

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»

На правах рукописи

Жарких Елена Валерьевна

**МЕТОД И ПОРТАТИВНОЕ УСТРОЙСТВО
ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО
КРОВОТОКА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ**

Специальность 2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук,
доцент Дунаев Андрей Валерьевич

Орёл – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ	
ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВотоКА.....	14
1.1 Строение системы микроциркуляции крови.....	14
1.2 Расстройства периферического кровотока.....	19
1.3 Особенности расстройств периферического кровотока при различных социально-значимых заболеваниях.....	24
1.4 Методы диагностики периферического кровообращения.....	28
1.5 Экспертная оценка уровня ошибок экспериментальной диагностики расстройств периферического кровотока.....	32
1.6 Оптические методы диагностики расстройств периферического кровотока.....	36
1.6.1 Методы капилляроскопии.....	37
1.6.2 Спектроскопия диффузного отражения.....	41
1.6.3 Гиперспектральная визуализация.....	43
1.6.4 Метод лазерной доплеровской флоуметрии.....	45
1.7 Экспериментальные исследования по оценке возможностей применения вейвлет-анализа для диагностики расстройств периферического кровотока методом ЛДФ.....	54
1.8 Выводы по главе 1.....	65
ГЛАВА 2. РАЗРАБОТКА ПОРТАТИВНОГО УСТРОЙСТВА ЛАЗЕРНОЙ	
ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ	
ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВотоКА.....	67
2.1 Численное моделирование распространения оптического излучения в коже с различными характеристиками для анализа диагностического объёма биоткани с учётом конструктивных особенностей устройств.....	67
2.2 Модель кожи.....	75
2.3 Результаты моделирования.....	78
2.4 Медико-технические требования к портативным устройствам ЛДФ.....	87
2.5 Принцип построения портативного устройства ЛДФ.....	89

2.6 Экспериментальные исследования по сравнению результатов измерения тканевой перфузии портативным и стационарным устройствами лазерной доплеровской флоуметрии	95
2.7 Выводы по главе 2.....	99
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВотоКА.....	101
3.1 Цели и задачи экспериментальных исследований.....	101
3.2 Исследования возрастных изменений состояния системы микроциркуляции крови	101
3.3 Исследования изменений в периферическом кровотоке при СД 2 типа.....	108
3.4 Контроль динамических изменений тканевой перфузии у пациентов с СД 2 типа в процессе инфузий	118
3.5 Исследования расстройств периферического кровотока при постковидном синдроме.....	129
3.6 Выводы по главе 3.....	139
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МЕТОДА И БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВотоКА.....	141
4.1 Построение модели классификации с применением линейного дискриминантного анализа	141
4.2 Верификация, оценка чувствительности и специфичности модели классификации.....	145
4.3 Синтез итоговой модели классификации для выявления расстройств периферического кровотока у пациентов с СД 2 типа.....	147
4.4 Метод диагностики расстройств периферического кровотока при сахарном диабете 2 типа.....	148
4.5 Синтез биотехнической системы диагностики расстройств периферического кровотока.....	154
4.6 Оценка перспектив расширения функциональных возможностей портативных диагностических устройств	157
4.7 Выводы по главе 4.....	165

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	167
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	170
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	172

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Исследования функционирования системы микроциркуляции крови (МЦК) остаются в центре внимания учёных на протяжении многих десятилетий в связи с её вовлечённостью во многие жизненно-важные процессы в организме. Помимо основной функции по доставке к тканям питательных веществ и удаления продуктов распада, МЦК играет важную роль в обмене жидкостей между кровью и тканями, доставке гормонов к органам-мишеням и обеспечении защиты организма от патогенов. Вовлечённость системы МЦК во многие функции организма приводит к тому, что микроциркуляторное русло является одним из первых звеньев в патогенезе различных заболеваний. Оценка нарушений со стороны системы МЦК позволяет выявить проявления развивающихся сердечно-сосудистых заболеваний, предшествующих нарушениям в крупных сосудах. Предыдущие работы (R. Ijzerman, B. Levy, S. Wheatcroft) [1–3] показали, что системная микроциркуляторная дисфункция может быть связана с факторами риска ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, инсулинорезистентности, сахарного диабета (СД), ревматических заболеваний (РЗ) и ряда других заболеваний.

Расстройства периферического кровотока возникают вследствие развития патологических процессов и связаны в первую очередь с изменением скорости или количества циркулирующей крови, её реологических свойств и т.д. Они различаются как по вызывающим их причинам, так и по клиническим проявлениям, вследствие чего актуальным является разработка новых эффективных методов диагностики расстройств периферического кровотока и их динамического наблюдения в процессе терапии.

Степень разработанности темы исследования. Методы оптической неинвазивной диагностики уже успешно зарекомендовали себя в вопросах диагностики расстройств периферического кровотока, связанных с развитием сердечно-сосудистых заболеваний, СД, ревматических заболеваний и др. В диагностике МЦК наибольшее распространение получил метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), позволяющий оценить величину перфузии тканей кровью и работу физиологических механизмов, регулирующих периферический кровоток – посредством анализа амплитуд эндотелиальных

(0,0095-0,21 Гц – АЭ), нейрогенных (0,021-0,052 Гц – АН), миогенных (0,052-0,145 Гц – АМ), дыхательных (0,145-0,6 Гц – АД) и сердечных (0,6-2 Гц – АС) колебаний. Большой вклад в развитие метода ЛДФ и его распространение в различных областях медицины сделали отечественные учёные – Крупаткин А.И., Козлов В.И., Сидоров В.В., Федорович А.А., Дунаев А.В., Рогаткин Д.А., Танканаг А.В. и др., а среди зарубежных учёных существенный вклад внесли R. Bonner, R. Nossal, A. Stefanovska, M. Leahy, P.Oberg, G. Nilsson, T. Stromberg, A. Liebert и др. Однако, большинство предлагаемых ранее решений основывалось на применении длительных протоколов с использованием функциональных (нагрузочных) проб (окклюзионных, тепловых, ортостатических и др.) и большого количества габаритного оборудования для их осуществления, что делало процесс измерения затянутым, некомфортным, иногда болезненным для пациента и методологически сложным для медицинского персонала (необходимость фиксации оптического зонда на коже пациента, высокая чувствительность к артефактам движения и т.д.). В связи с чем данные трудоёмкие методы не находят в настоящее время широкого применения в клинической практике. Недавняя разработка миниатюрных источников лазерного излучения (прежде всего, VCSEL-лазеров) позволила реализовать технологию ЛДФ в виде портативных (носимых) анализаторов, работающих без оптического волокна и передающих данные измерений на персональный компьютер по протоколам Bluetooth или Wi-Fi, что значительно упрощает их применение в сфере персонализированной медицины.

Таким образом, на сегодняшний день актуальными задачами диагностики расстройств периферического кровотока являются поиск и обоснование новых диагностических критериев на основе метода ЛДФ без проведения функциональных проб в целях повышения качества диагностики на более ранних стадиях развития патологии с меньшей вероятностью ложноотрицательного результата, а также разработка новых методов и портативных устройств диагностики на их основе.

Объектом исследования являются методы и средства инструментальной диагностики расстройств периферического кровотока.

Предметом являются портативное устройство ЛДФ и метод диагностики расстройств периферического кровотока на основе распределённой системы портативных устройств ЛДФ.

Целью диссертации является повышение качества диагностики расстройств периферического кровотока за счёт выявления патологических процессов с меньшей вероятностью ложноотрицательного результата и сокращение длительности исследования посредством разработки метода диагностики на основе распределённой системы портативных устройств ЛДФ без применения функциональных проб.

Задачами исследования являются:

1) Обзор и анализ расстройств периферического кровотока и применяемых в современной клинической практике инструментальных методов их диагностики.

2) Обоснование специализированных медико-технических требований (МТТ) к портативным устройствам ЛДФ, основанных на анализе диагностического объёма биоткани с учётом конструктивных особенностей устройств с помощью численного моделирования распространения оптического излучения в коже с различными характеристиками.

3) Разработка портативного устройства ЛДФ, позволяющего проводить диагностику расстройств периферического кровотока.

4) Апробация портативного устройства ЛДФ в клинических условиях с целью разработки новых диагностических критериев для выявления расстройств периферического кровотока.

5) Разработка новых диагностических критериев выявления расстройств периферического кровотока у пациентов с СД 2-ого типа, основанных на регистрации в различных точках организма человека параметров перфузии с помощью распределённой системы портативных устройств ЛДФ без проведения функциональных проб и их дальнейшей обработке, и разработка модели классификации расстройств периферического кровотока у пациентов с СД 2-ого типа на их основе.

6) Разработка метода диагностики расстройств периферического кровотока для пациентов с СД 2 типа на основе распределённой системы портативных устройств ЛДФ без проведения функциональных проб.

7) Разработка биотехнической системы (БТС) диагностики расстройств периферического кровотока на основе распределённой системы портативных устройств ЛДФ.

Методы исследования. Результаты работы получены на основе методов прикладной математической статистики, экспертного оценивания, метода численного моделирования Монте-Карло (МК), методов клинических исследований.

Научная новизна работы заключается в том, что при решении поставленных задач выявления расстройств периферического кровотока предложены:

1) Модель распространения оптического излучения в коже для портативного устройства ЛДФ, *основанная* на численном методе Монте-Карло, *отличающаяся* учётом разного уровня кровенаполнения и содержания меланина в ткани и *позволяющая* учесть конструктивные особенности устройства в виде расстояния между источником и приёмником излучения и обосновать специализированные МТТ к портативному устройству ЛДФ, обеспечивающие исследование периферического кровотока (регистрацию сигнала из слоя глубокого сосудистого сплетения);

2) Портативное устройство ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока, *включающее* VCSEL-лазер с длиной волны 850 нм, два фотодиода, равноудалённых от источника излучения на расстояние 1200 мкм, каналы фильтрации и обработки данных, *отличающееся* портативным исполнением и беспроводной реализацией и *позволяющее* диагностировать расстройства периферического кровотока при различных патологических состояниях за счёт одновременной регистрации перфузии несколькими устройствами в верхних и нижних конечностях организма человека;

3) Модель классификации для выявления расстройств периферического кровотока для пациентов с СД 2 типа, *базирующаяся* на одновременной регистрации перфузии методом ЛДФ в верхних (тыльная сторона запястья) и нижних (подушечка большого пальца стопы) конечностях пациента и их вейвлет-анализе с расчётом нутритивного кровотока с учётом нейрогенных, миогенных и сердечных осцилляций, и *позволяющая* сократить время исследования до 10 мин и классифицировать состояние периферического кровотока на наличие и отсутствие нарушений без применения функциональных проб;

4) Метод диагностики расстройств периферического кровотока при СД 2 типа, *базирующийся* на применении распределённой системы портативных устройств ЛДФ с одновременной регистрацией сигналов в верхних и нижних конечностях пациента с их последующим вейвлет-анализом и вычислением параметра нутритивного кровотока, а также на предложенной модели классификации, *позволяющий* выявлять наличие или отсутствие расстройств периферического кровотока с меньшей вероятностью ложноотрицательного результата диагностики, а также анализировать физиологические нарушения периферического кровотока, связанные с нарушением эндотелиальной функции, увеличением жёсткости сосудистой стенки и включением компенсаторного механизма, активирующего нутритивные пути кровотока.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что предложен новый метод диагностики расстройств периферического кровотока для пациентов с СД 2-ого типа, основанный на модели классификации и применении распределённой системы портативных устройств ЛДФ с одновременной регистрацией перфузии в различных точках организма человека без применения функциональных проб и последующим их вейвлет-анализом для выявления наличия или отсутствия патологических изменений в системе МЦК, а также обоснованы специализированные МТТ к портативным устройствам, учитывающие их конструктивные особенности для оценки диагностического объёма биоткани.

Практическая значимость работы состоит в том, что:

1) предложен метод диагностики расстройств периферического кровотока, основанный на одновременном измерении сигналов ЛДФ в 4 точках тела и их последующем вейвлет-анализе и обработке в соответствии с разработанной моделью классификации, и позволяющий выявлять наличие или отсутствие расстройств периферического кровотока у пациентов с СД 2 типа;

2) обоснованы специализированные МТТ к портативным устройствам ЛДФ, основанные на анализе диагностического объёма биоткани с учётом конструктивных особенностей устройств с помощью численного моделирования распространения оптического излучения для кожи с разным уровнем кровенаполнения и содержания меланина;

3) проведена апробация метода диагностики расстройств периферического кровотока в клинических условиях эндокринологического отделения больницы на пациентах с СД 2 типа и условно здоровых добровольцах, подтверждающая преимущество применения предлагаемого метода по сравнению с традиционно применяемыми на данный момент в клинической практике.

Результаты диссертационного исследования прошли апробацию в эндокринологическом отделении БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл), в клинике «Медискан» (ООО «Диагностический медицинский центр», г. Орёл), в ООО НПП «ЛАЗМА» (г. Москва), а также внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева» (г. Орёл) при подготовке магистров по направлению 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии» (направленность «Фотоника и электроника в медико-биологической практике») и специалистов по направлению 31.05.01 «Лечебное дело» (направленность «Лечебное дело»). Все результаты, полученные соискателем, использованы при выполнении работ по темам: «Гибкая сенсорная матрица для регистрации капиллярного кровотока в задачах носимой электроники», выполненной в рамках гранта РФФИ № 18-79-00237 (2018-2020 гг.); «Митохондрии как мишени в механизме нейродегенеративных заболеваний», выполняемой в рамках гранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2022-1095 (2019-2023 гг.); «Двухканальный носимый оптический монитор микроциркуляции крови

и тканевого метаболизма», выполняемой в рамках гранта Фонда содействия инновациям по программе «Студенческий стартап» (№ 80824, 2022-2023 гг.); «Оптическая тераностика гипергликемических осложнений», выполняемой в рамках гранта РФФ № 22-75-10088 (2022-2025 гг.); «Исследование нарушений микроциркуляции крови и окислительного метаболизма в коже пациентов, перенёсших COVID-19», выполняемой в рамках гранта РФФ № 23-25-00522 (2023-2024 гг.).

Личный вклад автора заключается в проведении обзора текущего состояния вопросов диагностики расстройств периферического кровотока, разработке математических моделей, планировании и проведении экспериментальных исследований, разработке модели классификации и диагностических критериев для выявления расстройств периферического кровотока, формулировке требований к разрабатываемому методу диагностики расстройств периферического кровотока на основании проведённой аналитической работы, математического анализа и математической статистики.

Положения, выносимые на защиту:

1) Модель распространения оптического излучения в коже для портативного устройства лазерной доплеровской флоуметрии на основе численного метода Монте-Карло с учётом разного уровня кровенаполнения и содержания меланина в ткани позволяет учесть конструктивные особенности устройства в виде расстояния между источником и приёмником излучения в качестве обоснованных специализированных медико-технических требований для обеспечения исследования периферического кровотока до слоя глубокого сосудистого сплетения (до 2 мм);

2) Портативное устройство ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока, включающее VCSEL-лазер с длиной волны 850 нм, два фотодиода, равноудалённых от источника излучения на расстояние 1200 мкм, каналы фильтрации и обработки данных и модуль беспроводной передачи данных, позволяет диагностировать расстройства периферического кровотока при

различных патологических состояниях за счёт регистрации тканевой перфузии на любых участках кожи организма человека;

3) Модель классификации для выявления расстройств периферического кровотока при сахарном диабете 2 типа, основанная на одновременной регистрации перфузии методом ЛДФ в верхних и нижних конечностях пациента и вейвлет-анализе данных перфузии с расчётом нутритивного кровотока с учётом нейрогенных, миогенных и сердечных осцилляций, позволяет без применения функциональных проб выявлять различия между условно здоровыми добровольцами и пациентами с СД 2 типа с наименьшим уровнем ошибки первого рода.

4) Метод диагностики расстройств периферического кровотока при сахарном диабете 2 типа с применением распределённой системы портативных устройств ЛДФ и предложенной модели классификации позволяет уменьшить вероятность ложноотрицательного результата диагностики расстройств периферического кровотока до уровня менее 0,2, сократить длительность исследования до 10 мин и анализировать физиологические нарушения периферического кровотока, связанные с изменением функционирования механизмов регуляции микроциркуляторного русла.

Степень достоверности и апробация результатов.

Апробация результатов диссертационной работы проводилась в клинических условиях на базе эндокринологического отделения Орловской областной клинической больницы (г. Орёл) и в клинике «Медискан» (ООО «Диагностический медицинский центр», г. Орёл).

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на 11 международных и 9 всероссийских конференциях, в том числе: Международная конференция Saratov Fall Meeting (2019-2022 – Саратов, Россия), Международная конференция European Conferences on Biomedical Optics (2021 – Мюнхен, Германия), Всероссийский конгресс молодых учёных (2020-2023 – Санкт-Петербург, Россия), Международная конференция Photonics Europe (2020 – Страсбург, Франция), Международная научная конференция «Физика и

радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ» (2020, 2022 – Владимир-Суздаль, Россия); Всероссийская научно-техническая конференция молодых учёных и специалистов «Биотехнические, медицинские, экологические системы и робототехнические комплексы» (2019-2022 – Рязань, Россия); Международная научно-техническая конференция «Современные технологии в задачах управления, автоматике и обработки информации» (2020, 2021 – Россия); XX Международная конференция «Laser Optics (ICLO 2022)» (2022 – Санкт-Петербург, Россия), IV Общероссийская научно-практическая конференция акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (2022 – Санкт-Петербург, Россия), Научно-практическая конференция с международным участием «Лазерная медицина в России: прошлое, настоящее, будущее», посвященная 100-летию Олега Ксенофонтовича Скобелкина (2023 – Москва, Россия).

Публикации. По теме диссертации опубликована 31 работа, из которых 5 в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, и 13 статей, индексируемых в БД Web of Science/Scopus (3 статьи в рецензируемых журналах 1-ого квартиля), опубликовано 3 главы в монографии. Получено 2 свидетельства о регистрации программы для ЭВМ (№ 2019665950 и № 2022685785).

Структура и объем диссертационной работы. Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованных источников, включающего 213 наименований, и изложена на 196 страницах машинописного текста, содержит 73 иллюстрации и 21 таблицу.

ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВотоКА

1.1 Строение системы микроциркуляции крови

Периферическим или регионарным кровообращением называют кровообращение в пределах отдельных органов и тканей, обеспечивающее кровоснабжение тканей и органов в соответствии с их функциональными потребностями и активностью [4]. Важной частью периферического кровообращения является система микроциркуляции крови (МЦК), включающая в себя кровеносные и лимфатические микрососуды (артериолы, венулы, капилляры и артериоло-венулярные анастомозы). Система МЦК обеспечивает адекватное снабжение тканей и органов кислородом и питательными веществами, а также играет важную роль в обмене жидкостей между кровью и тканями, доставке гормонов к органам-мишеням и обеспечении защиты организма от патогенов [5,6]. МЦК является предметом пристального изучения начиная с середины 17 века и по сегодняшний день. Открытие существования и принципов функционирования микроциркуляции крови играло центральную роль в изучении физиологии сердечно-сосудистой системы (ССС) с того момента как Уильям Харви в 1628 году впервые выдвинул гипотезу о том, что кровь циркулирует через «поры» в лёгких и других тканях [7]. Несмотря на отсутствие в то время необходимых технологий для того, чтобы подтвердить свою теорию, Харви удалось предугадать существование микрососудов, чтобы объяснить, как кровь поступает из артериальных в венозные сосуды, осуществляя таким образом непрерывную циркуляцию в ССС.

Система МЦК представляет собой совокупность мельчайших компонентов сердечно-сосудистой системы (обычно менее 100 мкм): артериол, венул, капилляров, артериоло-венулярных анастомозов и др. Каждый элемент системы МЦК обладает своей характерной структурой и присущими ему функциями. Хотя лимфатические капилляры взаимосвязаны с кровеносными капиллярами, их обычно не включают в структурную концепцию МЦК. Однако, лимфатические капилляры, а также соединительнотканые пространства являются с

функциональной точки зрения важной и неотъемлемой частью микроциркуляторно-тканевых систем (МТС) – структурно-функционального комплекса, состоящего из совокупности специализированных клеток паренхимы, клеток и неклеточного компонента соединительной ткани, кровеносных и лимфатических микрососудов, окончаний нервных волокон, и объединённого в единую систему регуляторными механизмами [5]. Схематично строение МЦК представлено на рисунке 1.1 [8].

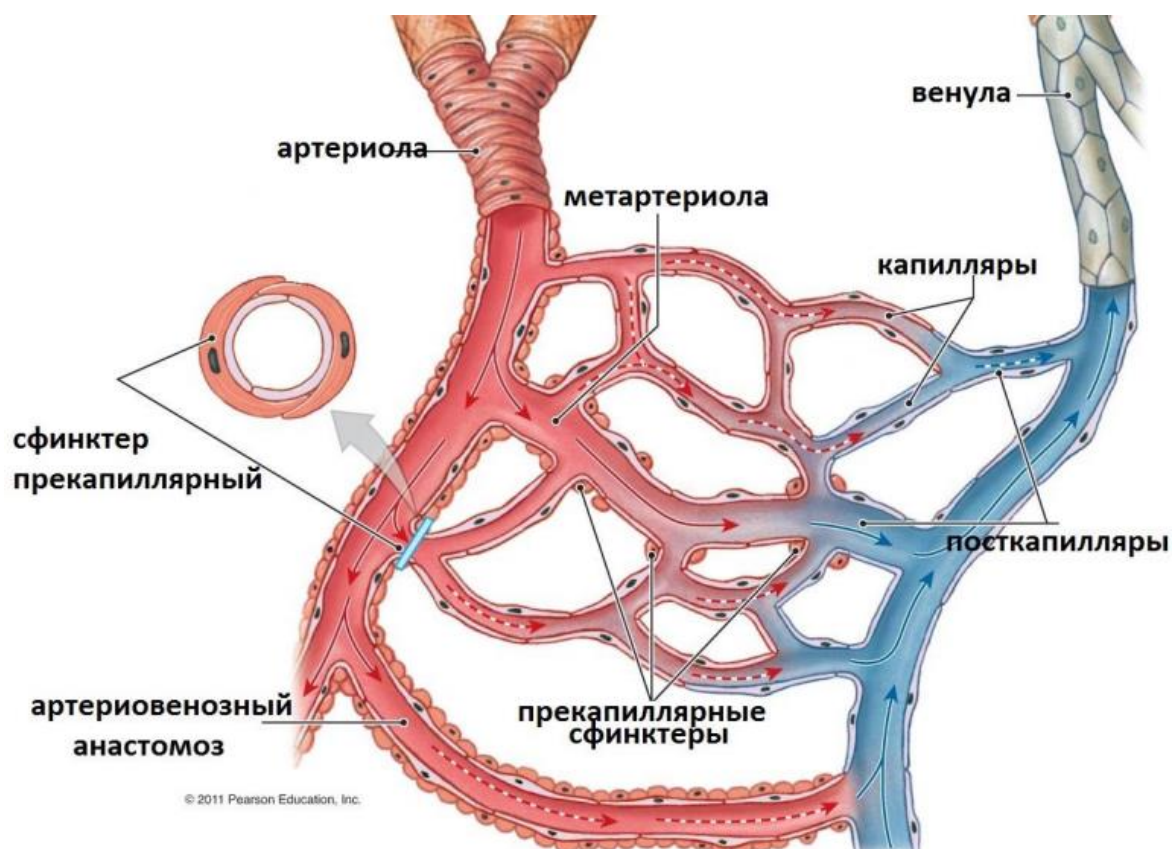


Рисунок 1.1 – Схема строения системы МЦК [8]

Артериолы относят к приносящему звену микроциркуляторного русла. Это, по сути, мелкие артерии, отвечающие за доставку крови к локализованным участкам тканей и регулирование скорости и объёмов доставки [5,9]. В строении стенки артериолы выделяют 3 оболочки – наружная, средняя и внутренняя. Средняя оболочка содержит слой гладкомышечных клеток, что приводит к возникновению собственной сократительной активности артериол, также называемой вазомоциями. Внутренняя оболочка сосудистой стенки состоит из плоских эндотелиальных клеток. Артериолы многих органов имеют связи между

эндотелием и гладкой мускулатурой, миоэндотелиальные соединения, в виде отростков мелких клеток, немиелинизированные нервные волокна тесно прилегают к соединительнотканной части стенки артериол. Строение артериолы схематично изображено на рисунке 1.2.

