

Аппаратура для комплексной неинвазивной диагностики состояний компартментов микроциркуляторно-тканевой системы кожи человека

Аннотация

Создана аппаратура, обеспечивающая одновременный контроль состояния компартментов микроциркуляторно-тканевой системы: микроциркуляции кровотока и лимфотока и окислительного метаболизма. В аппаратуре совмещены методы диагностики: лазерная доплеровская флоуметрия (контроль микроциркуляции кровотока и лимфотока) и флуоресцентная спектроскопия (оценка амплитуд флуоресценции коферментов - биомаркеров окислительного метаболизма). В состав аппаратуры входит блок для проведения температурных функциональных проб с целью изучения адаптации ткани при оценке энергетического обеспечения метаболизма при охлаждении и нагреве.

Введение

В задачах, когда исследуются *in vivo* физиологические нарушения биоткани, принципиальным является получение диагностической информации в реальном масштабе времени в связи с изменением биофизических характеристик ткани кожи в процессе жизнедеятельности. В приборе реализован комплексный метод контроля состояния микроциркуляторно-тканевой системы кожи человека, включающей в себя микроциркуляцию кровотока и лимфотока, окислительный метаболизм; совмещены известный метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) [1] и способ флуоресцентной спектроскопии (ФС). При зондировании ткани лазерным излучением (метод ЛДФ) в отраженном сигнале присутствуют компоненты рассеяния излучения на эритроцитах и на рассеивающих частицах лимфообразования [1], [2]. Разделение сигналов от кровотока и лимфотока проводится путем частотной фильтрации для соответствующих диапазонов скоростей движения эритроцитов и частиц лимфообразования. Для оценки окислительного метаболизма используются данные о флуоресценции коферментов восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и окисленный флавинадениндинуклеотид (ФАД), являющихся биомаркерами метаболизма [3]-[5]. Метаболические процессы клеточных структур ткани энергозависимы. Температурный тест с нагревом (повышение активности) и охлаждением (снижение активности) метаболизма проводится для оценки адаптационных возможностей и устранения возможных оптических помех от сопутствующих флуорофоров ткани при возбуждении флуоресценции коферментов.

Методы, техническая реализация и результаты

Комплексный диагностический метод реализован в аппарате «ЛАЗМА СТ» (регистрационное удостоверение Росздравнадзора № РЗН 2017/5844 от 08.06.2017 г.). В разработанном аппарате диагностика проводится в трех состояниях: в покое, при охлаждении до 10 °С (снижение активности микроциркуляции и метаболизма) и нагреве до 35 °С (повышение активности микроциркуляции и метаболизма) в ходе проведения температурной функциональной пробы. При помощи программного обеспечения результаты представляются в графическом и цифровом виде. На *рис. 1* показан пример одновременной регистрации диагностических параметров.

В цифровом виде функциональное состояние микроциркуляторно-тканевой системы рекомендуется оценивать через величину комплексного показателя окислительного метаболизма (ПОМ), пропорционального величине потока микрокровотока и обратно пропорционального сумме амплитуд флуоресценции коферментов (раздел 2).

1 Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции кровотока и лимфотока

Для диагностики применяется зондирование ткани лазерным излучением. Оптический волоконный зонд аппаратуры обеспечивает доставку зондирующего лазерного излучения и прием обратно рассеянного от ткани излучения (*рис. 2*).

Результат флоуметрии может быть представлен выражением:

