

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.  
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра медицинской физики

ЛАЗЕРНАЯ ДОППЛЕРОВСКАЯ ФЛОУМЕТРИЯ И  
ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ПРИ ОККЛЮЗИОННОЙ  
ПРОБЕ СОСУДОВ РУКИ  
АВТОРЕФЕРАТ

ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ МАГИСТРА

студента 2 курса 2221 группы

направления 03.04.02 Физика, Института физики

Тришкина Никиты Александровича

Научный руководитель  
д.ф.-м.н., профессор

\_\_\_\_\_  
должность, уч. ст., уч. зв.



\_\_\_\_\_  
личная подпись, дата



\_\_\_\_\_  
А.В. Скрипаль

\_\_\_\_\_  
инициалы, фамилия

Зав. кафедрой

д.ф.-м.н., профессор

\_\_\_\_\_  
должность, уч. ст., уч. зв.



\_\_\_\_\_  
личная подпись, дата

21.06.24

\_\_\_\_\_  
А.В. Скрипаль

\_\_\_\_\_  
инициалы, фамилия

Саратов 2024

## Введение

Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из главных причин смертности и инвалидности во всем мире. Ранняя диагностика и своевременное лечение играют ключевую роль в предотвращении осложнений и улучшении прогноза для пациентов. В связи с этим разработка и совершенствование неинвазивных методов диагностики сосудов, особенно микроциркуляторного русла, становится важной задачей современной медицины.

Неинвазивные методы диагностики становятся все более востребованными благодаря их способности предоставлять точную информацию о состоянии здоровья пациента без прямого вмешательства. Среди наиболее перспективных методов выделяются лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и флуоресцентная спектроскопия (ФС). ЛДФ основана на измерении скорости движения эритроцитов в микрососудах и предоставляет информацию о кровотоках и пульсациях. ФС анализирует состояние микроциркуляции путем измерения флуоресценции тканей, что позволяет оценивать клеточный метаболизм.

Сочетание этих методов при проведении функциональных проб, таких как окклюзионная проба, расширяет спектр полезной диагностической информации о состоянии сосудов и тканей. Это позволяет более подробно изучать микроциркуляцию, оценивать резервы системы, реактивность микрососудов и степень их вовлечения в различные реакции. Такой комплексный подход обеспечивает более полную и точную информацию для ранней диагностики патологических состояний, что делает эти методы актуальными и перспективными для применения в современной медицине.

**Актуальность** темы данного исследования обусловлена проведением сравнительного анализа одновременного применения методов лазерной доплеровской флоуметрии и флуоресцентной спектроскопии для измерения параметров микроциркуляции в периферических сосудах кисти руки при окклюзионной пробе. Сравнительный анализ этих методов позволяет оценить достоверность и точность результатов, полученных двумя различными методами

измерения во время окклюзионной пробы, что помогает понять, насколько согласованы полученные данные и является ключевым фактором при принятии клинически значимых решений. Также сравнительный анализ может выявить преимущества и недостатки каждого из методов.

**Цель** проведенного исследования заключается в одновременном исследовании показателей микроциркуляции, измеренных с помощью метода ЛДФ, и ключевых показателей окислительного метаболизма в тканях, измеренных с помощью метода ФС при проведении функциональной окклюзионной пробы сосудов кисти руки.

Для достижения этой цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Проанализировать имеющуюся литературу по методам лазерной доплеровской флоуметрии и флуоресцентной спектроскопии, их применению для оценки микроциркуляции;
2. Изучить работу прибора "ЛАЗМА ПФ 2.0", используемого для проведения измерений;
3. Провести экспериментальное исследование на здоровых добровольцах;
4. Оценить корреляцию между показателями микроциркуляции, полученными методом ЛДФ, и параметрами окислительного метаболизма, полученными методом ФС, при окклюзионной пробе сосудов руки.

**Объектом** исследования являются периферические сосуды указательного пальца дистальной фаланги кисти правой руки, а **предметом** исследования — методы ЛДФ и ФС при функциональной пробе окклюзией.

