

## THE STUDY OF THE FLOW OF SUPEROXIDE AT THE WOUND SURFACE OF BURN PATIENTS

Karpukhin V.A, Solyankina E.M.  
Bauman Moscow State Technical University, [solyankina.ekaterina@mail.ru](mailto:solyankina.ekaterina@mail.ru)

Burn injury is a major medical and social problem of modern society due to their prevalence, high mortality, significant temporary employment losses and primary disability. One of the methods of burn wound complication treatment is a multimodal physiotherapy: an impact on burn wound by ozone, UV and the most effective component -- superoxide. The analogue analysis has shown that at present there are no apparatus for multimodal therapy. So the development of a superoxide generator for the burn patients treatment, providing a directed superoxide flow at wound surface and allowing to adjust the flow rate is an urgent problem. The study aim is to validate the geometry parameters of the superoxide generator working chamber, providing a specified stream to the wound surface of burn patients. To solve this problem, the geometric model of the superoxide generator working chamber has been developed in COMSOL Multiphysics 5.1 and the study has been conducted. The research has shown that when the working chamber parameters are: height - 50 mm, radius - 10 mm, the radius of the ionizing electrode - 0.2 mm, the voltage applied to the ionizing electrode - (-25 kV), the concentration of superoxide on the tip of the ionizing electrode -  $1 \cdot 10^{-8}$  mol/m<sup>3</sup>; the value of interest should be: the length of the ionizing electrode is not more than 30 mm, the distance between the working chamber and the bioobject surface is not more than 20 mm, the effective radius of the machined surface is not more than 50 mm, the static pressure created by the fan at the input of the working chamber should be in the range of 1 to 4 PA.

◆

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ  
ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ТКАНЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПАЦИЕНТОВ  
С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

В.В. Дрёмин<sup>1\*</sup>, Е.В. Жарких<sup>1</sup>, М.А. Филина<sup>1</sup>, И.Н. Маковик<sup>1</sup>, Е.В. Потапова<sup>1</sup>, Е.А. Жеребцов<sup>1</sup>,  
А.И. Жеребцова<sup>1</sup>, А.В. Дунаев<sup>1</sup>, В.В. Сидоров<sup>2</sup>, А.И. Крупаткин<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», \*dremin\_viktor@mail.ru  
<sup>2</sup>ООО НПП «ЛАЗМА»  
<sup>3</sup>ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России

Проблема ранней диагностики осложнений, связанных с развитием сахарного диабета (СД), в настоящее время стоит особенно остро. Медицинская, социальная и экономическая значимость СД в первую очередь определяется высокой распространенностью этого заболевания, а также частотой развития у пациентов инвалидирующих и снижающих качество жизни осложнений. Многочисленные исследования в данной области подтверждают, что своевременная диагностика и лечение, включающее повышение уровня гликемического контроля, уменьшают проявления осложнений, а на ранних доклинических стадиях делают возможным их обратное развитие.

Известно, что при сахарном диабете происходит поражение сосудистых стенок и нервных окончаний вследствие нарушения обмена веществ, недостатка кислорода в тканях и избытка токсических продуктов углеводного обмена. Поэтому непосредственный контроль именно этих процессов является наиболее логичным.

Методы биофотоники уже в течение многих лет являются одними из самых эффективных методов скрининга, диагностики и лечения во многих медицинских приложениях. В связи с этим объединение часто используемого на сегодняшний день метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с методом флуоресцентной спектроскопии (ФС) может позволить комплексно анализировать изменения в тканях больных СД, что потенциально увеличит информативность и достоверность получаемых диагностических результатов и позволит выявлять нарушения в системе микроциркуляции крови и метаболических процессах биоткани стоп конечностей на более ранних стадиях [1-3]. Так метод ЛДФ позволяет диагностировать периферический кровоток. Колебательный процесс, регистрируемый этим методом является наложением колебаний, обусловленных активными и пассивными факторами. Для диагностики состояния биологических тканей и регуляторных механизмов важно определять вклад каждого колебательного компонента в регистрируемый сигнал. В настоящее время выделяют несколько частотных диапазонов колебаний кровотока: диапазон 0,005–0,0095 Гц отражает влияние эндотелиального гиперполяризующего фактора; 0,0095–0,02 Гц – осцилляции, обусловленные влиянием эндотелиального оксида азота (NO); 0,02–0,046 Гц – осцилляции, вызванные низкочастотной ритмичкой импульсацией симпатических адренергических вазомоторных волокон, непосредственно иннервирующих микрососуды кожи; 0,05–0,069 Гц – колебания, зависящие от влияния сенсорных пептидергических нервных волокон; 0,07–0,15 Гц – осцилляции, обусловленные собственной миогенной активностью миоцитов микрососудов; 0,16–0,18 Гц – осцилляции, вызванные парасимпатическими или симпатическими холинергическими влияниями; 0,2–0,4 Гц – дыхательные волны; 0,8–1,6 Гц – пульсовые

волны [4]. Для более качественной оценки состояния регуляторных механизмов применяют различные функциональные нагрузочные пробы.

