

На правах рукописи

ГЛАЗКОВ

Алексей Андреевич

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

03.03.01 – Физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент

Куликов Дмитрий Александрович

Научный консультант:

доктор технических наук, доцент

Рогаткин Дмитрий Алексеевич

Официальные оппоненты:

Мезенцева Лариса Валентиновна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории системных механизмов эмоционального стресса Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина»

Северин Александр Евгеньевич, д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 г. в _____ на заседании диссертационного совета Д 208.084.05 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, по адресу: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, 34, корп. 2) и на сайте www.rzgmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат медицинских наук

Короткова Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) широко применяется для оценки микроциркуляции крови с 1980-х (Oberg P.A., Tenland T., Nilsson G.E., 1984). Метод позволяет оценивать микроциркуляцию в различных локализациях (кожа, слизистые оболочки, надкостница, сетчатка глаза и др.) (Крупаткин А.И., Сидоров В.В., 2013). Кожа – наиболее частый объект 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.) (Крупаткин А.И., Сидоров В.В., 2013). Считается, что состояние кожной микроциркуляции позволяет судить о состоянии системного микрокровотока (Holowatz L.A., Thompson-Torgerson C.S., Kenney W.L., 2008; Федорович А.А., 2015).

Состояние кожной микроциркуляции изменяется в процессе старения организма (James M.A. et al., 2006; Lang J.A., Krajek A.C., 2019). В ходе изучения кожной микроциркуляции, в том числе методом ЛДФ, установлено, что микроциркуляторные нарушения наблюдаются и при множестве патологических состояний: артериальной гипертензии (АГ) (Fedorovich A.A., Rogoza A.N., Chikhladze N.M., 2014; Bruning R.S., Kenney W.L., Alexander L.M., 2015), сахарном диабете (СД) (Герасимчук П.А. и др., 2014; Soreli M. et al., 2019), вибрационной болезни (Любченко П.Н. и др., 2007; Maga P. et al., 2016) 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 обнаружить 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) (Лапитан Д.Г., Рогаткин Д.А., 2016). Однако интерес к методу не угасает: в последние годы в зарубежной литературе было опубликовано большое число работ с его использованием в различных областях медицины (Ishii T. et al., 2019; Wong B.J., 2020; Dávida L. et al., 2020).

Регуляция микроциркуляции осуществляется посредством множества механизмов: местных метаболических, миогенных, нейровегетативных, гуморальных и др. (Мезенцева Л.В., 2018). Нарушение каждого из них может приводить к поражению микроциркуляции. Среди наиболее распространённых подходов к выявлению изменений в данных регуляторных механизмах выделяется 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 трудо- и времязатратным: в силу методологических ограничений некоторые виды функциональных воздействий не могут быть проведены в рамках одного дня.

Таким образом, актуальным представляется поиск подходов, с помощью которых можно в рамках однократного обследования персонализированно 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.

Цель исследования

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

Задачи исследования

1. Сформулировать и обосновать критерии применимости лазерной доплеровской флоуметрии 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 том числе 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 людьми 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 сформулированы и обоснованы физиологические подходы к повышению информативности метода ЛДФ в персонализированной оценке микроциркуляции. Показано, что тепловое воздействие – наиболее информативно в выявлении различия между пациентами с нормальной и нарушенной микроциркуляцией по сравнению с холодовым, 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. 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 в зарубежных, индексируемых базах данных Web of Science 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, 1–3 июля 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 источников литературы 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, материала 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование распределений

Для обоснования критериев применимости метода ЛДФ в персонализированном исследовании состояния микроциркуляторного русла в программе Excel 2019 (Microsoft Corp.) с применением интегральных и весовых формул нормальных распределений было проведено моделирование результатов измерений параметров, характеризующих состояние микроциркуляторного

русла, были разработаны алгоритмы для оценки ожидаемых значений площади перекрытия распределений, чувствительности, специфичности, площади под ROC-кривой. Поиск точек пересечения нормальных распределений проводили при помощи решения системы уравнений, составленных на основании весовой формулы нормального распределения $f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$. Стандартизованную разность средних значений (СРС) рассчитывали по формуле:

$$(M_2 - M_1) / \sqrt{\frac{(n_1-1)SD_1^2 + (n_2-1)SD_2^2}{n_1+n_2-2}}$$

Характеристика обследуемых

Всего в исследование было включено 248 человек, разделённых на три группы. Группу 1 составили 105 условно здоровых добровольцев без микроциркуляторных нарушений. Критерии включения в группу 1: возраст менее 35 лет, отсутствие СД, АГ, ишемической болезни сердца (ИБС). В группу 2 вошли 106 пациентов с клиническими признаками имеющих нарушения микроциркуляции. Критерии включения: стаж СД 1-го или 2-го типа более 5 лет, гликированный гемоглобин (HbA1c, %) более 7%, наличие осложнений СД (ретинопатия, нефропатия, нейропатия). Группу 3 составили 37 пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы без СД. Критерии включения: возраст более 35 лет, наличие диагностированной ИБС и/или АГ, отсутствие СД. Критерии исключения были общими для всех групп обследуемых: беременность; наличие мерцательной аритмии, острых вирусных инфекций (ОРВИ, грипп и др.), заболеваний крови (тромбоцитопения, анемия средней и тяжелой степени и др.); 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. 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). Характеристика групп приведена в табл. 1.

