

УДК 616-079.5+535-92

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-23-32

ЖАРКИХ Е. В.¹, МАКОВИК И. Н.¹, ПОТАПОВА Е. В.¹,
ДРЕМИН В. В.¹, ЖЕРЕБЦОВ Е. А.^{1,2}, ЖЕРЕБЦОВА А. И.¹,
ДУНАЕВ А. В.¹, СИДОРОВ В. В.³, КРУПАТКИН А. И.⁴

Оптическая неинвазивная диагностика функционального состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической микрогемодинамики

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева», г. Орёл, Россия

302026, Россия, г. Орёл, ул. Комсомольская, д. 95

² Optoelectronics and Biomedical Photonics Group, Aston Institute of Photonic Technologies, Aston University

Aston Triangle, Birmingham, B4 7ET, UK

³ ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия

123458, Россия, Москва, ул. Твардовского, д. 8

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

127299, Россия, Москва, ул. Приорова, д. 10

e-mail: ev.zharkikh@gmail.com

Статья поступила в редакцию 28.02.18; принята к печати 11.04.18

Резюме

Рассмотрены возможности и перспективы применения оптических неинвазивных диагностических технологий для выявления и оценки степени тяжести микроциркуляторных и метаболических нарушений при ревматических заболеваниях и сахарном диабете. Проведены экспериментальные исследования с участием 137 условно здоровых добровольцев и 147 пациентов с указанными заболеваниями (77 пациентов с ревматическими заболеваниями и 70 – с сахарным диабетом). В работе показано, что применение методов лазерной доплеровской флоуметрии, флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения имеет важное диагностическое значение для выявления возникающих нарушений, и данные методы могут быть использованы в качестве дополнительных диагностических способов в арсенале практикующего врача в области ревматологии и эндокринологии.

Ключевые слова: лазерная доплеровская флоуметрия, спектроскопия диффузного отражения, флуоресцентная спектроскопия, сахарный диабет, ревматические заболевания

Для цитирования: Жарких Е. В., Маковик И. Н., Потапова Е. В., Дремин В. В., Жеребцов Е. А., Жеребцова А. И., Дунаев А. В., Сидоров В. В., Крупаткин А. И. Оптическая неинвазивная диагностика функционального состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической микрогемодинамики. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(3):23–32. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-23-32

UDC 616-079.5+535-92

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-23-32

ZHARKIKH E. V.¹, MAKOVIK I. N.¹, POTAPOVA E. V.¹,
DREMIN V. V.¹, ZHEREBTSOV E. A.^{1,2}, ZHEREBTSOVA A. I.¹,
DUNAEV A. V.¹, SIDOROV V. V.³, KRUPATKIN A. I.⁴

Optical noninvasive diagnostics of the functional state of microcirculatory bed in patients with disorders of peripheral haemodynamics

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Orel State University named after I. S. Turgenev», Orel, Russia

302026, Russia, Orel, Komsomolskaya street, 95

² Optoelectronics and Biomedical Photonics Group, Aston Institute of Photonic Technologies, Aston University

Aston Triangle, Birmingham, B4 7ET, UK

³ SPE «LAZMA» Ltd., Moscow

125252, Russia, Moscow, Tvardovsky street, 8

⁴ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «N. N. Priorov National Medical research center of traumatology and orthopaedics» of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia
127299, Russia, Moscow, Priorova street, 10
e-mail: ev.zharkikh@gmail.com

Received 28.02.18; accepted 11.04.18.

Summary

The possibilities and prospects of optical non-invasive diagnostic technologies for detecting and assessing the severity of microcirculatory and metabolic disorders in rheumatic diseases and diabetes mellitus were assessed. Experimental studies were conducted with the participation of 137 conditionally healthy volunteers and 147 patients with mentioned diseases (77 patients with rheumatic diseases and 70 patients with diabetes). It is shown that the application of laser Doppler flowmetry, fluorescence spectroscopy and diffuse reflectance spectroscopy is of great diagnostic importance for identifying emerging disorders, and these methods can be used as additional diagnostic methods in the arsenal of a practicing physician in the field of rheumatology and endocrinology.

Keywords: laser Doppler flowmetry, diffuse reflectance spectroscopy, fluorescence spectroscopy, diabetes mellitus, rheumatic diseases

For citation: Zharkikh E. V., Makovik I. N., Potapova E. V., Dremine V. V., Zharebtsov E. A., Zharebtsova A. I., Dunaev A. V., Sidorov V. V., Krupatkin A. I. Optical noninvasive diagnostics of the functional state of microcirculatory bed in patients with disorders of peripheral haemodynamics. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(3):23–32. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-23-32

Введение

Микроциркуляция играет важную роль в транспорте питательных веществ, кислорода, гормонов и выделении продуктов метаболизма. В последнее десятилетие отмечается неуклонный рост интереса исследователей к проблемам микроциркуляторных нарушений у больных ревматологического и эндокринологического профиля, что обусловлено существенной ролью микроциркуляции в патогенезе данных заболеваний [13, 22, 37].

Медицинская, социальная и экономическая значимость ревматических и эндокринологических заболеваний определяется, прежде всего, их распространенностью, а также развитием у большинства пациентов осложнений, существенно снижающих продолжительность и качество жизни, вплоть до инвалидизации. Согласно данным статистики EULAR («Европейская лига против ревматизма»), более 22 % населения уже имеют или имели ранее ревматические заболевания [38]. В то же время, по данным Международной диабетической федерации (IDF), к 2017 г. распространенность сахарного диабета в мире достигла 8,8 % среди взрослого населения [25].

Ревматические заболевания приводят к морфологическим нарушениям микроциркуляторного русла, которые включают в себя разрежение капиллярной сети, асимметрию капилляров и появление мегакапилляров (диаметром до 50 мкм) [23]. Хроническая гипергликемия и резистентность к инсулину при сахарном диабете вызывают повышенную сосудистую проницаемость, нарушение ауторегуляции кровотока и сосудистого тонуса [12, 27], активизируя структурные и функциональные изменения в капиллярах и артериолах [35].

В отсутствие адекватной терапии нарушения периферического кровотока при ревматических заболеваниях и сахарном диабете могут приводить к болезненным изъязвлениям, гангрене, развитию сердечно-сосудистых заболеваний. В ранее опубликованных работах было показано, что риск развития сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с ревматологическими заболеваниями сопоставим с риском у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [26, 33].

Наиболее ранним, обычно обратимым проявлением этих заболеваний является развитие микроциркуляторной дисфункции [22, 43] вследствие повреждения эндотелия, избыточной экспрессии определенных молекул адгезии и других факторов.

В настоящее время для оценки состояния периферического кровотока в клинической практике врачей-эндокринологов и ревматологов применяется несколько инвазивных и неинвазивных методов, в том числе колориметрическая дуплексная доплерография, ангиография, компьютерная томография, магнитно-резонансная ангиография, транскутанная оксиметрия (TspO₂) и др. [16].

