

УДК 535.372

Е.В.ЖАРКИХ, В.В.ДРЕМИН, И.Н.НОВИКОВА, А.И.ЖЕРЕБЦОВА,  
Е.А.ЖЕРЕБЦОВ, А.В.ДУНАЕВ  
E.V.ZHARKIKH, V.V.DREMIN, I.N.NOVIKOVA, A.I.ZHEREBTSOVA,  
E.A.ZHEREBTSOV, A.V.DUNAEV

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПЕРФУЗИЕЙ И ПАРАМЕТРАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ОККЛЮЗИОННОЙ ПРОБЫ

### STUDY OF RELATIONSHIP BETWEEN PERFUSION AND FLUORESCENCE SPECTROSCOPY PARAMETERS DURING OCCLUSION TEST

*В данной работе представлены результаты оценки изменений параметров микроциркуляторно-тканевых систем (МТС) организма человека при проведении окклюзионной функциональной пробы. Описана методика проведения экспериментов, приведены результаты расчётов корреляционных отношений между регистрируемыми параметрами лазерной доплеровской флоуметрии и флуоресцентной спектроскопии у условно-здоровых добровольцев. В статье проведён анализ полученных данных, которые могут иметь практическое значение для физиологии и медицины.*

**Ключевые слова:** *неинвазивная диагностика, лазерная доплеровская флоуметрия, флуоресцентная спектроскопия, микроциркуляторно-тканевые системы, окклюзионная проба, редокс-соотношение, метаболизм*

*This paper presents evaluation results of the parameter changes of microcirculatory-tissue systems (MTS) of the human body during occlusion functional tests. It is described the methodology for conducting experiments as well as results of calculations of the relationship between the recording parameters of the laser Doppler flowmetry and fluorescence spectroscopy on healthy volunteers. The article analyses the data, which has practical significance for physiology and medicine.*

**Keywords:** *non-invasive diagnostics, laser Doppler flowmetry, fluorescence spectroscopy, microcirculatory-tissue system, occlusion test, redox ratio, metabolism*

Микроциркуляторно-тканевым системам (МТС) организма человека принадлежит важная роль в процессах кислородного снабжения тканей, поэтому в современной клинической практике по-прежнему значимое место занимает их исследование, а также разработки новых методов функциональной диагностики систем микроциркуляции.

В настоящее время при исследовании МТС применяют различные технологии, но особенно широкое применение получили такие оптические технологии, как [1]: лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) [2] и флуоресцентная спектроскопия (ФС). Основное преимущество этих технологий состоит в том, что они позволяют неинвазивно оценить процессы, происходящие в биоткани. Метод ЛДФ основывается на оптическом неинвазивном зондировании тканей лазерным излучением и анализе рассеянного и отраженного от движущихся в тканях эритроцитов излучения [3]. Регистрируемым параметром является показатель микроциркуляции –  $I_m$ , который зависит от концентрации эритроцитов в зондируемом объеме и скорости их движения. Метод ФС основан на возбуждении флуоресценции эндогенных и экзогенных флуорофоров биоткани и записи излучения в видимой области спектра. Этот метод обладает высокой чувствительностью и позволяет проводить неинвазивную диагностику состояния кислородного метаболизма тканей. Наиболее перспективным и целесообразным является применение метода ФС в таких областях, как онкология, косметология, трансплантология и хирургия [4]. Наибольшей

информативностью обладает комплексный подход к изучению МТС, включающий одновременное применение нескольких методов диагностики.

Для изучения возможных реакций МТС на внешнее воздействие существуют различные функциональные тесты, среди которых выделяют окклюзионный тест (ОТ). Суть этого теста заключается в пережатии артерии на одной из конечностей испытуемого на несколько минут. В ответ на окклюзию, после освобождения конечности, происходят изменения кровотока на участке дистальнее места пережатия. Проба позволяет оценивать величину кровотока в отсутствии артериального притока и резервные возможности микроциркуляторного русла по приросту кровотока во время реактивной постокклюзионной гиперемии. Было выдвинуто предположение, что метаболические процессы могут зависеть от перфузии [5]. В связи с этим, целью данной работы явился поиск взаимосвязей между метаболическими процессами и перфузией биоткани на участке кожи человека, содержащего нутритивный кровоток, при проведении ОТ.

