностные сосуды (рисунок 1).

В методе ЛДФ оценивается не сам доплеровский сдвиг частоты или скорость кровотока в сосудах, а некий интегральный параметр – индекс перфузии тканей кровью (*perfusion index*) или просто перфузия (*perfusion*) [63]. Он пропорционален скорости движения эритроцитов и количеству эритроцитов (основных рассеивателей света) в зоне обследования.

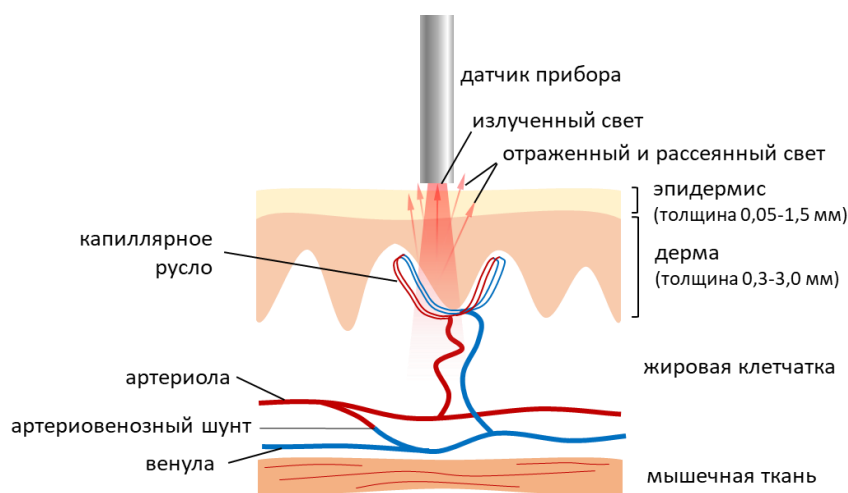


Рисунок 1 – Схема регистрации кожной перфузии методом лазерной доплеровской флоуметрии

Самым простым способом исследования кровотока с помощью ЛДФ является регистрация базовой перфузии [124]. Уровень перфузии регистрируется прибором

в режиме «реального времени», после чего формируется график временной зависимости перфузии – ЛДФ-грамма. Пример ЛДФ-граммы приведен на рисунке (рисунок 2). Рутинный анализ ЛДФ-граммы заключается в расчете среднего значения, среднеквадратического отклонения и коэффициента вариации перфузии за определенный период времени [153].

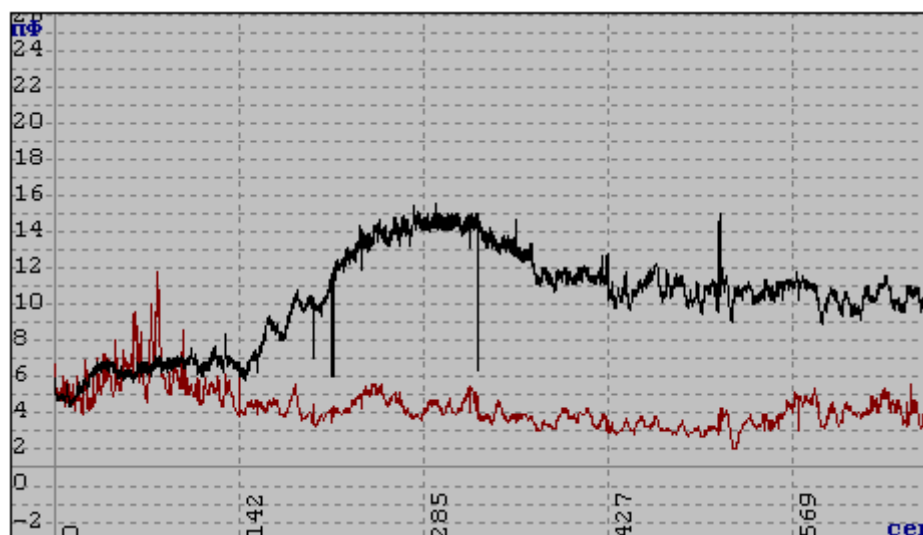


Рисунок 2 – Пример ЛДФ-граммы, выдаваемой программным обеспечением комплекса ЛАКК-02

Наряду с измерением базового уровня перфузии для изучения кожной микроциркуляции крови с помощью ЛДФ применяются различные функциональные пробы. Они позволяют повысить информативность исследования за счет оценки дополнительного вовлечения регуляторных механизмов посредством внешних стимулов.

1.4.1. Функциональные пробы, применяемые для оценки микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии

Одной из самых часто используемых функциональных проб является окклюзионная проба [18, 22, 167]. Смысл пробы заключается в оценке пост-

окклюзионной реактивной гиперемии (post-occlusive reactive hyperemia, PORH) – вазодилатации, вызываемой кратковременным пережатием кровотока в конечности. В развитие PORH принимает участие множество медиаторов. Частично, эффект PORH обусловлен вовлечением сенсорных нервов и аксональным рефлекторным ответом [120]. Среди локальных медиаторов важную роль играют механически-активируемые КСа каналы большой проводимости (BKCa) (миогенный ответ), эндотелий-зависимый деполярирующий фактор (EDHF), NO и простагландины (в частности, PGI₂) [166]. При этом степень вклада каждого из факторов является предметом для дальнейшего изучения [159].

Проба проводится путем временной окклюзии кровотока (с помощью нагнетания давления в манжете сфигмоманометра до супрасистолических значений) на верхней или нижней конечности с последующей регистрацией постокклюзионной реактивной гиперемии. Длительность окклюзии может составлять от 30 секунд до 5 минут. Величина нагнетаемого давления варьирует от уровня на 40 мм рт.ст. выше систолического до фиксированных значений в 300 мм рт.ст. [143, 159, 187].

Способы обработки результатов также могут различаться – исследователи анализируют базальную перфузию, пиковую перфузию, абсолютные и относительные значения различий между базальной и пиковой перфузией, рассчитывают площадь под графиком (AUC) и др. [74, 155, 186]. Несмотря на большое количество работ с применением данной пробы, сопоставление результатов исследований затруднено из-за отсутствия стандартизации измерений: как уже было сказано выше, длительность и интенсивность окклюзии, способы интерпретации результатов варьируют от исследования к исследованию.

Другой пробой, часто используемой для оценки микроциркуляции, является проба с локальным нагреванием. В зависимости от алгоритма длительность локального нагрева варьирует от 3 до 120 минут и более, конечная температура может изменяться от 35 до 45°C [159]. В месте аппликации нагрева развивается вазодилататорная реакция – локальная тепловая гиперемия (ЛТГ). У здоровых

обследуемых ЛТН состоит из двух фаз: начальный пик гиперемии и фаза плато [72]. Начальный пик в основном обусловлен нервной регуляцией кровотока, фаза плато, в свою очередь зависит от эндотелиальных механизмов, включающих NO и EDHF [65]. При этом при различных режимах нагрева вклад каждого из этих факторов различается, при быстром нагревании вклад NO усиливается [142]. Кроме того, механизм развития ЛТГ зависит от локализации измерения. Было показано, что на волосистой коже в развитии вазодилаторной реакции на нагрев выше 39°C активное участие принимают немиелинизированные ноцицептивные С-волокна, в то время как на коже без волосяного покрова аксональный рефлекс обусловлен сенсорными афферентами, а не ноцицептивными [75].

По результатам проведения температурной пробы исследователи, как правило, оценивают перфузию в момент начального пика и на фазе плато, анализируют площадь под графиком. Тот факт, что вклад нейрональных и местных факторов в механизм развития ЛТГ сильно зависит от конечной температуры, скорости и локализации нагрева, делает пробу крайне перспективным инструментом для изучения регуляции микроциркуляции при патологических состояниях, однако затрудняет сопоставление результатов различных исследований из-за большого количества вариантов проведения пробы.

Для изучения эндотелий-зависимой/независимой вазодилатации информативным тестом являются фармакологических пробы. Как правило, эти пробы проводят с использованием ионофореза, в качестве фармакологических агентов применяют ацетилхолин, нитропруссид натрия и др. [89]. При использовании фармакологических проб на результат измерений влияют факторы, определяющие эффективность ионофореза: длительность процедуры, рН раствора и его концентрация, свойства растворителя, толщина кожных покровов, их электрическая сопротивляемость, плотность расположения сальных, потовых желез и интенсивность их активности, а также ряд других параметров [86].

Важным будет отметить, что развитие методов неинвазивной оценки состояния микроциркуляции не остановилось на создании ЛДФ. В последние

десятилетия активно развиваются визуализирующие методы оценки визуализации – Laser Doppler Imaging (LDI) и Laser Speckle Contrast Imaging (LSCI) [61]. Несмотря на возможности визуализирующих методов количественно оценивать кровотоки по площади, а не в одной точке, они имеют ряд существенных ограничений. Регистрация одного изображения методом LDI в хорошем разрешении требует времени, исчисляемого минутами, что не позволяет регистрировать микроциркуляцию в режиме «реального времени» [72]. Кроме того, необходимость оставлять оцениваемый участок открытым для оптического измерения и большая подверженность этих методов артефактам от движений существенно ограничивает возможность проведения функциональных проб [159].

Такие преимущества ЛДФ как относительно низкая стоимость (по сравнению с LDI и LSCI), неинвазивность, возможность количественной оценки состояния микроциркуляторной сети в режиме реального времени, возможность использования широкого спектра функциональных проб для оценки различных регуляторных механизмов, сделали этот метод одним из самых распространенных способов оценки микроциркуляции [72].

1.5. Заключение по главе

Многими исследователями ЛДФ позиционируется как метод оценки кожной микроциркуляции, являющейся маркером поражения микроциркуляции во всем организме. У пациентов с различными патологиями, вызывающими поражение микроциркуляторного русла, неоднократно показано существование статистически значимых отличий от нормального состояния по параметрам, характеризующим те или иные особенности микроциркуляции. При этом статистически значимые различия не всегда обуславливают высокую чувствительность и специфичность метода, следовательно, не всегда могут быть применимы для оценки состояния микроциркуляции у конкретного пациента, персонализированно.

Проблемы, влияющие на величину различий между группами и вариабельность данных и не позволяющие методу ЛДФ получить распространение в клинической практике, можно разделить на три уровня: 1. Метрологический уровень: отсутствие стандартизации методики регистрации сигнала приборами, использования определенных фильтров, плохая воспроизводимость с большой погрешностью приборов при измерении [18]. 2. Физиологический уровень: большой индивидуальный разброс, зависимость от пола [1, 66], возраста [8, 48], этнических различий [85], времени суток или года [109], приёма пищи [109], кофеин-содержащих напитков [173], активности и психоэмоционального состояния [181]. 3. Методологический уровень: отсутствие стандартизации методик проведения проб (интенсивность и длительность стимулов), отсутствие стандартных способов интерпретации результатов измерений и расчета диагностических индексов [18].

Для того, чтобы добиться 95% чувствительности и специфичности, величина различий между группами должна превышать 3,28 стандартных отклонения. Данная работа посвящена решению данной проблемы на методологическом уровне путем использования новых алгоритмов проведения функциональных проб и дополнительных способов математической обработки данных с целью снижения вариабельности измерений и увеличения различий между группами.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Моделирование распределений

С целью разработки критерия для изучения применимости ЛДФ в персонализированной оценке состояния микроциркуляторного русла с помощью приложения Excel 2019 (Microsoft corp., USA) в рамках настоящего исследования была создана программа (программа №1) для оценки диагностической информативности количественных параметров в генеральной совокупности на основании средних арифметических значений и стандартных отклонений количественного параметра (рисунок 3).

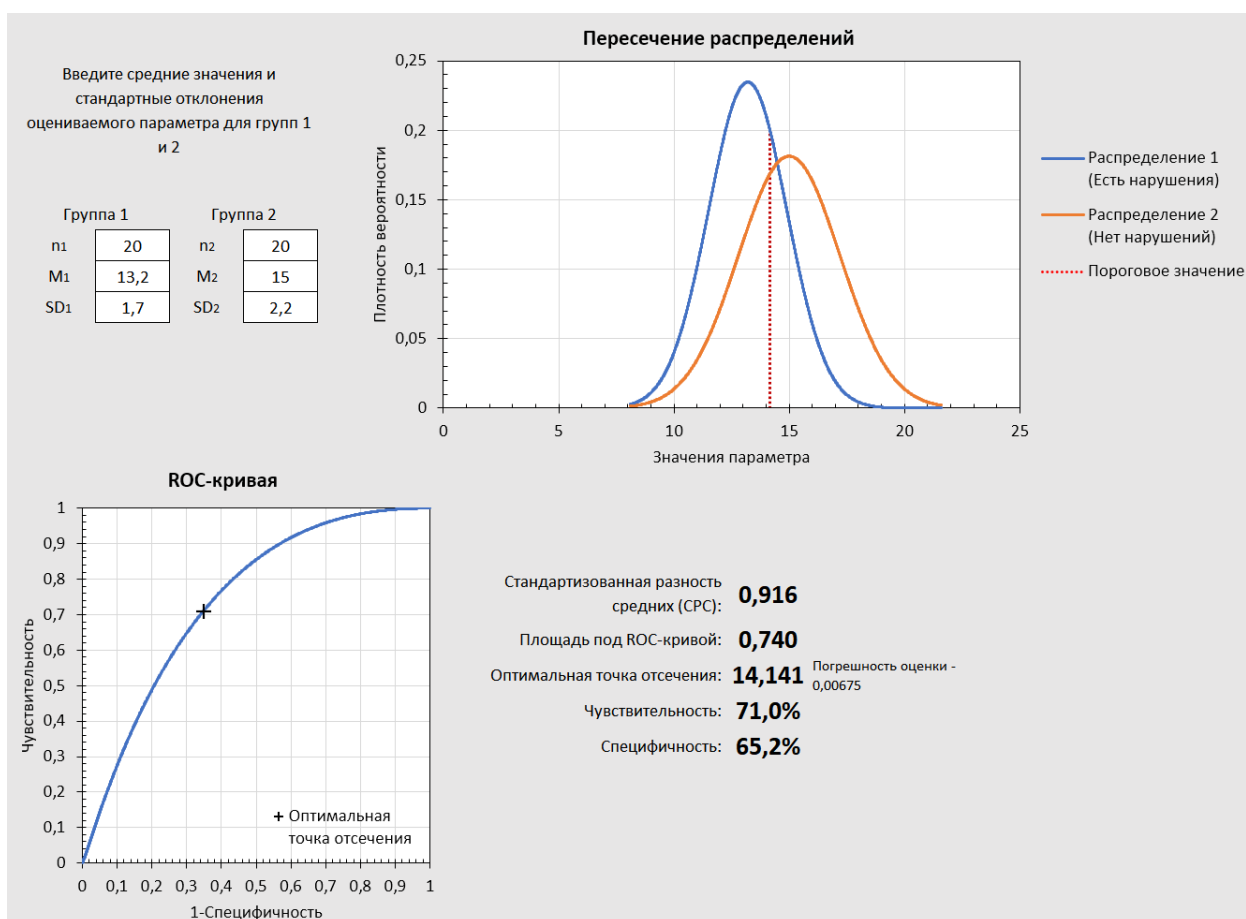


Рисунок 3 – Интерфейс программы №1 для расчёта ожидаемой площади под ROC-кривой, значений чувствительности и специфичности в зависимости от средних арифметических значений и стандартных отклонений

Для моделирования ожидаемых в генеральной совокупности эффектов пользовались функцией плотности вероятности (формула 1) и кумулятивной функцией нормального распределения (формула 2):

$$f(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (1)$$

$$\Phi(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^x e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{t-\mu}{\sigma}\right)^2} dt \quad (2)$$

где x – значение переменной, для которой строится функция распределения (то есть параметр, для которого проводится оценка диагностической информативности);

μ – математическое ожидание (среднее арифметическое значение);

σ – среднеквадратическое отклонение.

Формулы (1) и (2) были реализованы в Excel с помощью функций «=НОРМ.РАСП(В2, С7, С8, ЛОЖЬ)» и «=НОРМ.РАСП(В2, С7, С8, ИСТИНА)», где В2 – ссылка на ячейку, содержащую значение переменной для которой строится функция распределения, С7 – ссылка на ячейку, содержащую среднее арифметическое значение, С8 – ссылка на ячейку, содержащую среднеквадратическое отклонение. ЛОЖЬ и ИСТИНА – это аргументы, задающие вид функции распределения. ЛОЖЬ соответствует весовой функции распределения (функция плотности вероятности), а ИСТИНА – кумулятивной функции распределения.

Для оценки диагностической информативности параметра в программу вносили значения $n_1, M_1, SD_1, n_2, M_2, SD_2$, где $n_{1,2}$ – количество наблюдений, $M_{1,2}$ – среднее арифметическое значение, $SD_{1,2}$ – стандартное отклонение в группах 1 и 2, соответственно. Диагностическую значимость оценивали для возможности «выявлять» пациентов из группы 1.

В программе с помощью формулы (1) строили два графика нормального распределения (для групп 1 и 2). Графики строили в диапазоне от МИН($M_1 - 3*SD_1; M_2 - 3*SD_2$) до МАКС($M_1 + 3*SD_1; M_2 + 3*SD_2$), равномерно

разбитом на 2000 равных интервалов. Для каждого из 2001 значений x (необходимых для разбиения на 2000 интервалов) с помощью формулы (2) для построения ROC-кривой оценивали значения чувствительности и 1 – специфичности, при этом чувствительность вычисляли как $\Phi(x, M_1, SD_1)$ (кумулятивная доля верно диагностированных наблюдений из группы 1), а 1 – специфичность вычисляли как $\Phi(x, M_2, SD_2)$ (кумулятивная доля пациентов из группы 2, ошибочно отнесённых к группе 1). Для полученного графика с помощью интегрирования методом прямоугольников рассчитывали площадь под ROC-кривой (AUC).

Для оценки оптимального значения x , выступающего в качестве порога, для каждого значения x вычисляли минимальное расстояние до точки ROC-кривой (d) с координатами (0; 1), соответствующей 100% чувствительности (Se) и специфичности (Sp). Данное расстояние определяли с помощью формулы (формула 3).

$$d = \sqrt{(1 - Se)^2 + (1 - Sp)^2} \quad (3)$$

Эта формула была реализована в программе Excel с помощью выражения «=КОРЕНЬ((1-E2)^2+F2^2)» (где E2 – ячейка, содержащая значение чувствительности, а F2 – ячейка, содержащая значение «1–специфичность») для каждого из 2001 значений x , после чего с помощью функции «=МИН(H2:H2002)» выбирали минимальное d и находили значение x , соответствующее ему. Для данного порогового значения x в программе также приводится расчётное значение чувствительности и специфичности.

Стандартизованную разность средних (CPC) (известную также как коэффициент d Кохена – Cohen's d) [43] рассчитывали по формуле (4):

$$CPC = \frac{M_2 - M_1}{SD_{pooled}} \quad (4)$$

В формуле (5) $M_{1,2}$ – средние арифметические значения оцениваемого параметра в группах 1 и 2 соответственно, а SD_{pooled} – взвешенное стандартное отклонение, вычисляемое по формуле (5):

$$SD_{pooled} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)SD_1^2 + (n_2 - 1)SD_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (5)$$

Также для анализа соответствия значений CPC и диагностических характеристик была создана вторая версия программы (программа №2) (рисунок 4), позволяющая оценить значения AUC, чувствительности и специфичности на основании CPC и соотношения стандартных отклонений в группах.

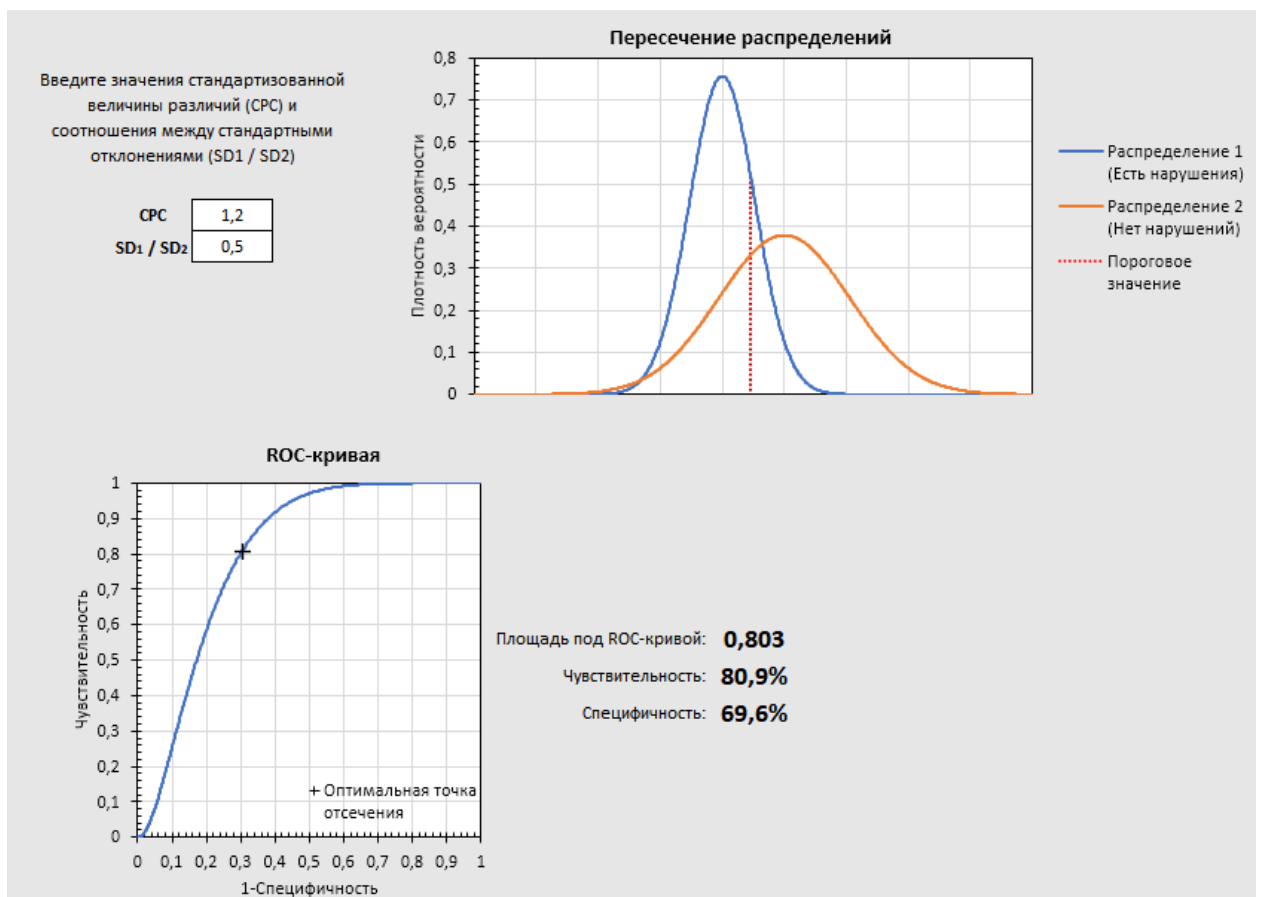


Рисунок 4 – Интерфейс программы №2 для расчёта ожидаемой площади под ROC-кривой, значений чувствительности и специфичности в зависимости от показателя CPC и соотношения стандартных отклонений

Моделирование проводится для двух групп со значениями M_1 и M_2 , равными 0 и 1, соответственно. Значение SD_{pooled} вычисляется из задаваемого пользователем значения CPC по формуле (6):

$$SD_{pooled} = \frac{1}{CPC} \quad (6)$$

Из полученного SD_{pooled} исходя из заданного пользователем отношения SD_1/SD_2 (k) с допущением, что $n_1=n_2$ вычисляются значения SD_2 и SD_1 по формулам (7) и (8), соответственно:

$$SD_2 = \frac{SD_{pooled}}{\sqrt{\frac{1+k^2}{2}}} \quad (7)$$

$$SD_1 = k * SD_2 \quad (8)$$

Далее для $M_1=0$, $M_2=1$ и SD_1 , SD_2 , вычисленным по формулам (8) и (7), по алгоритму, описанному выше для первой версии программы, проводили оценку диагностической информативности для введённых значений CPC.