Таблица 1 – Характеристика групп пациентов, включённых в исследование

Параметр	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%)
Диабетическая ретинопатия, n (%)	-	104 (98,1%)	-
Диабетическая нефропатия, n (%)	-	23 (21,7%)	-
Диабетическая полинейропатия, n (%)	-	92 (86,8%)	-

Исследование микроциркуляции

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.

Перфузию измеряли на фоне проведения функциональных проб: холодовых, постуральных, температурных, окклюзионных и комбинированных (рис. 1). Холодовую пробу проводили с помощью погружения верхней конечности в воду температурой 4 °С на 120 секунд. Окклюзионную пробу выполняли 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. Постуральные пробы проводили как на верхних, так и на нижних конечностях. При регистрации постуральной пробы на предплечье обследуемый, находясь в положении «сидя», опускал руки вдоль туловища на 120 секунд. При регистрации постуральной пробы на тыле стопы обследуемый из положения «лёжа» переходил в положение «сидя» с опусканием нижних конечностей на пол. Локальный нагрев кожных

покровов выполняли на тыльной поверхности предплечья. Проводили сравнение скоростей нагрева $\sim 0,67\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{с}$ и $\sim 1,5\text{--}2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{с}$.

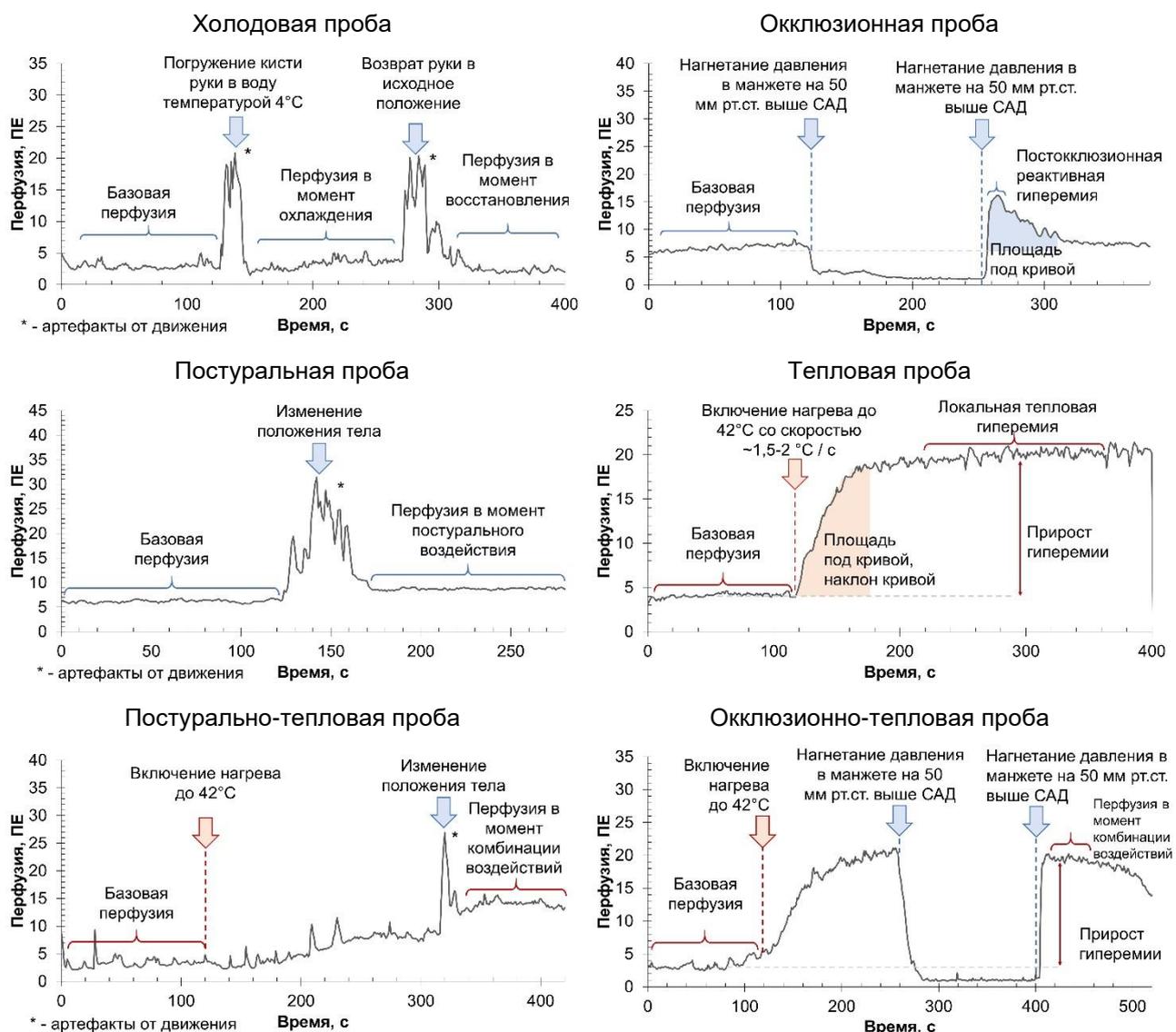


Рисунок 1 – Схемы проведения функциональных проб

При комбинации тепловых воздействий с постуральными и окклюзионными нагрев включали за 180 секунд до проведения постурального или окклюзионного воздействия. На втором этапе исследования данный интервал для окклюзионно-тепловой пробы был увеличен до 300 секунд. Для всех изученных вариантов проб в течение 120 секунд регистрировали базовый уровень перфузии, после чего осуществляли функциональное воздействие или последовательность функциональных воздействий.

Статистический анализ данных

Статистический анализ полученных данных был проведён в программах IBM SPSS Statistics v25 (IBM Corp.), Statistica 12 (StatSoft inc.), 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 – критерия Краскала – Уоллиса. Апостериорные сравнения проводили с использованием критерия Данна с поправкой Бонферрони. Чувствительность и специфичность параметров микроциркуляции рассчитывали с помощью ROC-анализа. Для оценки вероятности наличия микроциркуляторных нарушений проводили построение одно- и многофакторных моделей логистической регрессии. Критический уровень вероятности ошибки первого рода (α) был установлен равным 0,05: нулевые гипотезы отвергали при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка применимости ЛДФ в персонализированном изучении состояния микроциркуляторного русла