$$ПМ = K \cdot N \cdot V_{cp}, \quad (1)$$

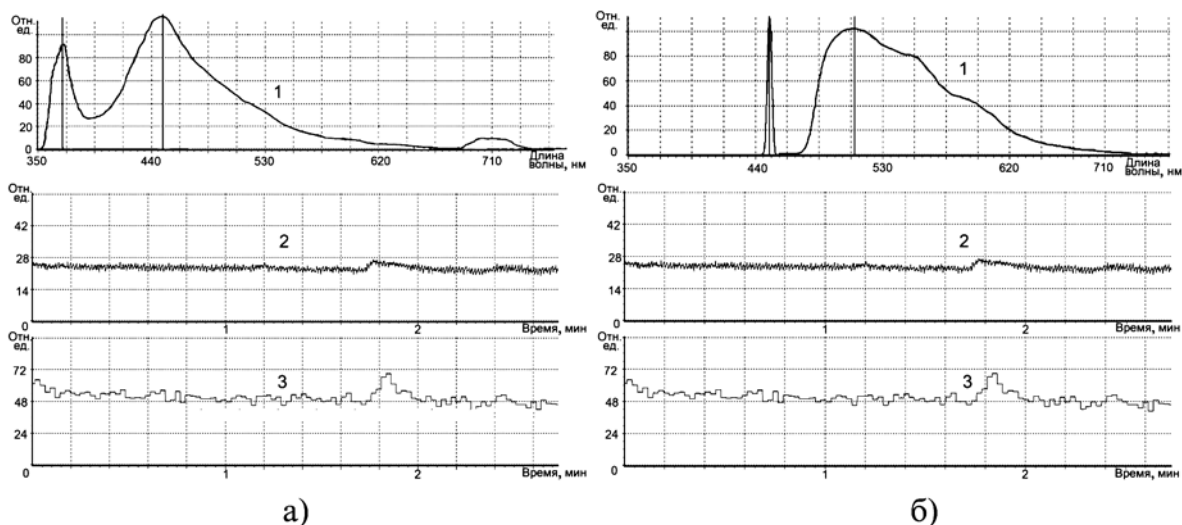


Рис. 1. Пример одновременной регистрации диагностических параметров: а) регистрация кофермента никотинамидадениндинуклеотида (метод ФС) (линия 1), микрокровотока (линия 2) и микролимфотока (линия 3) (способ ЛДФ), сверху вниз; б) регистрация кофермента флавинадениндинуклеотида (линия 1), микрокровотока (линия 2) и микролимфотока (линия 3) (сверху вниз)

где PM – показатель микроциркуляции (амплитуда сигнала в вольтах); K – коэффициент пропорциональности (определяется калибровкой аппарата); N – число рассеивателей в зондируемом объеме ткани; V_{cp} – средняя скорость рассеивателей в зондируемом объеме. Основные рассеивающие частицы в микрососудах крови – эритроциты, в микролимфососудах – рассеиватели из интерстиция, попадающие в лимфатические микрососуды в процессе лимфообразования.

ЛДФ-сигнал имеет постоянную и переменную от времени составляющие, поэтому показатель микроциркуляции можно представить следующим выражением:

$$PM(t) = M + \delta PM(t), \quad (2)$$

где M – постоянная составляющая потока; $\delta PM(t)$ – переменная составляющая потока, которая определяется вариациями во времени как просвета сосудов, их внутренних диаметров, так и скорости потока, которые контролируются регуляторными факторами в системе микроциркуляции.

Амплитуда сигнала, пропорциональная произведению (1), оценивается в относительных единицах.

Рассмотренный диагностический подход позволяет обеспечить одновременный контроль состояния потоков кровотока и лимфотока как физиологически взаимосвязанных компарментов микроциркуляторно-тканевой системы человека.

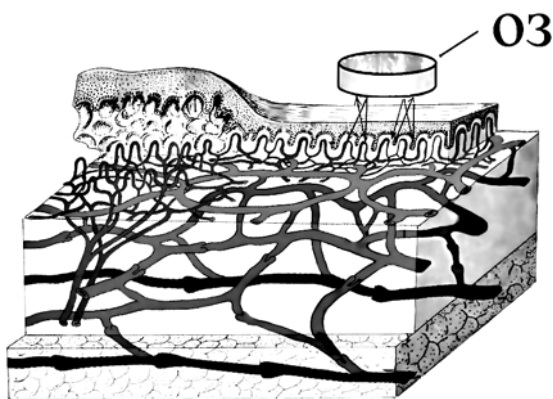


Рис. 2. Схема зондирования ткани в методе лазерной доплеровской флоуметрии (ОЗ – оптический зонд прибора)

2 Флуоресцентная спектроскопия окислительных коферментов

Для возбуждения флуоресценции коферментов НАДН и ФАД [6], [7] применено излучение светодиода NVSU233B-D4 («Nichia») с длиной волны 365 нм, длина волны флуоресценции НАДН – в районе 460...470 нм, и излучение лазерного диода PLT5 450B («OSRAM») на длине волны 450 нм – макси-

мум флуоресценции ФАД в диапазоне длин волн 510...520 нм.

При температурной пробе осуществляется исследование реакции ткани. Чем более выражены изменения в концентрациях НАДН и ФАД при температурной пробе по сравнению с контролем, тем меньше утилизировано субстрата и коферментов в исходном состоянии ткани, значит, большее снижение окислительного метаболизма у пациента. Нормализация окислительного метаболизма связана с восстановлением утилизации субстрата и коферментов. Контрольные значения амплитуд флуоресценции коферментов зависят от области исследований и возраста человека. Ввиду возрастного снижения активности метаболизма контрольные значения на одинаковой области увеличиваются.