Одними из перспективных для исследования ранних микроциркуляторных нарушений у пациентов с ревматическими заболеваниями и сахарным диабетом являются методы оптической спектроскопии: метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), флуоресцентной спектроскопии (ФС) и спектроскопии диффузного отражения (СДО), которые обладают рядом преимуществ: безболезненность процедур, быстрое получение результатов, отсутствие дорогостоящих реактивов и расходных материалов, минимальное влияние на объект и его свойства.

Метод лазерной доплеровской флоуметрии позволяет исследовать кровоток в микроциркуляторном русле *in vivo*. Метод основан на зондировании биоткани лазерным излучением и анализе вышедшего из ткани обратноотраженного излучения, частично рассеянного от движущихся эритроцитов [6]. Хотя эта технология имеет много достоинств и потенциальных приложений, она все еще не интегрирована в клиническую практику, в том числе из-за недостаточной методологической обеспеченности. Для повышения достоверности результатов, полученных методом ЛДФ, оценка динамики изменения перфузии проводится при проведении функциональных нагрузочных проб. В качестве провокационных воздействий в настоящее время используют окклюзионные пробы, тепловые, холодовые, дыхательные, постуральные, электростимуляционные и др. Они позволяют выявить скрытые нарушения гемодинамики и адаптационные резервы системы микроциркуляции крови.

Механизмы, обуславливающие аномальную микроциркуляцию при патологических процессах, могут быть оценены количественно при помощи спектрального анализа с использованием математического аппарата вейвлет-преобразования сигналов ЛДФ. Применение амплитудно-частотного анализа осцилляций кожного кровотока при ЛДФ позволяет выделить пять частотных диапазонов, соответствующих метаболической (эндотелиальной) [28], нейрогенной, миогенной [4, 39], дыхательной и сердечной [5] активности.

Метод СДО дает возможность численно оценивать изменения, происходящие в исследуемой ткани, и соотносить эти изменения с развивающимися в них патофизиологическими процессами. Известно, что в результате нарушений в системе микроциркуляции крови при ревматических и эндокринологических заболеваниях развивается тканевая гипоксия и нарушается кровоснабжение [1, 32]. Исследование оксигенации и кровенаполнения тканей методом СДО основано на различии в спектрах поглощения основных тканевых хромофоров: оксигемоглобина (HbO_2) и дезоксигемоглобина (Hb) [29]. Регистрируемые зависимости позволяют судить об уровне насыщения тканей кислородом на основе математических моделей связи коэффициента отражения с концентрацией указанных хромофоров.

Для оценки трофических процессов и нарушений (в том числе при ревматических заболеваниях и сахарном диабете) в настоящее время видится перспективным применение методов флуоресцентной спектроскопии и визуализации. Важным показателем жизнеспособности тканей является митохондриальная функция. По параметрам дыхательной цепи можно говорить о нормальной или патологической активности клеток, диагностировать состояние тканевой ишемии. Одной из оценок митохондриальной функции является соотношение коферментов NADH и FAD, которое можно рассчитывать по интенсивности их флуоресценции [14]. Кроме того, в последние годы было установлено, что длительное влияние патогенных факторов, таких как гипергликемия и окислительный стресс, возникающих при сахарном диабете [41] и хронических воспалительных заболеваниях [31], может приводить к усиленному гликированию белков и накоплению конечных продуктов гликирования (КПГ), которые влияют на свойства коллагена и других структурных белков капиллярной мембраны и кожи. Данные изменения могут быть количественно оценены по собственной флуоресценции спаек пентозидина, образующихся при гликировании коллагена [36].

Таким образом, мультипараметрический подход (рис. 1) в виде совместных измерений различными оптическими методами может давать комплексную информацию о функциональном состоянии микроциркуляторного русла человека.

Целью работы явились обобщение ранее полученных результатов и оценка возможностей применения оптических неинвазивных методов при исследовании состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической гемодинамики.

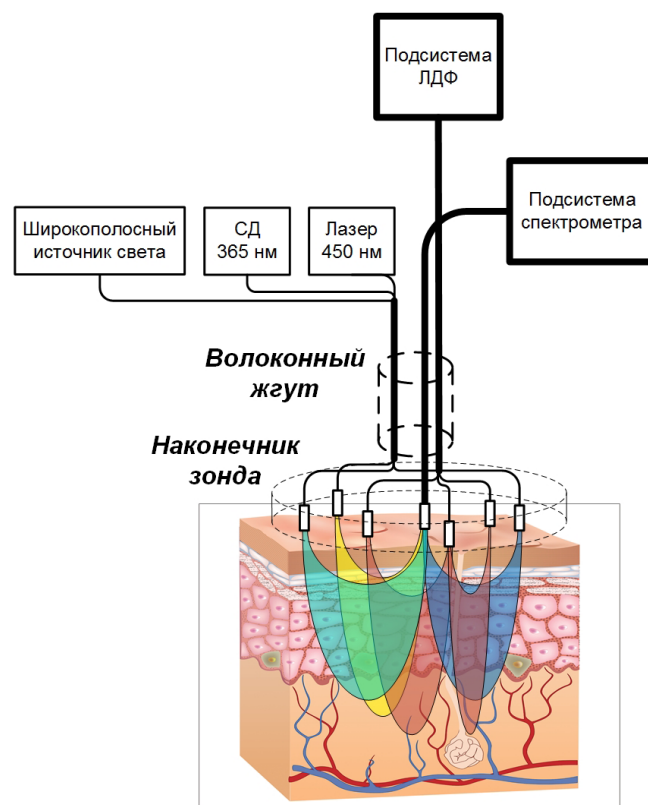


Рис. 1. Схема реализации мультипараметрического подхода в оптических измерениях

Fig. 1. The scheme for implementing the multi-parameter approach in optical measurements

Оценка нарушений микроциркуляции у пациентов с ревматическими заболеваниями

Чтобы оценить возможности применения оптических неинвазивных методов для выявления нарушений периферического кровотока у пациентов с ревматическими заболеваниями, было проведено несколько серий экспериментальных исследований с участием пациентов и условно здоровых добровольцев, составлявших контрольную группу. При формировании группы пациентов были исключены люди с заболеваниями системы кровообращения, костно-мышечной системы и соединительной ткани. В качестве тестовых воздействий были выбраны холодовая прессорная (ХПП) и окклюзионная (ОП) пробы.

В первой экспериментальной серии измерений проводилась оценка реакции микроциркуляторного русла при проведении ОП [46]. Окклюзионная проба осуществлялась путем пережатия плеча правой руки компрессионной манжетой тонометра таким образом, чтобы временно создать условия искусственной ишемии тканей и впоследствии наблюдать за восстановлением кровотока после снятия окклюзии. Для оценки эффективности кровоснабжения кожи одновременно с ЛДФ велась запись изменения температуры кожи методом контактной термометрии.

