

УДК 612.13; 612.15; 612.17

## АНАЛИЗ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ В ОТВЕТ НА ЛОКАЛЬНЫЙ НАГРЕВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА

© 2023 г. И.В. Тихонова\*, А.В. Танканаг\*, И.Е. Гусева\*\*, А.А. Гриневич\*, #

\*Институт биофизики клетки – обособленное подразделение ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН», Институтская ул., 3, Пушкино Московской области, 142290, Россия

\*\*Больница Пушкинского научного центра РАН, Институтская ул., 1, Пушкино Московской области, 142290, Россия

#E-mail: grin\_aa@mail.ru

Поступила в редакцию 01.09.2023 г.

После доработки 03.10.2023 г.

Принята к публикации 04.10.2023 г.

Проведен комплексный спектральный анализ variability сердечного ритма и кожной перфузии конечностей у больных сахарным диабетом 2-го типа в ответ на локальный нагрев и выявление значимых предикторов патофизиологических изменений в сердечно-сосудистой системе. Были измерены электрокардиограмма и кожная перфузия на предплечье и стопе методом лазерной доплеровской флоуметрии в покое и при локальном нагреве у здоровых индивидуумов и больных диабетом. Сигналы лазерной доплеровской флоуметрии и variability сердечного ритма (по электрокардиографическим данным) подвергали вейвлет-анализу. Для оценки значимых предикторов использовали ROC-анализ. У больных по сравнению со здоровыми выявлено: 1) снижение резерва кожного кровотока на стопе при нагреве, 2) уменьшение амплитуд колебаний сердечного ритма в покое и при нагреве, 3) увеличение амплитуд колебаний ЛДФ-сигналов на предплечье в респираторном и кардиоинтервалах в покое и при нагреве, 4) снижение амплитуд колебаний ЛДФ-сигналов на стопе в миогенном интервале в покое и в кардиоинтервале при нагреве. Выявлены параметры сердечно-сосудистой системы (энергии колебаний сердечного ритма в низкочастотном и лазерной доплеровской флоуметрии на предплечье в респираторном интервалах) с высокой дискриминационной мощностью для различия больных и здоровых в ответ на локальный нагрев, которые могут служить маркерами для ранней диагностики микрососудистых нарушений.

*Ключевые слова:* сахарный диабет 2-го типа; колебания кожного кровотока; variability сердечного ритма; локальный нагрев, вейвлет-анализ.

DOI: 10.31857/S0006302923060200, EDN: RLUCMI

Известно, что при метаболических нарушениях, приводящих к развитию сахарного диабета 2-го типа (СД2Т), происходят патофизиологические изменения в сердечно-сосудистой системе (ССС), связанные как с кардиомиопатией, атеросклерозом, повреждениями микрососудов, включая микрососуды кожи, так и с диабетической нейропатией [1–3]. Кроме того, следствием хронической гипергликемии является снижение васкуляризации кожи [4]. В результате возникающая ишемия тканей приводит к поражению сосудов и тканей конечностей, преимущественно нижних, обусловленному развитием гнойно-некротиче-

ских осложнений вплоть до диабетической стопы [5].

Реакция ССС на тепловой стресс является важным показателем работы механизмов, регулирующих как сердечную деятельность, так и кожную микроциркуляцию, и играющих ключевую роль в терморегуляции организма [6]. Так, у здорового человека увеличение температуры кожи выше 38°C может приводить к изменению сердечного выброса [7], а реакция кожного кровотока характеризуется ранним кратковременным пиком (быстрое увеличение кровотока), главным образом за счет нейрогенных факторов (рефлекса-аксона), и длительным вторичным подъемом до плато (медленное расширение сосудов), в основном, за счет местных химических факторов (преимущественно NO, а также других сосудорасширяющих агентов) [5, 8]. При развитии сахарного

*Сокращения:* СД2Т – сахарный диабет 2-го типа, ССС – сердечно-сосудистая система, ВСР – variability сердечного ритма, ЭКГ – электрокардиограмма, ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия, ПМ – показатель микроциркуляции, РКК – резерв кожного кровотока.

диабета реакция на тепловой стресс меняется. В частности, у людей с диабетом снижается кожная перфузия и реакция потоотделения во время теплового воздействия, что связано с нарушениями регуляторных процессов в ССС [9]. Также показано снижение вазодилатации в ответ на локальный нагрев у диабетических больных [10–12]. Кроме того, механизмы, определяющие терморегуляцию, могут меняться на ранних стадиях метаболических нарушений. Показано, что у лиц с риском развития СД2Т наблюдается измененная терморегуляция стоп по сравнению со здоровыми [13]. К тому же нарушения регуляторных механизмов, во многом, обусловлены нейропатическими осложнениями, вызванными дисфункцией мелких С-волокон. Это может приводить к аномальному расширению сосудов нижних конечностей в ответ на ионофорез нитропруссид натрия или нагрев, а также к аномальной ранней реакции кожного кровотока стоп и значительному снижению амплитуды колебаний температуры кожи стоп в миогенном, нейрогенном и эндотелиальном интервалах в ответ на локальный нагрев [14–16].

Распространенными методами оценки работы регуляторных механизмов в ССС, которые определяют различные колебательные процессы в ней, в норме и при сахарном диабете являются анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР) и анализ колебаний скорости кожного кровотока в сочетании с функциональными тестами, включая тепловой [5, 17–19]. Например, локальный нагрев применяется для изучения нейроваскулярной дисфункции кожи при сахарном диабете [5, 12, 20]. В большинстве исследований по оценке функциональных изменений в ССС у больных сахарным диабетом анализировались преимущественно интегральные параметры кожной перфузии, в то время как механизмы регуляции колебаний периферического кровотока в комплексе с анализом ВСР у больных СД2Т в ответ на локальный нагрев исследованы фрагментарно.