Моделирование распределений в программах №1 и №2 было использовано для обоснования критерия применимости ЛДФ в персонализированной оценке состояния микроциркуляции.

2.2. Характеристика обследуемых

Всего в исследование было включено 248 человек, разделённых на три группы. В группу 1 было включено 105 условно здоровых добровольцев без микроциркуляторных нарушений. Критерии включения в группу 1: возраст менее 35 лет, отсутствие СД, отсутствие АГ, отсутствие ИБС.

В группу 2 было включено 106 пациентов с клиническими признаками имеющих нарушения микроциркуляции – стаж СД 1 или 2 типа более 5 лет, гликированный гемоглобин (HbA1c, %) более 7 %, наличие осложнений СД (ретинопатия, нефропатия, нейропатия). В группу 3 вошёл 37 пациент без СД и с

заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Критерии включения: возраст более 35 лет, наличие диагностированной ИБС и/или АГ, отсутствие СД. Характеристика групп приведена в таблице (таблица 1).

Критерии исключения были общими для всех групп обследуемых: беременность, наличие мерцательной аритмии, наличие острых вирусных инфекций (ОРВИ, грипп и т.д.), наличие заболеваний крови (тромбоцитопения, анемия средней и тяжелой степени и т.д.), тромбозы сосудов в анамнезе или высокий риск тромбозов, наличие лихорадки, наличие состояний, не позволяющих пациенту самостоятельно добраться до места исследования и пройти исследование - декомпенсированные хронические заболевания, тяжёлое состояние, психические заболевания и т.п.

Таблица 1. – Характеристика групп пациентов, включённых в исследование

	Группа 1 (n=105)	Группа 2 (n=106)	Группа 3 (n=37)
Пол, Ж, n (%) / М, n (%)	68 (64,8%) / 37 (35,2%)	65 (61,3%) / 41 (38,7%)	18 (48,6%) / 19 (51,4%)
Возраст, лет, М ± SD	26,5 ± 5,7	47,7 ± 14,8	61,9 ± 10,3
ИМТ, кг/м ² , М ± SD	21,3 ± 4,0	29,0 ± 6,4	28,1 ± 4,2
Холестерин, М ± SD	4,38 ± 0,48	5,7 ± 1,51	5,89±1,16
НbA1c, %, М ± SD	-	8,9 ± 1,8	5,2±0,2
Артериальная гипертензия, n (%)	-	85 (80,2%)	35 (94,6%)
Стенокардия напряжения, n (%)	-	40 (37,7%)	23 (62,2%)
Наличие диабетической ретинопатии, n (%)	-	104 (98,1%)	-
Наличие диабетической нефропатии, n (%)	-	23 (21,7%)	-
Наличие диабетической полинейропатии, n (%)	-	92 (86,8%)	-

Соответствие обследуемых критериям включения и невключения устанавливалось по результатам лабораторного и клинического обследования: сбор анамнеза, биохимический анализ крови (глюкоза в венозной крови, гликированный гемоглобин, общий холестерин, креатинин в венозной крови и др.), осмотр офтальмолога (офтальмоскопия), осмотр невролога (с оценкой вибрационной, тактильной, болевой чувствительности).

2.3. Исследование кожной микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии

Исследование кожной микроциркуляции крови было проведено с помощью лазерного анализатора кровотока ЛАКК-02 (ООО «НПП ЛАЗМА») № гос.рег. 29/03020703/5555-03 и модуля ЛАКК-тест.

Все измерения проводили после 15-минутного периода адаптации к температурным условиям помещения. Обследуемых просили воздержаться от употребления кофеин-содержащих напитков за 2 часа до исследования и отказаться от курения за 3 часа перед проведением измерений.

Фиксацию датчиков прибора к коже проводили с помощью пластыря из текстильной ткани с клеем на основе синтетического каучука.

2.3.1. Алгоритм проведения холодových проб

При проведении холодной пробы обследуемый занимал положение сидя, руки в горизонтальном положении располагал на столе. Датчик прибора с помощью лейкопластыря фиксировали к тыльной поверхности предплечья (волосистая кожа).

Схема проведения пробы представлена на рисунке (рисунок 5). В течение 120 секунд регистрировали базовый уровень перфузии, после чего обследуемый погружал кисть руки в воду температурой 4 °С на 120 секунд. После этого

обследуемый возвращал руку в исходное положение и в течение 120 секунд регистрировали период восстановления.

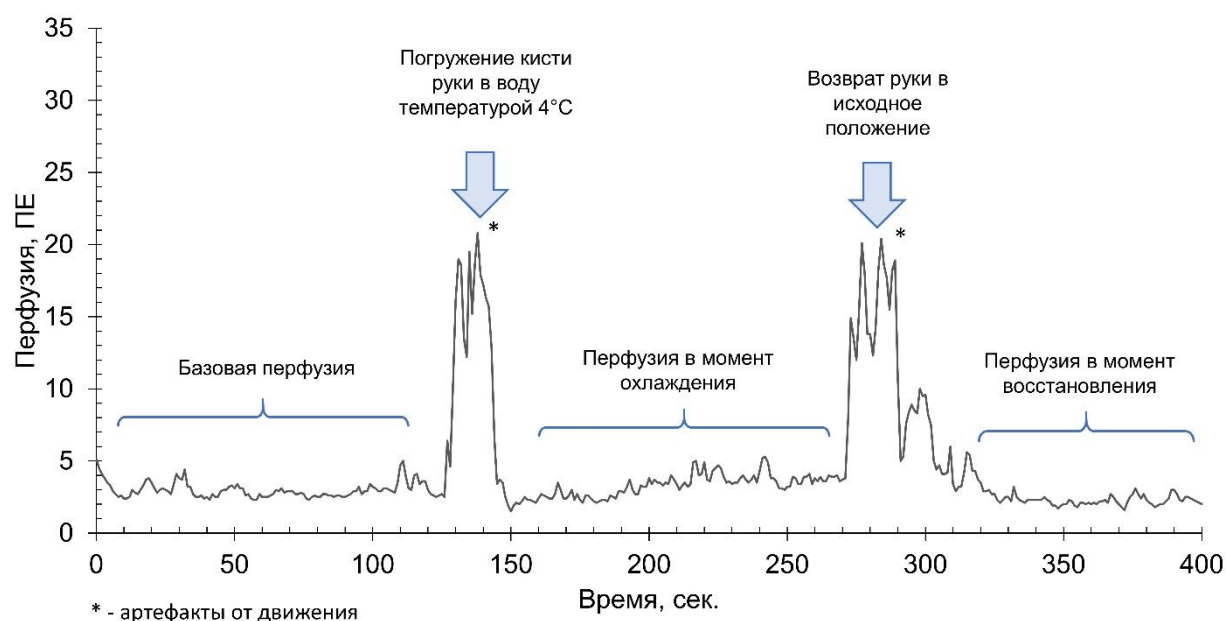


Рисунок 5 – Схема проведения холодных проб

Анализировали базовый уровень перфузии, уровень перфузии в момент охлаждения, перфузию в момент восстановления и относительный прирост перфузии в момент восстановления.

2.3.2. Алгоритм проведения окклюзионных проб

При проведении окклюзионной пробы обследуемый занимал положение сидя, руки в горизонтальном положении располагал на столе. Датчик прибора с помощью лейкопластыря фиксировали к тыльной поверхности предплечья (волосистая кожа). На плечо руки накладывали манжету тонометра для измерения артериального давления.

Схема проведения пробы представлена на рисунке (рисунок 6). Базовый уровень перфузии регистрировали в течение 120 секунд, после чего проводили окклюзионную пробу с помощью пережатия плечевой артерии нагнетанием

давления в манжете сфигмоманометра на 50 мм.рт.ст. выше уровня систолического артериального давления у пациента на 120 секунд. После снятия давления регистрировали период постокклюзионной реактивной гиперемии (ПОРГ).

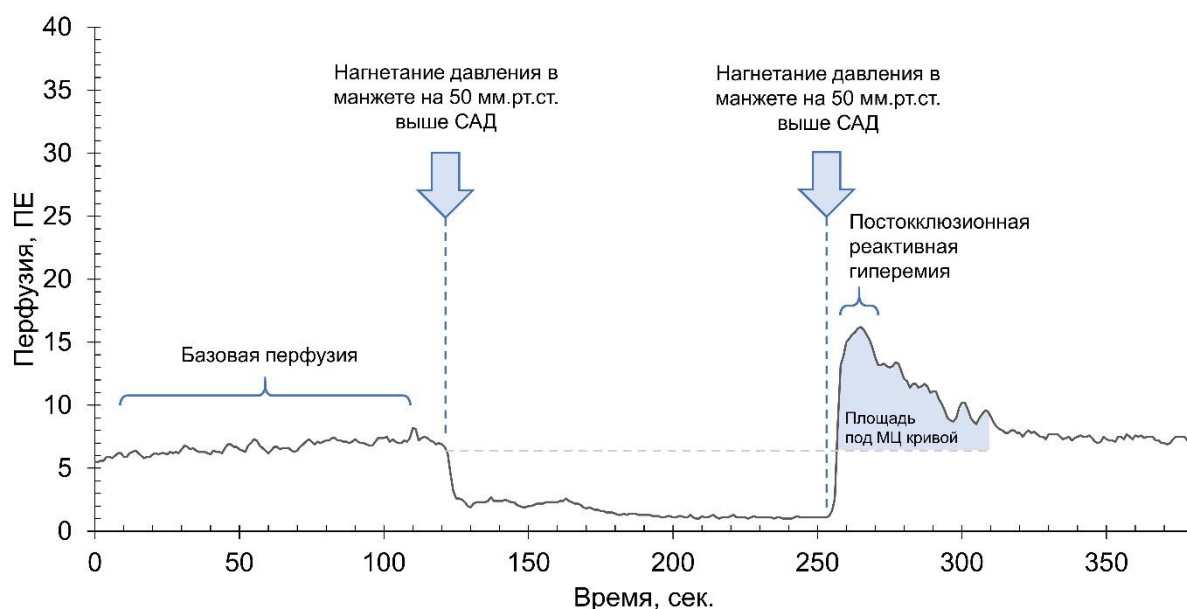


Рисунок 6 – Схема проведения окклюзионных проб

По результатам выполнения пробы анализировали базовый уровень перфузии, перфузию в момент ПОРГ, прирост перфузии в момент ПОРГ и площадь под пиком ПОРГ за 1 минуту после снятия окклюзии.

2.3.3. Алгоритм проведения постуральных проб

Постуральные пробы проводили как на верхних, так и на нижних конечностях. Схема проведения проб представлена на рисунке (рисунок 7). При проведении постуральной пробы на руке датчик фиксировали на тыльной поверхности кисти. Регистрировали базовый уровень перфузии, после чего обследуемый, находясь в положении «сидя», опускал руки вдоль туловища на 120 секунд. При проведении постуральной пробы на тыле стопы, обследуемый после регистрации в течение 120 секунд показателя базовой перфузии из положения

«лёжа» переходил в положение «сидя» на 120 секунд с опусканием нижних конечностей на пол.

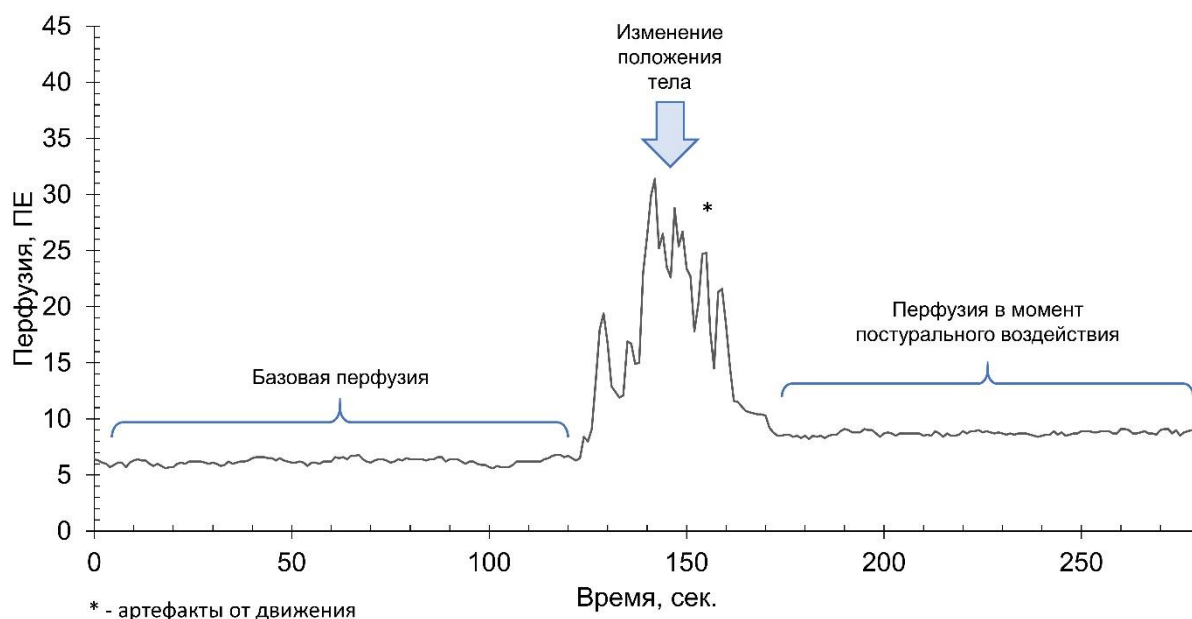


Рисунок 7 – Схема проведения постуральных проб

При постурально-тепловых пробах анализировали базовую перфузию, перфузию в момент постурального воздействия и прирост перфузии в момент постурального воздействия.

2.3.4. Алгоритм проведения тепловых проб

При проведении тепловых проб сравнивали скорости нагрева $4^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ ($\sim 0,67^{\circ}\text{C}/\text{сек}$) и $\sim 1,5\text{-}2^{\circ}\text{C}/\text{сек}$. Схемы проведения проб представлены на рисунках (рисунки 8 и 9, соответственно).

Обследуемый занимал положение сидя, руки в горизонтальном положении располагал на столе. Датчик прибора и нагревательный элемент модуля ЛАКК-ТЕСТ с помощью лейкопластыря фиксировали к тыльной поверхности предплечья (волосистая кожа). В течение 120 секунд регистрировали базовый уровень

перфузии, после чего включали нагревание с заданной скоростью нагрева и регистрировали перфузию в течение 300 секунд.

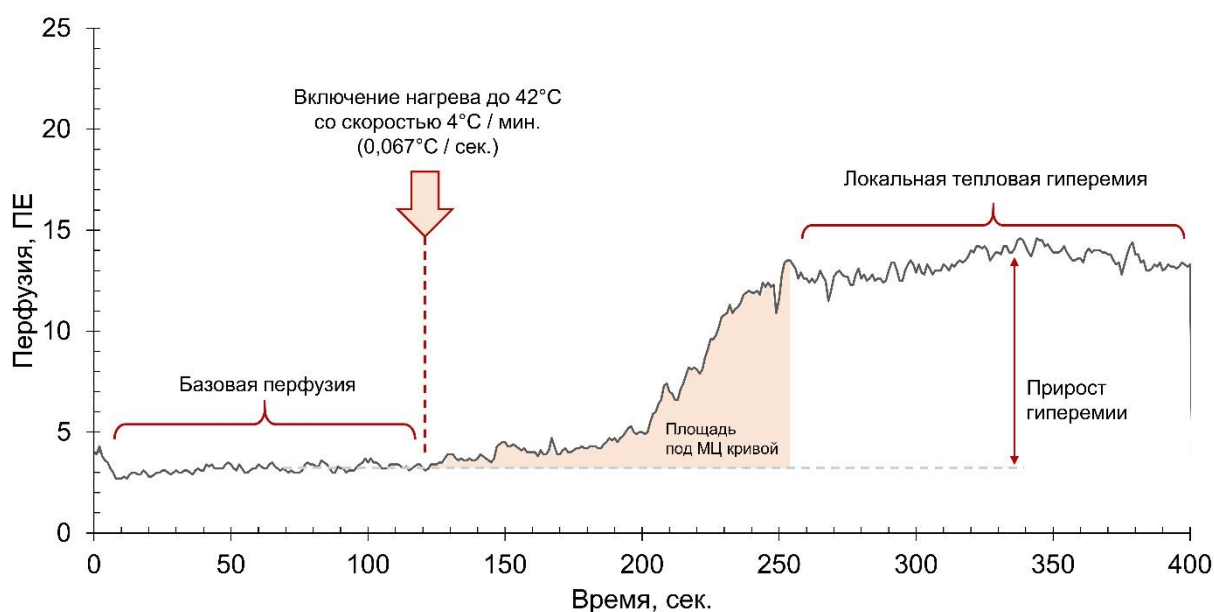


Рисунок 8 – Схема проведения тепловых проб с медленным нагревом

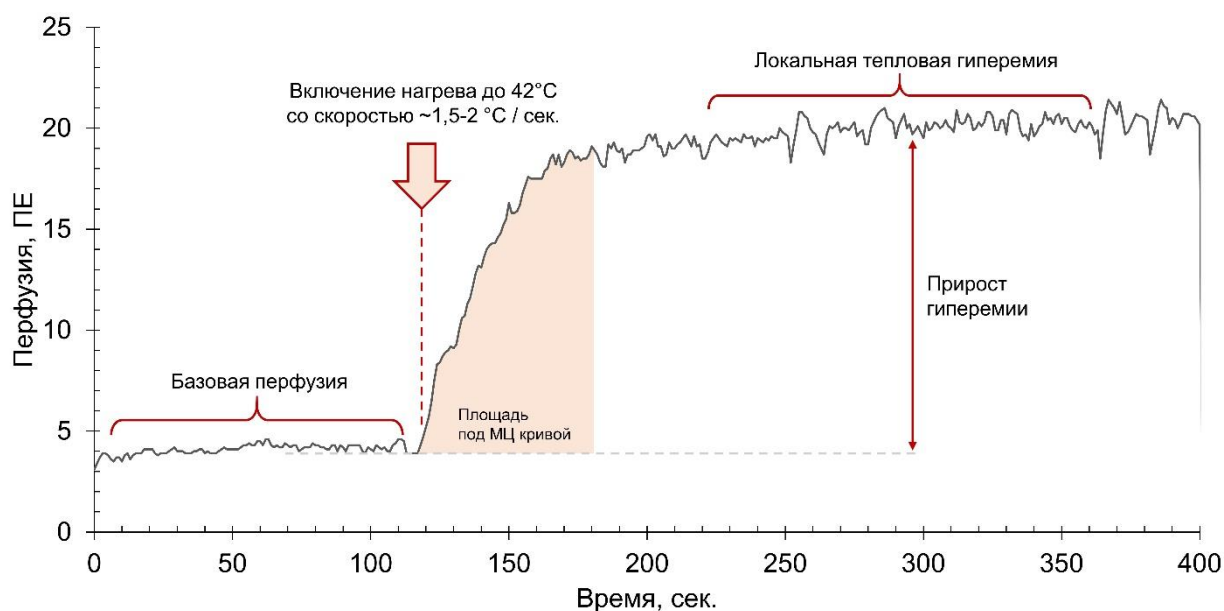


Рисунок 9 – Схема проведения тепловых проб с быстрым нагревом

Анализировали базовый уровень перфузии, перфузию в момент локальной тепловой гиперемии, относительный прирост перфузии, площадь под

микроциркуляторной кривой за 1, 2, 3, 4 минуты нагрева, наклон микроциркуляторной кривой за 1, 2, 3, 4 минуты нагрева.

2.3.5. Алгоритм проведения постурально-тепловых проб

При комбинации тепловых воздействий с постуральными и окклюзионными нагрев включали за 180 секунд до проведения постурального или окклюзионного воздействия. Для всех изученных вариантов проб в течение 120 секунд регистрировали базовый уровень перфузии, после чего осуществляли функциональное воздействие. Период восстановления после функционального воздействия регистрировали в течение 180 секунд. Схема проведения пробы представлена на рисунке (рисунок 10Рисунок 10).

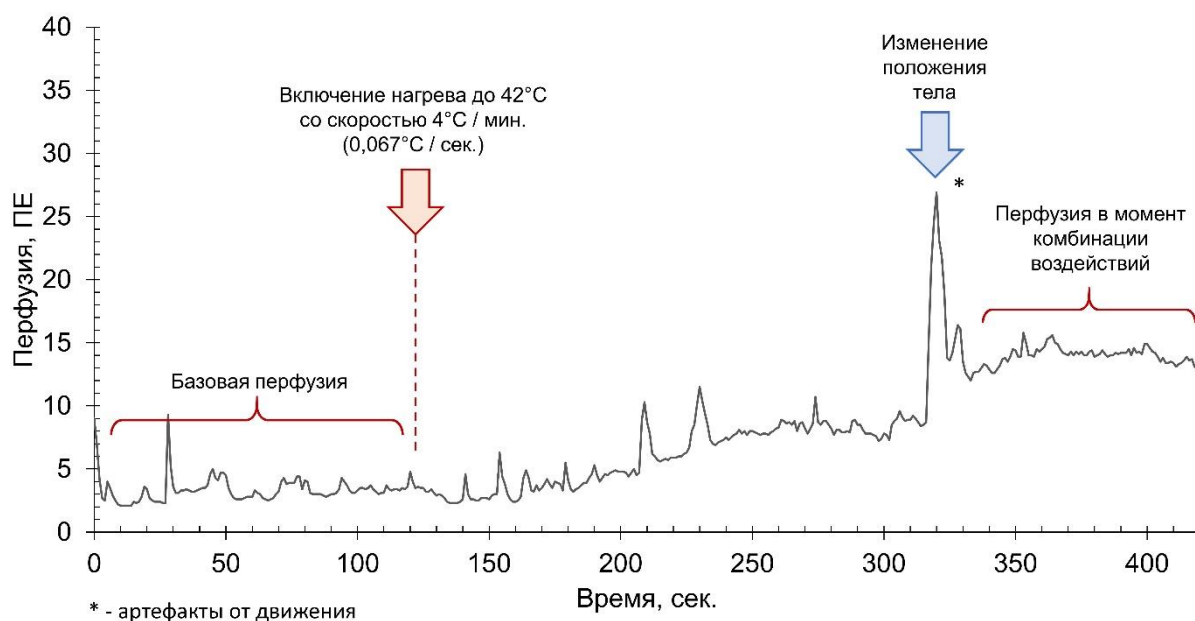


Рисунок 10 – Схема проведения постурально-тепловых проб

2.3.6. Алгоритм проведения окклюзионно-тепловых проб

Дополнительно на данном этапе проводили исследование индивидуальной вариабельности параметров, характеризующих состояние микроциркуляторного

русла, с помощью проведения серии из 17 ежедневных измерений микроциркуляции на одном обследуемом из 1 группы.