При проведении данных исследований для регистрации показателя микроциркуляции применялся двухканальный лазерный анализатор капиллярного кровотока «ЛАКК-02» (ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия). Для регистрации температуры использовался разработанный канал измерения температуры,

Таблица 1

Протокол исследования						
Table 1						
Study protocol						
Длительность стадии, мин	2	4	10	3	10	5–11
Среда	Воздух		Вода			
Температура, °C	25	42	25		42	
Стадия ОП	До окклюзии			Окклюзия	После окклюзии	

обладающий свойствами высокой чувствительности ($0,005^{\circ}\text{C}$) и низкой инерционности (постоянная времени отклика $0,25\text{ с}$). Измерения осуществляли на ладонной поверхности дистальной фаланги 3-го пальца кисти правой руки в положении сидя. С целью поддержания постоянных условий внешней среды, повышения воспроизводимости результатов измерений, а также создания стабильных условий для более выраженного проявления ангиоспастического состояния, обусловленного аномальным патологическим снижением перфузии при понижении температуры, было предложено проводить ОП при нахождении кисти испытуемого в воде с температурой 25°C . Полный протокол исследования приведен в табл. 1.

В исследовании принял участие 41 пациент ревматологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл, Россия) и 27 условно здоровых добровольцев, вошедших в контрольную группу.

В ходе исследования были выявлены характерные отличия реакции сигналов ЛДФ и термометрии на охлаждение и окклюзионную пробу, указывающие на формирование нарушений микроциркуляторной функции у больных ревматологического профиля. Было выявлено 3 типа отклика на оказываемые тестовые воздействия, отличающиеся величиной и динамикой температурной реакции и реакции системы микроциркуляции, а также высоким, средним и низким уровнем

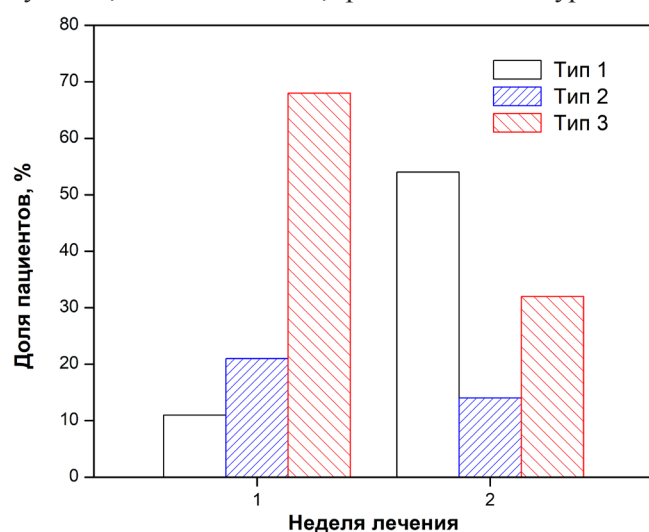


Рис. 2. Частота встречаемости предложенных типов отклика микроциркуляции на окклюзионный тест в зависимости от недели лечения

Fig. 2. The occurrence frequency of the proposed types of microcirculation response to the occlusive test, depending on the week of treatment

перфузии для каждого из типов соответственно [3]. Первые два типа отклика, характеризующиеся наличием ярко выраженного температурного ответа после снятия окклюзии, высоким или средним уровнем перфузии, встречались у подавляющего большинства условно здоровых добровольцев (88 %) и свидетельствовали об отсутствии выраженных нарушений микроциркуляции. Третий тип, характеризующийся гиперемическим типом микроциркуляции при сниженном уровне перфузии и отсутствием температурного ответа на ОП, чаще всего наблюдался в группе пациентов с ревматическими заболеваниями (главным образом в наиболее тяжелых случаях) и свидетельствовал о наличии ангиоспастических нарушений.

Дополнительно было проведено исследование частоты встречаемости предложенных типов отклика регистрируемых параметров микроциркуляции на ОП в зависимости от длительности лечения пациентов (рис. 2) [44].

Из полученных данных видно, что пациенты с нормальным функциональным состоянием системы микроциркуляции крови преобладают в исследуемой группе на 2 неделе лечения, что объясняется приемом препаратов, увеличивающих микроциркуляцию.

Таким образом, предложенный подход позволяет не только выявить наличие ангиоспастических нарушений у пациентов с ревматическими заболеваниями, но и отслеживать изменения в микроциркуляции при терапии.

Методы ЛДФ, оптической тканевой оксиметрии (ОТО) и пульсоксиметрии были применены для оценки состояния периферического кровотока верхних конечностей пациентов с ревматическими заболеваниями при применении ХПП. Для регистрации параметров микроциркуляции в контрольной группе применяли многофункциональный лазерный диагностический комплекс «ЛАКК-М». В исследовании приняли участие 33 пациента ревматологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл, Россия) и 32 условно здоровых добровольца.

ХПП осуществлялась путем полного погружения кистей рук в емкость с водой температурой порядка 15°C в течение 5 мин. Исследование включало в себя 3 базовых теста (БТ) длительностью 5 мин каждый: БТ1 осуществлялся непосредственно до оказания холодового воздействия, БТ2 – сразу после, далее следовал период восстановления длительностью 15 мин, и БТ3 проводился через 20 мин после окончания охлаждения. Таким образом, длительность одного исследования составила 35 мин. Измерения осуществляли на ладонной поверхности дистальной

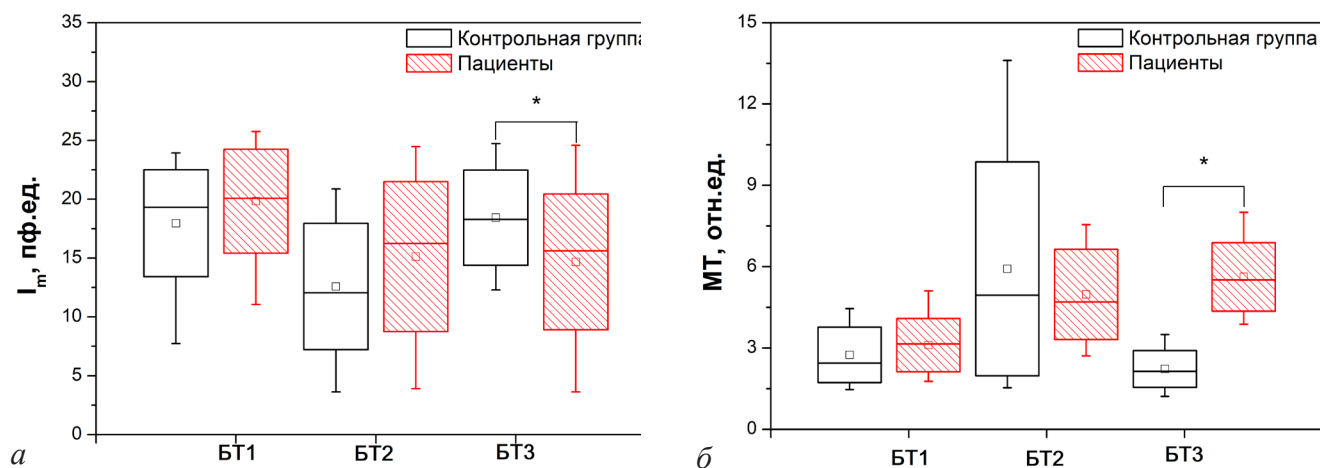


Рис. 3. Результаты статистического анализа параметров здоровых волонтеров без ангиоспастических расстройств и пациентов: *а* – показатель микроциркуляции крови; *б* – миогенный тонус; * – статистическая значимость различий по отношению к условно-здоровым добровольцам с вероятностью $p < 0,01$

Fig. 3. Results of the statistical analysis of parameters of healthy volunteers without angiospastic disorders and patients: *a* – index of blood microcirculation; *b* – myogenic tone; * – confirmed statistically significant differences relative to the control group ($p < 0.01$)

фаланги 3-го пальца кисти правой руки в положении сидя, правое предплечье на столе.