Ранее мы выявили изменения спектральных характеристик ВСР и колебаний кожного кровотока при постуральном тесте у пациентов с СД2Т [21]. Мы предполагаем, что комплексный анализ спектров колебаний в ССС при локальном нагреве верхних и нижних конечностей позволит выявить новые параметры, характеризующие наиболее значимые изменения в механизмах регуляции ВСР и колебаний периферического кровотока (кожной перфузии) у пациентов с СД2Т, которые могут быть полезными для развития новых эффективных инструментов диагностики ранних патофизиологических нарушений при развитии данной патологии. Целью исследования был комплексный анализ спектральных характеристик ВСР и колебаний кожной перфузии верхних и нижних конечностей у больных СД2Т в

ответ на локальный нагрев, а также выявление наиболее значимых предикторов, характеризующих основные патофизиологические изменения в ССС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Участники исследования.** В исследовании принимали участие 22 пациента (5 мужчин и 17 женщин, средний возраст  $66 \pm 2$  года, стаж заболевания  $10 \pm 1$  лет), проходивших стационарное обследование и лечение в условиях терапевтического отделения больницы Пущинского научного центра РАН. Диагноз – сахарный диабет 2-го типа – устанавливался согласно критериям Всемирной организации здравоохранения по борьбе с СД2Т на основании клинических показателей (полидипсия, полиурия, сухость/зуд кожи и/или слизистых, изменение веса тела) и лабораторных анализов (диагностические критерии для сахарного диабета: концентрация глюкозы натощак в плазме крови  $>7.0$  ммоль/л или в цельной крови  $>6.1$  ммоль/л, повышение концентрации глюкозы в плазме венозной крови  $>11.1$  ммоль/л при случайном измерении, уровня гликозилированного (гликированного) гемоглобина HbA1c  $\geq 6.5\%$ ) [22]. Пациенты с СД2Т имели сопутствующую гипертоническую болезнь II стадии. Кроме того, у 60% больных была выявлена диабетическая полинейропатия. В исследование не включались больные с острыми заболеваниями и/или тяжелыми обострениями хронических заболеваний (бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, глубокая анемия, кишечные и респираторные инфекции, онкозаболевания, психические/неврологические расстройства), а также беременные женщины и пациенты с изменениями кожи в местах контакта с датчиками приборов. На базе терапевтического стационара все испытуемые проходили комплексное общеклиническое обследование (осмотр, измерение артериального давления, ЭКГ, клинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, измерение гликемии). Лечение включало комплекс диетических мер, подбор гипотензивной терапии, пероральные сахароснижающие средства и в 20% случаев дополнительная инсулинотерапия, а также курс альфалиповоевой кислоты.

Параллельно была сформирована группа контроля (условно здоровые добровольцы) из 22 человек (8 мужчин и 14 женщин, средний возраст  $53 \pm 2$  года), у которых на момент исследования не диагностирован диабет и/или гипертоническая болезнь, отсутствовали хронические и острые заболевания. Критериями исключения были курение, прием лекарственных препаратов, а также кофеин- или алкогольсодержащих напитков за 12 ч до измерения.

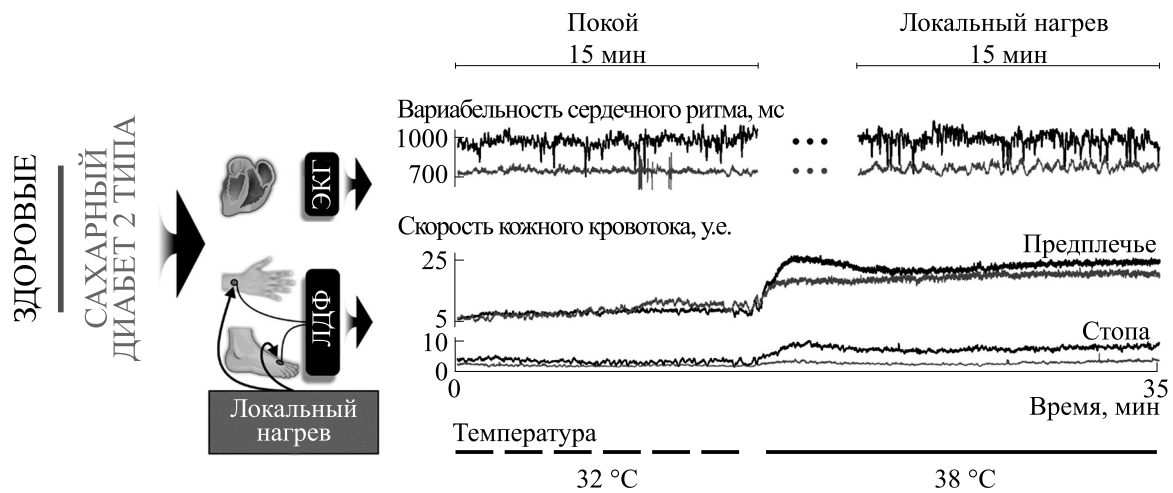


Рис. 1. Дизайн исследования.

**Измерения.** Измерения проводили при одинаковых условиях: время суток, комнатная температура ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) и период адаптации (15 мин), чтобы избежать возможных отклонений. Артериальное давление и частоту сердечных сокращений измеряли за 10 мин до проведения процедур, как описано ранее [23]. Схема исследования показана на рис. 1. Одновременно для каждого участника в положении лежа регистрировали три сигнала: электрокардиограмму (ЭКГ) и измеренный с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) кожный кровоток с двух участков – наружной поверхности правого предплечья вблизи лучезапястного сустава (ЛДФрк) и тыльной поверхности правой стопы между головками 1-й и 2-й плюсневых костей (ЛДФнг). ЭКГ регистрировали во II стандартном отведении с помощью аппаратно-программного комплекса «ВНС-Микро» («Нейрософт», Россия) с частотой дискретизации 1000 Гц. Затем сигналы ЭКГ анализировали для определения последовательности RR-интервалов (ритмограммы), которые были подвергнуты повторной равномерной дискретизации с частотой 20 Гц. Кожный кровоток или показатель микроциркуляции (ПМ), характеризующий скорость потока эритроцитов в единицу времени [24], регистрировали с помощью двухканального лазерного доплеровского анализатора ЛАКК-02 («ЛАЗМА», Россия) с частотой дискретизации 20 Гц при длине волны 1.06 мкм и мощности излучения 1.2 мВт). Локальный нагрев осуществляли управляемым нагревателем, состоящим из элемента Пельтье и термистора (датчика температуры). Площадь поверхности нагрева составляла 201 мм<sup>2</sup>, в центре располагался ЛДФ-зонд. Нагрев осуществлялся со скоростью 6°С/мин для сокращения времени переходных процессов и времени регистрации сигналов. Максимальная температура нагрева со-

ставляла 38°С для исключения болевых эффектов из-за быстрого нагревания и для исключения вовлечения мышечного кровотока [8, 25–28]. Для дальнейшего анализа использовали первые (покой) и последние (локальный нагрев) 15 мин каждого записанного сигнала (рис. 1), чтобы исключить быстрый переходный процесс, соответствующий аксон-рефлексу.