Были созданы алгоритм и программа для расчёта ожидаемых значений чувствительности и специфичности, площади под ROC-кривой (AUC) в зависимости от стандартизованной разности средних (CPC), полученных в эксперименте (табл. 2).

Таблица 2 – Рассчитанные ожидаемые значения AUC, степени перекрытия групп (в %), чувствительности и специфичности при различных значениях CPC

Величина CPC (модуль)	Расчётная чувствительность и специфичность теста*	Расчётная AUC
1	69,1%	0,761
1,4	75,8%	0,84
1,8	81,6%	0,9
2,0	84,1%	0,922
2,4	88,5%	0,956

* В случае равенства дисперсий.

Рост показателя СРС свидетельствует об увеличении диагностических характеристик параметра при его персонализированном применении. В отличие от стандартного способа проведения ROC-анализа, разработанный способ расчёта чувствительности и специфичности на основании СРС может быть проведён без доступа к первичным данным на основании средних арифметических значений и стандартных отклонений (в том числе и в случаях групп с различными дисперсиями). 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. Рост показателя СРС наблюдается с увеличением различий между группами и снижением вариабельности измерений.

Обоснование подходов к повышению чувствительности и специфичности метода ЛДФ в диагностике микроциркуляторных нарушений

Для оценки физиологической реакции в ответ на проведение различных функциональных проб с включением обследуемых из группы 1 были проведены холодовые, постуральные, окклюзионные, тепловые, комбинированные пробы и для каждой из них было рассчитано относительное и абсолютное изменение перфузии в момент воздействия (рис. 2). При сравнении этих рассчитанных значений показано, что тепловая, постурально-тепловая и окклюзионно-тепловая пробы вызвали гиперемическую реакцию максимальной интенсивности.

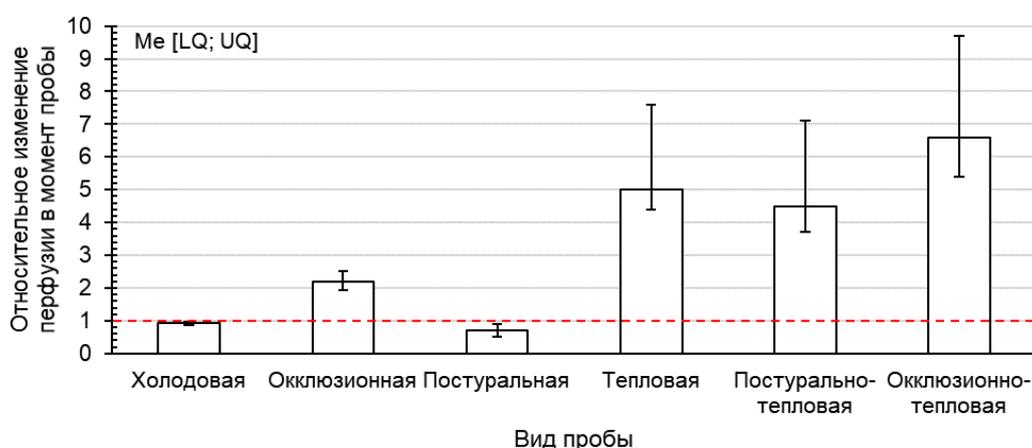


Рисунок 2 – Оценка относительного изменения перфузии (по отношению к базовому уровню) у обследуемых без микроциркуляторных нарушений

Чтобы исключить субъективность в оценке перфузии были разработаны стандартизованные по времени расчётные параметры, характеризующие динамические изменения перфузии на определённом участке микроциркуляторной кривой: площадь под кривой и наклон участка кривой.