После проведения измерений фрагменты ЛДФ- и ОТО-сигналов подвергались адаптивному вейвлет-анализу с применением непрерывного вейвлет-преобразования и с использованием в качестве анализирующего вейвлета комплексного вейвлета Морле.

Анализ полученных данных выявил различия в восстановлении параметров микроциркуляторного русла после проведения ХПП у пациентов и здоровых добровольцев. В частности, наблюдалось частичное или полное восстановление параметров кровотока после проведения ХПП у отдельных исследуемых. Было зарегистрировано также несколько случаев с полным отсутствием изменения параметров при проведении пробы.

На основании полученных данных были предложены новые диагностические критерии для выявления наличия ангиоспастических нарушений и возможной причины их возникновения [7, 30]. Анализировались изменения показателя микроциркуляции крови I_m (рис. 3, *а*) и миогенного тонуса MT (рис. 3, *б*) после проведения ХПП.

Как видно из полученных данных, сразу после проведения ХПП показатель микроциркуляции крови снижается в обеих исследуемых группах вследствие констрикции сосудов в результате активации сенсорных волокон воздействием низкой температуры. В то же время в результате вазоконстрикции происходит увеличение миогенного тонуса. Несмотря на однонаправленное изменение параметров у исследуемых групп сразу после холодового воздействия, к концу исследования у группы пациентов не происходит восстановления параметров до начального уровня. Такая реакция может быть связана с нарушениями эндотелийзависимой вазорелаксации, в результате сдвига баланса синтеза эндотелием вазодилататоров (оксида азота – NO), и вазоконстрикторов (эндотелина-1), в сторону доминирования последнего и развития эндотелиальной дисфункции [11].

Для анализа возможностей методов оптической неинвазивной диагностики в оценке степени активности воспалительного процесса была проведена серия ис-

следований микроциркуляторных нарушений у пациентов ревматологического профиля при помощи метода спектроскопии диффузного отражения [9]. В исследованиях измерялась отражательная способность кожи пальцев рук в спектральном диапазоне 400–800 нм.

В исследовании приняли участие 36 пациентов ревматологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл, Россия). Пациенты были разделены на 2 группы в соответствии со степенью активности воспалительного процесса (АВП). В контрольную группу вошли условно здоровые добровольцы – 31 человек, не имеющие заболеваний системы кровообращения, костно-мышечной системы и соединительной ткани.

Спектры диффузного отражения записывались в контрольной точке, расположенной на ладонной поверхности дистальной фаланги 3-го пальца кисти правой руки. На основании зарегистрированных кривых спектров диффузного отражения по известным методикам рассчитывались и анализировались следующие параметры: индекс эритемы E [17], степень насыщения крови кислородом в ткани (тканевая сатурация) SO_2 [34, 42].

Зарегистрированные значения коэффициента диффузного отражения у пациентов оказались значительно выше аналогичного параметра для контрольной группы, что может быть объяснено наличием воспалительных процессов в исследуемой области в исследуемых группах пациентов.

Результаты расчета параметров индекса эритемы и тканевой сатурации приведены на рис. 4. Проведенные расчеты показали, что у пациентов с ревматическими заболеваниями наблюдаются повышенные значения индекса эритемы, при этом наблюдается увеличение данного показателя в зависимости от увеличения активности воспалительного процесса.

Расчет показателя тканевой сатурации выявил отклонения данного параметра у пациентов относительно контроля в большую и меньшую сторону, однако данные различия не достигли статистически значимой разницы [9].

Проведенные экспериментальные исследования показали, что указанные диагностические методы

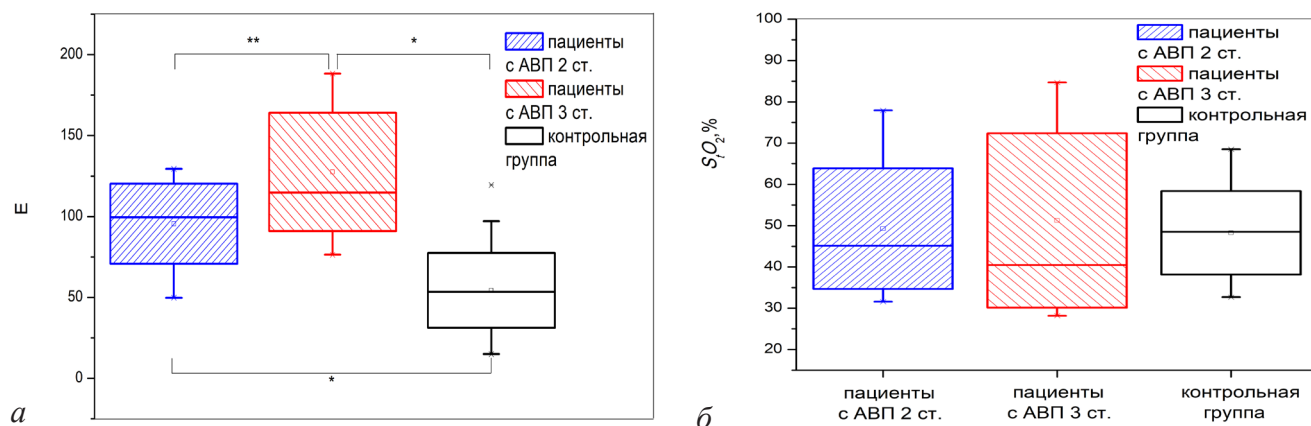


Рис. 4. Диаграммы размаха параметров индекса эритемы (а) и тканевой сатурации (б) для 3-х групп: * – статистическая значимость различий по отношению к условно-здоровым добровольцам с вероятностью $p < 0,01$; ** – статистическая значимость различий по отношению к группе пациентов ревматологического профиля с АВП 3 ст. с вероятностью $p < 0,01$

Fig. 4. Box plots of the erythema index (a) and tissue saturation (b) parameters for 3 groups; * – confirmed statistically significant differences relative to conventionally healthy volunteers ($p < 0.01$); ** – confirmed statistically significant differences relative to the group of rheumatic patients ($p < 0.01$)

имеют большой потенциал в оценке нарушений микроциркуляции у пациентов с ревматическими заболеваниями и могут быть применены для выявления наличия возможных ангиоспастических нарушений и связанных с ними осложнений, а также для оценки степени воспалительного процесса.

Оценка нарушений микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом

Для выявления нарушений микроциркуляции и окислительного метаболизма тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом (СД) были проведены экспериментальные исследования, в которых приняли участие 70 пациентов с СД эндокринологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл, Россия) и 47 условно здоровых добровольцев, составивших контрольную группу. В исследование не включали пациентов в остром периоде заболеваний сердечно-сосудистой, бронхолегочной систем, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови, которые могли оказывать влияние на диагностический результат, а также пациентов с анамнестическими сведениями об алкоголизме, наркомании. Исследования проводились на дорсальной поверхности стопы в точке, расположенной на плато между 1-й и 2-й плюсневыми костями.

