

На правах рукописи

Куликов Дмитрий Александрович

**НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ
ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ,
СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ СИСТЕМНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ
МИКРОСОСУДОВ**

14.01.04 – Внутренние болезни

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Москва – 2020 г.

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

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН **Палеев Филипп Николаевич**.

Официальные оппоненты:

Адашева Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, кафедра поликлинической терапии, профессор кафедры.

Демидова Татьяна Юльевна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Минздрава России, кафедра эндокринологии лечебного факультета, заведующая кафедрой.

Небиеридзе Давид Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, отдел профилактики метаболических нарушений, руководитель отдела.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится « » 2020 года в 12-00 часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02, созданного на базе ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, д. 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, д. 65 и на сайте www.pirogov-center.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г.

Ученый секретарь объединенного диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор Матвеев Сергей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Медицинское, социальное, экономическое бремя хронических заболеваний внутренних органов во всех уголках земного шара велико и имеет тенденцию к усилению. Так, почти у трети населения мира диагностировано два и более хронических заболевания; при этом частота встречаемости хронических заболеваний внутренних органов достигает почти 60% в развитых странах [McPhail S.M., 2016; Wang H. et al., 2016; Najat C., 2018].

Важным звеном патогенеза заболеваний сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета, а также менее часто встречающихся хронических заболеваний внутренних органов (например, аутоиммунных заболеваний, системных васкулитов, патологий дыхательной системы и др.) является нарушение работы микроциркуляторного русла, что ассоциировано с повышением риска развития сердечно-сосудистых осложнений, поражением органов мишеней (сердце, почки и др.), преждевременной смерти [Strain W.D. et al., 2010; Daiber A., 2017; Tibiriçá E., 2018]. Под микроциркуляторным руслом понимают совокупность сосудов диаметром менее 100–150 мкм; под микроциркуляцией - процесс движения крови по сосудам, относящимся к микроциркуляторному руслу, которое составляет около 99% всех сосудов в теле взрослого человека [Neubauer-Geryk J., 2019].

Недостаток фундаментальных знаний и прикладных разработок в исследованиях функционирования сосудов мелкого диаметра, а также высокая распространенность заболеваний, связанных с нарушениями микроциркуляции, диктуют необходимость исследования этиологии и патогенеза этих заболеваний, механизмов вовлечения в патологический процесс микроциркуляции как мишени для терапии и профилактики возможных осложнений. Это позволит не только повысить качество жизни и выживаемость пациентов, но и снизить общие издержки системы здравоохранения [Janus A., 2016; Dharman D. et al., 2018].

Установлено, что состояние кожной микроциркуляции ассоциировано с таковым в других органах и тканях и является интегральным индикатором состояния системной микроциркуляции, что дает возможность использовать кожу как мо-

дельный орган для оценки нарушений микроциркуляции при патологиях внутренних органов [Куликов Д.А. с соавт., 2017; Bongard O. Et al., 1997; Wright C.I. et al., 2006; Tibirićá E., 2018, Neubauer-Geryk J., 2019]. Кожа представляется самым доступным и предпочтительным органом для оценки состояния микроциркуляторного русла, в том числе и потому, что предоставляет исследователю возможность использования неинвазивных методов диагностики.

Известно множество неинвазивных технологий для исследования микроциркуляторного русла кожи при патологиях внутренних органов. Ни одна из них не нашла поистине широкого клинического применения ввиду различных причин: технических, метрологических, экономических и пр. Клиническая информативность была показана для таких методов как капилляроскопия и видеокапилляроскопия, термография, измерение транскутанного напряжения кислорода, лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ). По мнению ряда авторов, фотоплетизмография, ортогональная спектральная поляризация, ближняя инфракрасная спектроскопия, спектрофотометрия отражения ткани и оптическая когерентная томография, востребованные преимущественно в научных исследованиях, имеют перспективы клинического применения [Wright C.I. et al., 2006; Neubauer-Geryk J., 2019].

Одним из наиболее изученных и применяемых методов для неинвазивной оценки системы кожной микроциркуляции является лазерная доплеровская флоуметрия. Однако стоит отметить, что наибольшую востребованность метод приобрел все же в научных, а не практико-ориентированных (клинических) работах. Для повышения информативности и воспроизводимости результатов ЛДФ сегодня часто используются функциональные тесты [Wright C.I. et al., 2006].

К общим недостаткам современных технологий стоит отнести высокую межиндивидуальную и индивидуальную вариабельность получаемых результатов, низкую чувствительность к ранним изменениям микроциркуляции, получение некоррелированных данных или относительных величин, техническую сложность приборов, длительность диагностики и калибровки, а также зачастую высокую стоимость и большие габариты. Кроме того, большинство приборов (и протоколов про-

ведения функциональных проб) не стандартизовано, отсутствуют единые руководства и алгоритмы сбора и пострегистрационной обработки данных [Amaral Tafner P.F., 2017; Neubauer-Geryk J., 2019].

Развитию научно-практического направления по мониторингу состояния микроциркуляторного русла может послужить разработка новых методов диагностики. Так, некогерентная оптическая флукуационная флоуметрия (НОФФ) является новым перспективным методом неинвазивной оценки кожной микроциркуляции (метод разработан сотрудниками ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского). Метод основан на близких ЛДФ принципах, позволяет регистрировать параметры кожной микроциркуляции с использованием функциональных тестов и при этом лишен ряда ограничений, присущих ЛДФ. При реализации метода НОФФ происходит зондирование ткани световым лучом при помощи светодиодов, затем запись колебаний обратно рассеянного сигнала, ассоциированного с микрокрово-током, в диапазоне частот 0-20 Гц. В конечном итоге происходит автоматический расчет среднеквадратичного значения переменной составляющей сигнала на основании специальной математической формулы [Лапитан Д.Г., Рогаткин Д.А., 2017; Lapitan D.G., Raznitsyn O.A., 2018].

Разработка комплексных подходов, включающих использование новых методов, создание и стандартизацию алгоритмов регистрации, обработки, анализа данных о состоянии системы микроциркуляции кожи, предоставит новые фундаментальные знания о работе микроциркуляторного русла, о патогенезе хронических заболеваний внутренних органов и их осложнений, о перспективах профилактики и повышения эффективности их лекарственной терапии. Это послужит основой для создания новых образцов оборудования и позволит решить проблему мониторинга состояния микроциркуляции у пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов.

Ограничения существующих методов оценки микроциркуляции, появление новых перспективных методов, а также сохраняющаяся значительная потребность во внедрении этих методов в клиническую практику определяет большую актуальность данной работы и стала основанием для ее проведения.

Цель исследования – разработка и патогенетическое обоснование использования новых подходов к оценке состояния микрососудистого русла у пациентов терапевтического профиля с применением неинвазивных технологий.

Задачи исследования:

1. Изучить возможности использования параметров микроциркуляции, отражающих состояние микрососудистого русла кожи, при оценке риска сердечно-сосудистых осложнений.
2. Исследовать диагностические возможности нового метода некогерентной оптической флукуационной флоуметрии в оценке микроциркуляторных нарушений.
3. Предложить новые диагностические подходы для комплексной оценки состояния кожной микроциркуляции у пациентов с повышенным сердечно-сосудистым риском.
4. Разработать алгоритм диагностики микроциркуляторных нарушений на основании комплексной оценки состояния микрососудистого русла.
5. Определить перспективы использования разработанных алгоритма и диагностических подходов в научных исследованиях, при обследовании и лечении пациентов терапевтического профиля.

Связь данного исследования с планом научных исследований, проводимых в институте. Исследование проводилось в рамках НИР 2016-2020 гг. ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского по теме № 33 «Разработка лазерных неинвазивных и малоинвазивных диагностических технологий», НИР 2020-2024 гг.: по темам №34 «Развитие теоретических и практических основ новых инновационных методов и приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии», №35 «Новые подходы к комплексной оценке параметров центральной и периферической гемодинамики в практике ведения пациентов с заболеваниями различной этиологии» на базе лаборатории медико-физических исследований (заведующий - д.т.н. Рогаткин Д.А.) отдела экспериментальных и клинических исследований, отделения кардиологии (заведующий к.м.н. - Шехян Г.Г.), отделения профпатологии

и ВТЭ (заведующий д.м.н. - Терпигорев С.А.), отделения терапевтической эндокринологии (заведующий - д.м.н., профессор Древаль А.В.), кафедры терапии факультета усовершенствования врачей (заведующий - чл.-корр. РАН Палеев Ф.Н.).

Научная новизна исследования. Проведено комплексное научное обоснование применимости данных о состоянии кожной микроциркуляции крови, полученных с использованием неинвазивных технологий, в оценке сердечно-сосудистого риска у пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов.

Впервые при проведении сравнительного проспективного исследования (дизайн «случай-контроль») показаны высокие чувствительность и специфичность нового метода неинвазивной оптической флукуационной флоуметрии при выявлении микроциркуляторных нарушений в коже.

Предложена теоретическая модель регуляции кожного кровотока. На основе модели и анализа современных подходов к изучению сердечно-сосудистой системы разработан прототип нового медицинского прибора для комплексной оценки микроциркуляции у пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов. В рамках клинической апробации прибора разработаны количественные критерии отнесения пациентов в группы риска по наличию/тяжести повреждения микроциркуляторного русла.

В новом оборудовании реализованы оригинальные алгоритмы регистрации параметров кожной микроциркуляции при проведении функциональных проб и обработки данных. Обоснованы фундаментальные и практико-ориентированные перспективы для развития неинвазивного мониторинга состояния микроциркуляции у пациентов терапевтического профиля. По результатам исследования получены патенты Российской Федерации на изобретение № 2547800, № 2637102, № 2677590.

Теоретическая и практическая значимость работы. Изучены патофизиологические феномены, характеризующие состояние кожной микроциркуляции крови при различных клинических ситуациях. Определены и формализованы условия для исследования кожной микроциркуляции крови методами оптической неинвазивной диагностики, перспективные для широкого применения в клинической практике. Предложены алгоритмы регистрации и интерпретации параметров мик-

роциркуляции, включающие методику проведения (крепление датчиков, комбинация функциональных тестов, длительность процедуры и тому подобное), способы пострегистрационной обработки первичных данных, соотнесения их с физиологическими значениями и результатами инструментальных исследований, применяемых в рутинной клинической практике.

Предложенные алгоритмы реализованы в новом оборудовании – прототипе медицинского прибора, позволяющем проводить комплексную оценку параметров центральной и периферической гемодинамики, в том числе с применением нового метода некогерентной оптической флуктуационной флоуметрии.

Таким образом, была теоретически обоснована и реализована в новом оборудовании и соответствующем программном сопровождении комплексная технология для мониторинга состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Выраженность нарушений микроциркуляции, сопровождающих большой спектр хронических заболеваний внутренних органов, оцененная при помощи лазерной доплеровской флоуметрии и некогерентной оптической флуктуационной флоуметрии, позволяет косвенно судить о тяжести их течения.

2. Регистрация параметров микроциркуляции методом ЛДФ (в покое и в рамках проведения функциональных тестов) даёт возможность оценить состояние микроциркуляторного русла, однако технические и метрологические особенности реализации метода ЛДФ сдерживают его широкое клиническое применение.

3. Аппаратная реализация метода НОФФ, позволяющего неинвазивно оценивать кожную микроциркуляцию крови и лишённого ограничений, присущих существующим лазерным технологиям, в комбинации с осциллометрической тонометрией, тканевой оксиметрией и фотоплетизмографией, даёт возможность комплексной оценки состояния и регуляции системы микроциркуляции организма. Применение разработанной технологии комплексной неинвазивной

оценки параметров макро- и микрогемодинамики информативно и целесообразно для объективного мониторинга состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов.

