

**ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ**

СОГЛАСОВАНО

Главный внештатный
специалист эндокринолог
Департамента
здравоохранения города Москвы –
проф. Анциферов М.Б.



« » _____ 2019 г.

РЕКОМЕНДОВАНО

Экспертным советом по науке
Департамента здравоохранения города
Москвы №16



«19» сентября 2019 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ №80

**Методы лазерной доплеровской флоуметрии и флуоресцентной спектроскопии для
оценки состояния микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма у
больных сахарным диабетом**

УДК 616.379-008
ББК 54.16
Мет 54

Учреждения разработчики:

ГБУЗ Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ

Авторы:

Шинкин М.В.- научный сотрудник отдела эндокринных и метаболических заболеваний МКНЦ им. А.С. Логинова

Мкртумян А.М.- профессор, д.м.н., руководитель отдела эндокринных и метаболических заболеваний МКНЦ им. А.С. Логинова, заведующий кафедрой эндокринологии и диабетологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова

Звенигородская Л.А. – профессор, д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела эндокринных и метаболических заболеваний МКНЦ им. А.С. Логинова

Сидоров В.В.- кандидат технических наук, руководитель научно-производственного предприятия ООО НПП «ЛАЗМА».

Рецензенты:

Храмлиин Владимир Николаевич – к.м.н., доцент кафедры эндокринологии и диабетологии ФДПО ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России;

Комелягина Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением диабетической стопы, врач-эндокринолог ГБУЗ «Эндокринологический диспансер Департамента здравоохранения города Москвы».

Методические рекомендации предназначены для врачей – эндокринологов, сосудистых хирургов, функциональной диагностики стационарной и амбулаторной сети медицинских учреждений г. Москвы, а также обучающихся на курсах постдипломного образования по специальностям: «Эндокринология», «Сосудистая хирургия», «Функциональная диагностика».

Методические рекомендации являются собственностью Департамента здравоохранения города Москвы и не подлежат тиражированию и распространению без соответствующего разрешения.

Авторы несут ответственность за представленные данные в методических рекомендациях.

СОДЕРЖАНИЕ

НАИМЕНОВАНИЕ РАЗДЕЛА	страница
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
I. ВВЕДЕНИЕ	5
II. ЛАЗЕРНАЯ ДОПЛЕРОВСКАЯ ФЛОУМЕТРИЯ	6
2.1. Микроциркуляторное русло	6-7
2.2. Метод лазерной доплеровской флоуметрии	7-9
III. ЛАЗЕРНАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ	10
3.1. Окислительный метаболизм	10
3.2. Метод лазерной флуоресцентной спектроскопии	10-11
IV. СОВМЕЩЕНИЕ МЕТОДОВ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ И ЛАЗЕРНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ	12
V. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОСНАЩЕНИЕ	13
VI. АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЯ	14-15
VII. СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВОЙ СИСТЕМЫ	16
7.1. Субкомпенсированные нарушения	16-17
7.2. Стойкие декомпенсированные нарушения	18
7.3. Риск развития СДС	18
VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	19
IX. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	20-21

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ЛДФ-** Лазерная доплеровская флоуметрия
ЛФС- Лазерная флуоресцентная спектроскопия
МК- Микроциркуляция кровотока
МСКТА- Мультиспиральная компьютерная ангиография
МТС – Микроциркуляторно-тканевая система
НК – Нутритивный кровоток
НАДН- Никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
ПД- Плантарное давление
ПМ- показатель микроциркуляции
ПО- Программное обеспечение
ПОМ – показатель окислительного метаболизма
РМ- Резерв метаболизма
РФ- Российская Федерация
СД- Сахарный диабет
IDF - Международная диабетическая федерация
ИУ- Индекс утилизации
ИФ - Индекс флуоресценции
УЗДС -Ультразвуковое дуплексное сканирование
ХБП- Хроническая болезнь почек
ФАД - Флавинадениндинуклеотид

I. ВВЕДЕНИЕ

По последним данным, численность больных сахарным диабетом (СД) в мире за последние 10 лет увеличилась более, чем в 2 раза, и к концу 2017 года превысила 425 млн человек. Согласно прогнозам Международной диабетической федерации (IDF) к 2045 году СД будет у 629 млн человек.

В Российской Федерации (РФ), как и во всех странах мира, отмечается значимый рост заболеваемости СД. По данным федерального регистра СД в РФ на окончание 2018 г. состояло на диспансерном учете 4 584 575 человек (3,1% населения), из них: 92% (4 238 503) - СД 2 типа, 6% (256 202) - СД 1 типа и 2% (89 870) - другие типы СД, в том числе 8006 женщин с гестационным СД. Однако эти данные недооценивают реальное количество пациентов, поскольку учитывают только выявленные и зарегистрированные случаи заболевания. Так, результаты масштабного российского эпидемиологического исследования (NATION) подтверждают, что диагностируется лишь 54% случаев СД 2 типа. Таким образом, реальная численность пациентов с СД в РФ не менее 9 млн. человек (около 6% населения), что представляет чрезвычайную угрозу для долгосрочной перспективы, поскольку значительная часть пациентов остается не диагностированными, а, следовательно, не получают лечения и имеют высокий риск развития сосудистых осложнений.

Микро- и макроциркуляторные нарушения, которые зачастую формируются незаметно для пациента, значительно снижают его качество жизни. Это может в конечном итоге привести к ранней смерти пациента.

Комбинация методов лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и лазерной флуоресцентной спектроскопии (ЛФС) позволяют неинвазивно определить состояние системы микроциркуляции и окислительного метаболизма по биомаркерам никотинамидадениндинуклеотид восстановленный (НАДН) и окисленный флавинадениндинуклеотид (ФАД), путем проведения нагрузочной тепловой и холодной пробы для оценки резерва метаболизма.

Метод ЛДФ основан на неинвазивном определении параметров потока крови (перфузии ткани кровью) в единицу времени в исследуемой области, характеризующих микроциркуляцию крови. Оценивается нарушение микрогемоциркуляции.

Метод ЛФС неинвазивно определяет динамику изменения биомаркеров окислительного метаболизма - коферментов: НАДН и ФАД. Метод ЛФС реализуется вместе с проведением температурной пробы: охлаждение – замедление окислительного метаболизма, нагрев - активация окислительного метаболизма. Осуществляется сравнение изменения амплитуд флуоресценции при температурной пробе с амплитудами флуоресценции при исходном состоянии ткани, что позволяет выявить резервные возможности окислительного метаболизма.

Методические рекомендации опубликованы в рамках темы НИР: «Нарушение микроциркуляторно-тканевых систем и оценка эндотелиальной дисфункции больных сахарным диабетом 2 типа и заболеваниями органов пищеварения».