Для оценки резервных возможностей периферического кровотока применялась локальная тепловая проба, хорошо зарекомендовавшая себя в выявлении сопутствующих сахарному диабету микрососудистых нарушений, в том числе в выявлении эндотелиальной дисфункции.

Исследование проводилось согласно утвержденному протоколу. Производилась регистрация спектров диффузного отражения в указанной точке с использованием малогабаритного спектрометра «FLAME» (Ocean Optics, США). Дополнительно для пациентов с видимыми трофическими нарушениями в виде трофических язв спектры отражения снимались непосредственно в области язвы и в 1 см от нее (в интактной области). Затем следовала фоновая запись сигнала ЛДФ в течение 4 мин с одновременной регистрацией спектров флуоресценции на длинах волн возбуждения 365 и 450 нм.

Далее в течение 4 мин следовало локальное охлаждение исследуемой области до 25°C и две последовательные стадии нагрева до 35 и 42°C длительностью 4 и 10 мин соответственно. Локальная тепловая проба применялась для анализа механизмов вазодилатации, связанных с активацией немиелинизированных ноцицептивных С-волокон и выделением NO из эндотелия сосудов. Экспериментальные исследования были проведены с использованием диагностического аппарата «ЛАЗМА-СТ» (ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия). Тепловые пробы осуществлялись при помощи блока «ЛАЗМА-ТЕСТ», входящего в аппарат «ЛАЗМА-СТ».

При помощи метода ЛДФ регистрировали среднее значение перфузии ткани кровью (показатель микроциркуляции крови I_m). Впоследствии, используя спектральный анализ амплитудно-частотного спектра сигнала ЛДФ, получали значения амплитуд колебаний эндотелиального (A_e , пф. ед.), нейрогенного (A_n , пф. ед.), миогенного (A_m , пф. ед.), дыхательного (A_d , пф. ед.) и сердечного (A_c , пф. ед.) генеза [10], а также рассчитывали на их основе дополнительные диагностические параметры – величину показателя шунтирования (ПШ, отн. ед.) и нутритивного кровотока (I_{nm} , пф. ед.) [20]. По данным спектроскопии диффузного отражения рассчитывали индекс гемоглобина (H) и степень его оксигенации (Y, %) [21, 24]. Анализировали амплитуды интенсивности флуоресценции AF_{365} и AF_{450} , нормированные на интенсивность обратноотраженного излучения [19].

Проведенные исследования выявили повышенные интенсивности флуоресценции AF_{365} и AF_{450} у пациентов по сравнению с контрольной группой (рис. 5, а). В то же время прирост перфузии ткани кровью в течение обеих стадий нагрева был существенно ниже у пациентов относительно контрольной группы (рис. 5, б).

Указанные отклонения параметров проявлялись в большей степени для группы пациентов с трофическими нарушениями в виде язв. Сниженный прирост перфузии при нагреве у пациентов может свидетельствовать о недостаточности регуляторной функции механизмов, обеспечивающих вазодилатацию. Данные нарушения могут возникать при воздействии многих патологических факторов, в том числе

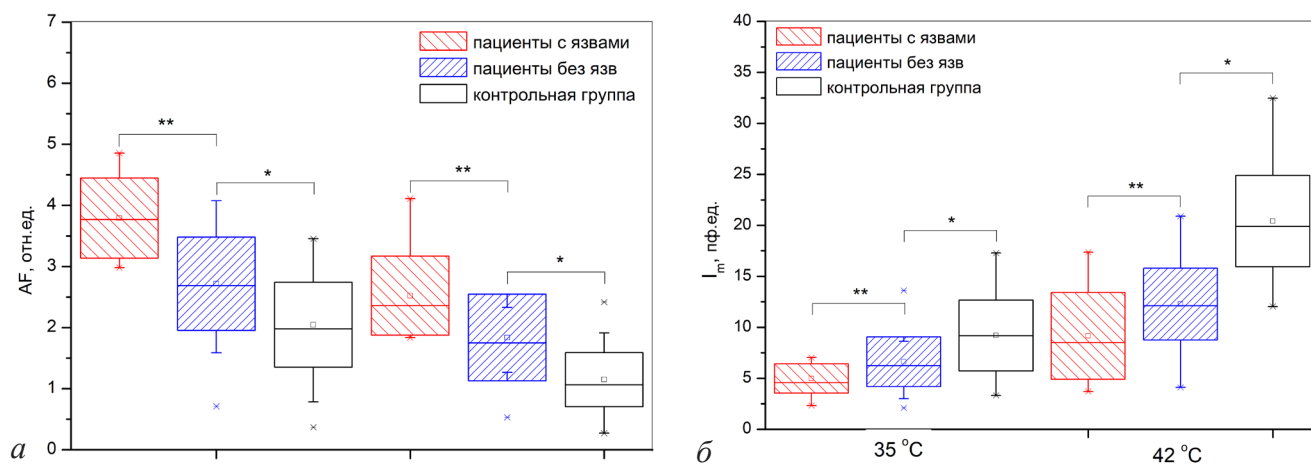


Рис. 5. Сравнение параметров между контрольной группой (черные боксы), пациентов (синие боксы) и пациентов с трофическими нарушениями (красные боксы): а – нормированные амплитуды флуоресценции; б – средняя перфузия на этапах нагрева до 3 и 42 °С; * – статистическая значимость различий по отношению к условно-здоровым добровольцам с вероятностью $p < 0,01$; ** – статистическая значимость различий по отношению к группе пациентов с трофическими нарушениями в виде язв с вероятностью $p < 0,01$

Fig. 5. Comparison of the parameters between the control group (black boxes), patients (blue boxes) and patients with trophic disorders (red boxes): а – normalized fluorescence amplitudes; б – perfusion during heating to 35 and 42 °С; * – confirmed statistically significant differences relative to conventionally healthy volunteers ($p < 0.01$); ** – confirmed statistically significant differences relative to the group of patients with trophic ulcers ($p < 0.01$)

гипергликемии и накоплении конечных продуктов гликирования [15, 40], что подтверждается данными флуоресцентной спектроскопии.

Результаты расчетов (табл. 2) показали, что пациенты с трофическими нарушениями имеют повышенные значения индекса гемоглобина в области стоп. Самые большие значения данного параметра наблюдались в области язв. Пациенты без трофических нарушений имели повышенные значения данного параметра, но без статистически значимой разницы.

При расчете амплитудно-частотных спектров сигналов ЛДФ выявлены сниженные значения миогенных осцилляций. Такие изменения показателей свидетельствуют об уменьшении вазомоторной активности сосудов и увеличении тонуса прекапиллярных сфинктеров, что влечет за собой снижение величины нутритивного кровотока, также зарегистрированное в ходе данного исследования (рис. 6).

Перераспределение кровотока в сторону шунтовой составляющей и уменьшение капиллярного кровотока у пациентов также подтверждается увеличенными значениями показателя шунтирования, рассчитанными в данной работе [10].