На втором этапе исследования изучали возможность применения разработанных алгоритмов регистрации и расчёта параметров микроциркуляции для выявления микроциркуляторных нарушений как связанных с сахарным диабетом (группа 2), так и не связанных с ним (группа 3). Оценивали возможности применения разработанных методик в персонализированной оценке состояния микроциркуляции. Схема проведения пробы представлена на рисунке (рисунок 11).

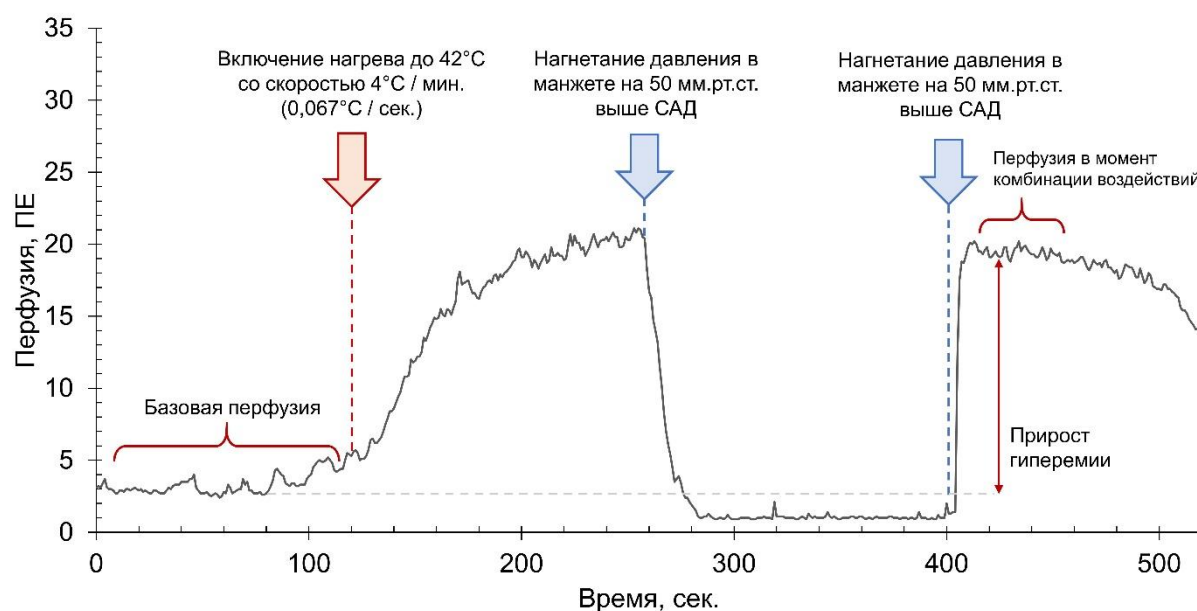


Рисунок 11 – Схема проведения окклюзионно-тепловых проб

2.4. Обработка ЛДФ-грамм

Показатели микроциркуляции регистрировали в перфузионных единицах (п.е.) с помощью управляющей программы «LDF 2.20.0.507WL», после чего полученные ЛДФ-граммы частотой 20 Гц в формате *.lkk экспортировали в программу Excel 2019 (Microsoft Corp.). В программе Excel 2019 для всех полученных ЛДФ-грамм рассчитывали средние арифметические значения базового уровня перфузии, перфузии в момент проведения функциональных воздействий

(одного или нескольких), а также перфузии в момент восстановления. После этого проводили расчёт дополнительных параметров, характеризующих ЛДФ-грамму: относительный прирост перфузии, площадь под микроциркуляторной кривой (интегрирование методом прямоугольников), наклон микроциркуляторной кривой (оценка наклона линии регрессии с помощью функции «НАКЛОН(»)).

2.5. Статистический анализ данных

Статистический анализ полученных данных был проведён в программах IBM SPSS Statistics v25 (IBM Corp.) и Excel 2019 (Microsoft Corp.). Для количественных переменных рассчитывали средние арифметические значения и стандартные отклонения ($M \pm SD$), медианы и квартили ($Me [LQ; UQ]$).

Сравнение количественных переменных в двух группах проводили с помощью критерия Манна-Уитни, в трёх – с помощью критерия Краскала-Уоллиса. Апостериорные сравнения проводили с помощью критерия Данна с поправкой Бонферрони. Чувствительность и специфичность параметров микроциркуляции рассчитывали с помощью ROC-анализа.

Стандартизованную разность средних (CPC) рассчитывали по формуле (4):

$$CPC = \frac{M_2 - M_1}{SD_{pooled}} \quad (4)$$

Где SD_{pooled} – это взвешенное стандартное отклонение, рассчитываемое по формуле (5):

$$SD_{pooled} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)SD_1^2 + (n_2 - 1)SD_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (5)$$

95% доверительный интервал для CPC рассчитывали по формуле (9):

$$ДИ = CPC \pm 1,96 \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2} + \frac{CPC^2}{2(n_1 + n_2)}} \quad (9)$$

Критический уровень вероятности ошибки первого рода (α) был установлен равным 0,05: нулевые гипотезы отвергали при значениях $p < 0,05$. Построение графиков «Box and Whiskers» проводили в программе Statistica 12 (StatSoft Inc.).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Критерии для изучения применимости лазерной доплеровской флоуметрии в персонализированной оценке состояния микроциркуляторного русла

Для анализа диагностических возможностей количественных параметров в биомедицинских исследованиях наиболее часто используемым методом является ROC-анализ [47, 141]. При этом анализе строится ROC-кривая, характеризующая частоты истинно положительных (чувствительность) и ложно положительных (1-специфичность) результатов для различных градаций количественных признаков, после чего рассчитывается площадь под ROC-кривой (AUC – Area Under the Curve). Значения AUC ниже 0,5 интерпретируют как отсутствие диагностической информативности, от 0,5 до 0,7 – как слабую диагностическую информативность, от 0,7 до 0,8 – как умеренную, от 0,8 до 0,9 – как хорошую, от 0,9 до 1 – как отличную [104].

При этом в большинстве публикаций, посвященных применению метода ЛДФ в изучении микроциркуляторных нарушений, данный анализ не проводится, что не позволяет оценить применимость описываемых методик в персонализированных исследованиях состояния микроциркуляции. При отсутствии первичных данных читатель лишён возможности простой оценки диагностической информативности метода.

В настоящей работе был разработан подход, позволяющий оценить диагностическую информативность метода в подобных исследованиях. Площадь под ROC-кривой зависит от перекрытия распределений выборок, для которых она рассчитывается (рисунок 12). Известно, что для уменьшения области ошибочной классификации и повышения диагностических характеристик теста необходимо применение методик, повышающих величину различий между группами и снижающих дисперсию анализируемых параметров.

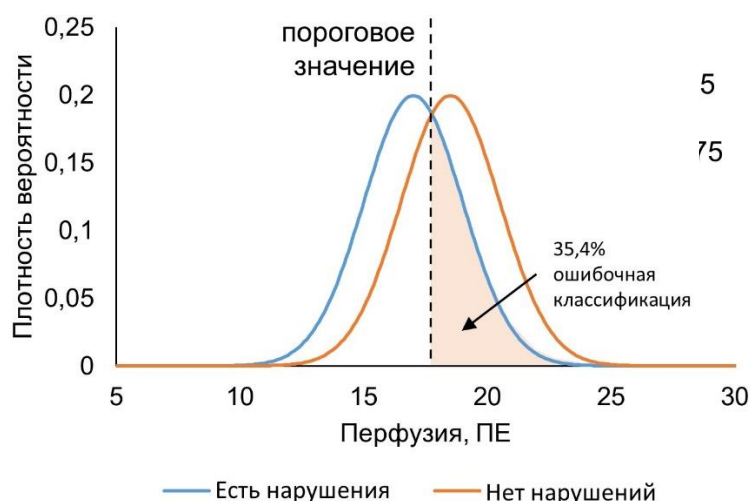


Рисунок 12 – Пример перекрытия распределений количественного параметра, характеризующего состояние микроциркуляторного русла, в группах с нарушениями микроциркуляции и без них

Соотношение между разностью средних величин и стандартными отклонениями групп, от которого зависит площадь пересечения распределений, может быть оценено с помощью параметра «стандартизованная разность средних» (CPC) [125].

Для определения того, каким образом диагностическая информативность метода зависит от CPC и соотношения дисперсий в анализируемых группах с помощью Excel 2019 была создана программа для определения ожидаемой площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности в зависимости от характеристик анализируемых выборок (Рисунок 3). С помощью функции плотности вероятности нормального распределения, в программе генерируются два нормальных распределения с заданными пользователем характеристиками и для них определяются соответствующие показатели диагностической информативности в выявлении пациентов из группы 1 (способ расчёта описан в разделе 2.1 главы «Материалы и методы»).

Так как ROC-кривая может быть построена на основании кумулятивных функций нормального распределения, то исходя из свойств нормального

распределения и стандартизации, площадь под ROC-кривой для определённого значения CPC, будет постоянна и не будет зависеть от значений M_1 , M_2 , SD_1 и SD_2 . Для дополнительной демонстрации этого факта был проведён ряд расчётов (таблица 2). Так, например, значению CPC 1,3 всегда будет соответствовать площадь под ROC-кривой, равная 0,82, а CPC, равному 0,5 – AUC, равная 0,64.

Таблица 2 – Расчёт CPC и площади под ROC-кривой (AUC) в зависимости от различных значений M_1 , M_2 , SD_1 и SD_2

	№ Расчёта								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
M_1	2,2	5,3	12,4	1	3,12	9,8	11,3	0,64	7,12
SD_1	0,77	1,82	3	0,56	1,27	3,19	8,22	0,71	4,66
M_2	3,2	7,8	16,1	1,5	4,33	12,36	15,41	0,95	10,32
SD_2	0,77	2,02	2,7	0,56	1,41	2,45	8,22	0,51	7,76
CPC	1,3	1,3	1,3	0,9	0,9	0,9	0,5	0,5	0,5
AUC	0,82	0,82	0,82	0,74	0,74	0,74	0,64	0,64	0,64

Таким образом, площадь под ROC-кривой может быть оценена исходя из показателя CPC, без привязки к значениям M_1 , M_2 , SD_1 и SD_2 . На основании данного наблюдения была написана версия программы для расчёта ожидаемых диагностических характеристик метода на основании CPC (Рисунок 4 в Главе 2 «Материалы и методы») и была составлена таблица (таблица 3), которая может быть использована для оценки ожидаемых диагностических характеристик метода в публикациях, в которых авторами не был проведён ROC-анализ.

Рост показателя CPC свидетельствует о росте площади под ROC-кривой, ожидаемой чувствительности и специфичности теста – увеличении диагностических характеристик параметра при его персонализированном применении.

Таблица 3 – Рассчитанные ожидаемые значения AUC, степени перекрытия групп (в %), чувствительности и специфичности при различных значениях СРС

Величина СРС (модуль)	Расчётная чувствительность и специфичность теста*	Расчётная AUC
0,5	59,9%	0,627
0,6	61,8%	0,662
0,7	63,7%	0,69
0,8	65,5%	0,715
0,9	67,4%	0,739
1	69,1%	0,761
1,1	70,9%	0,783
1,2	72,6%	0,803
1,3	74,2%	0,822
1,4	75,8%	0,84
1,6	78,8%	0,872
1,8	81,6%	0,9
2,0	84,1%	0,922
2,2	86,4%	0,941
2,4	88,5%	0,956
2,6	90,3%	0,968

* при $SD_1/SD_2 = 1$.

Значения СРС от 0 до 0,75 соответствуют слабой диагностической информативности, от 0,75 до 1,2 умеренной, от 1,2 до 1,8 – хорошей, от 1,8 и выше – отличной. Для достижения ожидаемых чувствительности и специфичности теста >70% модуль СРС для оцениваемого параметра должен быть выше 1,05, для >80% – выше 1,68, для >90% – выше 2,56.

3.2. Обоснование подходов к повышению диагностической информативности лазерной доплеровской флоуметрии в исследовании состояния микроциркуляции

С включением обследуемых из 1 (здоровые лица) и 2 (лица с микроциркуляторными нарушениями) групп были изучены СРС различных параметров, характеризующих состояние микроциркуляторного русла. В целях поиска физиологически обоснованных способов увеличения чувствительности и специфичности метода ЛДФ в выявлении выраженных микроциркуляторных нарушений были проведены холодовые, окклюзионные, постуральные, тепловые пробы, в том числе в комбинациях.

3.2.1. Результаты проведения холодовых проб

При анализе результатов выполнения холодной пробы у большинства обследуемых без МЦ нарушений (80%) наблюдалось снижение перфузии (вазоспазм) на фоне холодового воздействия по сравнению с базовым уровнем перфузии. Это позволяет предположить, что нормальной физиологической реакцией на холодовое воздействие является снижение перфузии вследствие вазоспазма, что согласуется с существующими представлениями [17]. Результаты проведения проб представлены в таблице 4.

При сравнении обследуемых без МЦ нарушений и с нарушениями МЦ статистически значимые различия между группами были получены для параметров «Базовая перфузия» ($p=0,040$) и «Перфузия в момент охлаждения» ($p=0,031$).

Доля обследуемых с гиперемической реакцией в момент холодового воздействия в группе обследуемых с МЦ нарушениями была выше, чем в группе здоровых добровольцев, однако различия были статистически не значимы: 41,6% и 20%, соответственно ($p=0,6$).

Таблица 4 – Результаты выполнения холодových проб у пациентов 1 и 2 групп

Оцениваемый параметр	Обследуемые из группы 1 (n=5)	Обследуемые из группы 2 (n=12)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	3,45 ± 1,82 3 [2,9; 3]	5,12 ± 1,96 5 [3,3; 5,9]	0,040
Перфузия в момент охлаждения, ПЕ	3,25 ± 1,54 2,8 [2,7; 3,3]	5,28 ± 1,93 5,1 [3,8; 6,3]	0,031
Перфузия в момент восстановления, ПЕ	3,9 ± 1,8 3 [2,6; 5,1]	4,78 ± 2,21 4,4 [3,6; 5,2]	0,429
Изменение перфузии в момент охлаждения, (%)	-4,88 ± 9,16 -6,4 [-12,1; -3,9]	10,73 ± 42,75 3,3 [-13,2; 19,2]	0,429
Изменение перфузии в момент восстановления, (%)	18,85 ± 39,13 1,7 [-2; 34,9]	-3,03 ± 31,44 -3,6 [-23,6; 17,5]	0,268

При оценке диагностической информативности пробы, наибольшие (по модулю) значения СРС (95% ДИ) были получены для параметра «Перфузия в момент охлаждения»: 1,11 (0,001; 2,22) (рисунок 13).

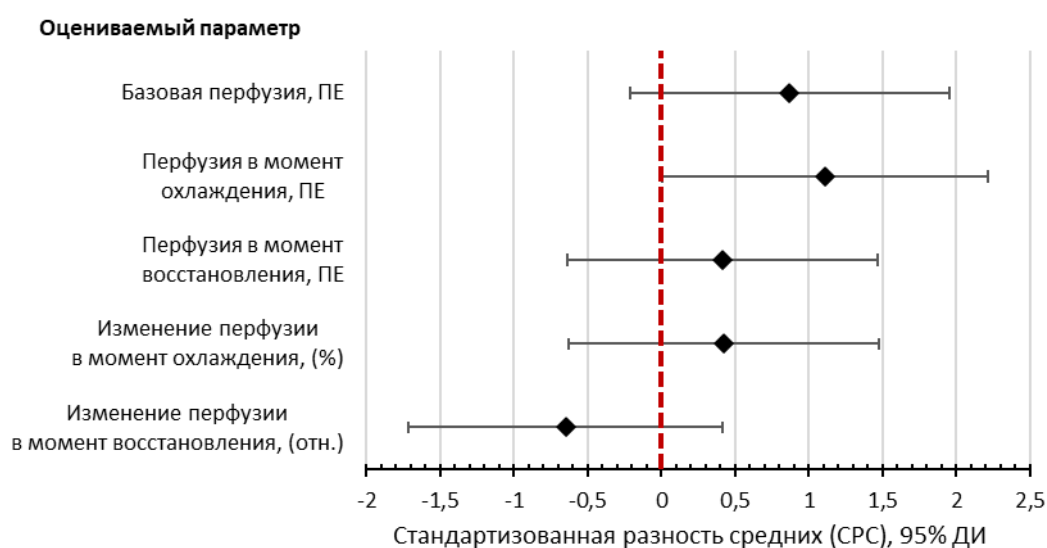


Рисунок 13 – Результаты оценки СРС для различных параметров, рассчитываемых при холодной пробе

3.2.2. Результаты проведения окклюзионных проб

У 19 из 20 обследуемых (95 %) по результатам выполнения окклюзионной пробы наблюдалась гиперемическая реакция различной степени выраженности. Количественная оценка изменений перфузии представлена в таблице (таблица 5). У одного обследуемого с поражением МЦ не отмечалось прироста перфузии в постокклюзионном периоде.

При выполнении окклюзионной пробы (таблица 5) статистически значимых различий между обследуемыми из групп 1 и 2 ни по одному показателю выявлено не было. На рисунке 14 представлены результаты оценки СРС для окклюзионной пробы.

Таблица 5 – Результаты выполнения окклюзионных проб

	Обследуемые из группы 1 (n=10)	Обследуемые из группы 2 (n=10)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	4,79 ± 1,72 4,3 [3,2; 6,8]	4,61 ± 2,09 4,4 [3,3; 5,7]	0,850
ПОРГ, ПЕ	10,17 ± 2,97 10,5 [8; 12,4]	8,9 ± 3,86 9,4 [5,1; 11,2]	0,473
Изменение перфузии в момент ПОРГ, %	118,83 ± 40,27 111,2 [95,2; 156,8]	107,89 ± 76,31 106,9 [60,1; 165,7]	0,791
Площадь под МЦ кривой, 1 мин.	223,85 ± 72,84 231,2 [174,1; 295,7]	172,12 ± 129,21 160,8 [91,8; 248]	0,307

Наибольшие значения модуля СРС для окклюзионной пробы были получены для параметра «Площадь под МЦ кривой, 1 мин.». Значение СРС (95% ДИ) составило 0,49 (-0,4; 1,38).

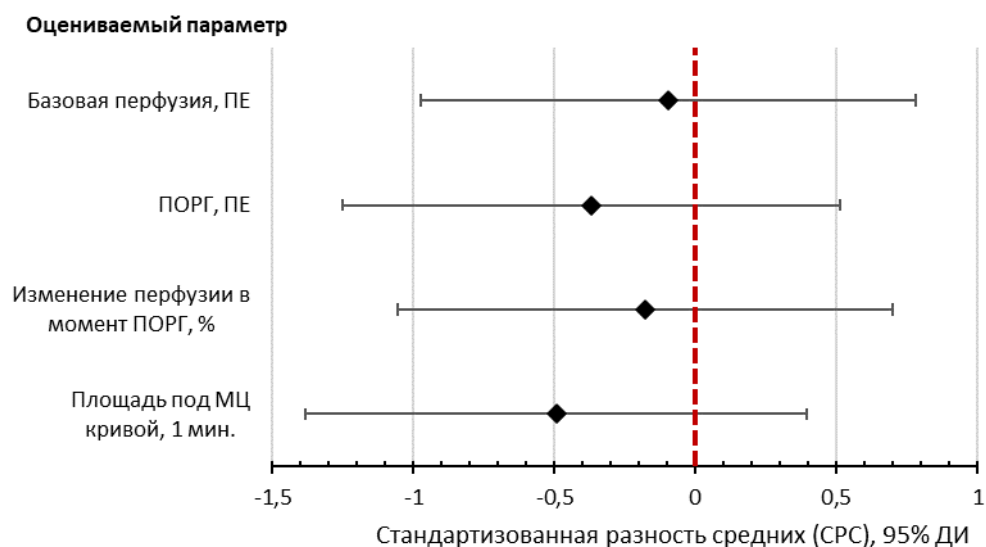


Рисунок 14 – Результаты оценки СРС (95% ДИ) для различных параметров, рассчитываемых при окклюзионной пробе

3.2.3. Результаты выполнения поструральных проб

Были проведены различные варианты поструральных проб на верхней и нижней конечности. При выполнении проб на верхней конечности статистически значимых различий между группами лиц с патологией МЦ и без неё получено не было (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты выполнения поструральной пробы на верхних конечностях

	Обследуемые из группы 1 (n=9)	Обследуемые из группы 2 (n=11)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	3,31 ± 1,5 4,2 [1,8; 4,3]	4,59 ± 2,37 4,4 [2,6; 5,8]	0,197
Перфузия в момент пострурального воздействия, ПЕ	2,53 ± 1,35 3 [1,5; 3,5]	4,69 ± 3,38 3,3 [2,2; 6,7]	0,171
Изменение перфузии в момент пострурального воздействия, (отн.)	0,76 ± 0,36 0,7 [0,5; 0,9]	1,42 ± 1,5 1,1 [0,5; 1,7]	0,323

На нижних конечностях (таблица 7) статистически значимые различия между группами были получены только для показателя «Перфузия в момент постурального воздействия»: 1,6 [1,1; 3,4] ПЕ в группе 1 и 4 [2,3; 4,9] ПЕ в группе 2 ($p=0,035$).

При анализе СРС для результатов выполнения постуральных проб на верхних (рисунок 15) и нижних конечностях (рисунок 16), наиболее высокие по модулю значения были получены для показателя «Перфузия в момент постурального воздействия» на верхних конечностях. Значение СРС (95% ДИ) составило -0,81 (-1,73; 0,11).