II. ЛАЗЕРНАЯ ДОПЛЕРОВСКАЯ ФЛОУМЕТРИЯ

2.1. Микроциркуляторное русло

Микроциркуляторное русло представляет собой мельчайшую функциональную единицу сосудистой системы, где микрососуды прямо окружают тканевые и паренхимальные клетки, которые снабжают нутриентами и от которых забирают продукты метаболизма. Эта важнейшая область системы кровообращения включает в себя артериолы, кровеносные капилляры, венулы, а также лимфатические капилляры и интерстициальное пространство. С функциональной точки зрения главным регулятором локального микрокровотока являются мелкие артериолы диаметром 10–15 мкм. Они имеют сравнительно толстую гладкомышечную стенку, поэтому их диаметр может меняться в широких пределах, чем и обеспечивается общая локальная модуляция притока крови. В местах отхождения капилляров от терминальных артериол (метартериол) уже нет непрерывного мышечного слоя, но имеются одиночные гладкомышечные клетки, получившие функциональное название прекапиллярные сфинктеры, которые управляют потоком крови через капилляры. Их часто выделяют и рассматривают как отдельный структурно-функциональный элемент микроциркуляторного русла кровообращения вследствие их организующей роли в формировании капиллярного кровотока, его обменно-транспортной и терморегуляторной функций.

Существуют многочисленные факторы, контролирующие микроциркуляцию путем изменения диаметра микрососудов. Местные механизмы регуляции (миогенный, метаболический, сдвиговый стресс) позволяют приспособить кровоток к метаболическим потребностям тканей. Основная же функция нервной регуляции заключается в поддержании системного артериального давления путем изменения сосудистого сопротивления и емкости венозных сосудов. Таким образом, в микроциркуляции существуют две противоположные регулирующие системы: местная регуляция, которая имеет своей целью поддержание кровотока на уровне, необходимом для оптимальной функции каждого органа, и нервная регуляция, которая может ограничить кровоснабжение тканей, особенно так называемых менее важных органов, для того, чтобы увеличить кровоснабжение жизненно важных (мозга, сердца).

Обмен веществ между кровью и тканями осуществляется на всем протяжении микроциркуляторного русла: так, например, значительное количество кислорода поступает из крови в ткани через артериолярную стенку. Однако именно капилляры лучше всего приспособлены для обменного процесса: они имеют большую площадь поверхности, тонкую стенку, состоящую из одного слоя эндотелиальных клеток, и высокую проницаемость, и, таким образом, капилляры являются основной областью обмена нутриентов, гормонов и побочных продуктов метаболизма.

Система микроциркуляции – одна из важных систем, по состоянию которой можно выявлять болезни на ранних стадиях. Необходимо отметить, что нарушения микроциркуляции могут быть не только вторичными, но и первичными, то есть обуславливать развитие ряда заболеваний и определять их исход. С теми или иными нарушениями отдельных звеньев микроциркуляции связано развитие атеросклероза, артериальной гипертензии, эндотоксемии и сепсиса, диабетической нефропатии, венозной недостаточности, диабетической микроангиопатии нижних конечностей.

Мониторирование микроциркуляторной функции в клинике ограничено как из-за небольшого числа безопасных методов исследования, так и из-за сложности интерпретации данных.

Функциональные изменения в микроциркуляции обнаруживаются у больных сахарным диабетом. Структурные и функциональные изменения в микроциркуляторном русле кожи являются одной из причин развития синдрома диабетической стопы.

Гемодинамическая гипотеза нарушения микрогемодициркуляции предполагает, что гипергликемия на ранних стадиях СД опосредует нарушение регуляции кровотока, что приводит к увеличению потока крови, капиллярной фильтрации и микрососудистого давления. Предполагается, что именно эти изменения приводят к структурным изменениям -диабетической микроангиопатии, что может ограничить поступление питательных веществ в ткани в условиях митохондриального стресса.

Другая гипотеза, «синдром капиллярной кражи», предполагает, что влияние вегетативной нейропатии у пациентов с диабетом препятствует симпатической иннервации микроциркуляторного русла, вызывая снижение вазоконстрикции, таким образом, перераспределяя кровь от капилляров через артериовенозные шунты.

В отличие от других методов исследования ЛДФ является безопасным методом оценки микроциркуляторной функции нижних конечностей, поскольку параметры кровотока определяются неинвазивно. С помощью ЛДФ можно исследовать такие звенья гемодициркуляторного русла, как артериолы, терминальные артериолы, капилляры, посткапиллярные вены, вены и артериоло-венулярные анастомозы.

2.2. Метод лазерной доплеровской флоуметрии

В методе ЛДФ применяется алгоритм усреднения по скорости движения эритроцитов, поскольку эритроциты в исследуемом объеме (единицы мм³) движутся с разными скоростями от 0,32 до 1,21 мм/с, число же может достигать несколько десятков тысяч. Данный алгоритм позволяет получить средний поток крови по всей совокупности эритроцитов, попадающих в зондируемую область.

Результат флоуметрии – это поток крови в зондируемом объеме ткани. Он может быть представлен выражением:

$$ПМ = K \times N \times V_{ср},$$

где ПМ - показатель микроциркуляции; K -коэффициент пропорциональности (K=1); N -количество эритроцитов; V_{ср} - средняя скорость эритроцитов в зондируемом объеме.

Оценка состояния микроциркуляторного русла осуществляется в графическом и цифровом виде. В графическом виде осуществляется запись в координатной плоскости: ось — ОХ- это время в секундах; ось ОУ- это показатель микроциркуляции в относительных перфузионных единицах. Выражение для показателя микроциркуляции может быть представлено через стационарный поток крови и переменную составляющую потока крови:

$$ПМ(t) = M \pm \sigma,$$

где M- среднее арифметическое значение показателей кровотока (стационарный поток); норма на подошвенной области большого пальца нога при возрасте 18-50 лет – 10.6-15.8 перфузионных единиц, при возрасте свыше 50 лет – 10.2-15.4 перфузионных единиц, σ - среднее-квадратическое отклонение от среднего значения показателей кровотока (переменная составляющая потока крови).

Пример исследования микроциркуляции приведены на (Рис. 1,2,3.).