Перспективными с точки зрения улучшения методики диагностики сопутствующих осложнений при СД являются исследования нарушений микроциркуляции и метаболических процессов у пациентов с разной степенью компенсации, т. е. декомпенсированной, субкомпенсированной и компенсированной формой нарушений. Дополнительная информация может быть получена при анализе изменений активности метаболизма, вызванных различными тепловыми пробами. Так, при охлаждении должно наблюдаться снижение утилизации коферментов окислительного метаболизма (таких, например, как NADH), при нагревании – активация их утилизации. Чем более выражены изменения в концентрациях коферментов при пробе с нагревом, регистрируемые через изменения величин амплитуд флуоресценции, тем меньше утилизировано коферментов в исходном состоянии ткани и значительнее снижение окислительного метаболизма у пациента с СД. При этом важно использование методик коррекции влияния изменения кровенаполнения тканей при нагреве на спектры флуоресценции [18, 45].

Таблица 2

Результаты расчетов индекса гемоглобина и степени его оксигенации [8]

Table 2

The results of calculation of the hemoglobin index and the degree of its oxygenation [8]

Место исследования	Область язв	Точка в одном сантиметре от язвы	Контрольная точка на линии между 1-й и 2-й плюсневых костями у больных с язвами	Контрольная точка на линии между 1-й и 2-й плюсневых костями у больных без язв	Контрольная точка у добровольцев из контрольной группы
Н	0,47±0,40	0,15±0,08	0,17±0,10*	0,09±0,08	0,07±0,06
Y, %	41,6±4,6	42,0±1,1	41,7±1,4	41,8±6,6	42,5±5,4

* – статистическая значимость различий значений индекса гемоглобина по отношению к значению индекса гемоглобина для контрольной группы с $p < 0,01$.

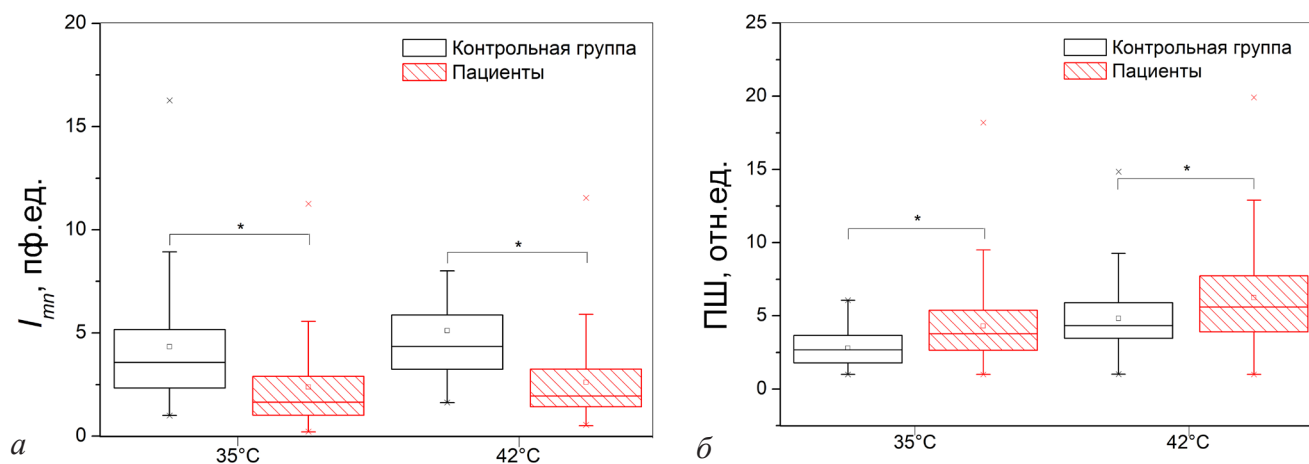


Рис. 6. Диаграммы размаха параметров для nutritивного кровотока (а) и показателя шунтирования (б):

* – статистическая значимость различий по отношению к условно-здоровым добровольцам с вероятностью $p < 0,05$

Fig. 6. Box plots of parameters for nutritive blood flow (a) and bypass index (b); * – confirmed statistically significant differences relative to conventionally healthy volunteers ($p < 0.05$)

Закключение

Применение методов оптической неинвазивной диагностики имеет большой потенциал для выявления сопутствующих нарушений микроциркуляции у пациентов с ревматическими заболеваниями и сахарным диабетом. В данной работе показано, что применение методов лазерной доплеровской флоуметрии, флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения совместно или обособленно может иметь важное диагностическое значение для выявления возникающих нарушений, оценки степени их тяжести, а также для анализа эффективности применяемой терапии. Совместное применение рассмотренных технологий с методами машинного обучения (дискриминантного анализа) [2, 8, 15, 19, 40] может быть использовано в качестве дополнительных диагностических критериев в арсенале практикующего врача в области ревматологии и эндокринологии.

Другим перспективным направлением развития методов оптической неинвазивной диагностики функционального состояния микроциркуляторного русла является их реализация в виде носимых компактных беспроводных устройств (например, «ЛАЗ-МА ПФ»), пригодных для длительного мониторинга состояния показателей микроциркуляции (ЛДФ) и метаболизма (регистрация эндогенной флуоресценции), а также разработка методологии их применения. С применением компактных устройств лазерной доплеровской флоуметрии появляется возможность проводить одновременные исследования в различных зонах, например, на верхних и нижних конечностях для оценки их билатеральности, или для исследования компенсаторных механизмов при проведении функциональных нагрузочных проб. В настоящее время также не исследован должным образом вопрос о синхронизации колебательных механизмов микроциркуляции в разных областях исследований, например, на верхних и нижних конечностях, а также в зонах с наличием и отсутствием артериовеноулярных анастомозов.

Таким образом, внедрение оптических методов для оценки периферической гемодинамики и метаболиче-

ских процессов при ревматических заболеваниях и сахарном диабете дает возможность ранней доклинической диагностики микроциркуляторных и метаболических нарушений, способствуя улучшению эффективности и качества лечения, а, значит, и жизни пациентов.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук № МК-3400.2018.8.

Авторы выражают свою признательность пациентам и волонтерам за участие в исследованиях, врачам БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» Л. С. Хахичевой, Е. А. Алимичевой, Г. И. Масалыгиной и В. Ф. Мурадянцу за помощь в проведении экспериментальных исследований.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов./The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Бондаренко О. Н., Аюбова Н. Л., Галстян Г. Р., Дедов И. И. Транскутанная оксиметрия в динамическом наблюдении за пациентами с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей // Сахарный диабет. – 2013. – Т. 16. – № 1. – С. 33–42. [Bondarenko ON, Ayubova NL, Galstyan GR, Dedov II. Transcutaneous oximetry monitoring in patients with type 2 diabetes mellitus and critical limb ischemia // Diabetes mellitus. 2013;16(1):33–42 (In Russ.)]. Doi: 10.14341/2072-0351-3594.
2. Жеребцова А. И., Жеребцов Е. А., Дунаев А. В. и др. Метод и устройство диагностики функционального состояния периферических сосудов верхних конечностей // Мед. техн. – 2017. – Т. 301. – № 1. – С. 33–37. [Zherebtsova AI, Zherebtsov EA, Dunaev AV i dr. Method and device for diagnosing the functional state of peripheral vessels of the upper limbs // Meditsinskaya tekhnika = Medical technology. 2017;301(1):33–37 (In Russ.)].
3. Жеребцова А. И. Метод диагностики функционального состояния периферических сосудов пальцев рук для пациентов ревматического профиля // Фундамент. и приклад. пробл. техники и технол. – 2015. – Т. 4. – № 312. – С. 113–121. [Zherebtsova AI. Diagnostics method of the

peripheral vessels functional state of fingers for rheumatological patients // *Fundamentalnye i prikladnye problemy tekhniki i tekhnologii* = *Fundamental and applied problems of technique and technology*. 2015;4(312):113–121 (In Russ.).