Внедрение результатов работы в практику и учебный процесс. Результаты диссертационной работы внедрены автором в практическую деятельность отделений кардиопульмонологии, профпатологии и ВТЭ, терапевтической эндокринологии, отдела хирургии сосудов и ИБС, лаборатории медико-физических исследований ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского». В преподавательском процессе на кафедре эндокринологии факультета усовершенствования врачей используются учебно-методические пособия «Функциональная диагностика кожной микрогемодициркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии у пациентов с сахарным диабетом» (Куликов Д.А., Глазков А.А., Ковалёва Ю.А., Куликова П.А.) и «Требования к оптическим приборам для исследования кожной микроциркуляции крови у пациентов с сахарным диабетом» (Лапитан Д.Г., Куликов Д.А., Глазков А.А., Куликова П.А., Ковалёва Ю.А.).

Результаты исследований также внедрены в АО «Елатомский приборный завод» для разработки прототипов и опытных образцов медицинских изделий – приборов для неинвазивной оценки гемодинамики.

Личный вклад соискателя. Определение цели, задач исследования проведены лично соискателем, разработка дизайна, интерпретация полученных результатов - при участии научного консультанта члена-корреспондента РАН Палеева Ф.Н. Соискатель принимал непосредственное участие в обследовании пациентов и добровольцев на базе лаборатории медико-физических исследований и, имея сертификаты врача терапевта и эндокринолога, - в клинических подразделениях института, обработке данных и анализе результатов.

Печатные работы (публикации) подготовлены при ключевом участии соискателя. Выносимые на защиту научные положения, выводы и практические рекомендации являются результатом изысканий соискателя.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Достоверность полученных результатов определяется адекватным цели и задачам дизайном исследования, достаточным объемом клинического материала, использованием современных методов лабораторного и инструментального обследования и статистического анализ данных.

Результаты работы доложены на крупных профильных форумах и конференциях в России и за рубежом, в том числе: III Всероссийский научный форум «Наука будущего-наука молодых» (Россия, Нижний Новгород, 2017), 11-я и 12-я международная конференция «Микроциркуляция и гемореология» (Россия, Ярославль, 2017, 2019), VII Всероссийская с международным участием школа-конференция "Физиология и патология кровообращения" (Россия, Москва, 2020), XVI Всероссийский конгресс «Артериальная гипертензия 2020: наука на службе практического здравоохранения» (Россия, Ярославль, 2020), Saratov Fall Meeting 2019 (Russian Federation, Saratov), ATTD - Advanced Technologies and Treatments for Diabetes (Италия, Милан, 2016), ATTD - Advanced Technologies and Treatments for Diabetes (Германия, Берлин, 2019), ATTD - Advanced Technologies and Treatments for Diabetes (Испания, Мадрид, 2020) и др.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 40 печатных работ, из них 1 глава в монографии, 13 публикаций в рецензируемых научных журналах, из них 8 – в журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, 3 патента, 2 учебно-методических пособия.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 223 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, характеристики больных и описания методов исследования, а также 3 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы; иллюстрирована 57 рисунками, содержит 33 таблицы; список литературы содержит 200 источников, из них 22 отечественных и 178 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа была проведена в несколько этапов, основана на большом объеме клинического материала (559 лиц, из них: 142 условно-здоровых добровольца и 417 пациентов с заболеваниями, для которых характерно нарушение микроциркуляции) и в завершении ее был разработан и изготовлен прототип прибора, который был апробирован в клинической практике. Клинические этапы исследования по дизайну представляли собой проспективное поперечное исследование «случай-контроль». Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом при ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (протокол № 8 от 18 октября 2016 года). Уточнённые протоколы отдельных фрагментов исследования были одобрены Независимым комитетом по этике при ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского: протоколы № 11 от 12.12.2017 года, № 11 от 13.12.2018 года, № 2 от 13.02.2020 года.

Все пациенты и условно здоровые добровольцы подписали добровольное информированное согласие, возраст их, на момент включения в исследование, был старше 18 лет (в соответствии с критериями включения).

На первом этапе мы оценили диагностические возможности метода ЛДФ. В исследование было включено 513 лиц: 126 условно здоровых добровольцев и 387 пациентов. Во время прескрининга и скрининга кандидаты были оценены на соответствие критериям включения/невключения. Условно здоровые добровольцы не имели нарушений углеводного обмена, хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы, легких, почек, нарушений липидограммы, индекс массы тела составил менее 25 кг/м². Медиана возраста условно здоровых добровольцев составила 27 лет, Q1-Q3: 24; 37 лет, от 20 до 68. Для исключения ишемической болезни сердца и хронической сердечной недостаточности проводился опрос на предмет наличия характерных болей в области сердца, одышки при физической активности, регистрация электрокардиограммы. Диагностика отсутствия артериальной гипер-

тензии осуществлялась анамнестически (отсутствие эпизодов повышения артериального давления), также проводилось измерение артериального давления перед исследованием микроциркуляции. Кроме этого, у всех пациентов данной группы проводилось определение глюкозы крови натощак.

Пациенты с заболеваниями, для которых характерно нарушение микроциркуляции, напротив, имели подтвержденный диагноз сахарного диабета и/или заболеваний сердечно-сосудистой системы (одно или более: артериальная гипертензия, стенокардия напряжения, хроническая сердечная недостаточность (ХСН), сердечно-сосудистые события в анамнезе - инфаркт миокарда, острая недостаточность мозгового кровообращения). Патология сердечно-сосудистой системы была выявлена у 55,6% пациентов (215 из 387): у 55,3 – артериальная гипертензия (214 из 387), у 32,6% – стенокардия напряжения (126 из 387), у 27,9% – ХСН (108 из 387). Среди пациентов было 245 женщин (63,3%) и 142 мужчины (36,7%). Медиана возраста пациентов - 56 лет, Q1-Q3: 41; 63 лет, от 19 до 78.

Измерение кожной микроциркуляции методом ЛДФ было выполнено на приборе ЛАКК-02 (комплекс ЛАКК-02, ООО НПП “ЛАЗМА”, Москва, Российская Федерация) – рисунок 1.



Рисунок 1. Прибор ЛАКК-02 (ООО НПП “ЛАЗМА”, РФ)

Измерения регистрировались в виде записи ЛДФ-граммы и проводились как на этапе базовой перфузии, так и при выполнении функциональных проб (тепловой и окклюзионной), что позволило существенно дополнить представление о состоянии микроциркуляторного русла – рисунок 2.

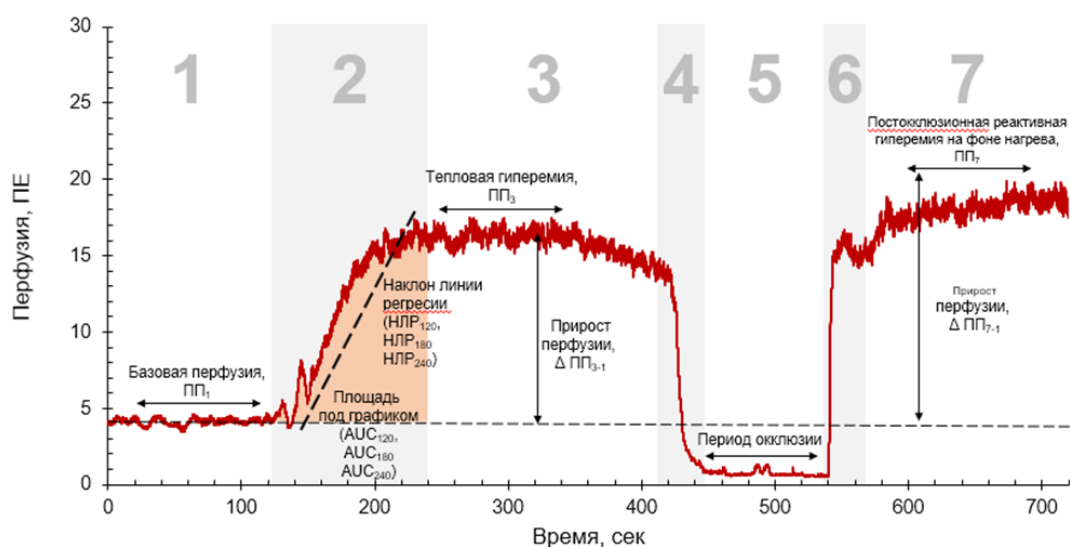


Рисунок 2. Схема проведения ЛДФ с тепловой и окклюзионной пробами, где: ПП₁ – базовый уровень перфузии, ПП₃ – уровень теплой перфузии (тепловая гиперемия), ПП₇ – постокклюзионной уровень перфузии, СО₁ – стандартное отклонение базового уровня перфузии, СО₃ – стандартное отклонение уровня теплой перфузии, СО₇ – стандартное отклонение постокклюзионного уровня перфузии, КВ₁ – коэффициент вариации базового уровня перфузии, КВ₃ – коэффициент вариации уровня теплой перфузии, КВ₇ – коэффициент вариации постокклюзионного уровня перфузии, НЛР₁₂₀ – наклон уровня регрессии через 120 секунд нагрева, НЛР₁₈₀ – наклон уровня регрессии через 180 секунд нагрева, НЛР₂₄₀ – наклон уровня регрессии через 240 секунд нагрева, AUC₁₂₀ – площадь под кривой перфузии через 120 секунд нагрева, AUC₁₈₀ – площадь под кривой перфузии 180 секунд нагрева, AUC₂₄₀ – площадь под кривой перфузии 240 секунд нагрева, ΔПП₃₋₁ – абсолютный прирост перфузии между этапами тепловой гиперемии и базовой перфузии, ΔПП₇₋₁ – абсолютный прирост перфузии между этапами постокклюзионной перфузии и базовой перфузии, ΔПП₇₋₃ – абсолютный прирост перфузии между этапами постокклюзионной перфузии и тепловой гиперемии.

Ограничения метода ЛДФ побудили нас к дальнейшим исследованиям. В итоге был предложен метод для оценки состояния микроциркуляции, основанный на иных физических принципах – некогерентная оптическая флуктуационная флоуметрия, реализация метода была дополнена функциональными пробами. В этот этап исследования было включено 56 лиц: 16 условно-здоровых добровольцев и 40 пациентов с сахарным диабетом.

Условно здоровые добровольцы имели те же критерии включения/невключения, что и условно-здоровые добровольцы, включенные в первый этап исследования. Медиана возраста - 26 лет [Q1-Q3: 22,75; 32,25] (от 21 года до 44 лет).

Пациенты с сахарным диабетом были рандомизированы в одну из двух подгрупп с зависимости от его тяжести. Основными критериями включения в подгруппы пациентов с «умеренным» течением сахарного диабета были средний и пожилой возраст по критериям ВОЗ, установленный диагноз сахарного диабета, наличие периферической нейропатии (за исключением автономной) и других микрососудистых осложнений (не-/препролиферативной диабетической ретинопатии), отсутствие сердечно-сосудистых событий и синдрома диабетической стопы в анамнезе. Медиана возраста этих 14 пациентов составила 57 лет [Q1-Q3: 46,25; 63] (от 37 до 71). 16 пациентов с «тяжелым» течением сахарного диабета также были среднего или пожилого возраста по критериям ВОЗ, имели подтвержденный диагноз сахарного диабета и синдрома диабетической стопы. Также в этой группе пациентов наличие автономной нейропатии не было критерием исключения. Медиана возраста этих пациентов составила 64,5 лет [Q1-Q3: 58,25; 70,75] (от 55 до 73).