Экспериментальные исследования были проведены методами ЛДФ и ФС при помощи многофункционального лазерного неинвазивного диагностического комплекса (МЛНДК) «ЛАКК-М» (исполнение 3).

Комплекс реализует метод ЛДФ на длине волны 1064 нм и спектрофотометрический канал на 2-х длинах волн. Особенностью данного МЛНДК является возможность одновременной регистрации перфузии и спектров флуоресценции.

Были проведены тестовые эксперименты, в которых приняли участие 10 условно здоровых добровольцев в состоянии физического и психического покоя с предварительной адаптацией к температуре помещения 24-25°C. При этом световодный зонд устанавливали на срединной линии дорсальной поверхности нижней трети правого предплечья в точке, расположенной на 20 мм выше шиловидного отростка. Данная область бедна артериоло-венулярными анастомозами и характеризует в большей степени нутритивный кровоток [2]. На рисунке 1 представлено расположение оптического волокна.



Рисунок 1 – Расположение оптического волокна на предплечье условно-здорового добровольца

Исследование включало в себя регистрацию изменений кровотока и флуоресценции коферментов биоткани во время 4 последовательно сменяющихся друг друга этапов. Первый этап включал в себя регистрацию базового теста ЛДФ-граммы в течение 1-й минуты. Во время второго этапа проводилась плечевая окклюзионная проба с давлением в манжете 220 мм. рт. ст. в течение 3-х минут. Третий и четвертый этапы исследования заключались в

записи базового теста в течение 6-ти минут, при этом исследовался отклик системы микроциркуляции крови на провокационную пробу и постепенное восстановление показателей к концу исследования. При проведении экспериментальных исследований ЛДФ-грамма представляла из себя 20 фрагментов по 30 секунд каждый, и одновременно с записью каждого фрагмента производилась регистрация двух спектров флуоресценции при возбуждении УФ (365 нм) и синим (450 нм) светом. Схема проведения исследований приведена на рисунке 2.

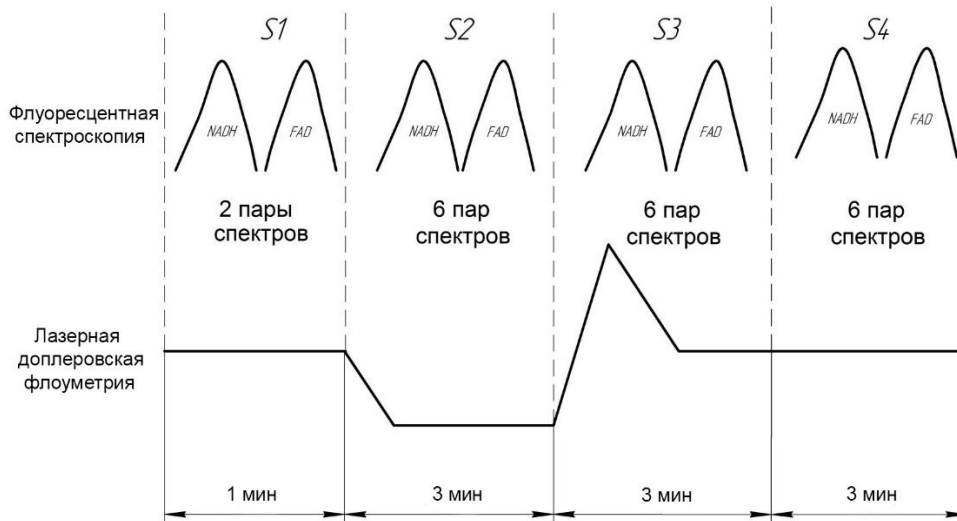


Рисунок 2 – Схема проведения экспериментальных исследований

Все эксперименты проводились в положении испытуемого сидя, правая рука располагалась на столе на уровне сердца. Длительность исследования каждого добровольца составила 10 мин.