4. Крупаткин А. И. Влияние симпатической иннервации на тонус микрососудов и колебания кровотока кожи // *Физиол. человека*. – 2006. – Т. 5. – № 32. – С. 95–103. [Krupatkin AI. The influence of the sympathetic innervation on the skin microvascular tone and blood flow oscillations // *Human Physiology*. 2006;5(32):584–592]. Doi: 10.1134/S0362119706050136.

5. Крупаткин А. И. Пульсовые и дыхательные колебания кровотока в микроциркуляторном русле кожи человека // *Физиол. человека*. – 2008. – Т. 3. – № 34. – С. 70–76. [Krupatkin AI. Cardiac and respiratory oscillations of the blood flow in microvessels of the human skin // *Human Physiology*. 2008;3(34):323–329]. Doi: 10.1134/S0362119708030092.

6. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: рук-во для врачей. – М.: ЛИБРОКОМ, 2013. – 496 с. [Krupatkin AI, Sidorov VV. Functional diagnostics of microcirculatory-tissue systems: fluctuations, information, nonlinearity: a guide for doctors. Moscow: LIBROKOM, 2013:496 (In Russ.).]

7. Новикова И. Н., Дунаев А. В., Сидоров В. В., Крупаткин А. И. Функциональное состояние микроциркуляторно-тканевых систем при холодной прессорной пробе // *Физиол. человека*. – 2015. – Т. 6. – № 41. – С. 95–103. [Novikova IN, Dunaev AV, Sidorov VV, Krupatkin AI. Functional status of microcirculatory-tissue systems during the cold pressor test // *Human Physiology*. 2015;6(41):652–658]. Doi: 10.1134/S0362119715060067.

8. Потапова Е. В., Дремин В. В., Жеребцов Е. А. и др. Комплексный подход к неинвазивной оценке микроциркуляторно-тканевых нарушений в стопах пациентов с сахарным диабетом методами спектроскопии // *Оптика и спектроскопия*. – 2017. – Т. 123. – № 6. – С. 946–956. [Potapova EV, Dremmin VV, Zherebtsov EA i dr. A Complex Approach to Noninvasive Estimation of Microcirculatory Tissue Impairments in Feet of Patients with Diabetes Mellitus using Spectroscopy // *Optics and Spectroscopy*. 2017;123(6):955–964 (In Russ.).]

9. Потапова Е. В., Дремин В. В., Жеребцов Е. А. и др. Оценка микроциркуляторных нарушений у пациентов ревматологического профиля с использованием метода спектроскопии диффузного отражения // *Физиол. человека*. – 2017. – Т. 43. – № 2. – С. 116–124. [Potapova EV, Dremmin VV, Zherebtsov EA i dr. Evaluation of Microcirculatory Disturbances in Patients with Rheumatic Diseases by the Method of Diffuse Reflectance Spectroscopy // *Human Physiology*. 2017;2(43):222–228 (In Russ.).]

10. Филина М. А., Потапова Е. В., Маковик И. Н. и др. Функциональные изменения микроциркуляции крови в коже стопы при тепловых пробах у пациентов с сахарным диабетом // *Физиол. человека*. – 2017. – Т. 43. – № 6. – С. 95–102. [Filina MA, Potapova EV, Makovik IN. Functional changes of blood microcirculation in the skin of the foot during heating tests in patients with diabetes // *Human Physiology*. 2017;6(43):952102 (In Russ.).] Doi: 10.7868/S0131164617060029.

11. Abraham D, Dashwood M. Endothelin – role in vascular disease // *Rheumatology* (Oxford, England). 2008;47(5):v23–v24.

12. Avogaro A, Albiero M, Menegazzo L et al. Endothelial dysfunction in diabetes: The role of reparatory mechanisms // *Diabetes Care*. 2011;34(2):S285–S290. Doi: 10.2337/dc11-s239.

13. Avouac J, Fransen J, Walker UA et al. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis:

Results of a Delphi consensus study from EULAR scleroderma trials and research group // *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2011;70(3):476–481. Doi: 10.1136/ard.2010.136929.

14. Bartolomé F, Abramov AY. Measurement of mitochondrial NADH and FAD autofluorescence in live cells // *Mitochondrial Medicine*. 2015;1:263–270. Ddoi: 10.1007/978-1-4939-2257-4_23.

15. Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW et al. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products // *Diabetes*. 1998;47(6):945–952. Doi: 10.2337/diabetes.47.6.945.

16. Daly SM, Leahy MJ. 'Go with the flow': A review of methods and advancements in blood flow imaging // *Journal of Biophotonics*. 2013;6(3):217–255. Doi: 10.1002/jbio.201200071.

17. Dawson JB, Barker DJ, Ellis DJ et al. A theoretical and experimental study of light absorption and scattering by in vivo skin // *Physics in Medicine and Biology*. 1980;25(4):695–709. Doi: 10.1088/0031-9155/25/4/008.

18. Dremmin VV, Zherebtsov EA, Rafailov IE et al. The development of attenuation compensation models of fluorescence spectroscopy signals // *Proc. SPIE* 9917. 2016:99170Y. Doi: 10.1117/12.2229451.

19. Dremmin VV, Zherebtsov EA, Sidorov VV et al. Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus // *Journal of Biomedical Optics*. 2017;22(8). Doi: 10.1117/1.JBO.22.8.085003.

20. Dunaev AV, Sidorov VV, Krupatkin AI et al. 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. Doi: 10.1088/0967-3334/35/4/607.

21. Feather JW, Hajizadeh-Saffar M, Leslie G, Dawson JB. A portable scanning reflectance spectrophotometer using visible wavelengths for the rapid measurement of skin pigments // *Physics in Medicine and Biology*. 1989;34(7):807–820. Doi: 10.1088/0031-9155/34/7/002.

22. Fuchs D, Dupon PP, Schaap LA, Draijer R. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser Doppler with local thermal hyperemia: A systematic review with meta-analysis // *Cardiovascular Diabetology*. 2017;16(1). Doi: 10.1186/s12933-016-0487-1.

23. Gutierrez M, de Angelis R, Bertolazzi C, Grassi W. Capillaroscopic scleroderma-like pattern in patients without connective tissue disorders // *Rheumatology*. 2010;49(10):1994–1996. Doi: 10.1093/rheumatology/keq172.

