

## МЕТОД ЛАЗЕРНОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ НАРУШЕНИЙ КОЖНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИЕЙ. ЧАСТЬ 2

Куликов Д.А.\*<sup>1,2</sup>, Красулина К.А.<sup>1</sup>, Глазкова П.А.<sup>1</sup>,  
Ковалева Ю.А.<sup>1</sup>, Глазков А.А.<sup>1</sup>, Барсуков И.А.<sup>1</sup>

DOI: 10.25881/20728255\_2021\_16\_3\_77

<sup>1</sup> ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва

<sup>2</sup> ГОУ ВО МО «Московский государственный областной университет», Мытищи, Московская обл.

**Резюме.** Диабетическая полинейропатия — это одно из самых распространенных последствий сахарного диабета, которое связано с длительным повреждающим действием гипергликемии на периферическую нервную систему. В клинической практике для её диагностики чаще всего используются методы, связанные с оценкой чувствительности и жалоб пациента. Однако данные подходы субъективны. Одна из причин, по которой ряд клинических исследований в этой сфере потерпели неудачу — дефицит эффективных критериев динамической оценки выраженности нейропатии (суррогатных конечных точек). Несмотря на активную разработку методов диагностики поражения нервных волокон, таких как конфокальная микроскопия роговицы, биопсия кожи и другие, остается потребность в объективном и количественном способе оценки наличия и выраженности нейропатии. Известно, что поражение нервов и реактивность микрососудов имеют тесную патогенетическую взаимосвязь, поэтому исследование кожной микрогемодинамики с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии рассматривается как один из потенциальных подходов для оценки нейропатии. В настоящем обзоре проводится описание функциональных тестов, предназначенных для измерения реактивности микрососудов кожи, которые предлагаются для диагностики поражения нервных волокон. Результаты, полученные разными научными коллективами, неоднозначны, однако большинство авторов выявляет снижение реакций в ответ на тепловое воздействие, ортостатическую пробу, а также ионофорез ацетилхолина и натрия нитропруссиды у пациентов с диабетической полинейропатией. Лазерная доплеровская флоуметрия является перспективным методом для применения в данной области, поэтому необходимо продолжение исследований, разработка единых алгоритмов анализа и изучение комбинации различных способов оценки гемодинамики.

**Ключевые слова:** сахарный диабет; диабетическая полинейропатия; кожная микроциркуляция; лазерная доплеровская флоуметрия.

### Список сокращений:

АД — артериальное давление;  
ДПН — диабетическая полинейропатия;  
КАН — кардиоваскулярная автономная нейропатия;  
КАП — криптогенная аксональная полинейропатия;  
ЛДФ — лазерная доплеровская флоуметрия;  
ЛТГ — локальная тепловая гиперемия;  
ПЕ — перфузионные единицы;  
ПОРГ — постокклюзионная реактивная гиперемия;  
СД — сахарный диабет;  
ЧСС — частота сердечных сокращений.

### Введение

Диабетическая полинейропатия (ДПН) объединяет группу заболеваний, связанных с поражением нервной

### LASER DOPPLER FLOWMETRY IN THE ASSESSMENT OF SKIN MICROCIRCULATORY DISORDERS IN PATIENTS WITH DIABETIC POLYNEUROPATHY. PART 2

Kulikov D.A.\*<sup>1,2</sup>, Krasulina K.A.<sup>1</sup>, Glazkova P.A.<sup>1</sup>, Kovaleva Yu.A.<sup>1</sup>, Glazkov A.A.<sup>1</sup>, Barsukov I.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute («МОНКИ»)

<sup>2</sup> Moscow Region State University, Mytishchi

**Abstract.** Diabetic polyneuropathy is one of the most common consequences of diabetes mellitus and is associated with the long-term damaging effects of hyperglycemia on the peripheral nervous system. The methods most commonly used in clinical practice for diagnosis are related to the assessment of sensitivity and complaints of the patient. However, these approaches are subjective. A number of clinical trials in this area have failed due to a lack of effective criteria for dynamic assessment of the severity of neuropathy (surrogate endpoints). Despite the active development of methods for diagnosing nerve fiber lesions, such as corneal confocal microscopy, skin biopsy and others, there remains a need for an objective and quantitative technique. Nerve damage and decreased microvascular reactivity are known to have a close pathogenetic relationship. The use of skin microcirculation measurement by laser Doppler flowmetry is considered in this area. This review describes functional tests for measuring skin microvascular reactivity, which are proposed for the diagnosis of nerve fiber lesions. The results obtained by different research collectives are variable, but most authors find reduced responses to heat exposure, orthostatic test, and acetylcholine and sodium nitroprusside iontophoresis in patients with diabetic polyneuropathy. Laser Doppler flowmetry is a prospective method for application in this field, so there is a need for further research, development of standardized analysis algorithms and investigation of combinations of different methods of hemodynamic assessment.

**Keywords:** diabetes mellitus, diabetic neuropathies, skin, microcirculation, laser-Doppler flowmetry.

системы при СД, связанным с гипергликемией, приводящей к увеличению активных форм кислорода, повышению осмолярности, инициации воспаления, апоптозу нейронов, а в дальнейшем к нарушению кровоснабжения нервной ткани вследствие микроангиопатии [1]. Дистальная сенсорно-моторная форма ДПН является наиболее распространенной и устанавливается на основании симптомов, исследования чувствительности (тактильной, температурной, болевой, вибрационной), рефлексов, нервной проводимости, электронейромиографии [2]. Для диагностики и оценки выраженности данного осложнения часто применяют валидизированные шкалы [3–5].