Для снижения оптической помехи при регистрации амплитуд флуоресценции, обусловленной вкладом флуоресценции флуорофоров на длинах волн флуоресценции указанных коферментов, предлагается оценивать состояние окислительного метаболизма на основе регистрации изменений ответов флуоресценции при температурном функциональном тесте. В величины приращения (при охлаждении) или уменьшения (при нагреве) амплитуд флуоресценции коферментов не входит флуоресценция коллагена как одного из доминирующих флуорофоров в коже. Нагрев до 35 °С и охлаждение до 10 °С не изменяют содержание коллагена в ткани. При расчете величин изменения амплитуд (A) флуоресценции НАДН (n) и ФАД (f) добавка от коллагена как постоянная величина вычитается. Для диагностики используется полученная разность (ΔA_n и ΔA_f).

Выбор температуры нагрева 35 °С обусловлен следующими обстоятельствами: во-первых, при 35 °С не происходит денатурация белка, в том числе коллагена; во-вторых, эта температура находится вблизи диапазона 38...40 °С, при которой реализуется наибольшая скорость ферментативных реакций [8]. Также при 35 °С возрастает активность местных регуляторных механизмов кожного кровотока, приводящая к увеличению функционирующих капилляров микроциркуляторного русла кровотока.

При охлаждении в ткани происходит холодовая вазодилатация, которая не позволяет однозначно зарегистрировать реакции замедления метаболизма из-за увеличения кровотока как источника нагрева ткани. Охлаждение до 10 °С обусловлено методикой оценки реакции ткани, именно при такой температуре время до наступления холодной вазодилатации составляет около 1 мин, в течение которой возможно корректно получить данные по ослаблению утилизации субстрата и коферментов.

Аппарат «ЛАЗМА СТ», состоящий из анализатора «ЛАЗМА-Д» для контроля периферического кровотока и лимфотока, коферментов окислительного метаболизма и блока «ЛАЗМА-ТЕСТ» для проведения функциональных темпера-

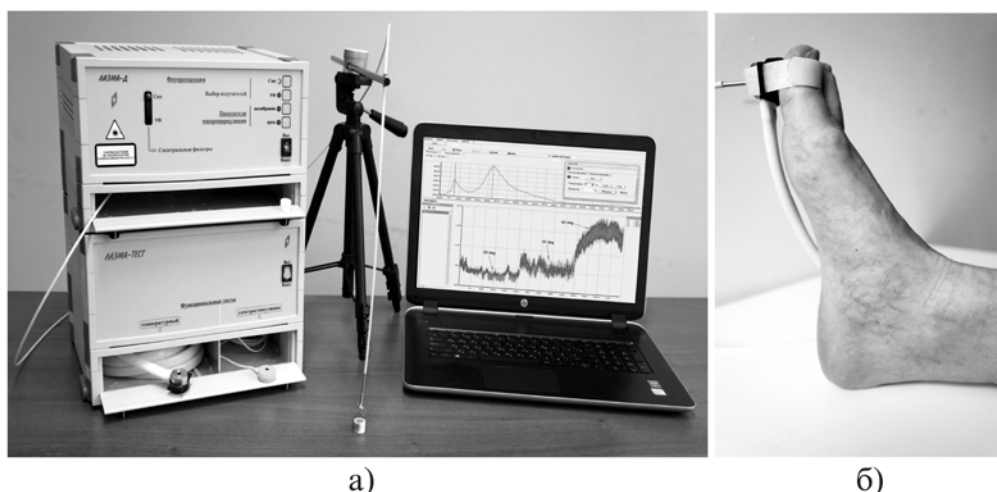


Рис. 3. Аппарат «ЛАЗМА СТ» совместно с ноутбуком, на котором установлено программное обеспечение для регистрации и обработки информации (а); пример размещения оптического волоконного зонда (б)

турных проб, представлен на рис. 3а. Оптический волоконный зонд анализатора «ЛАЗМА-Д», обеспечивающий доставку излучения лазерных источников и прием отраженного от ткани излучения, совмещенный с температурным пробником блока «ЛАЗМА-ТЕСТ», фиксируется на области исследований, например на большом пальце ноги (рис. 3б).

Для количественной оценки разработан показатель окислительного метаболизма $ПОМ = M_{nutr} / (A_n + A_p)$, где M_{nutr} – нутритивный кровоток; $M_{nutr} = A_m / (A_{neur} + A_h)$, где A_{neur} , A_m и A_h – амплитуды осцилляций кровотока в диапазонах нейрогенной, миогенной и сердечных колебаний соответственно. Полученные результаты сравниваются с контрольными значениями.