Критерии не включения в исследование были общими для всех пациентов на всех этапах: подтвержденные злокачественные заболевания, заболеваний крови, аутоиммунные заболевания, тяжелые нарушения ритма сердца, наличие острых вирусных инфекций, обострение сопутствующих хронических заболеваний, беременность, хроническая болезнь почек 5 стадии. Также мы учитывали и сопутствующую медикаментозную терапию: в исследование не включались пациенты, получающие стероидные или нестероидных противовоспалительные препараты, заместительную гормональную терапию.

Далее был разработан прототип прибора, который позволил в полной мере раскрыть потенциал метода НОФФ - в основу работы нового оборудования положен комплексный подход по одновременной неинвазивной регистрации целого спектра параметров макро- и микрогемодинамики методами НОФФ, осцилломет-

рической тонометрии, фотоплетизмографии, тканевой оксиметрии, а также возможностью проведения окклюзионной и тепловой проб в автоматическом режиме. На четвертом этапе была проведена клиническая апробация прибора.

Измерения показателей НОФФ проведены на оригинальном прототипе прибора с функцией контроля гемодинамических показателей в коже конечностей, который предназначен для оценки состояния центральной и периферической гемодинамики – рисунок 3.

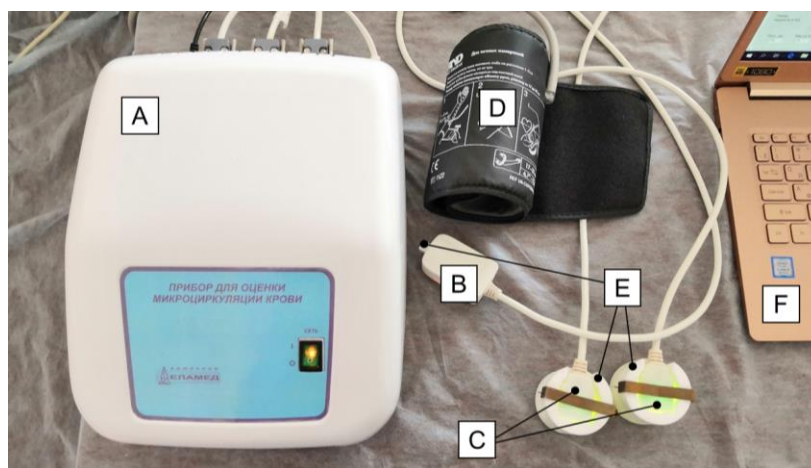


Рисунок 3. Фотография прибора с обозначением элементов. А - основной электронный блок; В - пальцевой оптический датчик для измерения перфузии, скорости пульсовой волны, индекса формы пульсовой волны, сатурации и кровенаполнения в пальце руки; С - два выносных оптических датчика для измерения перфузии, скорости пульсовой волны, индекса формы пульсовой волны и для проведения тепловой пробы на ноге; D - плечевая манжета для измерения артериального давления и создания окклюзии; E - калибровочные меры уровня белого; F - управляющий компьютер с программным обеспечением.

Измерения перфузии были дополнены тепловой и окклюзионной пробами, но в несколько отличной от первого этапа реализации – рисунок 4. В результате исследования формировалась итоговая диагностическая карта пациента, позволяющая оценить состояние микроциркуляторного русла, а также его регуляторные механизмы.

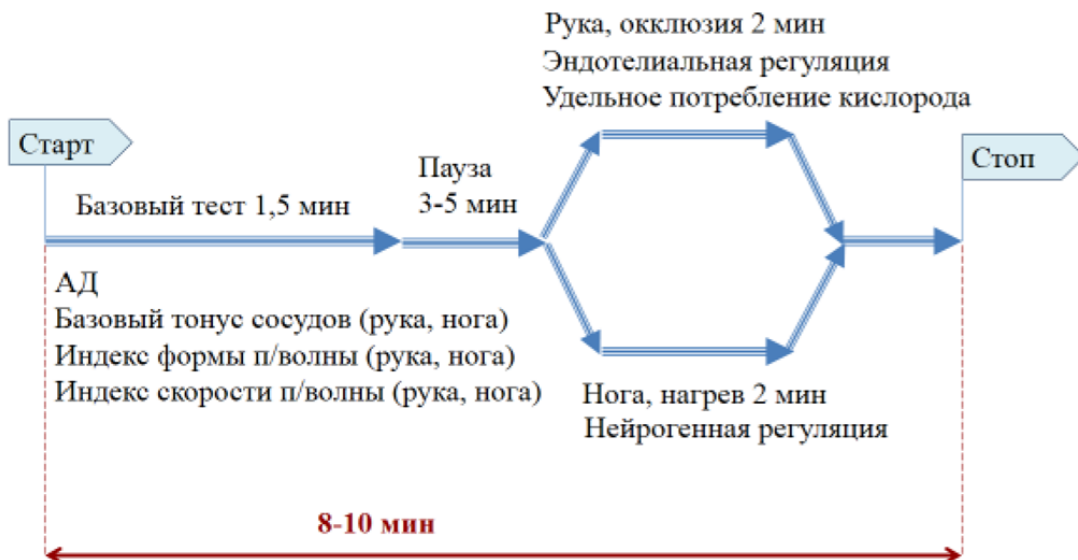


Рисунок 4. Схема исследования при помощи разработанного прибора.

Все полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу. Были использованы критерии проверки статистических гипотез с учетом соблюдения условий их применимости. В большинстве случаев мы применяли непараметрические критерии (критерии Манна-Уитни, Крускала-Уоллиса). Нулевые гипотезы отвергали при вероятности ошибки первого рода менее 5% ($p < 0,05$). Считаем важным подчеркнуть, чтобы избежать проблем, связанных с множественным тестированием гипотез (что увеличивало вероятность допустить ошибку первого рода, иными словами – найти статистически значимые различия там, где их нет), была применена коррекция уровня значимости. Это существенно увеличивает достоверность полученных результатов. Мы применяли коррекцию уровня значимости по методу false discovery rate (процедуру Benjamani, Krieger and Yekutieli).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Применение ЛДФ у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и сахарным диабетом

Потенциально основным фактором, влияющим на показатели ЛДФ, является поражение микроциркуляторного русла при различных заболеваниях. И действительно, развитие заболеваний сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета или их сочетания приводит к существенному изменению почти всех, показателей

ЛДФ – таблица 1. При апостериорных попарных сравнениях мы не отметили статистически значимых различий только для показателя базовой сосудистой проводимости. При этом показатели, характеризующие прирост гиперемической реакции и/или сосудистой проводимости (например, Δ Пров₇₋₁), помимо значимых отличий контрольной группы от пациентов из остальных групп, продемонстрировали различия между пациентами с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) и сочетанием ССЗ+СД, пациентами с СД и пациентами с сочетанием ССЗ+СД. С одной стороны, это свидетельствует о том, что ЛДФ может быть полезна для оценки тяжести этих заболеваний или дифференциальной диагностики, а с другой стороны – о том, что для раскрытия потенциала этого метода он должен быть дополнен функциональными пробами.

Таблица 1. Различия показателей ЛДФ в группах обследованных. Приведены медианы, первый и третий квартили, p-value.

	Здоровые добровольцы	Заболевания сердечно-сосудистой системы	Сахарный диабет	Заболевания сердечно-сосудистой системы в сочетании с сахарным диабетом	p (K-W test)
ПП ₁	3,62 [2,75; 5,54]	4,53 [3,083; 8,208]	3,91 [2,463; 5,34]	3,9 [2,715; 5,81]	0,0435
ПП ₃	22,35 [19,15; 25,13]	20,55 [15,98; 23,9]	16,35 [12,53; 19,42]	16,05 [12,56; 20,5]	<0,0001
ПП ₇	25,3 [22,28; 27,69]	22,44 [16,6; 26,98]	18,26 [14,97; 21,57]	16,09 [12,87; 19,83]	<0,0001
Δ ПП ₃₋₁	17,73 [14,47; 20,82]	13,87 [11,52; 17,38]	11,97 [9,3; 15,15]	11,49 [8,643; 15,64]	<0,0001
Δ ПП ₇₋₃	2,77 [1,63; 4,265]	2,1 [0,4; 4,63]	2,32 [0,81; 3,6]	1,845 [0,38; 3,203]	0,0160
Δ ПП ₇₋₁	20,66 [17,71; 23,68]	15,1 [17,72; 23,65]	14 [10,95; 17,53]	12,05 [9,125; 15,21]	<0,0001
НЛР ₁₂₀	1,32 [1,17; 1,54]	0,485 [0,2175; 0,8525]	0,56 [0,32; 0,69]	0,425 [0,2625; 0,7425]	<0,0001
НЛР ₁₈₀	0,73 [0,6275; 0,935]	0,35 [0,2075; 0,5725]	0,35 [0,1625; 0,5575]	0,37 [0,205; 0,5325]	<0,0001
НЛР ₂₄₀	0,46 [0,37; 0,58]	0,245 [0,1475; 0,41]	0,245 [0,1275; 0,3775]	0,23 [0,15; 0,35]	<0,0001
AUC ₁₂₀	1500 [1244; 1799]	581,7 [304,7; 849,1]	481,4 [268,1; 664]	430,2 [253,9; 611,1]	<0,0001
AUC ₁₈₀	2497 [2156; 3029]	1058 [615,7; 1547]	856,3 [509; 1263]	791,3 [537; 1333]	<0,0001
AUC ₂₄₀	3538 [3023; 4251]	1565 [962,6; 2235]	1279 [634,4; 1715]	1209 [799,9; 2087]	<0,0001
Пров ₁	0,032 [0,025; 0,053]	0,03 [0,02; 0,058]	0,03 [0,02; 0,05]	0,03 [0,02; 0,04]	0,0719
Пров ₃	0,194 [0,169; 0,23]	0,16 [0,12; 0,188]	0,135 [0,1; 0,17]	0,12 [0,1; 0,16]	<0,0001
Пров ₇	0,222 [0,193; 0,254]	0,17 [0,13; 0,22]	0,15 [0,12; 0,19]	0,12 [0,103; 0,158]	<0,0001
Δ Пров ₃₋₁	0,156 [0,127; 0,19]	0,11 [0,083; 0,14]	0,1 [0,07; 0,13]	0,09 [0,07; 0,13]	<0,0001
Δ Пров ₇₋₃	0,023 [0,013; 0,038]	0,02 [0; 0,035]	0,02 [0,01; 0,03]	0,015 [0; 0,02]	0,0085
Δ Пров ₇₋₁	0,182 [0,146; 0,218]	0,13 [0,09; 0,17]	0,12 [0,09; 0,15]	0,09 [0,07; 0,12]	<0,0001

ЛДФ при прогнозировании серьезных нежелательных сердечно-сосудистых событий

В качестве серьезных нежелательных сердечно-сосудистых событий (серьезные нежелательные явления - СНЯ) мы рассматривали острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), инфаркт миокарда или потребность в реваскуляризации коронарных сосудов. Всего подобные явления были отмечены у 12,9% пациентов (50 из 387), при этом ОНМК – у 15 пациентов, инфаркт миокарда – у 27 пациентов, 8 пациентов перенесли и ОНМК, и инфаркт миокарда.

Мы оценили скрининговую информативность показателей ЛДФ для серьезных нежелательных сердечно-сосудистых событий – таблица 3.24. Обычно неблагоприятный исход связывают с увеличением количественного признака. В данном случае неблагоприятный исход был связан со снижением количественных признаков (показателей ЛДФ), при подсчете площадь под ROC-кривой (AUC ROC) вычисляли, вычитая достигнутое значение AUC ROC из единицы.