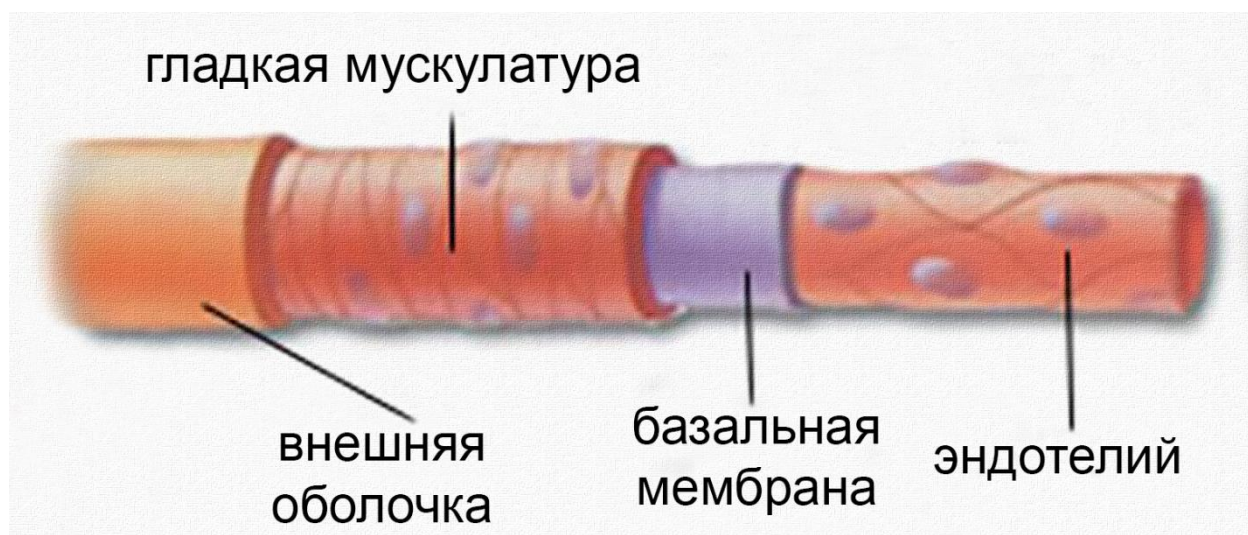
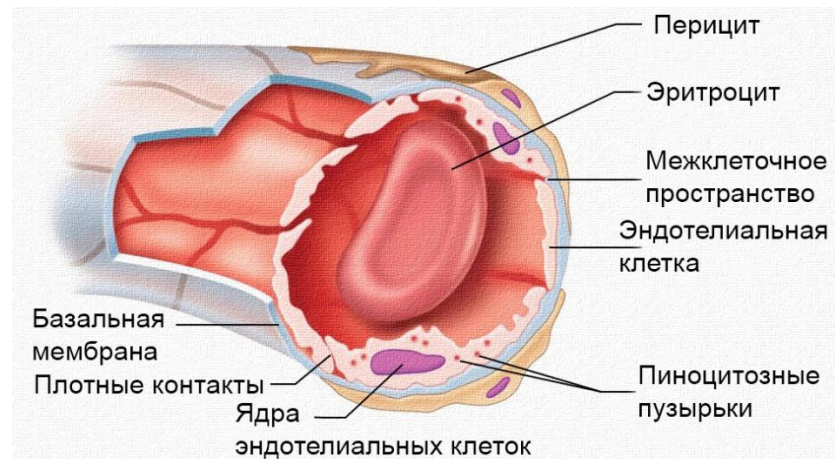


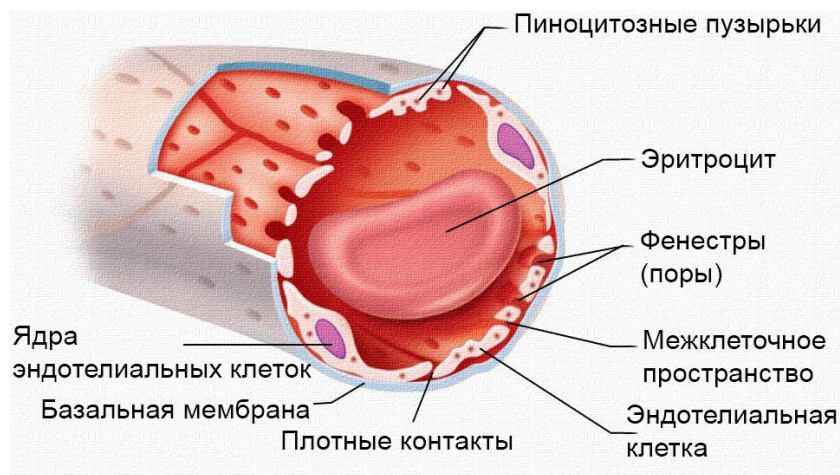
Рисунок 1.2 – Схема строения артериолы [9]

Капилляры представляют собой самые маленькие сосуды ССС, диаметр которых составляет около 5 мкм в большинстве тканей и органов (в среднем от 2 до 20 мкм), и которые в основном отвечают за обмен кислородом, питательными веществами и метаболитами между кровью и тканями [5,9]. Стенка капилляров образована плоскими эндотелиальными клетками, плотно соединёнными спайками. По структуре эндотелиальных клеток обычно выделяют 3 типа капилляров (рисунок 1.3): непрерывные (или сплошные), фенестрированные (или окончатые) и прерывистые (синусоиды). Непрерывные капилляры выстилают эндотелиальные клетки, средняя толщина которых составляет около 0,1 мкм в самых тонких частях. Стенка таких капилляров содержит различное количество мелких пиноцитарных пузырьков, которые, как предполагается, служат в качестве переносчиков через эндотелиальную клетку. Эти капилляры типичны для мышечной ткани (скелетной, сердечной, гладкой), нервной ткани, легких и гонад. Фенестрированные капилляры выстилают эндотелиальные клетки. Стенка таких

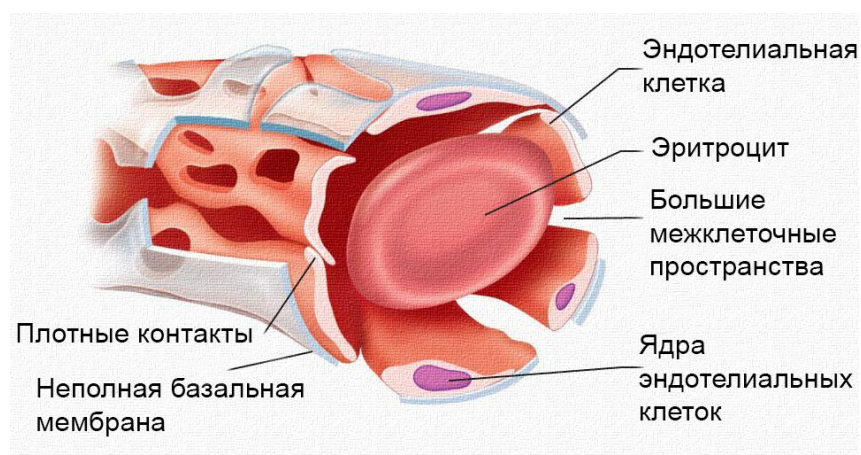
капилляров содержит множество круглых, равномерно распределённых отверстий или пор.



а)



б)



в)

Рисунок 1.3 – Схема строения капилляров непрерывного (а), фенестрированного (б) и прерывистого (в) типов

Поры облегчают транспорт кислорода и питательных веществ между сосудом и прилегающими тканями, что способствует более высокой проницаемости этих капилляров. Фенестрированные капилляры присутствуют в соединительной ткани, кишечнике, железах и почках. Третий тип капилляров называют прерывистыми капиллярами, в которых эндотелиальные клетки содержат крупные отверстия диаметром до 0,2 мкм, что позволяет крупным молекулам и даже эритроцитам выходить из кровотока. Такие капилляры присутствуют только в печени, селезёнке и костном мозге.

Капилляры, расположенные рядом с артериолами, часто называют артериальными капиллярами, а те, что расположены ближе к венам, называются венозными капиллярами. В некоторых случаях (например, в коже) существуют структурные различия между артериальными и венозными капиллярами. Артериальные капилляры имеют непрерывный эндотелий, в то время как венозные капилляры имеют фенестрированный эндотелий.

Венулы отводят кровь из капилляров для возвращения в сердце и в целом они схожи с артериолами по своей организации. Обычно выделяют посткапиллярные, собирательные и мышечные венулы в зависимости от их близости к капиллярному руслу, их структуры и просвета. Структура венозной стенки имеет менее развитую внутреннюю и среднюю оболочки. Структура стенки посткапиллярных венул в целом похожа на капиллярную, представляя собой простые эндотелиальные трубки, окружённые базальной мембраной. Строение венулы схематично изображено на рисунке 1.4.

Выделяют также длинные сосуды, диаметр которых немного больше диаметра капилляров. В таких длинных сосудах существует быстрый поток, направляющий кровь из артериол в венулы. Данные сосуды называют метартериолами или предпочтительными каналами.



Рисунок 1.4 – Схема строения вены [9]

Кроме того, существуют короткие истинные анастомозы между артериолами и мышечными венулами – артериоло-венулярные анастомозы, которые не проходят через капиллярное ложе. Как метартериолы, так и АВА служат в качестве соединений, которые быстро передают кровь из одной микроциркуляторной области в другую в обход капиллярного русла.

1.2 Расстройства периферического кровотока

Система МЦК обеспечивает метаболические потребности окружающих её тканей и органов как в условиях нормального физиологического состояния, так и во время функциональной нагрузки. При нормальных обстоятельствах изменение просвета микрососудов служит для регуляции давления и потока крови в ответ на меняющиеся потребности биологических тканей в питательном обмене. С другой стороны, при возрастных изменениях или при системных заболеваниях микроциркуляции крови обмен может быть нарушен по целому ряду причин: внутрисосудистое давление может быть повышенным или сниженным, могут быть нарушены реологические свойства крови, могут происходить нарушения клеточного и тканевого метаболизма вследствие недостаточной перфузии тканей, развивается нейроэндокринный дисбаланс и т.д. Итоговым результатом всех этих

процессов являются нарушения на уровне микроциркуляторно-тканевого обмена. При хронических нарушениях изменение просвета сосудов уже не может обеспечить нормальный гомеостаз и микрососуды подвергаются структурным изменениям в различной степени в зависимости от тяжести заболевания.

Среди типовых расстройств периферического кровообращения выделяют артериальную гиперемию, венозный застой (венозная гиперемия), ишемию, стаз [4,5].

Артериальная гиперемия представляет собой увеличение кровенаполнения ткани или органа вследствие увеличения артериального притока крови в микроциркуляторное русло. Артериальная гиперемия может быть физиологической (например, увеличение притока крови вследствие оказания функциональной нагрузки) или патологической – развивающейся вследствие действия различных болезнетворных факторов (биологической, механической или физической природы). На рисунке 1.5 приведена схема изменений, происходящих в микроциркуляторном русле при артериальной гиперемии [4,10].

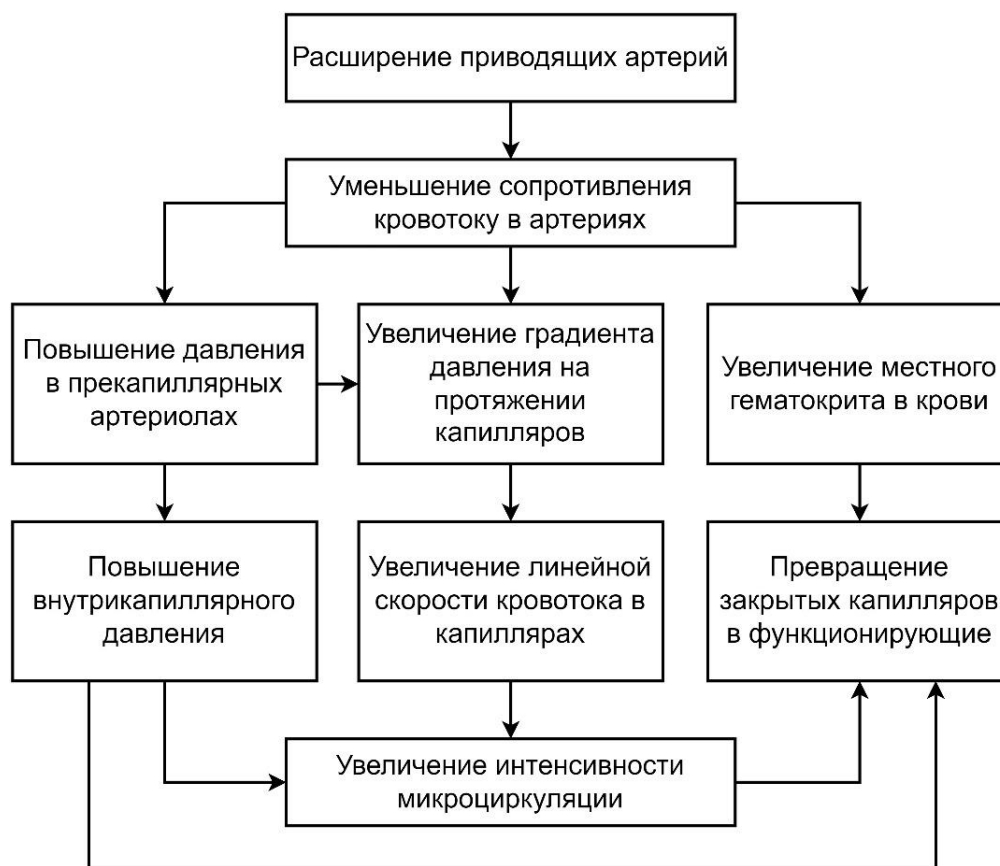


Рисунок 1.5 – Схема изменений МЦК при артериальной гиперемии [4,10]

Основным механизмом изменения МЦК при артериальной гиперемии является расширение артериол на входе в микроциркуляторное русло, которое ведёт к увеличению скорости капиллярного кровотока и увеличению внутрикапиллярного давления. Помимо этого, возрастает число функционирующих капилляров, увеличивая объём микроциркуляторного русла.

Изменения, происходящие при артериальной гиперемии, могут иметь как отрицательное, так и положительное влияние. Положительное влияние артериальной гиперемии заключается в усилении тканевой перфузии, приводящем к интенсификации метаболических процессов, что особенно важно, когда существует острая необходимость в повышенном питании тканей. Артериальная гиперемия при этом может выступать в качестве механизма компенсации нарушений МЦК. Однако, в случае, когда нет острой необходимости в усилении тканевого метаболизма, либо артериальная гиперемия приводит к избыточному увеличению кровотока, такие изменения имеют отрицательное влияние, приводя, например, к возникновению локальных кровоизлияний вследствие повышенного внутрисосудистого давления.

Венозная гиперемия (или венозный застой) представляет собой увеличение кровенаполнения ткани или органа вследствие уменьшения или прекращения оттока крови из микроциркуляторного русла в венозную систему. На рисунке 1.6 приведена схема изменений, происходящих в микроциркуляторном русле при венозной гиперемии [4,10].

В качестве причины развития венозной гиперемии выделяют механические препятствия на пути кровотока: формирование тромбов или эмболия вен, сдавление вен или увеличение внутрисосудистого давления в венозном отделе ССС.

Развитие венозной гиперемии в первую очередь приводит к уменьшению скорости кровотока во всех сегментах системы МЦК вследствие уменьшения артериовенозной разности давлений. Повышенное внутрисосудистое давление растягивает сосуды и вызывает их расширение, что особенно сильно проявляется в венозном сегменте МЦК. Замедление кровотока приводит к снижению

интенсивности обменных процессов микроциркуляции крови и меньшему поступлению к тканям кислорода и питательных веществ. Длительная венозная гиперемия ведёт к развитию тканевой гипоксии и некротических процессов с отмиранием морфологических элементов биологической ткани и их последующим замещением соединительной тканью.

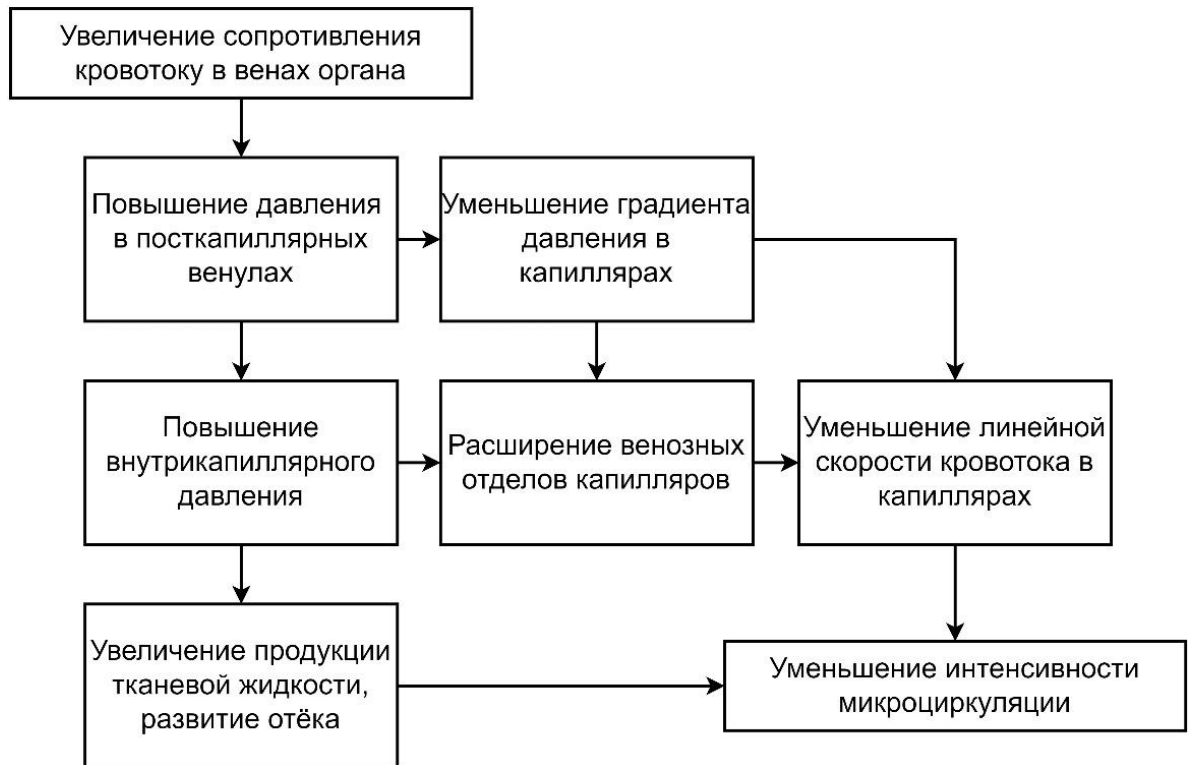


Рисунок 1.6 – Схема изменений МЦК при венозной гиперемии [4,10]

Ишемия представляет собой уменьшение кровенаполнения ткани или органа вследствие сокращения артериального притока в микроциркуляторное русло. К причинам развития ишемии относят уменьшение просвета сосудов вследствие их закупорки, вазоконстрикции, сдавления, патологического увеличения толщины сосудистой стенки или изменение реологических свойств крови.

На рисунке 1.7 приведена схема изменений, происходящих в микроциркуляторном русле при ишемии [4,10].

Развитие ишемии приводит к сужению сосудов вследствие снижения внутрисосудистого давления, что в свою очередь приводит к снижению скорости микроциркуляторного кровотока, превращению функционирующих капилляров в плазматические (то есть бедные форменными элементами крови) и их закрытию,

нарушению обменных процессов в системе МЦК органа или ткани. На ранних стадиях ишемии возникают обратимые последствия, но запущенные стадии могут приводить к необратимым последствиям, в том числе омертвлению тканей (инфаркту).

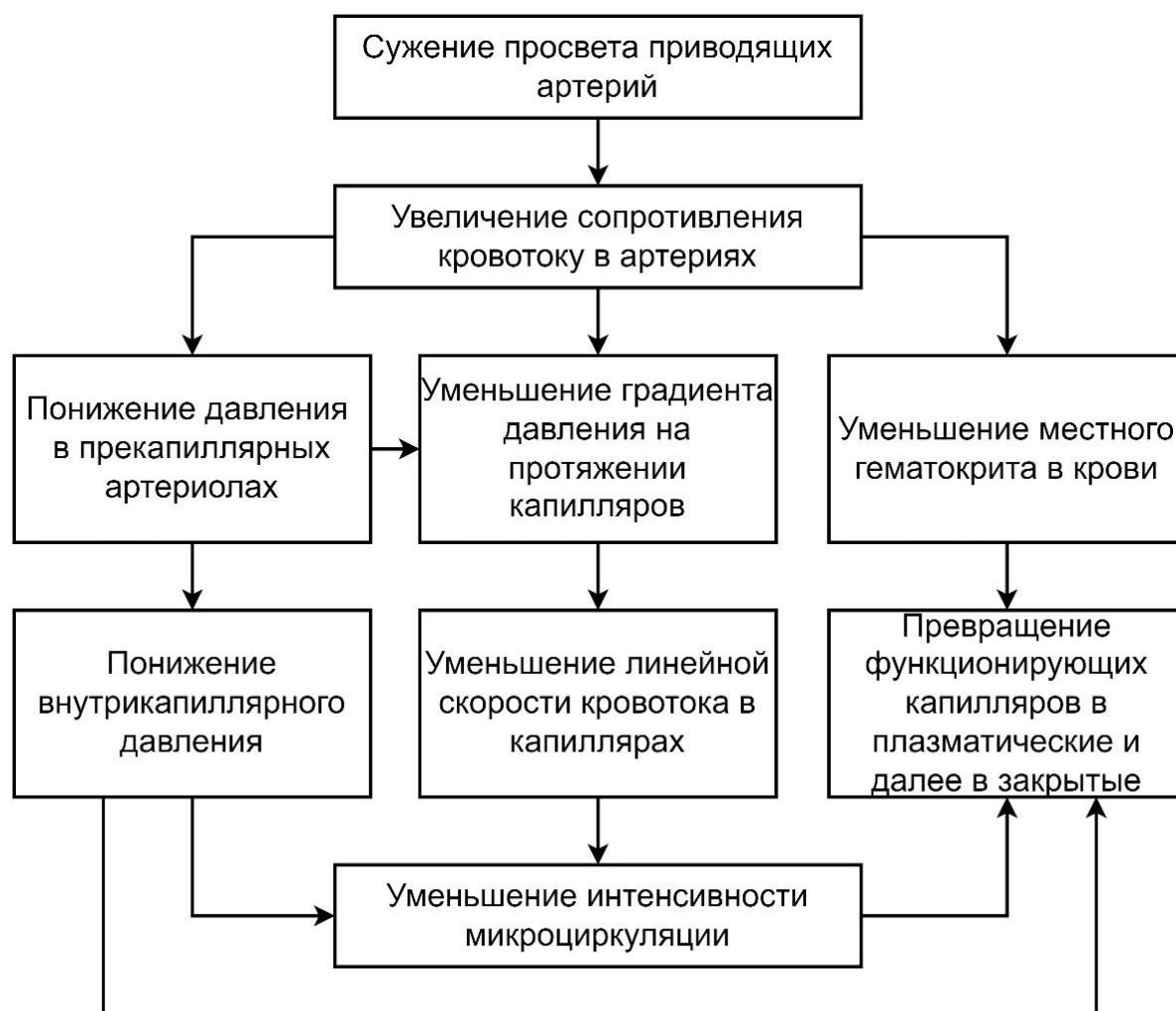


Рисунок 1.7 – Схема изменений МЦК при ишемии [4,10]

Стаз представляет собой остановку тока крови в системе МЦК ткани или органа [4,10]. Различают следующие виды стаза:

- первичный (истинный капиллярный) стаз, обусловленный агрегацией эритроцитов в капиллярной сети;
- ишемический стаз, являющийся последствием тяжёлой ишемии;
- венозный (застойный) стаз, являющийся последствием тяжёлой венозной гиперемии.

Быстрое устранение причины возникновения стаза не приводит к значимым патологическим нарушениям в системе МЦК, однако, длительный стаз приводит к необратимым последствиям, вызывая, в том числе, и некроз окружающих тканей.

Оценка степени выраженности расстройств периферического кровотока имеет крайне важное значение в диагностике и контроле качества проводимого лечения пациентов с широким спектром заболеваний ССС.

1.3 Особенности расстройств периферического кровотока при различных социально-значимых заболеваниях

Предыдущие исследования [1–3] показали, что системная микроциркуляторная дисфункция может быть связана с факторами риска ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, инсулинорезистентности, СД, РЗ и ряда других заболеваний.

Значительные изменения МЦК происходят в процессе старения организма, который связан с рядом структурных изменений, похожих на те, о которых сообщалось при таких заболеваниях, как гипертония или СД. В частности, с возрастом происходит снижение плотности капиллярной сети и увеличение её длины [11]. На рисунке 1.8 приведена схема основных изменений, происходящих в коже человека при старении, включая изменения сосудистой сети.

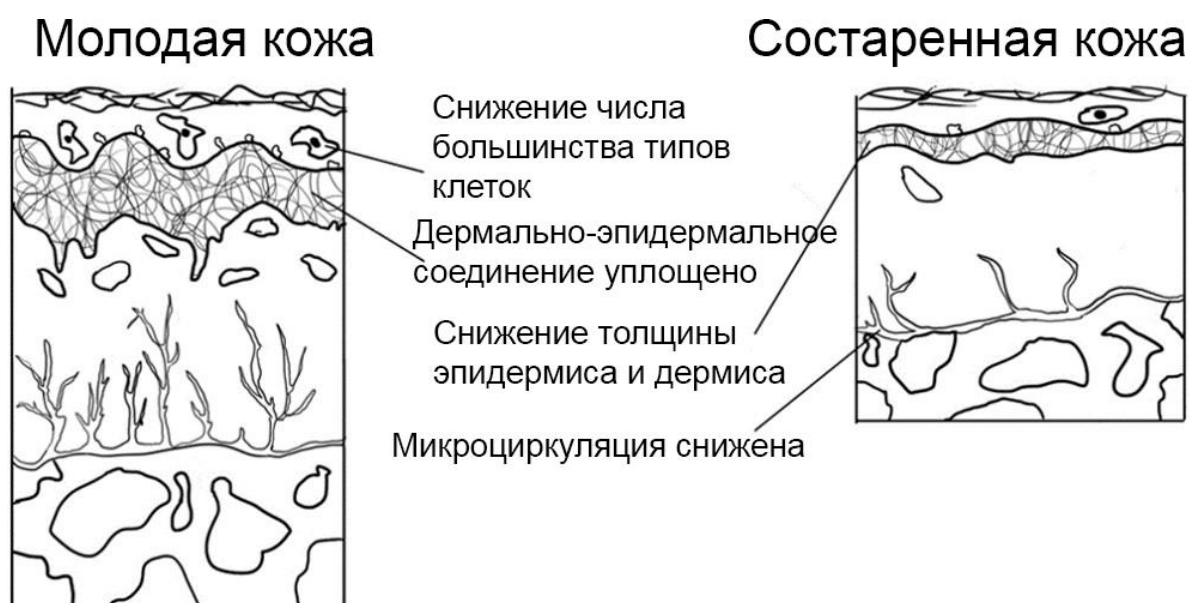


Рисунок 1.8 – Изменения, происходящие в коже человека при старении

Из физиологических изменений МЦК, связанных со старением, обычно выделяют эндотелиальную дисфункцию, часто оцениваемую по ухудшению эндотелий-зависимой вазодилатации в ответ на физиологический или фармакологический стимул [12]. Отмечено, что с 20 до 70 лет микроциркуляция крови в коже снижается на 40% [13]. Стоит отметить, что структурные и функциональные изменения МЦК в процессе старения могут выступать в качестве дополнительных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений.

Системные микроциркуляторные нарушения играют ключевую роль в патогенезе осложнений СД 2 типа. Многочисленные исследования и наблюдения показывают, что сохраняющийся в течение длительного времени высокий уровень сахара в крови может повреждать кровеносные сосуды и нервные окончания, а микрососудистые аномалии могут появиться уже на доклинических стадиях СД. Нарушения МЦК проявляются во всех частях тела и влияют на функционирование различных органов, включая почки, глаза, ССС и кожу, что значительно снижает качество жизни пациентов и может привести к полной инвалидности. Согласно оценкам экспертов, каждые 10 с в мире от СД и сопровождающих его осложнений умирает 1 человек и заболевают 2 человека, каждый год в мире происходит более 1 миллиона ампутаций нижних конечностей, связанных с СД, более 600 пациентов ежегодно полностью теряют зрение, а более 500 вынуждены обращаться за гемодиализом в связи с нарушением функций почек. На рисунке 1.9 приведены статистические данные по распространённости СД 1 и 2 типа в Российской Федерации за последние 20 лет [14].

Несмотря на существующие сходства в патологических изменениях МЦК при СД 1 и 2 типов, данные заболевания значительно различаются. В первую очередь стоит отметить, что СД 1 типа часто диагностируют в более раннем возрасте – в период роста и развития организма. Среди основных патологических изменений МЦК при СД 1 типа отмечают сокращение числа наимельчайших микрососудов со временем и утолщение микрососудистых базальных мембран.

Отмечается, что эти отклонения, как правило, гораздо более выражены у подростков с диабетом, чем у взрослых [9].