При охлаждении выявляются резервные возможности МТС. Если величина коэффициента адаптации при охлаждении $Ka^{-1} = [1 - (ПОМ_{in} - ПОМ_{10}) / ПОМ_{in}]$ ($ПОМ_{in}$ и $ПОМ_{10}$ – в исходном и при охлаждении до 10 °С состояниях ткани соответственно) находится в диапазоне контрольных значений 0,8...1,0, то резервные возможности соответствуют норме. При уменьшении величины Ka^{-1} относительно контрольных значений резервные возможности снижены. При нагреве определяется потребность в дополнительном энергетическом обеспечении для функционирования МТС. При уменьшении $Ka^{+1} = [1 - (ПОМ_{35} - ПОМ_{in}) / ПОМ_{in}]$ при нагреве ткани до 35 °С относительно указанного диапазона контрольных значений, повышается потребность ткани в энергетическом обеспечении исходного функционального состояния.

Рассмотренный метод диагностики может быть использован, например, для неинвазивной ранней диагностики сахарного диабета и выбора оптимальной терапии [9].

Обсуждение и выводы

Разработанная аппаратура и методики неинвазивной диагностики позволяют проводить исследования нарушений состояний компартментов микроциркуляторно-тканевой системы кожи человека. Методики могут быть применены для решения разных задач, так как основываются на общих физиологических процессах в ткани. Они могут быть использованы при исследованиях здоровых людей, например при тестировании спортсменов в ходе тренировочных нагрузок, при адапционных испытаниях в режимах экстремальных нагрузок, а также при диагностике больных разной патологией. Рассмотренные методы и аппаратура позволяют зарегистрировать улучшение энергетического обеспечения метаболизма при индивидуальном подборе терапии.

Разработка аппарата «ЛАЗМА СТ» выполнена в рамках госконтракта Минпромторга № 14411.204999.19.096 от 17.11.2014 г., шифр «3.2-Стопа-2014». Анализ полученных данных и их обсуждение проведены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России № 075-00907-21-00.

Список литературы:

1. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность (руководство для врачей) / Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013. 496 с.
2. Петренко В.М. Функциональная морфология лимфатических сосудов / Изд. 2-е, исправ. и доп. – СПб.: СПбГМА, Изд-во ДЕАН, 2008. 400 с.

3. Mokry M., Gal P., Harakalova V., Hutnanova Z., Kusnir J., Mozes S., Sabo J. Experimental study on predicting skin flap necrosis by fluorescence in the FAD and NADH bands during surgery // Photochem. Photobiol. 2007. Vol. 83. № 5. PP. 1193-1196.
4. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2-х т. / Пер. с англ. под ред. В.В. Тучина. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007.
5. Heikal A. Intracellular coenzymes as natural biomarkers for metabolic activities and mitochondrial anomalies // Biomarkers in Medicine. 2010. Vol. 4. № 2. PP. 241-263.
6. Glagoleva E.N., Sidorov V.V., Podoplekina N.D., Faizullina D.R. Evaluation of microcirculatory tissue systems after cosmetic procedures // Regional Hemodynamics and Microcirculation. 2020. Vol. 19. № 3. PP. 25-30.
7. Zharkikha E.V., Loktionova Yu.I., Masalyginab G.I., Krupatkin A.I., Sidorov V.V., Dunaev A.V. Optical noninvasive diagnostics of dynamic changes in the level of blood microcirculation and oxidative metabolism using temperature tests / Proc. of SPIE 1136321. 2020. PP. 1-5.
8. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия / Учебник. 3-е изд. Стереотипное. – М.: Изд-во «Медицина», 2008. 704 с.
9. Шинкин М.В., Звенигородская Л.А., Мктрумян А.М., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркулярного русла как ранняя диагностика синдрома диабетической стопы // Доказательная гастроэнтерология. 2018. Т. 7. № 1. С. 74а-74.

Виктор Васильевич Сидоров,
канд. техн. наук, генеральный директор,
ООО «НПП «ЛАЗМА»,

Юрий Леонидович Рыбаков,
д-р биол. наук, директор,
Вадим Михайлович Гукасов,

д-р биол. наук, гл. научный сотрудник,
Государственный центр экспертизы
в сфере науки и инноваций,

ФГБНУ НИИ «Республиканский исследовательский
научно-консультативный центр экспертизы»
Министерства науки и высшего образования РФ,
г. Москва,

Геннадий Сергеевич Евтушенко,
д-р техн. наук, гл. научный сотрудник,
Государственный центр экспертизы
в сфере науки и инноваций,

ФГБНУ НИИ «Республиканский исследовательский
научно-консультативный центр экспертизы»,
Министерства науки и высшего образования РФ,
г. Москва,

профессор,

отделение электронной инженерии,

Национальный исследовательский Томский
политехнический университет,
г. Томск,

e-mail: victor.v.sidorov@gmail.com

* * * * *