Среди автономных нейропатий чаще всего диагностируется и оценивается в научных исследованиях кардиоваскулярная [6; 7], которая определяется по

e-mail: zdolsk2@gmail.com

результатам стандартных тестов: частота сердечных сокращений (ЧСС) в покое, вариация ЧСС, реакция ЧСС и систолического артериального давления (АД) в ответ на ортостатическую пробу, проба Вальсальвы, реакция диастолического АД на нагрузку [2].

Для выявления ранних признаков ДПН предлагается биопсия нервов и кожи, конфокальная микроскопия роговицы [8]. Для выявления судомоторной дисфункции используются количественный тест вызванного судомоторного аксон-рефлекса, симпатическая кожная реакция, потовый тест и другие [9]. Более информативна комбинация нескольких методов. Так, Krishnan S.T. и соавт. регистрировали поражение нервной системы по биопсии кожи и количественному сенсорному тестированию [10], а Emanuel A.L. добавил к ним исследование нервной проводимости и шкалу «The Neuropathy Impairment Score-Lower Limbs» [11]. Несмотря на информативность данных подходов, оценка биопсии нервов и кожи, судомоторной дисфункции, конфокальная микроскопия не нашли повсеместного применения в клинической практике ввиду технической недоступности.

Таким образом, большинство используемых сегодня в клинической практике методов диагностики ДПН (оценка рефлексов и чувствительности, осмотр, опрос) субъективны [2; 12]. Данные подходы в комбинации с применением шкал также используются в клинических исследованиях, однако они обладают недостаточной чувствительностью, чтобы оценивать изменения выраженности ДПН в относительно непродолжительных исследованиях (12–24 месяца). Одна из причин, по которой клинические исследования в этой сфере потерпели неудачу — дефицит эффективных критериев динамической оценки выраженности нейропатии (суррогатных конечных точек) [12]. Следовательно, существует потребность в объективном, точном и количественном способе оценки ДПН.

По данным ряда исследований, метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) может быть перспективным для оценки ДПН [9]. Он является неинвазивным способом измерения микроциркуляции, основанным на освещении монохроматическим лазерным лучом ткани и анализе изменений его частоты из-за отражения от движущихся клеток крови вследствие эффекта Доплера [13–15]. Конечный результат пропорционален скорости и количеству эритроцитов и выражается в перфузионных единицах (ПЕ) [14]. Самым доступным органом для оценки микрососудистого русла является кожа. Показано, что кожная перфузия изменяется при СД 1 и 2 типа [16–19]. Эти изменения могут быть обусловлены поражением регуляции кровотока, которая обеспечивается вегетативными волокнами, короткими рефлекторными дугами, локальными рефлексами кожи [20; 21]. Следовательно, нарушение определенных параметров микроциркуляции может свидетельствовать о ранних признаках нейропатии. Дальнейшее снижение кровоснабжения нервных волокон из-за развивающейся

микроангиопатии отрицательно влияет на их работу [22]. Возникает так называемый порочный круг, в связи с этим происходит ещё большее нарушение функционирования микрососудистого русла, которое может быть оценено посредством ЛДФ [22].

Значительное распространение получили функциональные тесты — физические и химические воздействия, приводящие к увеличению или уменьшению кожной перфузии и позволяющие оценить реактивность микрососудистого русла и потенциально охарактеризовать картину нарушений нервной регуляции при ДПН. Другой подход к исследованию кожной микроциркуляции у пациентов с ДПН — анализ микрогемодинамики в покое, без применения функциональных воздействий, этой теме посвящена часть 1 данного обзора.

Таким образом, метод ЛДФ в сочетании с функциональными пробами может оказаться ценным инструментом в выявлении ДПН и определении ее выраженности [16]. Тем не менее, в русскоязычной литературе отсутствуют обзоры, посвященные данной теме. Цель настоящей работы — оценить перспективы метода ЛДФ в выявлении нарушений реактивности микрососудов кожи у пациентов с ДПН.

#### Применение ортостатической пробы для оценки ДПН

Исторически первым был применен ортостатический тест [23] — изменение положения тела или конечности, что позволяет оценить вено-артериолярный (симпатический вазоконстрикторный) рефлекс. Он представляет собой сужение сосудов вследствие сокращения прекапиллярных сфинктеров артериол [24], опосредованного аксон-рефлексом. Эта реакция возникает при стимуляции рецепторов давления и растяжения в малых венах, когда конечность опускается ниже уровня сердца, а венозное давление повышается на 25 мм рт.ст. из-за силы тяжести [25]. На данный ответ влияют как локальные факторы (нейрогенные и миогенные), так и системные [4]. Нарушение вено-артериолярного рефлекса наблюдается при СД 1 и 2 типа [26; 27]. При СД 2 типа ( $n = 40$ ) изменение кровотока при опускании ноги положительно коррелировало с постуральным падением систолического АД ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ), которое является показателем автономной ДПН [7]. Другими словами, при увеличении разницы между систолическим АД из-за изменения положения тела кожный кровоток при СД уменьшался в меньшей степени. Вероятно, вено-артериолярный рефлекс нарушается у пациентов с автономной ДПН, из-за чего увеличивается фильтрация жидкости через капилляры, развиваются ортостатическая гипотензия и отеки, приводящие к появлению язв [28]. Увеличение венозного притока (за счет увеличения шунтирующего кровотока) в сочетании с уменьшением венозного комплаенса способствует повышению посткапиллярного давления, что ограничивает капиллярный кровоток [29]. Результат этого — капиллярная кража с относительной гипоперфузией кожи.