## Основное содержание работы

*Во введении* обосновывается актуальность выбранной темы и решаемых задач, формируется цель исследования и задачи.

*В первой главе* рассматривается современное состояние методов неинвазивной диагностики сосудов.

Методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии (ФС) широко применяются в различных областях медицины для оценки микроциркуляции и метаболизма тканей. ЛДФ, основанный на эффекте Доплера, позволяет оценить перфузию тканей путем регистрации отраженного от движущихся эритроцитов лазерного излучения. Этот неинвазивный метод особенно ценен для диагностики сосудистых заболеваний и непрерывного мониторинга кровообращения в реальном времени.

ФС, в свою очередь, основан на регистрации флуоресценции эндогенных флуорофоров, таких как кофермент НАДН. Этот метод позволяет оценивать метаболическую активность ткани, обнаруживать участки с низким содержанием кислорода и исследовать проницаемость сосудистой стенки. ФС широко применяется для распознавания патологических изменений в тканях, включая выявление онкологических заболеваний и мониторинг заживления ран.

Сочетанное применение ЛДФ и ФС при проведении окклюзионной пробы позволяет получить более полную информацию о состоянии микроциркуляции и метаболизма тканей. Это открывает новые возможности для комплексного анализа сосудистого ответа и оценки гемодинамических параметров. ЛДФ позволяет непрерывно отслеживать изменения кровотока, а ФС дополняет эти данные информацией о метаболической активности тканей и структурных изменениях сосудистой стенки.

Несмотря на ряд ограничений, таких как возможная меньшая

чувствительность ЛДФ при некоторых патологических состояниях и необходимость специализированного оборудования для ФС, эти методы остаются важными инструментами для диагностики и мониторинга сосудистого здоровья. Их совместное использование позволяет получить более полное представление о состоянии сосудов, выявить ранние признаки нарушений и оценить эффективность различных терапевтических вмешательств, способствуя улучшению качества медицинской помощи в различных областях, включая кардиологию, ангиологию и дерматологию.

*Во второй главе* рассматриваются понятия микрососудистого русла и его особенностей; функциональной диагностики, функциональных проб и, в частности, окклюзионной пробы.

Микрососудистое русло является критически важной частью сердечно-сосудистой системы, обеспечивая обмен веществ между кровью и тканями на микроскопическом уровне. Оно состоит из мельчайших кровеносных сосудов - артериол, капилляров и венул, которые пронизывают все органы и ткани организма. Микрососудистое русло характеризуется уникальной структурой, включающей три основных типа сосудов: артериолы, капилляры и венулы. Артериолы – это мелкие артерии, которые сужаются до состояния капилляров и играют ключевую роль в регуляции кровотока и сопротивления благодаря гладкомышечным клеткам в своих стенках. Капилляры – сосуды диаметром чуть больше одного эритроцита, с тонкими стенками из одного слоя эндотелиальных клеток, обеспечивающими обмен газов, питательных веществ и продуктов метаболизма между кровью и тканями. Венулы собирают кровь из капилляров и направляют её к венам, также содержащим гладкомышечные клетки, позволяющие регулировать диаметр просвета и кровотока.

Основные функции микрососудистого русла включают обеспечение непрерывного потока крови, питательных веществ и кислорода к тканям, удаление метаболитических отходов, поддержание гомеостаза и адекватного функционирования органов и систем организма, а также регулируемое перераспределение крови в зависимости от потребностей тканей.

Микрососудистое русло играет ключевую роль в поддержании здоровья организма. Без надлежащей микроциркуляции клетки не могут получать необходимые для их жизнедеятельности вещества, что может приводить к их гибели и повреждению тканей.

Патологии микроциркуляции, такие как воспаление, гипертония, диабет и атеросклероз, могут нарушать функционирование микрососудистого русла и вызывать различные заболевания. Поэтому изучение микрососудистого русла и механизмов поддержания его функциональной активности является важным аспектом современной медицины. Микрососуды обладают способностью к ауторегуляции, позволяющей им адаптировать кровоток к потребностям различных тканей и органов. Этот процесс, известный как микрогемодинамика, обеспечивает оптимальное кровоснабжение тканей в норме.