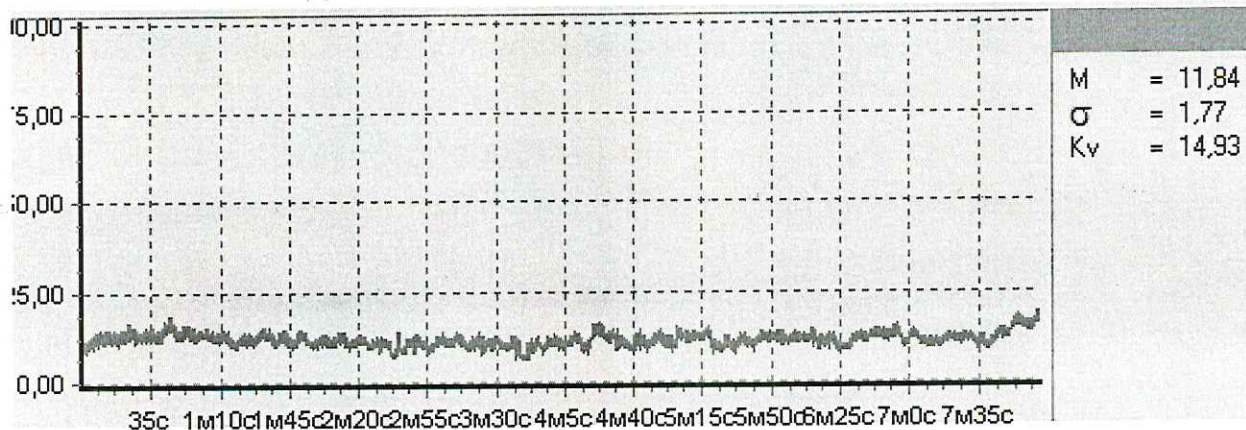


Рис. 1. Нормальная микроциркуляция

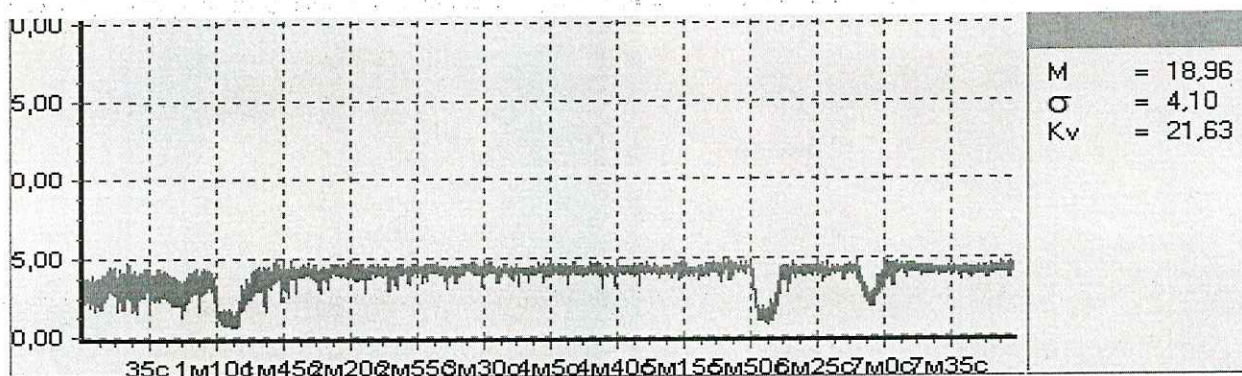


Рис. 2. Повышенная микроциркуляция

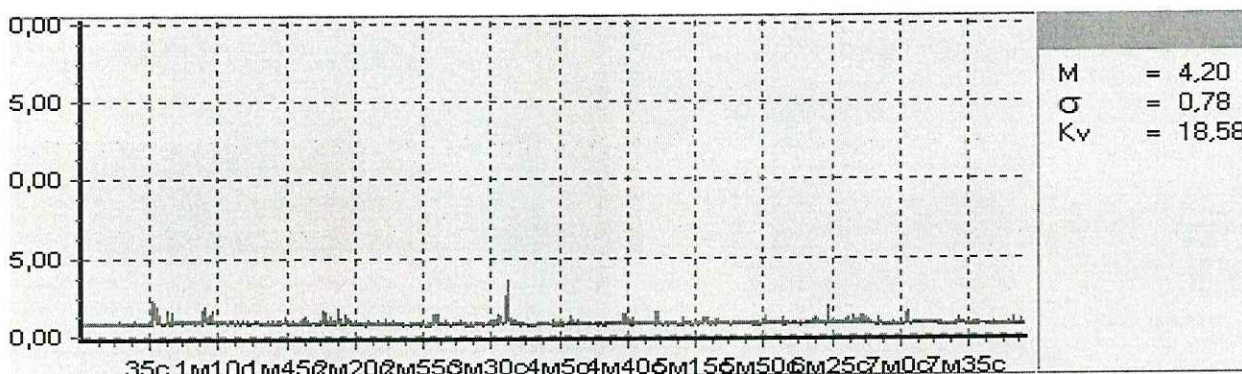


Рис. 3. Сниженная микроциркуляция

В таблице (Таб. 1.) приведены контрольные значения диагностических величин при применении метода ЛДФ в исследовании состояния микроциркуляции на подошвенной области большого пальца ноги здорового человека, в независимости от пола и возраста:

Большой палец ноги	Показатели										
	Перфузия			Вариабельность		Регуляция					Т°С
	МК	М нутр.	М шунт.	σ	Kv	Аэ	Ан	Ам	Ад	Ас	
Контроль (возраст 18-50 лет)	10,6÷ 15,8	2,8÷ 3,4	9,1 ÷ 11,1	0,92÷ 1,38	5,8 ÷ 13	0,28 ÷ 0,42	0,3 ÷ 0,46	0,3 ÷ 0,46	0,24 ÷ 0,36	0,68 ÷ 1,0	31 ÷33
Контроль	10,2÷	1,9÷	9,6÷	1,0 ÷	6,4÷	0,22	0,36÷	0,21 ÷	0,24 ÷	0,72 ÷	31

(возраст от 51 года и выше)	15,4	2,3	11,7	1,5	15	÷ 0,34	0,48	0,31	0,36	1,1	+33
-----------------------------	------	-----	------	-----	----	-----------	------	------	------	-----	-----

Таб. 1. Контрольные значения диагностических величин при применении метода ЛДФ

- МК – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции;
М Nutr – среднее значение нутритивного кровотока;
М шунт. – среднее значение шунтового кровотока;
σ – среднее квадратическое отклонение колебаний кровотока от среднего значения М;
Кv – коэффициент вариации колебаний кровотока;
Аэ, Ан и Ам соответственно амплитуды колебаний кровотока, обусловленные – эндотелиальным, нейрогенным и миогенным механизмами регуляции сосудистого тонуса;
Ад и Ас – амплитуды дыхательных и сердечных колебания кровотока.

$M_{\text{ Nutr}} = MK / (1 + ПШ)$, где $ПШ = ПШ1 + ПШ2$; $ПШ1 = A_n / A_m$, $ПШ2 = A_c / A_m$.
 $M_{\text{шунт.}} = M - M_{\text{ Nutr}}$.

Определяются типы состояний микроциркуляторного русла

Норма

Если результаты обследования не выходят из диапазонов норм по таблице.

Артериальная гиперемия

Должно быть выполнено условие: если имеет место сочетание увеличения двух параметров больше верхнего предела норм: М на 20% и Ас на 20% и более процентов.

Венулярный застой

Если при обследовании имеет место сочетание Ас/Ад менее 1 и превышение верхнего значения диапазона нормы Ад на 50% и более.

Ишемия

Если при обследовании имеет место сочетание следующих параметров: снижение М в 2 и более раз, снижение Ас и Ад на 50% и более относительно нижних значений диапазонов норм.

Спазм артериол и мелких артерий

Если при обследовании имеет место снижение М, Ас и Ад до 50% от нижнего предела диапазона нормы.

Стаз

Если при обследовании имеет место сочетание по параметрам: снижение М и σ в 2 и более раз.

III. ЛАЗЕРНАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

3.1. Окислительный метаболизм

Митохондриальный стресс (нарушение окислительного метаболизма) – основной медиатор нейродегенерации при СД. Высокий уровень глюкозы в тканях обуславливает накопление в митохондриях восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН). Увеличение доступности электронов (-e) и/или насыщенности митохондрий электронами может вызвать парциальное восстановление кислорода до супероксиданион-радикала в начальной части электронной транспортной цепи. Последующий подъем активных форм кислорода вызывает дегенеративные изменения тканей. Возрастное $[Ca^{2+}]_m$ в клетках также может увеличить продукцию НАДН энзимами цикла Кребса – пируватдегидрогеназой, изоцитратдегидрогеназой, альфа-кетоглутаратдегидрогеназой. Дисбаланс редокс-системы (нарушение соотношения НАДН и никотинамидадениндинуклеотида (НАД)), окислительный стресс (образование свободных радикалов) и митохондриальный стресс также участвуют в повреждении тканей при СД.

Вазодилатация и усиление кровотока – характерные ранние сосудистые реакции на острую гипергликемию и тканевую гипоксию.

При СД вследствие уменьшения количества бета-клеток достаточной утилизации НАДН и ФАД не происходит. Это приводит к нарушению гликолитического пути метаболизма глюкозы. Причина – ингибирование глицерол-3-фосфат-дегидрогеназы вследствие снижения количества НАД⁺. Поэтому запускаются другие пути метаболизма глюкозы, в том числе полиоловый. При полиоловом пути обмена генерируется НАДН из НАД⁺. В результате увеличивается соотношение НАДН/ФАД, продукция активных форм кислорода, развивается хроническая псевдогипоксия. Последняя может вызвать хроническое воспаление, способствующее дальнейшему прогрессированию дисфункции бета-клеток и повышению глюкозы крови.

Таким образом, увеличение концентрации НАДН и ФАД может являться индикатором нарушения окислительного метаболизма. Диагностический метод ЛФС позволяет регистрировать рост концентрации указанных коферментов.

3.2. Метод лазерной флуоресцентной спектроскопии

Метод ЛФС неинвазивно определяет динамику коферментов окислительного метаболизма ФАД и НАДН. Оценивается нарушение окислительного метаболизма. Для флуоресцентной спектроскопии применяются излучатели на следующих длинах волн: 365 нм (УФ излучатель) – для возбуждения флуоресценции НАДН; 450 нм (синий излучатель) – для возбуждения флуоресценции ФАД.

Оценка динамики амплитуд флуоресценции коферментов: Анадн (Рис. 4.) и Афад (Рис. 5.)

$$A_{\text{надн}} = A_{f\text{надн}} / A_{i385}, \quad A_{\text{фад}} = A_{f\text{фад}} / A_{i450}$$

A_f – максимум в линии флуоресценции;

A_i – максимум в линии обратного рассеяния.

Ось OX – длина волны в нанометрах;

Ось OY – амплитуда флуоресценции в условных единицах;

Первый подъем- максимум в линии обратного рассеяния (Ai), -обратное рассеянное кожей излучение на длине волны генерации лазера;
Второй подъем- максимум в линии флуоресценции (Af);

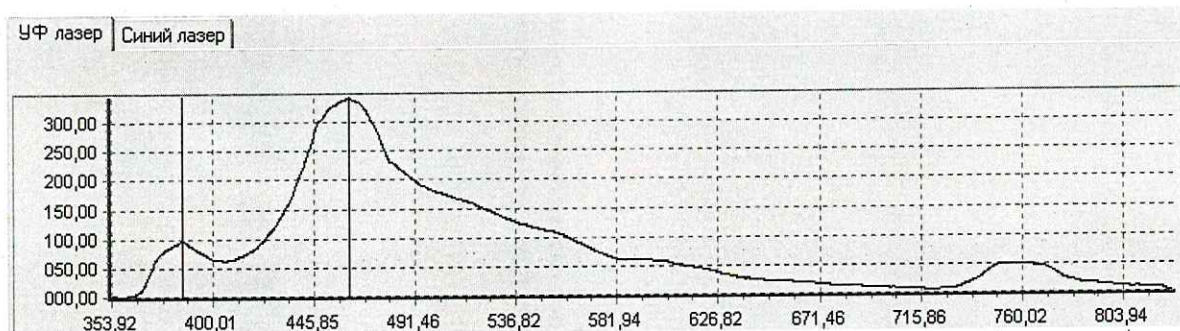


Рис. 4. Пример графического изображения амплитуды флуоресценции НАДН

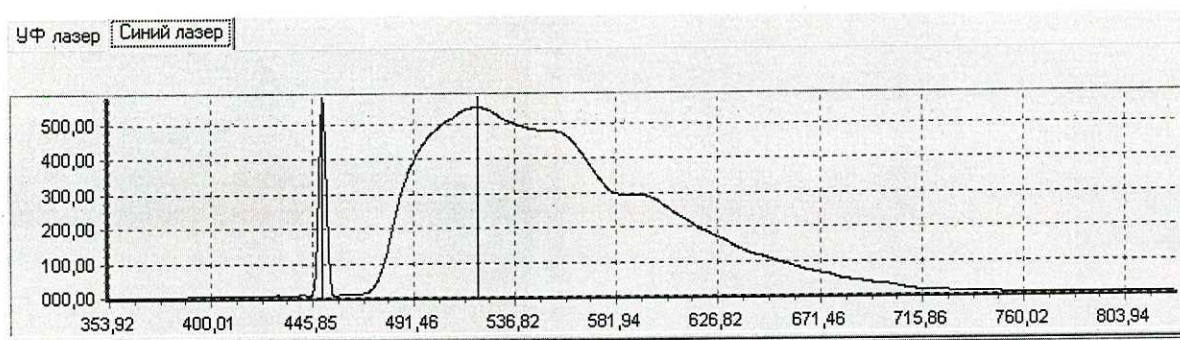


Рис. 5. Пример графического изображения амплитуды флуоресценции ФАД

IV. Совмещение методов ЛДФ и ЛФС

Диагностический подход с одновременной регистрацией динамики функциональных изменений компартментов: микроциркуляции крови (метод ЛДФ) и окислительного метаболизма (метод ЛФС) позволяет оценивать микроциркуляторно-тканевую систему (МТС) с двух позиций:

1. активация тканевого окислительного метаболизма связана с увеличением притока крови к микрососудам (дилатацией артериол) и/или с увеличением поверхности диффузии и транскапиллярного обмена – числа и площади капилляров - повышение показателя нутритивного кровотока $M_{\text{нутр.}}$;
2. при патологии происходит нарушение физиологической связи между компартментами.