Cacciatori V. и соавт. показали, что у пациентов с СД вено-артериолярный рефлекс нарушен по сравнению с контрольной группой (где уменьшение кровотока составило  $72,8 \pm 2,1\%$ ,  $n = 22$ ), при этом он пропорционально ухудшался при увеличении выраженности ДПН: у лиц без ДПН кровотоки уменьшились на  $58,8 \pm 2,3\%$  ( $p < 0,001$ ;  $n = 22$ ), с ДПН — на  $33,3 \pm 3,0\%$  ( $p < 0,001$ ;  $n = 15$ ) и с ДПН и язвой стопы — на  $8,6 \pm 2,7\%$  ( $p < 0,001$ ;  $n = 10$ ). Авторы делают вывод, что симпатические волокна подвергаются ранним изменениям при СД, что отражается на реактивности микрососудов кожи, даже если клинически выраженной ДПН нет [27].

Таким образом, ДПН приводит к изменению вено-артериолярного рефлекса. Следствием этого является нарушение регуляции кровоснабжения ткани, что может служить одним из патофизиологических механизмов развития синдрома диабетической стопы.

### Изменение реактивности микрососудов во время фармакологических тестов

Фармакологические тесты основаны на введении специальных веществ, вызывающих сужение или расширение сосудов: ацетилхолина, натрия нитропрусида, метахолина, брадикинина, субстанции P, агонистов адренорецепторов [17; 30–32]. Также применяют нанесение местных анестетиков (лидокаин, прилокаин и др.), чтобы блокировать кожные нервные волокна [33]. Чаще всего используют ионофорез (неинвазивная доставка веществ через кожу посредством электрического тока малой силы) ацетилхолина и натрия нитропрусида. Первое вещество связывается с мускариновыми рецепторами эндотелия, вызывая повышение им продукции NO, который приводит к расслаблению гладкомышечных клеток, то есть эндотелий-зависимой вазодилатации. Натрия нитропрурид является донором оксида азота, поэтому самостоятельно действует на миоциты, следствием чего является эндотелий-независимая вазодилатация [34].

Pitei D.L. и соавт. сравнивали действие ацетилхолина и натрия нитропрусида у здоровых лиц ( $n = 10$ ), больных СД 2 типа без ДПН ( $n = 7$ ) и с ДПН ( $n = 8$ ), диагностированной по нарушению вибрационной чувствительности и отсутствию ахиллова рефлекса. Эндотелий-зависимая вазодилатация была снижена у пациентов с СД 2 типа и ДПН ( $3,50 \pm 2,03$ ;  $p < 0,005$ ), и без ДПН ( $3,49 \pm 1,67$ ;  $p < 0,005$ ) по сравнению с контролем ( $9,81 \pm 1,65$ ). Эндотелий-независимая вазодилатация уменьшалась только при ДПН: у здоровых лиц она составила  $7,02 \pm 2,05$ , у пациентов с СД —  $6,42 \pm 1,56$  ( $p = 0,75$ ), ДПН —  $2,10 \pm 2,0$  ( $p < 0,005$ ). Авторы делают вывод, что ДПН ассоциируется с нарушениями эндотелий-независимой вазодилатации [35].

Однако в другом исследовании обнаружено, что у 20 лиц с СД и ДПН ответ на ацетилхолин был ниже ( $55,2\%$  на руке и  $16,4\%$  на ноге ( $p < 0,001$ )), чем у 21 пациента с СД без ДПН ( $156,9\%$  на руке и  $77,9\%$  на ноге) и 10 здоровых человек ( $198,6\%$  на руке и  $117,2\%$  на ноге) [36].

Кроме того, наблюдались корреляции между эндотелий-зависимой вазодилатацией и температурной и вибрационной чувствительностью ( $R_s = -0,658$  ( $p < 0,0001$ ) и  $R_s = -0,548$  ( $p = 0,0005$ )), результатом шкалы «Neuropathy Disability Score» ( $R_s = -0,665$ ;  $p < 0,0001$ ), результатом оценки автономной функции ( $R_s = -0,378$ ;  $p = 0,0252$ ). Авторы делают вывод, что реакцию микрососудистого русла на ацетилхолин можно использовать для обнаружения дисфункции малых нервных волокон, при этом чувствительность составляет  $90\%$ , а специфичность —  $74\%$  [36]. Следует отметить, что в этом исследовании по сравнению с предыдущим, использовался более точный способ оценки ДПН (2 шкалы, количественное сенсорное тестирование, электронейромиография, 5 тестов на КАН).

В работе Veves A. и соавт. на 128 обследуемых показано, что вазодилатация, опосредованная ацетилхолином и натрия нитропрусидом, снижена у 3 групп пациентов с осложненным СД (ДПН; ДПН и ишемия нижних конечностей; нейроартропатия Шарко) по сравнению со здоровыми добровольцами и пациентами с неосложненным СД. При этом не было разницы в ответах на фармакологические пробы между лицами с СД без осложнений и здоровыми участниками исследования. Авторы пришли к выводу, что эндотелий-зависимая и независимая вазодилатация нарушена у пациентов с СД, предрасположенных к изъязвлению стопы, а ДПН является основным фактором, связанным с этой патологией [37]. Схожий результат получен в работе Tomešová J. и соавт. [24].