В настоящее время проводится также множество исследований, направленных на изучение процессов метаболизма с использованием методов, регистрирующих флуоресценцию различных флуорофоров. Митохондриальная функция является важным параметром жизнеспособности ткани. По показателям активности дыхательной цепи имеется возможность предсказывать гибель клетки, диагностировать состояние тканевой ишемии, либо напротив, говорить о ее злокачественной активности. Одной из оценок митохондриальной функции является соотношение коферментов  $NADH$  и  $FAD$ , которое возможно определять по интенсивности их эндогенной флуоресценции.

Целью данной работы явился анализ изменений содержания коферментов  $NADH$  и  $FAD$  и модуляций кровотока при тепловых пробах на стопах пациентов с сахарным диабетом.

Для реализации поставленной цели были проведены экспериментальные исследования, в которых приняли участие 76 пациентов с диагнозом сахарный диабет (средний возраст  $53 \pm 13$  лет) и 20 условно-здоровых добровольцев (средний возраст  $46 \pm 7$  лет). Для предварительной оценки результатов исследования пациенты были разделены на 2 группы по критерию наличия или отсутствия выраженных трофических нарушений, таким образом в первую группу вошло 17 пациентов, у которых имелись выраженные трофические нарушения нижних конечностей, во вторую группу вошло 59 пациентов, у которых трофические нарушения не были выявлены.

В качестве провокационного воздействия была выбрана локальная тепловая проба, позволяющая оценивать местные регуляторные механизмы. Для проведения экспериментальных исследований использовали многофункциональный лазерный комплекс «ЛАЗМА МЦ», для оказания теплового воздействия использовали комплекс «ЛАЗМА-ТЕСТ» (ООО НПП «ЛАЗМА»). Этапы и параметры исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Методика исследования с применением температурных проб

№	Этап	Температура, °С	Время, мин
1	Базовый тест	–	4
2	Локальный нагрев	25	4
3	Окклюзионная проба	35	4
4	Локальное охлаждение	42	10

Таким образом, одно исследование на одной стопе составляло 22 мин. Одновременно с постоянной регистрацией перфузии на каждом этапе регистрировалась пара спектров флуоресценции при возбуждении источниками с длинами волн излучения 365 нм и 450 нм. Световодный зонд устанавливали на дорсальной поверхности стопы в точке, расположенной на плато между 1-й и 2-й плюсневными костями. Все исследования проводились в положении лежа через 2 часа после приема пищи. Испытуемый адаптировался к условиям в течение не менее 10 минут. Типовой пример ЛДФ-граммы, зарегистрированной на первом этапе исследования, и спектров флуоресценции представлены на рисунке 1.