Связь состояния микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма в ткани количественно оценивается через следующие параметры:

- показатель окислительного метаболизма (ПОМ), вычисляется по формуле:

$$\text{ПОМ} = M_{\text{нутр.}} / (\text{Анадн} + \text{Афад}).$$

- резерв окислительного метаболизма при проведении температурной пробы. При нагреве области исследования до 35 °С вычисляется резерв - PM^{+}) и при охлаждении 10°С – резерв PM^{-}) по формулам:

$$PM^{+} = (\text{ПОМ}(35) - \text{ПОМ исх.}) / \text{ПОМ исх.} * 100\%,$$

$$PM^{-} = (\text{ПОМ}(10) - \text{ПОМ исх.}) / \text{ПОМ исх.} * 100\%,$$

где ПОМ_{исх.}, ПОМ(35) и ПОМ(10) соответственно показатели окислительного метаболизма в исходном состоянии области исследований, при нагреве 35°С и охлаждении 10°С.

Нормы показателей окислительного метаболизма (ПОМ) и резервов метаболизма (PM^{+}) и PM^{-}), представлены в следующей таблице (Таб. 2.):

Возраст контрольной группы	ПОМ (отн. ед)	PM^{+} (%)	PM^{-} (%)
18-50 лет	5,0–8,0	50–100	-50 – (-100)
От 51 года и выше	8,0–12,0	50–100	-50 – (-100)

Таб. 2. Норма показателей окислительного метаболизма (ПОМ) и резервов метаболизма (PM^{+}) и PM^{-})

V. Материально-техническое оснащение

Для реализации сочетанного применения методов ЛДФ и ЛФС используется Аппарат лазерный диагностический «ЛАЗМА СТ» (регистрационное удостоверение Росздравнадзора № РЗН 2017/5844 от 08 июня 2017 года).

Аппарат выполнен в виде настольного прибора (Рис. 6.). В его состав входит:

- анализатор «ЛАЗМА-Д», предназначенный для оценки периферического кровотока и лимфотока и амплитуд флуоресценции коферментов НАДН и ФАД;
- блок «ЛАЗМА-ТЕСТ» с температурным и электростимуляционным пробниками, предназначенный для проведения температурной и электростимуляционной функциональных проб;
- программное обеспечение для регистрации и обработки диагностической информации.



Рис. 6.

Аппарат лазерный диагностический «ЛАЗМА СТ»

Аппарат работает вместе с программным обеспечением (ПО).

Аппарат подключается к компьютеру с помощью стандартных интерфейсных кабелей, имеющих разрешительные документы, действующие на территории РФ.

На (Рис. 7.) показана рекомендуемая фиксация зонда и температурного пробника на большом пальце ноги



Рис. 7.

Пример фиксации зонда Анализатора «ЛАЗМА-Д» совместно с температурным пробником Блока «ЛАЗМА –ТЕСТ»

VI. Алгоритм исследования

Исследование проводится на подошвенной части большого пальца стопы, с предварительной обработкой спиртовым раствором поверхности пальца.

Исследование осуществляется следующими этапами для двух пальцев ног (Таб. 3.)

Этап исследования	№ п/п	Наименование этапа	Длительность, мин.
I		Фиксация зонда «ЛАЗМА-Д» с пробником «ЛАЗМА-ТЕСТ» на подушечке большого пальца правой ноги	
	1	Регистрация исходной температуры исследуемой области на панели «ЛАЗМА-ТЕСТ» в окне программы. Регистрация записи кровотока и лимфотока, амплитуды флуоресценции НАДН в течение 0-4 мин (УФ) и амплитуды флуоресценции ФАД в течение 4-8 мин (Син)	8
	2	Охлаждение области исследования до 10°C. Контроль охлаждения по данным на панели «ЛАЗМА-ТЕСТ»	
	3	Регистрация записи кровотока и лимфотока при 10°C, спектров флуоресценции НАДН в течение 0-30 с (УФ) и ФАД в течение 30-60 с (Син)	4
	4	Нагрев области исследований до 35°C. Контроль нагрева по данным на панели «ЛАЗМА-ТЕСТ»	
	5	Регистрация кровотока и лимфотока при 35°C, спектров флуоресценции НАДН в течение 0-2 мин (УФ) и ФАД в течение 2-4 мин (Син)	4
II		Фиксация зонда ЛАЗМА-Д с пробником «ЛАЗМА-ТЕСТ» на подушечке большого пальца левой ноги	
	1	Регистрация исходной температуры исследуемой области на панели «ЛАЗМА-ТЕСТ» в окне программы. Регистрация записи кровотока и лимфотока, амплитуды флуоресценции НАДН в течение 0-4 мин (УФ) и амплитуды флуоресценции ФАД в течение 4-8 мин (Син)	8
	2	Охлаждение области исследования до 10°C. Контроль охлаждения по данным на панели «ЛАЗМА-ТЕСТ»	
	3	Регистрация записи кровотока и лимфотока при 10°C, спектров флуоресценции НАДН в течение 0-30 с (УФ) и ФАД в течение 30-60 с (Син)	1
	4	Нагрев области исследований до 35°C. Контроль нагрева по данным на панели «ЛАЗМА-ТЕСТ»	
	5	Регистрация кровотока и лимфотока при 35°C, спектров флуоресценции НАДН в течение 0-2 мин (УФ) и ФАД в течение 2-4 мин (Син)	4

Таб. 3. Алгоритм исследования

На (Рис. 8.) показаны типовые графики регистрации диагностических параметров

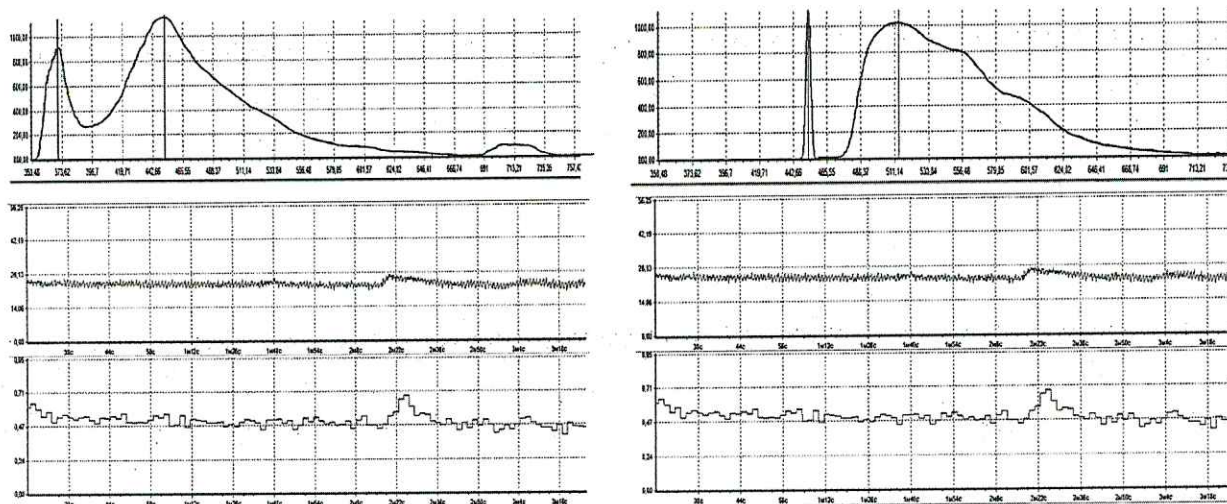


Рис. 8. Графики регистрации диагностических параметров

Левые три графика. Сверху вниз: показана регистрация кофермента НАДН, микрокровотока и микролимфотока. Правые три графика. Сверху вниз: показана регистрация кофермента ФАД, микрокровотока и микролимфотока. Регистрация осуществляется одновременно [Функциональная диагностика: национальное руководство/под. Ред. Н.Ф. Берестень, В.А. Сандрикова, С.И. Федоровой.-М.: GEOTAR-Медиа, 2019, стр. 497]/

VII. СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВОЙ СИСТЕМЫ

7.1. Субкомпенсированные нарушения

1а – микроциркуляция активная, окислительный метаболизм снижен (Рис. 9.)