Для оценки значений СРС для холодových, постуральных, окклюзионных, тепловых, комбинированных функциональных проб были проведены измерения микроциркуляции обследуемым из группы 2. При холодной пробе наибольший модуль СРС (95% ДИ) был получен для уровня перфузии в момент холодого воздействия: 1,11 (0,001; 2,22). При окклюзионной – для площади под микроциркуляторной кривой за 1 минуту постокклюзионной реактивной гиперемии – 0,49 (-0,4; 1,38). При постуральной – для перфузии в момент постурального воздействия на верхних конечностях – 0,81 (-0,11; 1,73). Для тепловых проб наибольшими значениями СРС обладали параметры «Площадь под микроциркуляторной кривой за первые 2 минуты нагрева» при применении скорости нагрева $\sim 1,5\text{--}2\text{ }^\circ\text{C}/\text{c}$ – 1,57 (0,74; 2,41) – и «Наклон, 3 мин» при скорости $4^\circ\text{C}/\text{мин}$ – 1,17 (0,39; 1,94). При постурально-тепловой пробе максимальные значения модуля СРС были получены для параметра «Относительное изменение перфузии в момент комбинации воздействий» на руке – 1,12 (0,17; 2,07). При окклюзионно-тепловой пробе – для параметра «Перфузия в момент комбинации воздействий» – 1,20 (0,41; 1,99). Наибольшие значения СРС были получены для тепловой пробы с быстрым нагревом и окклюзионно-тепловой пробы (рис. 3).

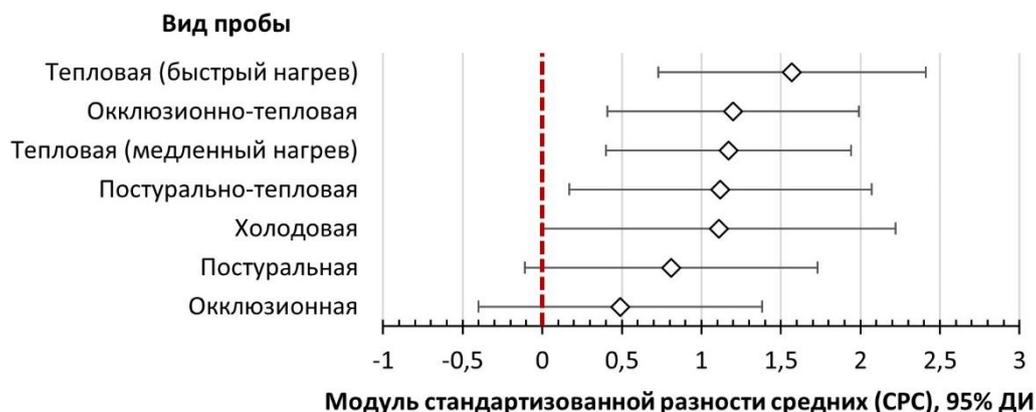


Рисунок 3 – Оценка модуля СРС для разных видов функциональных проб, в том числе комбинированных

Согласно полученным значениям СРС, при применении комбинированных проб и проб с быстрым нагревом ожидаемые чувствительность и специфичность теста составляют более 70%.

Разработка методики исследования микроциркуляции

Т.к. наибольшей диагностической информативностью обладали тепловая проба с быстрым нагревом и окклюзионно-тепловая проба, был разработан алгоритм, сочетающий эти воздействия (рис. 4).

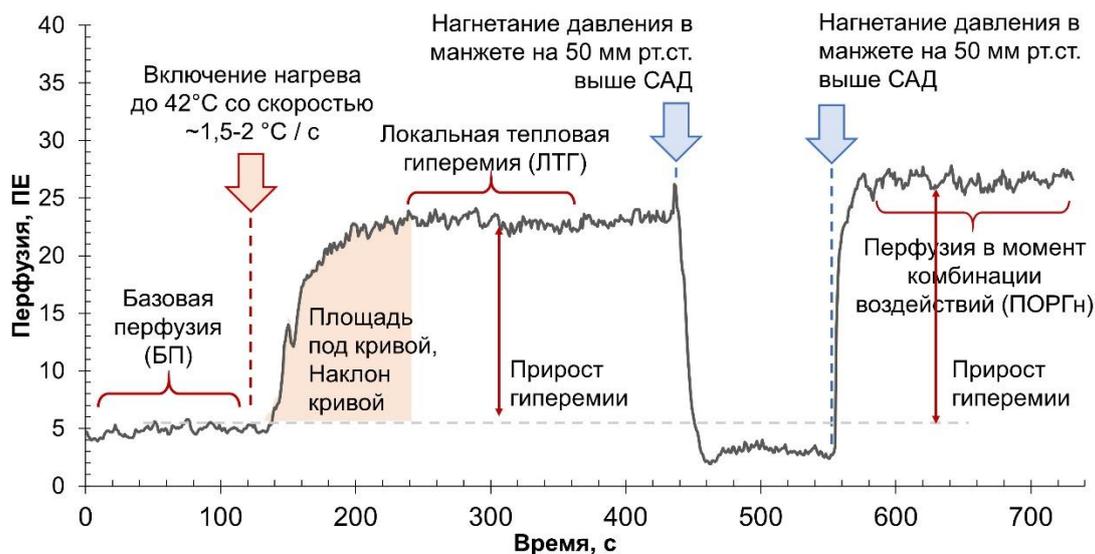


Рисунок 4 – Схема проведения окклюзионно-тепловой пробы с обозначением параметров, рассчитываемых в момент пострегистрационной обработки данных и характеризующих состояние микроциркуляторного русла