Целью исследования Pfützner A. было изучение влияния дисфункции малых нервных волокон, определенной при измерении температурной и болевой чувствительности, на кожную микроциркуляцию у 26 пациентов с СД. У лиц с повреждением малых нервных волокон было значительно меньше увеличение сигнала ЛДФ в ответ на ацетилхолин по сравнению с пациентами без ДПН и здоровыми лицами ( $2,8$  ПЕ по сравнению с  $7,2$  ПЕ ( $p = 0,007$ ) и  $8,5$  ПЕ ( $p = 0,02$ ), соответственно) [38]. Делается заключение, что нейропатия малых волокон влияет на реакцию кожных микрососудов в ответ на ацетилхолин.

Quattrini C. и соавт. обнаружили значимую умеренную корреляцию между результатом по «Neuropathy disability score» и пиком ответа на ацетилхолин у пациентов с СД 1 и 2 типа ( $R = -0,532$ ;  $p < 0,01$ ), но не на натрия нитропрурид. Показано, что при болевой ДПН эндотелий-зависимая вазодилатация ниже, чем у здоровых добровольцев и пациентов без ДПН. Исследователи делают вывод, что нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации может играть роль в патогенезе болевой ДПН [39].

Emanuel A.L. и соавт. сравнили реактивность микрососудистого русла у пациентов с СД 2 типа (15 — с ДПН, 11 — без ДПН) и криптогенной аксональной полинейропатией (КАП), то есть нейропатией неизвестной этиологии ( $n = 16$ ), по сравнению с контрольной группой ( $n = 16$ ) [11]. Не найдено различий в эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации между пациента-

ми с КАП и здоровыми лицами ( $p = 0,652$ ). Независимо от наличия ДПН, по сравнению с контрольной группой (687,8%) при СД наблюдается снижение эндотелий-зависимой вазодилатации и при ДПН (157,5%;  $p = 0,003$ ), и без ДПН (174,2%;  $p = 0,003$ ). Авторы считают, что при СД 2 типа нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации не связано с ДПН, а КАП не зависит от снижения реакции сосудов на ацетилхолин и натрия нитропруссид у лиц без СД [11]. Такой вывод об отсутствии взаимосвязи между поражением нервных волокон и реакцией на ацетилхолин противоречит результатам других работ [24; 36–39]. Это может быть обусловлено тем, что авторы данного исследования использовали другие критерии диагностики ДПН, а возраст участников (64,1±6,6 лет у пациентов без ДПН; 63,8±12,6 лет — с ДПН) больше, чем в сходных работах.

Реже в качестве фармакологического теста проводят ионофорез фенилэфрина (альфа-1-селективный агонист адренорецепторов). При этой пробе ритмы 0,1 Гц на стопе были меньше у пациентов с периферической и/или автономной ДПН по сравнению с пациентами с СД без ДПН и группой контроля ( $p < 0,001$ ). На предплечье данные колебания оказались сниженными только у пациентов с автономной ДПН ( $p < 0,01$ ). Авторы утверждают, что снижение амплитуды ритмов на стопе может быть предиктором периферической ДПН [32].

Таким образом, большинство работ демонстрирует снижение как эндотелий-зависимой, так и эндотелий-независимой вазодилатации на фоне ДПН. Стоит отметить, что авторами использовались разные критерии диагноза поражения нервов. Применение фармакологических тестов в клинической практике не получило распространения из-за сложности проведения и интерпретации, высокой стоимости и неоднозначности результатов исследований.

### Взаимосвязь между дпн и изменениями тепловой и постокклюзионной реактивной гиперемии

Широкое распространение получили тепловая и окклюзионная проба. Первая представляет нагревание участка кожи, вторая — нагнетание давления выше систолического в манжете на конечности и сдувание её через определенное время (от 1 до 15 мин.) с регистрацией изменений микроциркуляции [40]. В данном обзоре эти пробы будут рассмотрены в одном разделе, так как и локальный нагрев, и временная окклюзия приводят к расширению сосудов, но при участии разных механизмов. Исследователи часто используют оба теста для более глубокого понимания патофизиологии нарушения реактивности микрососудистого русла. Вазодилатация во время этих проб называется «локальная тепловая гиперемия» (ЛТГ) и «постокклюзионная реактивная гиперемия» (ПОРГ). Результат нагревания кожи до 42–44 °С — это двухфазное увеличение кровотока: 1) начальный пик, опосредованный аксон-рефлексом (регулируется местными сенсорными нервами, белком CGRP и веществом P);

2) устойчивая фаза плато, зависящая от NO. ПОРГ предлагается для оценки эндотелиальной функции и зависит от EDHF [9; 20], сенсорных нервов и метаболитов цитохрома P450 (эпоксидокотетраеновых кислот) [21; 40].