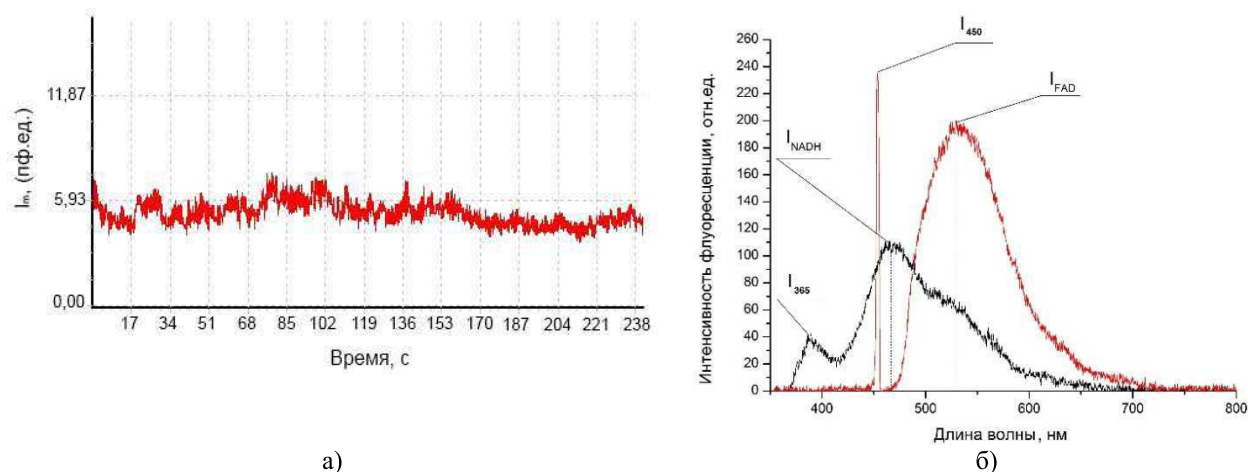


Рисунок 1 – Типовой пример регистрации ЛДФ-граммы (а) и спектров флуоресценции коферментов  $NADH$  и  $FAD$  (б)

После проведения экспериментов ЛДФ-граммы каждого этапа исследования подвергались адаптивному вейвлет-анализу с помощью программы  $LDF\ 3.0.2.384$  (ООО НПП «ЛАЗМА») которая реализует непрерывное вейвлет-преобразование с использованием комплекснозначного вейвлета Морле. С помощью данного вейвлет-анализа определялись амплитудные значения колебаний для 5 основных диапазонов – эндотелиального ( $A_e$ ), нейрогенного ( $A_n$ ), миогенного ( $A_m$ ), дыхательного ( $A_r$ ) и сердечного ( $A_c$ ). Для сравнения амплитуд осцилляций

у разных испытуемых и анализа регуляторных механизмов, по мнению некоторых авторов, более корректно применять величины нормированных амплитуд осцилляций, вследствие чего производился анализ их амплитуд, нормированных на среднеквадратическое отклонение ( $\sigma$ ) и среднее значение показателя микроциркуляции ( $I_m$ ). Величина  $A/\sigma$  позволяет оценить вклад колебаний определенного частотного диапазона относительно средней модуляции кровотока, в то же время  $A/I_m$  характеризует напряженность регуляции кровотока со стороны отдельных регулятивных факторов. Для оценки колебательного компонента микрососудистого тонуса рассчитывались показатели эндотелиального ( $ET$ ), нейрогенного ( $NT$ ) и миогенного ( $MT$ ) тонуса. По методике [5], основанной на анализе амплитуд колебаний кровотока, рассчитывали показатель шунтирования ( $BI$ ) и нутритивный кровоток ( $I_{nn}$ ). Производилась регистрация показателя микроциркуляции ( $I_m$ ) и амплитуд флуоресценции  $I_{NADH}$  и  $I_{FAD}$ . На основании полученных данных был рассчитан показатель тканевого кислородного метаболизма редокс-отношение по следующей формуле:

$$RR = \frac{I_{NADH}}{I_{FAD}} \cdot \frac{I_{450}}{I_{365}}$$

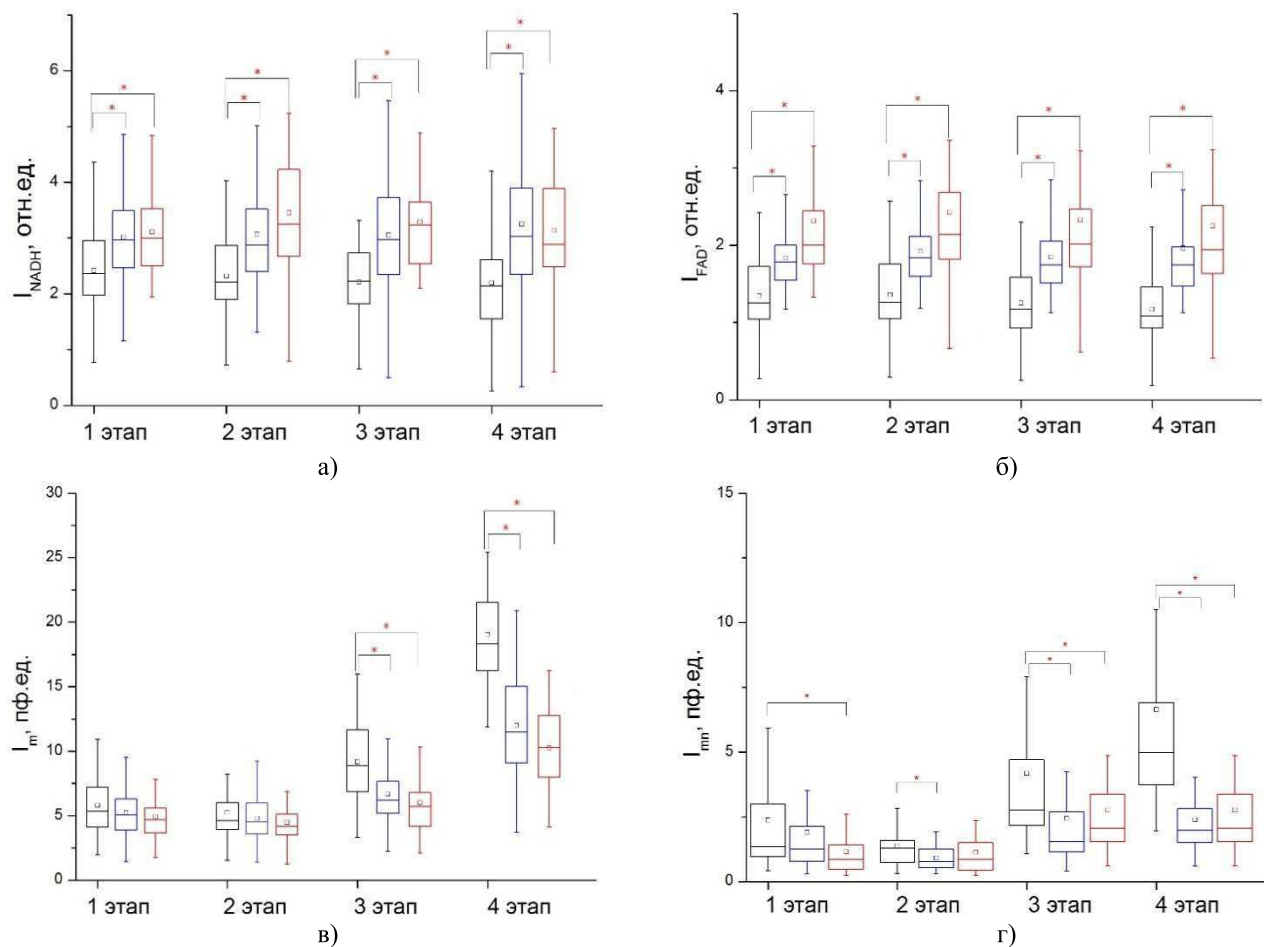
Также был предложен комплексный диагностический параметр, характеризующий метаболизм тканей и позволяющий оценивать состояние системы «доставка-потребление кислорода», показатель метаболизма тканей:

$$MR = \frac{RR}{I_m}$$

Было проведено сравнение результатов, полученных в двух группах пациентов и в контрольной группе. Были выявлены статистически значимые различия (по критерию Манна-Уитни,  $p < 0,05$ ) для двух групп пациентов относительно контрольной группы во всех приведенных параметрах.

Было выявлено, что интенсивность флуоресценции коферментов  $NADH$  и  $FAD$  для групп пациентов в целом больше по сравнению с контрольной группой (рисунок 2а, 2б). В то же время уровень перфузии для пациентов меньше, что особенно проявляется при тепловых пробах (рисунок 2в).

Уровень  $MR$  у пациентов выше по сравнению с условно-здоровыми добровольцами, что свидетельствует об уменьшенном количестве поставляемого кровью кислорода вследствие снижения нутритивного кровотока (рисунок 2г) и, как следствие, говорит о развитии процессов гипоксии и ишемии тканей.



\* – статистическая значимость различий значений подтверждена с  $p < 0,05$  по критерию Манна-Уитни

Рисунок 2 – Диаграммы размаха параметров (а – нормированная интенсивность флуоресценции  $NADH$ ; б – нормированная интенсивность флуоресценции  $FAD$ ; показатель микроциркуляции  $I_m$ ; нутритивный кровоток  $I_{mn}$ ), полученных в трех группах (1 – контрольная группа, 2 – пациенты без трофических нарушений, 3 – пациенты с трофическими нарушениями)

Предложенная методика проведения исследований позволяет выявлять не только наличие или отсутствие трофических нарушений, но и определять возможную причину их возникновения, оценивая процессы адаптации при тепловых пробах в динамике и сравнивая их с результатами, полученными в контрольной группе.

Так, например, для условно-здорового добровольца (мужчина, 55 лет) при фоновой записи наблюдается доминирование в нейрогенном диапазоне, а после оказания теплового воздействия (3 и 4 этапы исследования) доминируют эндотелиальные ритмы, что может свидетельствовать об увеличении количества вырабатываемых NO-эндотелием вазодилаторов при нагреве тканей.