В дополнение к ранее использованным параметрам в пострегистрационную обработку данных были включены параметры, характеризующие сосудистую проводимость (учитывающие среднее артериальное давление пациента – СрАД): 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, а также параметры, характеризующие прирост сосудистой проводимости на разных периодах пробы: (ЛТГ–БП)/СрАД, (ПОРГн–БП)/СрАД, (ПОРГн–ЛТГ)/СрАД. На примере проведения 17 последовательных измерений микроциркуляции на одном обследуемом было

показано, что данная проба позволяет снижать индивидуальный коэффициент вариации оцениваемых параметров с 47,2% (БП) до 19,7% (перфузия в момент комбинации окклюзионного и теплового воздействий – ПОРГн). Окклюзионно-тепловая проба с быстрым нагревом была проведена 27 обследуемым из группы 1. Внутригрупповой коэффициент вариации снизился с 52,8% (БП) до 23,8% ((ЛТГ-БП)/СрАД). Были изучены факторы, влияющие на показатели, характеризующие реактивность микроциркуляторного русла (табл. 3).

Таблица 3 – Коэффициенты корреляции Спирмена между параметрами, характеризующими состояние микроциркуляции и возрастом, полом, ИМТ, количеством эритроцитов и СОЭ

Параметр	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
ПОРГн	0,309	-0,355*	-0,064	-0,146	-0,387
ЛТГ/БП	-0,008	-0,538**	-0,524**	-0,443*	-0,229
ПОРГн/БП	-0,019	-0,539**	-0,596**	-0,365	-0,250
Наклон кривой (2 мин)	0,385**	-0,375*	-0,164	-0,407*	-0,435*
Площадь под кривой (2 мин)	0,213	-0,519**	-0,167	-0,388	-0,303
БП / СрАД	0,111	0,339*	0,513**	0,152	-0,177
ЛТГ / СрАД	0,209	-0,354*	-0,122	-0,341	-0,476*
ПОРГн / СрАД	0,284	-0,321	-0,161	-0,271	-0,421
(ЛТГ - БП) / СрАД	0,228	-0,506**	-0,348*	-0,394	-0,391
(ПОРГн - БП) / СрАД	0,244	-0,454**	-0,356*	-0,303	-0,418
(ПОРГн - ЛТГ) / СрАД	0,366*	-0,028	0,031	0,273	0,168

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$.

Наиболее выраженные связи 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 ($p=0,024$).

Для анализа показателя СРС и было проведено сравнение 27 обследуемых из группы 1 и 31 обследуемого из группы 2, обследованных по новому алгоритму. В табл. 4 представлены результаты сравнения параметров микроциркуляции пациентов у пациентов из групп 1 и 2, а также значения показателя СРС.

Таблица 4 – Результаты анализа параметров микроциркуляции у пациентов из групп 1 и 2

Параметр	Пациенты из группы 1 (n=27)	Пациенты из группы 2 (n=31)	Значение p	Cv ₁ / Cv ₂	Модуль СРС
БП	3,48 ± 1,84 3,2 [2,1; 4,4]	3,62 ± 2,23 3,5 [2,2; 4,6]	0,785	52,8% / 61,6%	0,07
ЛТГ	20,63 ± 5,13 20,4 [15,9; 24,4]	13,95 ± 4,79 13,5 [10,9; 17,6]	<0,001	24,9% / 34,3%	1,34
ПОРГ _н	23,52 ± 6,05 23,6 [18,7; 27,5]	16,39 ± 5,57 17 [13,7; 19,2]	<0,001	25,7% / 34%	1,22
ЛТГ / БП	7,78 ± 5,87 6,2 [4,6; 7,5]	4,59 ± 2,16 4,1 [3; 5,6]	0,001	75,4% / 47%	0,69
ПОРГ _н / БП	8,81 ± 6,46 7 [5,4; 8,8]	5,67 ± 2,91 5,1 [3,5; 8,4]	0,009	73,3% / 51,3%	0,61
Наклон кривой (2 мин)	1,22 ± 0,31 1,2 [1; 1,4]	0,74 ± 0,3 0,8 [0,5; 1]	<0,001	25,1% / 40,2%	1,57
Площадь под кривой (2 мин)	1386,4 ± 348,9 1488 [1137; 1611]	811 ± 311,3 829 [598; 934]	<0,001	25,2% / 38,4%	1,73
БП / СрАД	0,04 ± 0,02 0,04 [0,02; 0,05]	0,04 ± 0,03 0,04 [0,03; 0,05]	0,603	50% / 75%	0
ЛТГ / СрАД	0,25 ± 0,06 0,25 [0,17; 0,3]	0,16 ± 0,06 0,16 [0,11; 0,17]	0,001	24% / 37,5%	1,5
ПОРГ _н / СрАД	0,28 ± 0,08 0,28 [0,21; 0,32]	0,17 ± 0,07 0,17 [0,14; 0,2]	0,001	28,6% / 41,2%	1,47
(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	23,8% / 36,4%	2,17
(ПОРГ _н - БП) / СрАД	0,24 ± 0,06 0,25 [0,19; 0,28]	0,13 ± 0,06 0,13 [0,11; 0,17]	<0,001	25% / 46,2%	1,83
(ПОРГ _н - ЛТГ) / СрАД	0,03 ± 0,03 0,03 [0,02; 0,04]	0,02 ± 0,03 0,01 [0; 0,03]	0,017	100% / 150%	0,33