Нами было установлено, что информативными показателями ЛДФ являются площадь под кривой ЛДФ через 120, 180 и 240 секунда нагрева (AUC₁₂₀, AUC₁₈₀, AUC₂₄₀ соответственно) – таблица 2 и рисунок 5.

Таблица 2. Скрининговая эффективность показателей ЛДФ при оценке риска серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений.

	1 – AUC ROC	95% ДИ	p-value
AUC ₁₂₀	0,701	0,549; 0,854	0,011
AUC ₁₈₀	0,683	0,525; 0,841	0,021
AUC ₂₄₀	0,667	0,51; 0,824	0,035

Оптимальным пороговым значением площади под кривой ЛДФ через 120 секунд нагрева (AUC₁₂₀), обеспечивающим наилучшую дискриминационную способность этого параметра, было 277,56 ед. [95%ДИ 192,18; 1010,85], индекс Юдена

0,4176. Это обеспечивало чувствительность 52,6% [95%ДИ 28,9; 75,6], специфичность 89,1% [95%ДИ 76,4; 96,4], $LR_+ = 4,84$ [95%ДИ 1,9; 12,3]. При значении $AUC_{120} \leq 277,56$ ед. шансы серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений значительно увеличивались: $OR=9,11$ [95%ДИ 2,58; 31,83], $p=0,0009$.

Оптимальным пороговым значением площади под кривой ЛДФ через 180 секунд нагрева (AUC_{180}), обеспечивающим наилучшую дискриминационную способность этого параметра, было 602,28 ед. [95%ДИ 403,01; 2031,2], индекс Юдена 0,3959. Это обеспечивало чувствительность 52,6% [95%ДИ 28,9; 75,6], специфичность 86,96% [95%ДИ 73,7; 95,1], $LR_+ = 4,04$ [95%ДИ 1,7; 9,5]. При значении $AUC_{180} \leq 602,28$ ед. шансы серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений значительно увеличивались: $OR=7,41$ [95%ДИ 1,97; 22,43], $p=0,0023$.

Оптимальным пороговым значением площади под кривой ЛДФ через 240 секунд нагрева (AUC_{240}), обеспечивающим наилучшую дискриминационную способность этого параметра, было 564,79 ед. [95%ДИ 163,96; 1114,18], индекс Юдена 0,3249. Это обеспечивало чувствительность 36,8% [95%ДИ 16,3; 61,6], специфичность 95,7% [95%ДИ 85,2; 99,5], $LR_+ = 8,47$ [95%ДИ 1,9; 37,1]. При значении $AUC_{180} \leq 564,79$ ед. шансы серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений значительно увеличивались: $OR=12,83$ [95%ДИ 2,68; 64], $p=0,0017$.

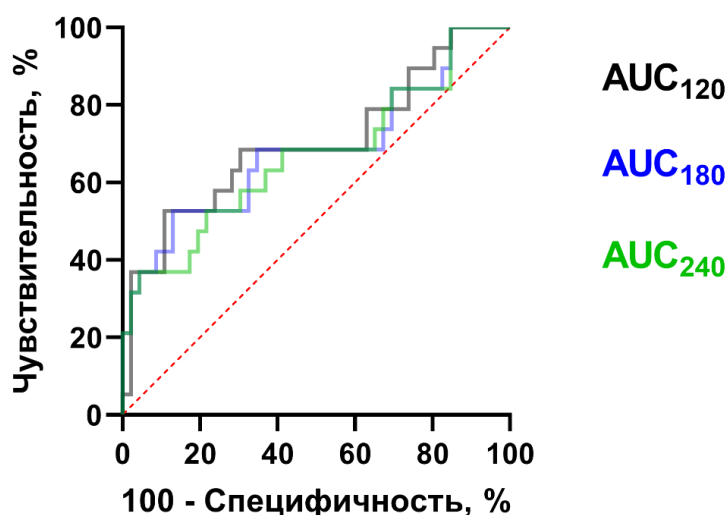


Рисунок 5. Площадь под ROC кривой для показателей ЛДФ AUC_{120} , AUC_{180} , AUC_{240} .

Потенциально, показатели ЛДФ могут быть полезны при прогнозировании типа серьезного нежелательного сердечно-сосудистого явления. Дополнение ЛДФ не только тепловой, но и окклюзионной пробами дает добавочную информацию: прирост как абсолютного значения (Δ ПП7-3), так и относительный прирост показателя перфузии (Δ отн ПП7-3), достигнутый в результате окклюзионной пробы по сравнению с тепловой, у пациентов с «неврологическими» СНЯ оказался статистически значимо меньше, по сравнению с «кардиологическими» ($p=0,028$ и $p=0,042$ соответственно).

Мы также провели анализ применимости данных показателей для оценки риска микроциркуляторных осложнений (таких как диабетическая ретинопатия и нефропатия). Было установлено, что показатель НЛР₁₂₀ может быть рассмотрен как фактор риска наличия диабетической ретинопатии у пациентов с СД: снижение этого показателя приводит к росту шанса наличия диабетической ретинопатии у пациента с поправкой на другие факторы (рисунок 6). С учётом того, что данный показатель является корректируемым, в отличие, например, от стажа СД, он перспективен для использования в клинической практике.

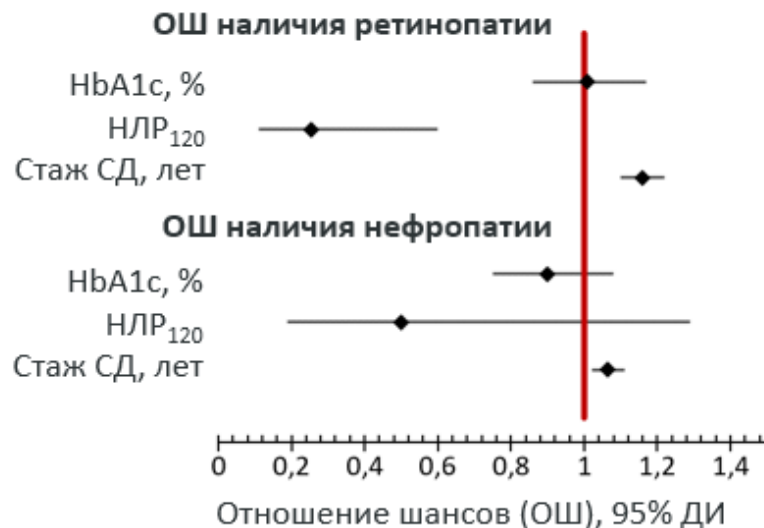


Рисунок 6. Отношение шансов наличия диабетической ретинопатии и диабетической нефропатии для уровня НbA1c, стажа СД и показателя НЛР₁₂₀.

Некогерентная оптическая флукуационная флоуметрия как перспективный метод для комплексной оценки нарушений микроциркуляции

Метод ЛДФ, широко используемый в настоящее время в научных исследованиях для выявления нарушений микроциркуляции, основан на эффекте Доплера - сдвиге частот излучения на движущихся форменных элементах крови - и оптическом зондировании тканей когерентным низкоинтенсивным лазерным излучением с целью вычисления по спектральной плотности мощности переменной составляющей фототока квадратичного фотоприемника, регистрирующего биения в определенном диапазоне частот вышедшего из тканей обратно рассеянного излучения от неподвижных структур ткани и от движущихся компонент крови, и постоянной составляющей фототока этого фотоприемника.

Для преодоления ограничений метода ЛДФ, препятствующих его широкому клиническому применению, был разработан новый метод некогерентной оптической флукуационной флоуметрии, который реализуется на несколько иных физических принципах. Общими с ЛДФ характеристиками являются неинвазивная регистрация уровня кожной микроциркуляции крови (параметр перфузии тканей кровью V_{BF}), возможность применения функциональных проб, осуществление математического расчета физиологических показателей микроциркуляции на основании полученных данных с формированием конечного диагностического заключения. Суть метода НОФФ заключается в освещении ткани некогерентным оптическим излучением, регистрации фотоприемником (кремниевым фотодиодом) обратно рассеянного из микрососудистого русла оптического сигнала, содержащего при таком способе освещения постоянную компоненту сигнала как в методе ЛДФ, создающую постоянную компоненту фототока фотоприемника, и компоненту низкочастотных флукуаций сигнала в определенном диапазоне частот, которые порождаются изменениями объема крови за счет ритмических процессов в системе микроциркуляции, и вычисления параметра перфузии по спектральной плотности мощности этих низкочастотных флукуаций.

Был разработан прототип прибора для комплексной неинвазивной регистрации параметров макро- и микрогемодинамики методами НОФФ, осциллометрической тонометрии, фотоплетизмографии, тканевой оксиметрии, а также возможностью проведения окклюзионной и тепловой проб в автоматическом режиме.

Перечень ключевых показателей, регистрируемых прибором:

- ПАД – пульсовое артериальное давление. Измеряется в мм рт. ст. Рассчитывается автоматически, как разность между систолическим и диастолическим артериальным давлением.
- ИФПВ – индекс формы пульсовой волны. Безразмерный параметр. Рассчитывается автоматически по фотоплетизмограмме на руке (ИФПВ1) и на ноге (ИФПВ3) как отношение интервала времени спада волны Δt_2 к интервалу времени подъема Δt_1 на усредненной фотоплетизмограмме.
- ИСПВ – индекс скорости пульсовой волны. Параметр измеряется как на руке (ИСПВ1), так и на ноге (ИСПВ3) по скорости прохождения импульса пульсовой волны от плеча до подушечки пальца руки (ноги). Увеличение этого параметра, согласно известным данным по физиологии кровообращения, связано с увеличением артериального давления, увеличением жёсткости сосудистой стенки и повышенным сосудистым тонусом.
- ЧСС – средняя частота сердечных сокращений за базовый период записи.
- БУПр 1, БУПн 2, БУПн 3 – показатели базовой перфузии в перфузионных единицах с пальцевого оптического датчика (В) – БУПр 1, и с выносных оптических датчиков для ноги (С) – БУПн 2 и БУПн 3. Эти показатели отражают базовое кровоснабжение кожи и тонус микрососудов в покое до проведения функциональных воздействий – окклюзионного для пальцевого датчика (В) и теплового для выносных датчиков (С).
- ПУПр 1 – постокклюзионный уровень перфузии крови в коже руки. Показатель в сравнении с БУПр 1 отражает резерв кровотока и потенциал эндотелиального механизма вазодилатации по величине постокклюзионной реактивной гиперемии. Снижение этого показателя может быть связано с нарушениями функции эндотелия сосудов микроциркуляторного русла.

- ТУПн 2, ТУПн 3 – пост-тепловой уровень перфузии на ноге. Показатель отражает уровень перфузии сразу по завершении быстрой 2-минутной локальной тепловой пробы. В формировании такой тепловой гиперемии участвуют нервные и эндотелиальные микроциркуляторные механизмы. Её снижение свидетельствует о нарушениях преимущественно нервной регуляции микрогемодинамики.

Полученные данные о перфузии и других параметрах гемодинамики имеют сложную и неоднозначную клиническую интерпретацию, редко используются на практике в нативном виде. В связи с этим, требуется математическая обработка регистрируемых данных для получения показателей, имеющих простую биологическую интерпретацию и возможность клинического применения.

Как и в случае с ЛДФ, одним из основных и наиболее просто регистрируемых показателей при оценке состояния микроциркуляторного русла методом НОФФ является базовый уровень перфузии.