МК - повышен не более чем на 20%; ПОМ и РМ⁺) - снижены не более чем на 20%

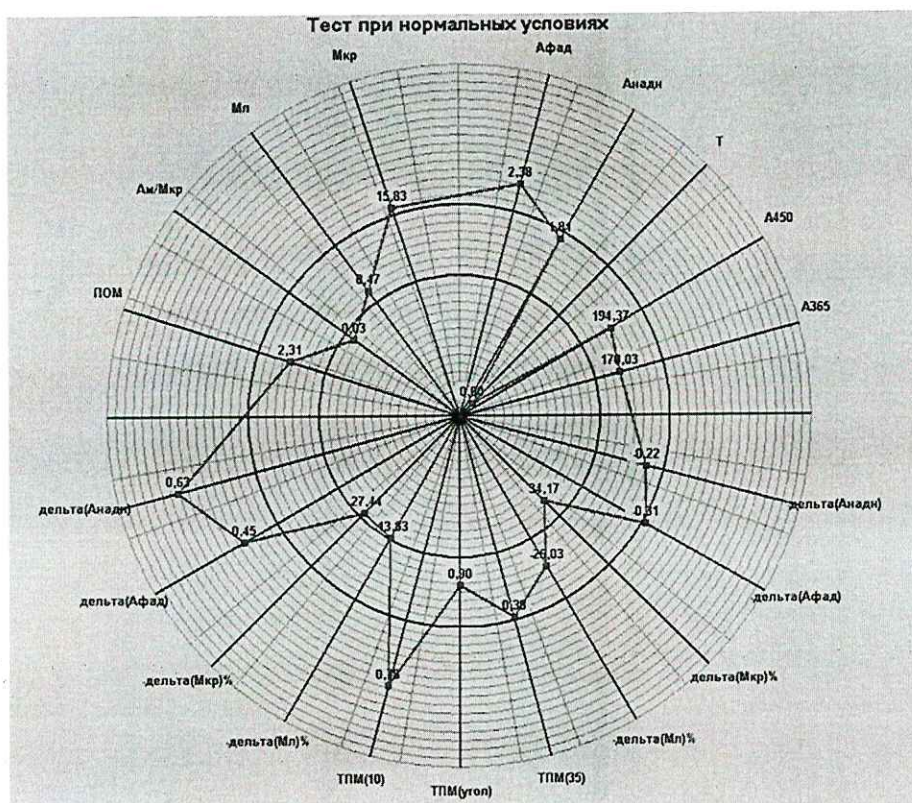


Рис. 9. Микроциркуляция активна, снижение окислительного метаболизма

2b – микроциркуляция неактивная, окислительный метаболизм снижен (Рис. 10.);

МК - повышен более, чем на 20%; ПОМ и РМ⁺) - снижены не более, чем на 20%;

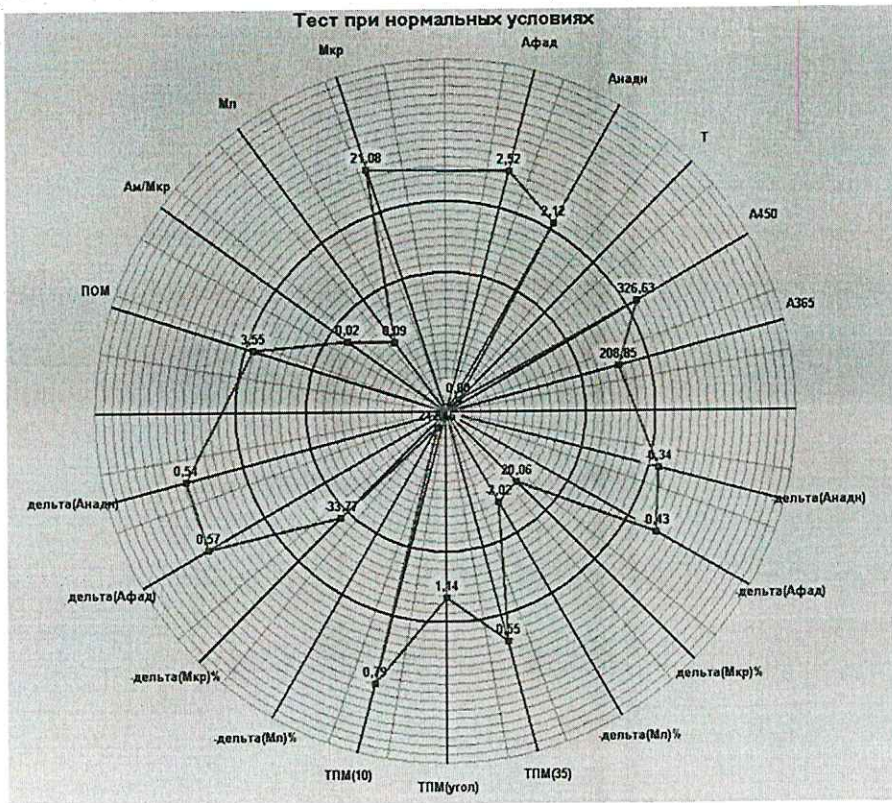


Рис. 10. Микроциркуляция не активна, снижение окислительного метаболизма

Зс – микроциркуляция активная, окислительный метаболизм снижен выраженно (Рис. 11.)