**Анализ данных.** Для каждого испытуемого оценивали интегральные показатели микроциркуляции как усредненные за 15-минутные временные интервалы значения мгновенных ПМ в покое и при локальном нагреве. Резерв кожного кровотока (РКК) оценивали как выраженное в процентах отношение интегрального ПМ, измеренного при локальном нагреве, к интегральному ПМ в покое.

Сигналы ВСР и ЛДФ были подвергнуты спектральному вейвлет-анализу, который широко используется для изучения нестационарных колебаний в ССС [12, 29]. Расчеты выполняли с использованием алгоритма адаптивного вейвлет-преобразования и материнской вейвлет-функции Морле [30]. В качестве интегральных параметров спектрального анализа использовали абсолютные  $E_{i,j}$  и нормированные  $\hat{E}_{i,j}$  энергии колебаний, которые рассчитывали как

$$E_{i,j} = \int_{f_{i,j,L}}^{f_{i,j,R}} A^2(f) df, \quad (1)$$

$$\hat{E}_{i,j} = \frac{\int_{f_{i,j,L}}^{f_{i,j,R}} A^2(f) df}{\int_{f_L}^{f_R} A^2(f) df}, \quad (2)$$

где  $A(f)$  – амплитуда спектральной компоненты на частоте  $f$ ,  $f_{i,j,L}$  и  $f_{i,j,R}$  – это левая и правая границы для  $i$ -го сигнала  $j$ -го частотного интервала со-

**Таблица 1.** Медианные значения показателей микроциркуляции в покое и при локальном нагреве

	ПМ <sub>предплечье</sub> , усл. ед.			ПМ <sub>стопа</sub> , усл. ед.		
	покой	нагрев	РКК, %	покой	нагрев	РКК, %
Контроль (n = 22)	8.1 (5.6÷9.9)	19.1 <sup>#</sup> (14.7÷19.6)	225.8 (187.1÷325.0)	2.8 <sup>^</sup> (2.3÷6.1)	10.0 <sup>^#</sup> (6.7÷12.8)	244.8 (196.4÷358.9)
Больные СД2Т (n = 22)	7.9 (5.8÷10.2)	17.3 <sup>#</sup> (14.9÷19.4)	214.4 (181.4÷248.0)	3.0 <sup>^</sup> (2.1÷4.7)	7.0 <sup>^#</sup> (5.0÷9.9)	184.0* (169.9÷249.5)

Примечание. Достоверные различия между: \* – группами по критерию Манна–Уитни,  $p < 0.05$ ; # – покой и нагрев внутри одной группы по критерию Уилкоксона,  $p < 0.001$ ; ^ – предплечье и стопа внутри одной группы по критерию Манна–Уитни,  $p < 0.001$ . Данные представлены в виде медиан с 25 и 75 перцентилями.

ответственно, индекс  $i$  соответствовал ВСР, ЛДФрк и ЛДФнг, а индекс  $j$  соответствовал очень низкочастотному (VLF, 0.008–0.04 Гц), низкочастотному (LF, 0.04–0.15 Гц) и высокочастотному (HF, 0.15–0.4 Гц) интервалам для ВСР; эндотелиальному (E, 0.008–0.021 Гц), нейрогенному (N, 0.021–0.056 Гц), миогенному (M, 0.056–0.145 Гц), респираторному (R, 0.145–0.6 Гц) и кардио- (C, 0.6–2 Гц) интервалам для ЛДФ,  $f_L$  и  $f_R$  – это левая и правая границы анализируемых частотных диапазонов: 0.008–0.4 Гц для ВСР и 0.008–2.0 Гц для ЛДФ.

С помощью ROC-анализа оценивали дискриминационную способность интегральных параметров спектров (предикторов, абсолютных  $E_{i,j}$  и нормированных  $\hat{E}_{i,j}$  энергий колебаний) различать группы испытуемых между собой. ROC-анализ проводили для линейной комбинации предикторов с помощью обобщенного алгоритма линейной регрессии и логистической модели с биномиальным распределением и последующим выявлением наиболее значимых предикторов, для которых строились ROC-кривые [21].

Все расчеты и статистический анализ были выполнены с использованием программного обеспечения Matlab (MathWorks, США). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Оценку параметров логистической модели и наиболее значимых предикторов проводили в программе Matlab с помощью функций fitglm и stepwiseglm соответственно. ROC-кривые строили с помощью функции perfcurve.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