Другим важным показателем регуляции тонуса сосудов является «эндотелиальная регуляция» - ЭР. Показатель ЭР может быть определен как разность между базовым и постокклюзионным уровнями перфузии. Показатель реактивности сосудистого русла характеризует возможность микроциркуляторного русла отвечать на температурное воздействие и снижается у пациентов с поражением сосудов. Этот показатель может быть определен как разность БУП и теплового уровня перфузии (ТУП). Вследствие разных путей регуляции тонуса микрососудов закономерно ожидать, что параметры НОФФ могут различаться не только на конечностях, но и на разных типах кожи. Так, мы показали, что показатель базовой перфузии на волосистой и неволосистой коже ноги существенно различается. При этом реактивность микрососудов неволосистой части стопы значительно выше - в результате тепловой пробы уровень перфузии неволосистой кожи возрастает значительно сильнее, чем волосистой.

Важно не только оценить уровень перфузии, но и состояние сосудов. Это может быть достигнуто при помощи анализа индекса формы пульсовой волны и индекса скорости распространения пульсовой волны, регистрируемых при помощи

фотоплетизмографии. Индекс скорости распространения пульсовой волны вычисляют по разнице во времени импульсов пульсовой волны крови в плече с манжеты тонометра и в пальце с оптического датчика на пальце – рисунок 7. При этом показатели индекс формы пульсовой волны на ноге и руке у одного и того же пациента существенно различаются.

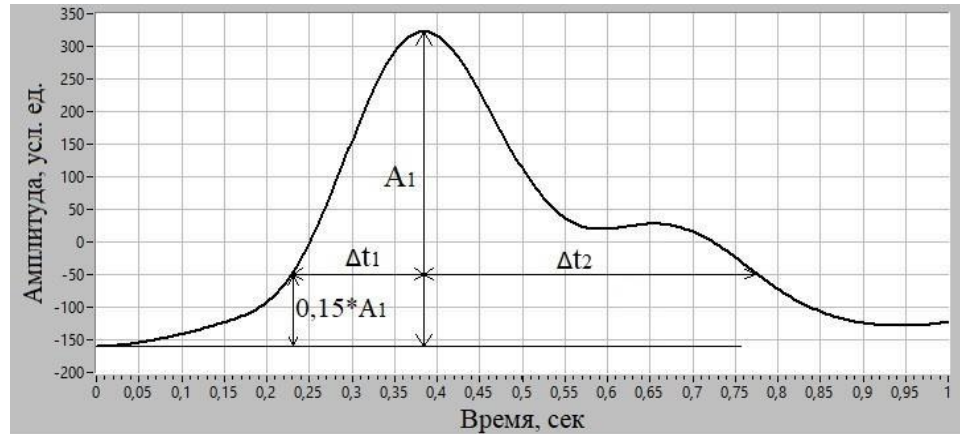


Рисунок 7. Пример фотоплетизмограммы.

Для оценки информативности показателей НОФФ мы сравнили их в трех группах: группе условно здоровых добровольцев, у пациентов с «умеренным» течением СД (наличие диабетической нейропатии, диабетической не-/ препролиферативной ретинопатии) и у пациентов с «тяжелым» течением СД (основным критерием было наличие синдрома диабетической стопы). Различия в уровне базовой перфузии были статистически значимы – рисунок 8.

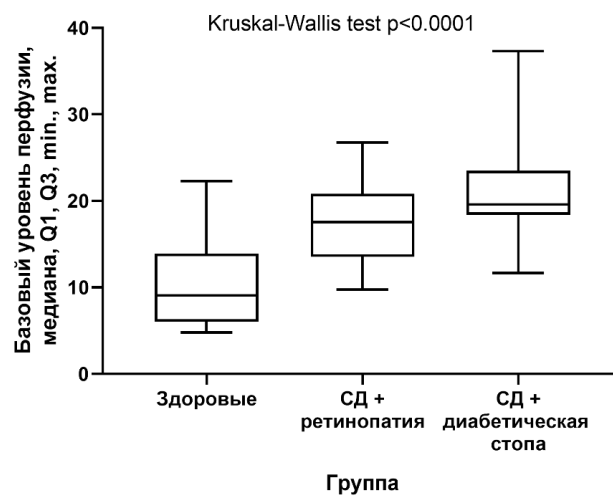


Рисунок 8. Базовый уровень перфузии на руке.

Как показали апостериорные сравнения, пациенты с СД и диабетической ретинопатией статистически значимо отличались от условно здоровых добровольцев и от пациентов с СД и синдромом диабетической стопы: $p=0,0017$ и $p<0,0001$ соответственно. Различия между пациентами с СД и диабетической ретинопатией и СД и синдромом диабетической стопы были близки к пороговому уровню статистической значимости, но не достигли ее: $p=0,0613$.

Показатель «базовый уровень перфузии» увеличивается у пациентов с СД и диабетической ретинопатией и СД с синдромом диабетической стопы в группах на руке (рисунок 8), но такой картины не наблюдается на ноге (рисунок 9). Значения базовой перфузии на волосистой (подушечка большого пальца стопы) и неволосистой (тыл стопы) коже ноги существенно различаются (отличается и нейрогенная регуляция микроциркуляции).

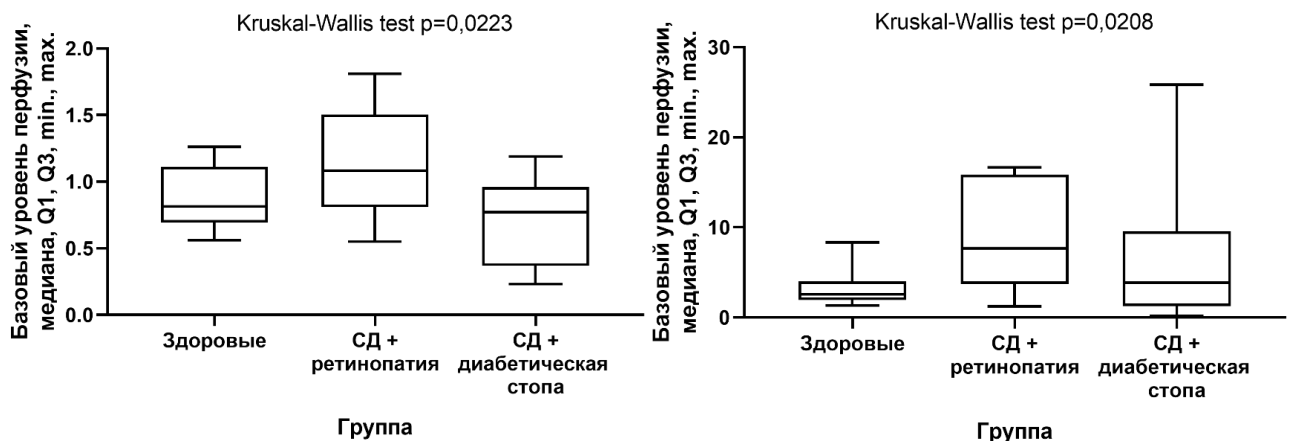


Рисунок 9. Базовый уровень перфузии у пациентов с «умеренным» и «тяжелым» течением сахарного диабета на волосистой (слева) и неволосистой (справа) коже стопы.

Причина малых значений показателей, регистрируемых на нижней конечности может быть связана с поражением магистральных сосудов, которое нередко наблюдаются у пациентов с синдромом диабетической стопы. Чтобы проверить это предположение, мы сравнили базовый уровень перфузии у пациентов с нарушением проходимости сосудов по результатам ультразвукового дуплексного сканирования и без нарушений. Различия были статистически значимы. Практически

аналогичную картину мы наблюдали при анализе базового уровня перфузии как на волосистой, так и неволосистой коже нижних конечностей – рисунок 10.

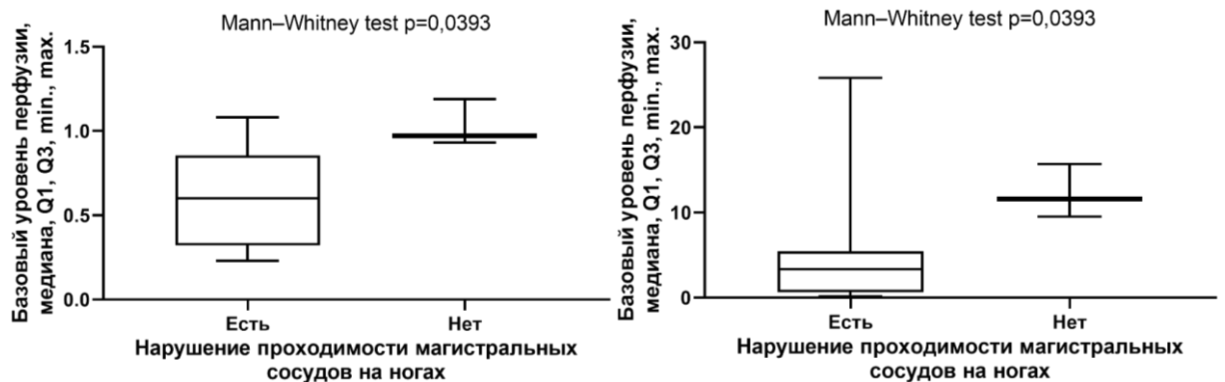


Рисунок 10. Базовый уровень перфузии у пациентов с нарушениями и без нарушений магистрального кровотока на волосистой (слева) и неволосистой (справа) коже стопы.

Далее мы оценили параметры, косвенно отражающие состояние микрососудов на руке и ноге. По результатам омнибусного теста мы выявили статистически значимые различия в показателях индекса пульсовой волны на руке в трех группах – рисунок 11.

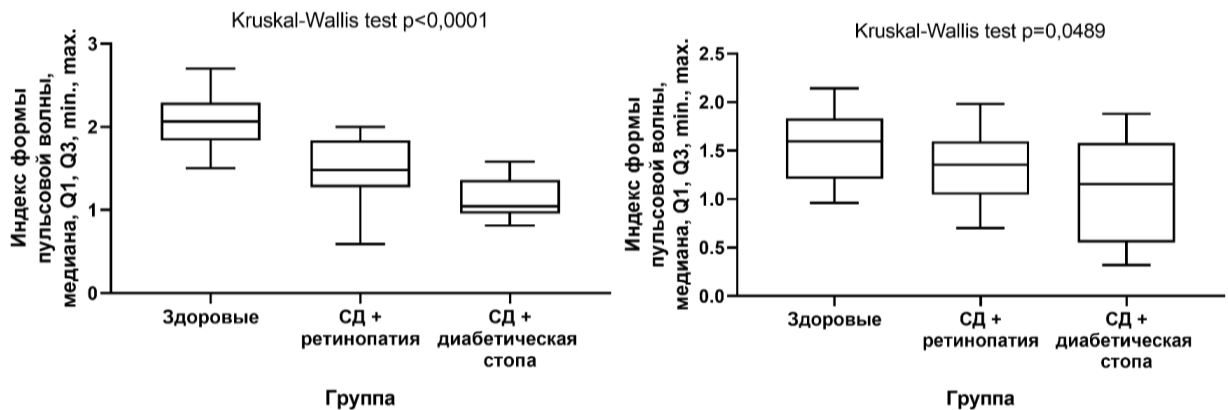


Рисунок 11. Индекс формы пульсовой волны, измеренный на руке (слева) и ноге (справа).