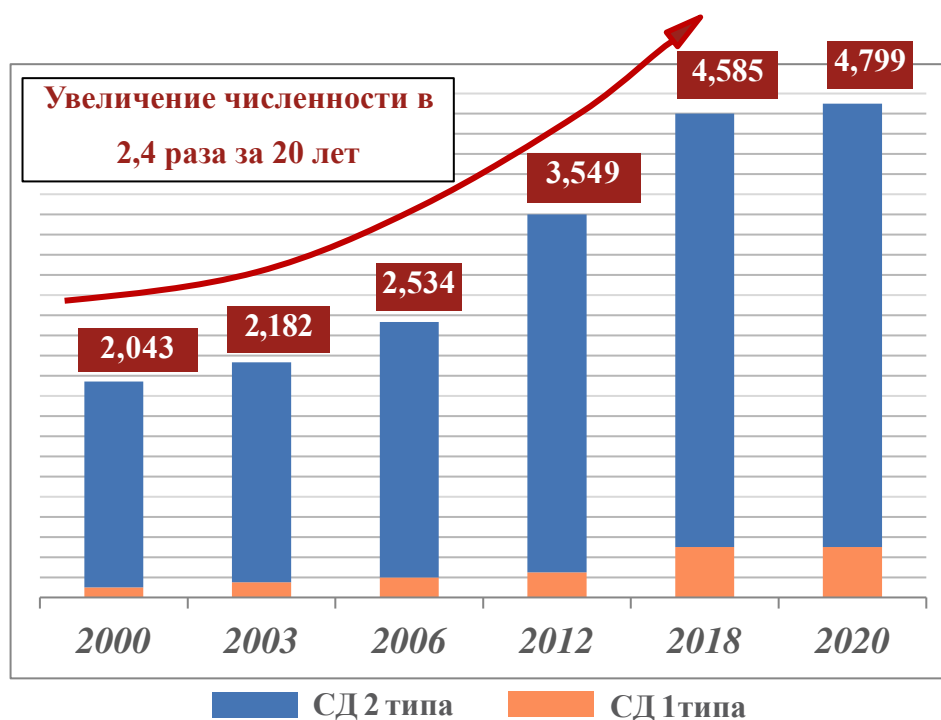


Рисунок 1.9 – Статистика изменения численности населения РФ с диагностированным СД с 2000 по 2020 гг. [14]

Расстройства микроциркуляции, происходящие при СД 2 типа, во многом коррелируют с изменениями, присущими влиянию на организм продолжительного ожирения. Архитектурная дезорганизация системы МЦК при ожирении до развития гипергликемии встречается довольно редко, однако нарушение регуляции микрососудистой системы имеет много общих характеристик у страдающих ожирением и диабетических животных моделей, а также у пациентов с СД 2 типа [9].

Дисфункция эндотелия сосудов рассматривается не только как важный фактор в возникновении сосудистых осложнений СД, но и в его прогрессировании и клинических последствиях. В основе механизма эндотелиальной дисфункции лежат изменения структуры рецепторного аппарата эндотелия и его чувствительности к инсулину, влияние окислительного стресса, активация эндотелиальных клеток провоспалительными факторами и дисфункция митохондрий [15]. Нарушение способности эндотелия адекватно реагировать на

физиологические стимулы в конечном итоге приводит к дисбалансу между факторами, обеспечивающими местные процессы регуляции гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистого тонуса.

Важным фактором в развитии эндотелиальной дисфункции при СД являются нарушения в эндотелийзависимой вазодилатации, связанной с выделением эндотелием в просвет сосуда вазоактивного вещества – оксида азота (NO). При СД гипергликемия снижает активность фермента, ответственного за синтез молекул NO, приводя к нарушению процессов вазодилатации, дисбалансу и дисрегуляции микроциркуляторного кровотока и в конечном итоге – к развитию атеросклеротических повреждений сосудов [16].

Роль фермента протеинкиназы С в механизмах развития микрососудистых осложнений СД также интенсивно изучена. При нормальных условиях этот фермент среди прочего участвует в регуляции сосудистой проницаемости, активности тканевых факторов роста и процессов пролиферации клеток. Продолжительная гипергликемия ведёт к образованию диацилглицерина, активирующего протеинкиназу С, что ведёт к усилению всех регулируемых ею процессов, увеличивая проницаемость сосудов и приводя к атеросклеротическим изменениям [17].

Значимая вовлечённость системы МЦК была продемонстрирована и в развитии тяжёлого течения и последующих осложнений при острой коронавирусной инфекции, также известной как COVID-19 [18,19]. На момент официального заявления об окончании пандемии в мире (согласно заявлению главы Всемирной организации здравоохранения от 05.05.2023) было зарегистрировано более 670 миллионов подтверждённых случаев заражения SARS-CoV-2 и более 6 миллионов смертей (по данным Ресурсного центра по коронавирусам Университета Джона Хопкинса). Несмотря на завершение пандемии, COVID-19 по-прежнему оказывает значительное влияние на жизнь миллионов людей во всём мире. Последние наблюдения показывают, что довольно большая часть пациентов, выздоровевших после коронавирусной инфекции, впоследствии страдают от долгосрочных последствий заболевания [20]. К ним

относятся такие симптомы, как слабость, одышка, боли в груди и суставах, спутанность сознания, проблемы с памятью и концентрацией (так называемый «мозговой туман»), изменения настроения и т.д. Эти и другие симптомы могут сохраняться в течение нескольких месяцев после самого заболевания и значительно снижать качество жизни пациентов. Данные расстройства называют «длительным COVID» или постковидным синдромом [21].

Появляющиеся данные свидетельствуют о тесной связи между тяжёлой клинической формой COVID-19 и повышенным риском его сосудистых осложнений, таких как тромбоэмболия [22]. Приблизительно в 40-45% случаев SARS-CoV-2 протекает бессимптомно, но клинические наблюдения показывают, что осложнения могут возникать и при бессимптомном течении болезни [23].

Хотя изначально COVID-19 считался респираторным заболеванием, сейчас установлено, что он поражает множество органов и систем, включая ССС, мозг, почки, печень, скелетные мышцы и кожу инфицированных пациентов [24]. В последнее время появляется всё больше доказательств негативного влияния этого заболевания на систему МЦК [25]. Известно, что SARS-CoV-2 поражает микроциркуляторное русло, вызывая отёк и повреждение эндотелиальных клеток, влияет на развитие микротромбоза, закупорку капилляров и вызывает целый ряд других негативных эффектов [26]. Развитие данных нарушений помимо прямой угрозы жизни и здоровью пациента может также стать ключевым фактором в развитии долгосрочных последствий коронавирусной инфекции, значительно снижая качество жизни пациентов. Серьёзные опасения вызывает тот факт, что провоспалительный статус и прокоагуляционная активность могут сохраняться у пациентов в течение длительного времени после выздоровления [27].

1.4 Методы диагностики периферического кровообращения

Для диагностики периферического кровообращения в клинической практике в настоящий момент применяют ряд инструментальных методов, к наиболее популярным из которых относят реовазографию, ультразвуковую доплерографию, рентгеноконтрастную ангиографию и др.

Реовазография (РВГ) – это метод исследования состояния периферических сосудов, основанный на измерении колебаний электрического сопротивления в исследуемом органе или ткани. РВГ является разновидностью методов реографии [28] и позволяет оценить кровообращение как в верхних, так и в нижних конечностях. При помощи РВГ можно оценить общее состояние ССС и величину сосудистого тонуса.

Процедура РВГ осуществляется посредством наложения электродов на представляющую диагностический интерес область и воздействия на объект исследования током высокой частоты (от 30 до 300 кГц) с одновременным измерением вариаций электрического сопротивления, зависящих от величины кровенаполнения тканей [29]. Пример проведения РВГ нижних конечностей проиллюстрирован на рисунке 1.10.

Основными назначениями для диагностики методом РВГ могут являться атеросклеротические заболевания ССС, РЗ, СД, широкий спектр заболеваний вен (тромбофлебит, варикозное расширение вен), облитерирующий эндартериит и другие заболевания, связанные с затруднением притока крови к тканям и органам или её венозного оттока [29].



Рисунок 1.10 – Пример проведения реовазографии нижних конечностей [6]

К преимуществам метода можно отнести в первую очередь его неинвазивность и абсолютную безвредность, а также отсутствие побочных

эффектов. Стоит, однако, отметить, что несмотря на безболезненность и неинвазивность метода способ его реализации с использованием тока высокой частоты накладывает определённые ограничения на его применение. Для более качественной диагностики расстройств периферического кровообращения РВГ зачастую используют в совокупности с функциональными нагрузочными пробами (ФП), включая фармакологические воздействия, компрессионную пробу и др.

РВГ предоставляет исследователю информацию о наличии и характере (органический или функциональный) поражений периферических сосудов, в основном артерий и вен. По результатам делают вывод о частичной или полной непроходимости сосудов. Таким образом, можно заключить, что данный метод неприменим для диагностики расстройств на уровне системы МЦК и на ранних стадиях развития нарушений.

Ультразвуковая доплерография (УЗДГ) представляет собой разновидность ультразвукового исследования с использованием эффекта Доплера для численной оценки скорости потока крови в сосудах [30]. Метод позволяет визуализировать и оценивать функционирование магистральных сосудов конечностей, в том числе глубоко залегающих артерий [31], однако, его применение для диагностики системы МЦК на настоящий момент не представляется возможным.

В отдельных случаях предлагается применять метод рентгеноконтрастной ангиографии [32], но его применение ограничено токсическим влиянием контрастирующих веществ и оказанием лучевого воздействия на пациента.

На рисунке 1.11 приведены примеры результатов диагностики кровотока при помощи методов УЗДГ и рентгеноконтрастной ангиографии.

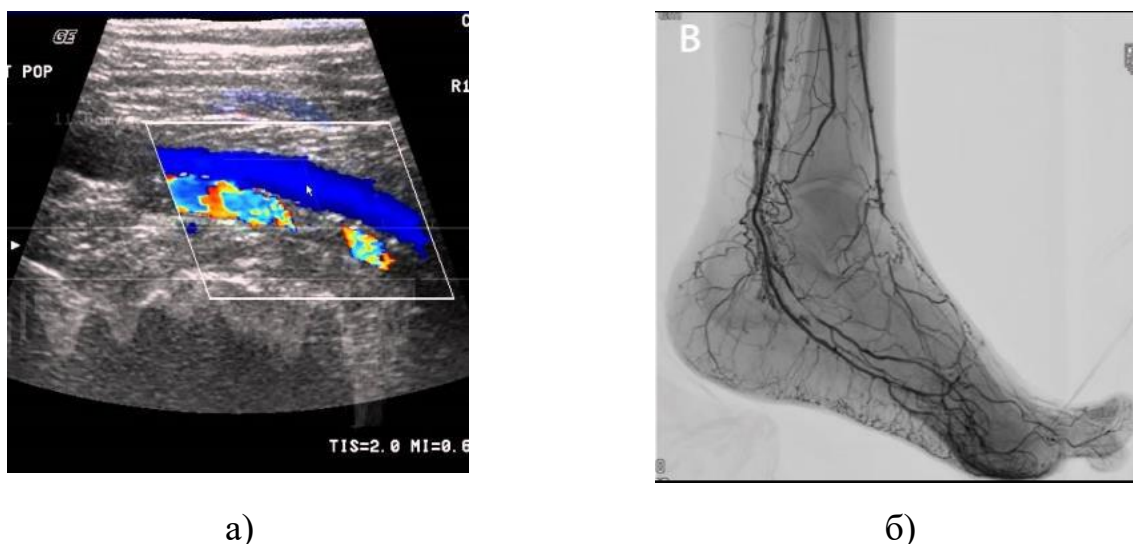


Рисунок 1.11 – Пример результатов диагностики кровотока при помощи методов УЗДГ и рентгеноконтрастной ангиографии [6]

Стандартным методом исследования состояния кровотока конечностей у пациентов с СД является измерение лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) [33]. ЛПИ представляет собой отношение систолического артериального давления на уровне голеностопного сустава и систолического артериального давления, измеренного на уровне плечевой артерии, когда пациент находится в положении лежа на спине. Альтернативой методу ЛПИ является другой неинвазивный тест – пальце-плечевой индекс (ППИ). Данный тест в общих чертах схож с ЛПИ, однако более предпочтителен, так как меньше подвержен влиянию кальсификации стенок сосудов на результат измерения. Однако, прежде чем принимать этот подход, следует иметь в виду, что артерии пальцев ног также могут быть кальсифицированы. Как ЛПИ, так и ППИ не являются достаточно чувствительными методами для диагностики расстройств периферического кровотока на ранних стадиях, что приводит к недооцениванию истинной распространённости нарушений в популяции [34].

1.5 Экспертная оценка уровня ошибок экспериментальной диагностики расстройств периферического кровотока

При проведении диагностики расстройств периферического кровотока, если в качестве нулевой гипотезы принять предположение о наличии расстройств, то может рассматриваться 4 варианта результата диагностики: пациенты с расстройствами периферического кровотока верно атрибутированы в группу наличия расстройств (истинно положительные), здоровые испытуемые без расстройств периферического кровотока верно атрибутированы в группу отсутствия расстройств периферического кровотока (истинно отрицательные), здоровые испытуемые без расстройств периферического кровотока неверно атрибутированы в группу наличия расстройств (ложно положительные), пациенты с расстройствами периферического кровотока неверно атрибутированы в группу отсутствия расстройств периферического кровотока (ложно отрицательные). Те результаты, при которых испытуемый неверно атрибутируется в группу, представляют собой ошибки, допущенные при диагностике. В медицинской практике ложноотрицательный результат диагностики принято называть ошибкой 1-го рода (аналог чувствительности, Se), а ложноположительный результат – ошибкой 2-го рода (аналог специфичности, Sp). С точки зрения диагностической процедуры ошибка 1-го рода представляет большую опасность, так как предполагает пропуск у пациента возможного заболевания. Так как проведённый обзор и литературные данные свидетельствуют о том, что расстройства МЦК могут предшествовать развитию заболеваний ССС и на ранних стадиях заболевания могут быть единственным проявлением патологии, а также тот факт, что ранние стадии развития расстройств периферического кровотока часто являются обратимыми, в отличие от более поздних стадий, именно уменьшение уровня ошибки 1-ого рода является критически важным при диагностике системы МЦК.

Из литературных источников известно, что уровень ошибки 1-ого рода для инструментальных методов диагностики состояния МТС верхних и нижних конечностей составляет порядка 0,3-0,4 [6]. Проведём дополнительное экспертное оценивание для установления текущего уровня ошибки диагностики расстройств

периферического кровотока при различных социально значимых заболеваниях и их желаемого уровня. Экспертная оценка представляет собой метод, основанный на анкетировании группы экспертов в определённой области знаний с целью дальнейшего формирования выводов об оцениваемых параметрах.

Рассчитаем необходимое количество экспертов. Слишком большая или слишком малая численность экспертной комиссии может оказать негативное влияние на точность результата экспертной оценки, приводя к пренебрежению или слишком большому влиянию мнения отдельных экспертов на результат, соответственно. Если за b ($0 \leq b \leq 1$) принять допустимый уровень ошибки проводимой экспертизы, то минимально необходимую численность экспертной комиссии можно вычислить, пользуясь следующим выражением:

$$n_{min} = 0,5 \cdot \left(\frac{3}{b} + 5\right). \quad (1.1)$$

Таким образом, при $b = 0,2$ значение n_{min} составит 10 экспертов, в соответствии с (1.1).

В настоящей работе проведена экспертная оценка с участием в качестве экспертов 10 врачей эндокринологов, ревматологов, реабилитологов, врачей ультразвуковой диагностики и смежных специальностей, в рамках своей практики имеющих дело с диагностикой расстройств периферического кровотока при самых разных заболеваниях, например, сахарный диабет, коронавирусная инфекция (COVID-19) и др. Для осуществления экспертной оценки был составлен опросный лист с описанием цели и задач экспертного оценивания, перечень вопросов к специалистам и пояснением основных терминов, использующихся при их формулировке, который использовался при анкетном опросе членов экспертной группы. Результаты экспертной оценки приведены в таблице 1.1.

Результатом подобных многократных измерений является среднее арифметическое \overline{Q}_j n отдельных независимых значений результата измерения, составляющих массив экспериментальных данных [35].

Таблица 1.1 – Результаты экспертного опроса о вероятности ложноотрицательного результата диагностики расстройств периферического кровотока

Объекты экспертного опроса $j = 1, 2, \dots, m$	Условные номера экспертов, $i = 1, 2, \dots, n$									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Оценки									
Текущий уровень вероятности ошибки	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3
Максимально допустимый уровень вероятности ошибки	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2

Предположим, что оценки экспертов подчиняются нормальному закону распределения вероятности. Известно, что при небольшом объёме экспериментальных данных среднее арифметическое значение результата измерения, подчиняющегося нормальному закону распределения вероятности, само подчиняется закону распределения вероятности Стьюдента с тем же средним значением. Поэтому для обнаружения и исключения ошибок воспользуемся критерием Романовского, согласно которому отбрасывается сомнительное значение результата измерения, отличающееся от среднего арифметического \bar{Q}_j больше чем на tS_{Q_j} , где S_{Q_j} – среднеквадратическое отклонение результата измерения, t – коэффициент Стьюдента (для $N = 10$ и доверительной вероятности $P = 0,95$ $t = 2,3$) [35].

Результаты расчётов \bar{Q}_j , S_{Q_j} и tS_{Q_j} представлены в таблице 1.2.

Ни одно из значений $Q_{i,j}$ не отличается от среднего арифметического \bar{Q}_j больше, чем на величину tS_{Q_j} . Следовательно, можно считать, что среди оценок экспертов нет ошибочных. При той же доверительной вероятности найдем половину доверительного интервала $\varepsilon_j = tS_{\bar{Q}_j}$, где $S_{\bar{Q}_j}$ – стандартное отклонение среднего арифметического. Далее определим нижнюю $\bar{Q}_j - \varepsilon_j$ и верхнюю $\bar{Q}_j + \varepsilon_j$

границы доверительного интервала. Все рассчитанные значения приведены в таблице 1.2.

Таблица 1.2 – Обработка результатов экспертного опроса о вероятности ложноотрицательного результата диагностики расстройств периферического кровотока

j	\bar{Q}_j	S_{Q_j}	tS_{Q_j}	$S_{\bar{Q}_j}$	ε_j	$\bar{Q}_j - \varepsilon_j$	$\bar{Q}_j + \varepsilon_j$	γ_j
1	0,340	0,052	0,119	0,016	0,037	0,303	0,377	0,152
2	0,180	0,042	0,097	0,013	0,030	0,150	0,210	0,234

Важным параметром экспертного оценивания, влияющим на точность полученного результата, является степень согласованности экспертов. В случае, если мнения экспертов сильно разнятся, необходимо проводить дополнительный анализ с целью выяснения причин расхождения. Для оценки степени согласованности мнения экспертов применяют различные методы, в том числе расчёт коэффициента вариации, коэффициента ранговой корреляции Спирмена, коэффициента конкордации и др. Воспользуемся расчётом коэффициента вариации для выяснения степени согласованности мнения экспертов в нашем случае. Этот подход позволяет оценить уровень расхождений при оценке реальных значений физических величин, балльной оценке и попарных сравнениях. Он основан на изучении разброса мнений экспертов относительно среднего значения результатов оценки, при этом степень согласованности считается хорошей, если коэффициент вариации не превышает значения 0,2. В нашем случае коэффициент вариации γ_j составил менее 0,2 для результатов оценки текущего уровня вероятности ложноотрицательного результата диагностики и менее 0,3 для результатов оценки желаемого уровня вероятности ложноотрицательного результата диагностики, что говорит об удовлетворительном уровне согласованности мнений экспертов.

Таким образом, на основании проведённого экспертного оценивания можно сформулировать следующие выводы:

1) Текущий уровень вероятности ложноотрицательного результата диагностики расстройств периферического кровотока с доверительной вероятностью 0,95 находится в интервале 0,30...0,38.

2) Максимально допустимый уровень вероятности ложноотрицательного результата диагностики расстройств периферического кровотока с доверительной вероятностью 0,95 не должен превышать 0,21.

Следовательно, в настоящее время остаётся актуальной разработка новых подходов к диагностике расстройств периферического кровотока, обеспечивающих меньшую вероятность ложноотрицательного результата диагностики.

1.6 Оптические методы диагностики расстройств периферического кровотока

В качестве возможного решения поставленной проблемы могут выступать методы оптической неинвазивной диагностики. Разработанные в последние годы различные технологии спектроскопии и визуализации способны не только предоставлять информацию об оптических свойствах кожи, напрямую отражающих степень её кровенаполнения, оксигенации, содержания хромофоров и флюорофоров [36], но и осуществлять долговременный мониторинг изменений исследуемых параметров.

Методы биомедицинской фотоники нашли своё применение в диагностике широкого спектра патологических состояний, включая такие области медицины, как кардиология, онкология, ревматология, эндокринология, минимально инвазивная хирургия, трансплантология и многие другие [6,36]. В последнее время, в частности, наблюдается всплеск интереса к использованию оптических технологий при диабете. В этой области было опубликовано несколько обзоров, в том числе статьи, изучающие изменение оптических свойств биологических тканей, связанных с СД [37,38], обзор технологий для визуализации язв [39] и технологий для изучения микроциркуляции крови при СД [40]. Рассмотрим

наиболее распространенные методы оптической неинвазивной диагностики состояния периферического кровообращения.

1.6.1 Методы капилляроскопии

Капилляроскопия представляет собой удобный метод оценки морфологии сосудистого русла и его изменений *in vivo* по мере развития заболевания. Для проведения капилляроскопических исследований обычно используется микроскоп с меньшим или большим увеличением для получения панорамных изображений капиллярного русла или увеличенных изображений отдельных капилляров и их групп, соответственно. Исследования проводятся в основном в ногтевом ложе, поскольку капиллярная дуга в этой области простирается параллельно поверхности кожи. Поэтому можно наблюдать кровотоки в капиллярах при достаточно большом увеличении, в то время как на других участках кожи капилляры расположены перпендикулярно поверхности. Во время исследования руку обычно кладут на смотровой стол на уровне сердца, а на ногтевое ложе наносят каплю иммерсионного масла, чтобы повысить прозрачность кожи [41]. Помимо пальцев рук при капилляроскопии можно исследовать и ногтевое ложе нижних конечностей. В качестве объекта исследования помимо ногтевого ложа также может выступать внутренняя поверхность нижней губы, однако исследования здесь связаны с более значительными методологическими трудностями [42]. В других областях кожи капилляры располагаются перпендикулярно её поверхности, поэтому многие из оцениваемых по капилляроскопии параметров не поддаются измерению. На рисунке 1.12 приведён пример капилляроскопии ногтевого ложа здорового человека [43].

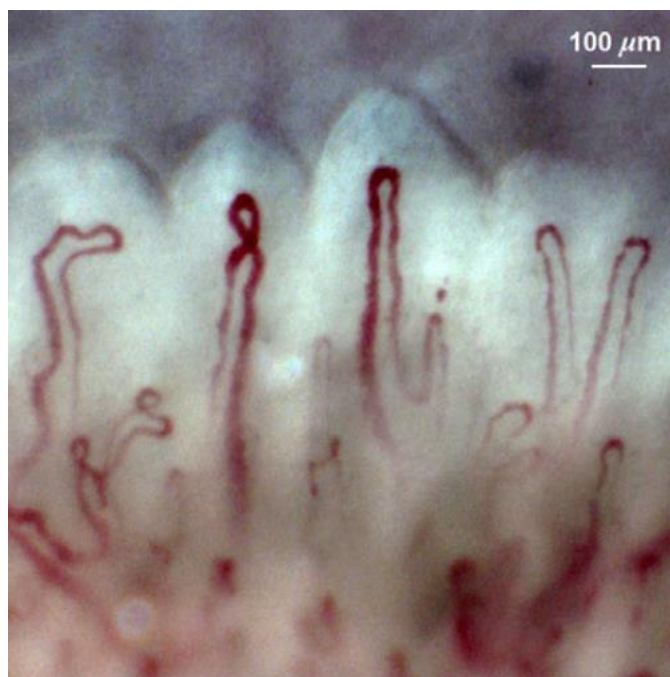


Рисунок 1.12 – Изображение капилляроскопии ногтевого ложа здорового человека [43]

С помощью капилляроскопии можно оценить количество визуализируемых капилляров в ногтевом ложе, плотность капиллярной сети, форму капиллярной дуги, выявить наличие извилистых капилляров и кровоизлияний, рассчитать длину капилляра, диаметры его артериальной и венозной частей, расстояние между капиллярами и их распределение относительно друг друга [44,45]. Для оценки этих важных диагностических параметров состояния периферического кровообращения обычно записывают статические изображения ногтевого ложа с последующим анализом фотографий. При проведении динамических исследований с видеорегистрацией потока крови в капиллярах в динамике можно оценивать дополнительные параметры, такие как скорость кровотока в артериальном и венозном отделах капилляра, наличие агрегатов эритроцитов и так называемых «светлых» включений и др. Новые разработки в области обработки данных видеокapилляроскопии могут позволить перейти к оценке не только скорости капиллярного кровотока, но и механизмов его регуляции [43].

Капилляроскопия используется для изучения состояния микроциркуляции крови с 19 века [45]. Исторически так сложилось, что наибольшее распространение этот метод получил в исследованиях сосудистых нарушений при РЗ [41], хотя

спектр применения этой технологии достаточно широк. Стоит отметить тот факт, что структурные изменения капилляров являются характерным признаком многих ревматических заболеваний. Отличительными чертами капилляроскопической картины системной склеродермии являются архитектурная дезорганизация капиллярной сети, наличие кровоизлияний, гигантских капилляров, потеря отдельных капилляров и возникновение аваскулярных зон [46]. На рисунке 1.13 приведен пример результатов проведения капилляроскопии для пациента с системной склеродермией [47]. На рисунке 1.13 можно отметить наличие кровоизлияний и гигантских капилляров.



Рисунок 1.13 – Изображение капилляроскопии ногтевого ложа для пациента с системной склеродермией [47]

На более поздних стадиях заболевания происходит неравномерное расширение капилляров, количество гигантских капилляров и кровоизлияний значительно сокращается, появляются извилистые и кустистые капилляры.

Капилляроскопия также применялась для обследования пациентов с псориазом. Исследования показали значительное уменьшение плотности капиллярной сети в области ногтевого ложа, уменьшение диаметров артериальной и венозной частей капилляров [41].

К числу заболеваний, приводящих к морфологическим и физиологическим изменениям капиллярного русла, относят и СД. Многочисленные исследования в

этой области продемонстрировали возможности применения методов капилляроскопии ногтевого ложа и видеокапилляроскопии в отслеживании микрососудистых изменений при СД. К характерным изменениям при СД относят извилистость, увеличение диаметра капилляров и снижение плотности капиллярной сети [48–53]. На рисунке 1.14 представлена изменённая структура капиллярного русла пациента с СД, полученная с помощью капилляроскопии. Из рисунка видно, что изменённая структура сосудов характеризуется извилистыми и разветвлёнными капиллярами, а также эктазиями и небольшим снижением плотности капиллярной сети.