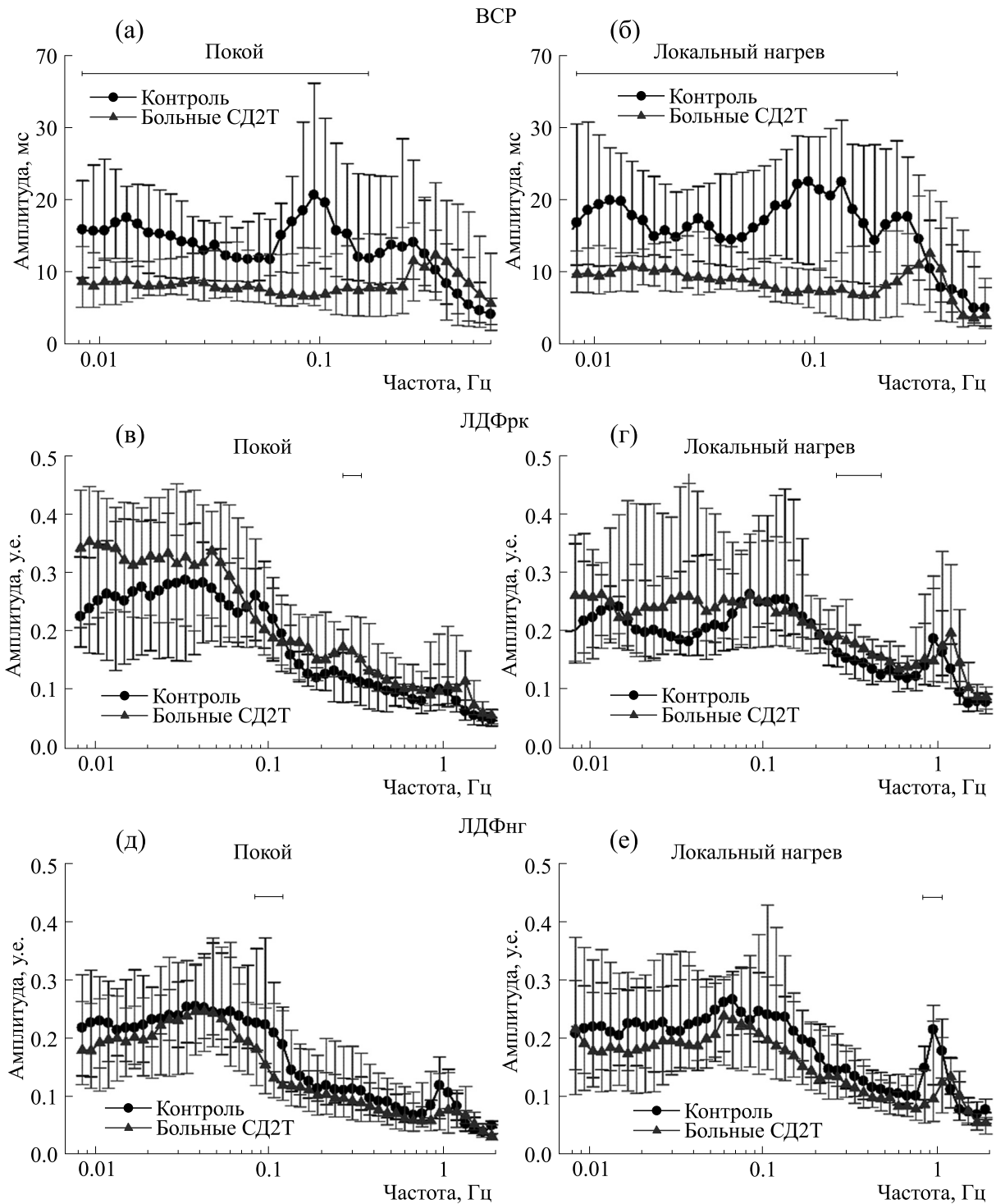
**Физиологические параметры.** Между группами участников не было различий в артериальном давлении (систолическом и диастолическом):  $129 \pm 3$  и  $77 \pm 2$  мм рт. ст. у больных и  $124 \pm 3$  и  $80 \pm 2$  мм рт. ст. в контрольной группе. Пациенты с СД2Т по сравнению с добровольцами контрольной группы характеризовались: повышенным ин-

дексом массы тела ( $32 \pm 1$  и  $26 \pm 1$  кг/м<sup>2</sup>), уровнем глюкозы ( $8.8 \pm 0.7$  и  $5.3 \pm 0.1$  ммоль/л), HbA1c ( $8.0 \pm 0.5\%$  и  $5.5 \pm 0.1\%$ ) и триглицеридов ( $2.4 \pm 0.3$  и  $1.1 \pm 0.1$  ммоль/л). Кроме того, возраст добровольцев контрольной группы ( $53 \pm 2$  года) отличался от возраста пациентов ( $66 \pm 2$  года). Однако в связи с постепенным и слабо выраженным снижением кожного кровотока после ~35–45 лет [31–34] мы предположили, что возрастные различия между группами принципиально не влияли на изменение параметров ССС.

**Частота сердечных сокращений и кожная перфузия.** Частота сердечных сокращений не различалась между группами в состоянии покоя: 61 ( $57 \div 69$ ) уд/мин в контрольной группе по сравнению с 70 ( $59 \div 79$ ) уд/мин у пациентов. Локальный нагрев не изменил этот параметр: 60 ( $57 \div 68$ ) уд/мин в контрольной группе относительно 69 ( $58 \div 78$ ) уд/мин у пациентов. Данные представлены в виде медиан, 25% и 75%.

Значения ПМ на предплечье и на стопе не отличались между группами в состоянии покоя, а локальный нагрев привел к значительному увеличению обоих этих параметров (табл. 1). ПМ на стопе был ниже как в покое, так и при локальном нагреве в обеих группах по сравнению с соответствующими показателями на предплечье (табл. 1). Также у больных ПМ на стопе при локальном нагреве был значительно ниже соответствующего параметра у здоровых добровольцев. Значения РКК на предплечье достоверно не различались между группами, в то время как данный параметр на стопе был достоверно ниже у пациентов по сравнению с контрольной группой (табл. 1), что указывает на нарушение функции микрососудов стопы при СД2Т.

**Спектральные характеристики.** Анализ показал достоверные различия спектров ВСР между пациентами и здоровыми участниками. Спектральные компоненты ВСР были ниже в VLF и LF интервалах в диапазоне 0.008–0.15 Гц в покое и в VLF-, LF- и частично в HF-интервалах в диапазо-



**Рис. 2.** Спектральные характеристики анализируемых сигналов: (а, б) – варибельность сердечного ритма (ВСР), колебания кровотока в коже (в, г) – предплечья и (д, е) – стопы в покое и во время локального нагрева, соответственно, у контрольной группы и пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (больные СД2Т). Черными горизонтальными линиями отмечены области достоверных различий между группами по критерию Манна–Уитни,  $p < 0.05$ . Данные представлены в виде медиан с 25 и 75 перцентилиями.

не 0.008–0.24 Гц при локальном нагреве у пациентов по сравнению с контрольной группой (рис. 2а,б, табл. 2).