Таблица 7 – Результаты выполнения постуральной пробы на нижних конечностях

	Обследуемые из группы 1 (n=12)	Обследуемые из группы 2 (n=12)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	3,4 ± 2,45 2,6 [1,9; 4,5]	4,71 ± 2,38 4 [2,9; 5,9]	0,089
Перфузия в момент постурального воздействия, ПЕ	2,47 ± 1,85 1,6 [1,1; 3,4]	3,75 ± 1,57 4 [2,3; 4,9]	0,035
Изменение перфузии в момент постурального воздействия, (отн.)	0,84 ± 0,53 0,6 [0,4; 1,2]	0,87 ± 0,37 0,8 [0,6; 1,1]	0,544

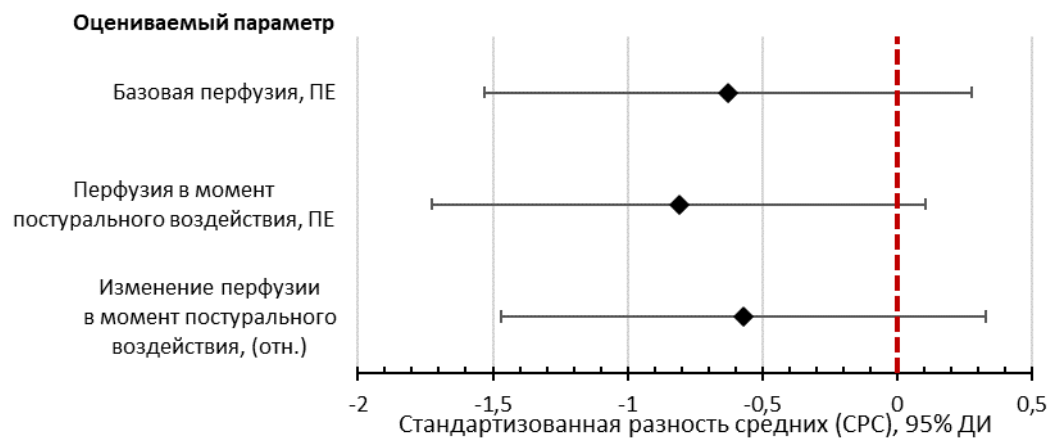


Рисунок 15 – Результаты оценки СРС (95% ДИ) для различных параметров, рассчитываемых при постуральной пробе на верхних конечностях

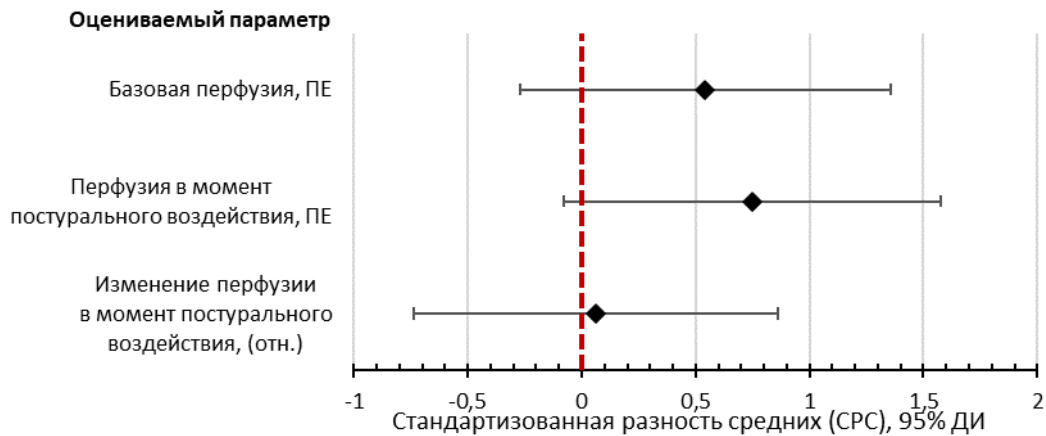


Рисунок 16 – Результаты оценки СРС (95% ДИ) для различных параметров, рассчитываемых при постуральной пробе на нижних конечностях

3.2.1. Результаты выполнения тепловых проб

При выполнении тепловых проб на скорости нагрева $4^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ (таблица 8) статистически значимые различия между группами 1 и 2 были получены для параметров «Локальная тепловая гиперемия» ($p=0,017$), «Абсолютный прирост гиперемии» ($p=0,007$), «Относительный прирост гиперемии» ($p=0,013$), «Площадь под МЦ кривой, 3 мин» ($p=0,002$), «Площадь под МЦ кривой, 4 мин» ($p=0,003$), «Наклон, 2 мин» ($p=0,008$), «Наклон, 3 мин» ($p=0,001$), «Наклон, 4 мин» ($p=0,003$).

Наибольшее по модулю значение СРС при проведении тепловой пробы с нагревом на скорости $4^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ (рисунок 17) было получено для параметра «Наклон, 3 мин». Значение СРС (95% ДИ) составило $-1,167$ ($-1,942$; $-0,391$).

При анализе результатов проведения тепловой пробы с нагревом на скорости $\sim 1,5\text{-}2^{\circ}\text{C}/\text{сек}$ (таблица 9), статистически значимые различия между группами были получены по параметрам: «Локальная тепловая гиперемия» ($p=0,01$), «Абсолютный прирост гиперемии» ($p=0,001$), «Относительный прирост гиперемии» ($p=0,002$), «Площадь под МЦ кривой, 1 мин» ($p<0,001$), «Площадь под МЦ кривой, 2 мин» ($p<0,001$), «Площадь под МЦ кривой, 3 мин» ($p<0,001$),

«Площадь под МЦ кривой, 4 мин» ($p=0,001$), «Наклон, 1 мин» ($p=0,001$), «Наклон, 2 мин» ($p=0,038$).

Таблица 8 – Результаты выполнения проб с нагревом на скорости $4^{\circ}\text{C}/\text{мин}$

	Обследуемые из группы 1 (n=16)	Обследуемые из группы 2 (n=14)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	$3,86 \pm 1,18$ 3,8 [2,9; 4,5]	$4,01 \pm 1,16$ 3,9 [3,3; 4,6]	0,608
Локальная тепловая гиперемия, ПЕ	$18,61 \pm 4,4$ 19,9 [15,5; 20,3]	$13,85 \pm 5,34$ 14,6 [10,6; 17,6]	0,017
Абсолютный прирост гиперемии, ПЕ	$14,75 \pm 5,03$ 15,9 [11,3; 17,2]	$9,84 \pm 4,94$ 10 [6,6; 11,5]	0,007
Относительный прирост гиперемии	$5,39 \pm 2,42$ 5,1 [3,8; 6,2]	$3,52 \pm 1,52$ 3,2 [2,7; 4]	0,013
Площадь под МЦ кривой, 1 мин.	$23,4 \pm 28,1$ 31 [13; 42]	$34 \pm 48,2$ 17 [7; 41]	0,525
Площадь под МЦ кривой, 2 мин.	$296,5 \pm 143,8$ 292 [237; 344]	$217,1 \pm 149,5$ 226 [90; 298]	0,142
Площадь под МЦ кривой, 3 мин.	$1090,2 \pm 419,9$ 1063 [903; 1240]	$693,7 \pm 423,5$ 765 [373; 901]	0,002
Площадь под МЦ кривой, 4 мин.	$1975,3 \pm 717,6$ 2009 [1589; 2286]	$1276,1 \pm 715,6$ 1372 [717; 1591]	0,003
Наклон, 1 мин.	$0,02 \pm 0,01$ 0,02 [0,01; 0,03]	$0,01 \pm 0,02$ 0,01 [0; 0,02]	0,193
Наклон, 2 мин.	$0,07 \pm 0,03$ 0,07 [0,06; 0,08]	$0,04 \pm 0,04$ 0,04 [0,01; 0,06]	0,008
Наклон, 3 мин.	$0,1 \pm 0,04$ 0,1 [0,08; 0,12]	$0,06 \pm 0,04$ 0,06 [0,04; 0,07]	0,001
Наклон, 4 мин.	$0,08 \pm 0,03$ 0,09 [0,07; 0,1]	$0,05 \pm 0,03$ 0,05 [0,04; 0,06]	0,003

Наибольшие по модулю значения СРС при проведении тепловой пробы со скоростью нагрева $\sim 1,5-2^{\circ}\text{C}/\text{сек}$ (рисунок 18) были получены для параметра «Площадь под микроциркуляторной кривой, 2 мин.». Значение СРС (95% ДИ) составило -1,62 (-2,44; -0,79).

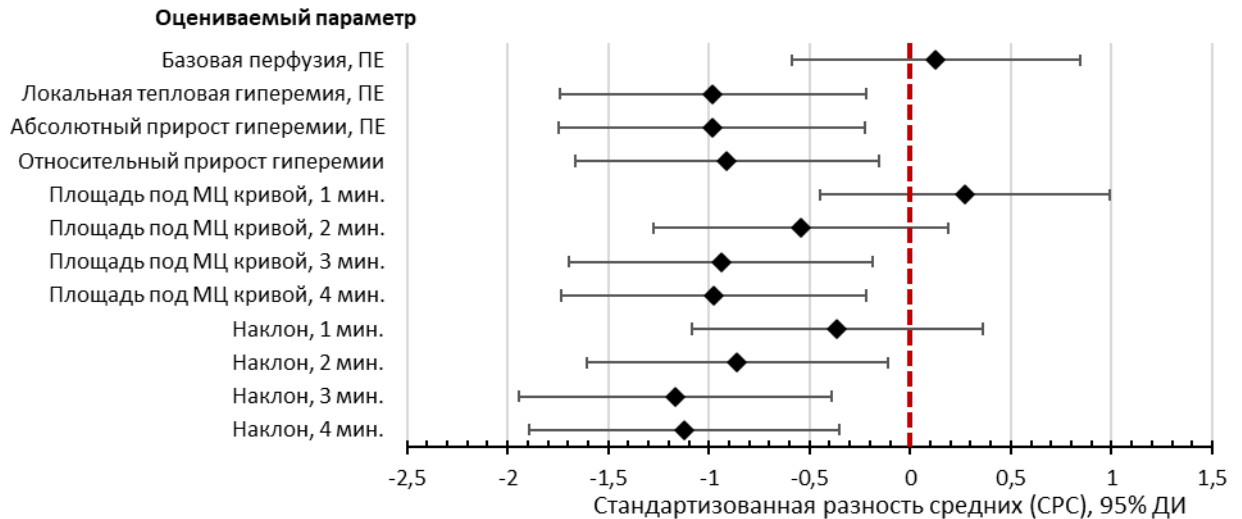


Рисунок 17 – Результаты оценки СРС для различных параметров, рассчитываемых при тепловой пробе с нагревом на скорости $4^{\circ}\text{C}/\text{мин}$

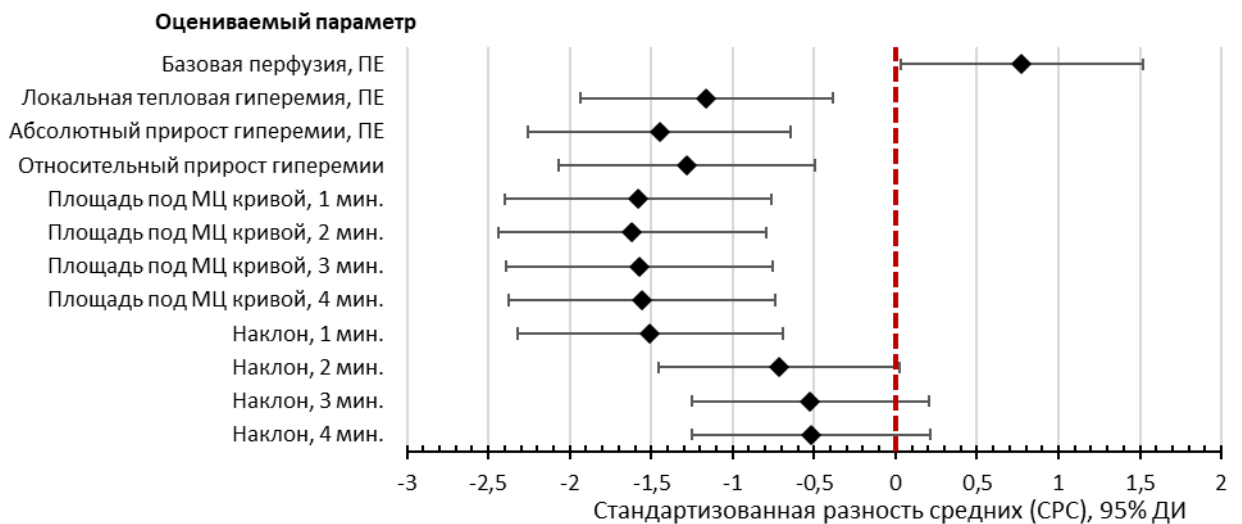


Рисунок 18 – Результаты оценки СРС для различных параметров, рассчитываемых при тепловой пробе с нагревом на скорости $\sim 1,5-2^{\circ}\text{C}/\text{сек}$

Таблица 9 – Результаты выполнения проб с нагревом на скорости $\sim 1.5-2^{\circ}\text{C}/\text{сек}$

	Обследуемые из группы 1 (n=16)	Обследуемые из группы 2 (n=14)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	$3,64 \pm 0,98$ 3,9 [2,8; 4,5]	$4,64 \pm 1,58$ 4,7 [3,3; 5,5]	0,07
Локальная тепловая гиперемия, ПЕ	$20,13 \pm 3,38$ 19,4 [17,8; 23]	$15,48 \pm 4,63$ 13,5 [11,5; 19,4]	0,01
Абсолютный прирост гиперемии, ПЕ	$16,49 \pm 3,47$ 15,3 [14,1; 19,9]	$10,84 \pm 4,34$ 9,9 [7,5; 13,8]	0,001
Относительный прирост гиперемии	$5,99 \pm 2,23$ 5 [4,4; 7,6]	$3,61 \pm 1,3$ 3,5 [2,5; 4,5]	0,002
Площадь под МЦ кривой, 1 мин.	$611 \pm 184,8$ 568 [467; 682]	$333,8 \pm 164$ 307 [198; 450]	<0,001
Площадь под МЦ кривой, 2 мин.	$1571 \pm 371,4$ 1431 [1324; 1766]	$946,9 \pm 402,6$ 824 [632; 1323]	<0,001
Площадь под МЦ кривой, 3 мин.	$2558 \pm 573,1$ 2298 [2204; 2976]	$1596,9 \pm 652,7$ 1380 [1127; 2161]	<0,001
Площадь под МЦ кривой, 4 мин.	$3547,3 \pm 774,5$ 3190 [3035; 4209]	$2240,9 \pm 905,3$ 1953 [1558; 2983]	0,001
Наклон, 1 мин.	$0,24 \pm 0,04$ 0,24 [0,21; 0,26]	$0,15 \pm 0,07$ 0,13 [0,09; 0,19]	0,001
Наклон, 2 мин.	$0,11 \pm 0,03$ 0,1 [0,09; 0,12]	$0,08 \pm 0,04$ 0,07 [0,05; 0,12]	0,038
Наклон, 3 мин.	$0,06 \pm 0,02$ 0,06 [0,04; 0,07]	$0,05 \pm 0,02$ 0,04 [0,03; 0,05]	0,085
Наклон, 4 мин.	$0,04 \pm 0,01$ 0,03 [0,03; 0,04]	$0,03 \pm 0,01$ 0,03 [0,02; 0,04]	0,131

3.2.2. Результаты выполнения комбинированных проб

Далее с целью определения, возможно ли увеличение диагностической информативности проб при комбинации функциональных воздействий были

выполнены комбинированные постурально-тепловые и окклюзионно-тепловые пробы. Для постурально-тепловых проб на верхних конечностях (таблица 10) статистически значимые различия были получены для параметров «Перфузия в момент комбинации воздействий» ($p=0,048$) и «Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий» ($p=0,048$).

Таблица 10 – Результаты выполнения постурально-тепловых проб на верхних конечностях

	Обследуемые из группы 1 (n=9)	Обследуемые из группы 2 (n=11)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	4,34 ± 1,34 4,4 [4; 5,3]	5,4 ± 2,49 4,8 [3,6; 6,9]	0,494
Перфузия в момент комбинации воздействий, ПЕ	19,28 ± 6,8 16,7 [15,9; 19,8]	14,18 ± 8,69 11,8 [7,3; 17,7]	0,048
Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий	5,12 ± 2,9 4,1 [2,8; 6,3]	2,76 ± 1,1 2,8 [1,8; 3,7]	0,048

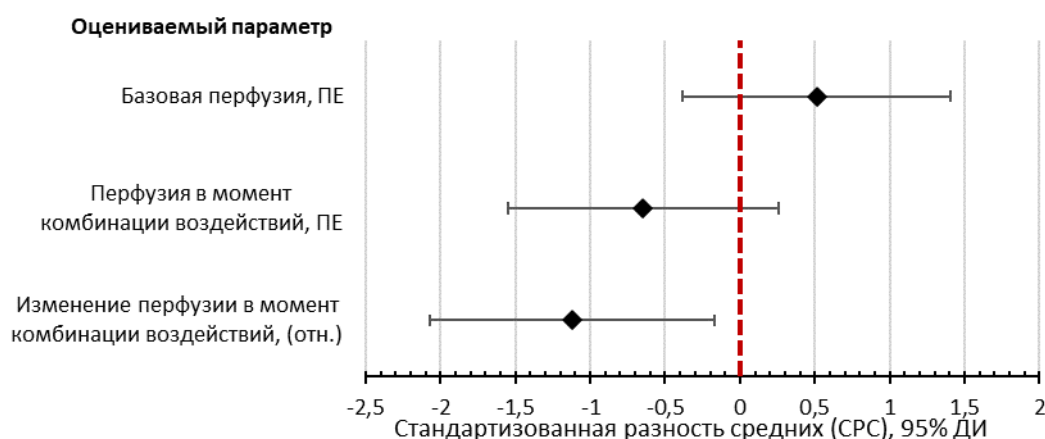


Рисунок 19 – Результаты оценки CPS для различных параметров, рассчитываемых при постурально-тепловой пробе на верхних конечностях

Для постурально-тепловых проб на нижних конечностях (таблица 11) статистически значимые различия между группами были получены для параметров «Базовая перфузия» ($p=0,017$) и «Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий» ($p=0,023$).

Для окклюзионно-тепловых проб (таблица 12) статистически значимые различия между группами были получены для параметров «Перфузия в момент комбинации воздействий» ($p=0,004$).

Таблица 11 – Результаты выполнения постурально-тепловых проб на нижних конечностях

	Обследуемые из группы 1 (n=12)	Обследуемые из группы 2 (n=12)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	3,23 ± 1,29 3,2 [2,8; 3,9]	5,81 ± 3,13 5,1 [3,6; 7,7]	0,017
Перфузия в момент комбинации воздействий, ПЕ	16,73 ± 7,16 14,7 [12,3; 23]	13,97 ± 7,54 12,7 [9,1; 17,6]	0,260
Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий	6,35 ± 4,73 4,5 [3,7; 7,1]	2,87 ± 1,53 3 [1,3; 4,4]	0,023

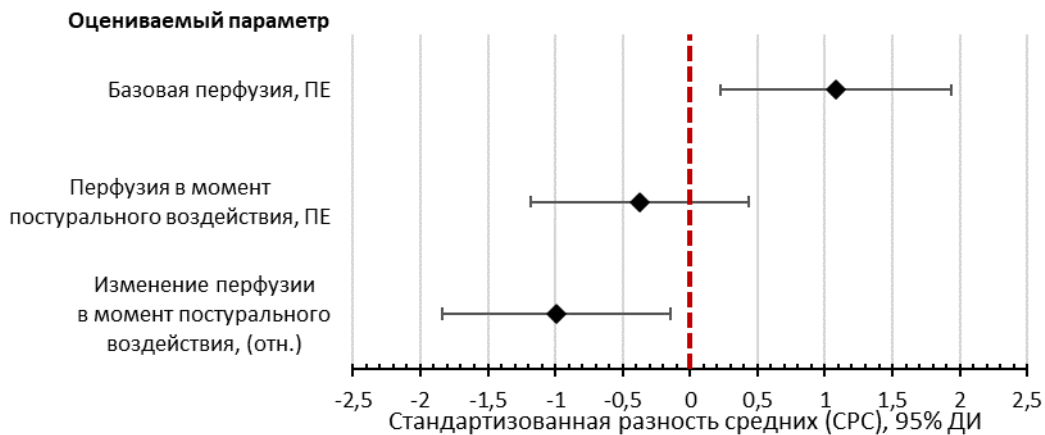


Рисунок 20 – Результаты оценки CPS для различных параметров, рассчитываемых при постурально-тепловой пробе на нижних конечностях

Далее была проведена оценка СРС для комбинированных постурально-тепловых проб на верхних (рисунок 19) и нижних (рисунок 20) конечностях. Наибольшие значения СРС по модулю были получены для параметра «Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий» при выполнении пробы на верхних конечностях». СРС (95% ДИ) составил -1,12 (-2,07; -0,17).

Таблица 12 – Результаты выполнения окклюзионно-тепловых проб

	Обследуемые из группы 1 (n=16)	Обследуемые из группы 2 (n=13)	Значение p
Базовая перфузия, ПЕ	3,56 ± 2,07 3,18 [1,84; 4,79]	3,1 ± 1,1 3,28 [2,23; 3,96]	0,812
Перфузия в момент комбинации воздействий, ПЕ	23,5 ± 6,45 23,8 [19,2; 27,3]	16,5 ± 4,91 17 [14,3; 18,6]	0,004
Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий	8,94 ± 6,71 6,68 [5,39; 9,72]	5,87 ± 2,43 5,19 [4,02; 7,6]	0,121

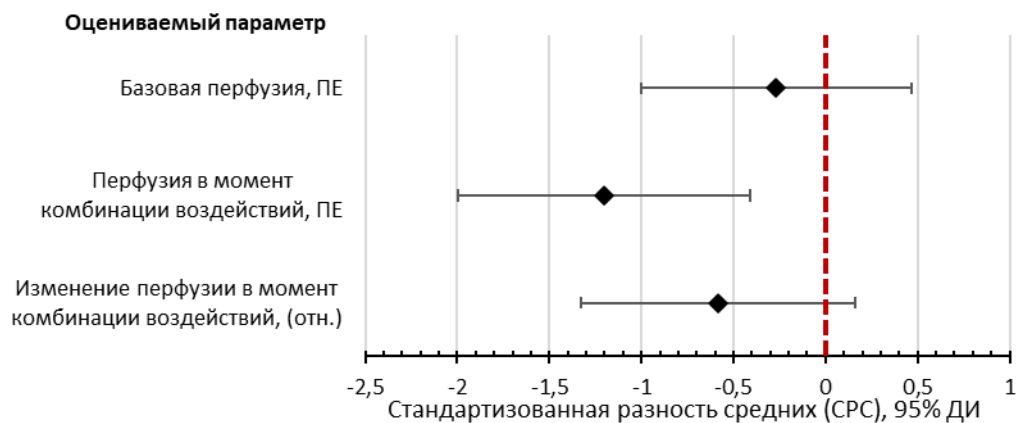


Рисунок 21 – Результаты оценки СРС для различных параметров, рассчитываемых при окклюзионно-тепловой пробе

При анализе диагностической информативности комбинированной окклюзионно-тепловой пробы (рисунок 21) наибольшие значения СРС по модулю были получены для параметра «Перфузия в момент комбинации воздействий». СРС (95% ДИ) составил -1,20 (-1,99; -0,409).

3.2.3. Сопоставление результатов выполнения различных функциональных проб

Для оценки нормы физиологической реакции в ответ на проведение различных функциональных проб для каждой из них было рассчитано относительное изменение перфузии в момент проведения пробы у обследуемых без МЦ нарушений (рисунок 22). При сравнении этих рассчитанных значений показано, что тепловая, постурально-тепловая и окклюзионно-тепловая пробы вызвали гиперемическую реакцию максимальной интенсивности.