Однако при различных патологических состояниях происходят изменения в микрососудах. Например, при артериовенозных аномалиях, гипертензии, диабете и других заболеваниях, сосудистая реакция может быть нарушена, что может привести к снижению или увеличению микроциркуляции и отразиться на функциональном состоянии тканей и органов. Воспаление, ишемия и отеки также могут вызывать изменения в микрососудах. Для изучения состояния микрососудов при различных состояниях организма используются неинвазивные методы диагностики, такие как сцинтиграфия, реовазография, спектрофотометрия, электрокардиография, лазерная доплеровская флоуметрия и флуоресцентная спектроскопия. Эти методы позволяют оценить параметры микроциркуляции, регистрируя изменения в кровотоке и тканевой перфузии.

Исследование микрососудистого русла при патологиях играет важную роль в диагностике, мониторинге и лечении различных заболеваний, связанных с нарушениями перфузии тканей. Понимание механизмов регуляции микрососудов при различных состояниях помогает разрабатывать эффективные стратегии диагностики и лечения

Функциональная диагностика представляет собой комплекс методов, направленных на оценку состояния различных органов и систем организма. Она

имеет важное значение для выявления начальных признаков патологий, еще до появления явных симптомов. Это позволяет своевременно начать лечение и избежать серьезных осложнений. Методы функциональной диагностики основываются на анализе физиологических параметров, таких как артериальное давление, кровоток, частота дыхания, насыщение крови кислородом и электрическая активность сердца. Для этого используются специальные приборы и датчики, которые обеспечивают объективные данные о состоянии организма.

Функциональная диагностика используется в кардиологии, пульмонологии, неврологии, гастроэнтерологии и других областях медицины. Она помогает не только выявлять заболевания на ранних стадиях, но и контролировать эффективность лечения и динамику патологического процесса. Функциональные пробы, являясь важной частью этой диагностики, включают различные тесты, оценивающие состояние организма под нагрузкой.

Существует несколько видов функциональных проб. Физические пробы, такие как велоэргометрия и тредмил-тест, оценивают реакцию организма на физическую нагрузку. Фармакологические пробы исследуют реакцию на введение лекарств, например, нитроглицерина при ишемической болезни сердца. Пробы с изменением положения тела, такие как ортостатическая проба, оценивают реакцию сердечно-сосудистой системы на изменение положения. Пробы с задержкой дыхания, как пробы Штанге и Генча, оценивают устойчивость организма к гипоксии. Оклюзионные пробы, основанные на прекращении кровотока, позволяют оценить микроциркуляцию и выявить скрытые нарушения сосудистого тонуса.

Выбор проб зависит от целей исследования и состояния пациента. Комбинация различных проб дает более полное представление о функциональном состоянии организма. При проведении проб оцениваются реактивность системы, компенсаторные возможности, адаптационные резервы и регуляторные механизмы, что позволяет диагностировать скрытые нарушения, оценить адаптационные резервы и реактивность сосудов, а также

контролировать эффективность лечения.

Окклюзионная проба является популярным методом оценки микроциркуляции. Она заключается в создании ишемии тканей путем пережатия артерии и последующей реперфузией. Анализ кровотока во время этой пробы позволяет оценить резервные возможности микроциркуляции, эндотелиальную функцию и реактивность сосудов. Нарушения этих параметров наблюдаются при диабете, гипертонии, атеросклерозе и других заболеваниях.

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) позволяет детально отслеживать кровообращение при окклюзионной пробе, выявляя сосудистые нарушения и оценивая их степень. Флуоресцентная спектроскопия предоставляет важную информацию о состоянии микроциркуляции и метаболизма тканей, оценивая реакцию на изменение кровоснабжения и степень гипоксии. Эти методы критически важны для диагностики и лечения сосудистых патологий.