В одном из ранних исследований кожной перфузии показано, что на тыльной стороне кисти базовая перфузия одинакова у пациентов с СД 2 типа и контрольной группы (соответственно, 2,3±0,6 и 2,4±0,7 ПЕ), однако при нагревании кожи кровотоки увеличились в большей степени у здоровых лиц ( $n = 10$ ; 16,1±2,6 ПЕ) в отличие от пациентов с СД 2 типа ( $n = 10$ ; 6,7±1,6 ПЕ;  $p < 0,01$ ) [41]. Авторы утверждают, что уменьшение вызванной нагреванием вазодилатации на волосистой коже является ранним признаком ДПН. В уже упомянутом исследовании Veves A. [37], вазодилатация на стопе при нагреве до 44 °С была снижена у пациентов с ДПН (321 (21; 629) ПЕ) и с ДПН и признаками ишемии нижних конечностей (225 (122; 470) ПЕ) по сравнению с лицами с нейроартропатией (895 (359; 1229) ПЕ), СД без осложнений (699 (466; 1029) ПЕ) и контрольной группой (810 (440-1064) ПЕ,  $p < 0,0001$ ). В исследовании Pfützner A. так же обнаружено, что увеличение сигнала после нагрева до 44 °С меньше у пациентов с дисфункцией малых волокон по сравнению с лицами с СД без ДПН и контрольной группой (соответственно, 29,8 ПЕ против 51,2 ПЕ ( $p = 0,02$ ) и против 54,6 ПЕ ( $p = 0,004$ )) [38]. Показано, что ЛТГ снижается при болевой ( $n = 10$ ; 1,59±0,41 ПЕ) и безболевой ДПН ( $n = 12$ ; 1,51±0,56 ПЕ) по сравнению с контрольной группой ( $n = 15$ ; 4,38±1,4 ПЕ;  $p < 0,001$ ). Также плотность нервных волокон коррелирует с реакцией на нагрев ( $r = 0,574$ ;  $p < 0,0001$ ) [10]. Авторы данной работы предложили тепловую пробу для выявления нейропатии малых волокон как ранней стадии ДПН, поэтому в дальнейшем локальный нагрев использовали для оценки С-волокон. Так, Vas P.R. и соавт. сравнили здоровых лиц ( $n = 24$ ), 2 группы пациентов с СД 1 типа без клинически выраженной ДПН с микроангиопатией и без нее. ЛТГ на стопе при нагреве до 47 °С была снижена только у субъектов с микрососудистым заболеванием по сравнению с контрольной группой (5,1±1,8 против 10,0±3,1 см<sup>2</sup>;  $p < 0,0001$ ) и пациентами без микроангиопатии (9,9±2,9 см<sup>2</sup>,  $p < 0,0001$ ). Авторы делают вывод, что снижение аксон-рефлекса как проявление ранних признаков ДПН зависит от состояния сосудов [42]. В нашем исследовании также было показано, что параметры кожной микрогемодинамики коррелируют с выраженностью нейропатии у лиц, имеющих ретинопатию, однако данной связи не выявлено у пациентов без микроангиопатических осложнений [43].

В работе по выявлению микрососудистой дисфункции у пациентов с СД 1 типа ( $n = 37$ ) и ее корреляции с параметрами заболевания использовали окклюзионную пробу. Не обнаружено различий в ПОРГ между участниками с признаками нервной дисфункции (нарушениями проводимости в 2 и более нервах по электроннойографии) ( $n = 21$ ) и лицами, не имеющими их ( $n = 16$ ). Авторы дела-

ют вывод, что изменение ПОРГ не коррелирует с электрофизиологическими признаками дисфункции нервов [28]. В работе Jan Y.K. показано, что у пациентов с СД ( $n = 18$ ) и ДПН были ниже, чем у контрольной группы ( $n = 8$ ), пик гиперемии после окклюзии ( $3,53 \pm 0,33$  ПЕ против  $6,28 \pm 0,7$  ПЕ,  $p < 0,001$ ), миогенный ритм ( $1,33 \pm 0,11$  против  $3,2 \pm 0,94$ ,  $p < 0,01$ ), параметры ЛТГ. Амплитуда метаболического, нейрогенного и миогенного ритмов в ответ на оба стимула были меньше у больных с ДПН ( $p < 0,05$ ). Авторы заключают, что локальные механические и термические стимулы могут быть использованы в перспективе для оценки микрососудистой реактивности и риска развития диабетических язв при поражении нервных волокон [44]. Однако в данном исследовании не сравнивались показатели пациентов с СД без осложнений и с ДПН.

В исследовании Kasalová Z. и соавт. реакция микрососудов на нагрев и окклюзию у больных СД 1 типа без ДПН была сопоставима с таковой у здоровых людей, но выше, чем у больных СД 1 типа и ДПН: например, максимальная ПОРГ составила 64 (40; 81) ПЕ против 24 (17; 40) ПЕ ( $p < 0,001$ ), а максимальная ЛТГ — 105 (77; 156) ПЕ против 56 (46; 85) ПЕ ( $p < 0,001$ ). Однако эти показатели не различались у больных СД 2 типа с ДПН и без нее (ПОРГ: 48 (30; 60) ПЕ против 49 (36; 57) ПЕ; ЛТГ: 95 (78; 156) ПЕ против 97 (73; 127) ПЕ). Таким образом, метаболические факторы у больных СД 1 и 2 типов по-разному влияют на патогенез ДПН и нарушения реактивности микрососудов [22]. Однако для неврологического обследования авторы использовали только вибрационную чувствительность, которая не является единственным критерием ДПН и демонстрирует повреждение крупных волокон.