В ходе апостериорных попарных сравнений с FDR (false discovery rate) коррекцией уровня значимости мы установили, что имеются статистически значимые различия между тремя группами при измерении ИФПВ на руке: условно здоровыми добровольцами и пациентами с СД и диабетической ретинопатией ($p=0,0007$), условно здоровыми добровольцами и пациентами с СД и синдромом

диабетической стопы ($p=0,0232$), а также между пациентами с СД и диабетической ретинопатией и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p < 0,0001$).

При этом различия в показателях индекса пульсовой волны на ноге были формально статистически значимы, но уровень значимости был очень близок к пороговому. В ходе попарных апостериорных сравнений мы установили, что имеются статистически значимые различия только между условно здоровыми добровольцами и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p=0,0311$), но не условно здоровыми добровольцами и пациентами с СД и диабетической ретинопатией ($p=0,1547$), а также пациентами с СД и диабетической ретинопатией и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p=0,2557$).

При анализе показателя индекса скорости пульсовой волны на руке мы не отметили статистически значимых различий при омнибусном тесте, в связи с чем апостериорные попарные сравнения не проводились.

Поскольку конечной нашей целью была разработка единого показателя, отражающего совокупную тяжесть поражения микрососудистого русла, удобно, когда все показатели измерены по одной шкале. Для этого мы применили стандартизацию. Далее в расчетах использовали нормализованные на группу условно-здоровых добровольцев значения оценок – таблица 3.

Таблица 3. Формулы расчёта оценок, нормированных на группу контроля.

Показатель	Среднее значение после стандартизации [95%ДИ]	Формула
Показатель базового тонуса сосудов	1,047 [95%ДИ 0,6664; 1,427]	$\frac{\text{БУП}_i}{5,5} - 0,81$
Показатель эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса (ЭР)	1,097 [95%ДИ 0,7488; 1,446]	$\frac{\text{БУП}_i - \text{ПУП}_i}{6,2} + 2,15$
Показатель реактивности сосудистого русла (Р)	1,006 [95%ДИ 0,7047; 1,308]	$\frac{\text{БУП}_{н2} - \text{ТУП}_{н2}}{3,8} + \frac{\text{БУП}_{н3} - \text{ТУП}_{н3}}{11,4} + 2,85$
Показатель жёсткости сосудов (ЖС)	1 [95%ДИ 0,5967; 1,404]	$\frac{(1 + 0,2К)}{0,23 * \text{ИФПВ}} - 1,78$

Для показателя базового тонуса сосудов, а также показателя, отражающего его эндотелиальную регуляцию, расчет коэффициентов может быть проведен стандартно. В то же время, расчет стандартизированных показателей реактивности сосудистого русла и жесткости сосудов имеют особенности.

В главе 4 мы показали, что реактивность сосудов на волосистой и не волосистой коже ноги существенно различается. Для наиболее взвешенной оценки при расчете стандартизированного показателя мы учли обе эти оценки.

При расчете показателя «жесткости сосудов» нами было установлено, что у молодых относительно здоровых добровольцев у лиц женского пола он был снижен по сравнению с мужчинами. Для уравнивания средних значений был введен корректирующий коэффициент K , чтобы и у лиц женского пола, и у мужчин в среднем показатель был равен 1.

Для практического использования полученных оценок важно определить пороговое значение количественных признаков, обеспечивающих наилучшую дискриминационную способность. С этой целью нами был применен ROC анализ. Пороговое значение определили по максимальному значению индекса Юдена. При этом мы определили оптимальные пороговые значения, позволяющие максимально эффективно классифицировать пациентов с умеренным и тяжёлым течением сахарного диабета. Пороговые значения систематизированы в таблице 4.

Таблица 4. Пороговые значения стандартизированных оценок интегральных показателей.

Параметр	Норма	Умеренное нарушение	Тяжелое нарушение
Базовый тонус сосудов	$\leq 2,256$	2,256 - 2,439	$> 2,439$
Эндотелиальная регуляция	$\leq 0,5974$	0,5974 - 1,898	$> 1,898$
Реактивность сосудов	$\leq 1,281$	1,281 - 1,876	$> 1,876$
Жесткость сосудов	$\leq 1,006$	1,006 - 2,265	$> 2,265$

Так, оптимальным порогом (стандартизированным значением), позволяющим верно классифицировать лиц с нормальным уровнем **реактивности сосудов** и умеренным его нарушением, является 1,281 [95% ДИ 1,232; 1,852] (индекс Юдена

для этой точки составил 0,4464). Это обеспечивало чувствительность 57,14% [95%ДИ 28,9; 82,3], специфичность 87,5% [95%ДИ 61,7; 98,4]. OR умеренных нарушений микроциркуляции составило 5,778 [95%ДИ 1,227; 24,27], LR 4,57 [95%ДИ 1,2; 18,1]. Площадь под ROC кривой составила 0,714 [95%ДИ 0,521; 0,863], $p=0,027$.

Оптимальным порогом (стандартизированным значением), позволяющим верно классифицировать лиц с умеренным и тяжелым нарушением **реактивности сосудов**, является 1,876 [95% ДИ 1,874; 1,876;] (индекс Юдена для этой точки составил 0,8125). Это обеспечивало чувствительность 81,25% [95%ДИ 54,4; 96], специфичность 100% [95%ДИ 76,8; 100]. OR умеренных нарушений микроциркуляции составило 56,33 [95%ДИ 5,477; 630,2], LR 11,38 [95%ДИ 1,7; 76,3]. Площадь под ROC кривой составила 0,951 [95%ДИ 0,804; 0,997], $p<0,0001$.

Диагностический критерий тяжести поражения микроциркуляторного русла

Единый интегральный диагностический критерий (ДК), с одной стороны, является элементом комплексной оценки тяжести поражения микроциркуляторного русла, а с другой стороны учитывает, как на состояние микроциркуляции влияют нарушения отдельных механизмов регуляции его тонуса. Этот показатель представляет собой усредненную оценку. Регрессионный подход требует большого объема выборки, который может быть достигнут только в результате масштабных исследований. В связи с этим, при разработке данного диагностического критерия мы применили эмпирический метод. В начале мы составили следующее уравнение: $ДК = \frac{БУП+ЭР+Р+ЖС}{4}$, где ДК – диагностический критерий, БУП – базовый уровень перфузии, ЭР – показатель эндотелиальной регуляции, Р – показатель реактивности сосудов, ЖС – показатель жёсткости сосудов. Распределение диагностического критерия в группах представлено на рисунке 12.

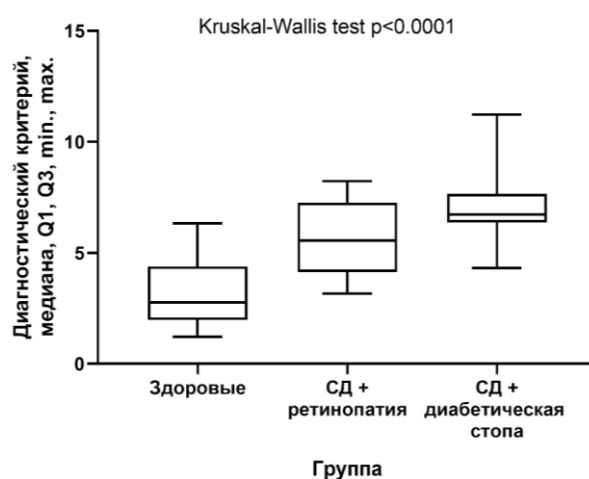


Рисунок 12. Диагностический критерий в трех группах (см. текст).

Различия между группами были статистически значимы, что свидетельствует об информативности данного показателя. При апостериорных сравнениях мы выявили статистически значимые различия между группами: между группой условно здоровых добровольцев и пациентами с СД и диабетической ретинопатией ($p=0,0012$), между группой условно здоровых добровольцев и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p < 0,0001$), между пациентами с СД и диабетической ретинопатией и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p=0,0332$).

Далее мы модифицировали уравнение для расчета ДК. Очевидно, что один из основных показателей – базовый тонус сосудов может быть подвержен влиянию различных системных факторов. Провели анализ различий в распределении диагностического критерия при включении в уравнение среднего и пульсового и среднего артериального давления. Было установлено, что область перекрывающихся областей распределений существенно больше при модификации показателя базового уровня перфузии. В связи с этим в уравнении для вычисления диагностического критерия целесообразно использовать базовый уровень перфузии в нативном виде.

В результате нескольких итераций мы подобрали оптимальные коэффициенты, которые позволяют максимально снизить площади перекрытия распределений в группах.

Вид конечного уравнения: $ДК = \frac{БУП+2 \times ЭР+3 \times Р+1,5 \times ЖС}{7,5}$, это дает следующее распределение диагностического критерия в группах – рисунок 13.

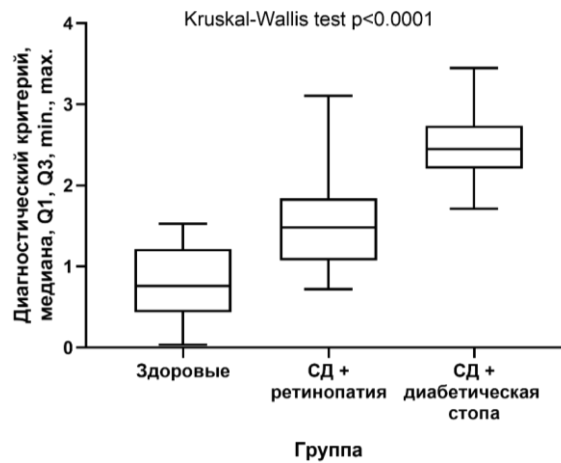


Рисунок 13. Диагностический критерий в трех группах (см. текст).

Мы отметили статистически значимые различия между группами условно здоровых добровольцев и пациентами с СД и диабетической ретинопатией ($p=0,0094$), между группой условно здоровых добровольцев и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p<0,0001$), а также между пациентами с СД и диабетической ретинопатией и пациентами с СД и синдромом диабетической стопы ($p=0,0094$).

При помощи ROC анализа мы определили оптимальные границы диагностического критерия, позволяющие классифицировать лиц по группам риска с наилучшей точностью. Оптимальным порогом (стандартизированным значением), позволяющим верно классифицировать лиц без нарушений микроциркуляции и лиц с умеренным ее нарушением является значение диагностического критерия 0,9511 [95% ДИ 0,7141; 1,525] (индекс Юдена для этой точки составил 0,6161). Это обеспечивало чувствительность 92,86% [95%ДИ 66,1; 99,8], специфичность 68,75% [95%ДИ 41,3 - 89,0]. OR умеренных нарушений микроциркуляции составило 28,6 [95%ДИ 3,303; 326,1], LR 2,97 [95%ДИ 1,4; 6,2]. Площадь под ROC кривой составила 0,862 [95%ДИ 0,687; 0,96], $p<0,0001$ – рисунок 14 (слева).

Оптимальным порогом (стандартизированным значением), позволяющим верно классифицировать лиц с умеренным и выраженным нарушением микроциркуляции является значение диагностического критерия 1,906 [95% ДИ 1,818; 1,906] (индекс Юдена для этой точки составил 0,7946). Это обеспечивает чувствительность 93,75% [95%ДИ 69,8; 99,8], специфичность 85,71% [95%ДИ 57,2; - 98,2]. OR умеренных нарушений микроциркуляции составило 90 [95%ДИ 7,164; 996,3], LR 6,56 [95%ДИ 1,8; 23,8]. Площадь под ROC кривой составила 0,875 [95%ДИ 0,703; 0,967], $p < 0,0001$ – рисунок 14 (справа).