Для пациента с сахарным диабетом без выявленных трофических нарушений (мужчина, 52 года) при фоновой записи наблюдается максимум колебаний в области нейрогенных осцилляций, при нагреве до 35 °С наблюдается доминирование колебаний в сенсорно-пептидергической области, что может свидетельствовать о возникновении процессов вазодилатации, но при дальнейшем нагреве до 42 °С доминируют нейрогенные осцилляциии, что может свидетельствовать о недостаточном выполнении эндотелием функции вазодилатации и о развитии патологических процессов.

Для пациента с сахарным диабетом с выраженными трофическими нарушениями (мужчина, 80 лет) наблюдается другая картина: во всех этапах обследования наблюдается доминирование миогенных осцилляций, что свидетельствует о протекании процессов вазоконстрикции и об отсутствии реакции испытуемого на оказываемое провокационное воздействие в виде тепловых проб.

Таким образом, совместное применение методов ЛДФ и ФС и использование вейвлет-преобразования при анализе ЛДФ-грамм позволяет не только на ранних стадиях прогнозировать развитие трофических нарушений и синдрома диабетической стопы, но и выявлять причины и локализацию возникновения этих нарушений.

Исследование выполнено при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук № МК-7168.2016.8.

#### Библиографический список

1. Дрёмин, В.В. Возможности применения сочетанных методов оптической неинвазивной диагностики при исследовании жизнеспособности тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом / В.В. Дрёмин, Е.В. Дрёмина, Е.В. Жарких, Е.В. Потапова, Е.А. Алимичева, Г.И. Масальгина, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*, 2016. – 1. – № 315. – 136-142.
2. Оптическая биомедицинская диагностика: в 2 т. Т. 2 / Пер. с англ. под ред. В. В. Тучина. М.: Физматлит, 2007. – 368 с.
3. Дунаев, А.В. Анализ индивидуальной вариабельности параметров в лазерной флуоресцентной диагностике / А.В. Дунаев, В.В. Дрёмин, Е.А. Жеребцов, С.Г. Палмер, С.Г. Соколовский, Э.У. Рафаилов // *Биотехносфера*, 2013. – № 2 (26). – С. 39-47.
4. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно–тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013. – 496 с..
5. Dunaev, A.V. Investigating tissue respiration and skin microhaemocirculation under adaptive changes and the synchronization of blood flow and oxygen saturation rhythms // *Physiological Measurement*, 2014. – 35. – № 4. – 607-621. – ISSN 0967-3334; 1361-6579.

#### STUDY OF OXIDATIVE METABOLISM AND HEMODYNAMIC PARAMETERS IN THE DIAGNOSIS OF TISSUE VIABILITY LOWER LIMB PATIENTS WITH DIABETES

V.V. Dremin<sup>1</sup>, E.V. Zharkikh<sup>1</sup>, M.A. Filina<sup>1</sup>, I.N. Makovik<sup>1</sup>, E.V. Potapova<sup>1</sup>, E.A. Zhrebtsov<sup>1</sup>, A.I. Zhrebtsova<sup>1</sup>, A.V. Dunaev<sup>1</sup>, V.V. Sidirov<sup>2</sup>, A.I. Krupatkin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Orel State University, dremin\_viktor@mail.ru

<sup>2</sup>SPE "LAZMA" Ltd

<sup>3</sup>Priorov Central Research Institute of Traumatology and Orthopaedics

The paper presents the results of the study of oxidative metabolism and hemodynamic parameters in the diagnosis of tissue viability lower limb patients with diabetes mellitus by laser Doppler flowmetry (LDF) and fluorescence spectroscopy (FS). LDF with 1064 nm laser light source and FS with excitation light of 365 nm and 450

nm have been used to monitor the blood perfusion and the content of coenzymes NADH and FAD. The possibility of using an adaptive wavelet analysis of signals recorded by laser Doppler flowmetry during the study of the oscillation of microcirculatory parameters via stress tests in the form of local heating test is shown.

Concluding, the proposed combined LDF and tissue FS approach allows to identify the significant violations in the blood microcirculation and metabolic activity for diabetes patients.

## ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛАСТОГРАФИИ СДВИВОЙ ВОЛНЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ ГЕПАТОЛОГИЧЕСКОГО ЦЕНТРА

Рыхтик П.И., Рябова Е.Н., Демин И.Ю., Загайнов В.Е.

ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства России»,  
[ryabova\\_elena\\_2011@mail.ru](mailto:ryabova_elena_2011@mail.ru)

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
[phdem56@gmail.com](mailto:phdem56@gmail.com)

**Введение.** В последние годы во всём мире отмечается значительный рост количества пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени, в том числе фиброзом и циррозом печени различной этиологии. Общепринятым «золотым стандартом» диагностики диффузных изменений ткани печени в медицине является пункционная биопсия печени, когда под местным обезболиванием специальной иглой через кожу выполняется прокол ткани печени для последующего морфологического исследования. Пункционная биопсия печени является инвазивной процедурой, сопровождается риском развития внутрибрюшного кровотечения, требует наличия специалиста, владеющего методикой проведения данного вмешательства и опытного врача-морфолога. В ряде случаев необходимо выполнение повторных биопсий для оценки эффективности проводимого лечения.

В связи с этими причинами всё большую востребованность в клинической практике приобретает ARFI-эластография печени, позволяющая с достаточной степенью достоверности верифицировать изменение структуры печени, как при первичном обследовании пациента, так и при последующем наблюдении.

**Целью работы** явилось изучение возможностей эластографии сдвиговой волны в сопоставлении с данными пункционной биопсии при хронических диффузных заболеваниях печени, у здоровых лиц и у пациентов, перенёсших трансплантацию печени для оценки степени развития фиброзных изменений в паренхиме трансплантата.

**Материалы и методы.** За период с января 2014 года по апрель 2016 года на базе ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России» было обследовано 47 пациентов с применением метода эластографии. Пациенты были разделены на три группы. В первую группу вошли 6 человек практически здоровых лиц, которые рассматривались в качестве потенциальных родственных доноров фрагмента печени. Женщин в группе было 2 (33,3%), средний возраст 55,5±2,1 лет; мужчин 4 (66,7%), средний возраст 35±12,1 лет.

Вторую группу составили 24 пациента с циррозом печени вирусной HCV-этиологии - 7 (29,1%) пациентов, HBV-этиологии - 2 (8,3%), HBV+HCV-этиологии - 1 (4,2%), токсическим циррозом печени - 3 (12,5%), сочетанием токсического и вирусного ЦП - 5 (20,8%), аутоиммунным ЦП - 1 (4,2%), сочетанием аутоиммунного и первичного билиарного цирроза печени - 1 (4,2%), первичным билиарным циррозом печени - 3 (12,5%), болезнью Вильсона-Коновалова - 1 (4,2%). Женщин было 18 (75%), средний возраст 48,5±10,2 лет; мужчин 6 (25%), средний возраст 47±11,3 лет.

Третью группу объединила 17 пациентов, которым была выполнена трансплантация печени. Женщин в группе было 8 (47%), средний возраст 44,6±11 года; мужчин 9 (53%), средний возраст 40,5±15,3 лет.

Причиной, по которой пациентам была выполнена трансплантация печени, явился цирроз печени вирусной HCV-этиологии - 1 (5,9%) пациент, цирроз печени HBV+HCV-этиологии - 1 (5,9%), токсический цирроз печени - 1 (5,9%), сочетание токсического и вирусного цирроза печени - 1 (5,9%), аутоиммунный цирроз печени - 3 (17,5%), сочетание аутоиммунного и первичного билиарного цирроза печени - 1 (5,9%), первичный билиарный цирроз печени - 1 (5,9%), болезнь Вильсона-Коновалова - 1 (5,9%), криптогенный цирроз печени - 3 (17,5%), первичный склерозирующий холангит - 2 (11,8%), тотальный альвеококкоз печени - 2 (11,8%).

**Результаты и обсуждение.** Всем пациентам выполнялись комплексное ультразвуковое исследование, доплерография сосудов портальной системы и ARFI-эластография печени. В ходе клинического обследования патологии со стороны печени, желчевыводящих путей и сосудов портальной системы у пациентов первой группы - практически здоровых лиц - выявлено не было. В ходе обследования всем пациентам была выполнена ARFI-эластография печени в 5 различных точках паренхимы печени.

При выполнении эластографии сдвиговой волны у 100% пациентов первой группы был диагностирован фиброз печени F0-F1. Референтным методом для сравнения полученных результатов во всех трёх группах являлась чрескожная чреспечёночная пункционная биопсия печени под УЗ-контролем, выполняемая через 1-2 суток после проведения эластографии. Практически здоровым лицам - потенциальным родственным донорам