При проведении экспериментов производилась регистрация следующих показателей: показатель микроциркуляции (ПМ), амплитуды интенсивности флуоресценции флуорофоров биоткани (*NADH* и *FAD*). Также двумя способами был рассчитан общепринятый показатель метаболизма (редокс-соотношение - *RR*):

$$RR_1 = \frac{I_{NADH}}{I_{FAD}} \quad (1)$$

$$RR_2 = \frac{K_{fNADH}}{K_{fFAD}} \quad (2)$$

где  $I_{NADH}, I_{FAD}$  – интенсивность флуоресценции *NADH* и *FAD* соответственно;

$K_{fNADH}, K_{fFAD}$  – коэффициенты флуоресцентной контрастности, рассчитываемые по формуле:

$$K_f = 1 + \frac{I - I_{bs}}{I + I_{bs}} \quad (3)$$

$I_{bs}$  – интенсивность флуоресценции обратно отраженного света.

Типовой вид совместно зарегистрированных ЛДФ-граммы и спектров флуоресценции для 1-ого фрагмента во время проведения экспериментальных исследований представлен на рисунке 3.

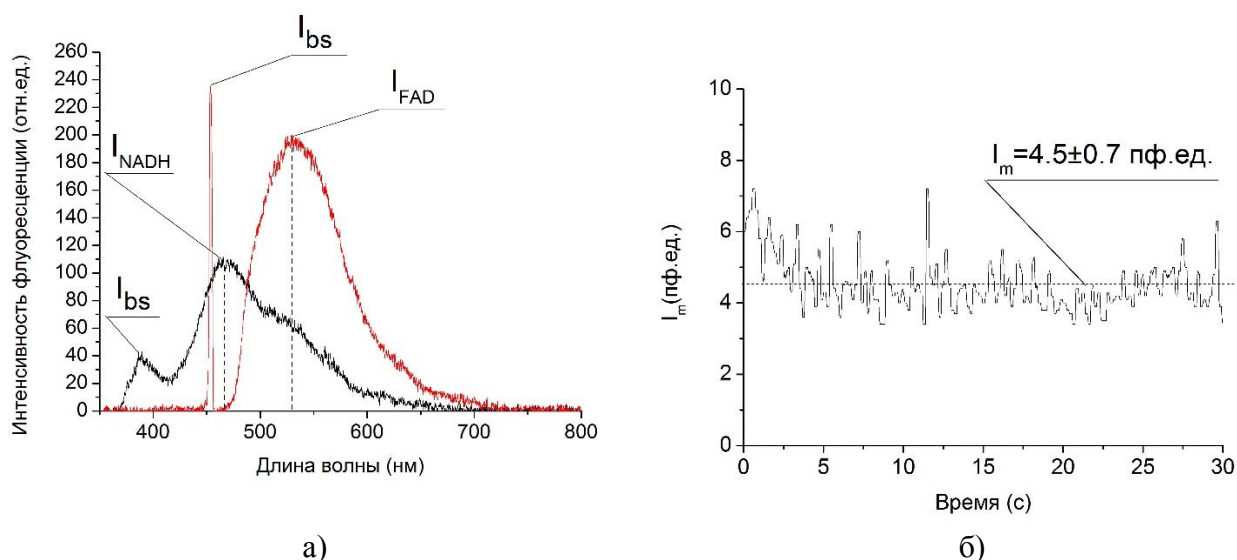


Рисунок 3 – Типовой вид совместно зарегистрированных спектров флуоресценции (а) и ЛДФ-граммы (б) для 1-го фрагмента во время эксперимента

На основе полученных в результате экспериментов данных по каждому из добровольцев подсчитывались коэффициенты корреляции между совместно зарегистрированными параметрами ЛДФ и ФС во время проведения ОТ. Итоговые данные сведены в таблицу 1.