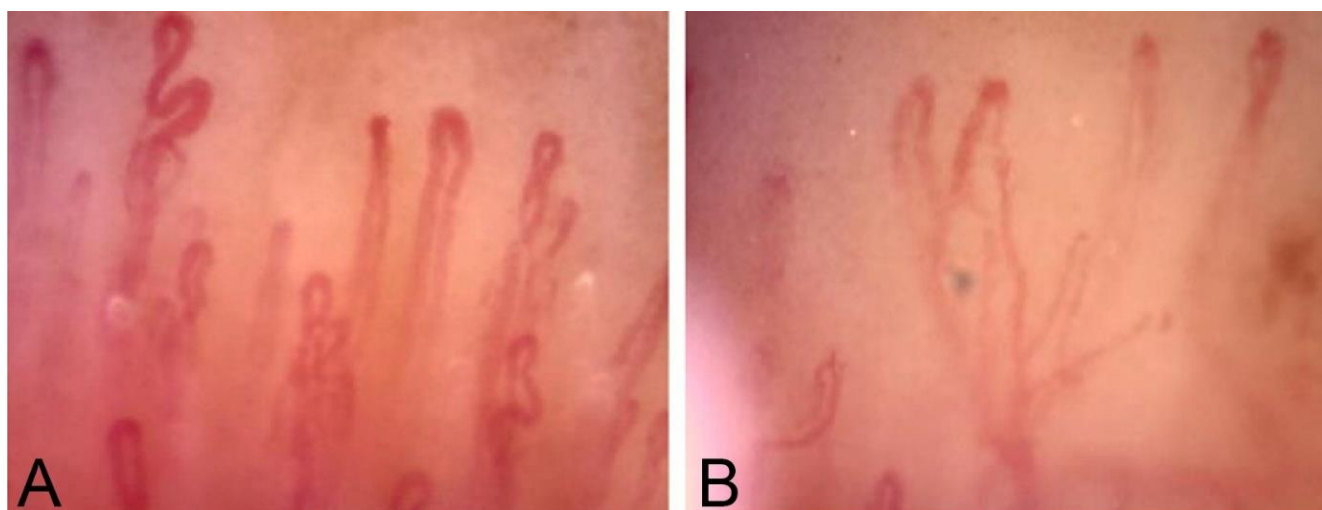


Рисунок 1.14 – Изображения капилляроскопии ногтевого ложа пациента с СД [54]

Также по результатам других исследований отмечается наличие аваскулярных зон и кровоизлияний [55]. Выявлена зависимость наличия и выраженности изменений капилляроскопической картины пациентов с СД от наличия осложнений, длительности заболевания и качества гликемического контроля [56,57]. Данные видеокапилляроскопии демонстрируют снижение скорости капиллярного кровотока у пациентов с диабетом по сравнению с контрольной группой, особенно у тех, кто имеет осложнения [48,58], и снижение пиковой скорости кровотока во время реактивной постокклюзионной гиперемии при проведении окклюзионной пробы [48].

На основании приведённых данных можно заключить, что метод капилляроскопии ногтевого ложа предоставляет исследователю уникальные

возможности диагностики ранних изменений структуры и функционирования капиллярного русла при широком спектре заболеваний. Этот метод является неинвазивным и безболезненным, однако его применение сопряжено со значительными методологическими трудностями, в первую очередь – ограниченность области исследования (возможность полноценно обследовать только область ногтевого ложа). Указанные недостатки технологии приводят к недостаточному её внедрению в клиническую практику диагностики расстройств периферического кровотока.

1.6.2 Спектроскопия диффузного отражения

Перспективами для оценки состояния системы микроциркуляции крови обладают методы отражательной спектроскопии и визуализации, к числу которых относят метод спектроскопии диффузного отражения (СДО). СДО находит широкое применение в медицинской практике в исследованиях, связанных с онкологическими изменениями [59,60], ревматическими заболеваниями [61,62], сахарным диабетом [62,63]. Применение СДО позволяет получать сведения о морфологическом и физиологическом состоянии биологических тканей.

В основе метода СДО лежит анализ диффузной составляющей отражения света от биологической ткани. Сигнал, измеренный методом СДО, содержит информацию о рассеянии и поглощении света биологической тканью, таким образом позволяя оценивать её внутреннюю структуру и биохимический состав. На основании спектров диффузного отражения кожи можно судить о содержании в ней оксигенированного (HbO₂) и дезоксигенированного (Hb) гемоглобина.

В работе Zhang и соавторов [64] было показано, что СДО может быть использована для диагностики воспалительного процесса при отите среднего уха по показателю эритемы, количественно характеризующему содержание крови в поверхностном сосудистом сплетении кожи. В дальнейшем СДО использовалось в исследовании пациентов с ревматическими заболеваниями, показавшем значительное увеличение индекса эритемы у пациентов с РЗ по сравнению с контрольной группой, имеющее выраженную зависимость от степени

выраженности воспалительного процесса [61]. С использованием метода СДО исследовался также уровень тканевой сатурации кожи пациентов с РЗ [61], однако результаты исследования не показали однозначного изменения этого параметра у пациентов.

В исследованиях, связанных с диагностикой нарушений кровотока при СД, метод СДО используется на протяжении более 15 лет. Ранее было продемонстрировано, что результаты измерения некоторых параметров по данным спектроскопии диффузного отражения значительно коррелируют с результатами измерения лодыжечно-плечевого индекса [65], являющегося одним из основных показателей, используемых для прогнозирования развития осложнений СД [33]. При исследованиях нарушений периферического кровотока у пациентов с СД методом СДО отмечают снижение общего уровня кровотока как в спокойном состоянии [66], так и при применении функциональной нагрузки [67], снижение общей концентрации гемоглобина [68].

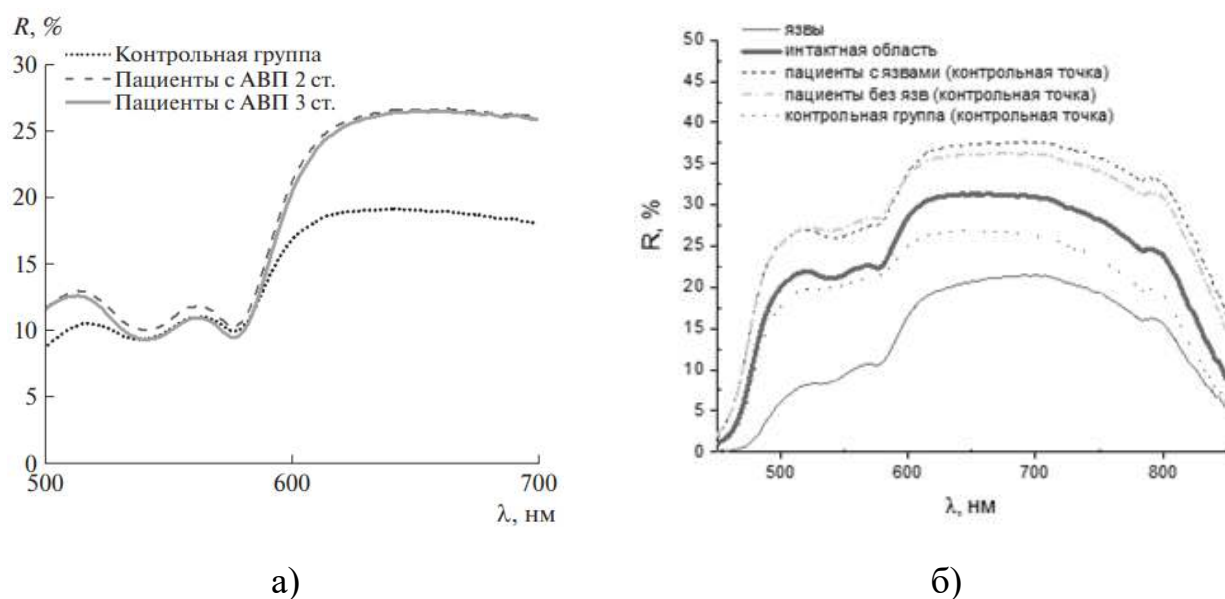


Рисунок 1.15 – Примеры спектров диффузного отражения пациентов с ревматическими заболеваниями (а) и с сахарным диабетом (б) в сравнении с данными здорового контроля

Перспективно применение СДО для оценки язвенного поражения стоп пациентов с СД и в диагностике процесса заживления язв. Исследования в этой

области позволяют использовать метод СДО для дифференциации тяжести осложнений СД [63] и прогнозировать процесс заживления язв [69]. На рисунке 1.15 представлены спектры диффузного отражения кожи пациентов с РЗ с различным уровнем активности воспалительного процесса (а) и спектры пациентов с СД (б) с наличием и отсутствием диабетических язв стопы.

Проведённый обзор демонстрирует перспективность применения метода СДО в диагностике нарушений, связанных с изменением воспалительного и кислородного статуса биологических тканей, прогнозировании язвенного процесса, однако в настоящий момент метод не позволяет выявлять расстройства периферического кровотока на ранних стадиях, оценивать механизмы регуляции кровотока. Наибольшее применение метод получил в качестве дополнительного инструмента диагностики к другим технологиям биофотоники в мультимодальных диагностических системах.

1.6.3 Гиперспектральная визуализация

Другим методом оптической неинвазивной диагностики, позволяющим оценить состояние оксигенации биологических тканей, является метод гиперспектральной визуализации. Суть метода заключается в регистрации серии изображений исследуемой области биологической ткани в узких частотных диапазонах, в совокупности составляющей гиперкуб, который характеризуется двумя пространственными (x , y) и одной спектральной (λ) координатами. Анализируя полученные данные, делают выводы о содержании хромофоров в исследуемой области, толщине эпидермиса, степени кровенаполнения и оксигенации биологической ткани.

Наибольшее распространение технология получила в различных областях онкологии и хирургии, а также в оценке процесса заживления различных язв [70]. В исследованиях пациентов с заболеванием периферических артерий была продемонстрирована возможность гиперспектральной визуализации выявлять различия в оксигенации нижних конечностей пациентов с и без ЗПА [71]. Показаны

возможности метода оценивать изменения в оксигенации тканей во время смоделированной ишемии и реактивной гиперемии [72].

В настоящее время одной из областей активного внедрения технологии гиперспектральной визуализации стала диагностика диабетических язв. Исследования, проведенные в этой области, показали способность метода оценивать эффективность терапевтических мероприятий, а также заранее предсказывать появление язв и прогнозировать их развитие. В работе Yudovski и соавторов по измерениям толщины эпидермиса выявлены возможности гиперспектральной визуализации предсказывать образование язвы [73]. На рисунке 1.16 показаны видимое и соответствующее ему гиперспектральное изображения стопы с диабетической язвой.



Рисунок 1.16 – Видимое (а) и гиперспектральное (б) изображения стопы с диабетической язвой [74]

Кроме того, в последующих исследованиях было также продемонстрировано, что технология позволяет успешно отличать язвы, способные к заживлению, от тех, что зажить не смогут [75]. На рисунке 1.17 приведены изображения стопы пациента с развивающейся язвой в видимом свете и соответствующие им гиперспектральные изображения.

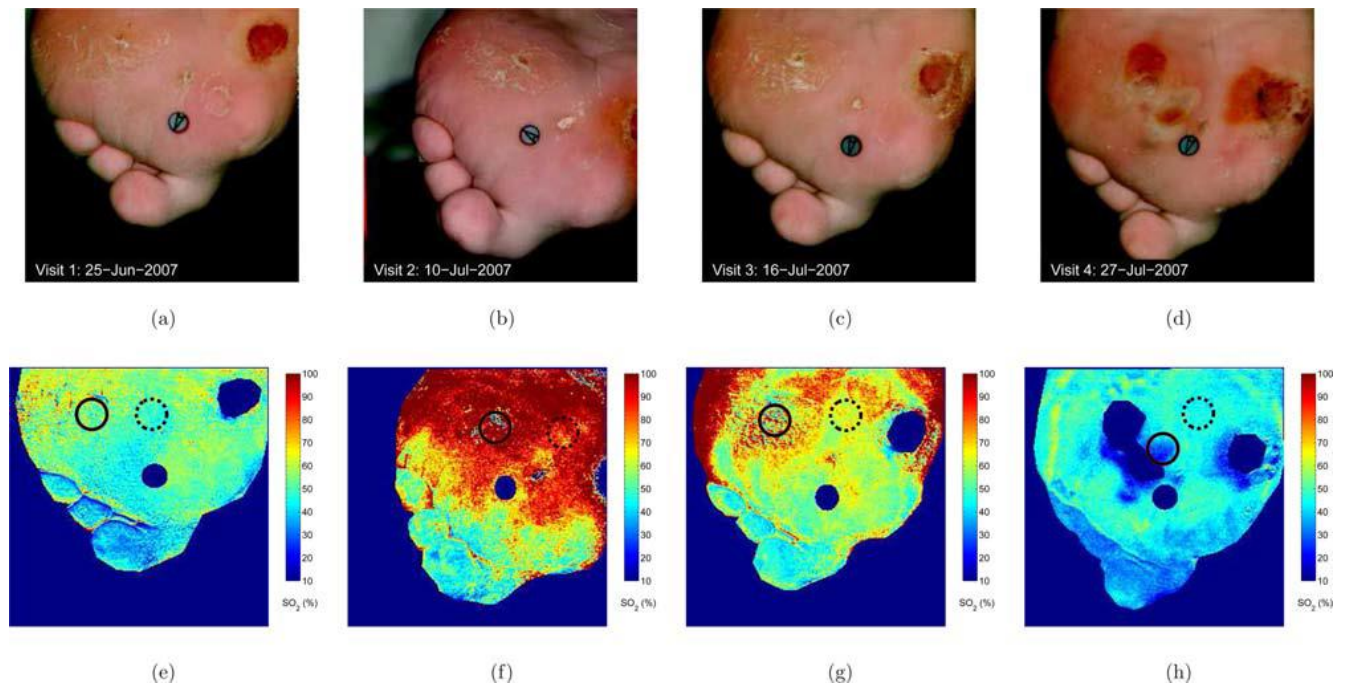


Рисунок 1.17 – Видимые изображения (а-г) и соответствующие карты оксигенации (д-з) стопы пациента с СД с развившейся язвой [76]

На основании вышеизложенного можно заключить, что гиперспектральная визуализация может предсказать процесс образования диабетической язвы за несколько месяцев до её появления, а также выявить язвы, которые подвержены риску незаживления, в связи с чем её использование считается эффективным в скрининге пациентов с СД для оценки рисков изъязвления и корректировки курса терапии.

1.6.4 Метод лазерной доплеровской флоуметрии

Метод лазерной доплеровской флоуметрии относят к категории методов динамического рассеяния света (ДРС). Основные принципы ДРС основаны на таких явлениях, как сдвиг частоты и флуктуации интенсивности света, распространяющегося через мутную тканеподобную рассеивающую среду, содержащую движущиеся частицы. Методы ДРС обычно основаны на облучении объекта исследования (биологической ткани) непрерывным лазерным излучением с одновременной регистрацией интенсивности рассеянного излучения с помощью одномодового оптического волокна или камеры [36].

Метод ЛДФ широко используется в различных областях исследований для *in vivo* оценки состояния периферического кровотока и позволяет измерять общую локальную перфузию крови в микроциркуляторном русле. Этот метод основан на зондировании тканей лазерным излучением и анализе света, рассеянного тканями. Свет, рассеиваемый от движущихся в обследуемой биологической ткани эритроцитов, претерпевает доплеровский сдвиг частоты (Δf), а частота света, рассеиваемого от неподвижных объектов, остаётся неизменной. На рисунке 1.18 продемонстрирован принцип действия ЛДФ.

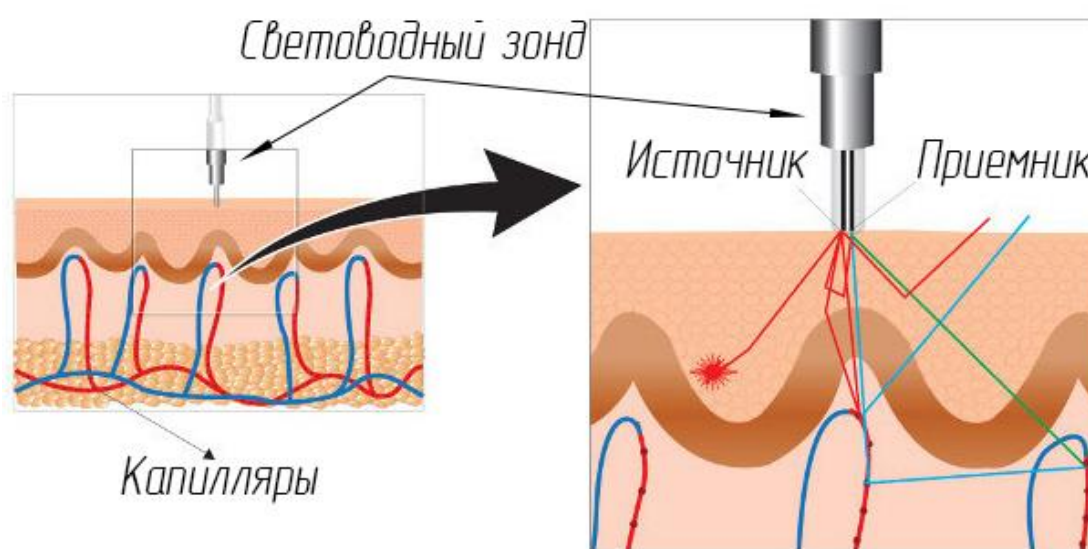


Рисунок 1.18 – Схема получения диагностической информации при проведении диагностики методом ЛДФ

Для описания связи Δf регистрируемого обратно рассеянного излучения со скоростью движения рассеивающих частиц v может использоваться следующее выражение [5]:

$$\Delta f = \frac{2nv}{\lambda}, \quad (1.2)$$

где Δf – доплеровский сдвиг частоты регистрируемого излучения;

n – показатель преломления среды;

v – скорость движения рассеивающих частиц;

λ – длина волны зондирующего излучения.

Существует зависимость между значением Δf и косинусом угла между направлением скорости движения рассеивающих частиц и векторами распространения оптического излучения, наибольшего значения величины Δf можно достичь при параллельной направленности данных векторов [5].

В общем виде результат измерений методом ЛДФ можно выразить следующим образом в виде показателя микроциркуляции (ПМ), измеряемого в перфузионных (условных) единицах [5]:

$$I_m = k \cdot N_{\text{эр}} \cdot v_{\text{эр}}, \quad (1.3)$$

где k – коэффициент пропорциональности (приборный коэффициент);

$N_{\text{эр}}$ – количество эритроцитов в исследуемом объеме биоткани;

$v_{\text{эр}}$ – скорость движения эритроцитов в исследуемом объеме биоткани.

В регистрируемом с применением ЛДФ сигнале можно выделить постоянную и переменную составляющие и выразить его в следующем виде:

$$\text{ПМ}(t) = M + \delta\text{ПМ}(t), \quad (1.4)$$

где M – постоянная составляющая сигнала;

$\delta\text{ПМ}(t)$ – переменная составляющая сигнала.

Переменная составляющая сигнала ЛДФ обусловлена периодическими колебаниями скорости кровотока или концентрации эритроцитов в исследуемой области. Ранее такие колебания сигнала ЛДФ считались источниками невоспроизводимости, однако применение более длительной регистрации сигнала и разработка алгоритмов его дальнейшего спектрального анализа позволили выявить закономерности в колебательной активности перфузии. К настоящему времени удалось установить 5 частотных интервалов, соответствующих различным механизмам регуляции микроциркуляторного русла, в которых регистрируются колебания перфузии [77–79]:

– частотный интервал 0,005-0,021 Гц соответствует регуляции просвета сосудов посредством выделения клетками эндотелия вазоактивных веществ; при осуществлении более длительной регистрации сигнала ЛДФ этот диапазон делят

на 2 поддиапазона – колебания с частотой 0,005-0,0095 Гц характеризуют активность эндотелия, не связанную с оксидом азота (NO), а колебания с частотой 0,0095-0,021 Гц характеризуют NO-зависимую деятельность эндотелия;

– диапазон 0,021-0,052 Гц связан с влиянием нейрогенной симпатической регуляции микрососудов;

– колебания с частотой 0,052-0,145 Гц соответствуют влиянию гладкомышечной мускулатуры сосудов;

– частотный диапазон 0,145-0,45 Гц соответствует распространению дыхательной волны по сосудам;

– частотный диапазон 0,45-2,0 Гц соответствует распространению пульсовой волны по сосудам.

Соответственно, колебания в этих частотных диапазонах получили название эндотелиальных (А_Э, пф.ед.), нейрогенных (А_Н, пф.ед.), мигенных (А_М, пф.ед.), дыхательных (А_Д, пф.ед.) и сердечных (А_С, пф.ед.). На рисунке 1.19 схематично изображена пространственная локализация механизмов регуляции микроциркуляторного русла и соответствующих им колебаний сигнала ЛДФ.

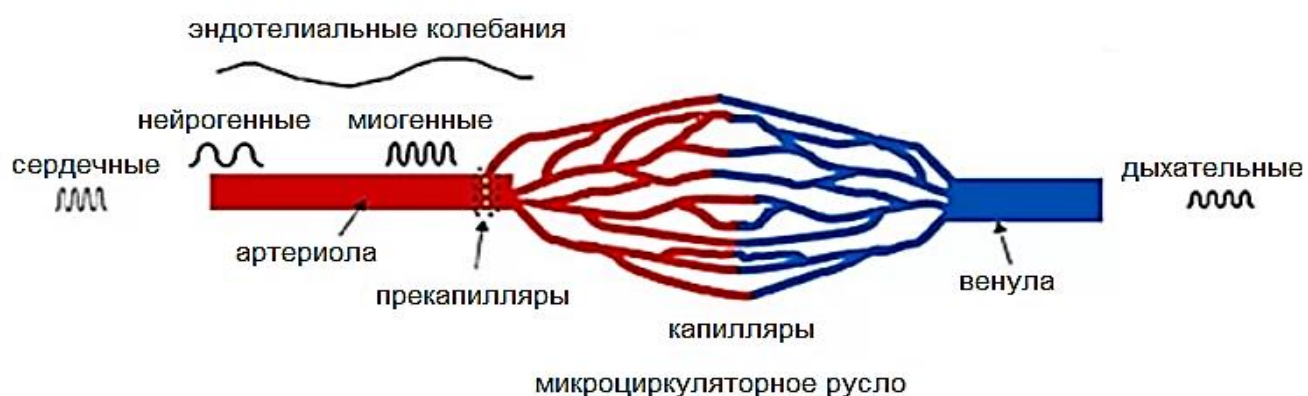


Рисунок 1.19 – Пространственная локализация механизмов регуляции микроциркуляторного кровотока и соответствующих им колебаний сигнала ЛДФ

[5]

При реализации метода ЛДФ зачастую используют двухканальную схему регистрации сигнала, при которой обратно рассеянное от кожи излучение регистрируется 2-мя отдельными фотодетекторами, электрический сигнал с

которых в дальнейшем проходит отдельную обработку, после чего поступает на дифференциальный усилитель, на выходе которого формируется необработанный доплеровский сигнал. Такая схема позволяет подавлять шум лазера и другие источники синфазного шума, общие для обоих каналов, в то время как сами доплеровские сигналы, будучи двумя независимыми реализациями одного и того же стохастического процесса, проходят через систему без подавления [80,81]. Вычисление показателя микроциркуляции крови в таких схемах можно представить выражением (1.5) [82]:

$$\text{ПМ} = \int_{f_1}^{f_2} f \cdot S[U_1(t) - U_2(t)] df / i_{DC}^2, \quad (1.5)$$

где $S[U_1(t) - U_2(t)]$ – спектр мощности результирующей записи, полученной в результате вычитания сигналов переменного тока двух фотодетекторов; i_{DC} – среднее значение сигнала постоянного тока от двух источников.

Метод ЛДФ за свою более чем 40-летнюю историю нашёл широкое применение в самых разнообразных медицинских приложениях, связанных с оценкой функционирования периферического кровотока. Метод был успешно применён в диагностике микрососудистых нарушений, связанных с развитием гипертонии [83], ревматических заболеваний [84–88], псориаза [89], сахарного диабета [90–92] и других патологических состояний. Показаны перспективы применения метода ЛДФ для мониторинга лимфотока [93], в измерениях спортивных нагрузок и оценке уровня стресса [94], в оценке эффективности лекарственной терапии различных нарушений [95,96].

В качестве одного из основных недостатков методу ЛДФ часто предъявляют отсутствие абсолютных единиц измерения (результат измерения выдаётся в виде перфузии, измеряемой в относительных перфузионных единицах), а также высокую неоднородность сигнала как между разными субъектами, так и в пределах одного субъекта при измерении разных точек тела. Тем не менее, ЛДФ имеет превосходное временное разрешение, в связи с этим метод нашёл более широкое применение в анализе реакции микроциркуляторного русла на различные

физиологические и фармакологические воздействия – функциональные пробы (ФП). На рисунке 1.20 приведена классификация применяемых на сегодня в исследованиях МЦК функциональных проб.

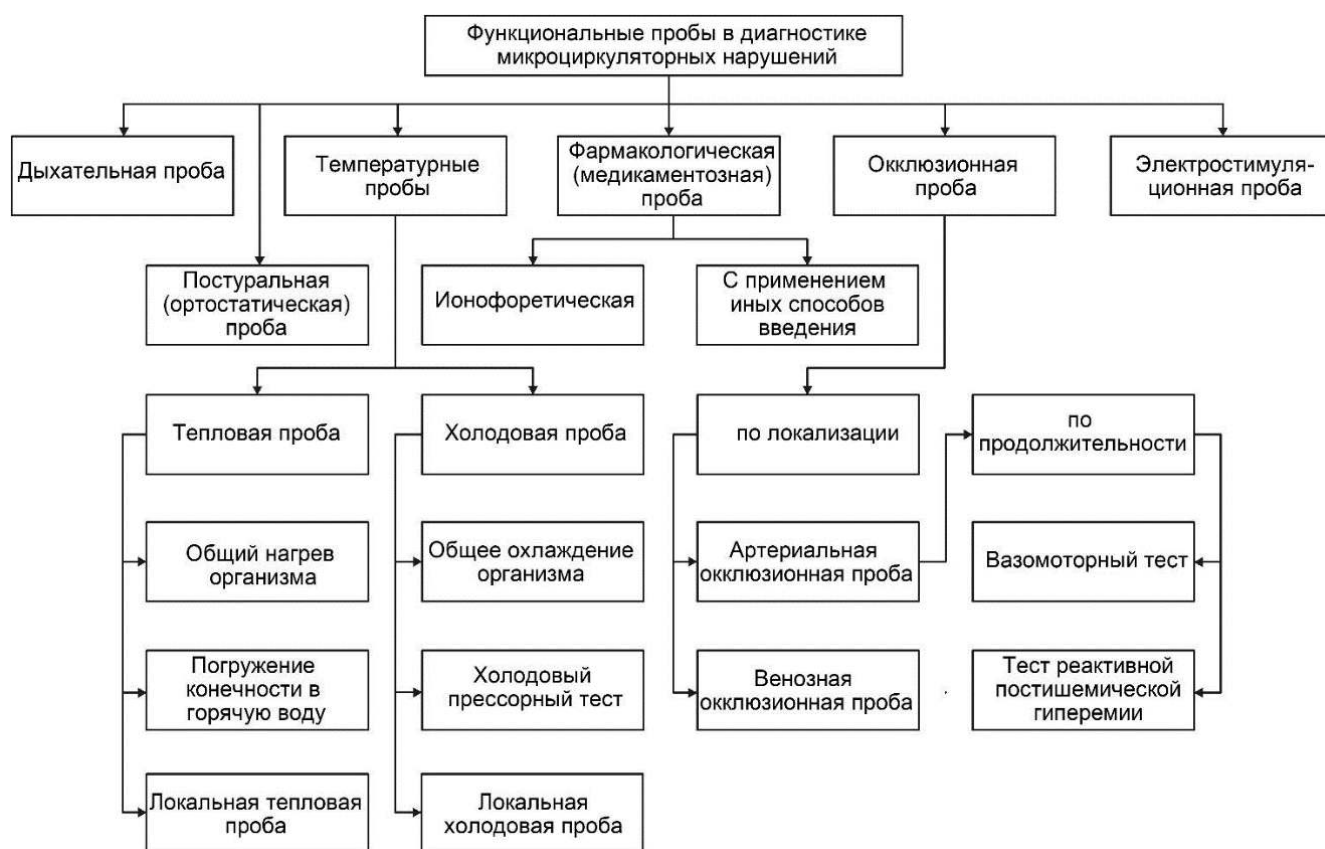


Рисунок 1.20 – Функциональные пробы, применяемые для оценки состояния системы МЦК [5]

Для оценки микроциркуляторных нарушений при СД и других патологиях системы МЦК наиболее часто используются окклюзионные (ОП), постуральные (ПП), ионофоретические и локальные тепловые пробы (ЛТП), рассмотрим их подробнее.