Наибольшей информативностью обладал параметр (ЛТГ–БП)/СрАД. На основании полученных значений СРС было сделано предположение, что этот параметр позволит выявлять микроциркуляторные нарушения с чувствительностью и специфичностью 86%. Далее с помощью построения модели логистической регрессии был предложен способ расчёта вероятности

наличия микроциркуляторных нарушений ($P_{\text{нарушений}}$) у конкретного пациента (формула 1):

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

Обоснование возможности применения разработанной методики в персонализированной оценке состояния кожной микроциркуляции

Для оценки применимости разработанной методики в персонализированной оценке микроциркуляции в группы 1 и 2 были набраны новые выборки из 39 и 34 пациентов. При классификации обследуемых по формуле 1 была достигнута чувствительность 85,3% и специфичность 87,2%, что совпало со значениями, предсказанными оценкой СРС. Для улучшения диагностических возможностей методики был проведён многофакторный анализ, в ходе которого была разработана модель, позволяющая оценить вероятность наличия нарушений микроциркуляции с учётом влияния фактора пола (формула 2):

$$P_{\text{нарушений}} = \frac{1}{1 + e^{69,927 * \frac{\text{ЛТГ}-\text{БП}}{\text{СрАД}} + 31,764 * \frac{\text{ЛТГ}-\text{БП}}{\text{СрАД}} * \text{Пол} - 12,593}} \quad (2)$$

При классификации по формуле 2, было показано, что использование формулы позволяет увеличить чувствительность алгоритма с 85,3 до 91,2%, а специфичность с 87,2 до 94,9% по сравнению с формулой 1, не учитывающей половые особенности.

В группу 1 были включены пациенты без клинических признаков системных нарушений микроциркуляции, в группу 2 – пациенты с клинически подтверждёнными микроциркуляторными нарушениями, связанными с осложнениями СД. Дополнительно была набрана группа обследуемых из 37 человек (группа 3) с сердечно-сосудистыми заболеваниями. По полу, возрасту, ИМТ, уровню холестерина, частоте сердечно-сосудистых заболеваний (АГ, ИБС) эта группа была сопоставима с группой 2. При этом обследуемые группы 3 не имели диагностированного СД и микроциркуляторных нарушений,

связанных с ним. Результаты оценки микроциркуляции в трёх группах по разработанной методике представлены в табл. 5.

Таблица 5 – Результаты проведения окклюзионно-тепловой пробы в трёх группах пациентов

Параметр	Пациенты из группы 1 (n=39)	Пациенты из группы 3 (n=37)	Пациенты из группы 2 (n=34)	Значение p
БП	4,09 ± 2,13 3,5 [2,6; 5,1]	6,46 ± 5,09 4,8 [3,1; 9]	3,92 ± 2,28 3,5 [2,6; 4,7]	p ₁₋₂ =1; p ₁₋₃ =0,087; p ₂₋₃ =0,03*
ЛТГ	24,21 ± 7,17 22,6 [19,8; 25,7]	20,33 ± 5,86 20,2 [16,9; 23,3]	14,27 ± 4,25 13,7 [11,5; 16,7]	p ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ =0,074; p ₂₋₃ <0,001*
ПОРГ _н	27,73 ± 7,55 26,5 [23,3; 29,2]	21,13 ± 5,36 20,8 [16,3; 25,1]	16,12 ± 5,11 16 [12,6; 19,1]	p ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ =0,004*; p ₂₋₃ =0,017*
ЛТГ / БП	7,21 ± 3,58 6,4 [4,5; 9,6]	4,68 ± 3,16 3,6 [2,5; 5,4]	4,67 ± 2,99 3,9 [3; 5,2]	p ₁₋₂ =0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =1
ПОРГ _н / БП	8,22 ± 4,59 6,9 [4,9; 10,5]	5,17 ± 3,71 4 [2,7; 6]	5,14 ± 3,66 4 [3,1; 5,8]	p ₁₋₂ =0,001*; p ₁₋₃ =0,001*; p ₂₋₃ =1
Наклон кривой (2 мин)	1,64 ± 0,51 1,5 [1,3; 1,9]	1,11 ± 0,44 1 [0,8; 1,3]	0,86 ± 0,32 0,8 [0,7; 1]	p ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =0,074
Площадь под кривой (2 мин)	1714,8 ± 662,9 1652 [1254; 1882]	1140,8 ± 402,1 1066 [813; 1432]	811,7 ± 298 801 [634; 977]	p ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =0,005*
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 ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =0,003*
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 ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =0,085
(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 ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =0,027*
(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 ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ <0,001*; p ₂₋₃ =0,388
(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 ₁₋₂ <0,001*; p ₁₋₃ =0,075; p ₂₋₃ =0,619

Примечание: * - Значение p<0,05, апостериорные попарные сравнения критерием Данна с поправкой Бонферрони.