Таким образом, в большинстве работ показано, что реакция микрососудов на нагрев различается у пациентов, имеющих ДПН, по сравнению со здоровыми добровольцами и лицами с СД без осложнений. ЛТГ предлагается для выявления нейропатии малых волокон, однако пока её используют только в научных экспериментах. В исследованиях, посвященных ответу кожной перфузии на окклюзию, получены неоднозначные результаты. На взаимосвязь между ДПН и ответом микроциркуляции на тепловой и окклюзионный стимул могут оказать влияние особенности патогенеза поражения нервных волокон в зависимости от типа СД [22]. Необходимо дальнейшее изучение изменений реактивности микрососудов кожи при ДПН с учетом лекарственной терапии и сопутствующих патологических состояний, а также валидация алгоритма проведения и интерпретации тестов.

### Заключение

Ряд исследований показал, что метод ЛДФ позволяет выявлять снижение реактивности микрососудов кожи у пациентов с ДПН в ответ на тепловое воздействие, ортостатическую пробу, а также ионофорез ацетилхолина и натрия нитропрусида. Тесты с физическими воздействиями (например, нагрев, ортостатическая проба)

без применения фармакологических препаратов более доступны и легко осуществимы. Использование функциональных тестов позволяет снижать вариабельность показателей перфузии, этот подход чаще используется и, вероятно, более перспективен, чем оценка базового уровня перфузии.

Несмотря на активное применение метода ЛДФ в научных работах, он так и не вошел в широкую клиническую практику [45]. Окончательно не доказана зависимость изменений показателей реактивности микрососудов от увеличения выраженности ДПН, а также нет единого алгоритма проведения функциональных тестов, позволяющего проводить детекцию поражения нервных волокон с доказанной эффективностью. Недостаточно исследований, демонстрирующих чувствительность и специфичность данного метода в выявлении ДПН. Возможно, существующие проблемы обусловлены тем, что ЛДФ не является совершенным методом, а получаемый конечный сигнал обладает высокой вариабельностью [14; 23; 45–47]. Анализ результатов исследований, посвященных изучению взаимосвязи ДПН и реактивности микрососудов кожи, измеренной с помощью ЛДФ, осложняется различными способами оценки выраженности ДПН, использованными в работах. Например, авторы используют только один из видов чувствительности: вибрационную [22], тактильную [18; 44] или температурную и болевую [38]. Применяются разные шкалы, которые сложно сравнивать [4; 39; 48]. Исследователи по-разному комбинируют методы диагностики ДПН. Так, одни авторы анализировали результаты количественного сенсорного тестирования и дегенерацию аксонов по биопсии кожи [10], а другие включали исследование нервной проводимости, шкалы оценки признаков ДПН [6; 11], стандартные тесты на КАН [26; 35; 36]. Соответственно, отсутствие на данный момент единого алгоритма диагностики ДПН осложняет анализ взаимосвязи между ДПН и изменениями реактивности микрососудистого русла.

Исходя из имеющихся литературных данных, которые были проанализированы в настоящей работе, измерение реактивности микрососудов кожи с помощью ЛДФ может быть полезно для диагностики ранних изменений функций нервных волокон (например, для оценки аксон-рефлекса, валидация которого осуществлена Caselli A. в 2006 [36]) и перспективно для мониторинга осложнений, так как показано, что при увеличении тяжести ДПН происходит нарушение реактивности кожных микрососудов [5]. Необходимо продолжение исследований в данной области, разработка единых алгоритмов проведения функциональных тестов и интерпретации полученных данных.

**Дополнительная информация.** Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации, внутренний номер гранта МК-1786.2020.7 (соглашение № 075-15-2020-354).

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).****ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES**