В фармакологических пробах в качестве медикаментозных стимулов используют различные вещества, вызывающие констрикцию или дилатацию сосудов. Например, для оценки процессов вазодилатации обычно используют ацетилхолин или нитропруссид натрия [5]. Для чрескожного введения веществ в кровотоки применяют постоянный электрический ток (ионофорез), вследствие чего пробу также называют ионофоретической. Применение воздействия

электрическим током может вызывать местные реакции в виде раздражения, гиперемии.

Окклюзионная проба (ОП) заключается в кратковременном создании условий искусственной ишемии путём прекращения притока крови к ткани или органу и последующем наблюдении за процессом реактивной постокклюзионной гиперемии при удалении препятствия. Наиболее часто используется плечевая окклюзионная проба, когда на уровне плеча перекрывают кровоток лучевой артерии руки. Также иногда применяют венозную окклюзионную пробу, при которой используют меньшее давление для преимущественного сдавления вен и создания препятствия для оттока крови из микроциркуляторного русла. Стоит отметить, что применение такого воздействия зачастую является болезненным и вызывает неприятные ощущения у пациента. Положительная корреляция между временем до достижения пика во время постокклюзионной реактивной гиперемии и наличием активных или прошлых язв стопы была обнаружена у людей с диабетом с помощью ЛДФ [97]. Более того, было замечено, что восстановление исходного кровотока после постокклюзионной реактивной гиперемии происходит медленнее у людей с диабетом [98].

Локальная тепловая проба является одной из наиболее популярных функциональных проб, используемых при исследовании состояния МЦК у пациентов с СД. Используя местное нагревание, можно оценить сразу два механизма вазодилатации: рефлекторная реакция местных сенсорных нервов вызывает начальный пик вазодилатации, а при длительном нагревании можно также оценить эндотелий-зависимую вазодилатацию [99]. Недавний обзор и мета-анализ статей, изучающих использование ЛДФ в сочетании с ЛТТ для оценки микроциркуляции крови при диабете [100], показал, что большинство исследований указывают на снижение вазодилатации у пациентов с СД в ответ на локальный нагрев. Кроме того, этот параметр был ещё более снижен в группе пациентов с диагностированными осложнениями диабета (такими как диабетическая нейропатия или ангиопатия) по сравнению с пациентами без осложнений [101,102]. Однако следует отметить, что эти исследования

существенно ограничены, в частности, тем фактом, что условия проведения ЛТП не стандартизированы и разные авторы применяют различные режимы нагрева с разными максимальными температурами, скорость и продолжительность нагрева также не регламентирована. Для исследования максимальной вазодилатации обычно применяют протоколы с нагревом тканей до 42-44 °С, что в совокупности с высокой скоростью нагрева приводит к тому, что кровь не успевает отводить поступающее тепло, и возникают крайне болезненные и неприятные ощущения.

Несмотря на широкое применение ЛДФ в научных исследованиях, оценивающих функционирование МЦК при различных патологических состояниях, этот метод не получил достаточного клинического применения. Причиной этому является тот факт, что большинство протоколов исследования предполагают применение длительных измерений с использованием ФП. В таблице 1.3 приведены примеры разработанных протоколов диагностики расстройств периферического кровотока с использованием ЛДФ при различных патологических состояниях.

Таблица 1.3 – Протоколы диагностики расстройств периферического кровотока с использованием ЛДФ при различных патологических состояниях

Группа заболеваний	ФП	Длительность, мин	Se	Sp	AUC	Год	Ссылка
РЗ	ОП+ТП	33	0,88	0,74	-	2015	[84]
СД	ТП	22	0,92	0,90	0,93	2017	[91]
РЗ	ХПП	35	0,92	0,97	0,93	2018	[103]
СД	ОП+ПП	13	0,91	0,95	-	2021	[104]
СД	ТП	35	0,73	0,77	0,87	2022	[105]

Как упоминалось выше, одной из отличительных особенностей микроциркуляции крови кожи человека является её значительная

пространственная неоднородность. Для преодоления этой проблемы была разработана технология лазерной доплеровской перфузионной визуализации (ЛДПВ), осуществляющей широкопольное сканирование исследуемой области и в результате измерения составляющей карту перфузии. В первой реализации этой технологии использовалось подвижное зеркало, которое меняло направление лазерного излучения и сканировало ткань точка за точкой, чтобы восстановить карту кровотока [106,107]. В настоящее время предложены полноформатные системы ЛДПВ, охватывающие сразу всё поле зрения, которые являются объектом активных исследований. Метод нашел широкое применение в оценке заживления ран, включая язвы, возникающие при диабете. Помимо исследования ран, ЛДПВ вместе с различными функциональными воздействиями использовался для оценки других нарушений при СД. С помощью ЛДПВ и ЛТП было показано нарушение нервной функции у пациентов с диабетом [108].

Лазерная спекл-контрастная визуализация (ЛСКВ) – еще один метод ДРС, позволяющий осуществлять бесконтактную полнопольную визуализацию потоков в режиме реального времени. В ЛСКВ информация о кровотоке получается путем анализа вариаций спекл-контраста [109]. Свет, рассеянный на образце, попадает на камеру, где регистрируются спеклы, которые образуются в результате интерференции между фотонами, достигающими одного и того же пикселя после прохождения разных путей. Коэффициент контрастности связан со скоростью движущихся частиц, вызывающих размытие пятна, что характеризует интенсивность кровотока в биологических тканях. Хотя эта технология использовалась для оценки состояния кровотока в различных областях медицины, в настоящее время она редко применяется для изучения кожной микроциркуляции при расстройствах периферического кровотока. Ранее было показано, что ЛСКВ имеет отличное пространственное и временное разрешение, а также воспроизводимые результаты измерений [110]. Большинство исследований с использованием ЛСКВ направлены на изучение состояния церебрального [111] и ретинального кровотока [112–114]. Эти участки наиболее удобны для исследования, так как близко расположенные сосуды обеспечивают более высокое

соотношение сигнал/шум. Позже эта технология стала применяться при хирургических вмешательствах.

Несмотря на преимущества разработанных технологий визуализации, их применение в клинической практике для неинвазивного исследования расстройств периферического кровотока в различных патологических состояниях всё ещё остаётся ограниченным вследствие высокой стоимости оборудования, сложности технической реализации и трудоёмкого процесса обработки и анализа регистрируемых данных. Актуальной остаётся разработка протоколов применения метода ЛДФ с сокращённой длительностью проведения исследования и по возможности избегающих применения ФП в различных областях клинической практики. Разработка портативных устройств ЛДФ, осуществляющих прямое облучение исследуемой области без применения оптического волокна, позволила бы существенно упростить процедуру регистрации данных и сделать её более удобной для медицинского персонала, что также способствует более широкому внедрению метода в клиническую практику.

1.7 Экспериментальные исследования по оценке возможностей применения вейвлет-анализа для диагностики расстройств периферического кровотока методом ЛДФ

Применение спектрального анализа зарегистрированных сигналов ЛДФ позволяет расширить диагностический потенциал метода ЛДФ и получить дополнительную важную диагностическую информацию о регуляции системы МЦК [79,115].

Для осуществления спектрального анализа сигналов ЛДФ применяют различные подходы, но лучше всего зарекомендовал себя подход с применением адаптивного вейвлет-преобразования сигналов [116]. Применение адаптивного вейвлет-преобразования позволяет сократить влияние краевых эффектов и более корректно анализировать низкочастотные колебания кровотока. В качестве анализирующего вейвлета ($\psi(t)$) в анализе ЛДФ-грамм принято использовать комплекснозначный вейвлет Морле:

$$W_x(f_{\text{кол}}, \tau) = \sqrt{f_{\text{кол}}} \int_{-\infty}^{\infty} \text{ПМ}(t) \psi^*[f_{\text{кол}}(t - \tau)] dt, \quad (1.6)$$

где t – время, τ – перемещение вейвлета по оси времени, $f_{\text{кол}}$ – оценка частоты колебаний, символ $*$ обозначает оператор комплексного сопряжения. Вейвлет Морле определяется следующим образом:

$$\psi(t) = e^{2\pi i t} e^{-t^2/2\sigma^2}. \quad (1.7)$$

Используя эту функцию, можно исследовать амплитудные и фазовые свойства колебаний различных частот в анализируемом сигнале. Интегрированный вейвлет-спектр рассчитывается путем интегрирования уравнения (1.6) по периоду T временной серии записи следующим образом:

$$M_{\text{кол}}(f_{\text{кол}}) = \frac{1}{T} \int_0^T |W_x(f_{\text{кол}}, \tau)|^2 d\tau. \quad (1.8)$$

С целью оценки информативности применения данного вейвлет-анализа зарегистрированных ЛДФ-грамм при проведении различных функциональных проб были проведены предварительные экспериментальные исследования с участием пациентов с РЗ и пациентов с СД, а также условно здоровых добровольцев.

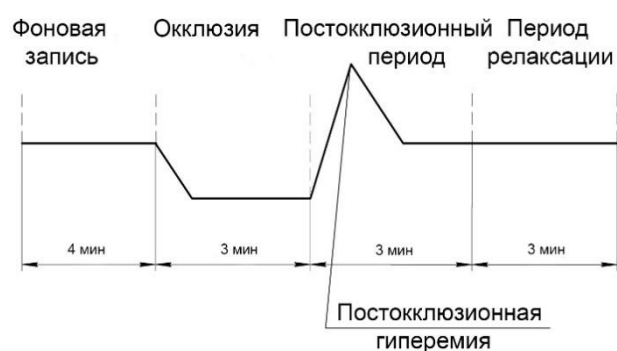
В первой части исследования оценены возможности применения адаптивного вейвлет-анализа ЛДФ-грамм при проведении ОП [117].

В исследовании приняли участие 28 условно-здоровых добровольцев со средним возрастом 22 года и 1 пациент (21 год) ревматологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» с диагнозом системной красной волчанки и с сопутствующим заболеванием – синдромом Рейно. Одно исследование длилось 13 мин и включало непрерывную регистрацию ЛДФ-граммы в течение следующих периодов: начальная (фоновая) запись (НЗ) (4 мин), артериальная окклюзия с давлением в манжете тонометра 200-220 мм рт. ст. (3 мин), постокклюзионный период (3 мин) и период релаксации (3 мин). Во время проведения исследования испытуемый располагался в положении сидя, правая рука лежала на столе на уровне сердца. В качестве экспериментального

оборудования использовался двухканальный лазерный анализатор капиллярного кровотока «ЛАКК-02» (ООО НПП «ЛАЗМА», г. Москва). Исследования проводились на 2-х топографо-анатомических участках кожи, расположенных на вентральных поверхностях дистальной и проксимальной фаланг среднего пальца правой руки. Как известно, эти зоны богаты АВА, исключительно зависимыми от симпатической вазомоторной иннервации [5]. Расположение оптических волокон с помощью специальных манжет на пальцах рук во время проведения экспериментальных исследований представлено на рисунке 1.21.



(а)



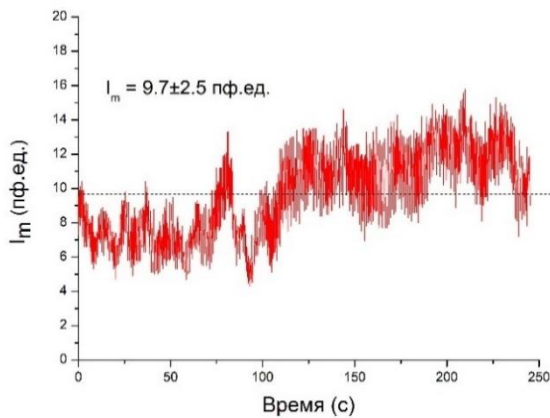
(б)

Рисунок 1.21 – Расположение оптических волокон на пальцах рук добровольца во время проведения исследований (а) и временная диаграмма проведения эксперимента (б)

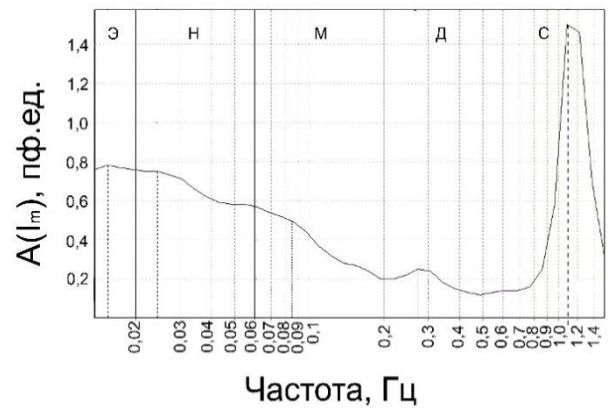
После проведения экспериментов фрагменты ЛДФ-грамм пред- и постокклюзионных периодов подвергались адаптивному вейвлет-анализу с помощью программы LDF 3.0.2.384 (ООО НПП «ЛАЗМА») которая реализует непрерывное вейвлет-преобразование с использованием в качестве анализирующего вейвлета комплекснозначного вейвлета Морле [115]. С помощью данного вейвлет-анализа определялись амплитудные значения колебаний для 5 основных частотных диапазонов. На их основе для оценки колебательного компонента микрососудистого тонуса, согласно [5], рассчитывались показатели эндотелиального (ЭТ), нейрогенного (НТ) и миогенного (МТ) тонуса. По методике

[94,118], основанной на анализе амплитуд колебаний кровотока, рассчитывали показатель шунтирования (ПШ) и нутритивный кровоток ($M_{\text{нутр}}$).

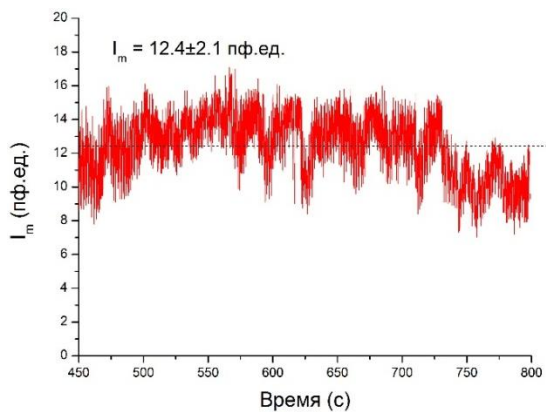
На рисунке 1.22 представлен типовой пример фрагментов зарегистрированной с условно-здорового добровольца ЛДФ-граммы и её усреднённые амплитудно-частотные спектры, а на рисунке 1.23 – её 3D-анализ соответственно до и после проведения окклюзии. Представленные рисунки наглядно демонстрируют преимущества применения 3D-анализа, позволяющего оценить изменения амплитуд колебаний кожного кровотока в каждый момент времени проведения окклюзионной пробы.



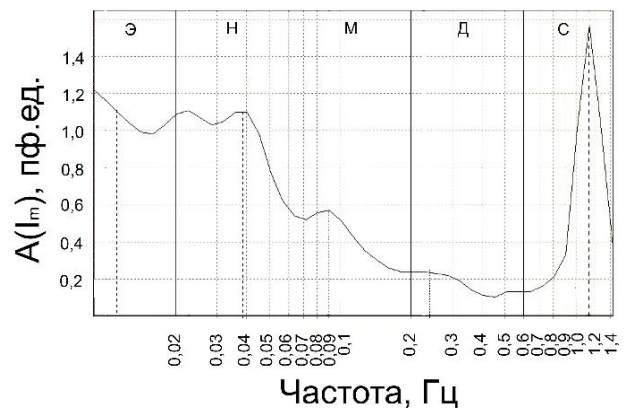
(а)



(б)



(в)



(г)

Рисунок 1.22 – Типовой пример фрагментов ЛДФ-граммы и её амплитудно-частотных спектров до (а, б) и после (в, г) проведения окклюзии, где:

Э – эндотелиальные, Н – нейрогенные, М – миогенные, Д – дыхательные,
С – сердечные колебания

Полученные в результате экспериментальных исследований на 28 условно-здоровых добровольцах данные анализа осцилляций кожного кровотока статистически обработаны и сведены в таблицу 1.4. При помощи критерия Манна-Уитни оценено различие значений анализируемых параметров до и после проведения окклюзии.

Анализ полученных данных выявил различия в адаптационных изменениях у всех добровольцев в обеих областях исследования. Так, сразу после проведения окклюзии наблюдаются статистически значимые различия некоторых параметров. Например, у большинства добровольцев во 2-й точке (дистальная фаланга пальца) происходит уменьшение нормированных на СКО амплитуд всех 5 исследуемых колебаний, в то время как для 1-й точки (проксимальная фаланга пальца) уменьшение амплитуд колебаний зафиксировано только для миогенного, дыхательного и сердечного диапазонов.

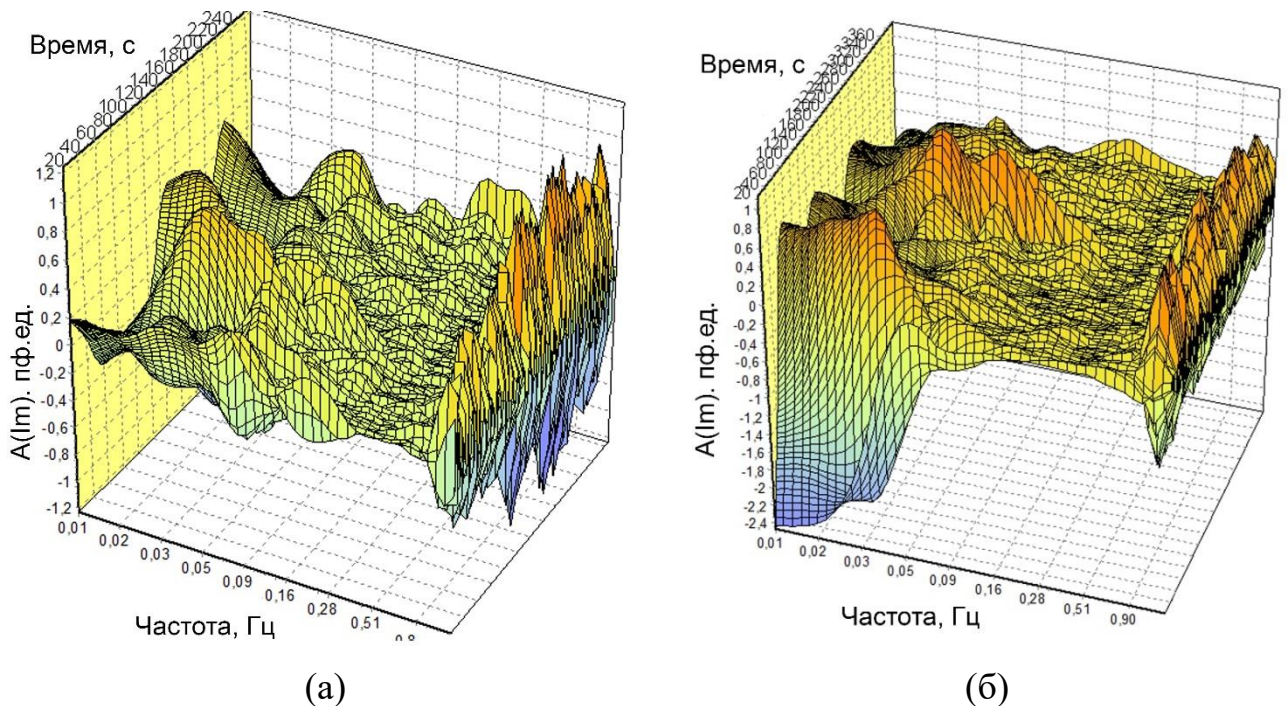


Рисунок 1.23 – Пример 3D-анализа ЛДФ-граммы до (а) и после (б) проведения окклюзии

Таблица 1.4 – Результаты анализа колебаний кожного кровотока

№	Параметр	1 канал		2 канал	
		до окклюзии	после окклюзии	до окклюзии	после окклюзии
1	ПМ, пф.ед.	9,4±3,1	10,6±2,9	11,1±3,9	11,3±3,7
2	M _{внутр} , пф.ед.	3,6±1,4	3,8±1,6	3,9±1,5	4,1±1,8
3	A _Э , пф.ед.	0,9±0,5	1,1±0,6	1,0±0,6	1,3±0,5*
4	A _Н , пф.ед.	0,9±0,6	1,0±0,5	1,1±0,6	1,2±0,5
5	A _М , пф.ед.	0,7±0,4	0,8±0,5	0,8±0,5	0,9±0,4
6	A _Д , пф.ед.	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,3±0,2
7	A _С , пф.ед.	0,5±0,3	0,5±0,3	0,6±0,2	0,6±0,2
8	A _Э /3σ, отн.ед.	15,7±4,6	14,7±3,9	17,6±4,6	14,0±3,3*
9	A _Н /3σ, отн.ед.	16,7±4,7	14,3±4,6	18,6±4,5	12,4±4,1*
10	A _М /3σ, отн.ед.	13,4±3,5	10,7±4,0*	14,3±3,5	10,3±4,4*
11	A _Д /3σ, отн.ед.	4,8±2,5	3,3±1,5*	4,5±2,2	3,3±2,2*
12	A _С /3σ, отн.ед.	10,9±5,7	7,9±4,2*	11,8±6,2	6,8±2,4*
13	A _Э /ПМ, отн.ед.	9,8±9,9	11,5±8,5	12,3±7,8	13,4±6,1
14	A _Н /ПМ, отн.ед.	9,9±9,0	10,1±6,0	12,9±7,9	11,6±4,8
15	A _М /ПМ, отн.ед.	7,6±6,4	7,5±4,3	9,3±4,8	9,4±4,0
16	A _Д /ПМ, отн.ед.	2,1±1,2	2,1±0,8	2,7±1,6	2,9±1,4
17	A _С /ПМ, отн.ед.	5,6±4,5	5,7±4,6	6,4±1,7	5,8±1,3
18	ПШ, отн.ед.	2,8±0,9	3,1±1,2	3,0±0,7	3,0±1,1
19	ЭТ, отн.ед.	3,2±2,2	3,9±3,4	1,9±0,9	2,0±0,8
20	НТ, отн.ед.	2,9±1,9	4,3±4,8	1,8±0,9	2,4±1,5
21	МТ, отн.ед.	3,5±1,8	5,2±3,1*	2,4±1,5	3,1±2,4

* – статистическая значимость различий значений показателей после проведения окклюзии по отношению к значениям до воздействия с $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни

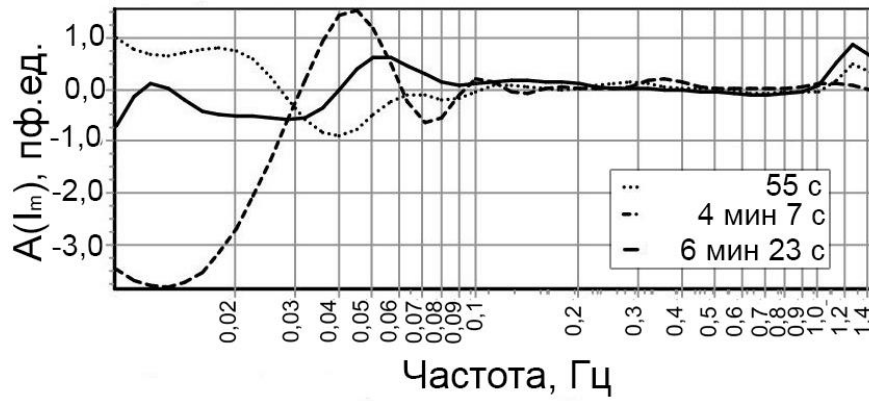
Кроме того, предлагаемая методика позволяет оценивать процессы адаптации системы МЦК в динамике. Например, для одного из волонтеров (девушка, 21 год) в точке 1 на 11 с после окклюзии амплитуда миогенных колебаний (A_М) составила 0,8 пф. ед., а к 43 с амплитуда уменьшилась до 0, а затем к 5 мин 42 с увеличилась до 1,3 пф. ед. В точке 2 на 14 с после окклюзии A_М соответственно составила 0,8 пф. ед., а к 26 с амплитуда уменьшилась до 0, а затем к 3 мин 34 с составила 0,9 пф. ед. Таким образом, в начале постокклюзионного периода наблюдается резкое нарастание миогенных колебаний с последующим их спадом и далее восстановлением до исходного уровня, что может

свидетельствовать о резком увеличении метаболической активности тканей исследуемой области сразу после окончания окклюзии и о дальнейшем восстановлении ее нормального функционального состояния [5,119].

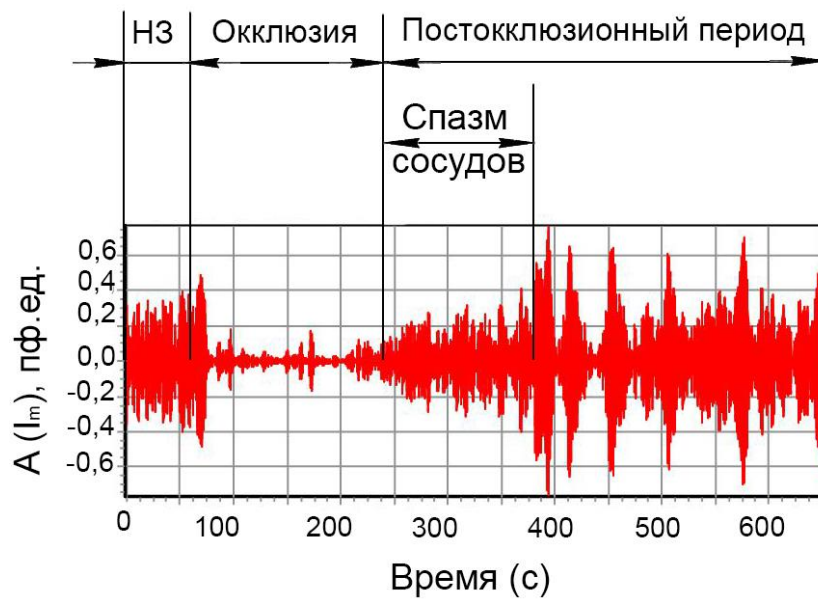
Для другого волонтера (парень, 21 год) в точке 1 через 1 мин после прекращения окклюзии амплитуда миогенных колебаний (A_M) достигла своего максимального значения и составила 1,0 пф.ед., а ещё через 3 минуты составила 0,2 пф.ед. В точке 2 наблюдаются другие процессы: через 1 мин 23 с после окклюзии максимального значения достигла амплитуда нейрогенных колебаний, а еще через 4 мин она составила уже 0,3 пф.ед., что может свидетельствовать об увеличении количества вырабатываемых NO-эндотелием вазодилататоров после проведения окклюзии, и о восстановлении нормального функционального состояния к концу исследования [5,118,120].

На рисунке 1.24 представлены примеры 3D-анализа результатов исследования кожного кровотока пациента ревматологического профиля с сопутствующим заболеванием в виде синдрома Рейно на пальцах рук.