МК - повышен не более чем на 20%; ПОМ и РМ⁺ - снижены более чем на 20%; РМ⁻ - повышен не более чем на 20%

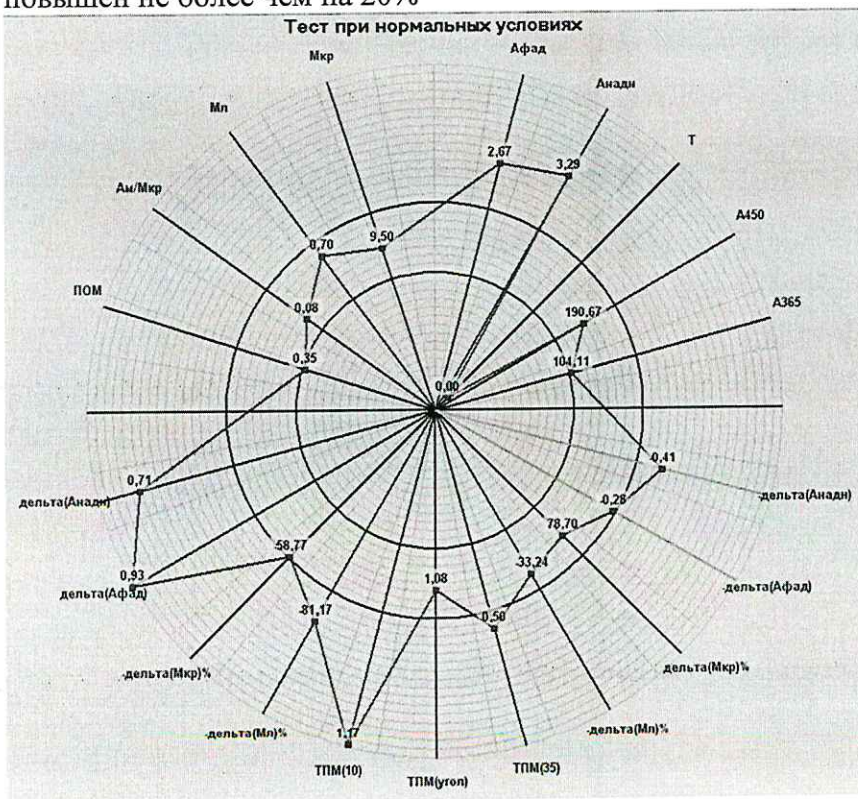


Рис. 11. Микроциркуляция активна, выраженное снижение окислительного метаболизма

7.2. Умеренные декомпенсированные нарушения микроциркуляции и окислительного метаболизма

МК - повышен более чем на 20%; ПОМ и РМ⁺ - снижены более 50%; РМ⁻ - повышен (Рис. 12.)

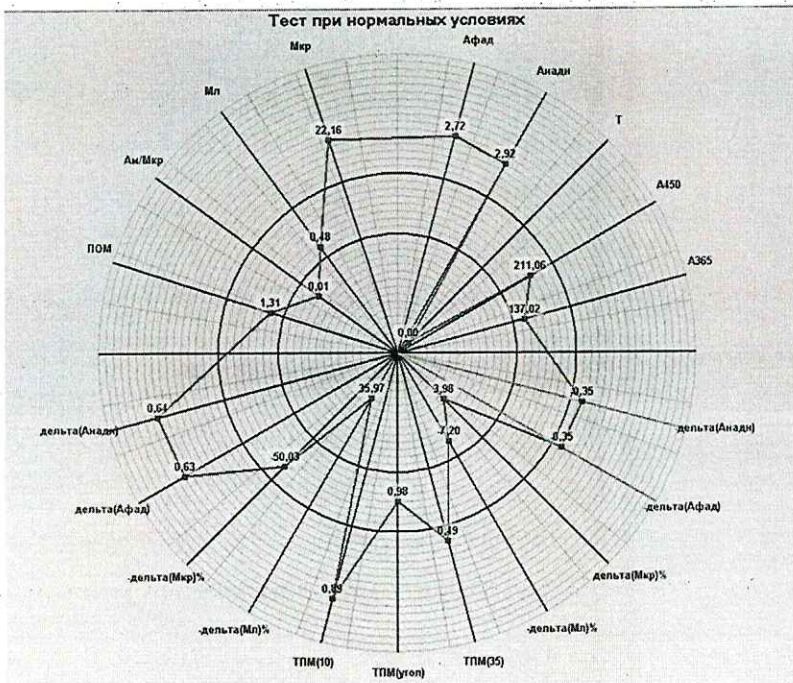


Рис. 12 . Микроциркуляция не активна, выраженное снижение окислительного метаболизма

7.3. Выраженные декомпенсированные нарушения микроциркуляции и окислительного метаболизма

МК - снижен более чем на 60%; амплитуды флуоресценции Af коферментов НАДН и ФАД - снижены более чем в пять раз; (Рис. 13.)

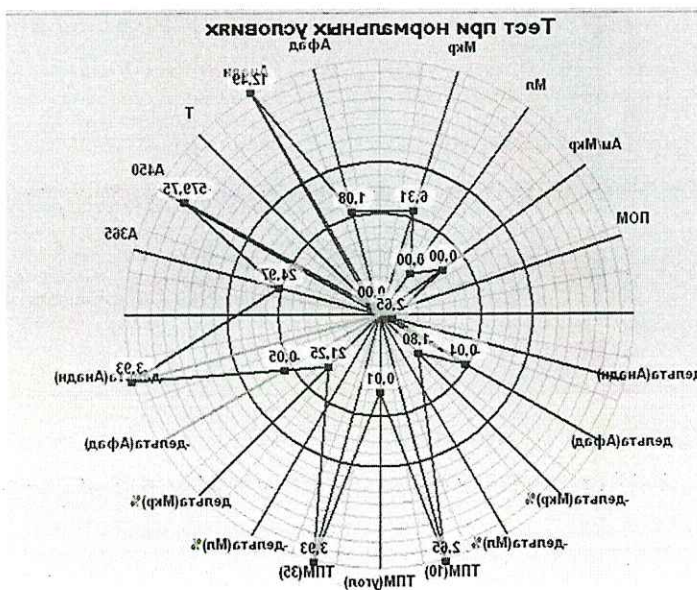


Рис. 13. Микроциркуляция не активна, выраженное снижение окислительного метаболизма

VIII. Заключение

Комплексное использование методов ЛДФ и ЛФС позволяет неинвазивно, безопасно определять состояние микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма у пациентов с сахарным диабетом, путем оценки динамики коферментов энергетического метаболизма и микроциркуляции с проведением функциональных проб (холодовой пробы 10 С и тепловой пробы 35 С). Проведение функциональной холодной и тепловой пробы позволяет выявить резервные показатели энергетического метаболизма.

Аппарат лазерный диагностический «ЛАЗМА СТ» реализует сочетанное применение методов ЛДФ и ЛФС в диагностике нарушений микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма у больных с СД. Входящий в аппарат «ЛАЗМА-СТ» блок «ЛАЗМА-ТЕСТ», с температурным и электростимуляционным пробниками, предназначенный для проведения температурных и электростимуляционных функциональных проб позволяет проводить холодные и тепловые пробы для выявления резервных возможностей энергетического метаболизма.