Спектры колебаний кожного кровотока верхних и нижних конечностей также достоверно различались между группами испытуемых. Амплиту-

**Таблица 2.** Абсолютные энергии ( $E_{i,j}$ ) колебаний спектральных компонент анализируемых сигналов в покое и при локальном нагреве

	Контроль ( $n = 22$ )		Больные СД2Т ( $n = 22$ )	
	Покой	Локальный нагрев	Покой	Локальный нагрев
<b>BCP</b>				
VLF	7.4 3.0÷12.9	8.8 <sup>#</sup> 4.9÷18.4	2.2* 1.4÷5.1	3.3* <sup>#</sup> 2.1÷6.5
LF	25.5 11.5÷71.0	48.3 13.6÷82.0	6.1* 2.7÷17.6	6.9* 3.5÷13.8
HF	41.1 20.5÷136.9	60.2 20.2÷154.5	29.9 10.3÷81.4	31.4 8.0÷73.9
<b>ЛДФрк (<math>\times 10^{-4}</math>)</b>				
E	9.8 3.2÷20.6	6.4 4.2÷10.9	14.9 6.0÷21.3	8.2 <sup>#</sup> 3.8÷24.2
N	28.2 10.0÷50.6	13.6 9.6÷36.6	36.3 17.6÷64.4	23.0 16.1÷69.4
M	44.8 25.0÷72.8	60.3 <sup>#</sup> 38.9÷138.0	36.6 26.7÷84.8	66.6 28.3÷106.0
R	53.3 31.8÷83.9	137.0 <sup>#</sup> 94.6÷153.0	94.7* 59.5÷201.0	144.0 110.0÷246.0
C	79.4 48.1 ÷169.0	228.0 <sup>#</sup> 107.0÷372.0	146.0* 92.3÷313.0	413.0* <sup>#</sup> 268.0÷540.0
<b>ЛДФнг (<math>\times 10^{-4}</math>)</b>				
E	6.4 3.8÷15.0	5.9 3.3÷9.3	5.1 2.3÷9.0	4.2 1.5÷15.1
N	21.5 13.1÷36.5	18.8 7.1÷30.8	18.3 11.3÷43.5	12.4 7.6÷35.1
M	38.3 20.8÷77.4	49.9 33.8÷76.8	23.9 13.8÷57.7	36.9 <sup>#</sup> 17.8÷150.0
R	47.5 30.0÷69.9	94.7 <sup>#</sup> 57.6÷161.0	33.3 15.9÷112.0	56.4 35.1÷128.0
C	88.6 62.5÷120.0	240.0 <sup>#</sup> 144.0÷318.0	71.0 35.5÷191.0	177 <sup>#</sup> 86.6÷296.0

Примечание. Достоверные различия между: \* – группами по критерию Манна–Уитни,  $p < 0.05$ ; # – покой и нагрев внутри одной группы по критерию Уилкоксона,  $p < 0.05$ . Данные представлены в виде медиан с 25 и 75 перцентилями.

ды или абсолютные энергии колебаний кровотока предплечья были выше в респираторном (R) и кардио- (C) интервалах в покое и при локальном нагреве у пациентов по сравнению с соответствующими параметрами в контрольной группе (рис. 2в,г, табл. 2). На стопе, наоборот, эти параметры были ниже в миогенном (M) интервале в покое и в кардио- (C) интервале при локальном нагреве у пациентов по сравнению с контролем (рис. 2д,е).

Локальный нагрев достоверно изменял абсолютную энергию колебаний в анализируемых сигналах. Так, наблюдалось увеличение абсолютной энергии колебаний BCP в VLF-интервале в обеих группах испытуемых (табл. 2). Для ЛДФрк этот параметр увеличивался в миогенном (M), ре-

спираторном (R) и кардио- (C) интервалах в контроле, снижался в эндотелиальном (E) и увеличивался в кардио- (C) интервалах у пациентов (табл. 2). Для ЛДФнг наблюдалось увеличение этого параметра в респираторном (R) и кардио- (C) интервалах в контроле и в миогенном (M) и кардио- (C) интервалах у пациентов (табл. 2).

Для выявления изменений пропорциональных соотношений между спектральными компонентами, характеризующих спектральный состав анализируемых сигналов, были оценены нормированные энергии колебаний. Сравнение пациентов с контролем показало, что у пациентов наблюдается достоверное снижение этого параметра (табл. 3): 1) для BCP в LF-интервале при локальном нагреве; 2) для ЛДФрк в миогенном

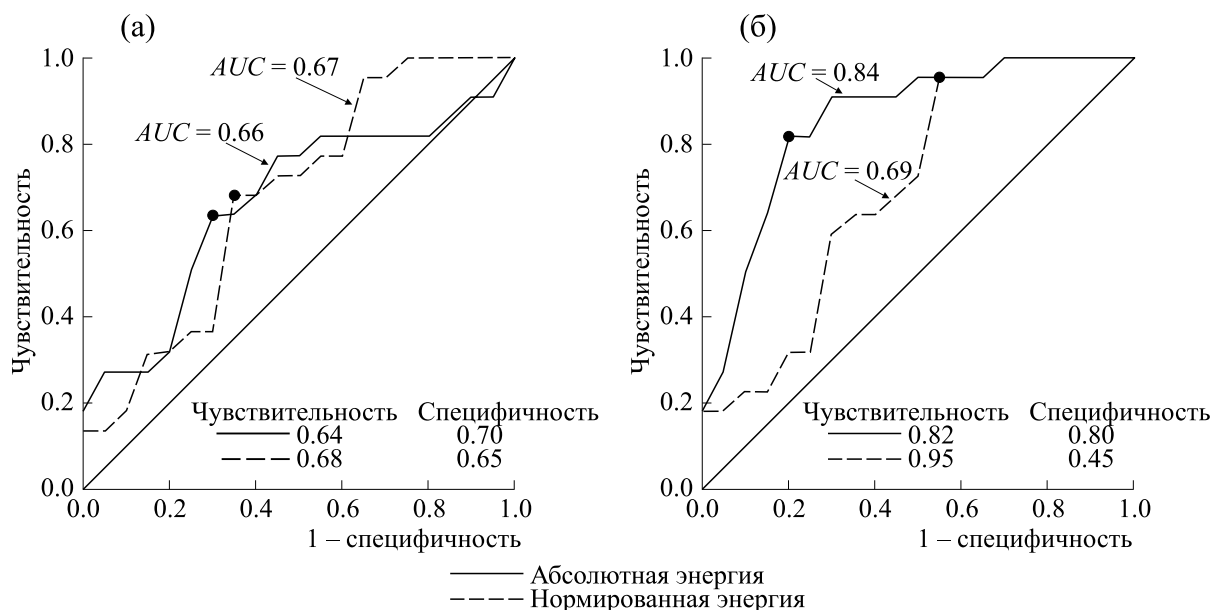
**Таблица 3.** Нормированные энергии ( $\hat{E}_{i,j}$ ) колебаний спектральных компонент анализируемых сигналов в покое и при локальном нагреве