Анализ полученных на пациенте данных показал, что после проведения окклюзии амплитуды колебаний кровотока в сердечном частотном диапазоне некоторое время (1 мин 35 с) остаются на сниженном уровне (по сравнению с уровнем колебаний в фоновой записи), что может свидетельствовать о спазме резистивных сосудов и о неадекватности реакции системы МЦК на прекращение стрессового воздействия. Кроме того, из полученных во время исследования данных следует, что сразу после прекращения окклюзии наблюдалось резкое увеличение миогенного тонуса, что может свидетельствовать о вазоконстрикторных процессах. В то же время увеличение амплитуд низкочастотных колебаний при отсутствии изменений миогенных осцилляций может свидетельствовать о слабом восстановлении микроциркуляторного русла (снижение адаптационных резервов системы МЦК), а увеличение амплитуд нейрогенных колебаний при уменьшении величины нутритивного кровотока является индикатором активации путей ненутритивного кровотока.



(a)



(б)

Рисунок 1.24 – Временные (а) и частотный (б) срезы 3D-анализа колебаний кожного кровотока пациента ревматологического профиля: временные срезы соответственно для фоновой записи (55 с), начала постокклюзионного периода (4 мин 7 с) и в конце периода релаксации (6 мин 23 с); частотный срез для частоты сердечных колебаний 1,133 Гц

Таким образом, применение адаптивного вейвлет-преобразования при анализе ЛДФ-грамм позволяет качественно оценивать динамику изменений амплитуд осцилляций кожного кровотока в исследуемых частотных диапазонах, что повышает информативность функциональной диагностики периферических сосудов при проведении окклюзионных проб. Данный подход может быть использован для выявления возможных нарушений в системе МЦК на ранних

стадиях заболеваний, однако, стоит подчеркнуть, что применение ОП зачастую является крайне болезненным для пациентов ввиду способа осуществления.

В этой связи дополнительно была оценена возможность использования адаптивного вейвлет преобразования ЛДФ-сигналов для диагностики нарушений регуляции системы МЦК у пациентов с РЗ и СД 1 и 2 типов без применения функциональных нагрузочных проб [121].

Шестьдесят пациентов с РЗ (55 ± 14 лет, 12 мужчин и 48 женщин) были вовлечены в данное исследование. Тридцать два условно здоровых добровольца (22 ± 2 года, 16 мужчин и 16 женщин) приняли участие в исследовании добровольно. Во время исследования участники сидели, положив руки на стол на уровне сердца. Оптический зонд ЛДФ располагался на волярной поверхности 3-его пальца правой руки. Исследование длилось 5 мин и включало регистрацию ЛДФ-сигнала в базальных условиях. Для проведения экспериментальных исследований использовались экспериментальные системы ЛАКК-ОП и ЛАКК-М (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия).

В следующем исследовании приняли участие 17 пациентов с СД 1 типа, 23 пациента с СД 2 типа и 40 условно здоровых добровольцев, которые составили контрольную группу. Клинико-лабораторные данные группы пациентов были следующими:

- для группы пациентов с СД 1 типа средний возраст 35 ± 9 лет, 10 мужчин и 7 женщин;
- для группы пациентов с СД 2 типа средний возраст 50 ± 6 лет, 10 мужчин и 13 женщин;
- в контрольную группу вошли 26 мужчин и 14 женщин в возрасте 39 ± 9 лет.

Для проведения экспериментальных исследований использовался ЛДФ-канал диагностического комплекса «ЛАЗМА-СТ» (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия).

Эксперимент включал регистрацию перфузии в течение 4 мин в нормальных условиях, то есть без осуществления ФП. В течение всего протокола участники находились в положении лёжа, оптический зонд располагался на дорсальной

стороне стопы на плато между 1-м и 2-м плюсневидными костями. При проведении исследования стопа испытуемого находилась на уровне сердца. На рисунке 1.25 представлен принцип измерения пациентов с РЗ (а) и с СД (б).

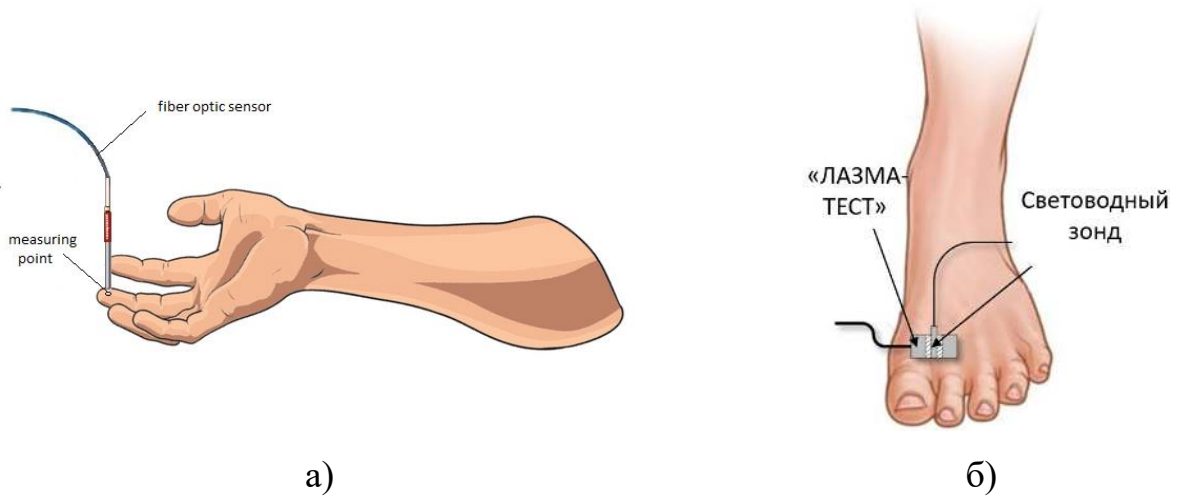


Рисунок 1.25 – Области крепления оптического зонда при измерениях пациентов с РЗ (а) и с СД (б)

Зарегистрированные ЛДФ-граммы были подвержены вейвлет-анализу: рассчитаны вейвлет-коэффициенты для частотного диапазона 0,01-2 Гц с логарифмическим разбиением на 50 частотных поддиапазонов. Первоначально $M(v)$ рассчитывали для каждой записи, не учитывая ступенчатые изменения ЛДФ-грамм, вызванные изменениями условий окружающей среды, чтобы исключить их влияние на спектр. Полученные вейвлет-спектры усреднялись по группе. Результаты исследования приведены на рисунке 1.26.

Проведённый анализ выявил существенную разницу в спектральных характеристиках колебаний кровотока между группами здоровых добровольцев и пациентов. Так, у пациентов ревматологического профиля наблюдались более высокие амплитуды колебаний в диапазоне частот выше 0,1 Гц. Полученные результаты могут быть объяснены структурными и функциональными изменениями МЦК, происходящими при развитии РЗ. Пациенты с СД имели нарушенную амплитуду колебаний кровотока в полосе частот 0,012-0,045 Гц, что соответствует механизмам регуляции эндотелиального и нейрогенного тонуса сосудов. Энергия пульсаций 1 Гц была значительно ниже у пациентов по

сравнению с контрольной группой. Повышенная жёсткость артерий и аномальная эндотелиальная реактивность могут быть причиной уменьшения амплитуд сердечных и эндотелиальных колебаний соответственно.

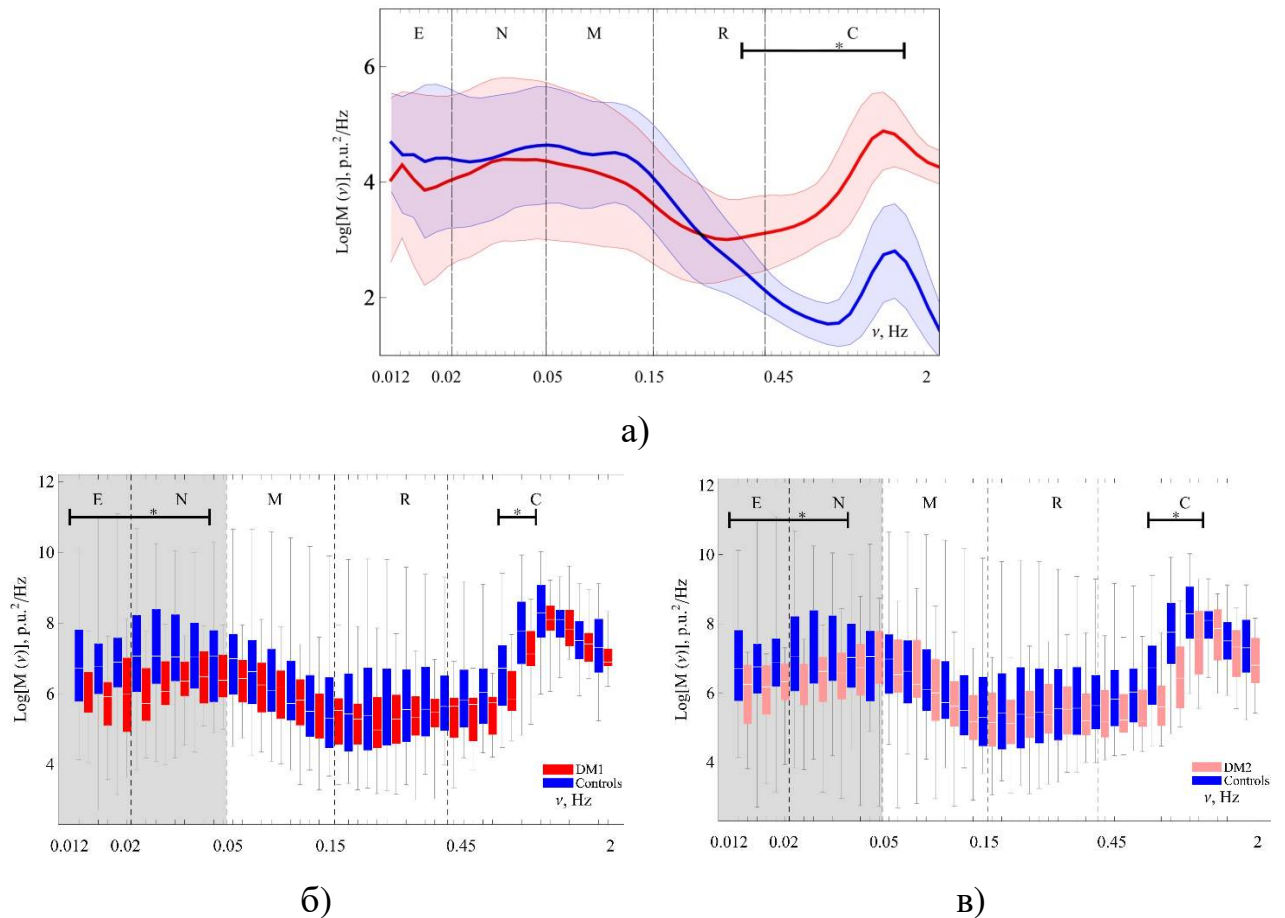


Рисунок 1.26 – Усреднённые вейвлет-спектры сигналов ЛДФ для пациентов с РЗ (а) и для пациентов с СД 1 типа (б) и 2 типа (в):

синие области соответствуют контрольным группам, красные – пациентам; толстые черные линии в верхних частях графика указывают полосу частот, где $M(v)$ значительно отличается ($p < 0,05$) [121]

Таким образом, можно сделать вывод о том, что с помощью вейвлет-анализа ЛДФ-грамм можно определять не только наличие нарушений в системе МЦК, но и выявлять их причины, базируясь на анализе осцилляций периферического кровотока и механизмах его регуляции. Кроме того, особо стоит подчеркнуть, что эффективность и доступность применения метода ЛДФ снижают его существенные недостатки в виде высокой чувствительности к артефактам движения

установленного оптического зонда на кожу испытуемого, больших габаритных размеров приборов и всё ещё недостаточной проработанности методологии оценки зарегистрированных данных. Высокая трудоёмкость данной диагностической процедуры вследствие необходимости применения функциональных нагрузочных проб и сложность интерпретации результатов ЛДФ являются одними из основных причин, препятствующих применению данной технологии в более широкой клинической практике. Следовательно, разработка новых устройств и методов с применением средств машинного обучения является актуальной задачей, а одним из путей развития ЛДФ является переход от стационарных громоздких аппаратов к портативным (носимым) приборам без применения оптических волокон [6,122–124].

1.8 Выводы по главе 1

1) Проведённый обзор и анализ расстройств периферического кровотока показал, что оценка степени выраженности нарушений функционирования системы МЦК имеет крайне важное значение как в диагностике, так и в контроле качества проводимого лечения пациентов с широким спектром заболеваний ССС.

2) Ранние стадии развития расстройств периферического кровотока часто являются обратимыми в отличие от более поздних стадий, поэтому именно уменьшение вероятности ложноотрицательного результата (уровня ошибки 1-ого рода) является критически важным при диагностике периферического кровотока.

3) Проведённый обзор инструментальных методов диагностики состояния периферического кровотока продемонстрировал, что большинство применяемых в настоящий момент в клинической практике методов диагностики не позволяют оценивать состояние кровотока на уровне микроциркуляции крови, таким образом препятствуя ранней диагностике нарушений.

4) Результаты литературного обзора и проведённой экспертной оценки показали, что вероятность ложноотрицательного результата инструментальной диагностики расстройств периферического кровотока на сегодняшний день

остаётся всё ещё на довольно высоком уровне и составляет более 0,3, в то время как максимально допустимый уровень вероятности должен составлять менее 0,2.

5) Для решения обозначенной проблемы среди всех рассмотренных методов оптической диагностики, представляющих уникальные возможности как для структурного и функционального анализа биологических тканей, так и для ранней и неинвазивной диагностики, предложено использовать метод лазерной доплеровской флоуметрии с вейвлет-анализом зарегистрированных данных перфузии, причём, перспективным является применение ЛДФ без нагрузочных (зачастую болезненных для пациентов) проб.

6) Проведённые экспериментальные исследования с участием условно-здоровых добровольцев, пациентов с РЗ и СД показали, что вейвлет-анализ сигналов ЛДФ является эффективным средством диагностики нарушений в системе МЦК, позволяющим диагностировать расстройства периферического кровотока даже без применения функциональных нагрузочных проб, а также выявлять причины обнаруженных нарушений.

7) В качестве перспективного развития метода ЛДФ для выявления расстройств периферического кровотока предлагается перейти к портативному (носимому) варианту устройства без использования волоконно-оптических зондов, являющихся одними из главных недостатков стационарных приборов в виду их высокой чувствительности к артефактам движения.

ГЛАВА 2. РАЗРАБОТКА ПОРТАТИВНОГО УСТРОЙСТВА ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВОТОКА

2.1 Численное моделирование распространения оптического излучения в коже с различными характеристиками для анализа диагностического объёма биоткани с учётом конструктивных особенностей устройств

Концептуальное проектирование конкретных оптических диагностических систем для биомедицинского применения, а тем более в портативном варианте, требует тщательного выбора различных технических параметров, включая длину волны излучения, когерентность, профиль поляризации и интенсивности падающего света, чувствительность фотодетектора, размер, а также геометрию и взаимное положение источника и детектора (база измерения, r) и т.д. [125–127]. Ряд ранее опубликованных работ указывает на важность такого конструктивного параметра как расстояние между источником и приёмником излучения (база измерения, r), существенно влияющего на глубину проникновения в биологические ткани зондирующего излучения [126,128]. Некоторые авторы также отмечают, что адекватный учёт этого параметра при разработке устройств оптической неинвазивной диагностики может позволить разрабатывать устройства под конкретные задачи, где требуется зондирование тканей на определённой глубине [129]. Взаимосвязь базы измерения r с глубиной зондирования H в оптических методах диагностики «на отражение» представлена на рисунке 2.1.

Следовательно, для выбора и оптимизации рассмотренных основных конструктивных параметров требуется разработка теоретической модели, которая может всесторонне описать распространение света в биологических тканях [130].

Для обоснования специализированных МТТ, предъявляемых к портативным устройствам ЛДФ, основанных на анализе диагностического объёма биоткани с учётом конструктивных особенностей устройств, в настоящей работе осуществлено численное моделирование распространения оптического излучения в коже с различными характеристиками. В задачи исследования входило создание

релевантной модели распространения оптического излучения в биологической ткани, учитывая параметры области исследования (уровень кровенаполнения, содержание хромофоров и др.), а также оценка влияния изменения «базы измерения» на формирование информативного сигнала.

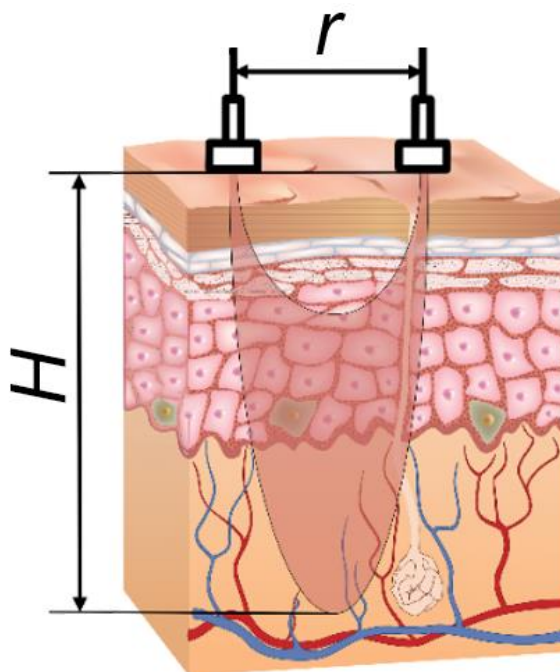


Рисунок 2.1 – Взаимосвязь базы измерения r с глубиной зондирования H в оптических методах диагностики «на отражение»

Для достижения точного математического описания распространения оптического излучения в оптически неоднородной среде, к числу которых относят биологические ткани, принято использовать теорию переноса излучения (ТПИ). Теория имеет эвристический характер и среди её недостатков отмечают недостаточную строгость по сравнению с аналитическими теориями, однако, результаты экспериментальных исследований показывают, что во многих случаях её прогнозы являются достаточными. ТПИ успешно применяется при решении ряда практических задач оптики биотканей.

Основное уравнение ТПИ для монохроматического света имеет следующий вид [131]:

$$\frac{1}{c} \frac{\partial I(\vec{r}, \vec{\Omega}, t)}{\partial t} + \vec{\Omega} \nabla \cdot I(\vec{r}, \vec{\Omega}, t) + (\mu_a + \mu_s) I(\vec{r}, \vec{\Omega}, t) = \mu_s \int_{4\pi} I(\vec{r}, \vec{\Omega}', t) p(\vec{\Omega}, \vec{\Omega}') d\Omega' + Q(\vec{r}, \vec{\Omega}, t) \quad (2.1)$$

где $I(\vec{r}, \vec{\Omega}, t)$ [Вт·м⁻²·ср⁻¹] – интенсивность излучения в точке \vec{r} в направлении $\vec{\Omega}$; $(\vec{\Omega}, \vec{\Omega}')$ соответствует фазовой функции; c – скорость света в среде; $Q(\vec{r}, \vec{\Omega}, t)$ – коэффициент источника.

Точные аналитические решения уравнения переноса излучения (2.1) существуют только для небольшого числа особых случаев. Однако существуют приближенные аналитические решения нестационарного уравнения переноса излучения для бесконечной однородной среды с произвольной фазовой функцией. На практике обычно используются аппроксимации уравнения (2.1) и их численные решения.

К числу наиболее популярных методов численного решения уравнения (2.1) относят метод Монте-Карло (МК). Методы МК представляют собой категорию вычислительных методов, которые включают случайную выборку физической величины. Благодаря своей универсальности этот метод нашёл широкое применение во многих областях, включая оптику биологических тканей, поскольку он обеспечивает гибкое и строгое решение проблемы переноса оптического излучения в мутных средах со сложной структурой. Метод МК способен решать уравнение переноса излучения с любой требуемой точностью, предполагая, что требуемая вычислительная нагрузка является доступной для исследователя. По этой причине этот метод рассматривается в качестве золотого стандарта для моделирования транспорта света в биологических тканях, результаты которого часто используются в качестве эталона для проверки других менее строгих методов, таких как диффузионное приближение.

В общей процедуре МК моделирования транспорт света в биологических тканях моделируется путём отслеживания случайных шагов, которые каждый пакет фотонов осуществляет при его перемещении внутри модели биологической

ткани. Каждому запущенному пакету фотонов при поступлении в модель ткани присваивается начальный вес, как показано на рисунке 2.2. Размер шага будет выбираться случайным образом на основе оптических свойств модели биоткани. В случае, если пакет фотонов переходит границу слоя среды, любой из следующих двух подходов может быть использован для решения этой ситуации. В первом подходе пакет фотонов будет либо проходить вперёд, либо отражаться от границы. Во втором подходе часть веса пакета всегда будет отражаться, а оставшаяся часть веса будет проходить вперёд. Вероятности прохождения или отражения в первом подходе и доля веса пакета фотонов, прошедшего или отражённого во втором подходе, регулируются законом Снелла и уравнениями Френеля. В конце каждого шага вес пакета фотонов уменьшается в соответствии с вероятностью его поглощения. Между тем, размер следующего шага и угол рассеяния для него будут выбираться случайным образом на основе соответствующих распределений вероятностей. Пакет фотонов распространяется в модели биологической ткани шаг за шагом, пока он не выйдет из ткани или не будет полностью поглощён. После запуска достаточного количества пакетов фотонов совокупное распределение всех путей их распространения обеспечит точное приближение к истинному решению проблемы переноса света, и вклад, усреднённый по всем фотонам, можно использовать для оценки физических величин, представляющих интерес.

Для описания вероятности поглощения и рассеяния в МК моделировании используются коэффициент поглощения μ_a (единица измерения – мм^{-1}) и коэффициент рассеяния μ_s (единица измерения – мм^{-1}). Коэффициент анизотропии g , который определяется как средний косинус углов рассеяния, определяет распределение вероятностей углов рассеяния в приближении первого порядка. Кроме того, несоответствие показателя преломления между любыми двумя областями в модели биологической ткани или на границе раздела воздух-ткань будет определять угол преломления. Часть массы пакета фотонов, которая после перемещения в среде оказывается на той же стороне модели биоткани, что и падающий свет, оценивается как диффузное отражение, а часть веса пакета

фотонов, который проходит через среду и оказывается с другой стороны модели биоткани, оценивается как коэффициент пропускания.

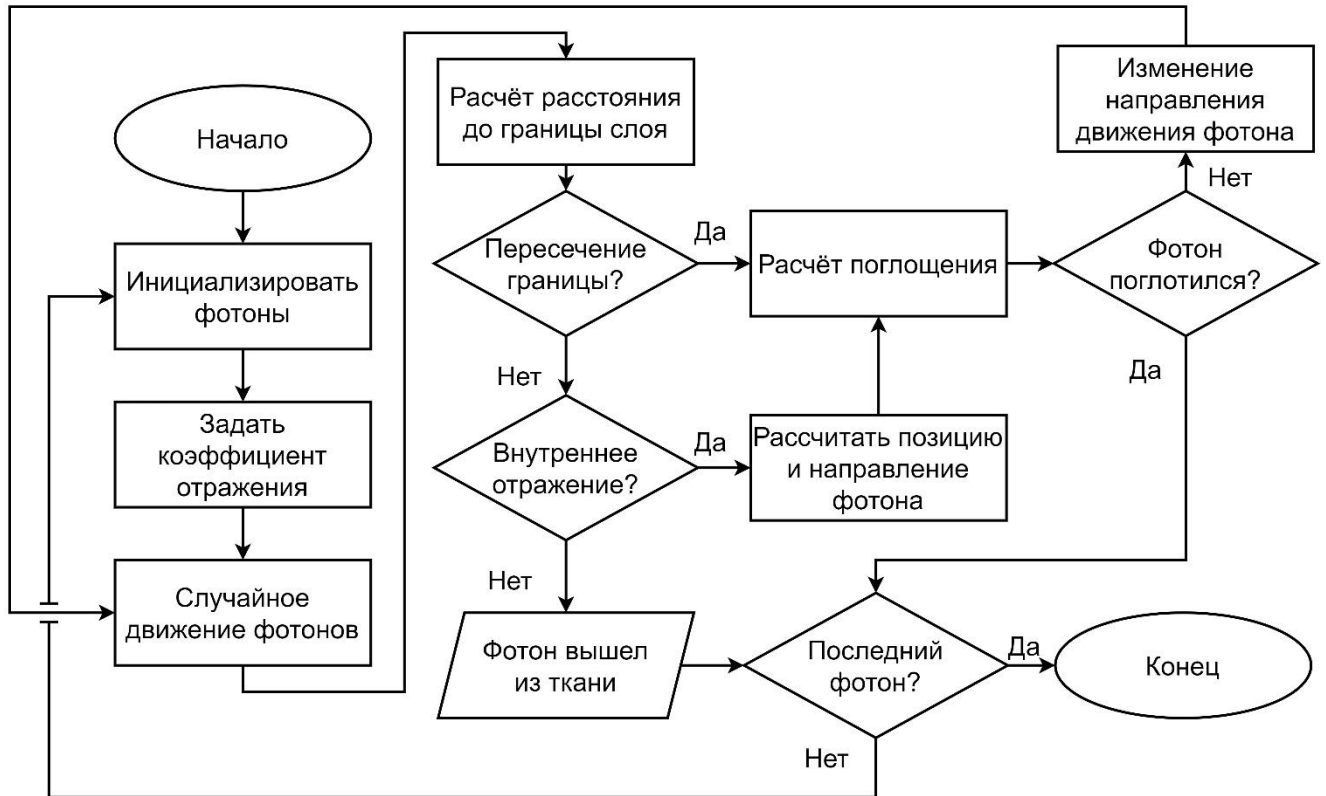


Рисунок 2.2 – Блок-схема для МК-моделирования распространения одиночного фотонного пакета, в котором не происходит изменения длины волны.

В данном исследовании стохастический метод Монте-Карло был использован для моделирования распространения оптического излучения в биологической ткани. Для моделирования диагностического объёма в методе ЛДФ был использован онлайн объектно-ориентированный вычислительный инструмент Монте-Карло [132–134]. Данный подход позволяет описать фотоны и структурные компоненты ткани как объекты, взаимодействующие друг с другом. Таким образом, фотон распространяется через среду (или слой среды) и взаимодействует с её компонентами, такими как клетки, кровеносные сосуды, волокна коллагена и т.д. Такое представление среды объектами позволяет разрабатывать реалистичные модели тканей, которые представляют трёхмерные пространственные вариации биологической структуры. При моделировании учитывается чувствительность

детектора по глубине (также известная как глубина зондирования). В данной модели не учитывается доплеровский сдвиг частоты. Моделирование осуществлено, предполагая, что полученные результаты представляют собой максимальное значение глубины, которое может быть достигнуто при облучении тканей кожи светом с заданной длиной волны, что позволяет получить диагностический объём для данной технологии. Моделирование в данной работе производилось до тех пор, пока количество обнаруженных фотонов не достигало значения 10^6 .