Рассчитанная вероятность микроциркуляторных нарушений значительно различалась во всех группах: максимальные значения наблюдались в группе 2, минимальные в группе 1, а в группе 3 данный параметр распределился в диапазоне от 0 до 1 (рис. 5).

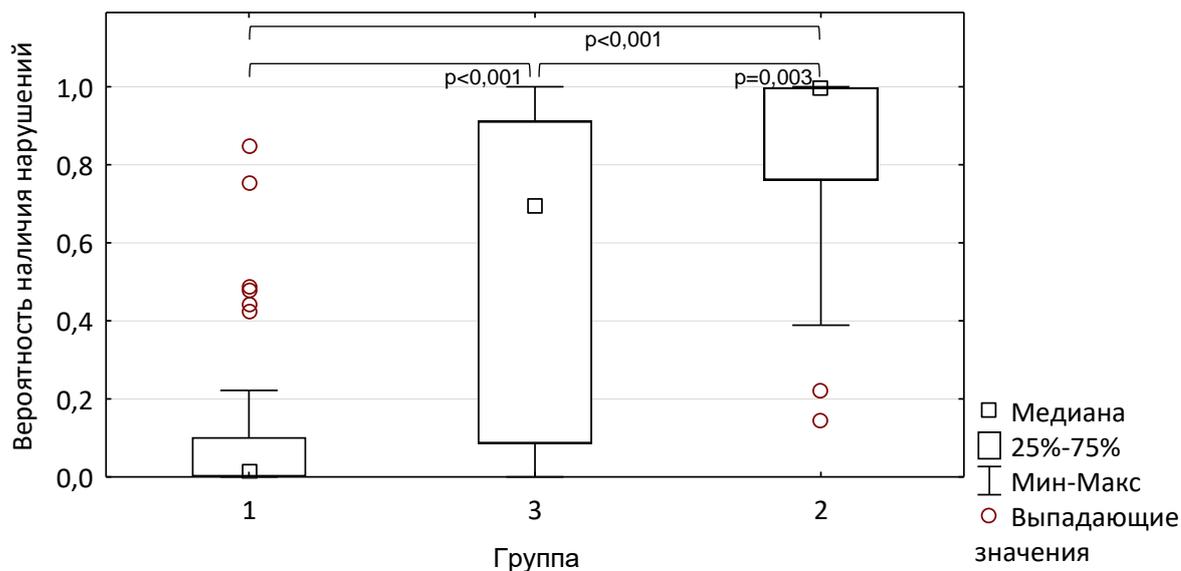


Рисунок 5 – Вероятность наличия микроциркуляторных нарушений, оцененная с помощью разработанной методики

Таким образом, разработанный алгоритм проведения функциональной окклюзионно-тепловой пробы и расчёта пострегистрационных параметров, характеризующих реактивность микроциркуляторного русла, позволяет оценивать вероятность наличия микроциркуляторных нарушений 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

окклюзионно-тепловой и постурально-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 $\sim 1,5\text{--}2$ °C/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 ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Разработка способа диагностики нарушений микроциркуляции крови у больных сахарным диабетом методом лазерной доплеровской флоуметрии / **А.А. Глазков**, Д.А. Куликов, А.В. Древалъ [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Альманах клинической медицины. – 2014. – № 31. – С. 7–10. – (Соавт.: Ю.А. Ковалева, В.И. Шумский, Д.А.Рогаткин).
2. Development of non-invasive method for blood microcirculation disorders diagnostics in diabetes patients using laser doppler flowmetry (LDF) / A.V. Dreval, **A.A. Glazkov**, Yu.A. Kovaleva., D.A. Kulikov. – Text : visual // Diabetes technology & therapeutics. – 2015. – V. 17. Supp.1. – P. A-137.
3. Оценка состояния микроциркуляторного русла кожи и сетчатки глаза с помощью оптических методов диагностики у больных сахарным диабетом / К.Е. Котляр, **А.А. Глазков**, Ю.А. Ковалева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44, № 2. – С. 186–192. – (Соавт.: Г.А. Дроздова, Д.А. Куликов).
4. Developing methods for non-invasive assessment of skin microcirculation in patients with type 2 diabetes / D.A. Kulikov, **A.A. Glazkov**, P.A. Kulikova [et al.]. – Text : visual // Diabetes technology & therapeutics. – 2016. – V. 18. Supp.1. – P. A-64. – (Соавт.: Yu.A. Kovaleva, A.V. Dreval).
5. Сравнительная оценка кожной микроциркуляции крови в группах пациентов с сахарным диабетом 2 типа, артериальной гипертензией и поражениями легких в условиях локального теплового воздействия / **А.А. Глазков**, Д.А. Куликов, А.П. Бобков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник последипломного медицинского образования. – 2016. – № 2. – С. 52–57. – (Соавт.: Ю.А. Ковалева, Т.Г. Кабанова, С.А. Терпигорев).
6. Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете / Д.А. Куликов,

А.А. Глазков, Ю.А. Ковалева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20., № 4. – С. 279–285. – (Соавт.: Н.В. Балашова, А.В. Куликов).