- Juster-Switlyk K, Smith AG. Updates in diabetic peripheral neuropathy. *F1000Research*. 2016; 5: F1000 Faculty Rev-738. doi: 10.12688/f1000research.7898.1.
- Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под ред. Дедова И.И., Шестаковой М.В., Майорова А.Ю. — М., 2019. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY, editors. Standards of specialized diabetes care. Moscow; 2019. (In Russ.)] doi: 10.14341/DM221S1.
- Pop-Busui R, Boulton AJM, Feldman EL, et al. Diabetic neuropathy: A position statement by the American diabetes association. *Diabetes Care*. 2017; 40(1): 136-154. doi: 10.2337/dc16-2042.
- Nabuurs-Franssen MH, Houben AJHM, Tooke JE, Schaper NC. The effect of polyneuropathy on foot microcirculation in Type II diabetes. *Diabetologia*. 2002; 45(8): 1164-1171. doi: 10.1007/s00125-002-0872-z.
- Sun P-C, Kuo C-D, Chi L-Y, et al. Microcirculatory vasomotor changes are associated with severity of peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Vasc Dis Res*. 2013; 10(3): 270-276. doi: 10.1177/1479164112465443.
- Meyer MF, Rose CJ, Hülsmann JO, et al. Impairment of cutaneous arteriolar 0.1 Hz vasomotion in diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2003; 111(2): 104-110. doi: 10.1055/s-2003-39238.
- Iwase M, Imoto H, Murata A, et al. Altered postural regulation of foot skin oxygenation and blood flow in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007; 115(7): 444-447. doi: 10.1055/s-2007-960499.
- Terkelsen AJ, Karlsson P, Lauria G, et al. The diagnostic challenge of small fibre neuropathy: clinical presentations, evaluations, and causes. *Lancet Neurol*. 2017; 16(11): 934-944. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30329-0.
- Hijazi MM, Buchmann SJ, Sedghi A, et al. Assessment of cutaneous axon-reflex responses to evaluate functional integrity of autonomic small nerve fibers. *Neurol Sci*. 2020; 41(7): 1685-1696. doi: 10.1007/s10072-020-04293-w.
- Krishnan STM, Quattrini C, Jeziorska M, et al. Abnormal LDIfIare but normal quantitative sensory testing and dermal nerve fiber density in patients with painful diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2009; 32(3): 451-455. doi: 10.2337/dc08-1453.
- Emanuel AL, Nieuwenhoff MD, Klaassen ES, et al. Relationships Between Type 2 Diabetes, Neuropathy, and Microvascular Dysfunction: Evidence From Patients With Cryptogenic Axonal Polyneuropathy. *Diabetes Care*. 2017; 40(4): 583-590. doi: 10.2337/dc16-1690.
- Azmi S, Petropoulos IN, Ferdousi M, et al. An update on the diagnosis and treatment of diabetic somatic and autonomic neuropathy [version 1; referees: 3 approved]. *F1000Research*. 2019; 8: F1000 Faculty Rev-186. doi: 10.12688/f1000research.17118.1.
- Lal C, Unni SN. Correlation analysis of laser Doppler flowmetry signals: a potential non-invasive tool to assess microcirculatory changes in diabetes mellitus. *Med Biol Eng Comput*. 2015; 53(6): 557-566. doi: 10.1007/s11517-015-1266-y.
- Куликов Д.А., Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др. Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете // Сахарный диабет. — 2017. — Т.20. — №4. — С.279-285. [Kulikov DA, Glazkov AA, Kovalева YA, et al. Prospects of Laser Doppler flowmetry application in assessment of skin microcirculation in diabetes. *Sakharnyy diabet*. 2017; 20(4): 279-285. (in Russ.)] doi: 10.14341/DM8014.
- Deegan AJ, Wang RK. Microvascular imaging of the skin. *Phys Med Biol*. 2019; 64(7): 07TR01. doi: 10.1088/1361-6560/ab03f1.
- Santesson P, Lins PE, Kalani M, et al. Skin microvascular function in patients with type 1 diabetes: An observational study from the onset of diabetes. *Diabetes Vasc Dis Res*. 2017; 14(3): 191-199. doi: 10.1177/1479164117694463.
- 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. *Cardiovasc Diabetol*. 2017; 16(1): 11. doi: 10.1186/s12933-016-0487-1.
- Jan YK, Liao F, Cheing GLY, et al. Differences in skin blood flow oscillations between the plantar and dorsal foot in people with diabetes mellitus and peripheral neuropathy. *Microvasc Res*. 2019; 122: 45-51. doi: 10.1016/j.mvr.2018.11.002.
- Sorelli M, Francia P, Bocchi L, et al. Assessment of cutaneous microcirculation by laser Doppler flowmetry in type 1 diabetes. *Microvasc Res*. 2019; 124: 91-96. doi: 10.1016/j.mvr.2019.04.002.
- Cracowski J-L, Roustit M. Current Methods to Assess Human Cutaneous Blood Flow: An Updated Focus on Laser-Based-Techniques. *Microcirculation*. 2016; 23(5): 337-344. doi: 10.1111/micc.12257.
- Glatte P, Buchmann SJ, Hijazi MM, et al. Architecture of the Cutaneous Autonomic Nervous System. *Front Neurol*. 2019; 10: 970. doi: 10.3389/fneur.2019.00970.
- Kasalová Z, Prázný M, Skrha J. Relationship between peripheral diabetic neuropathy and microvascular reactivity in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus -- neuropathy and microcirculation in diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006; 114(2): 52-57. doi: 10.1055/s-2006-923895.
- Watkins PJ, Edmonds ME. Sympathetic nerve failure in diabetes. *Diabetologia*. 1983; 25(2): 73-77. doi: 10.1007/BF00250890.
- Tomešová J, Gruberová J, Lacigova S, et al. Differences in skin microcirculation on the upper and lower extremities in patients with diabetes mellitus: Relationship of diabetic neuropathy and skin microcirculation. *Diabetes Technol Ther*. 2013; 15(11): 968-975. doi: 10.1089/dia.2013.0083.
- Okazaki K, Fu Q, Martini ER, et al. Vasoconstriction during venous congestion: Effects of venoarteriolar response, myogenic reflexes, and hemodynamics of changing perfusion pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005; 289(5): R1354-R1359. doi: 10.1152/ajpregu.00804.2004.
- Yosipovitch G, Schneiderman J, van Dyk DJ, et al. Impairment of the postural venoarteriolar response in young type 1 diabetic patients — A study by laser Doppler flowmetry. *Angiology*. 1996; 47(7): 687-691. doi: 10.1177/000331979604700708.
- Cacciatori V, Dellera A, Bellavere F, et al. Comparative assessment of peripheral sympathetic function by postural vasoconstriction arteriolar reflex and sympathetic skin response in NIDDM patients. *Am J Med*. 1997; 102(4): 365-370. doi: 10.1016/s0002-9343(97)00088-0.
- Golster H, Hyllienmark L, Ledin T, et al. Impaired microvascular function related to poor metabolic control in young patients with diabetes. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005; 25(2): 100-105. doi: 10.1111/j.1475-097X.2004.00596.x.
- Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Can J Cardiol*. 2018; 34(5): 575-584. doi: 10.1016/j.cjca.2017.12.005.
- Tehrani S, Bergen K, Azizi L, Jörneskog G. Skin microvascular reactivity correlates to clinical microangiopathy in type 1 diabetes: A pilot study. *Diabetes Vasc Dis Res*. 2020; 17(3): 1479164120928303. doi: 10.1177/1479164120928303.
- Fujii N, Meade RD, McNeely BD, et al. Type 2 diabetes specifically attenuates purinergic skin vasodilatation without affecting muscarinic and nicotinic skin vasodilatation and sweating. *Exp Physiol*. 2018; 103(2):212-221. doi: 10.1113/EP086694.
- Schmiedel O, Nurmikko TJ, Schroeter ML, et al. Alpha adrenoceptor agonist-induced microcirculatory oscillations are reduced in diabetic neuropathy. *Microvasc Res*. 2008; 76(2): 124-131. doi: 10.1016/j.mvr.2008.04.004.
- Krishnan STM, Rayman G. The LDIfIare: A novel test of C-fiber function demonstrates early neuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27(12): 2930-2935. doi: 10.2337/diacare.27.12.2930.
- Todiras M, Alenina N, Bader M. Evaluation of endothelial dysfunction in vivo. In: Touyz R, Schiffrin E, editors. *Hypertension. Methods in Molecular Biology*. New York: Humana Press; 2017. p. 355-367. doi: 10.1007/978-1-4939-6625-7\_28.
- Pitei DL, Watkins PJ, Edmonds ME. NO-dependent smooth muscle vasodilatation is reduced in NIDDM patients with peripheral sensory neuropathy. *Diabet Med*. 1997; 14(4): 284-90. doi: 10.1002/(SICI)1096-9136(199704)14:4<284::AID-DIA348>3.0.CO;2-0.
- Caselli A, Spallone V, Marfia GA, et al. Validation of the nerve axon reflex for the assessment of small nerve fibre dysfunction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006; 77(8): 927-932. doi: 10.1136/jnnp.2005.069609.
- Veves A, Akbari CM, Primavera J, et al. Endothelial dysfunction and the expression of endothelial nitric oxide synthetase in diabetic neuropathy, vascular disease, and foot ulceration. *Diabetes*. 1998; 7(3): 457-463. doi: 10.2337/diabetes.47.3.457.