Одним из возможных способов формализации количественной оценки диагностического объёма является оценка пространственного распределения чувствительности детектора по глубине. Диагностический объём формируется так называемыми эффективными оптическими путями, то есть путями, по которым оптическое излучение распространяется от источника к детектору. Данная величина определяется как градиент оптической плотности относительно коэффициента поглощения μ_a в каждом пикселе r в рассеивающей среде:

$$Q(r) = -\frac{\partial}{\partial \mu_a(r)} \ln\left(\frac{I}{I_0}\right), \quad (2.2)$$

где I_0 – интенсивность зондирующего излучения, I – интенсивность детектируемого излучения.

При моделировании методом Монте-Карло биологическая ткань представляется в виде трехмерной сетки, разделенной на отдельные (элементарные) воксели. Для оценки функции плотности вероятности эффективных оптических путей траектория каждого пакета фотонов обрабатывается отдельно в каждом вокселе, и в каждом отдельном вокселе диагностический объём рассчитывается как:

$$Q(r) = \frac{\sum_{i=1}^{N_\Phi} l_i(r) W_{di}}{l_0 \sum_{i=1}^{N_\Phi} W_{di}}, \quad (2.3)$$

где W_{di} соответствует конечному весу i -го детектированного фотона, N_Φ – количество пакетов фотонов, удовлетворяющих условиям детектирования, l_i – это

длина пути i -го пакета фотонов в пикселе с центром, расположенным в точке r , и l_0 – размер пикселя.

Когда пакет фотонов регистрируется фотодетектором, его окончательный статистический вес определяется в соответствии со следующим выражением:

$$W_d = W_0 \exp(-\sum_k \mu_{ak} l_k), \quad (2.4)$$

где W_d соответствует статистическому весу детектированного пакета фотонов, μ_{ak} – коэффициент поглощения k -го пикселя, l_k – общая длина пути пакета фотонов в k -м пикселе, а $W_0 = 1$ – это начальный статистический вес пакета фотонов.

В качестве длины волны излучения для разработки портативного устройства ЛДФ было выбрано значение 850 нм. Это значение находится в ближнем инфракрасном диапазоне и относится к так называемому диагностическому окну прозрачности биологических тканей – поглощение света основными хромофорами тканей в этом диапазоне относительно мало, что позволяет излучению проникать глубже. Спектр поглощения оптического излучения основными хромофорами кожи представлен на рисунке 2.3, пунктиром отмечены границы диагностического окна прозрачности. К преимуществам длины волны 850 нм можно также отнести тот факт, что она находится близко к изобестической точке окси- и дезоксигемоглобина (800 нм), таким образом снижая влияние степени оксигенации крови на результат измерения.

Дополнительным критерием выбора 850 нм в качестве длины волны зондирования стал тот факт, что недавно на рынке оптических комплектующих появилась линейка поверхностно-излучающих лазеров с вертикальным резонатором (VCSEL) с комплиментарными им фотодиодами ULM850 (Philips Technologie GmbH), полностью удовлетворяющих требованиям для использования при проектировании портативных устройств ОНД вследствие низкой мощности излучения (до 1,4 мВт) и габаритных размеров. Диаметр излучающей поверхности лазера составляет 35 мкм, а размер комплиментарного ему фотодиода – 500 мкм.

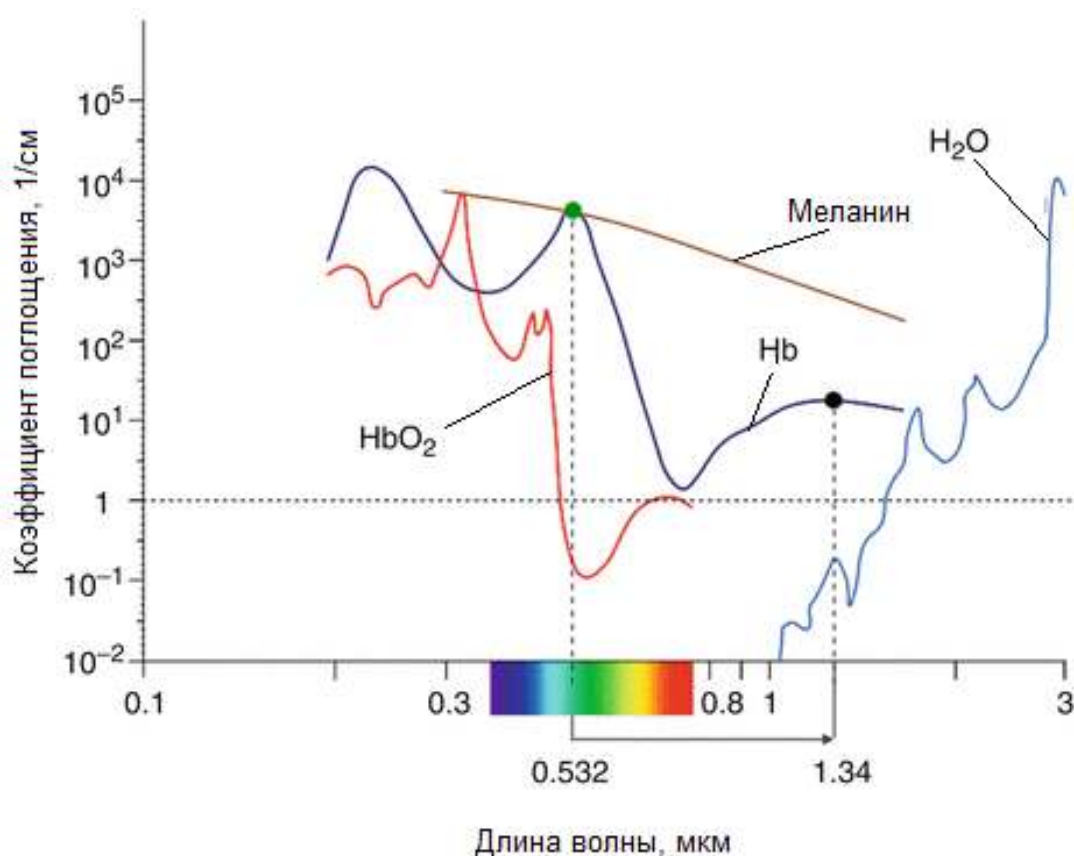


Рисунок 2.3 – Спектры поглощения оптического излучения основными хромофорами кожи

В настоящей работе для моделирования диагностического объёма учитывались геометрические особенности излучающей и регистрирующей частей портативного ЛДФ устройства (размер и профиль пучка источника света, размер и расположение источника света и фотодетектора, база измерения). В портативных устройствах, для которых проводилось моделирование, метод ЛДФ реализован с помощью поверхностно-излучающего лазера с вертикальным резонатором (VCSEL лазер), излучающего на длине волны 850 нм с непрерывной мощностью менее 1 мВт (Philips, Нидерланды). Геометрические размеры и пример расположения источника и детектора оптического излучения (база измерения) портативного ЛДФ устройства показаны на рисунке 2.4.

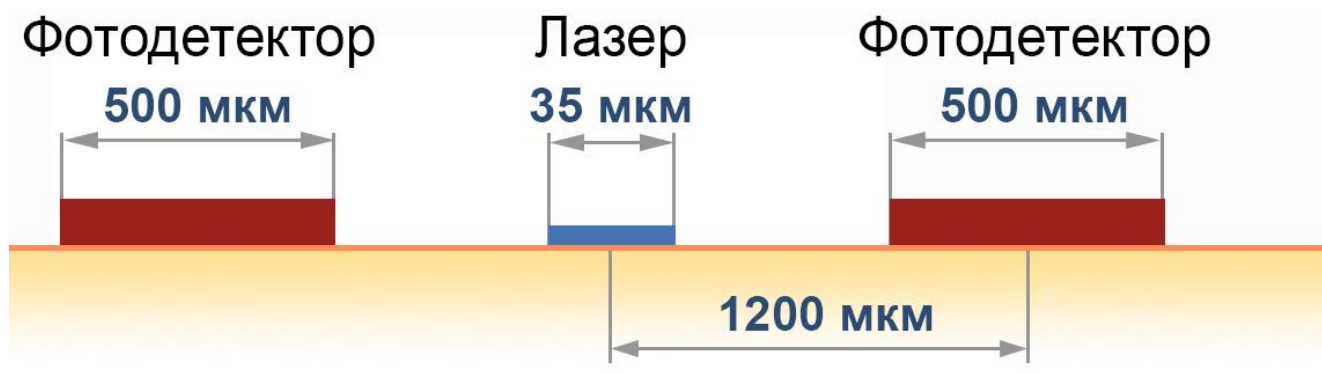


Рисунок 2.4 – Геометрические размеры и расположение источника света и фотодетектора портативного ЛДФ устройства

2.2 Модель кожи

Для моделирования диагностического объёма и глубины проникновения зондирующего излучения использовалась семислойная модель кожной ткани [135], учитывающая поглощающие и рассеивающие свойства тканей. Коэффициенты поглощения μ_a слоёв кожи рассчитаны с учётом концентрации крови (C_{blood}), содержания воды (C_{H_2O}) и содержания меланина (C_{mel}) в соответствии с формулами (2.5)-(2.7):

$$\mu_a^{\text{Роговой слой}}(\lambda) = C_{H_2O}\mu_a^{H_2O}(\lambda) + (1 - C_{H_2O})\mu_a^{\text{baseline}}(\lambda), \quad (2.5)$$

$$\mu_a^{\text{Эпидермис}}(\lambda) = (1 - C_{H_2O}) \left(C_{melanin}\mu_a^{\text{melanin}}(\lambda) + (1 - C_{melanin})\mu_a^{\text{baseline}}(\lambda) \right) + C_{H_2O}\mu_a^{H_2O}(\lambda), \quad (2.6)$$

$$\mu_a^{\text{Дермис}}(\lambda) = (1 - C_{H_2O}) \left(C_{blood}\mu_a^{\text{blood}}(\lambda) + (1 - C_{blood})\mu_a^{\text{baseline}}(\lambda) \right) + C_{H_2O}\mu_a^{H_2O}(\lambda), \quad (2.7)$$

где $\mu_a^{H_2O}$ – коэффициент поглощения воды, μ_a^{melanin} – коэффициент поглощения меланина, μ_a^{blood} – коэффициент поглощения крови, μ_a^{baseline} – коэффициент поглощения других обезвоженных тканей.

Коэффициент рассеяния μ_s конкретного слоя может быть представлен сочетанием теорий Ми и Рэлея [136]:

$$\mu_s^{Pэлея}(\lambda) = 2 \cdot 10^{12} \lambda^{-4}, \quad (2.8)$$

$$\mu_s^{Mu}(\lambda) = 2 \cdot 10^5 \lambda^{-1,5}, \quad (2.9)$$

$$\mu_s = \mu_s^{Pэлея} + \mu_s^{Mu}. \quad (2.10)$$

Значения коэффициентов рассеяния для различных слоёв кожи получены из ряда источников [137–141]. Коэффициент анизотропии g рассчитывался по аналогии с расчётом коэффициента поглощения, принимая во внимание коэффициенты анизотропии кожи и крови [142,143].

В данном исследовании модель кожи адаптирована для учёта различного содержания крови и меланина в биологической ткани. Значения концентрации крови для каждого слоя кожи изменялись с шагом 20% в соответствии со следующей формулой:

$$C_{blood} = C_{blood}^i \cdot k, \quad (2.11)$$

где C_{blood}^i – базовое значение объёмного кровенаполнения в каждом конкретном слое кожи, а $k = 0,2, 0,4 \dots 2$.

Далее, чтобы учесть влияние содержания меланина в коже на глубину проникновения зондирующего излучения, диагностический объём оценивался с учётом нормального содержания крови ($k = 1$) и содержания меланина в эпидермисе, изменяющегося в диапазоне $C_{melanin} = 0,01, 0,05, 0,1, 0,15 \dots 0,4$ [144,145].

В таблицах 2.1 и 2.2 приведены основные оптические свойства 7-слойной модели кожи, рассматриваемой в данном исследовании, на длине волны 850 нм, а также изменения коэффициента поглощения, вызванные различным содержанием крови и меланина.

Стоит отметить, что в данном исследовании впервые для портативного варианта устройства ЛДФ оценено влияние «базы измерения» (r) на глубину проникновения зондирующего излучения и величину диагностического объёма. Ранее показано, что такой параметр как межцентровое расстояние между

источником и приёмником оптического излучения сильно влияет на глубину зондирования в методах ОНД (в частности, в спектроскопии диффузного отражения) [129,146]. В исследуемой модели r варьировалось в диапазоне от 500 до 1200 мкм с шагом в 100 мкм. Кроме того, в проанализировано влияние изменения содержания крови и меланина на глубину распространения сигнала при различных значениях r .

Таблица 2.1 – Основные характеристики исследуемой модели кожи для длины волны 850 нм

Слой	Объёмное кровенаполнение, %	$\mu_s, \text{мм}^{-1}$	g	n	Толщина слоя, мкм
Роговой	0	25,58	0,87	1,55	20
Эпидермис	0	17,62		1,43	80
Сосочковая дерма	5	10,89		1,38	100
Верхнее сосудистое сплетение	20				80
Сетчатая дерма	4				1620
Глубокое сосудистое сплетение	10				200
Подкожная ткань	7	9,85		1,44	5900

Таблица 2.2 – Коэффициент поглощения (μ_a) слоёв при 850 нм для различных вариаций содержания крови и меланина

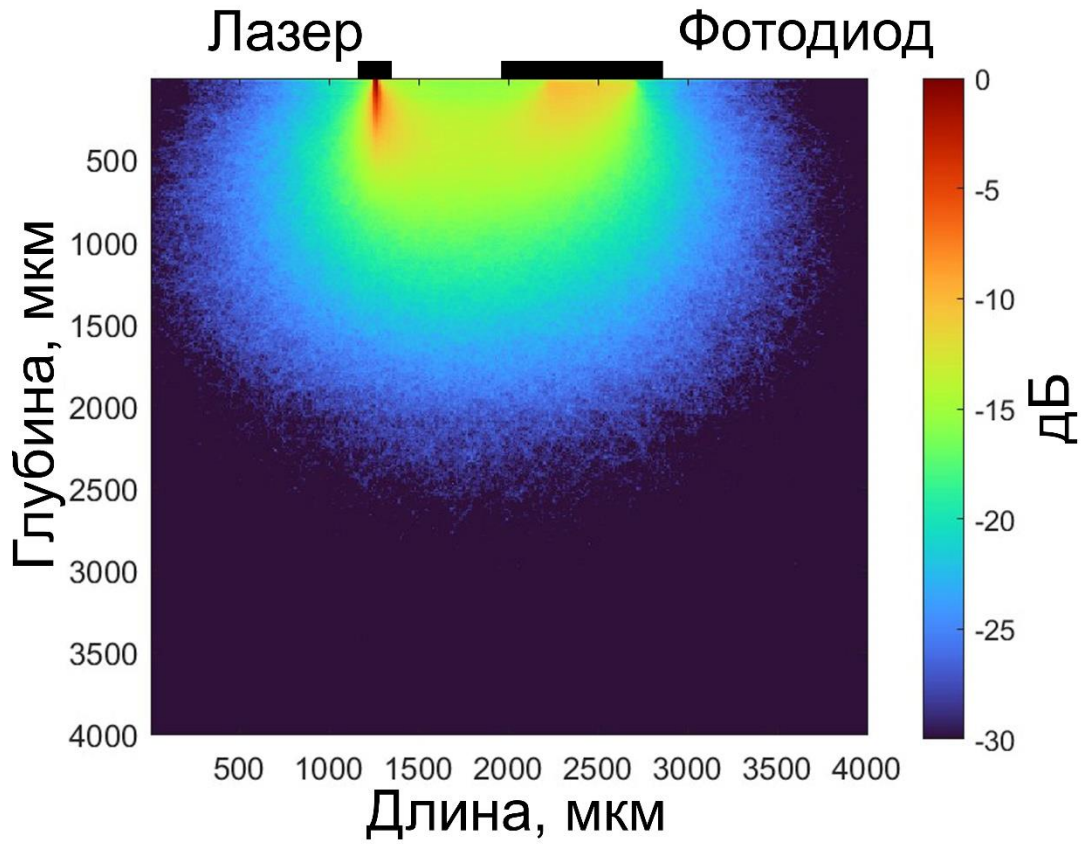
Слой	$\mu_a, \text{мм}^{-1}$									
	Изменения кровенаполнения (k)									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0
Роговой	0,03									
Эпидермис	0,14									
Сосочковая дерма	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,07	0,07	0,08

Продолжение таблицы 2.2

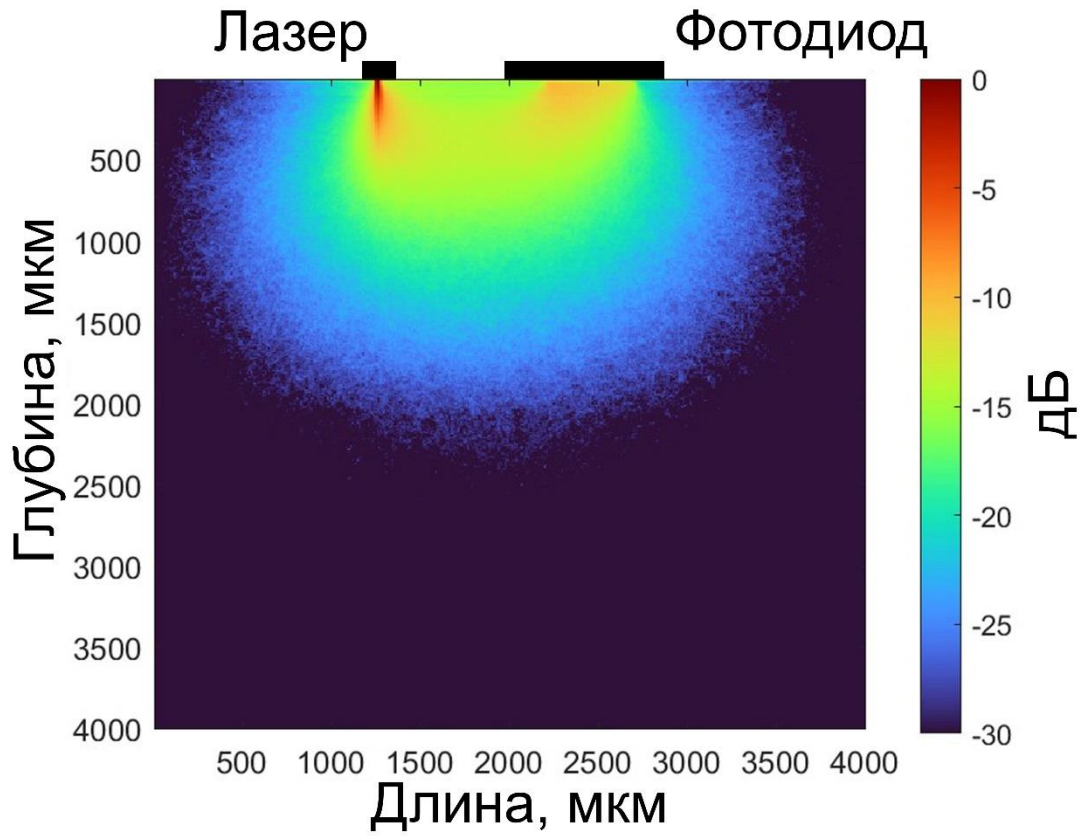
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Верхнее сосудистое сплетение	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20	0,22	0,24
Сетчатая дерма	0,04	0,05	0,05	0,06	0,06	0,07	0,07	0,08	0,08	0,09
Глубокое сосудистое сплетение	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10	0,11	0,12	0,13	0,14
Подкожная ткань	0,03	0,04	0,05	0,06	0,06	0,06	0,08	0,09	0,09	0,10
	Изменения содержания меланина ($C_{melanin}$)									
	0,01	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	
Эпидермис	0,14	0,57	1,11	1,65	2,20	2,74	3,28	3,82	4,36	

2.3 Результаты моделирования

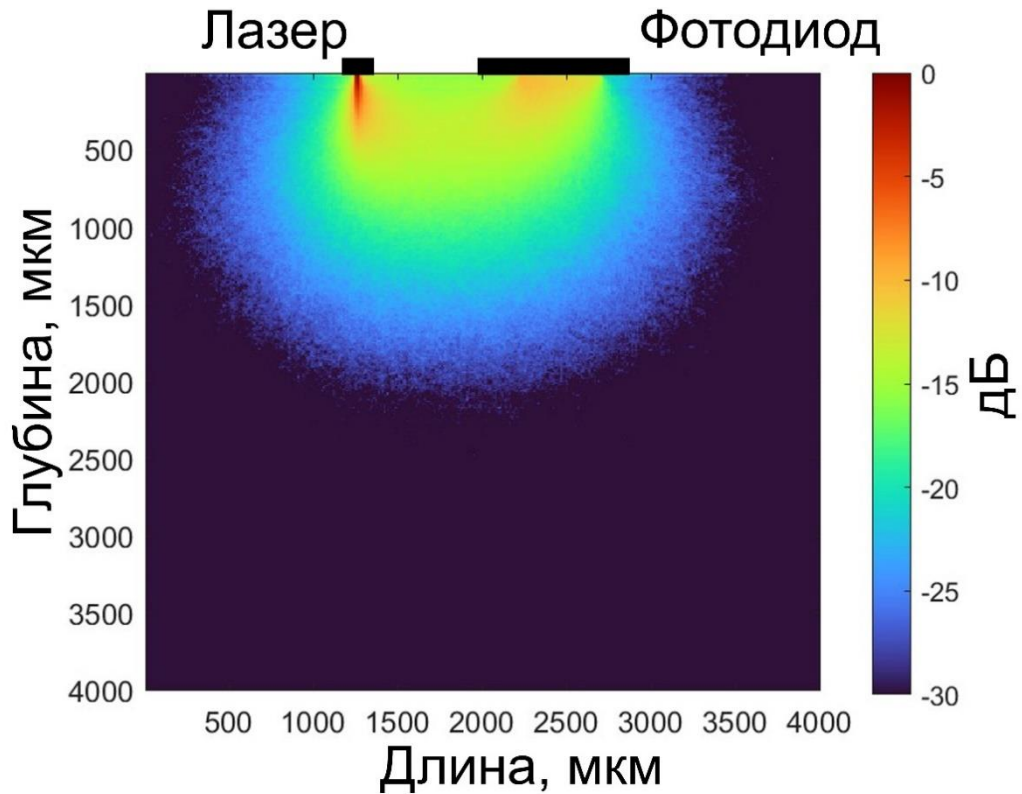
На рисунке 2.5 приведены результаты моделирования методом Монте-Карло распространения оптического излучения для кожи человека с различным содержанием крови с учётом конструктивных особенностей портативного ЛДФ устройства. Для расчётов, показанных на данном рисунке, значения $C_{melanin}$ были приняты равными 0,01, что соответствует нормальному значению содержания меланина для кожи человека европеоидной расы. Значение r для результатов, представленных на рисунке 2.5 составляет 1200 мкм. Для того чтобы адекватно оценить, из каких слоёв кожи исходит диагностически ценный сигнал, глубина распространения света рассчитывалась на уровне 10^{-3} от интенсивности зондирующего излучения. Данное значение выбрано потому, что оно представляет собой минимальную чувствительность большинства коммерчески доступных фотодетекторов [147]. Кроме того, рассчитывалось значение объёма биологической ткани, подвергаемой диагностике. Объём рассчитывался по зарегистрированным диаграммам оптического рассеяния как значение объёма эллипсоида, описываемого нулевой координатой и линией, где сигнал ослабевает более чем на 3 порядка.



а)



б)

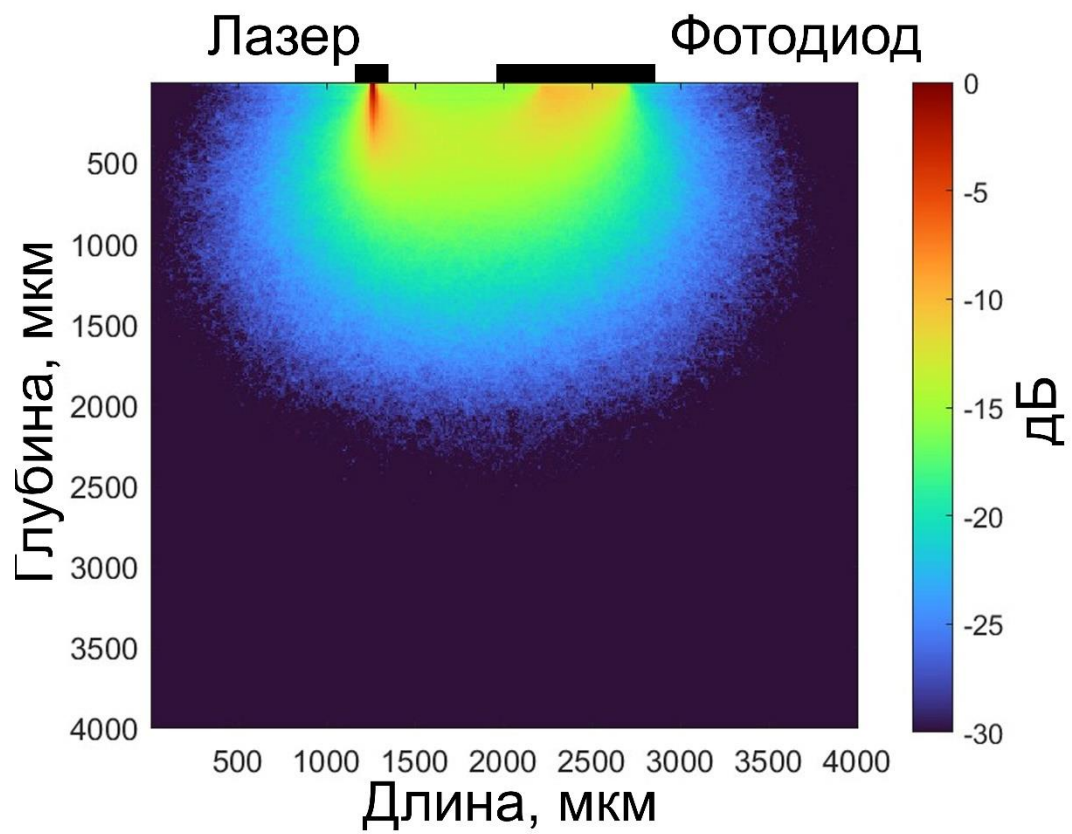


в)

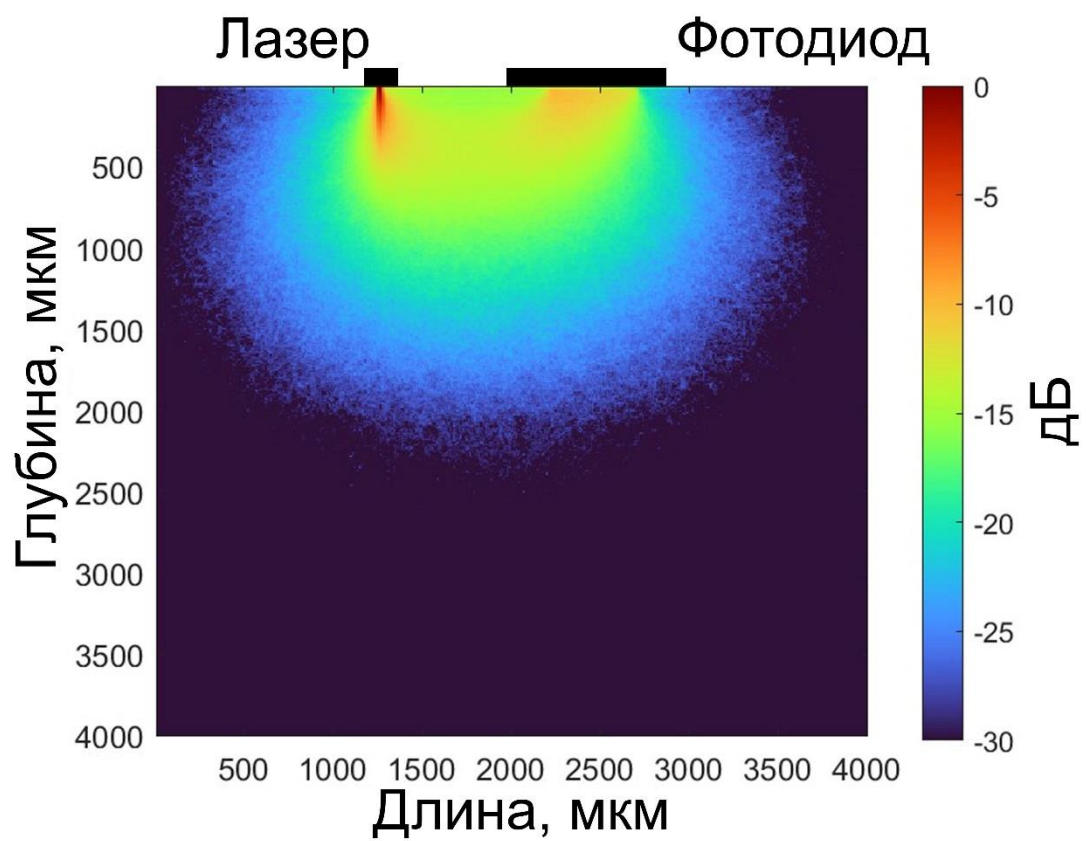
Рисунок 2.5 – Диаграмма распространения оптического излучения в биологической ткани при разных значениях кровенаполнения для $k = 0,2$ (а), $k = 1$ (б) и $k = 2$ (в)

Результаты моделирования показали, что в заданной модификации носимого лазерного доплеровского флоуметра зондирующее излучение проникает на глубину более 2 мм, достигая слоя глубокого сосудистого сплетения. Увеличение содержания крови в коже приводит к уменьшению глубины зондирования, поэтому можно предположить, что в более кровенаполненных участках кожи диагностическая информация будет поступать из более поверхностных слоёв биоткани. Диагностический объём в этом случае составляет 6-7 мм³.