7. Approaches to improve the predictive value of laser Doppler flowmetry in detection of microcirculation disorders in diabetes mellitus/ D.A. Kulikov, **A.A. Glazkov**, Dreval A.V. [et al.]. – Text : visual // Clinical hemorheology and microcirculation. – 2018. – V. 70, № 2. – P. 173–179. – (Соавт.: Yu.A. Kovaleva, D.A. Rogatkin, A.V. Kulikov, A.V. Molochkov).

8. Пути повышения диагностической значимости метода лазерной доплеровской флоуметрии при оценке кожной микроциркуляции у пациентов с артериальной гипертензией / П.А. Глазкова, С.А. Терпигорев, Д.А. Куликов [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Артериальная гипертензия. – 2019. – Т. 25, № 1. – С. 74–83. – (Соавт.: Н.А. Иванова, **А.А. Глазков**).

9. Увеличивается ли тонус сосудов системы микроциркуляции при артериальной гипертензии? / Д.А. Рогаткин, П.А. Глазкова, Д.А. Куликов [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Альманах клинической медицины. – 2019. – Т. 25, № 7. – С. 662–668. – (Соавт.: **А.А. Глазков**, С.А. Терпигорев, Г.Г. Шехян, К.А. Козлова, М.Б. Макматов-Рысь).

10. Skin microcirculation in patients with a history of cardiovascular events / P.A. Glazkova, D.A. Kulikov, D.A. Rogatkin [et al.]. – Text : visual // Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE. – V. 11457. – P. 1-7. – (Соавт.: S.A. Terpigorev, G.G. Shekhyan, **A.A. Glazkov**, A.V. Kulikov, M.B. Makmatov-Rys, T.G. Charaeva, K.A. Kozlova).

11. New complex technique and device for noninvasive assessment of blood microcirculation in patients with diabetes mellitus / D.A. Kulikov, D.A. Rogatkin, **A.A. Glazkov** [et al.]. – Text : visual // Diabetes technology & therapeutics. – 2020. – V. 22. Supp.1. – P. A-201. – (Соавт.: D.G. Lapitan, P.A. Glazkova, M.B. Makmatov-Rys, Yu.A. Kovaleva).

12. The odds of retinopathy are increased in diabetes patients with reduced microvascular reactivity on local heating / D.A. Kulikov, **A.A. Glazkov**, P.A. Glazkova, [et al.]. – Text : visual // Diabetes technology & therapeutics. – 2020. – V. 22. Supp.1. – P. A-202. – (Соавт.: К.А. Козлова, I.A. Barsukov, Yu.A. Kovaleva., A.V. Dreval, D.A. Rogatkin).

13. Патент № 2547800 Российская Федерация, МПК А61В 8/06. Способ выявления микроциркуляторных нарушений у больных с нарушениями углеводного обмена. № 2013158461/14 : заявл. 27.12.2013 : опубл. 10.04.2015 / Д.А. Куликов, **А.А. Глазков**, Ю.А. Ковалева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный. – 12 с. – (Соавт.: П.А. Куликова, А.В. Древаль, Д.А. Рогаткин).

14. Патент № 2677590 Российская Федерация, МПК А61В 8/06. Способ оценки микроциркуляторных нарушений у больных с нарушениями углеводного обмена. № 2017143444 : заявл. 12.12.2017 : опубл. 17.01.2019 / Д.А. Куликов, **А.А. Глазков**, П.А. Глазкова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный. – 10 с. – (Соавт.: Ю.А. Ковалева, И.А. Барсуков, А.В. Древаль, Д.А. Рогаткин).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

AUC – площадь под ROC-кривой;

HbA1c – гликированный гемоглобин;

LQ – нижний квартиль;

M – среднее арифметическое значение;

Me – медиана;

n – количество наблюдений;

SD – стандартное отклонение;

UQ – верхний квартиль;

АГ – артериальная гипертензия;

БП – базовая перфузия;

ДИ – доверительный интервал;

ИБС – ишемическая болезнь сердца;

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия;

ЛТГ – локальная тепловая гиперемия;

ПОРГ – постокклюзионная реактивная гиперемия;

ПОРГ_н – постокклюзионная реактивная гиперемия на фоне нагрева;

СД – сахарный диабет;

СОЭ – скорость оседания эритроцитов;

СрАД – среднее артериальное давление.