*В третьей главе* рассматривается метод лазерной доплеровской флоуметрии.

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) — это неинвазивный метод оценки микроциркуляции, основанный на эффекте Доплера. Суть метода заключается в зондировании ткани лазерным излучением и регистрации отраженного сигнала, который характеризуется доплеровским сдвигом частоты. В диагностическом процессе используется монохроматический лазерный луч длиной волны около 640 нм, проникающий в ткань на глубину до 1 мм. Свет рассеивается на эритроцитах, и отраженный сигнал улавливается фотодетектором, затем обрабатывается компьютерной системой. Доплеровский сдвиг частоты пропорционален скорости движения эритроцитов, а амплитуда сигнала зависит от их количества в зондируемом объеме ткани. ЛДФ позволяет оценить перфузию ткани, которая определяется скоростью и концентрацией эритроцитов.

Для анализа колебаний кровотока используются специальные математические методы. Вейвлет-анализ помогает исследовать нестационарные сигналы, получая информацию о частотных составляющих и их локализации во времени. Быстрое преобразование Фурье (БПФ) разлагает сигнал на гармонические составляющие, но ограничено в анализе нестационарных сигналов. В ЛДФ-сигнале выделяют несколько частотных диапазонов, отражающих различные механизмы регуляции микрокровоотока: эндотелиальный (0,0095-0,02 Гц), нейрогенный (0,02-0,06 Гц), миогенный (0,06-0,16 Гц), дыхательный (0,16-0,4 Гц) и сердечный (0,4-1,6 Гц).

Метод ЛДФ используется для оценки базального кровотока, что помогает выявлять нарушения микроциркуляции, такие как спазм, гиперемия или снижение интенсивности кровотока. Параметры микроциркуляции, измеряемые с помощью ЛДФ, включают показатель

микроциркуляции (ПМ), среднее квадратичное отклонение (СКО), коэффициент вариации (Kv) и амплитудно-частотный спектр колебаний кровотока. Эти данные помогают оценить функциональное состояние тканей и выявить патологические процессы.

ЛДФ широко применяется для диагностики микроциркуляции и оценки состояния сосудистого русла. При окклюзионной пробе ЛДФ фиксирует динамику изменений параметров микроциркуляции, что позволяет оценить реакцию на изменения в кровоснабжении. Этот метод особенно важен при диагностике таких состояний, как ишемия и гипергликемия.

Для обеспечения точности и воспроизводимости результатов ЛДФ необходимы тщательная калибровка приборов и стандартизация условий измерения. Современные приборы ЛДФ оснащены микропроцессорами для обработки данных в реальном времени и могут интегрироваться с другими методами медицинской диагностики, что повышает точность и информативность измерений. Исследования в этой области продолжаются, направленные на создание более точных и многофункциональных устройств для измерения микроциркуляции.

*В четвертой главе* рассматривается метод флуоресцентной спектроскопии.

Флуоресцентная спектроскопия (ФС) — это метод оптической неинвазивной диагностики, который основан на возбуждении флуорофоров в тканях лазерным излучением и регистрации их флуоресценции. Флуорофоры — это вещества, способные испускать свет после поглощения света с более короткой длиной волны. Основными и наиболее значимыми для диагностики флуорофорами являются никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и флавины (ФАД и ФМН). Эти молекулы участвуют в клеточном метаболизме и отражают окислительно-восстановительный статус ткани.

НАДН является важнейшим коферментом, играющим ключевую роль в процессах клеточного дыхания и окислительного метаболизма в

митохондриях клеток. Он образуется в ходе реакций цикла Кребса и гликолиза и служит донором электронов в дыхательной цепи митохондрий, обеспечивая синтез АТФ и энергетические потребности клетки. НАДН флуоресцирует в сине-зеленой области спектра с максимумом на длине волны около 460 нм при возбуждении светом в ультрафиолетовом диапазоне (340-350 нм). Это свойство позволяет детектировать его с помощью флуоресцентной спектроскопии и использовать в качестве маркера состояния окислительного метаболизма и тканевого дыхания.