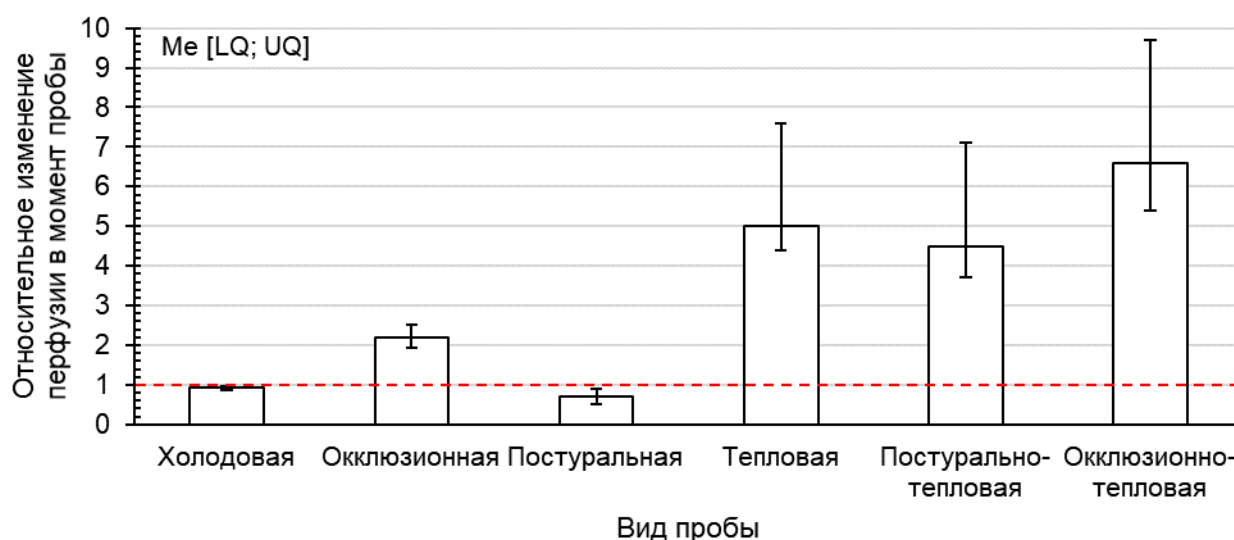


Рисунок 22 – Оценка относительного изменения перфузии (по отношению к базовому уровню) у обследуемых без МЦ нарушений

Далее была проведена оценка диагностической информативности различных функциональных проб с помощью СРС (рисунок 23а). При холодной пробе

наибольший модуль СРС был получен для уровня перфузии в момент холодового воздействия. При окклюзионной – для площади под МЦ кривой за 1 минуту постокклюзионной реактивной гиперемии. Для тепловых проб наибольшими диагностическими характеристиками обладали параметры «Площадь под микроциркуляторной кривой за первые 2 минуты нагрева» при применении скорости нагрева $\sim 1,5-2$ °C/сек и «Наклон, 3 мин» при скорости 4 °C/мин ($\sim 0,067$ °C/сек). При постурально-тепловой пробе максимальные значения модуля СРС были получены для параметра «Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий» на руке. При окклюзионно-тепловой пробе – для параметра «Перфузия в момент комбинации воздействий».

Показатель СРС продемонстрировал хорошие возможности в оценке диагностической информативности: теоретически рассчитанные на основании СРС значения площади под ROC-кривой отличались от значений, полученных на выборке со средней погрешностью в 4,2% (рисунок 23б). Наибольшие отличия от теоретических значений получены для холодной пробы.

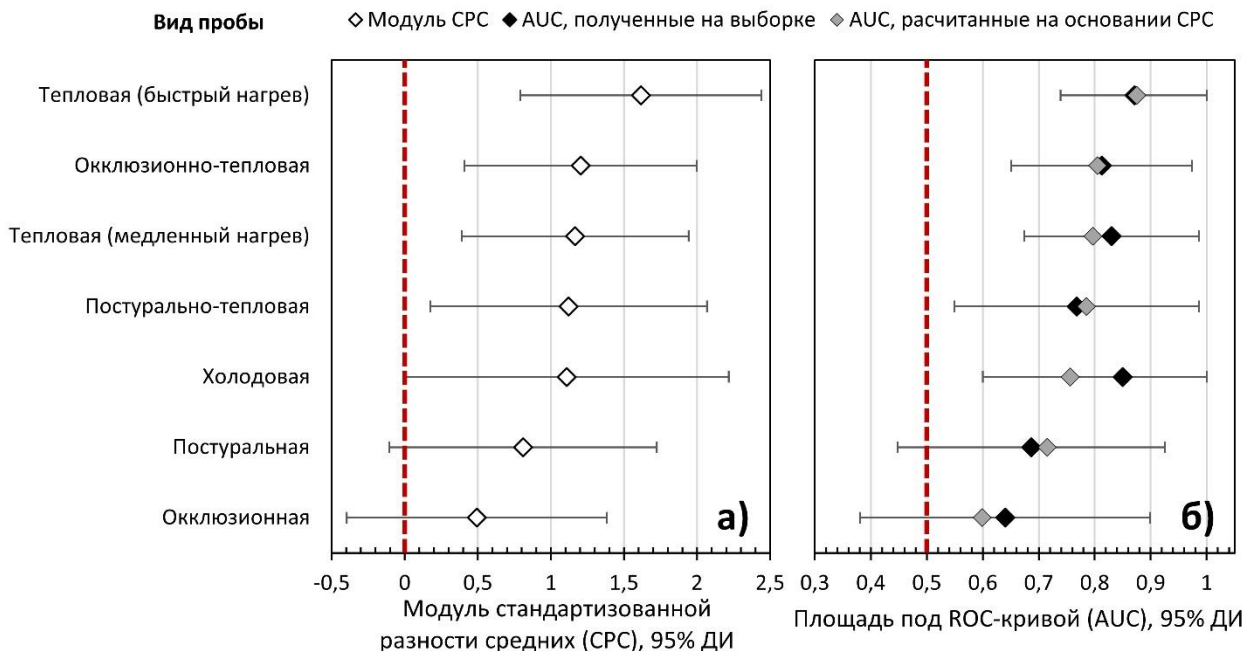


Рисунок 23 – Оценка модуля СРС (а) и площади под ROC-кривой (б) для разных видов функциональных проб, в т.ч. комбинированных

Таким образом, тепловые пробы с быстрым нагревом и окклюзионно-тепловая проба позволяют вызывать гиперемические реакции большей интенсивности по сравнению с другими функциональными воздействиями. Более того, они также обладают наибольшей диагностической информативностью в выявлении лиц с МЦ нарушениями (Группа 2). При этом необходимо анализировать параметры, характеризующие динамические изменения микроциркуляции в момент проведения пробы: площадь под микроциркуляторной кривой, наклон участка кривой, относительный прирост перфузии и др. При применении комбинированных проб и проб с быстрым нагревом ожидаемая чувствительность и специфичность ЛДФ в выявлении нарушений микроциркуляции составляет более 70%.

3.3. Разработка методики исследования микроциркуляции

3.3.1. Алгоритм проведения функциональной пробы и параметры, характеризующие состояние кожной микроциркуляции

На предыдущем этапе исследования было показано, что быстрый нагрев (~1,5-2 °С/сек) и окклюзионно-тепловое воздействие обладали наибольшими показателями СРС. Таким образом, с помощью объединения данных воздействий была разработана комбинированная окклюзионно-тепловая проба, включающая окклюзию до супрасистолических значений. Перечень параметров, характеризующих реактивность микроциркуляторного русла при проведении данной пробы и получаемых в ходе пострегистрационного расчёта, представлен на рисунке (Рисунок 24).

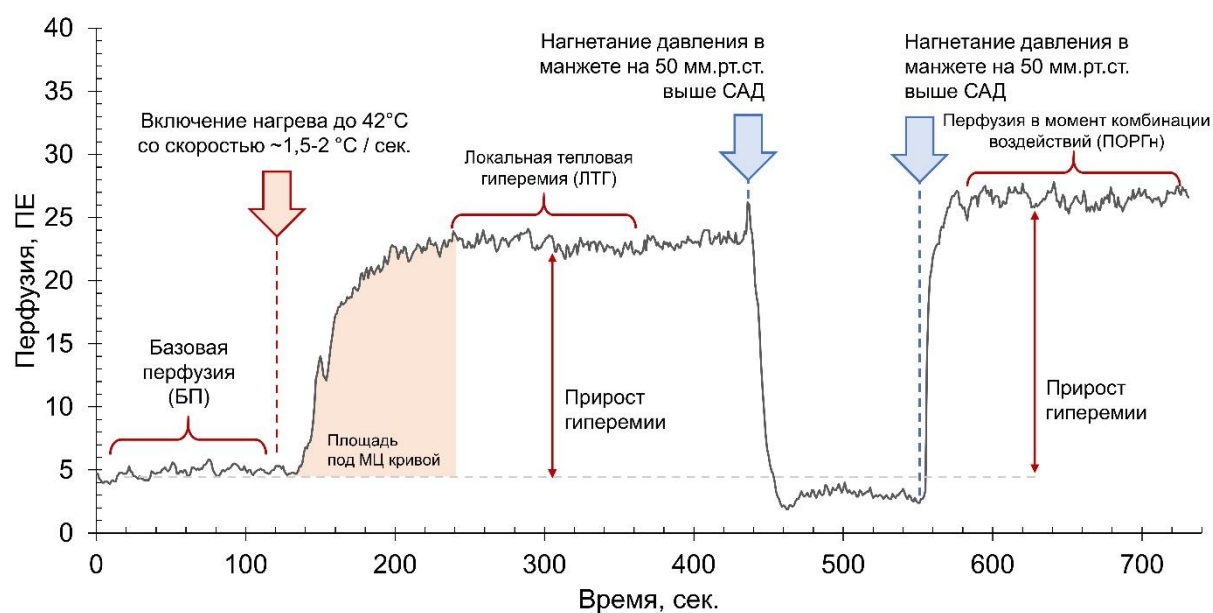


Рисунок 24 – Схема проведения окклюзионно-тепловой пробы с обозначением параметров, рассчитываемых в момент пострегистрационной обработки данных и характеризующих состояние микроциркуляторного русла

С целью изучения индивидуальной variability параметров, получаемых при проведении окклюзионно-тепловой пробы, была проведена серия из 17 ежедневных измерений микроциркуляции на одном обследуемом. Было показано, что разработанная проба позволяет снижать индивидуальный коэффициент вариации оцениваемых параметров с 47,2% (базовая перфузия (БП)) до 19,7% (перфузия в момент комбинации окклюзионного и теплового воздействий – ПОРГн).

Было проведено сравнение результатов выполнения окклюзионно-тепловой пробы у пациентов без микроциркуляторных нарушений (группа 1) и с микроциркуляторными нарушениями (группа 2) (таблица 13).

Также были вычислены и проанализированы дополнительные параметры, характеризующие сосудистую проводимость и учитывающие среднее артериальное давление пациента (СрАД) на момент проведения пробы: БП / СрАД – сосудистая проводимость в период базовой перфузии, ЛТГ / СрАД – сосудистая проводимость в период локальной тепловой гиперемии, ПОРГн / СрАД в момент

комбинации постурального и теплового воздействий: (ПОРГн – БП) / СрАД, который также показал статистически значимые различия между группами 1 и 2.

Таблица 13 – Результаты анализа выполнения окклюзионно-тепловой пробы у пациентов с микроциркуляторными нарушениями и без них

	Обследуемые из группы 1 (n=27)	Обследуемые из группы 2 (n=31)	Значение Р
Базовая перфузия (БП)	3,48 ± 1,84 3,2 [2,1; 4,4]	3,62 ± 2,23 3,5 [2,2; 4,6]	0,785
Локальная тепловая гиперемия (ЛТГ)	20,63 ± 5,13 20,4 [15,9; 24,4]	13,95 ± 4,79 13,5 [10,9; 17,6]	<0,001
Постокклюзионная реактивная гиперемия (ПОРГн)	23,52 ± 6,05 23,6 [18,7; 27,5]	16,39 ± 5,57 17 [13,7; 19,2]	<0,001
ЛТГ / БП	7,78 ± 5,87 6,2 [4,6; 7,5]	4,59 ± 2,16 4,1 [3; 5,6]	0,001
ПОРГн / БП	8,81 ± 6,46 7 [5,4; 8,8]	5,67 ± 2,91 5,1 [3,5; 8,4]	0,009
Наклон кривой (2 мин)	1,22 ± 0,31 1,2 [1; 1,4]	0,74 ± 0,3 0,8 [0,5; 1]	<0,001
Площадь под кривой (2 мин)	1386,4 ± 348,9 1488 [1137,6; 1610,6]	811,0 ± 311,3 829,2 [597,8; 934,1]	<0,001
БП / СрАД	0,04 ± 0,02 0,04 [0,02; 0,05]	0,04 ± 0,03 0,04 [0,03; 0,05]	0,603
ЛТГ / СрАД	0,25 ± 0,06 0,25 [0,17; 0,3]	0,16 ± 0,06 0,16 [0,11; 0,17]	0,001
ПОРГн / СрАД	0,28 ± 0,08 0,28 [0,21; 0,32]	0,17 ± 0,07 0,17 [0,14; 0,2]	0,001
(ЛТГ-БП) / СрАД	0,21 ± 0,05 0,23 [0,15; 0,24]	0,11 ± 0,04 0,12 [0,07; 0,13]	<0,001
(ПОРГн - БП) / СрАД	0,24 ± 0,06 0,25 [0,19; 0,28]	0,13 ± 0,06 0,13 [0,11; 0,17]	<0,001
(ПОРГн - ЛТГ) / СрАД	0,03 ± 0,03 0,03 [0,02; 0,04]	0,02 ± 0,03 0,01 [0; 0,03]	0,017

Примечание: БП – базовая перфузия; ЛТГ – локальная тепловая гиперемия; ПОРГн – комбинация локального нагрева и постокклюзионной реактивной гиперемии; ЛТГ/БП и ПОРГн/БП – относительное увеличение перфузии в соответствующий период пробы к БП; СрАД – среднее артериальное давление.

Статистически значимые различия были получены для всех параметров, кроме базовой перфузии (БП) и базовой сосудистой проводимости (БР / СрАД).

Был проведён анализ групповой вариабельности параметров микроциркуляции в группах 1 и 2, рассчитан СРС (таблица 14). По сравнению с базовым уровнем перфузии, параметры, характеризующие реактивность микроциркуляторного русла на нагрев, обладают меньшими коэффициентами вариации: у лиц без МЦ нарушений вариабельность параметров снижается с 53% до 24%, у лиц с нарушениями – с 61,6% до 34%.

Таблица 14 – Результаты анализа внутригрупповой вариабельности и стандартизованной разности средних для окклюзионно-тепловой пробы

	Cv_1 / Cv_2	Модуль СРС (95% ДИ)
БП	52,8% / 61,6%	0,07 (-0,44; 0,59)
ЛТГ	24,9% / 34,3%	1,34 (0,76; 1,92)
ПОРГ _н	25,7% / 34%	1,22 (0,66; 1,78)
ЛТГ / БП	75,4% / 47%	0,69 (0,15; 1,23)
ПОРГ _н / БП	73,3% / 51,3%	0,61 (0,08; 1,14)
Наклон кривой (2 мин)	25,1% / 40,2%	1,57 (0,98; 2,16)
Площадь под МЦ кривой (2 мин)	25,2% / 38,4%	1,73 (1,13; 2,34)
БП / СрАД	50% / 75%	0 (-0,61; 0,61)
ЛТГ / СрАД	24% / 37,5%	1,5 (0,8; 2,2)
ПОРГ _н / СрАД	28,6% / 41,2%	1,47 (0,78; 2,16)
(ЛТГ-БП) / СрАД	23,8% / 36,4%	2,17 (1,39; 2,96)
(ПОРГ _н - БП) / СрАД	25% / 46,2%	1,83 (1,1; 2,56)
(ПОРГ _н - ЛТГ) / СрАД	100% / 150%	0,33 (0,29; 0,96)

Примечание: $Cv_{1,2}$ – коэффициенты вариации в 1 и 2 группах; СРС – стандартизованная разность средних.

При оценке диагностических возможностей расчётных параметров наибольшие значения СРС были получены для показателя (ЛТГ - БП) / СрАД,

отражающего прирост сосудистой проводимости в момент нагрева. Модуль СРС (95% ДИ) составил 2,17 (1,39; 2,96).

Далее с помощью построения модели логистической регрессии был предложен способ расчёта вероятности наличия микроциркуляторных нарушений ($P_{\text{нарушений}}$) у конкретного пациента (10):

$$P_{\text{нарушений}} = \frac{1}{1 + e^{42,498 * \frac{\text{ЛТГ}-\text{БП}}{\text{СрАД}} - 6,753}} \quad (10)$$

Данный способ позволяет индивидуально рассчитывать вероятность наличия микроциркуляторных нарушений у конкретного пациента.

3.3.2. Факторы, влияющие на параметры, характеризующие реактивность микроциркуляторного русла

При включении 39 обследуемых из группы 1 (лица без МЦ нарушений) были изучены факторы, влияющие на показатели, характеризующие реактивность микроциркуляторного русла (таблица 15).

Таблица 15 – Коэффициенты корреляции Спирмена между параметрами, характеризующими состояние микроциркуляции и показателями пациентов

	Возраст (лет)	Пол	ИМТ (кг/м ²)	Эритроциты (10 ¹² /л)	СОЭ (мм/ч)
БП	0,098	0,279	0,518**	0,166	-0,052
ЛТГ	0,206	-0,423**	-0,041	-0,267	-0,338
ПОРГ _н	0,309	-0,355*	-0,064	-0,146	-0,387
ЛТГ/БП	-0,008	-0,538**	-0,524**	-0,443*	-0,229
ПОРГ _н /БП	-0,019	-0,539**	-0,596**	-0,365	-0,250
ПОРГ _н /БП	0,385**	-0,375*	-0,164	-0,407*	-0,435*
Наклон кривой (2 мин)	0,202	-0,340*	-0,175	-0,359	-0,407

Наклон кривой (3 мин)	0,174	-0,311*	-0,239	-0,218	-0,286
Наклон кривой (4 мин)	0,223	-0,469**	-0,115	-0,377	-0,241
Площадь под кривой (2 мин)	0,213	-0,519**	-0,167	-0,388	-0,303
Площадь под кривой (3 мин)	0,251	-0,503**	-0,189	-0,354	-0,304
БП / СрАД	0,111	0,339*	0,513**	0,152	-0,177
ЛТГ / СрАД	0,209	-0,354*	-0,122	-0,341	-0,476*
ПОРГ _н / СрАД	0,284	-0,321	-0,161	-0,271	-0,421
(ЛТГ-БП) / СрАД	0,228	-0,506**	-0,348*	-0,394	-0,391
(ПОРГ _н - БП) / СрАД	0,244	-0,454**	-0,356*	-0,303	-0,418
(ПОРГ _н - ЛТГ) / СрАД	0,366*	-0,028	0,031	0,273	0,168

Наиболее выраженные корреляции параметров микроциркуляции были выявлены с факторами «Пол» и «ИМТ». При этом данные факторы являются взаимосвязанными, у лиц мужского пола ИМТ был значимо выше, чем у лиц женского ($p=0,024$).

3.3.3. Оценка вероятности наличия микроциркуляторных нарушений

Для оценки применимости разработанного алгоритма в персонализированной оценке микроциркуляции в группу 1 (здоровые лица) и 2 (лица с МЦ нарушениями) были дополнительно включены 39 и 34 обследуемых, соответственно. Характеристика групп представлена в таблице (таблица 16).

Таблица 16 – Характеристика групп, на которых была проведена оценка применимости разработанных алгоритмов оценки микроциркуляции для персонализированного применения

	Обследуемые из группы 1 (n=39)	Обследуемые из группы 2 (n=34)
Пол, Ж, n (%) / М, n (%)	28 (71,8%) / 11 (28,2%)	25 (73,5%) / 9 (26,5%)
Возраст, лет, М ± SD	26,5 ± 3,4	54,5 ± 12,9
ИМТ, кг/м ² , М ± SD	22 ± 3,2	30,7 ± 6,8
Холестерин, М ± SD	4,52 ± 0,72	5,7 ± 1,51
НbA1c, %, М ± SD	-	8,9 ± 1,8
Артериальная гипертензия, n (%)	-	33 (97,1%)
Стенокардия напряжения, n (%)	-	14 (41,2%)
Наличие диабетической ретинопатии, n (%)	-	34 (100%)
Наличие диабетической нефропатии, n (%)	-	32 (94,1%)
Наличие диабетической полинейропатии, n (%)	-	34 (100%)

Было проведено сравнение показателей микроциркуляции в двух группах (таблица 17). Статистически значимые различия были получены для всех показателей, кроме уровня базовой перфузии и сосудистой проводимости в период регистрации базовой перфузии.

По итогам оценки микроциркуляторных параметров для каждого пациента была рассчитана вероятность наличия микроциркуляторных нарушений с помощью формулы (10). Было проанализировано с какой частотой обследуемые из групп 1 и 2 получили оценку вероятности наличия нарушений микроциркуляции < 50 % и ≥ 50 % (таблица 18).

Таблица 17 – Результаты проведения окклюзионно-тепловой пробы в трёх группах пациентов

	Обследуемые из группы 1 (n=39)	Обследуемые из группы 2 (n=34)	Значение р
БП	4,09 ± 2,13 3,51 [2,58; 5,14]	3,92 ± 2,28 3,54 [2,55; 4,65]	0,496
ЛТГ	24,21 ± 7,17 22,6 [19,75; 25,7]	14,27 ± 4,25 13,73 [11,54; 16,65]	<0,001
ПОРГ _н	27,73 ± 7,55 26,45 [23,3; 29,15]	16,12 ± 5,11 15,97 [12,59; 19,13]	<0,001
ЛТГ/БП	7,21 ± 3,58 6,43 [4,45; 9,61]	4,67 ± 2,99 3,89 [2,97; 5,16]	<0,001
ПОРГ _н /БП	8,22 ± 4,59 6,87 [4,88; 10,47]	5,14 ± 3,66 4,03 [3,05; 5,79]	<0,001
Наклон кривой (2 мин)	1,64 ± 0,51 1,46 [1,28; 1,9]	0,86 ± 0,32 0,78 [0,7; 0,98]	<0,001
Наклон кривой (3 мин)	0,92 ± 0,31 0,86 [0,68; 1,13]	0,49 ± 0,21 0,45 [0,38; 0,6]	<0,001
Наклон кривой (4 мин)	0,55 ± 0,21 0,48 [0,4; 0,67]	0,31 ± 0,15 0,28 [0,21; 0,37]	<0,001
Площадь под кривой (2 мин)	1714,8 ± 662,9 1652 [1254; 1882]	811,7 ± 298 801 [634; 978]	<0,001
Площадь под кривой (3 мин)	2923,7 ± 1056 2774 [2273; 3243]	1336,79 ± 560,47 1319 [1059; 1666]	<0,001
Площадь под кривой (4 мин)	4105,62 ± 1469,95 3776 [3113; 4593]	1915,49 ± 767,77 1862 [1491; 2389]	<0,001
БП / СрАД	0,05 ± 0,03 0,04 [0,03; 0,07]	0,04 ± 0,03 0,04 [0,03; 0,05]	0,264
ЛТГ / СрАД	0,28 ± 0,08 0,27 [0,24; 0,31]	0,15 ± 0,05 0,14 [0,12; 0,16]	<0,001
ПОРГ _н / СрАД	0,32 ± 0,09 0,31 [0,26; 0,35]	0,17 ± 0,07 0,15 [0,13; 0,19]	<0,001

(ЛТГ-БП) / СрАД	0,24 ± 0,08 0,22 [0,18; 0,26]	0,11 ± 0,04 0,1 [0,08; 0,12]	<0,001
(ПОРГ _н - БП) / СрАД	0,27 ± 0,08 0,26 [0,22; 0,3]	0,13 ± 0,06 0,1 [0,09; 0,16]	<0,001
(ПОРГ _н - ЛТГ) / СрАД	0,04 ± 0,03 0,04 [0,02; 0,06]	0,02 ± 0,03 0,01 [0; 0,03]	<0,001

* – значение $p < 0,05$, апостериорные попарные сравнения критерием Данна с поправкой Бонферрони.