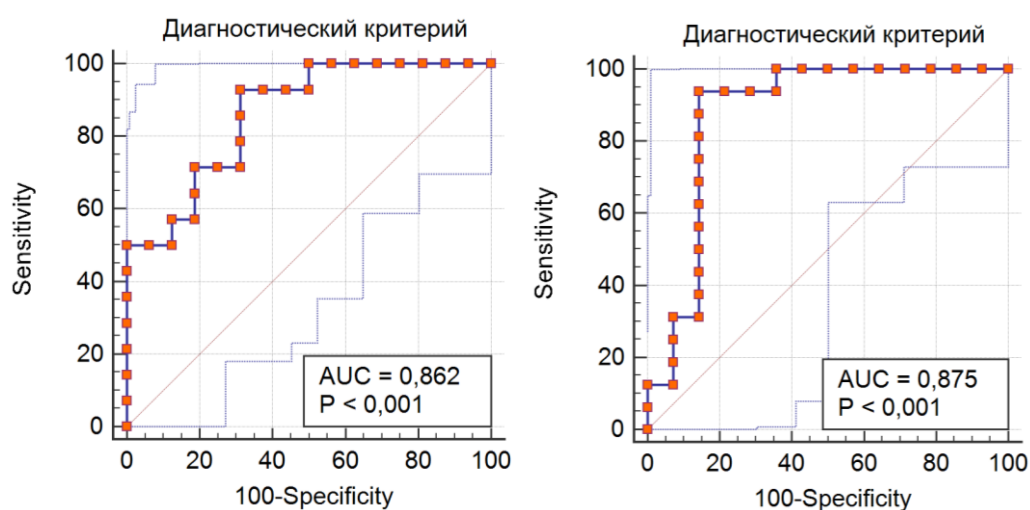


Рисунок 14. ROC кривая стандартизированного значения показателя жесткости сосудов у пациентов с умеренным и тяжелым ее нарушением (слева) и ROC кривая стандартизированного значения показателя жесткости сосудов у пациентов с умеренным и тяжелым ее нарушением (справа).

Частота верных классификаций при использовании диагностического критерия составляет 85%.

В результате многоэтапного исследования предложены и обоснованы теоретическая модель регуляции микрокровотока, перечень методов для неинвазивной оценки ключевых факторов регуляции, алгоритмы их регистрации и обработки данных, рассчитаны количественные диагностические критерии. Разработан прототип прибора с программным обеспечением, реализующий предыдущие изыскания на практике.

Сегодня наблюдается дефицит инструментальных подходов для объективного изучения сосудов малого диаметра, являющихся органом-мишенью при многих патологиях (артериальная гипертензия, ревматологические заболевания и др.). Проведенные нами научно-исследовательские и опытно-конструкторские исследования дают основания и возможность количественной, неинвазивной, комплексной оценки состояния микрососудов.

Разработанные алгоритмы, критерии, оборудование могут быть использованы не только для фундаментальных научных исследований (до настоящего времени изучение микроциркуляции не нашло широкого клинического применения), но в практической медицине. Показана информативность объективной, инструментальной и при этом минимально оператор-зависимой оценки состояния микрососудов кожи для определения шансов наличия нежелательных сердечно-сосудистых явлений, что перспективно для использования при скрининге сердечно-сосудистых, эндокринных заболеваний и их осложнений. Открывается возможность неинвазивного длительного мониторинга комплекса гемодинамических параметров для оценки эффективности проводимой терапии, объективизации прогноза.

Простота использования, неинвазивность, высокие чувствительность и специфичность разработанных подходов для персонализированной дифференциации пациентов по тяжести нарушений в работе микрососудистого русла позволяет рассчитывать, что важным направлением развития технологии будет дистанционный мониторинг. Доступ врача к данным мониторинга даст основание для коррекции проводимого лечения, а пациент сможет получать автоматические предупреждения об улучшениях/ухудшениях в работе его сердечно-сосудистой системы и, в случае необходимости, рекомендации консультации специалиста. В отличие от значительного количества клинических показателей (возраст, стаж заболевания и др.), показатели состояния микроциркуляторного русла чувствительны к текущему статусу организма и могут обратимо и значимо меняться. Это также выгодно отличает их от ряда инструментальных показателей, которые «несут шлейф» перенесенных событий (например, показатели электрокардиограммы после перенесенного ин-

фаркта миокарда). Кроме того, комплексный, «прямой» анализ работы микрососудов – важный инструмент для научных исследований в области фармакологии, в том числе персонализированной.

Представленные в диссертационном исследовании результаты являются решением научной проблемы по обоснованию информативности и аппаратной реализации комплексного подхода к мониторингу состояния микрососудов при хронических заболеваниях внутренних органов.

ВЫВОДЫ

1. Показатели кожной микроциркуляции крови могут быть использованы для оценки сердечно-сосудистого риска. Так, изменение реактивности микроциркуляторного русла, которое может быть измерено при помощи метода лазерной доплеровской флоуметрии и выражено в параметрах «площадь под кривой микроциркуляции через 120-180-240 секунд после нагрева», позволяет выявить повышенный риск серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений: OR=9,11 [95%ДИ 2,58; 31,83], $p=0,0009$; OR=7,41 [95%ДИ 1,97; 22,43], $p=0,0023$; OR=12,83 [95%ДИ 2,68; 64], $p=0,0017$ соответственно.
2. Новый неинвазивный метод некогерентной оптической флукуационной флоуметрии позволяет выявлять статистически значимое изменение параметров, характеризующих работу микроциркуляторного русла, а также проводить обратную классификацию пациентов по группам в зависимости от выраженности выявляемых нарушений с чувствительностью и специфичностью до 87,5% и 100% соответственно.
3. Предложена теоретическая модель регуляции микрокровотока, учитывающая влияние ключевых факторов центральной и периферической гемодинамики и достаточная для фундаментальных и прикладных научных исследований в области неинвазивной диагностики состояния кожной микроциркуляции, в том числе разработки нового диагностического оборудования.
4. Разработан прототип нового неинвазивного прибора для мониторинга микроциркуляции, алгоритм проведения исследования, обоснован диагностический критерий (принципы расчёта, количественные значения) для интегральной оценки состояния микроциркуляторного русла с учётом параметров центральной и периферической гемодинамики - чувствительность и специфичность предложенного алгоритма при классификации лиц с умеренным и выраженным нарушением микроциркуляции составляет 93,75% [95%ДИ 69,8; 99,8] и 85,71% [95%ДИ 57,2; 98,2] соответственно.

5. Разработанные подходы и технологии могут быть использованы для диагностики и оценки тяжести микрососудистых нарушений - частота верных классификаций составляет 85%. Изучение интегральных показателей в динамике (рассчитаны пороговые значения стандартизированных оценок - индексы тонуса, реактивности, жесткости сосудов, эндотелиальной регуляции) позволит не только анализировать эффективность проводимой терапии, но и изучать фундаментальные аспекты нарушения микроциркуляции. Неинвазивный, автоматизированный характер измерений позволяет проводить динамический мониторинг микроциркуляции при хронических заболеваниях внутренних органов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения информативности оценки микроциркуляции при использовании методов ЛДФ и НОФФ исследование должно быть дополнено тепловой и окклюзионной пробами.

2. С целью выявления лиц с повышенным риском серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений на основе ЛДФ, дополненной функциональными пробами, целесообразно использовать показатель площади под кривой микроциркуляции через 240 секунд нагрева. При этом оптимальным пороговым значением площади под кривой ЛДФ через 240 секунд нагрева (AUC_{240}), обеспечивающим наилучшую дискриминационную способность этого параметра, является 564,79 ед. [95%ДИ 163,96; 1114,18].

3. С учетом различий перфузии кожи верхних и нижних конечностей в норме и при поражении магистральных артерий, а также различий механизмов регуляции кровотока волосистой и неволосистой кожи при оценке состояния микроциркуляторного русла методом НОФФ целесообразно использование трех датчиков: на пальце руки, тыле стопы и ее подошвенной поверхности.

4. Оценка состояния и регуляции микрососудов должна носить комплексный характер с учетом вариабельности показателей. Оценка состояния базового тонуса сосудов может быть получена исходя из показателя базового уровня перфузии по формуле $БУП_i / 5,5 - 0,81$; оценка эндотелиальной регуляции – исходя из показателя базового уровня перфузии и постокклюзионного уровня перфузии по формуле $(БУП_i - ПУП_i) / 6,2 + 2,15$; показатель «реактивности» сосудистого русла – исходя из показателя базового уровня перфузии и теплового уровня перфузии по формуле $(БУП_{н2} - ТУП_{н2}) / 3,8 + (БУП_{н3} - ТУП_{н3}) / 11,4 + 2,85$; показатель жёсткости сосудов – исходя с индекса формы пульсовой волны с учетом пола по формуле $((1 + 0,2K)) / (0,23 * ИФПВ) - 1,78$.

5. С целью интегральной оценки состояния микроциркуляторного русла, а также механизмов его регуляции целесообразно вычисление диагностического критерия по формуле: $ДК = (БУП + 2 \times ЭР + 3 \times Р + 1,5 \times ЖС) / 7,5$. Оптимальным порогом (стандартизированным значением), позволяющим верно классифицировать лиц без нарушений микроциркуляции и лиц с умеренным ее нарушением, является значение диагностического критерия 0,9511 [95% ДИ 0,7141; 1,525]. Оптимальным порогом (стандартизированным значением), позволяющим верно классифицировать лиц с умеренным и выраженным нарушением микроциркуляции, является значение диагностического критерия 1,906 [95% ДИ 1,818; 1,906].

6. Разработанное оборудование для оценки микроциркуляции целесообразно к использованию в объективизации скрининговых исследований на наличие повышенного сердечно-сосудистого риска, а также для создания автоматизированных систем мониторинга состояния макро- и микрогемодинамики у пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ
ДИССЕРТАЦИИ**

Публикации в рецензируемых научных журналах:

1. **Куликов, Д.А.** Разработка способа диагностики нарушений микроциркуляции крови у больных сахарным диабетом методом лазерной доплеровской флоуметрии/ Глазков А.А., **Куликов Д.А.**, Древаль А.В. и др.// Альманах клинической медицины. – 2014. – №. 31. – С. 7-10.
2. Dreval A.V., Glazkov A.A., Kovaleva Yu.A., **Kulikov D.A.** Development of non-invasive method for blood microcirculation disorders diagnostics in diabetes patients using laser doppler flowmetry (LDF)// Diabetes technology & therapeutics. – 2015. – V. 17. Supp.1. – P. A-137.
3. **Куликов, Д.А.** Оценка состояния микроциркуляторного русла кожи и сетчатки глаза с помощью оптических методов диагностики у больных сахарным диабетом/ Котляр К.Е., Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др.// Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44. – № 2. – С. 186-192.
4. **Kulikov D.A.**, Glazkov A.A., Kulikova P.A. et al. Developing methods for non-invasive assessment of skin microcirculation in patients with type 2 diabetes// Diabetes technology & therapeutics. – 2016. – V. 18. Supp.1. – P. A-64.
5. **Куликов, Д.А.** Сравнительная оценка кожной микроциркуляции крови в группах пациентов с сахарным диабетом 2 типа, артериальной гипертензией и поражениями легких в условиях локального теплового воздействия/ Глазков А.А., **Куликов Д.А.**, Бобков А.П. и др.// Вестник последипломного медицинского образования. – 2016. – № 2. – С. 52-57.
6. **Куликов, Д.А.** Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете/ **Куликов Д.А.**, Глазков А.А., Ковалева Ю.А., и др.// Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20. – №4. – С. 279-285.