IX. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Antonetti D. A., Klein R., Gardner T. W. (2012). Diabetic retinopathy. *NEJM. New England J. Med.* 366, 1227–1239. 10.1056/NEJMra1005073
- 2) Берестень Н.Ф., Сандрикова В.А., Федорова С.И. Функциональная диагностика: национальное руководство.: ГЕОТАР-Медиа, 2019, стр. 497]/National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines for Colon Cancer – 2018y.
- 3) Бондаренко О.Н., Аюбова Н.Л., Галстян Г.Р., Дедов И.И., Транскутанная оксиметрия в динамическом наблюдении за пациентами с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей Сахарный диабет 2013 (1) стр 33-42.
- 4) Cohen S. R., Gardner T. W. (2016). Diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Di-ab. Care* 55:137. 10.1159/000438970
- 5) Галстян Г.Р., Токмакова А.Ю., Егорова Д.Н., Митиш В.А., Пасхалова Ю.С., Анциферов М.Б., Комелягина Е.Ю., Удовиченко О.В., Гурьева И.В., Бреговский В.Б., Ерошкин И.А., Ерошенко А.В., Ерошенко А.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению синдрома диабетической стопы. Раны и раневые инфекции. 2015. Т. 2. № 3. С. 63-83.
- 6) Гурьева И.В., Федорова О.С., Строков И.А., Ахмеджанова Л.Т. Комплексный подход к лечению синдрома диабетической стопы Медицинский совет. 2012. № 12. С. 128-133.
- 7) Gustafson S., Heubner B., Lamb K., et al. United States renal data system 2011 annual data report: atlas of chronic kidney disease & end-stage renal disease in the United States. *American Journal of Kidney Disease.* 2012;59(1) 1:e1–e420.
- 8) Dan Ziegler, Sally Edmundson, Irina Gurieva, Boris Mankovsky, Nikolaos Papanas, Igor Strokov. Predictors of response to treatment with actovegin for 6 months in patients with type 2 diabetes and symptomatic polyneuropathy. *Journal of Diabetes and its Complications* Volume 32, Issue 1, January 2018, Pages 123-125
- 9) Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю.. Клинические рекомендации «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больных сахарным диабетом» 8-й выпуск. Стр 8.
- 10) Dremin VV, Sidorov VV and et all. Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus.. *J Biomed Opt.* 2017 Aug;22(8):1-10
- 11). Hammes H.P., Du X., Edelstein D. et al. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy // *Nature Med.* 2003; 9: 294–299. *Syst. Rev.* 2009;
- 12) Heikal A.A. Intracellular coenzymes as natural biomarkers for metabolic activities and mitochondrial anomalies. *Biomark. Med.* 2010
- 13) Hoffmann F, Claessen H, Morbach S, Waldeyer R, Glaeske G, Icks A. Impact of diabetes on costs before and after major lower extremity amputations in Germany. *J Diabetes Complications.* 2013;27(5):467–72. Epub 2013/06/12.
- 14) Kabbani M. et al. Impact of diabetes and peripheral arterial occlusive disease on the functional microcirculation at the plantar foot// *Plast. Rec. Surg. Glob. Open.* 2013
- 15) Кемплер П., Штирбан А., Тесфай С., Чупрыняк Л., Гурьева И., Маньковский Б., Спаллон В., Вересиу И., Шнелль О., Необходимость патогенетически ориентированной терапии невропатий при сахарном диабете ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЛО, № 1 стр 27-34.
- 16) Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б. Синдром диабетической стопы: междисциплинарный подход к ведению больных. *Эндокринология: новости, мнения, обучение.* №4. Стр. 26-32. 2017 г.
- 17) Klonizakis M. et al. Effects of diabetes on the cutaneous microcirculation of the feet in patients with intermittent claudication // *Clin.Hemorheol.Microcirc.* 2014;
- 18) Luo X., Li R., Yan L.-Jun. Roles of Pyruvate, NADH, and Mitochondrial Complex I in Redox Balance and Imbalance in β Cell Function and Dysfunction. *J Diabetes Res.* 2015;

- 19) Maechler P., Carobbio S., Rubi B. In beta-cells, mitochondria integrate and generate metabolic signals controlling insulin secretion. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2006;38(5-6):696–709.
- 20) MacDonald P. E., Joseph J. W., Rorsman P. Glucose-sensing mechanisms in pancreatic β -cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2005;360(1464):2211–2225.
- 21) Matschinsky F. M. Regulation of pancreatic β -cell glucokinase: From basics to therapeutics. *Diabetes*. 2002;51(supplement 3):S394–S404.
- 22) Matschinsky F., Liang Y., Kesavan P., et al. Glucokinase as pancreatic β cell glucose sensor and diabetes gene. *The Journal of Clinical Investigation*. 1993;92(5):2092–2098.
- 2015:
- 23) Недосугова Л.В. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и возможности его медикаментозной коррекции. Диссертация 2006.
<http://www.dissercat.com/content/okislitelnyi-stress-pri-sakharnom-diabete-2-go-tipa-i-vozmozhnosti-ego-medikamentoznoi-korre>
- 24) Подколотный Н.Л., Твердохлеб Н.Н., Подколотная О.А. Математическая модель циркадного осциллятора млекопитающих: взаимодействие с системой NAD⁺/SIRT1 и возрастные изменения экспрессии генов циркадного осциллятора. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(6):848–856.
- 25) Поленов С.А. Основы микроциркуляции // Регионарн. кровообр. и микроцирк. — 2008. — №1. — С. 5-19.
- 26) Prentki M., Matschinsky F. M., Madiraju S. R. M. Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion. *Cell Metabolism*. 2013;18(2):162–185.
- 27) Prentki M., Nolan C. J. Islet β cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(7):1802–1812.
- 28) Price P. The diabetic foot: quality of life. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2004;39 Suppl 2:S129–31. Epub 2004/08/13.
- 29) Trautner C, Haastert B, Spraul M, Giani G, Berger M. Unchanged incidence of lower-limb amputations in a German City, 1990–1998. *Diabetes Care*. 2001;24(5):855–9.
- 30) Fernyhough P., McGavock J. Mechanisms of disease: Mitochondrial dysfunction in sensory neuropathy and other complications in diabetes. *Handb Clin Neurol*. 2014;126:353-77.

**ВЫПИСКА
ИЗ РЕШЕНИЯ УЧЕНОГО СОВЕТА
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
ГОРОДА МОСКВЫ
«МОСКОВСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ИМЕНИ
А.С. ЛОГИНОВА ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ»**

от 25 октября 2019 года

ПРОТОКОЛ № 11

СЛУШАЛИ: Об утверждении методических рекомендаций «Методы лазерной доплеровской флоуметрии и флуоресцентной спектроскопии для оценки состояния микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма у больных сахарным диабетом».

Авторский коллектив: Шинкин М.В., Мкртумян А.М., Звенигородская Л.А., Сидоров В.В.

Рецензенты:

Храмлиин Владимир Николаевич – к.м.н., доцент кафедры эндокринологии и диабетологии ФДПО ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России;

Комелягина Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением диабетической стопы, врач-эндокринолог ГБУЗ «Эндокринологический диспансер Департамента здравоохранения города Москвы».

ПОСТАНОВИЛИ: Утвердить методические рекомендации «Методы лазерной доплеровской флоуметрии и флуоресцентной спектроскопии для оценки состояния микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма у больных сахарным диабетом» и рекомендовать их к публикации в открытой печати.

Председатель Ученого Совета,
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор



И.Е. Хатьков

Ученый секретарь,
к.м.н.



Т.А. Косачева