Таблица 18 – Результаты оценки вероятности наличия микроциркуляторных нарушений в группах 1 и 2

	Обследуемые из группы 1 (n=39)	Обследуемые из группы 2 (n=34)
Вероятность нарушений МЦ < 50%	34 (87,2 %)	5 (14,7 %)
Вероятность нарушений МЦ ≥ 50%	5 (12,8 %)	29 (85,3 %)

Ранее было проанализировано влияние таких факторов, как Пол, Возраст, ИМТ на показатель (ЛТГ-БП) / СрАД в группах 1 и 2. В группе 1 были получены статистически значимые взаимосвязи показателя с полом ($p=0,001$) и ИМТ ($R_s = -0,348$; $p=0,035$). У лиц мужского пола отмечалось снижение показателя (ЛТГ-БП) / САД, отражающего динамику сосудистой проводимости во время нагрева. В группе 1 была отмечена связь ИМТ с полом ($p=0,024$). В группе 2 статистически значимых взаимосвязей не было выявлено, но у лиц мужского пола также отмечалось снижение (ЛТГ-БП) / СрАД.

Была разработана модель, позволяющая оценить вероятность наличия нарушений микроциркуляции с учётом влияния фактора пола (формула 11):

$$P_{\text{нарушений}} = \frac{1}{1 + e^{69,927 * \frac{\text{ЛТГ}-\text{БП}}{\text{СрАД}} + 31,764 * \frac{\text{ЛТГ}-\text{БП}}{\text{СрАД}} * \text{Пол} - 12,593}} \quad (11)$$

Фактор «ИМТ» был исключён из модели, как статистически не значимый.

3.4. Обоснование возможности применения разработанной методики в персонализированной оценке состояния кожной микроциркуляции

При анализе с какой частотой обследуемые из групп 1 и 2 получили оценку вероятности наличия нарушений микроциркуляции $< 50\%$ и $\geq 50\%$ при классификации по формуле 11, было показано, что использование формулы позволяет снижать количество ошибок классификации пациентов по группам с нарушениями (Группа 2) и без них (Группа 1) (таблица 19).

Таблица 19 – Результаты оценки вероятности наличия микроциркуляторных нарушений в группах 1 и 2 с помощью формулы (10), учитывающей половые особенности

	Обследуемые из группы 1 (n=39)	Обследуемые из группы 2 (n=34)
Вероятность нарушений МЦ $< 50\%$	37 (94,9 %)	3 (8,8 %)
Вероятность нарушений МЦ $\geq 50\%$	2 (5,1 %)	31 (91,2 %)

Таким образом, учёт пола в формуле 11 позволил увеличить чувствительность алгоритма с 85,3% до 91,2%, а специфичность с 87,2% до 94,9% по сравнению с формулой, не учитывающей половые особенности (Формула 10).

Для анализа применимости разработанных алгоритмов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) была набрана дополнительная группа 3, включающая 37 пациентов с артериальной гипертензией и/или стенокардией напряжения. Характеристика группы в сравнении с пациентами из групп 1 и 2 представлена в таблице (таблица 20).

Таблица 20 – Характеристика обследуемых без МЦ нарушений (группа 1), с нарушениями МЦ (группа 2) и с ССЗ (группа 3)

	Обследуемые из группы 1 (n=39)	Обследуемые из группы 2 (n=34)	Обследуемые из группы 3 (n=37)
Пол, Ж, n (%) / М, n (%)	28 (71,8%) / 11 (28,2%)	25 (73,5%) / 9 (26,5%)	18 (48,6%) / 19 (51,4%)
Возраст, лет, М ± SD	26,5 ± 3,4	54,5 ± 12,9	61,9 ± 10,3
ИМТ, кг/м ² , М ± SD	22 ± 3,2	30,7 ± 6,8	28,1 ± 4,2
Холестерин, М ± SD	4,52 ± 0,72	5,7 ± 1,51	5,89±1,16
НbA1c, %, М ± SD	-	8,9 ± 1,8	5,2±0,2
Артериальная гипертензия, n (%)	-	33 (97,1%)	35 (94,6%)
Стенокардия напряжения, n (%)	-	14 (41,2%)	23 (62,2%)
Наличие диабетической ретинопатии, n (%)	-	34 (100%)	-
Наличие диабетической нефропатии, n (%)	-	32 (94,1%)	-
Наличие диабетической полинейропатии, n (%)	-	34 (100%)	-

При сравнении показателей микроциркуляции в трёх группах, статистически значимые попарные различия между группами были получены по следующим показателям: ПОРГн, площадь под МЦ кривой за 2, 3, 4 мин, сосудистая

проводимость в момент нагрева (ЛТГ / СрАД), прирост сосудистой проводимости в момент включения нагрева ((ЛТГ-БП) / СрАД) (таблица 21).

Была оценена возможность применимости разработанного параметра для оценки вероятности наличия нарушений (формула 10) не только у пациентов с СД (Группа 2), но и у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями (Группа 3). Для каждого пациента была рассчитана вероятность наличия микроциркуляторных нарушений (рисунок 25).

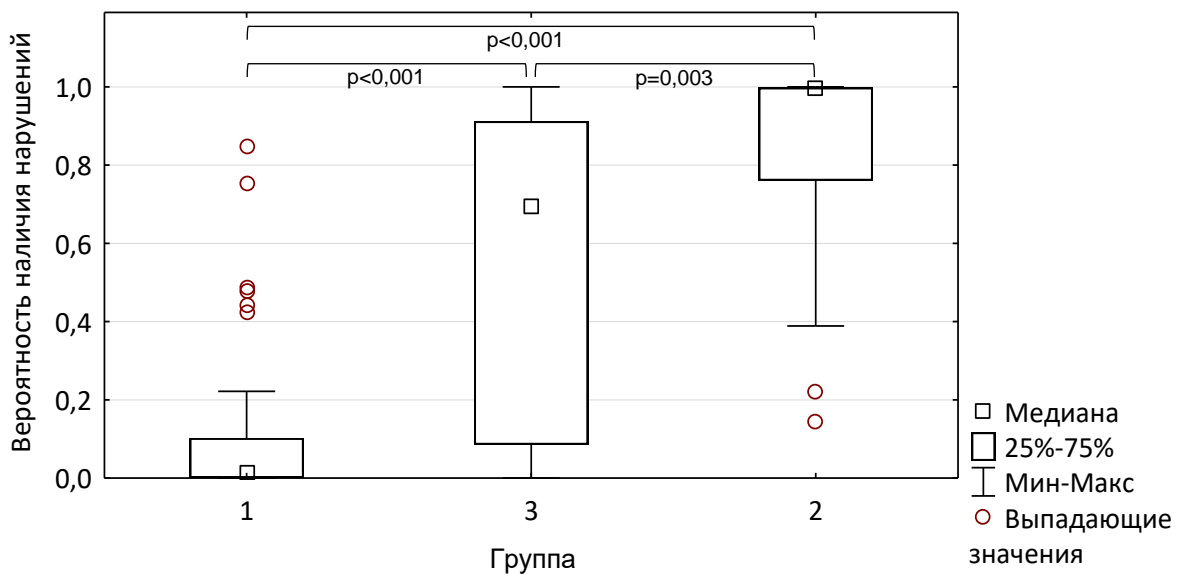


Рисунок 25 – Вероятность наличия микроциркуляторных нарушений, оцененная с помощью разработанного алгоритма

Этот показатель значительно различался во всех группах: максимальные значения наблюдались в группе пациентов с СД и клиническими признаками микроциркуляторных нарушений (группа 2), минимальные – в контрольной группе (группа 1). Вероятности наличия микроциркуляторных нарушений у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями распределились в диапазоне от 0 до 1.

Таблица 21 – Результаты проведения окклюзионно-тепловой пробы в трёх группах пациентов

	Обследуемые из группы 1 (n=39)	Обследуемые из группы 3 (n=37)	Обследуемые из группы 2 (n=34)	Значение p*
БП, п.е.	4,09 ± 2,13 3,51 [2,58; 5,14]	6,46 ± 5,09 4,76 [3,12; 8,98]	3,92 ± 2,28 3,54 [2,55; 4,65]	p ₁₋₃ =0,087; p ₂₋₃ =0,03; p ₁₋₂ =1,0
ЛТГ, п.е.	24,21 ± 7,17 22,6 [19,75; 25,7]	20,33 ± 5,86 20,2 [16,89; 23,3]	14,27 ± 4,25 13,73 [11,54; 16,65]	p ₁₋₃ =0,074; p ₂₋₃ <0,001; p ₁₋₂ <0,001
ПОРГ _н , п.е.	27,73 ± 7,55 26,45 [23,3; 29,15]	21,13 ± 5,36 20,75 [16,3; 25,12]	16,12 ± 5,11 15,97 [12,59; 19,13]	p ₁₋₃ =0,004; p ₂₋₃ =0,017; p ₁₋₂ <0,001
ЛТГ/БП	7,21 ± 3,58 6,43 [4,45; 9,61]	4,68 ± 3,16 3,64 [2,45; 5,41]	4,67 ± 2,99 3,89 [2,97; 5,16]	p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ =1,0; p ₁₋₂ <0,001
ПОРГ _н /БП	8,22 ± 4,59 6,87 [4,88; 10,47]	5,17 ± 3,71 3,98 [2,65; 5,96]	5,14 ± 3,66 4,03 [3,05; 5,79]	p ₁₋₃ =0,001; p ₂₋₃ =1,0; p ₁₋₂ =0,001
Наклон кривой (2 мин)	1,64 ± 0,51 1,46 [1,28; 1,9]	1,11 ± 0,44 1,03 [0,77; 1,3]	0,86 ± 0,32 0,78 [0,7; 0,98]	p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ =0,074; p ₁₋₂ <0,001
Наклон кривой (3 мин)	0,92 ± 0,31 0,86 [0,68; 1,13]	0,61 ± 0,25 0,57 [0,44; 0,76]	0,49 ± 0,21 0,45 [0,38; 0,6]	p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ =0,148; p ₁₋₂ <0,001
Наклон кривой (4 мин)	0,55 ± 0,21 0,48 [0,4; 0,67]	0,38 ± 0,16 0,38 [0,3; 0,43]	0,31 ± 0,15 0,28 [0,21; 0,37]	p ₁₋₃ =0,001; p ₂₋₃ =0,096; p ₁₋₂ <0,001

Продолжение таблицы 21

Площадь под кривой (2 мин)	1714,8 ± 662,9 1652 [1254; 1882]	1140,8 ± 402,1 1067 [813; 1433]	811,7 ± 298 801 [634; 978]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,005$; $p_{1-2} < 0,001$
Площадь под кривой (3 мин)	2923,7 ± 1056 2774 [2273; 3243]	1935,7 ± 667,34 1801 [1454; 2303]	1336,79 ± 560,47 1319 [1059; 1666]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,005$; $p_{1-2} < 0,001$
Площадь под кривой (4 мин)	4105,62 ± 1469,95 3776 [3113; 4593]	2739,91 ± 941,17 2539 [1964; 3324]	1915,49 ± 767,77 1862 [1491; 2389]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,004$; $p_{1-2} < 0,001$
БП / СрАД	0,05 ± 0,03 0,04 [0,03; 0,07]	0,07 ± 0,06 0,05 [0,03; 0,09]	0,04 ± 0,03 0,04 [0,03; 0,05]	$p_{K-W} = 0,125$
ЛТГ / СрАД	0,28 ± 0,08 0,27 [0,24; 0,31]	0,21 ± 0,06 0,21 [0,17; 0,25]	0,15 ± 0,05 0,14 [0,12; 0,16]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,003$; $p_{1-2} < 0,001$
ПОРГ _н / СрАД	0,32 ± 0,09 0,31 [0,26; 0,35]	0,22 ± 0,06 0,21 [0,17; 0,27]	0,17 ± 0,07 0,15 [0,13; 0,19]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,085$; $p_{1-2} < 0,001$
(ЛТГ-БП) / СрАД	0,24 ± 0,08 0,22 [0,18; 0,26]	0,14 ± 0,05 0,14 [0,1; 0,17]	0,11 ± 0,04 0,1 [0,08; 0,12]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,027$; $p_{1-2} < 0,001$
(ПОРГ _н - БП) / СрАД	0,27 ± 0,08 0,26 [0,22; 0,3]	0,16 ± 0,06 0,15 [0,11; 0,19]	0,13 ± 0,06 0,1 [0,09; 0,16]	$p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} = 0,388$; $p_{1-2} < 0,001$
(ПОРГ _н - ЛТГ) / СрАД	0,04 ± 0,03 0,04 [0,02; 0,06]	0,02 ± 0,04 0,02 [0,01; 0,03]	0,02 ± 0,03 0,01 [0; 0,03]	$p_{1-3} = 0,075$; $p_{2-3} = 0,619$; $p_{1-2} < 0,001$

* – значение $p < 0,05$, апостериорные попарные сравнения критерием Данна с поправкой Бонферрони.

Классифицирующий алгоритм был разработан для выявления выраженных микроциркуляторных нарушений, однако он показывает рост вероятности наличия нарушений и у пациентов с заболеваниями, повышающими риск поражения микроциркуляторного русла, но без клинических признаков нарушений.

Так, например, у здорового обследуемого С.В.В. (32 года, мужчина) при оценке микроциркуляции по описанному выше алгоритму была получена вероятность наличия нарушений МЦ, равная 0, что свидетельствует об отсутствии нарушений.

У пациента С.Ю.И., (54 года, мужчина) с гипертонической болезнью II степени, 2 стадии была выявлена вероятность наличия нарушений, равная 0,41: наличие артериальной гипертонии привело к снижению показателя сосудистой проводимости и реакции микроциркуляторного русла на нагрев.

У пациентки Н.Т.И. (81 год, женщина) с диагнозом «ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения II ФК, гипертоническая болезнь II ст. 2 ст., хроническая сердечная недостаточность II ФК по NYHA» на фоне выраженного поражения сердечно-сосудистой системы вероятность наличия нарушений составила 0,77.

Высокая вероятность наличия микроциркуляторных нарушений выявляется у пациентов с сахарным диабетом. Так, например, у пациентки Т.В.П., (58 лет, женщина, диагноз: сахарный диабет 2 типа, диабетическая полинейропатия, дистальный тип, сенсо-моторная форма, гипертоническая болезнь II ст. 2 ст.) значение показателя составило 0,96.

У пациентов с выявленными микроангиопатиями уровень данного показателя растёт наиболее значительно: У пациентки З.В.П., (66 лет) с диагнозом «Сахарный диабет 2 типа, пролиферативная диабетическая ретинопатия обоих глаз, диабетическая нефропатия, хроническая болезнь почек С4А3, диабетическая полинейропатия, дистальный тип, сенсо-моторная форма, ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения III ФК гипертоническая болезнь III ст. 2 ст.»

вероятность наличия нарушений, оцененная с помощью разработанной методики и алгоритма, составила 1,0.

Таким образом, разработанный алгоритм проведения функциональной окклюзионно-тепловой пробы и расчёта пострегистрационных параметров, характеризующих реактивность микроциркуляторного русла, позволяет оценивать вероятность наличия микроциркуляторных нарушений у пациентов с заболеваниями, ассоциированными с поражением микроциркуляторного русла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микроциркуляторные нарушения являются звеном патогенеза множества заболеваний. Нарушения в функционировании микроциркуляторного русла наблюдаются при старении, сердечно-сосудистых заболеваниях, сахарном диабете и его осложнениях. Актуальной научной задачей является разработка и усовершенствование способов неинвазивной оценки состояния микроциркуляции в клинической практике с целью своевременного выявления микроциркуляторных нарушений.

Метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) позволяет неинвазивно и количественно оценивать кожную микроциркуляцию, отражающую системное состояние микрокровотока. Метод ЛДФ зарекомендовал себя в научных исследованиях, однако не получил широкого распространения в клинической практике для исследования микроциркуляции у конкретного пациента.

В ходе настоящей работы, направленной на улучшение диагностических характеристик метода ЛДФ в персонализированной оценке микроциркуляции, решали следующие задачи. Были сформулированы и обоснованы критерии применимости ЛДФ в персонализированной оценке состояния микроциркуляции. Были предложены физиологически обоснованные подходы к увеличению чувствительности и специфичности метода ЛДФ. Была разработана методика проведения функциональных проб и пострегистрационного алгоритма расчёта показателей, характеризующих состояние микроциркуляторного русла. Была обоснована возможность применения разработанных алгоритмов в персонализированной оценке состояния кожной микроциркуляции на примере здоровых лиц и пациентов с микроциркуляторными нарушениями различного генеза.

В работе было показано, что показатель «стандартизованная разность средних» (СРС) является информативным в оценке диагностической значимости методов неинвазивной оценки микроциркуляции и может быть использован в

качестве критерия для изучения возможности персонализированной оценки микроциркуляции методом ЛДФ. Рост модуля СРС свидетельствует о росте площади под ROC-кривой, ожидаемой чувствительности и специфичности теста – увеличении диагностических характеристик параметра при его персонализированном применении. Для достижения ожидаемых чувствительности и специфичности теста >70% модуль СРС должен быть выше 1,05, для >80% – выше 1,68, для >90% – выше 2,56.

Далее было обследовано 248 человек, разделённых на три группы. В группу 1 входили здоровые лица (105 человек), в группу 2 входили пациенты с клиническими признаками нарушений микроциркуляции (106 пациентов), в 3 группу были включены пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями (37 человек).

Кожную микроциркуляцию крови исследовали методом ЛДФ с помощью комплексов ЛАКК-02 и ЛАКК-тест. На первом этапе оценивали возможности различных функциональных проб и рассчитываемых показателей микроциркуляции проводить классификацию обследуемых по группам без нарушений (группа 1) и с нарушениями микроциркуляции (группа 2). В ходе анализа ЛДФ-грамм, помимо средних арифметических значений базовой перфузии (БП), перфузии в период восстановления (ПВ) и значений перфузии в момент функциональных воздействий, были рассчитаны дополнительные параметры: относительные изменения перфузии, площади под участками микроциркуляторной кривой и наклоны участков микроциркуляторной кривой.

В результате сравнения различных видов функциональных воздействий было выявлено, что наибольшие относительные изменения перфузии в момент проведения пробы наблюдаются при проведении тепловых и окклюзионно-тепловых проб. Кроме того, эти пробы позволяют выявлять наиболее выраженные различия между лицами с нарушениями микроциркуляции и без них. По результатам анализа различных видов проб было показано, что наибольшей

диагностической информативностью обладает нагрев на скорости 1,5 °С/сек, который может быть дополнен проведением окклюзионной пробы.

На втором этапе проводили доработку методики исследования микроциркуляции. Была разработана методика проведения окклюзионно-тепловой пробы и предложен алгоритм пострегистрационного расчёта параметров, характеризующих проводимость сосудов микроциркуляторного русла. Показано, что окклюзионно-тепловая проба позволяет снижать коэффициенты вариабельности измерений: индивидуальной (с 47% до 20%) и групповой (с 53% до 24%). Рассчитанный показатель прироста сосудистой проводимости в момент нагрева продемонстрировал высокие значения СРС: 2,17 (1,39; 2,96).

Далее изучали возможность персонализированного применения разработанной методики и алгоритма на группах 1, 2 и 3. Разработан способ персональной оценки вероятности наличия микроциркуляторных нарушений. Показано что учёт пола в качестве фактора, влияющего на состояние микроциркуляции, позволяет выявлять микроциркуляторные нарушения с чувствительностью и специфичностью до 91,2% и 94,9%. С включением пациентов с ССЗ показано, что показатель прироста сосудистой проводимости может быть использован для выявления микроциркуляторных нарушений не только у лиц с СД, но и у пациентов с ССЗ.

Таким образом, разработанный алгоритм проведения функциональной окклюзионно-тепловой пробы и расчёта пострегистрационных параметров, характеризующих реактивность микроциркуляторного русла, позволяет оценивать степень выраженности микроциркуляторных нарушений у пациентов с поражениями микроциркуляции различного генеза.

ВЫВОДЫ

1. Для оценки возможности применения методов неинвазивной оценки кровотока в персонализированном исследовании микроциркуляции может быть использован параметр «стандартизованная разность средних». Значение модуля СРС, равное 1,05 свидетельствует об ожидаемой чувствительности и специфичности анализируемого параметра выше 70%, 1,68 – выше 80%, 2,56 – выше 90%.
2. Повышение чувствительности и специфичности метода ЛДФ в персонализированной оценке микроциркуляции может быть достигнуто применением тепловых проб с быстрым нагревом в комбинации с другими видами воздействий, и расчётом параметров, характеризующих динамические изменения микроциркуляции в момент проведения пробы. Параметры, рассчитываемые в результате проведения тепловой и комбинированных постурально-тепловой и окклюзионно-тепловой проб, обладают значениями СРС (95% ДИ), равными 1,57 (0,74; 2,41), 1,20 (0,409; 1,99) и 1,12 (0,17; 2,07), соответственно.
3. Разработанный алгоритм проведения окклюзионно-тепловой пробы и пострегистрационного расчёта параметров, характеризующих реактивность микроциркуляторного русла, позволяет снижать индивидуальный (с 47% до 20%) и групповой (с 53% до 24%) коэффициенты вариабельности измерений. Параметр, характеризующий прирост сосудистой проводимости в момент теплового воздействия обладает наиболее высокими значениями СРС – 2,17 (1,39; 2,96).
4. Разработанная методика позволяет проводить персонализированную оценку состояния микроциркуляции у пациентов с системными микроциркуляторными нарушениями с чувствительностью и специфичностью до 91,2% и 94,9%, соответственно, и рассчитывать вероятность наличия микроциркуляторных нарушений у конкретного пациента.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки возможности применения неинвазивных методов исследования кровотока в диагностике микроциркуляторных нарушений, наряду с ROC-анализом, может быть использован показатель СРС. Данный показатель позволяет без доступа к первичным данным проанализировать площадь перекрытия распределений анализируемых параметров и на основании этого предположить ожидаемые значения чувствительности, специфичности.
2. Для достижения методом ЛДФ высокой чувствительности и специфичности в выявлении нарушений микроциркуляции рекомендуется использовать тепловую и окклюзионно-тепловую пробы со скоростью нагрева $\sim 1,5-2^{\circ}\text{C}/\text{с.}$, рассчитывать показатели, характеризующие динамические изменения параметров микроциркуляции (такие, как площадь под графиком зависимости микроциркуляции от времени или наклон участка графика, изменения сосудистой проводимости);
3. При количественной оценке вероятности наличия микроциркуляторных нарушений у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом рекомендуется учитывать влияние пола. Включение пола в модель логистической регрессии позволяет повысить чувствительность в выявлении микроциркуляторных нарушений с 85,3% до 91,2%, а специфичность с 87,2% до 94,9%.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГ – артериальная гипертензия;
- БП – базовая перфузия;
- ДАД – диастолическое артериальное давление;
- ДИ – доверительный интервал;
- ИБС – ишемическая болезнь сердца;
- ИМТ – индекс массы тела;
- ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия;
- ЛТГ – локальная тепловая гиперемия;
- МЦ – микроциркуляция;
- ПВ – перфузия в период восстановления;
- ПОРГ – постокклюзионная реактивная гиперемия;
- ПОРГн – постокклюзионная реактивная гиперемия на фоне нагрева;
- СД – сахарный диабет;
- САД – систолическое артериальное давление;
- СрАД – среднее артериальное давление;
- СРС – стандартизованная разность средних;
- ССЗ – сердечно-сосудистое заболевание;
- AUC – площадь под кривой;
- HbA1c – гликированный гемоглобин;
- LQ – нижний квартиль;
- M – среднее арифметическое значение;
- Me – медиана;
- n – количество наблюдений;
- SD – стандартное отклонение;
- UQ – верхний квартиль.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабошина, Н.В. Особенности функционирования системы микроциркуляции у лиц обоего пола на разных возрастных этапах / Н.В. Бабошина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Физиология человека. – 2018. – Т. 44, №. 4. – С. 107-115.
2. Бойко, В.В. Атеросклероз и микроциркуляция. Результаты пилотного исследования микроциркуляции у пациентов с ишемической болезнью сердца / В.В. Бойко, Г.Н. Соболева, А.А. Федорович, Т.А. Кирдяшкина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2016. – Т. 11, №. 2. – С. 48-55.
3. Бойко, В.В. Влияние розувастатина на показатели микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца / В.В. Бойко, Г.Н. Соболева, А.А. Федорович. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2017. – Т. 12, №. 1. – С. 26-31.
4. Быков, В.Л. Частная гистология человека / В.Л. Быков. – Санкт-Петербург: Сотис, 1999. Вып. 2. – 300 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.
5. Власов, Т.Д. Механизмы гуморальной регуляции сосудистого тонуса, Часть 2 / Т.Д. Власов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2002. – Т. 1, №. 4. – С. 68–73.
6. Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке состояния микрогемолимфоциркуляции / В.В. Дрёмин, И.О. Козлов, Е.А. Жеребцов [и др.] – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, №. 4. – С. 42-49.
7. Возможности применения сочетанных методов оптической неинвазивной диагностики при исследовании жизнеспособности тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом / В.В. Дрёмин, Е.В. Дрёмина, Е.В. Жарких [и др.] – Текст (визуальный) : непосредственный // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2016. – Т. 1, №. 315. – С. 136.