38. Pfützner A, Forst T, Engelbach M, et al. The influence of isolated small nerve fibre dysfunction on microvascular control in patients with diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2001; 18(6): 489-94. doi: 10.1046/j.1464-5491.2001.00524.x.
39. Quattrini C, Harris ND, Malik RA, Tesfaye S. Impaired skin microvascular reactivity in painful diabetic neuropathy. *Diabetes Care.* 2007; 30(3): 655-659. doi: 10.2337/dc06-2154.
40. Roustit M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci.* 2013; 34(7): 373-384. doi: 10.1016/j.tips.2013.05.007.
41. Stansberry KB, Peppard HR, Babyak LM, et al. Primary nociceptive afferents mediate the blood flow dysfunction in non-glabrous (hairy) skin of type 2 diabetes: A new model for the pathogenesis of microvascular dysfunction. *Diabetes Care.* 1999; 22(9): 1549-1554. doi: 10.2337/diacare.22.9.1549.
42. Vas PRJ, Green AQ, Rayman G. Small fibre dysfunction, microvascular complications and glycaemic control in type 1 diabetes: A case-control study. *Diabetologia.* 2012; 55(3): 795-800. doi: 10.1007/s00125-011-2417-9.
43. Krasulina KA, Glazkova PA, Glazkov AA, et al. Reduced microvascular reactivity in patients with diabetic neuropathy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2021; Preprint(Preprint): 1-12. doi: 10.3233/CH-211177.
44. Jan YK, Shen S, Foreman RD, Ennis WJ. Skin blood flow response to locally applied mechanical and thermal stresses in the diabetic foot. *Microvasc Res.* 2013; 89: 40-46. doi: 10.1016/j.mvr.2013.05.004.
45. Рогаткин Д.А. Физические основы современных оптических методов исследования микрогемодинамики *in vivo*. Лекция // Медицинская физика. — 2017. — Т. 76. — № 4. — С. 75-93. [Rogatkin DA. Fizicheskie osnovy sovremennykh opticheskikh metodov issledovaniya mikrogemodinamiki *in vivo*. Lektsiya. *Meditinskaya fizika.* 2017; 76(4): 75-93. (In Russ).]
46. Лалитан Д.Г., Рогаткин Д.А. Функциональные исследования системы микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии в клинической медицине: проблемы и перспективы // Альманах клинической медицины. — 2016. — Т. 44. — № 2. — С. 249–259. [Lapitan DG, Rogatkin DA. Functional studies on blood microcirculation system with laser Doppler flowmetry in clinical medicine: problems and prospects. *Almanac of Clinical Medicine.* 2016; 44(2): 249-259. (In Russ).] doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-2-249-259.
47. Рогаткин Д.А. Есть ли научная информация в результатах измерений методом ЛДФ? // Лазер-информ. — 2015. — Т. 556. — № 13. — С. 1-6. [Rogatkin DA. Est' li nauchnaya informatsiya v rezul'tatakh izmerenii metodom LDF? *Lazer-Inform.* 2015; 556(13): 1-6. (in Russ).]
48. Netten PM, Wollersheim H, Thien T, Lutterman JA. Skin microcirculation of the foot in diabetic neuropathy. *Clin Sci.* 1996; 91(5): 559-565. doi: 10.1042/cs0910559.