	Контроль ( $n = 22$ )		Больные СД2Т ( $n = 22$ )	
	Покой	Локальный нагрев	Покой	Локальный нагрев
<b>ВСП</b>				
VLF	0.9 0.6÷1.3	0.9 0.5÷1.6	0.7 0.3÷1.7	0.9 <sup>#</sup> 0.5÷1.8
LF	3.3 1.8÷5.3	3.0 1.9÷5.2	2.3 1.4÷3.6	2.4* 1.8÷3.3
HF	5.2 4.2÷7.2	5.0 3.7÷7.0	6.8 4.8÷8.1	6.2 5.2÷7.6
<b>ЛДФрк</b>				
E	0.33 0.19÷0.53	0.16 <sup>#</sup> 0.09÷0.20	0.42 0.23÷0.62	0.15 <sup>#</sup> 0.06÷0.23
N	1.08 0.54÷1.60	0.37 <sup>#</sup> 0.22÷0.57	1.03 0.56÷1.70	0.52 <sup>#</sup> 0.17÷0.73
M	1.79 1.07÷2.22	1.77 0.93÷2.36	1.37* 0.75÷1.58	1.08* 0.55÷1.66
R	2.57 1.71÷3.14	2.66 2.14÷3.45	2.65 1.82÷3.44	2.54 2.14÷3.30
C	3.64 3.09÷5.11	5.16 <sup>#</sup> 3.85÷5.91	3.79 3.10÷4.83	5.65 <sup>#</sup> 4.39÷6.56
<b>ЛДФнг</b>				
E	0.34 0.15÷0.49	0.11 <sup>#</sup> 0.07÷0.27	0.19 0.10÷0.54	0.16 0.09÷0.21
N	0.95 0.54÷1.72	0.36 <sup>#</sup> 0.20÷0.73	0.80 0.54÷1.72	0.58 <sup>#</sup> 0.31÷0.92
M	1.82 1.20÷2.63	1.38 0.77÷2.21	1.35* 1.04÷1.60	1.27 0.87÷2.09
R	1.98 1.26÷2.69	2.40 1.83÷3.30	2.06 1.08÷4.20	2.45 1.65÷3.04
C	4.29 2.49÷5.04	5.43 <sup>#</sup> 3.51÷6.32	3.77 2.90÷6.37	5.10 3.89÷6.40

Примечание. Достоверные различия между: \* – группами по критерию Манна–Уитни,  $p < 0.05$ ; # – покой и нагрев внутри одной группы по критерию Уилкоксона,  $p < 0.05$ . Данные представлены в виде медиан с 25 и 75 перцентилями.

(M) интервале в покое и при нагреве; 3) для ЛДФнг в миогенном (M) интервале в покое. Локальный нагрев достоверно изменял соотношения между спектральными компонентами анализируемых сигналов внутри групп по сравнению с покоем следующим образом (табл. 3): 1) для ВСП увеличивал энергию колебаний в VLF-интервале у пациентов; 2) для ЛДФрк снижал энергию колебаний в эндотелиальном (E) и нейрогенном (N) и увеличивал ее в кардио- (C) интервалах у обеих групп испытуемых; 3) для ЛДФнг у здоровых участников снижал энергию колебаний в эндотелиальном (E) и нейрогенном (N) и увеличивал ее в кардио- (C) интервалах, а у пациентов снижал этот параметр в нейрогенном (N) интервале.

**ROC-анализ.** ROC-анализ позволил выявить наиболее значимые предикторы, различающие контрольную группу и пациентов с СД2Т в покое и при локальном нагреве (рис. 3). Показано, что наибольшей дискриминационной мощностью, характеризуемой площадью под ROC-кривыми (AUC), обладают абсолютная энергия колебаний кожного кровотока на предплечье в кардио- (C) интервале  $E_{\text{ЛДФрк,C}}$  и нормированная энергия колебаний ВСП в LF-интервале  $\hat{E}_{\text{ВСП,LF}}$  в покое ( $AUC \geq 0.66$ , рис. 3а). Локальный нагрев усилил дискриминационную мощность ( $AUC \geq 0.69$ ) и изменил предикторы, связанные с абсолютными энергиями колебаний, но не повлиял на предикторы, связанные с нормированными энергиями



**Рис. 3.** ROC-кривые для  $E_{\text{ЛДФр},C}$  и следующих наиболее значимых предикторов, различающих контрольную группу и пациентов с СД2Т: (а) – в покое – (сплошная линия) и  $\hat{E}_{\text{ВСР},LF}$  (пунктирная линия); (б) – при локальном нагреве – линейная комбинация  $E_{\text{ВСР},VLF}$ ,  $E_{\text{ВСР},LF}$ ,  $E_{\text{ЛДФр},R}$  (сплошная линия) и  $\hat{E}_{\text{ВСР},LF}$  (пунктирная линия); AUC – площадь под кривой.

колебаний (рис. 3б). При локальном нагреве наиболее значимыми предикторами были  $E_{\text{ВСР},VLF}$ ,  $E_{\text{ВСР},LF}$ ,  $E_{\text{ЛДФр},R}$  и  $\hat{E}_{\text{ВСР},LF}$ .

### ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее мы показали изменение спектральных параметров колебательных процессов в ССС при системном воздействии (постуральный тест) у больных СД2Т по сравнению с контрольной группой [21]. В настоящей работе мы исследовали изменение спектральных характеристик колебаний в ССС при локальном воздействии (локальный нагрев верхних и нижних конечностей) у пациентов с СД2Т.

Были выявлены следующие изменения у пациентов по сравнению с контролем: 1) сниженный РКК на стопе; 2) сниженная амплитуда/энергия колебаний ВСР в VLF-, LF- и HF-интервалах в покое и при локальном нагреве, при этом нагрев изменял структуру спектра ВСР, увеличивая относительный вклад колебаний в VLF-интервале; 3) увеличенная амплитуда/энергия колебаний кожного кровотока на предплечье в респираторном и кардиоинтервалах в покое и при нагреве; 4) сниженная амплитуда колебаний кожного кровотока на стопе в миогенном интервале в покое и в кардиоинтервале при локальном нагреве. При этом последний воздействовал на структуру спектра ЛДФнг отличным от контроля образом. Были выявлены наиболее значимые предик-

торы, различающие контрольную группу и пациентов с СД2Т в покое и при локальном нагреве, которые связаны с энергией колебаний в низкочастотном диапазоне для ВСР и в высокочастотном диапазоне для кожного кровотока предплечья.