8. Возрастные параметры нормы компьютерной капилляроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова, А.Н. Герасимов [и др.] – Текст (визуальный) : непосредственный // Вопросы практической педиатрии. – 2018. – Т. 13, №. 1. – С. 40-44.
9. Гурова, О.А., Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) в исследовании реактивности микроциркуляции у испытуемых разного пола / О.А. Гурова, В.И. Козлов, С.М. Рыжакин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Лазерная медицина. – 2016. – Т. 20, №. 3. – С. 102-102
10. Запрягаева, М.Е. Функциональное состояние эндотелия и его роль в патогенезе некоторых ревматических заболеваний / М.Е. Запрягаева, Э.С. Мач. – Текст (визуальный) : непосредственный // Научно-практическая ревматология. – 2003. – №. 3. – С. 60–62.
11. Значение новых лазерных технологий в диагностике профессиональных заболеваний / П.Н. Любченко, Л.И. Дмитрук, В.Н. Карпов [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицина труда и промышленная экология. – 2007. – №. 11. – С. 33–35.
12. Золотовская, И.А. Возможности фармакологической коррекции структурно-функциональных изменений микроциркуляции в условиях эндотелиальной дисфункции у коморбидных больных, перенесших инсульт / И.А. Золотовская, И.Л. Давыдкин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиницист. – 2016. – Т. 10, №. 2. – С. 32-42.
13. Камкин, А.Г. Фундаментальная и клиническая физиология / А.Г. Камкин, А.А. Каменский. – Москва: Академия, 2004. – 1072 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.
14. Клинкова, А.С. Резервы микроциркуляции и реактивность тканевого метаболизма у больных ИБС при различной стадии хронической сердечной недостаточности / А.С. Клинкова, О.В. Каменская. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2016. – Т. 8, № 136. – С. 42–47.

15. Козлов, В.И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови / В.И. Козлов. – Москва: РУДН, 2012. – 32 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.
16. Коцлова, А.А. Локальные изменения в оценке состояния микроциркуляции при нейроишемической и нейропатической формах синдрома диабетической стопы / А.А. Коцлова, В.В. Давыденко, Т.Д. Власов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Лазерная медицина. – 2016. – Т. 20, №. 2. – С. 5-12.
17. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем. Колебания, информация, нелинейность. Руководство для врачей / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – Москва: Книжный дом “Либроком,” 2013. – 496 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.
18. Лапитан, Д.Г. Функциональные исследования системы микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии в клинической медицине: проблемы и перспективы / Д.Г. Лапитан, Д.А. Рогаткин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44, №. 2. – С. 249–259.
19. Мелькумянц, А.М. Влияние повреждения эндотелиального гликокаликса на способность артерий регулировать свой просвет при изменениях скорости кровотока / А.М. Мелькумянц, С.А. Балашов, И.В. Гончар. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. – 2017. – Т. 103, №. 12. – С. 1370–1376.
20. Мельник, С.Н. Физиология кровообращения: учеб.-метод. пособие для студентов 2 курса всех фак-тов мед. вузов / С. Н. Мельник . – Гомель: ГомГМУ, 2017. – 88 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.
21. Метод инфракрасной термометрии в оценке течения послеоперационного периода при пластике брюшной стенки по поводу грыж / В.В. Паршиков, Ю.П. Потехина, В.В. Петров [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные технологии в медицине. – 2011., №. 1. – С. 99–101.
22. Мизева, И.А., Комплекс неинвазивных экспериментальных методик для

мониторинга системы микрогемоциркуляции / И.А. Мизева, Д.С. Голдобин, Д.В. Айрих. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2017. – №. 3. – С. 42-46.

23. Нарушения микроциркуляции кожи у больных с артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от стадии хронической болезни почек / М.Е. Стаценко, М.В. Деревянченко, М.Н. Титаренко, О.Р. Пастухова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Нефрология. – 2015. – Т. 19, №. 5. – С. 57–63.

24. Оптическая диагностика сосудистых реакций, вызываемых слабыми аллергенами, методом лазерной спекл-контрастной визуализации / Ю.Л. Кузнецов, В.В. Кальченко, Н.Г. Астафьева, И.В. Меглинский. – Текст (визуальный) : непосредственный // Квантовая электроника. – 2014. – Т. 44, №. 8. – С. 713–718.

25. Оптическая неинвазивная диагностика функционального состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической микрогемодинамики / Е.В. Жарких, И.Н. Маковик, Е.В. Потапова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, №. 3. – С. 23-32.

26. Показатели эндотелиальной дисфункции у больных с синдромом диабетической стопы / П.А. Герасимчук, П.В. Кисиль, В.Г. Власенко, А.В. Павлышин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – Т. 69, №. 5–6. – С. 107–110.

27. Покровский, В.М. Физиология человека / В. М. Покровский / под ред. В.М. Покровский, Г.Ф. Коротько. – Москва: “Медицина,” 1997. – 448 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

28. Рассказов, Н.И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке кожной микроциркуляции / Н.И. Рассказов, Г.А. Трубников, Л.П. Воронина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2004. – №. 2. – С. 23-26.

29. Рогаткин, Д.А. Физические основы современных оптических методов

исследования микрогемодинамики *in vivo*. Лекция / Рогаткин, Д.А. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медицинская физика. – 2017. – Т. 4, №. 76. – С. 75-93.

30. Роль эндотелиального гликокаликса в механогенной регуляции тонуса артериальных сосудов / И.В. Гончар, С.А. Балашов, И.А. Валиев [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Труды Московского физико-технического института. – 2017. – Т. 9, №. 1. – С. 101–108.

31. Сагайдачный, А.А. Оклюзионная проба: методы анализа, механизмы реакции, перспективы применения / А.А. Сагайдачный. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, №. 3. – С. 5-22.

32. Сидоров, В.В. Диагностический подход для оценки состояния микроциркуляторно-тканевой системы с использованием лазерных технологий и температурной функциональной пробы / В.В. Сидоров, Ю.А. Рыбаков, В.М. Гукасов, – Текст (визуальный) : непосредственный // Инноватика и экспертиза. – 2018. – Т. 1, №. 22. – С.135-142

33. Современные возможности неинвазивного контроля микроциркуляции и обмена веществ у человека / А.А. Федорович, А.Г. Багдасарян, И.Г. Учкин [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, №. 1. – С. 7-18.

34. Состояние крупных артерий и сосудов микроциркуляторного русла кожи у больных артериальной гипертонией высокого и очень высокого риска и влияние на них антигипертензивной терапии / Е.В. Мордвинова, Е.В. Ощепкова, А.А. Федорович [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Системные гипертензии. – 2016. – Т. 13, №. 2. – С. 11-16.

35. Ступникова, О.Н. Метод лазерной доплеровской флоуметрии и его возможности в оценке изменений микроциркуляции суставов при ревматоидном артрите / О.Н. Ступникова, Ю.С. Ландышев. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2007. – Т. 69,

№. 2. – С. 14-18.

36. Тихомирова, И.А. Возможности метода лазерной доплеровской флуометрии в оценке возрастных особенностей функционирования системы микроциркуляции / И.А. Тихомирова, Н.В. Бабошина, С.С. Терехин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, №. 3. – С. 80-86.

37. Фазовая синхронизация колебаний кожного кровотока человека при асимметричном локальном нагреве / А.В. Танканаг, А.А. Гриневич, И.В. Тихонова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Биофизика. – 2017. – Т. 62, №. 4. – С. 769-776.

38. Федорович, А.А. Микрососудистое русло кожи человека как объект исследования / А.А. Федорович. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, №. 4. – С. 11-26.

39. Шадрина, Н.Х. Влияние концентрации кислорода на местную регуляцию кровотока напряжением сдвига / Н.Х. Шадрина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2016. – Т. 15, №. 2. – С. 60-64.

40. Шинкин, М.В. Лазерная доплеровская флоуметрия и флуоресцентная спектроскопия как методы оценки доклинических проявлений синдрома диабетической стопы / М.В. Шинкин, Л.А. Звенигородская, А.М. Мкртумян. – Текст (визуальный) : непосредственный // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – №. 18. – С. 6-12.

41. Шмидт, Р. Физиология человека / Р. Шмидт, Г. Тевс. – Москва: Мир, 2010. – 875 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

42. Эпидемиология сахарного диабета / Г.У. Нурдинова, С.Г. Аvezова, Д.Б. Бердиева, Г.Ф. Шеркузиева. – Текст (визуальный) : непосредственный // International scientific review. – 2016., №. 7 (17). – С. 93–95.

43. A new approach to the analysis of skin blood flow oscillations in human / A. Grinevich, A. Tankanag, I. Tikhonova, N. Chemeris. – Text : visual // Microvascular

Research. – 2019. – V. 126. – P. 103889.

44. A novel role for myeloid endothelin-B receptors in hypertension / A. Czopek, R. Moorhouse, L. Guyonnet [et al.]. – Text : visual // *European Heart Journal*. – 2019. – V. 40, №. 9. – P. 768-784.

45. A prospective, longitudinal monocentric study on laser Doppler imaging of microcirculation: comparison with macrovascular pathophysiology and effect of adalimumab treatment in early rheumatoid arthritis / L. Dávida, V. Pongrácz, E.A. Mohamed [et al.]. – Text : visual // *Rheumatology International*. – 2020. – V. 40, №. 3. – P. 415-424.

46. Abnormal Endothelium-Dependent Vascular Relaxation in Patients with Essential Hypertension / J.A. Panza, A.A. Quyyumi, J.E. Brush, S.E. Epstein. – Text : visual // *New England Journal of Medicine*. – 1990. – V. 323, №. 1. – P. 22-27.

47. Alemayehu, D. Applications of ROC Analysis in Medical Research. Recent Developments and Future Directions . – Text : visual // *Acad. Radiol.* – 2012. – V. 19., №. 12. – P. 1457-1464.

48. Algotsson, A. Influence of age and gender on skin vessel reactivity to endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators tested with iontophoresis and a laser Doppler perfusion imager. / A. Algotsson, A. Nordberg, B. Winblad. – Text : visual // *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*. – 1995. – V. 50, №. 2. – P. M121-M127.

49. Alterations in skin microvascular function in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis / E. Klimek, J. Sulicka, B. Gryglewska [et al.]. – Text : visual // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. – 2017. – V. 65, №. 1. – P. 77-91.

50. Altered C-fiber function as an indicator of early peripheral neuropathy in individuals with impaired glucose tolerance / A.Q. Green, S. Krishnan, F.M. Finucane, G. Rayman. – Text : visual // *Diabetes Care*. – 2010. – V. 33, №. 1. – P. 174-176.

51. Andrian, U.H. *Microcirculation* / U. H. Andrian / под ред. R. Tuma, W. Duran, K. Ley. – Academic Press, 2008. – 1000 p. – Text : visual.

52. Angiogenesis and vasculogenesis are impaired in the precocious-aging klotho

- mouse / T. Shimada, Y. Takeshita, T. Murohara [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2004. – V. 110, №. 9. – P. 1148-1155.
53. Antonios, T.F. Microvascular angina in essential hypertension / T.F. Antonios // *Chest Pain with Normal Coronary Arteries* / ed.: J.C. Kaski, G.D. Eslick, C.N.B. Merz. – Springer-Verlag London Ltd, 2013. – 356 p. – Text : visual.
54. Assessment of cutaneous microcirculation by laser Doppler flowmetry in type 1 diabetes / M. Sorelli, P. Francia, L. Bocchi [et al.]. – Text : visual // *Microvascular Research*. – 2019. – V. 124. – P. 91-96.
55. Assessment of endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance during a cold pressor test / E. Smirnova, S. Podtaev, I. Mizeva, E. Loran. – Text : visual // *Diabetes and Vascular Disease Research*. – 2013. – V. 10, №. 6. – C. 489-497.
56. Atehortúa, L. Endothelial Alterations in Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis: Potential Effect of Monocyte Interaction. / L. Atehortúa. – Text : visual // *Mediators Inflamm*. – 2017. – V. 2017. – P. 1-12.
57. Attenuated systemic microvascular function in men with coronary artery disease is associated with angina but not explained by atherosclerosis / W.D. Strain, A.D. Hughes, J. Mayet [et al.]. – Text : visual // *Microcirculation*. – 2013. – V. 20, №. 7. – P. 670-677.
58. Attenuation of microvascular function in those with cardiovascular disease is similar in patients of Indian Asian and European descent / W.D. Strain, A.D. Hughes, J. Mayet [et al.]. – Text : visual // *BMC Cardiovascular Disorders*. – 2010. – V. 10. – P. 1-6.
59. Backer, D. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: Current methods and future approaches / D. Backer. – Text : visual // *Intensive Care Med*. – 2010. – V. 36., №. 11. – 1813-1825c.
60. Bayliss, W.M. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure / W.M. Bayliss. – Text : visual // *The Journal of Physiology*. – 1902. – V. 28, №. 3. – P. 220-231.
61. Boas, D.A. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics / D.A. Boas, A.K. Dunn. – Text : visual // *Journal of Biomedical Optics*. – 2010. – V. 15, №. 1. – P. 1-10.

62. Brennan, L.J. Vascular Dysfunction in Preeclampsia / L.J. Brennan, J.S. Morton, S.T. Davidge. – Text : visual // Microcirculation. – 2014. – V. 21, №. 1. – P. 4-14.
63. Briers, J.D. Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging / J.D. Briers. – Text : visual // Physiol. Meas. – 2001. – V. 22., №. 4. – P. R35.
64. Bruning, R.S. Altered skin flowmotion in hypertensive humans / R.S. Bruning, W.L. Kenney, L.M. Alexander. – Text : visual // Microvascular Research. – 2015. – V. 97. – P. 81-87.
65. Brunt, V.E. Cutaneous thermal hyperemia: More than skin deep / V.E. Brunt, C.T. Minson. – Text : visual // J. Appl. Physiol. – 2011. – V. 111., №. 1. – P. 5-7.
66. Cankar, K. Gender differences in cutaneous laser doppler flow response to local direct and contralateral cooling. / K. Cankar, Z. FINDERLE, M. STRUCL. – Text : visual // Journal of vascular research. – 2000. – V. 37, №. 3. – P. 183-188.
67. Capillaroscopy: A Valuable Diagnostic Tool / S.S. Ocampo-Garza, M.A. Villarreal-Alarcón, A. V. Villarreal-Treviño, J. Ocampo-Candiani. – Text : visual // Actas Dermo-Sifiliograficas. – 2019. – V. 110, №. 5. – P. 347-352.
68. Capillary Rarefaction as an Index for the Microvascular Assessment of Hypertensive Patients / A. Triantafyllou, P. Anyfanti, A. Pырpasopoulou [et al.]. – Text : visual // Current Hypertension Reports. – 2015. – V. 17, №. 5. – P. 33.
69. Cardoso, A.L. Towards frailty biomarkers: Candidates from genes and pathways regulated in aging and age-related diseases / A.L. Cardoso. – Text : visual // Ageing Res. Rev. – 2018. – V. 47. – P. 214-277.
70. Cheng, J.P.X. Caveolae: One Function or Many? / J.P.X. Cheng . – Text : visual // Trends Cell Biol. – 2016. – V. 26., №. 3. – P. 177-189.
71. Clinical assessment of endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: A meta-analysis of literature studies / M.N.D. Di Minno, P. Ambrosino, R. Lupoli [et al.]. – Text : visual // European Journal of Internal Medicine. – 2015. – V. 26, №. 10. – P. 835-842.
72. Cracowski, J.-L. Current Methods to Assess Human Cutaneous Blood Flow: An

- Updated Focus on Laser-Based-Techniques / J.-L. Cracowski, M. Roustit. – Text : visual // *Microcirculation*. – 2016. – V. 23, №. 5. – P. 337-344.
73. Cutolo, M. The contribution of capillaroscopy to the differential diagnosis of connective autoimmune diseases. / M. Cutolo. – Text : visual // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* – 2007. – V. 21., №. 6. – P. 1093-1108
74. Dependence of human forearm skin postocclusive reactive hyperemia on occlusion time / G.B.Y. Tee, A.H.G. Rasool, A.S. Halim, A.R.A. Rahman. – Text : visual // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2004. – V. 50, №. 1. – P. 73-78.
75. Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes / A.I. Vinik, T. Erbas, T.S. Park [et al.]. – Text : visual // *Diabetes Care*. – 2001. – V. 24, №. 8. – P. 1468-1475.
76. Diabetic Neuropathy / A.I. Vinik, M.L. Nevoret, C. Casellini, H. Parson. – Text : visual // *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. – 2013. – V. 42, №. 4. – P. 747-787.
77. Differences in foot and forearm skin microcirculation in diabetic patients with and without neuropathy / S. Arora, P. Smakowski, R.G. Frykberg [et al.]. – Text : visual // *Diabetes Care*. – 1998. – V. 21, №. 8. – P. 1339-1344.
78. Dinh, T. Microcirculation of the Diabetic Foot / T. Dinh, A. Veves. – Text : visual // *Current Pharmaceutical Design*. – 2005. – V. 11, №. 18. – P. 2301–2309.
79. Does neuronal damage precede vascular damage in subjects with type 2 diabetes mellitus and having no clinical diabetic retinopathy? / A. Verma, R. Raman, K. Vaitheeswaran [et al.]. – Text : visual // *Ophthalmic Research*. – 2012. – V. 47, №. 4. – P. 202-207.
80. Dorobantu, M. Microcirculation: From bench to bedside / M. Dorobantu, L. Badimon. – Springer International Publishing, 2019.– 298 p. – Text : visual.
81. Duley, L. The Global Impact of Pre-eclampsia and Eclampsia / L. Duley. – Text : visual // *Semin. Perinatol.* – 2009. – V. 33., №. 3. – P. 130-137.
82. Early microvascular dysfunction in healthy normal-weight males with heredity for type 2 diabetes / G. Jorneskog, M. Kalani, J. Kuhl [et al.]. – Text : visual // *Diabetes Care*. – 2005. – V. 28, №. 6. – P. 1495-1497.

83. Ed Rainger, G. The role of platelets in the recruitment of leukocytes during vascular disease / G. Ed Rainger– Text : visual // Platelets. – 2015. – V. 26., №. 6. – P. 507-520.
84. Effects of aging and hypertension on the microcirculation / M.A. James, J. Tullett, A.G. Hemsley, A.C. Shore. – Text : visual // Hypertension. – 2006. – V. 47, №. 5. – P. 968-974.
85. Elherik, K.E. Differences in endothelial function and vascular reactivity between Scottish and Arabic populations. / K.E. Elherik, F. Khan, J.J. Belch. – Text : visual // Scottish medical journal. – 2003. – V. 48, №. 3. – P. 85-87.
86. Elimination of electrically induced iontophoretic artefacts: Implications for non-invasive assessment of peripheral microvascular function / W.R. Ferrell, J.E. Ramsay, N. Brooks [et al.]. – Text : visual // Journal of Vascular Research. – 2002. – V. 39, №. 5. – P. 447-455.
87. Endothelial dysfunction in hypertension / S. Taddei, A. Viridis, L. Ghiadoni [et al.]. – Text : visual // Journal of Nephrology. – 2000. – V. 13, №. 3. – P. 205-210.
88. Evidence for agonist-specific endothelial vasodilator dysfunction with ageing in healthy humans / C.A. DeSouza, C.M. Clevenger, J.J. Greiner [et al.]. – Text : visual // Journal of Physiology. – 2002. – V. 542, №. 1. – P. 255-262.
89. Factors critical to iontophoretic assessment of vascular reactivity: Implications for clinical studies of endothelial dysfunction / J.E. Ramsay, W.R. Ferrell, I.A. Greer, N. Sattar. – Text : visual // Journal of Cardiovascular Pharmacology. – 2002. – V. 39, №. 1. – P. 9-17.
90. Fedorovich, A.A. Characteristics of functional state of arteriolar and venular skin microvessels in patients with essential arterial hypertension / A.A. Fedorovich, A.N. Rogoza, N.M. Chikhladze. – Text : visual // Microvascular Research. – 2014. – V. 93. – P. 105-113.
91. Feher, A. Age-related impairment of conducted dilation in human coronary arterioles / A. Feher, Z. Broskova, Z. Bagi. – Text : visual // American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. – 2014. – V. 306, №. 12. – P. H1595-H1601.