Флуоресцентная спектроскопия в клинической практике используется для диагностики различных патологий, связанных с нарушениями микроциркуляции, таких как ишемические нарушения кожи, сосудистые и метаболические заболевания, трофические язвы и диабетические поражения. Диагностика с использованием ФС включает в себя следующие этапы:

Облучение ткани лазерным светом определенной длины волны, который избирательно поглощается определенными флуорофорами. Флуорофоры переходят в возбужденное состояние. При возвращении в основное состояние флуорофоры испускают флуоресцентное излучение. Флуоресцентное излучение регистрируется спектрометром.

Спектр флуоресценции содержит информацию о концентрации и свойствах флуорофоров в ткани. Интенсивность и форма спектра флуоресценции зависят от концентрации, микроокружения и состояния флуорофоров. Это позволяет оценить метаболическую активность и уровень оксигенации ткани, которые тесно связаны с состоянием микроциркуляции крови.

Концентрация НАДН в клетках определяется балансом между скоростью его образования в ходе гликолиза и расходом в реакциях дыхательной цепи. Увеличение интенсивности флуоресценции НАДН указывает на смещение окислительно-восстановительного состояния клеток в сторону восстановления (восстановительный сдвиг) и снижение

эффективности тканевого дыхания и утилизации кислорода, что может наблюдаться при гипоксии, ишемии тканей и нарушении функции митохондрий. Уменьшение интенсивности флуоресценции НАДН свидетельствует об активации окислительных процессов и повышении скорости потребления кислорода тканями (окислительный сдвиг), что происходит при усилении кровотока и оксигенации тканей, повышении метаболической активности клеток.

Измерение уровня НАДН в тканях методом ФС позволяет получить ценную диагностическую информацию о метаболическом и кислородном статусе тканей в режиме реального времени без повреждения. Это открывает широкие возможности для неинвазивной экспресс-диагностики состояния окислительного метаболизма и тканевого дыхания в клинической практике и научных исследованиях.

Флуоресцентная спектроскопия является мощным методом диагностики, предоставляющим важную информацию о состоянии тканей и метаболических процессах, что делает её важным инструментом в клинической практике и научных исследованиях.

*В пятой главе* описывается экспериментальная часть исследования.

В эксперименте приняли участие шесть здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 27 лет без нарушений микроциркуляции. Измерения проводились утром в спокойных условиях после 15-минутной адаптации к температуре помещения 20-25°C. Добровольцы находились в положении сидя, с правым предплечьем на уровне сердца. Для создания окклюзии использовался механический тонометр CS Medica CS-105, а для регистрации адаптивных реакций применялся портативный лазерный анализатор микроциркуляции крови «ЛАЗМА ПФ 2.0».

Анализатор, передающий данные беспроводным способом, использует два метода диагностики: лазерную доплеровскую флоуметрию для оценки микроциркуляции и флуоресцентную спектроскопию для оценки активности эндогенного флуорофора НАДН. Программа от ООО НПП «ЛАЗМА»

обрабатывала сигнал, фильтровала его и проводила вейвлет-преобразование, после чего данные экспортировались в MS Excel.

В исследовании манжета тонометра накладывалась на левую руку, а анализатор сигнала закреплялся на правом указательном пальце. Измерения проводились в три этапа: три минуты для регистрации исходных показателей, две минуты окклюзии при давлении 190 мм рт. ст. и последующее резкое снятие окклюзии. Оценивались показатели микроциркуляции (М, СКО) и параметры флуоресценции НАДН (Анадн, ПОМ).