Снижение РКК у пациентов по сравнению с контрольной группой указывает на нарушение перфузии крови на нижних конечностях при СД2Т. Это может быть связано с тем, что повышенный уровень глюкозы в крови при СД2Т приводит к повреждению сосудов, в первую очередь дистальных отделов нижних конечностей, и, таким образом, к ухудшению кровоснабжения тканей. Снижение реакции перфузии кожи на локальное нагревание на тыльной стороне стопы у пациентов с СД2Т также было показано в работах других авторов [12, 35]. Однако есть исследования, где наблюдались также низкая кожная перфузия крови в покое, но высокая гиперемическая реакция на тепловую стимуляцию на подошвенной стороне большого пальца правой стопы у пациентов с СД1Т [36]. Различия в результатах могут быть связаны как с различными типами диабета, так и с различными участками измерения на коже. Например, подошвенная сторона стопы содержит большее количество артериовенозных анастомозов чем тыльная и, следовательно, имеет другую регуляцию кожного кровотока [8].

Ранее мы продемонстрировали снижение спектральных компонентов ВСР в LF- и HF-интервалах в покое и во время постурального воз-



действия при СД2Т [21]. Здесь мы получили те же результаты как в покое, так и в ответ на локальный нагрев, которые согласуются с другими исследованиями и указывают на нарушение симпатической и парасимпатической регуляции ВСР из-за негативного влияния высокого уровня глюкозы в крови [37–39]. При этом локальный нагрев изменял структуру спектра ВСР у пациентов, увеличивая вклад колебаний в VLF интервале, в отличие от контроля, где структура спектра не менялась. Это может свидетельствовать о том, что у больных СД2Т снижен резерв кожного кровотока для локальной терморегуляции и задействуются системные регуляторные механизмы [9].

Наше исследование показало более высокие респираторные и кардиоколебания кожного кровотока предплечья и более низкие миогенные колебания кожного кровотока стопы в покое у пациентов по сравнению с контрольной группой. Это согласуется с другими данными, касающимися более низкой спектральной плотности миогенного компонента у пациентов с гипергликемией и указывающими на серьезное нарушение активности гладкомышечных клеток при гипергликемии [40]. При нагревании различия амплитуд колебаний кожного кровотока между пациентами и контролем на предплечье сохранялись, а на стопе нет. Различия в миогенном интервале исчезали, тогда как в кардио-интервале появлялись и характеризовались сниженной амплитудой колебаний у пациентов по сравнению с контрольной группой. Другие авторы показали аналогичные изменения спектральной энергии на частоте 1 Гц во время локального теплового теста [12]. Это может быть связано с тем, что нагрев индуцирует вазодилатацию и, следовательно, увеличивает скорость кожного кровотока, что приводит к увеличению кардио-колебаний у здоровых людей. Однако у больных СД2Т локальный нагрев не влиял на спектральные параметры стопы из-за снижения резервов и скорости кожного кровотока.

Структура спектров колебаний кожного кровотока конечностей также менялась при локальном нагреве. На предплечье у пациентов эти изменения были аналогичны контрольной группе, характеризующейся снижением вклада локальных (эндотелиальный, нейрогенный) и увеличением вклада центральных (кардио-) регуляторных механизмов. Однако на стопе у больных СД2Т структура спектра колебаний кожного кровотока менялась иным образом, нежели в контроле, где изменения были аналогичны изменениям на предплечье. У пациентов локальный нагрев приводил к снижению вклада только нейрогенного компонента, что свидетельствует о нарушении вазомоторных функций микрососудистого русла нижних конечностей.