Таблица 1 – Коэффициенты корреляции между совместно зарегистрированными параметрами ЛДФ и ФС во время проведения ОТ

Параметры	Коэффициенты корреляции									
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
$I_{NADH}$ , отн.ед.	0,154	-0,763	-0,888	-0,402	-0,918	-0,661	-0,759	-0,092	-0,876	-0,976
$I_{bsNADH}$ , отн.ед.	0,451	-0,881	-0,835	-0,713	0,068	-0,801	-0,330	0,525	-0,735	-0,953
$I_{FAD}$ , отн.ед.	0,289	-0,885	-0,957	-0,705	-0,921	-0,853	-0,676	0,203	-0,805	-0,982
$I_{bsFAD}$ , отн.ед.	0,279	-0,796	-0,933	-0,806	0,012	-0,879	-0,865	0,094	-0,773	-0,990
$RR_1$ , отн.ед.	-0,154	0,413	0,164	0,040	0,135	-0,186	0,440	-0,371	-0,091	0,308
$RR_2$ , отн.ед.	-0,661	0,707	-0,369	0,511	0,564	0,391	-0,431	-0,601	0,506	0,850

Результаты расчётов показали, что для 8 из 10 добровольцев коэффициенты обратной корреляции по Пирсону между ПМ и амплитудой интенсивности флуоресценции *NADH* получились в диапазоне 40-88%, между ПМ и интенсивностью флуоресценции *FAD* соответственно 68-96%. Также для всех добровольцев была выявлена высокая взаимосвязь между ПМ и  $RR_2$ , диапазон которой составил 37-85%. Также следует отметить, что для некоторых добровольцев (например, для №1) коэффициенты корреляции между интенсивностью флуоресценции коферментов и перфузией оказались положительными, в отличие от остальных результатов. В настоящее время причина данных явлений неизвестна. Предполагается проведение дополнительных исследований для изучения этих различий.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований выявлена высокая корреляционная зависимость между параметрами, совместно зарегистрированными методами ЛДФ и ФС при проведении ОТ. Предполагается проведение дальнейших исследований для совершенствования методологического обеспечения совместно используемых методов ЛДФ и ФС в клинической практике.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тучин В.В. Оптическая медицинская диагностика: в 2 т. – М.: Физматлит, 2007. Т. 1. 559 с.
2. 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.
3. Козлов В.И., Азимов Г.А., Гурова О.А., Литвин Ф.Б. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови. Пособие для врачей. – М., 2012. – 32 с.
4. Дрёмин В.В., Дунаев А.В., Жеребцов Е.А. Вопросы метрологического обеспечения лазерной флуоресцентной диагностики // ИСиТ- 2013. – Орел: Госуниверситет-УНПК, 2013
5. Krupatkin A.I., Sidorov V.V., Dremin V.V., Dunaev A.V., Novikova I.N., Zhu S.; Nabi G., Litvinova K.S., Baklanova A.P., Bakshaliev R.M., Ravcheev S.A. Evaluating adaptation options of microcirculatory-tissue systems based on the physiological link of nutritive blood flow and redox ratio // Proc. SPIE 9448, Saratov Fall Meeting 2014: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVI; Laser Physics and Photonics XVI; and Computational Biophysics, 944803

**Жарких Елена Валерьевна**

ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», г. Орёл, Россия  
Студентка кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация»  
E-mail: loread@mail.ru

**Дрёмин Виктор Владимирович**

ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», г. Орёл, Россия  
Аспирант кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация», стажер-исследователь НОЦ «Биомедицинская инженерия»  
E-mail: dremin\_viktor@mail.ru

**Новикова Ирина Николаевна**

ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», г. Орёл, Россия  
Аспирант кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация», инженер-исследователь НОЦ «Биомедицинская инженерия»  
E-mail: irina.novikova@bmcencenter.ru

**Жеребцова Ангелина Ивановна**

ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», г. Орёл, Россия

Аспирант кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация», стажер-исследователь НОЦ «Биомедицинская инженерия»

E-mail: angelina.zherebtsova@bmecenter.ru

**Жеребцов Евгений Андреевич**

ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», г. Орёл, Россия

Доцент кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация», к.т.н., научный сотрудник НОЦ «Биомедицинская инженерия»

E-mail: zherebzow@gmail.com

**Дунаев Андрей Валерьевич**

ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», г. Орёл, Россия

Доцент кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация», к.т.н., ведущий научный сотрудник НОЦ «Биомедицинская инженерия»