24. Hajizadeh-Saffar M, Feather JW, Dawson JB. An investigation of factors affecting the accuracy of in vivo measurements of skin pigments by reflectance spectrophotometry // *Physics in Medicine and Biology*. 1990;35(9):1301–1315. Doi: 10.1088/0031-9155/35/9/009.

25. IDF Diabetes Atlas. 7th ed. International Diabetes Federation, Brussels, Belgium. 2015.

26. Kerekes G, Soltész P, Nurmohamed MT et al. Validated methods for assessment of subclinical atherosclerosis in rheumatology // *Nature Reviews Rheumatology*. 2012;8(4):224–234. Doi: 10.1038/nrrheum.2012.16.

27. Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: Effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing // *International Journal of Vascular Medicine*. 2012;918267. Doi: 10.1155/2012/918267.

28. Kvandal P, Stefanovska A, Veber M et al. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: Importance of nitric oxide and prostaglandines // *Microvascular Research*. 2003;65(3):160–171. Doi: 10.1016/S0026-2862(03)00006-2.

29. Lister T, Wright PA, Chappell PH. Optical properties of human skin // *Journal of Biomedical Optics*. 2012;17(9). Doi: 10.1117/1.JBO.17.9.090901.
30. Makovik IN, Dunaev AV, Dremine VV et al. Detection of angiospastic disorders in the microcirculatory bed using laser diagnostics technologies // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. 2018;11(1):1750016. Doi: 10.1142/S179354581750016X.
31. Murdaca G, Colombo BM, Cagnati P et al. Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases // *Atherosclerosis*. 2012;224(2):309–317. Doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.05.013.
32. Muz B, Larsen H, Madden L et al. Prolyl hydroxylase domain enzyme 2 is the major player in regulating hypoxic responses in rheumatoid arthritis // *Arthritis and Rheumatism*. 2012;64(9):2856–2867. Doi: 10.1002/art.34479.
33. Peters MJ, Symmons DP, McCarey D et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis // *Ann Rheum Dis*. 2010;69(2):325–331. Doi: 10.1136/ard.2009.113696.
34. Podbregar M, Mozina H. Skeletal muscle oxygen saturation does not estimate mixed venous oxygen saturation in patients with severe left heart failure and additional severe sepsis or septic shock // *Critical care*. 2007;11(1):R6.
35. Schramm JC, Dinh T, Veves A. Microvascular changes in the diabetic foot // *International Journal of Lower Extremity Wounds*. 2006;5(3):149–159. Doi: 10.1177/1534734606292281.
36. Sell DR, Nagaraj RH, Grandhee SK et al. Pentosidine: A molecular marker for the cumulative damage to proteins in diabetes, aging, and uremia // *Diabetes/Metabolism Reviews*. 1991;7(4):239–251. Doi: 10.1002/dmr.5610070404.
37. Sena CM, Pereira AM, Seica R. Endothelial dysfunction – A major mediator of diabetic vascular disease // *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2013;1832(12):2216–2231. Doi: 10.1016/j.bbdis.2013.08.006.
38. Smolen JS, Landewé R, Bijlsma J, Burmester G et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update // *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017;76(6):960–977. Doi: 10.1136/annrheumdis-2016-210715.
39. Söderström T, Stefanovska A, Veber M, Svensson H. Involvement of sympathetic nerve activity in skin blood flow oscillations in humans // *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*. 2003;284(5, 53–5):H1638–H46.
40. Stitt AW, He C, Friedman S et al. Elevated AGE-modified ApoB in sera of euglycemic, normolipidemic patients with atherosclerosis: Relationship to tissue AGEs // *Molecular Medicine*. 1997;3(9):617–627.
41. Tan KC, Chow WS, Ai VH et al. Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes // *Diabetes Care*. 2002;25(6):1055–1059. Doi: 10.2337/diacare.25.6.1055.
42. Thorn CE, Matcher SJ, Meglinski IV, Shore AC. Is mean blood saturation a useful marker of tissue oxygenation? // *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*. 2009;296(5):H1289–H1295. Doi: 10.1152/ajpheart.01192.2008.
43. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, Tang EHC. Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update // *Acta Physiologica*. 2017;219(1):22–96. Doi: 10.1111/apha.12646.
44. Zhrebtsova AI, Zhrebtsov EA, Dunaev AV et al. Study of the functional state of peripheral vessels in fingers of

rheumatological patients by means of laser Doppler flowmetry and cutaneous thermometry measurements // *Proc. SPIE* 9917. 2016;99170M. Doi: 10.1117/12.2229827.

45. Zhrebtsov E, Dremine V, Zharkikh E et al. Fibre-optic probe for fluorescence diagnostics with blood influence compensation // *Proc. SPIE* 10493. 2018;104931L. Doi: 10.1117/12.2290431.

46. Zhrebtsov EA., Zhrebtsova AI, Doronin A et al. Combined use of laser Doppler flowmetry and skin thermometry for functional diagnostics of intradermal finger vessels // *Journal of Biomedical Optics*. 2017;22(4):040502. Doi: 10.1117/1.JBO.22.4.040502.

Информация об авторах

Жарких Елена Валерьевна – стажер-исследователь Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева, e-mail: ev.zharkikh@gmail.com.

Маковик Ирина Николаевна – кандидат технических наук, научный сотрудник Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева, e-mail: irina.makovik@gmail.com.

Потапова Елена Владимировна – кандидат технических наук, доцент, инженер-исследователь Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева, e-mail: potapova_ev_ogu@mail.ru.

Дрёмин Виктор Владимирович – кандидат технических наук, научный сотрудник Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева, e-mail: dremine_viktor@mail.ru.

Жеребцов Евгений Андреевич – кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Университет Астона, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, e-mail: zhrebzow@gmail.com.

Жеребцова Ангелина Ивановна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева, e-mail: angelina.zhrebtsova@yandex.ru.

Дунаев Андрей Валерьевич – кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева, e-mail: inohvat@yandex.ru.

Сидоров Виктор Васильевич – кандидат технических наук, генеральный директор ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, e-mail: victor.v.sidorov@gmail.com.

Крупаткин Александр Ильич – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Национального медицинского исследовательского центра травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова, Москва, e-mail: aikrup@mail.ru.

Authors information

Zharkikh Elena V. – trainee researcher, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: ev.zharkikh@gmail.com.

Makovik Irina N. – researcher, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: irina.makovik@gmail.com.

Potapova Elena V. – PhD, associate professor, research fellow, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: potapova_ev_ogu@mail.ru.

Dremine Viktor V. – PhD, researcher, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: dremine_viktor@mail.ru.

Zhrebtsov Evgeny A. – PhD, research Fellow, Aston University, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: zhrebzow@gmail.com.

Zhrebtsova Angelina I. – PhD, research Fellow, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: angelina.zhrebtsova@yandex.ru.

Dunaev Andrey V. – PhD, associate professor, leading researcher, Orel State University named after I. S. Turgenev, e-mail: inohvat@yandex.ru.

Sidorov Victor V. – PhD, CEO SPE «LAZMA» Ltd., Moscow, e-mail: victor.v.sidorov@gmail.com.

Krupatkin Alexandr I. – M. D., professor, leading researcher, National Medical Research Center of Traumatology and Orthopaedics, Moscow, e-mail: aikrup@mail.ru.