ROC-анализ показал, что максимально эффективными предикторами с высокой дискриминационной мощностью ( $AUC \geq 0.69$ ) являются энергия колебаний ВСР и кожного кровотока в низкочастотном и респираторном диапазонах при локальном нагреве. Однако эти параметры оказались менее эффективными предикторами, чем значения флуоресценции кожи, уровень перфузии крови, скорость эритроцитов, РКК и площадь между кривыми кумулятивных сумм в ответ на локальный нагрев, выявленные другими авторами и позволяющие различать пациентов с СД2Т и контрольную группу [35, 41]. Несмотря на это, спектральные компоненты, характеризующие колебательные процессы, связанные с регуляторными механизмами в ССС, могут быть хорошими маркерами для выявления патологических микрососудистых изменений при СД2Т, и вместе с другими параметрами повышать чувствительность и специфичность тестов, использующих локальный нагрев.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен комплексный анализ спектральных характеристик физиологических сигналов (ВСР, ЛДФ), отражающих работу регуляторных механизмов в ССС, в покое и при локальном нагреве верхних и нижних конечностей у больных СД2Т и у условно здоровых добровольцев. Показано, что спектральные компоненты и структура спектров у больных отличаются от аналогичных параметров в контрольной группе, а локальный нагрев меняет их отличным от контроля образом. Результаты свидетельствуют о нарушенной терморегуляции, а также изменениях в локальной и системной регуляции микрогемодинамики кожи конечностей у больных. Выявлены параметры, обладающие высокой дискриминационной мощностью для различия больных СД2Т и здоровых добровольцев при локальном нагреве, которые могут быть хорошими маркерами для обнаружения патологических микрососудистых изменений при развитии сахарного диабета на ранних стадиях с использованием неинвазивных тестов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят всех участников исследования (здоровых добровольцев и пациентов).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00215).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.) и протоколом локального этического комитета Больницы Пушкинского научного центра РАН № 2 от 10.04.2014. Все испытуемые давали добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S. De Rosa, B. Arcidiacono, E. Chieffari, et al., *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **9**, 2 (2018).
2. I. Eleftheriadou, A. Tentolouris, P. Grigoropoulou, et al., *J. Diabetes Complications*, **33** (2), 165 (2019).
3. I. V. Tikhonova, A. A. Grinevich, A. V. Tankanag, et al., *Biophysics (Oxford)*, **67** (4), 647 (2022).
4. A. Adamska, A. Araszkiwicz, S. Pilacinski, et al., *Microvasc. Res.*, **121**, 46 (2019).
5. J. L. Cracowski and M. Roustit, *Compr. Physiol.*, **10** (3), 1105 (2020).
6. A. A. Romanovsky, *Handbook Clin. Neurol.*, **156**, 3 (2018).
7. T. H. Chou and E. F. Coyle, *Temperature (Austin)*, **10** (3), 326 (2023).
8. J. M. Johnson, C. T. Minson and D. L. Kellogg, Jr., *Compr. Physiol.*, **4** (1), 33 (2014).
9. G. P. Kenny, R. J. Sigal and R. McGinn, *Temperature (Austin)*, **3** (1), 119 (2016).
10. D. D. Sandeman, C. A. Pym, E. M. Green, et al., *Brit. Med. J.*, **302** (6785), 1122 (1991).
11. F. Khan, T. A. Elhadd, S. A. Greene, et al., *Diabetes Care*, **23** (2), 215 (2000).
12. I. Mizeva, E. Zharkikh, V. Dremin, et al., *Microvasc. Res.*, **120**, 13 (2018).
13. J. Francisco and C. Renero, *Med. Hypotheses*, **176**, 111086 (2023).
14. A. Caselli, L. Uccioli, L. Khaodhiar, et al., *Microvasc. Res.*, **66** (2), 134 (2003).
15. P. R. Vas, A. Q. Green, and G. Rayman, *Diabetologia*, **55** (3), 795 (2012).
16. A. Parshakov, N. Zubareva, S. Podtaev, et al., *Adv. Skin Wound Care*, **30** (4), 158 (2017).
17. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology., *Circulation*, **93** (5), 1043 (1996).
18. J. E. Ortiz-Guzman, S. Molla-Casanova, O. J. Arias-Mutis, et al., *J. Cardiovasc. Dev. Dis.*, **10** (5), (2023).
19. Y. K. Jan, *Diagnostics (Basel)*, **12** (3), (2022).
20. S. Smith, P. Normahani, T. Lane, et al., *Life (Basel)*, **12** (8), (2022).
21. I. V. Tikhonova, A. V. Tankanag, I. E. Guseva, et al., *Biomed. Signal Processing and Control*, **79**, 104222 (2023).
22. World Health Organization, <https://www.who.int/health-topics/diabetes> (дата обращения 28.08.2023).
23. I. V. Tikhonova, A. A. Grinevich, I. E. Guseva, et al., *Microcirculation*, **28** (1), e12655 (2021).
24. P. A. Oberg, T. Tenland and G. E. Nilsson, *Acta Med. Scand. Suppl.*, **687**, 17 (1984).
25. A. W. Guy, J. F. Lehmann, and J. B. Stonebridge, *Proc. IEEE*, **62** (1), 55 (1974).
26. J. M. Johnson, G. L. Brengelmann, and L. B. Rowell, *J. Appl. Physiol.*, **41** (6), 826 (1976).
27. D. M. Keller, M. Sander, B. Stallknecht, et al., *J. Physiol.*, **588** (Pt 19), 3799 (2010).
28. I. Heinonen, R. M. Brothers, J. Kemppainen, et al., *J. Appl. Physiol.*, **111** (3), 818 (2011).
29. A. Stefanovska, M. Bracic, and H. D. Kvernmo, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **46** (10), 1230 (1999).
30. A. Tankanag and N. Chemeris, *Phys. Med. Biol.*, **53** (21), 5967 (2008).
31. L. Li, S. Mac-Mary, J. M. Sainthillier, et al., *Gerontology*, **52** (3), 142 (2006).
32. I. V. Tikhonova, A. V. Tankanag, and N. K. Chemeris, *Skin Res. Technol.*, **19** (1), e174 (2013).
33. K. Jin, *Aging Dis.*, **10** (3), 676 (2019).
34. C. Aliani, E. Rossi, P. Francia, et al., *Physiol. Meas.*, **42** (12), (2021).
35. A. I. Zherebtsova, V. V. Dremin, I. N. Makovik, et al., *Front. Physiol.*, **10**, 416 (2019).
36. M. Sorelli, P. Francia, L. Bocchi, et al., *Microvasc. Res.*, **124**, 91 (2019).
37. A. Gottsater, A. R. Ahlgren, S. Taimour, et al., *Clin. Auton Res.*, **16** (3), 228 (2006).
38. S. C. de Moura-Tonello, A. Porta, A. Marchi, et al., *PLoS One*, **11** (3), e0148903 (2016).
39. T. Benichou, B. Pereira, M. Mermillod, et al., *PLoS One*, **13** (4), e0195166 (2018).
40. T. Mastantuono, M. Di Maro, M. Chiurazzi, et al., *Transl. Med. UniSa.*, **15**, 1 (2016).
41. I. Kozlov, E. Zherebtsov, G. Masalygina, et al., *Diagnostics (Basel)*, **11** (2), 267 (2021).

## **Analysis of Oscillatory Processes in the Cardiovascular System in Response to Local Heating in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus**

**I.V. Tikhonova\*, A.V. Tankanag\*, I.E. Guseva\*\*, and A.A. Grinevich\***

*\*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

*\*\*Hospital of Pushchino Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 1, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

A comprehensive spectral analysis was used to assess heart rate variability and skin perfusion pattern of limbs in patients with type 2 diabetes mellitus in response to local heating and to identify significant predictors of physiological and pathological changes in the cardiovascular system. An electrocardiogram and skin perfusion on the forearm and foot were measured using Laser Doppler flowmetry at rest and during local heating in both healthy volunteers and patients with type 2 diabetes. The wavelet analysis was applied to Laser Doppler signals and heart rate variability (based on electrocardiogram signals). ROC analysis was used to evaluate significant predictors. The analysis results of patients with type 2 diabetes were compared with healthy controls. The following changes were observed in patients 1) impairment of skin blood flow reserve on the foot during heating, 2) lower amplitude oscillations in heart rate at rest and during heating, 3) an increase in amplitude of oscillations in the skin blood flow from the forearm in intervals related to respiration and heart activity at rest and during heating, 4) a decrease in amplitude of oscillations in the skin blood flow on the foot in the interval related to myogenic activity at rest and in cardio-interval during heating. The parameters of cardiovascular system (energies of heart rate variability at low-frequencies recorded by laser Doppler flowmetry on forearm in intervals related to respiration activity) with high discriminative power were revealed to distinguish patients from healthy subjects in response to local heating; these parameters can be used as markers for early diagnosis of microvascular disorders.

*Keywords: type 2 diabetes mellitus; skin blood flow oscillations; heart rate variability; local heating, wavelet analysis*