7. **Kulikov, D.A.**, Glazkov A.A., Dreval A.V. et al. Approaches to improve the predictive value of laser Doppler flowmetry in detection of microcirculation disorders in diabetes mellitus// *Clinical hemorheology and microcirculation*. – 2018. – V. 70. – N. 2. – P. 173-179.
8. **Куликов, Д.А.** Изменения реологических свойств крови при сахарном диабете/ Фабричнова А.А., **Куликов Д.А.** и др.// *Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение*. – 2018 – № 2. – С. 26-35.
9. **Куликов, Д.А.** Пути повышения диагностической значимости метода лазерной доплеровской флоуметрии при оценке кожной микроциркуляции у пациентов с артериальной гипертензией/ Глазкова П.А., Терпигорев С.А., **Куликов Д.А.** и др.// *Артериальная гипертензия*. – 2019. – Т. 25, № 1. – С. 74-83.
10. **Куликов, Д.А.** Увеличивается ли тонус сосудов системы микроциркуляции при артериальной гипертензии?/ Рогаткин Д.А., Глазкова П.А., **Куликов Д.А.** и др.// *Альманах клинической медицины*. – 2019. – Т. 47. – №. 7. – С. 662–668
11. Glazkova P.A., **Kulikov D.A.**, Rogatkin D.A. et al. Skin microcirculation in patients with a history of cardiovascular events// *Saratov Fall Meeting 2019: Optical and Nanotechnologies for Biology and Medicine*. – International Society for Optics and Photonics, 2020. – V. 11457. – P. 114570L 1-7.
12. **Kulikov D.A.**, Rogatkin D.A., Glazkov A.A. et al. New complex technique and device for noninvasive assessment of blood microcirculation in patients with diabetes mellitus// *Diabetes technology & therapeutics*. – 2020. – V. 22. Supp.1. – P. A-201.
13. **Kulikov D.A.**, Glazkov A.A., Glazkova P.A., et al. The odds of retinopathy are increased in diabetes patients with reduced microvascular reactivity on local heating// *Diabetes technology & therapeutics*. – 2020. – V. 22. Supp.1. – P. A-202.

Патенты:

14. Патент 2547800 РФ, МПК А61В 8/06 Способ выявления микроциркуляторных нарушений у больных с нарушениями углеводного обмена / **Куликов Д.А.**, Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др.; ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. – № 2013158461/14; заявл. 27.12.2013; опубл. 10.04.2015. Бюл. № 10 – 12 с.

15. Патент 2637102 РФ, МПК А61В 5/026 Устройство для спектрофотометрической оценки уровня кровенаполнения поверхностных слоев тканей и органов человека *in vivo* / Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., **Куликов Д.А.**; ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. – № 2016136950; заявл. 15.09.2016; опубл. 29.11.2017 Бюл. № 34 – 14 с.

16. Патент 2677590 РФ, МПК А61В 8/06 Способ оценки микроциркуляторных нарушений у больных с нарушениями углеводного обмена / **Куликов Д.А.**, Глазков А.А., Глазкова П.А. и др.; ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. – № 2017143444; заявл. 12.12.2017; опубл. 17.01.2019. Бюл. № 2. – 10 с.

Публикации в других изданиях:

17. **Kulikov D.A.** Diagnostic Significance of LDF-Based Methods of Non-Invasive Assessment of Microcirculation in Diabetes Mellitus/ Rogatkin D.A., **Kulikov D.A.**, Glazkov A.A.// *Advances in Health and Disease, Volume 7.* / edited by Lowell T. Duncan, New York: NOVA Science Publishers, 2018. – P. 177-203.

18. **Куликов, Д.А.** Функциональная диагностика кожной микрогемодициркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии у пациентов с сахарным диабетом/ **Куликов Д.А.**, Глазков А.А., Ковалёва Ю.А., Куликова П.А.// Учебно-методическое пособие. – М.:МОНИКИ. – 2018. – 36 с.

19. **Куликов, Д.А.** Требования к оптическим приборам для исследования кожной микроциркуляции крови у пациентов с сахарным диабетом/ Лапитан Д.Г., **Куликов Д.А.**, Глазков А.А., и др.// Учебно-методическое пособие. – М.:МОНИКИ. – 2018. – 44 с.

20. **Куликов, Д.А.** Изучение кожной микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом методом лазерной доплеровской флоуметрии/ Глазков А.А., Лапитан Д.Г., Приходько Д.А. и др.// Биология – наука XXI века: 17-ая Международная научно-практическая школа - конференция мол. ученых. Сборник тезисов. - 2013. С. 582.

21. **Куликов, Д.А.** Диагностика состояния кожной микроциркуляции крови у пациентов с нарушениями углеводного обмена на основе проведения функциональ-

ных проб/ Лапитан Д.Г., **Куликов Д.А.**, Рогаткин Д.А.// Материалы V Всероссийской конференции «Функциональная диагностика – 2013». М.:Реал Тайм, 2013. - С. 220-221.

22. **Куликов, Д.А.** Поиск связи между инсулинорезистентностью и параметрами кожной микроциркуляции при хронической гипергликемии различного генеза/ **Куликов Д.А.**, Рогаткин Д.А., Ковалева Ю.А. и др. // Микроциркуляция и гемореология (от ангиогенеза до центрального кровообращения). Материалы IX международной научной конференции. – Ярославль: Изд. ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, 2013. – С. 112.

23. **Куликов, Д.А.** Разработка функциональных проб для изучения микроциркуляции у больных с сахарным диабетом методом лазерной доплеровской флоуметрии/ **Куликов Д.А.**, Глазков А.А. и др.// Экспериментальная и теоретическая биофизика` 13. Сборник тезисов. – 2013. С. 18-19.

24. **Куликов, Д.А.** Разработка методики для диагностики микрососудистых нарушений при сахарном диабете и риске его развития/ Глазков А.А., Рогаткин Д.А., **Куликов Д.А.**, Древаль А.В.// Тезисы шестой научно-практической конференции «Молодежные научно-инновационные проекты Московской области». – 2013. - С. 7-8.

25. **Куликов, Д.А.** Исследование кожной микроциркуляции крови у больных гипертонической болезнью и сахарным диабетом методом лазерной доплеровской флоуметрии/ Глазков А.А., **Куликов Д.А.**, Атаманчук А.А., Рогаткин Д.А.// Сборник тезисов конференции молодых ученых «Биомедицина Подмосковья» - 2014. – С. 10.

26. **Куликов, Д.А.** Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния микроциркуляторного русла кожи у пациентов с сахарным диабетом/ **Куликов Д.А.**// Сборник тезисов участников Второго Всероссийского научного форума «Наука будущего-наука молодых». – Казань. – 2016. – Т.2. – С. 11-12.

27. **Куликов, Д.А.** Взаимосвязь реологических параметров крови и кожной микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом/ Глазков А.А., Лин М.Д., **Куликов Д.А.** и др.// Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – №67. – С. 118-119.

28. **Куликов, Д.А.** Диагностическая значимость метода лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови у пациентов с сахарным диабетом/ **Куликов Д.А.**// Сборник тезисов участников форума «Наука будущего – наука молодых» – Нижний Новгород, 2017. – Т. 1. – С. – 240.
29. **Куликов, Д.А.** Реактивность кожной микроциркуляции крови у пациентов с заболеваниями, повышающими риск сердечно-сосудистых событий/ Глазкова П.А., **Куликов Д.А.**, Терпигорев С.А. и др.// Материалы Международной научной конференции «Микроциркуляция и гемореология». – Ярославль: Канцлер, 2019. – С.31.
30. **Куликов, Д.А.** Сравнение информативности различных видов функциональных воздействий в персонализированном выявлении нарушений микроциркуляции/ Глазков А.А., **Куликов Д.А.**, Ковалева Ю.А. и др.// Материалы Международной научной конференции «Микроциркуляция и гемореология». – Ярославль: Канцлер, 2019. – С.32.
31. **Куликов, Д.А.** Анализ кожной микроциркуляции методом ЛДФ в оценке шанса развития ретинопатии у пациентов с сахарным диабетом/ **Куликов Д.А.**, Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др.// Материалы Международной научной конференции «Микроциркуляция и гемореология». – Ярославль: Канцлер, 2019. – С.55.
32. **Куликов, Д.А.** Проблемы стандартизации параметров окклюзионного воздействия при изучении реактивности микроциркуляторного русла кожи/ Лапитан Д.Г., Глазков А.А., **Куликов Д.А.** и др.// Материалы Международной научной конференции «Микроциркуляция и гемореология». – Ярославль: Канцлер, 2019. – С.54.
33. **Куликов, Д.А.** Комплексный физиологический подход к трактовке оптических диагностических данных: почему нужны средства измерений?/ Рогаткин Д.А., **Куликов Д.А.** // Материалы Международной научной конференции «Микроциркуляция и гемореология». – Ярославль: Канцлер, 2019. – С.155.
34. **Куликов, Д.А.** Реактивность кожной микроциркуляции крови в оценке состояния сердечно-сосудистой системы/ Глазкова П.А., Терпигорев С.А., **Куликов Д.А.**,

и др.// I Всероссийский Конгресс «Физиология и тканевая инженерия сердца и сосудов: от клеточной биологии до протезирования» – г. Кемерово, Россия, 4-7 ноября 2019 г. – С 15.

35. Куликов, Д.А. Тонус сосудов системы микроциркуляции при артериальной гипертонии/ Глазкова П.А., Рогаткин Д.А., **Куликов Д.А.**, и др.// VII Всероссийская с международным участием школа-конференция "Физиология и патология кровообращения" – г. Москва, Россия, 3-6 февраля 2020 г. – С.37.

36. **Куликов, Д.А.** Инновации в МОНИКИ: междисциплинарное взаимодействие в области медицины, физики и техники/ Рогаткин Д.А., **Куликов Д.А.**, Кильдюшевский А.В., Семёнов Д.Ю.// Выставка медицинских инноваций, Сборник материалов форума, г. Москва, 22–24 октября 2019 года – С. 133-134.

37. **Куликов, Д.А.** Тонус сосудов системы микроциркуляции при артериальной гипертонии/ Глазкова П.А., Рогаткин Д.А., **Куликов Д.А.** и др.// VII Всероссийская с международным участием школа-конференция "Физиология и патология кровообращения" – г. Москва, Россия, 3-6 февраля 2020 г. – С.37.

38. **Куликов, Д.А.** Корреляция выраженности диабетической полинейропатии и изменений реактивности кожной микроциркуляции на ноге/ Козлова К.А., Глазков А.А., Глазкова П.А., **Куликов Д.А.**// XXVI Всероссийская конференция молодых учёных с международным участием "Актуальные проблемы биомедицины – 2020" – г. Санкт-Петербург, Россия, 26-27 марта 2020 г. – С.92-93.

39. **Куликов, Д.А.** Оценка тонуса микрососудов кожи у пациентов с артериальной гипертонией методом лазерной доплеровской флоуметрии/ Глазкова П.А., Рогаткин Д.А., **Куликов Д.А.** и др.// Тезисы XVI Всероссийского конгресса «Артериальная гипертония 2020: наука на службе практического здравоохранения» – г. Ярославль, Россия, 11-12 марта 2020 г. – С.70.

40. **Куликов, Д.А.** Взаимосвязь тяжести диабетической периферической нейропатии и реакции кожной микроциркуляции на нагрев/ Козлова К.А., Ковалева Ю.А., Глазков А.А. и др.// VII Всероссийская с международным участием школа-конференция "Физиология и патология кровообращения" – г. Москва, Россия, 3-6 февраля 2020 г. – С.65-66.