92. Feihl, F. Hypertension: A disease of the microcirculation? / F. Feihl. – Text : visual // Hypertension. – 2006. – V. 48., №. 6. – P. 1012-1017.
93. Ferrari, A.U. Aging and the cardiovascular system / A.U. Ferrari. – Text : visual // J. Appl. Physiol. – 2003. – V. 95., №. 6. – P. 2591-2597.
94. Filingeri, D. Thermosensory micromapping of warm and cold sensitivity across glabrous and hairy skin of male and female hands and feet / D. Filingeri, H. Zhang, E.A. Arens. – Text : visual // Journal of Applied Physiology. – 2018. – V. 125, №. 3. – P. 723-736.
95. Fischer, T. Pregnancy-induced sympathetic overactivity: A precursor of preeclampsia / T. Fischer., H.P. Schobel, H. Frank – Text : visual // Eur J Clin Invest. – 2004. – V. 34, №6. – P. 443-448.
96. Frerichs, K.U. Laser-doppler flowmetry / K.U. Frerichs, G.Z. Feuerstein. – Text : visual // Molecular and Chemical Neuropathology. – 1990. – V. 12, №. 1. – P. 55-70.
97. Gartner, L.P. Handbook of histology / L. P. Gartner. – Philadelphia: Elsevier, 2017. Iss. 4. – 750 p. – Text : visual.
98. Giles, J.T. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: Current perspectives on assessing and mitigating risk in clinical practice / J.T. Giles. – Text : visual // Best Practice and Research: Clinical Rheumatology. – 2015. – V. 29, №. 4–5. – P. 597-613.
99. Glaudemans, A.W.J.M. The Diabetic Foot / A.W.J.M. Glaudemans, T.C. Kwee, R.H.J.A. Slart. – Text : visual // Current Pharmaceutical Design. – 2018. – V. 24, №. 12. – P. 1241-1242.
100. Gomes, M.B. Evaluation of microvascular endothelial function in patients with type 1 diabetes using laser-Doppler perfusion monitoring: Which method to choose? / M.B. Gomes, A.S.M. Matheus, E. Tibiriçá. – Text : visual // Microvascular Research. – 2008. – V. 76, №. 2. – P. 132-133.
101. Hall, J.E. Guyton and Hall textbook of medical physiology / ed.: J.E. Hall. – Philadelphia: Elsevier, 2016. – Vol. 13. – 1168 p. – Text : visual.
102. Head, K.A. Peripheral neuropathy: pathogenic mechanisms and alternative therapies. / K.A. Head. – Text : visual // Alternative medicine review : a journal of clinical

therapeutic. – 2006. – V. 11, №. 4. – P. 294-329.

103. Holowatz, L.A. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function / L.A. Holowatz, C.S. Thompson-Torgerson, W.L. Kenney. – Text : visual // Journal of Applied Physiology. – 2008. – V. 105, №. 1. – P. 370-372.

104. Hosmer Jr., D.W. Applied Logistic Regression / D. W. Hosmer Jr., S. Lemeshow, R. X. Sturdivant. – Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, In p. – Text : visual., 2013.– 510 p. – Text : visual.

105. Impaired microvascular function in obesity implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance / R.T. de Jongh, E.H. Serné, R.G. IJzerman [et al.]. – Text : visual // Circulation. – 2004. – V. 109, №. 21. – P. 2529-2535.

106. Impaired Pressure-Induced Vasodilation at the Foot in Young Adults with Type 1 Diabetes / A. Kořtka, P. Abraham, B. Bouhanick [et al.]. – Text : visual // Diabetes. – 2004. – V. 53, №. 3. – P. 721-725.

107. Impaired responsiveness to NO in newly diagnosed patients with rheumatoid arthritis / R. Bergholm, M. Leirisalo-Repo, S. Vehkavaara [et al.]. – Text : visual // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2002. – V. 22, №. 10. – P. 1637-1641.

108. Impaired skin microvascular function in children, adolescents, and young adults with type I diabetes / F. Khan, T.A. Elhadd, S.A. Greene, J.J.F. Belch. – Text : visual // Diabetes Care. – 2000. – V. 23, №. 2. – P. 215-220.

109. Impaired vasoconstriction of peripheral cutaneous blood flow in Type 1 diabetic patients following food ingestion. / M. Rossi, K. Lall, N. Standfield, A. Dornhorst. – Text : visual // Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association. – 1998. – V. 15, №. 6. – P. 463-466.

110. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin / R.G. IJzerman, R.T. de Jongh, M.A. Beijck [et al.]. – Text : visual // Eur J Clin Invest. – 2003. – V. 33, №. 7. – P. 536-542.

111. Investigation of skin vasoreactivity and blood flow oscillations in hypertensive patients: Effect of short-term antihypertensive treatment / M. Rossi, A. Bradbury, A.

- Magagna [et al.]. – Text : visual // *Journal of Hypertension*. – 2011. – V. 29, №. 8. – P. 1569-1576.
112. Jackson, D.N. Blunting of rapid onset vasodilatation and blood flow restriction in arterioles of exercising skeletal muscle with ageing in male mice / D.N. Jackson, A.W. Moore, S.S. Segal. – Text : visual // *Journal of Physiology*. – 2010. – V. 588, №. 12. – P. 2269-2282.
113. Jacob, M. Regulation of blood flow and volume exchange across the microcirculation / M. Jacob, D. Chappell, B.F. Becker. – Text : visual // *Critical Care*. – 2016. – V. 20, №. 1. – P. 1-13.
114. Jung, F. Microcirculation in hypertensive patients / F. Jung. – Text : visual // *Biorheology*. – 2013. – V. 50., №. 5–6. – P. 241-255.
115. Karbalaie, A. Practical issues in assessing nailfold capillaroscopic images: a summary / A. Karbalaie. – Text : visual // *Clin. Rheumatol.* – 2019. – V. 38., №. 9. – P. 2343-2354.
116. Khavkin, J. Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology / J. Khavkin, D.A.F. Ellis. – Text : visual // *Facial Plastic Surgery Clinics*. – 2011. – V. 19, №. 2. – P. 229-234.
117. Klabunde, R.E. Cardiovascular physiology concepts / R. E. Klabunde. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011. – 235 p. – Text : visual.
118. Kolarsick, P.A.J. Anatomy and physiology of the skin / P.A.J. Kolarsick, M.A. Kolarsick. – Text : visual // *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. – 2011. – V. 3, №. 4. – P. 203-213.
119. Lang, J.A. Age-related differences in the cutaneous vascular response to exogenous angiotensin ii / J.A. Lang, A.C. Krajek. – Text : visual // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. – 2019. – V. 316, №. 3. – P. H516-H521.
120. Larkin, S.W. Evidence for sensory nerve involvement in cutaneous reactive hyperemia in humans / S.W. Larkin, T.J. Williams. – Text : visual // *Circulation Research*. – 1993. – V. 73, №. 1. – P. 147-154.
121. Laser Doppler assessment of dermal circulatory changes in people with coronary

- artery disease / S.C. Agarwal, J. Allen, A. Murray, I.F. Purcell. – Text : visual // *Microvascular Research*. – 2012. – V. 84, №. 1. – P. 55–59.
122. Laser Doppler blood flowmeter as a useful instrument for the early detection of lower extremity peripheral arterial disease in hemodialysis patients: An observational study / T. Ishii, S. Takabe, Y. Yanagawa [et al.]. – Text : visual // *BMC Nephrology*. – 2019. – V. 20, №. 1. – P. 1-11.
123. Laser doppler imaging as additional monitoring after digital replanting: A prospective study / M. Schmid, S.M. Seyed Jafari, L. Haug [et al.]. – Text : visual // *Microsurgery*. – 2018. – V. 38, №. 6. – P. 627-633.
124. Leahy, M.J. Principles and practice of the laser-Doppler perfusion technique / M.J. Leahy. – Text : visual // *Technol. Heal. Care*. – 1999. – V. 7., №. 2–3. – P. 143-162.
125. Lee, D.K. Alternatives to P value: Confidence interval and effect size / D.K. Lee. – Text : visual // *Korean Journal of Anesthesiology*. – 2016. – V. 69, №. 6. – P. 555-562.
126. Liman, T.G. New vessels after stroke: Postischemic neovascularization and regeneration / T.G. Liman– Text : visual // *Cerebrovas c. Dis*. – 2012. – V. 33., №. 5. – P. 492-499.
127. López-Mejías, R. Cardiovascular risk assessment in patients with rheumatoid arthritis: The relevance of clinical, genetic and serological markers / R. López-Mejías. – Text : visual // *Autoimmun. Rev*. – 2016. – V. 15., №. 11. – P. 1013-1030.
128. Low, D.A. Historical reviews of the assessment of human cardiovascular function: interrogation and understanding of the control of skin blood flow . – Text : visual // *Eur. J. Appl. Physiol*. – 2020. – V. 120., №. 1. – P. 1-16.
129. Mahbub, M. Review of different quantification methods for the diagnosis of digital vascular abnormalities in hand-arm vibration syndrome. / M. Mahbub, N. Harada. – Text : visual // *Journal of occupational health*. – 2011. – V. 53, №. 4. – P. 241-249.
130. Mattar, E. Effect of age on the biomechanical and microcirculatory properties of the skin in healthy individuals and during venous ulceration / E. Mattar. – Text : visual // *Indian Journal of Dermatology*. – 2011. – V. 56, №. 1. – P. 19.
131. McGarr, G.W. Between-day reliability of local thermal hyperemia in the forearm

- and index finger using single-point laser Doppler flowmetry / G.W. McGarr, G.J. Hodges, S.S. Cheung. – Text : visual // *Microcirculation*. – 2017. – V. 24, №. 8. – P. e12395.
132. Mechanisms of vascular aging / Z. Ungvari, S. Tarantini, A.J. Donato [et al.]. – Text : visual // *Circulation Research*. – 2018. – V. 123, №. 7. – P. 849-867.
133. Metabolic syndrome individuals with and without type 2 diabetes mellitus present generalized vascular dysfunction: Cross-sectional study / G. Walther, P. Obert, F. Duteil [et al.]. – Text : visual // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2015. – V. 35, №. 4. – P. 1022-1029.
134. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes / A.E. Caballero, S. Arora, R. Saouaf [et al.]. – Text : visual // *Diabetes*. – 1999. – V. 48, №. 9. – P. 1856-1862.
135. Microvascular reactivity during sympathetic stimulations in Raynaud's phenomenon. / Z.B. Stoyneva, S.M. Dermendjiev, D.G. Medjidieva, V.E. Vodenicharov. – Text : visual // *International angiology: a journal of the International Union of Angiology*. – 2016. – V. 35, №. 6. – P. 593-598.
136. Montagna, W. The structure and function of skin / W. Montagna. – Academic Press, 1974. – 448 p. – Text : visual.
137. Moore, K.J. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis / K.J. Moore . – Text : visual // *Cell*. – 2011. – V. 145., №. 3. – P. 341-355.
138. Morris, S.J. Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and sodium nitroprusside in patients with NIDDM / S.J. Morris, A.C. Shore, J.E. Tooke. – Text : visual // *Diabetologia*. – 1995. – V. 38, №. 11. – P. 1337-1344.
139. Mosdósi, B. Impairment of microcirculation and vascular responsiveness in adolescents with primary Raynaud phenomenon / B. Mosdósi, K. Böleskei, Z. Helyes. – Text : visual // *Pediatric Rheumatology*. – 2018. – V. 16, №. 1. – P. 1-8.
140. Mosdósi, B. Impairment of microcirculation and vascular responsiveness in adolescents with primary Raynaud phenomenon / B. Mosdósi, K. Böleskei, Z. Helyes. – Text : visual // *Pediatric Rheumatology*. – 2018. – V. 16, №. 1. – P. 20.
141. Nakas, C.T. Editorial for the special issue of “Statistical Methods in Medical

Research” on “Advanced ROC analysis” / C.T. Nakas. – Text : visual // *Stat. Methods Med. Res.* – 2018. – V. 27., №. 3. – P. 649-650.

142. New approach to measure cutaneous microvascular function: An improved test of NO-mediated vasodilation by thermal hyperemia / P.J. Choi, V.E. Brunt, N. Fujii, C.T. Minson. – Text : visual // *Journal of Applied Physiology.* – 2014. – V. 117, №. 3. – P. 277-283.

143. Ninet, J. Cutaneous postocclusive reactive hyperemia monitored by Laser Doppler Flux metering and skin temperature / J. Ninet, A. Fronek. – Text : visual // *Microvascular Research.* – 1985. – V. 30, №. 1. – P. 125-132.

144. Oberg, P.A. Laser-Doppler flowmetry. – a non-invasive and continuous method for blood flow evaluation in microvascular studies. / P.A. Oberg, T. Tenland, G.E. Nilsson. – Text : visual // *Acta medica Scandinavica. Supplementum.* – 1984. – V. 687. – P. 17-24.

145. Paneni, F. The Aging Cardiovascular System: Understanding It at the Cellular and Clinical Levels / F. Paneni. – Text : visual // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2017. – V. 69., №. 15. – P. 1952-1967.

146. Penetration of the systemic blood pressure into the microvasculature of rat skeletal muscle / F.A. DeLano, G.W. Schmid-Schönbein, T.C. Skalak, B.W. Zweifach. – Text : visual // *Microvascular Research.* – 1991. – V. 41, №. 1. – P. 92-110.

147. Popel, A.S. Microcirculation and hemorheology / A.S. Popel. – Text : visual // *Annu. Rev. Fluid Mech.* – 2005. – V. 37. – P. 43-69.

148. Postocclusive Hyperemia Measured with Laser Doppler Flowmetry and Transcutaneous Oxygen Tension in the Diagnosis of Primary Raynaud’s Phenomenon: A Prospective, Controlled Study / P. Maga, B.M. Henry, E.K. Kmiotek [et al.]. – Text : visual // *BioMed Research International.* – 2016. – V. 2016. – P.1-9.

149. Potocnik, N. The responses of glabrous and nonglabrous skin microcirculation to graded dynamic exercise and its recovery / N. Potocnik, H. Lenasi. – Text : visual // *Clinical Hemorheology and Microcirculation.* – 2016. – V. 64, №. 1. – P. 65-75.

150. Pre-eclampsia is associated with sleep-disordered breathing and endothelial

dysfunction / D. Yinon, L. Lowenstein, S. Suraya [et al.]. – Text : visual // *European Respiratory Journal*. – 2006. – V. 27, №. 2. – P. 328-333.

151. Primary nociceptive afferents mediate the blood flow dysfunction in non- glabrous (hairy) skin of type 2 diabetes: A new model for the pathogenesis of microvascular dysfunction / K.B. Stansberry, H.R. Peppard, L.M. Babyak [et al.]. – Text : visual // *Diabetes Care*. – 1999. – V. 22, №. 9. – P. 1549-1554.

152. Quantitative evaluation of capillaroscopic microvascular changes in patients with established coronary heart disease / M.E. Sanchez-Garcia, I. Ramirez-Lara, F. Gomez-Delgado [et al.]. – Text : visual // *Medicina Clinica*. – 2018. – V. 150, №. 4. – P. 131-137.

153. Rajan, V. Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry / V. Rajan. – Text : visual // *Lasers Med. Sci*. – 2009. – V. 24., №. 2. – P. 269-283.

154. Rendell, M. Diabetic cutaneous microangiopathy / M. Rendell, O. Bamisedun. – Text : visual // *Am J Med*. – 1992. – V. 93, №. 6. – P. 611-618.

155. Reproducibility of different laser Doppler fluximetry parameters of postocclusive reactive hyperemia in human forearm skin / G.B. Yvonne-Tee, A.H.G. Rasool, A.S. Halim, A.R.A. Rahman. – Text : visual // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2005. – V. 52, №. 2. – P. 286-292.

156. Rizzoni, D. New Methods to Study the Microcirculation / D. Rizzoni. – Text : visual // *Am. J. Hypertens*. – 2018. – V. 31., №. 3. – P. 265-273.

157. Rizzoni, D. Structural abnormalities of small resistance arteries in essential hypertension. / D. Rizzoni, E. Agabiti-Rosei. – Text : visual // *Intern. Emerg. Med*. – 2012. – V. 7., №. 3. – P. 205-212.

158. Rodgers, H. Stroke / H. Rodgers – Text : visual // *Handbook of Clinical Neurology* / ed.: S.W. Hetts, D.L. Cooke // Elsevier B.V., 2013. – P. 427-433.

159. Roustit, M. Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods / M. Roustit, J.L. Cracowski. – Text : visual // *Microcirculation*. – 2012. – V. 19, №. 1. – P. 47-64.

160. Sakai, T. Are the precapillary sphincters and metarterioles universal components

of the microcirculation? An historical review / T. Sakai, Y. Hosoyamada. – Text : visual // *Journal of Physiological Sciences*. – 2013. – V. 63, №. 5. – P. 319-331.

161. Sensory nerve-mediated and nitric oxide-dependent cutaneous vasodilation in normotensive and prehypertensive non-Hispanic blacks and whites / B.J. Wong, C.G. Turner, J.T. Miller [et al.]. – Text : visual // *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. – 2020. – V. 319, №. 2. – P. H271-H281.

162. Skin blood flow and its oscillatory components in patients with acute myocardial infarction / K. Ažman-Juvan, A. Bernjak, V. Urbančič-Rovan [et al.]. – Text : visual // *Journal of Vascular Research*. – 2008. – V. 45, №. 2. – P. 164-172.

163. Skin capillary density in subjects with impaired glucose tolerance and patients with type 2 diabetes / A.J. Jaap, A.C. Shore, A.J. Stockman, J.E. Tooke. – Text : visual // *Diabetic Medicine*. – 1996. – V. 13, №. 2. – P. 160-164.

164. Skin Epidermal Thickness and Vascular Density in Type 1 Diabetes / R.A. Malik, J. Metcalfe, A.K. Sharma [et al.]. – Text : visual // *Diabetic Medicine*. – 1992. – V. 9, №. 3. – P. 263-267.

165. Stan, R. V. Structure of caveolae / R.V. Stan . – Text : visual // *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res*. – 2005. – V. 1746., №. 3. – P. 334-348.

166. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: A monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? / C. Binggeli, L.E. Spieker, R. Corti [et al.]. – Text : visual // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2003. – V. 42, №. 1. – P. 71-77.

167. Stirban, A. Microvascular Dysfunction in the Context of Diabetic Neuropathy / A. Stirban. – Text : visual // *Current Diabetes Reports*. – 2014. – V. 14, №. 11. – P. 1–9.

168. Strain, W.D. Diabetes, cardiovascular disease and the microcirculation / W.D. Strain, P.M. Paldánus. – Text : visual // *Cardiovascular Diabetology*. – 2018. – V. 17. – P. 1-10.

169. Strict glycaemic control improves skin microcirculation in patients with type 2 diabetes: A report from the Diabetes mellitus And Diastolic Dysfunction (DADD) study / C. Jarnert, M. Kalani, L. Ryden, F. Bohm. – Text : visual // *Diab Vasc Dis Res*. – 2012.

– V. 9, №. 4. – P. 287-295.

170. Stringer, T. Raynaud's phenomenon: Current concepts / T. Stringer, A.N. Femia. – Text : visual // Clinics in Dermatology. – 2018. – V. 36, №. 4. – P. 498–507.

171. Swiontkowski, M.F. Laser Doppler Flowmetry -Development and Clinical Application / M.F. Swiontkowski. – Text : visual // The Iowa Orthopaedic Journal. – 1991. – V. 11. – P. 119-126.

172. Taddei, S. Endothelial dysfunction in hypertension: achievements and open questions. / S. Taddei, R.M. Bruno. – Text : visual // Journal of hypertension. – 2016. – V. 34, №. 8. – P. 1492-1493.

173. Tesselaar, E. Acute effects of coffee on skin blood flow and microvascular function / E. Tesselaar, D. Nezirevic Dernroth, S. Farnebo. – Text : visual // Microvascular Research. – 2017. – V. 114. – P. 58-64.

174. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser Doppler with local thermal hyperemia: A systematic review with meta-analysis / D. Fuchs, P.P. Dupon, L.A. Schaap, R. Draijer. – Text : visual // Cardiovascular Diabetology. – 2017. – V. 16, №. 1. – P. 1-12.

175. The burden of mortality attributable to diabetes: Realistic estimates for the year 2000 / G. Roglic, N. Unwin, P.H. Bennett [et al.]. – Text : visual // Diabetes Care. – 2005. – V. 28, №. 9. – P. 2130-2135.

176. Thompson, C.S. Altered neurotransmitter control of reflex vasoconstriction in aged human skin / C.S. Thompson, W.L. Kenney. – Text : visual // Journal of Physiology. – 2004. – V. 558, №. 2. – P. 697-704.

177. Tibiriçá, E. Microcirculation and cardiovascular diseases / E. Tibiriçá, A. De Lorenzo, G.M.M. de Oliveira. – Text : visual // Arquivos Brasileiros de Cardiologia. – 2018. – V. 111, №. 2. – P. 120-121.

178. Tikhonova, I. V. Age-related changes of skin blood flow during postocclusive reactive hyperemia in human / I. V. Tikhonova, A. V. Tankanag, N.K. Chemeris. – Text : visual // Skin Research and Technology. – 2013. – V. 19, №. 1. – P. e174-e181.

179. Tóth-Szüki, V. Stable laser-Doppler flow-motion patterns in the human cutaneous

- microcirculation: Implications for prospective geroscience studies / V. Tóth-Szüki, F. Bari, F. Domoki. – Text : visual // *Physiology International*. – 2020. – V. 107, №. 1. – P. 134-144.
180. Vascular morphology in normal skin studied with dynamic optical coherence tomography / P. Lindsø Andersen, J. Olsen, K.B.E. Friis [et al.]. – Text : visual // *Experimental Dermatology*. – 2018. – V. 27, №. 9. – P. 966-972.
181. Vascular responses to fear-induced stress in humans. / N. Hayashi, N. Someya, T. Maruyama [et al.]. – Text : visual // *Physiology & behavior*. – 2009. – V. 98, №. 4. – P. 441-446.
182. Vascular smooth muscle remodeling in conductive and resistance arteries in hypertension / I.A.M. Brown, L. Diederich, M.E. Good [et al.]. – Text : visual // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2018. – V. 38, №. 9. – P. 1969-1985.
183. Vicaut, E. Microcirculation and arterial hypertension. / E. Vicaut. – Text : visual // *Drugs*. – 1999. – V. 59 Spec No. – P. 1-10.
184. Virdis, A. How to evaluate microvascular organ damage in hypertension: Assessment of endothelial function / A. Virdis, S. Taddei. – Text : visual // *High Blood Pressure and Cardiovascular Prevention*. – 2011. – V. 18, №. 4. – P. 163-167.
185. Volumetric quantification of skin microcirculation disturbance induced by local compression / A.A. Anosov, M.Y. Kirillin, A.G. Orlova [et al.]. – Text : visual // *Laser Physics Letters*. – 2020. – V. 17, №. 8. – P. 085601.
186. Which parameter is better to define endothelial dysfunction in a test of postocclusive hyperemia measured by Laser-Doppler flowmetry? / P. Stiefel, R. Moreno-Luna, A.J. Vallejo-Vaz [et al.]. – Text : visual // *Coronary Artery Disease*. – 2012. – V. 23, №. 1. – P. 57-61.
187. Wilkin, J.K. Periodic cutaneous blood flow during postocclusive reactive hyperemia / J.K. Wilkin. – Text : visual // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. – 1986. – V. 250, №. 5. – P. H765-H768.
188. Wright, C.I. Non-invasive methods and stimuli for evaluating the skin's

microcirculation / C.I. Wright, C.I. Kroner, R. Draijer. – Text : visual // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. – 2006. – V. 54, №. 1. – P. 1-25.

189. Yamamoto-Suganuma, R. 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 / R. Yamamoto-Suganuma, Y. Aso. – Text : visual // Diabetic Medicine. – 2009. – V. 26, №. 1. – P. 83-88.

190. Yousef, H. Anatomy, Skin (Integument), Epidermis / H. Yousef, S. Sharma. – StatPearls Publishing, 2018.– 10 p. – Text : visual.

191. Zhang, Z.G. Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic / Z.G. Zhang, M. Chopp. – Text : visual // The Lancet Neurology. – 2009. – V. 8, №. 5. – P. 491-500.

192. Zweifach, B.W. The structure and reactions of the small blood vessels in amphibia / B.W. Zweifach. – Text : visual // American Journal of Anatomy. – 1937. – V. 60, №. 3. – P. 473-514.