Эксперимент	Показатель микроциркуляции (МЦ, перф. ед.)			Амплитуда получения флуоресценции НАДФН (Анагл, безразл.)			Параметр оксигенного метаболизма (ПОМ, перф. ед.)			Среднее квадратичное отклонение (СКО, перф. ед.)		
	МЦ(до)	МЦ(окл)	МЦ(после)	Анагл(до)	Анагл(окл)	Анагл(после)	ПОМ(до)	ПОМ(окл)	ПОМ(после)	СКО(до)	СКО(окл)	СКО(после)
№ 1	9,38	4,35	14,90	0,64	0,81	0,53	5,46	1,28	14,16	1,61	0,22	2,29
№ 2	10,87	5,83	18,57	0,93	1,04	0,70	5,85	1,63	7,10	1,44	0,47	2,85
№ 3	32,48	6,73	37,10	0,68	0,85	0,56	19,63	3,23	27,15	1,26	0,42	2,67
№ 4	30,61	4,38	30,42	0,63	0,81	0,51	21,21	1,07	16,82	2,22	0,32	3,46
№ 5	17,95	4,41	23,54	0,74	0,71	0,73	6,43	1,11	7,32	2,96	0,27	1,12
№ 6	19,54	5,43	21,29	1,12	1,36	0,89	4,86	0,65	5,95	1,75	0,27	2,94
Среднее значение	20,14	5,19	24,64	0,79	0,93	0,65	10,57	1,50	13,08	1,87	0,33	2,56

Таблица 1. Исследуемые параметры.

Результаты (таблица 1) показали, что во время окклюзии микроциркуляция значительно снижается, а после ее снятия происходит реактивная гиперемия, приводящая к увеличению кровотока. Разброс значений микроциркуляции уменьшается во время окклюзии, но возрастает после восстановления кровотока

из-за физиологических процессов. Амплитуда флуоресценции НАДН увеличивается во время окклюзии из-за гипоксии и переходит на анаэробный метаболизм, а затем снижается после восстановления кровотока. Корреляция между микроциркуляцией и окислительным метаболизмом (ПОМ) указывает на их взаимосвязь: снижение кровотока снижает метаболическую активность, а восстановление кровотока увеличивает её.

Таким образом, изменения микроциркуляции и параметров метаболизма были четко зафиксированы, что позволило оценить их динамику и взаимосвязь в условиях искусственного ограничения и последующего восстановления кровотока.

## Заключение

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и флуоресцентная спектроскопия (ФС) - два эффективных метода неинвазивной диагностики состояния микроциркуляции крови, широко используемые в медицинской практике. Сравнительный анализ этих методов показывает их высокую чувствительность и точность при оценке микроциркуляции крови. Экспериментальные наблюдения подтвердили теоретические ожидания, сделанные перед началом исследования.

Исследование показало, что показатели микроциркуляции и окислительного метаболизма (М и ПОМ) уменьшаются во время искусственно созданного ограничения кровотока (окклюзионной пробы) и возвращаются к исходным значениям или выше после восстановления кровотока. Этот феномен, известный как реактивная гиперемия, демонстрирует компенсаторные механизмы организма для восстановления нормальной циркуляции крови. Также была установлена прямая корреляция между изменениями показателя микроциркуляции (М) и параметром окислительного метаболизма (ПОМ). Это объясняется тем, что кровоток и метаболическая активность тесно связаны: улучшение кровотока обычно сопровождается увеличением метаболической активности тканей.

Экспериментальные результаты подтверждают теоретические представления о микроциркуляции и метаболической активности тканей, поддерживая гипотезу о корреляции между этими параметрами. Было установлено, что разброс значений амплитуды флуоресценции НАДН стабилен во время окклюзии, тогда как разброс значений микроциркуляции уменьшается, что указывает на разные механизмы, влияющие на микроциркуляцию и метаболизм.

Методики измерений, примененные в исследовании, согласуются друг с другом и с теоретическими ожиданиями. Оба метода могут дополнить друг друга, позволяя получить более полную информацию о состоянии микроциркуляции при функциональной нагрузке. Совместное использование

ЛДФ и ФС улучшает точность диагностики различных патологий, связанных с нарушениями микроциркуляции, обеспечивая более точную и комплексную оценку микроциркуляции, что важно для диагностики и мониторинга различных заболеваний.