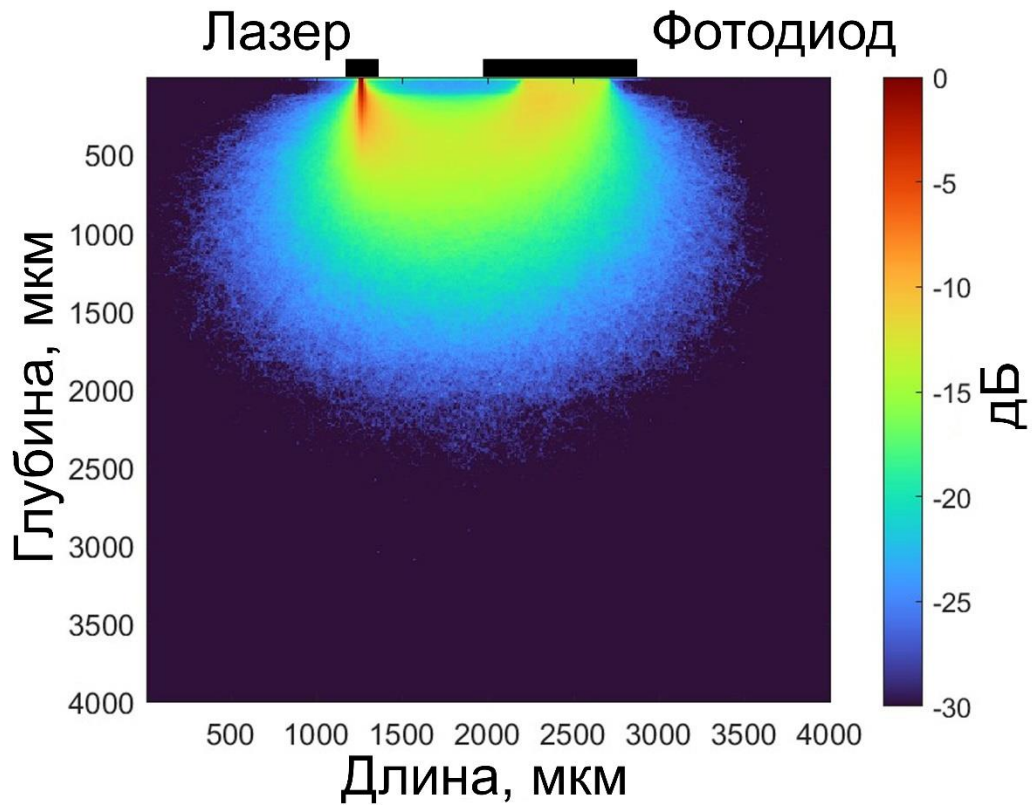
На рисунке 2.6 показаны результаты моделирования методом Монте-Карло распространения оптического излучения для человеческой кожи с различным содержанием меланина. Для расчётов, показанных на данном рисунке, значение k было принято равными 1, значение r составляет 1200 мкм.



а)



б)



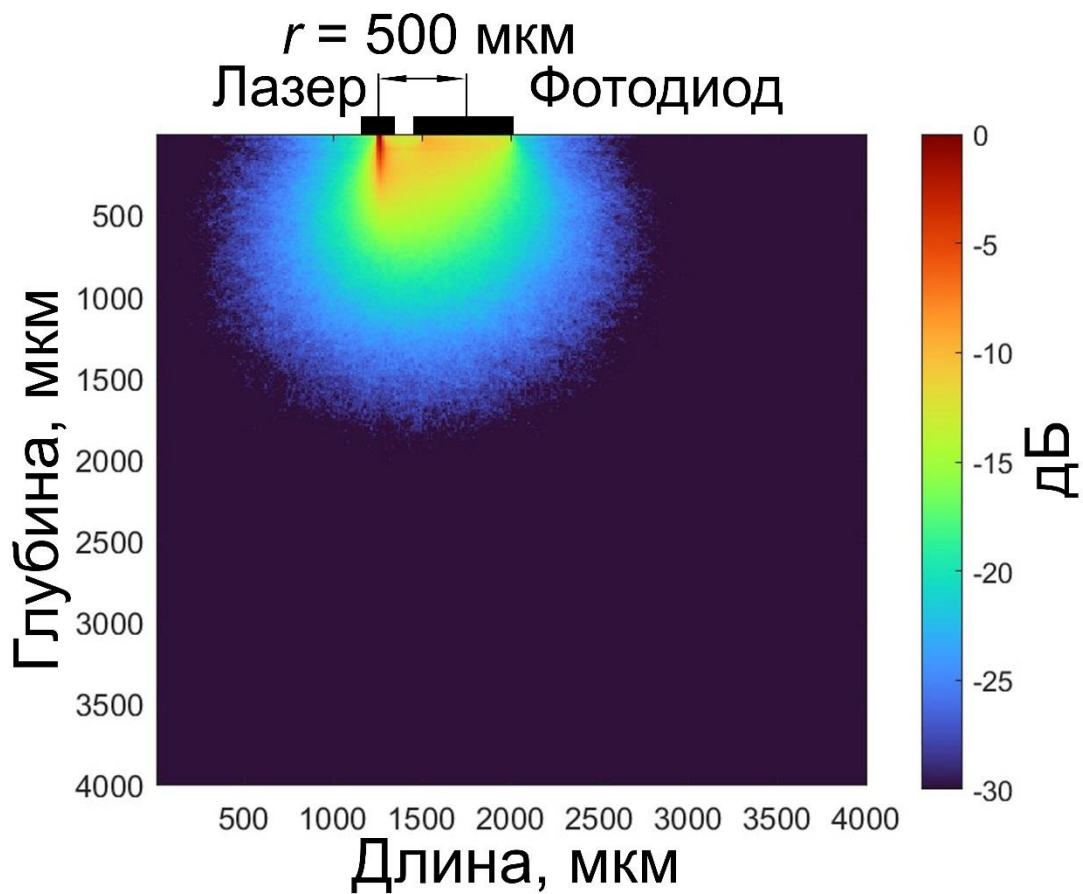
в)

Рисунок 2.6 – Диаграмма распространения оптического излучения в биологической ткани при разных значениях содержания меланина для $C_{melanin} = 0,01$ (а), $C_{melanin} = 0,2$ (б) и $C_{melanin} = 0,4$ (в)

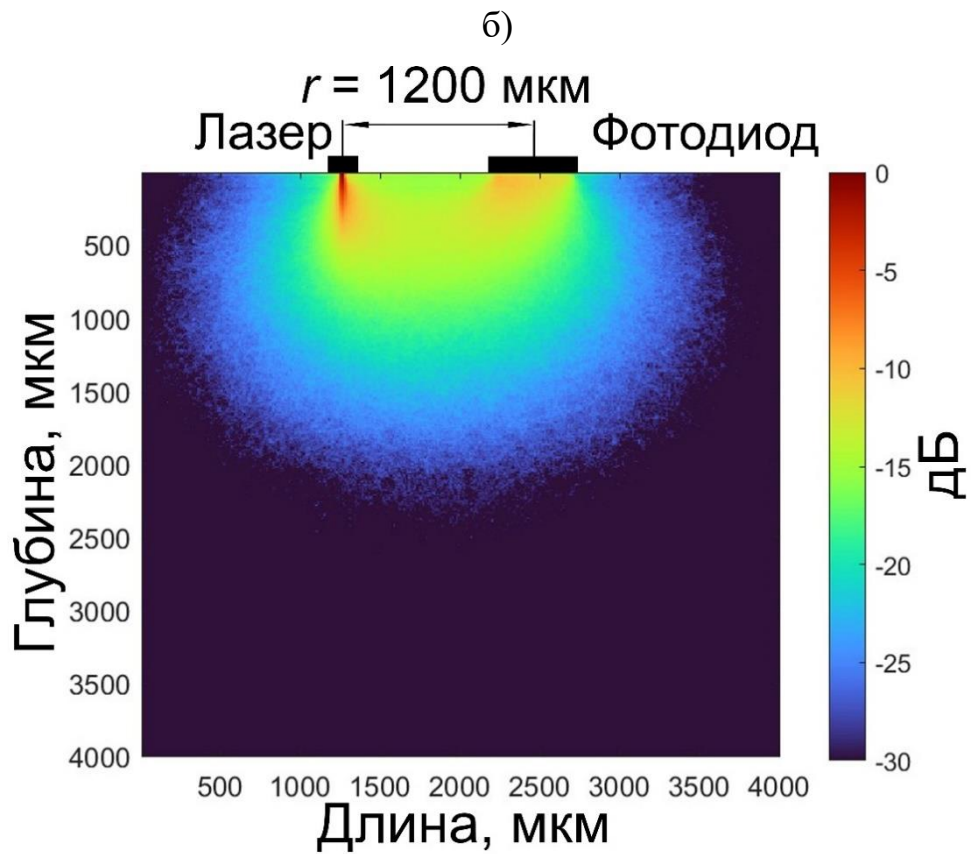
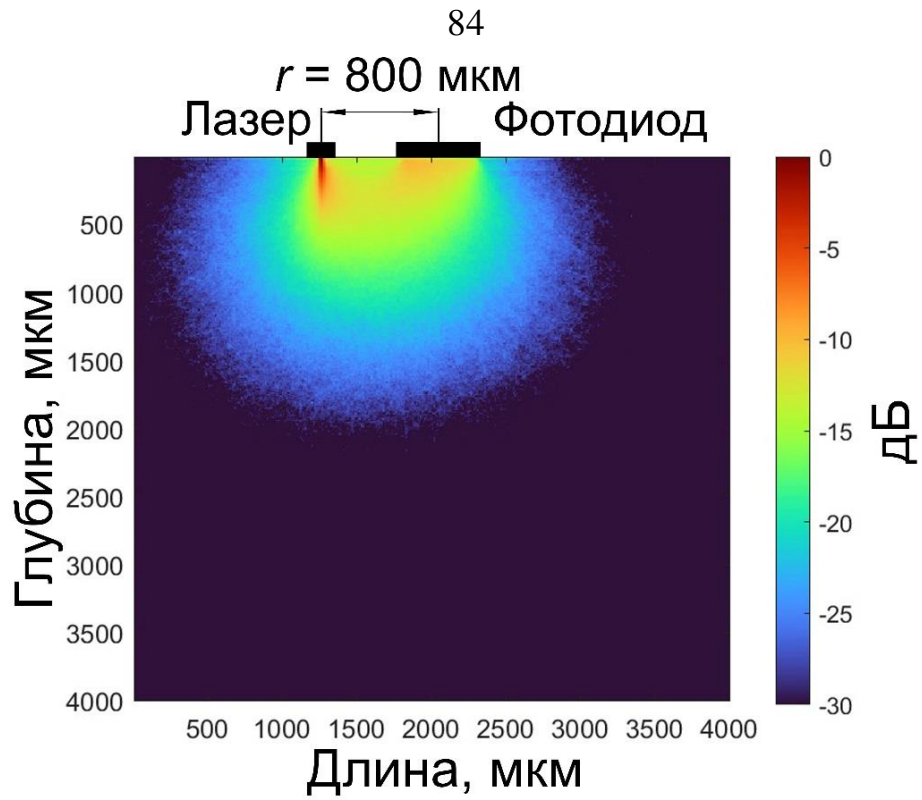
Из рисунка 2.6 видно, что при заданных параметрах конструкции портативного прибора ($r = 1200$ мкм) содержание меланина не оказывает существенного влияния на величину диагностического объёма, однако кожа, более богатая меланином, характеризуется меньшим рассеянием оптического излучения в приповерхностных слоях.

В работе также исследовано, как изменение базы измерения влияет на величину диагностического объёма при зондировании биологической ткани излучением с длиной волны 850 нм. Для этого при моделировании варьировалось расстояние между источником света и фотодетектором от 500 до 1200 мкм с шагом в 100 мкм. На рисунке 2.7 показаны картины рассеяния света для случаев, когда расстояние между источником света и фотодетектором составляет 500 (а), 800 (б) и 1200 (в) мкм.

На рисунке 2.7 показано, что с увеличением значения r глубина проникновения оптического излучения в кожу также увеличивается, что позволяет получать информацию из более глубоких сосудистых сплетений. При $r = 500$ мкм глубина проникновения излучения наименьшая и достигает около 1,5 мм, что соответствует верхней части сетчатой дермы, а диагностический объем составляет менее 1 мм^3 . Увеличение r до до 1200 мкм увеличивает значение диагностического объема до 6-7 мм^3 .



а)

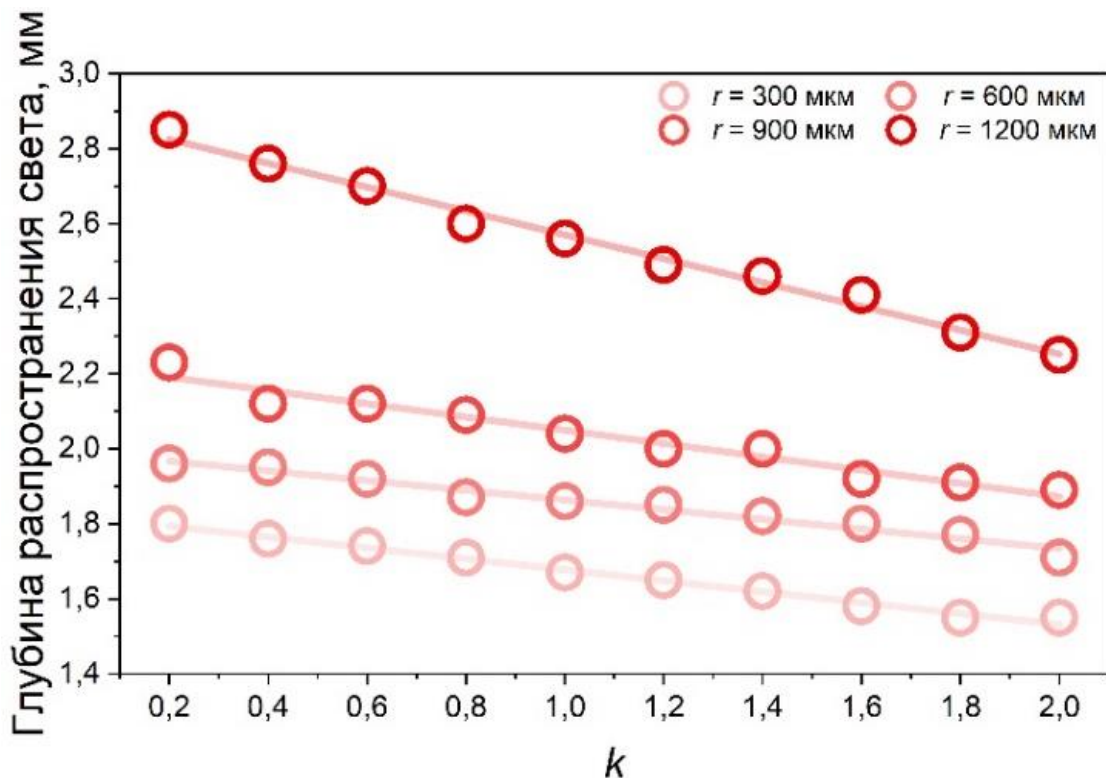


в)

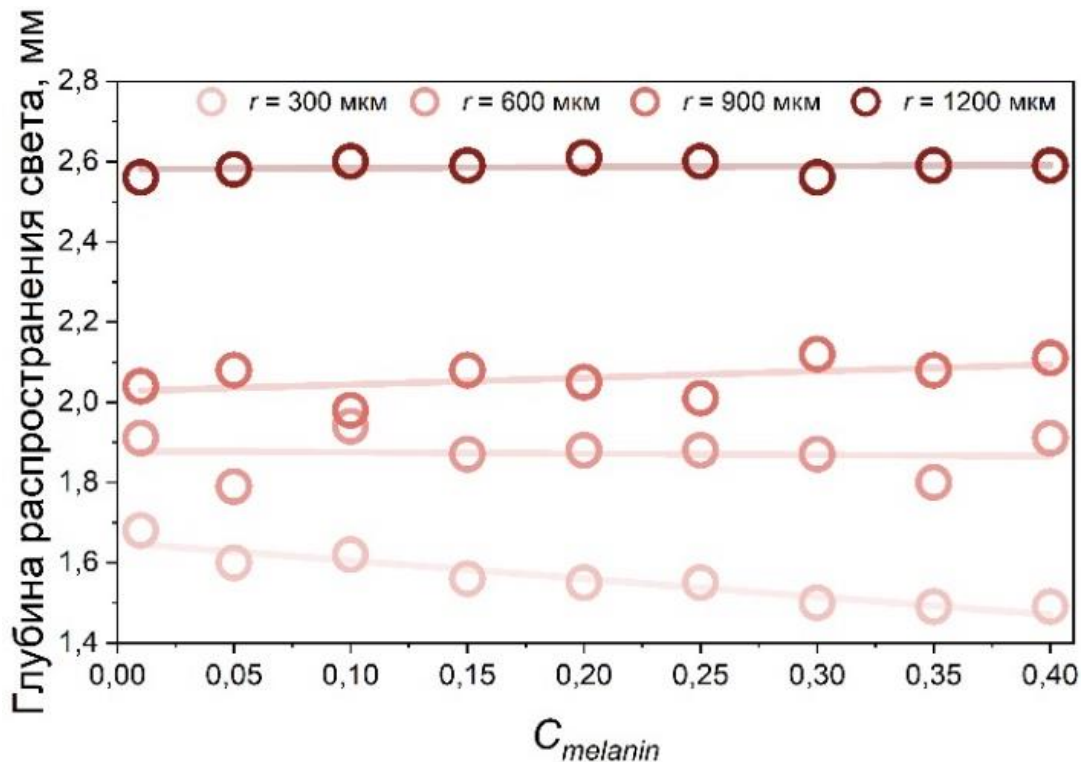
Рисунок 2.7 – Диаграмма распространения оптического излучения в биологической ткани при разных значениях базы измерения для $r = 500$ мкм (а), $r = 800$ мкм (б) и $r = 1200$ мкм (в)

Далее, с учётом обнаруженных особенностей распространения оптического излучения в среде с высоким содержанием меланина при больших значениях расстояния между источником и детектором, оценено совместное влияние изменения значений r и k , а также r и $C_{melanin}$. На рисунке 2.8 приведена графическая зависимость глубины зондирования кожи излучением с длиной волны 850 нм от содержания крови и меланина в ткани при различных вариациях расстояния r . На этом рисунке точками обозначены полученные данные, к которым была применена линейная аппроксимация (полупрозрачные линии того же цвета на заднем плане), чтобы показать линейную зависимость.

На рисунке 2.8 показано, что для всех значений r даже незначительное увеличение кожного кровотока приводит к уменьшению диагностического объёма. Однако, наиболее значительные изменения происходят при $r = 1200$ мкм. Двукратное уменьшение или увеличение кровенаполнения ткани в этом случае приводит к изменению глубины проникновения зондирующего излучения в пределах 10-12%.



а)



б)

Рисунок 2.8 – Зависимость глубины распространения излучения от объёмного кровенаполнения ткани (а) и содержания меланина (б) при различных значениях базы измерения r (значения представлены для 10^{-3} интенсивности зондирующего излучения)

Стоит отметить, что содержание меланина оказывает существенное влияние на диагностический объём только при $r = 300$ мкм. При больших значениях r большая часть излучения проходит непосредственно через эпидермис в более глубокие слои кожи, тем самым нивелируя влияние меланина. Двукратное увеличение значения $C_{melanin}$ при $r = 300$ мкм приводит к уменьшению диагностического объёма примерно на 4%.

Стоит подчеркнуть, что моделирование диагностического объёма уже ранее проводилось для различных конструкций устройств ЛДФ. Предыдущие исследования, например, продемонстрировали значения глубины зондирования в каналах ЛДФ с различными длинами волн (543, 633, 780, 1064 нм) до 0,5-0,8 мм и значения диагностического объёма до 2 мм^3 [91,128]. Изменение конструкции прибора и, в частности, увеличение «базы измерения» приводит к значительному

увеличению как глубины распространения зондирующего излучения, так и диагностического объёма, позволяя зондировать до 1,5 мм ткани или до 6-7 мм³ её объёма [86], при условии, что такая база измерения позволяет сохранять адекватное соотношение сигнал-шум. Параметры диагностируемой биоткани приведены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Параметры диагностируемой биоткани

№	Параметр	Значение
1	Кровенаполнение, k	1
2	Содержание меланина, $C_{melanin}$, %	1
3	Глубина зондирования, H , мм	> 2 мм
4	Диагностический объём, D	> 6 мм ³

Таким образом, проведённое моделирование впервые применено к портативному устройству ЛДФ, имеющему существенные отличия в технической реализации и, прежде всего, связанных с отсутствием оптических волокон для доставки и регистрации зондирующих и вышедших из биоткани излучений. Полученные результаты демонстрируют преимущество использования беспроводных портативных (носимых) устройств, которые непосредственно освещают исследуемую область без использования оптических волокон, поскольку это позволяет увеличить «базу измерения», что приводит к увеличению глубины распространения зондирующего излучения и увеличению значения диагностического объёма. Полученные результаты следует учитывать при анализе зарегистрированных ЛДФ-сигналов и особенно при сравнении их с полученными данными с использованием других технических реализаций технологии ЛДФ.

2.4 Медико-технические требования к портативным устройствам ЛДФ

Таким образом, на основании проведённого моделирования становится возможным сформулировать медико-технические требования к портативным устройствам ЛДФ, обеспечивающим зондирование биологической ткани на

глубину более 2 мм у человека европеоидной расы ($C_{melanin} = 0,01$), позволяя таким образом производить диагностику состояния системы МЦК в слоях вплоть до глубокого сосудистого сплетения. Сформулированные МТТ представлены в таблице 2.4.

Таблица 2.4 – Специализированные МТТ к портативным устройствам ЛДФ

№	Параметр	Значение
1	Длина волны источника излучения (λ), нм	850
2	Диаметр источника излучения, мкм	35
3	Диаметр приёмника излучения, мкм	500
4	База измерения (r), мкм	1200

В качестве источника излучения предлагается использовать поверхностно-излучающий лазер с вертикальным резонатором (VCSEL) ULM850 (Philips Technologie GmbH), так как на сегодняшний день данный миниатюрный лазер является фактически единственным на рынке, удовлетворяющим условиям применения в портативных устройствах ЛДФ (по соотношению мощности одномодового излучения и масс-габаритным параметрам). Схематичное изображение лазера представлено на рисунке 2.9, а его основные технические характеристики – в таблице 2.5.

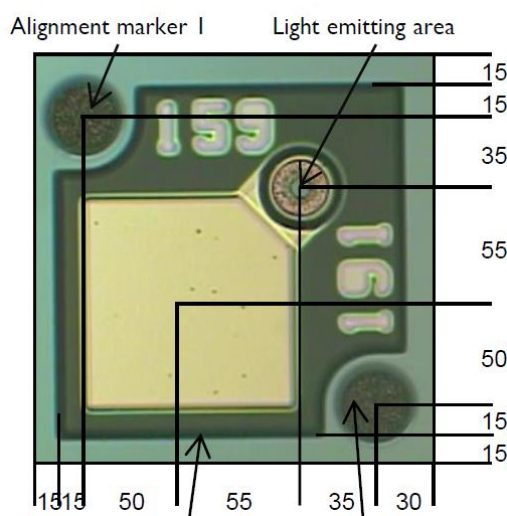


Рисунок 2.9 – Схематичное изображение используемого VCSEL лазера ULM850

Таблица 2.5 – Основные технические характеристики лазера ULM850

№	Параметр	Значение
1	Длина волны излучения, нм	850
2	Пороговая мощность, мВт	1,4
3	Ток лазерного излучения, мА	3,5
4	Напряжение лазера, В	2,5
5	Расходимость луча, °	22
6	Коэффициент подавления боковой моды, дБ	10

Данный лазер отличается высокой оптической мощностью – до 1,4 мВт, наличием одной моды (коэффициент подавления боковой моды >10 дБ), а также управляемой однополяризационной работой. Рабочее напряжение источника очень низкое (менее 2,0 В), что позволяет эффективно использовать его в устройствах носимой электроники. Круговое дальнее поле излучения обеспечивает малую расходимость луча.

2.5 Принцип построения портативного устройства ЛДФ

На основании проведённого численного моделирования и сформированных специализированных МТТ в виде длины волны зондирования (850 нм) и базы измерения ($r = 1200$ мкм) разработана функциональная схема портативного устройства ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока, представленная на рисунке 2.10.

Устройство содержит встроенный канал ЛДФ, построенный на дифференциальной схеме [80,148,149], и беспроводной модуль сбора данных (Bluetooth/Wi-Fi). В качестве одномодового лазерного источника излучения для реализации прямого освещения тканей без использования оптического волокна в анализаторе используется вертикально излучающий лазер (VCSEL).

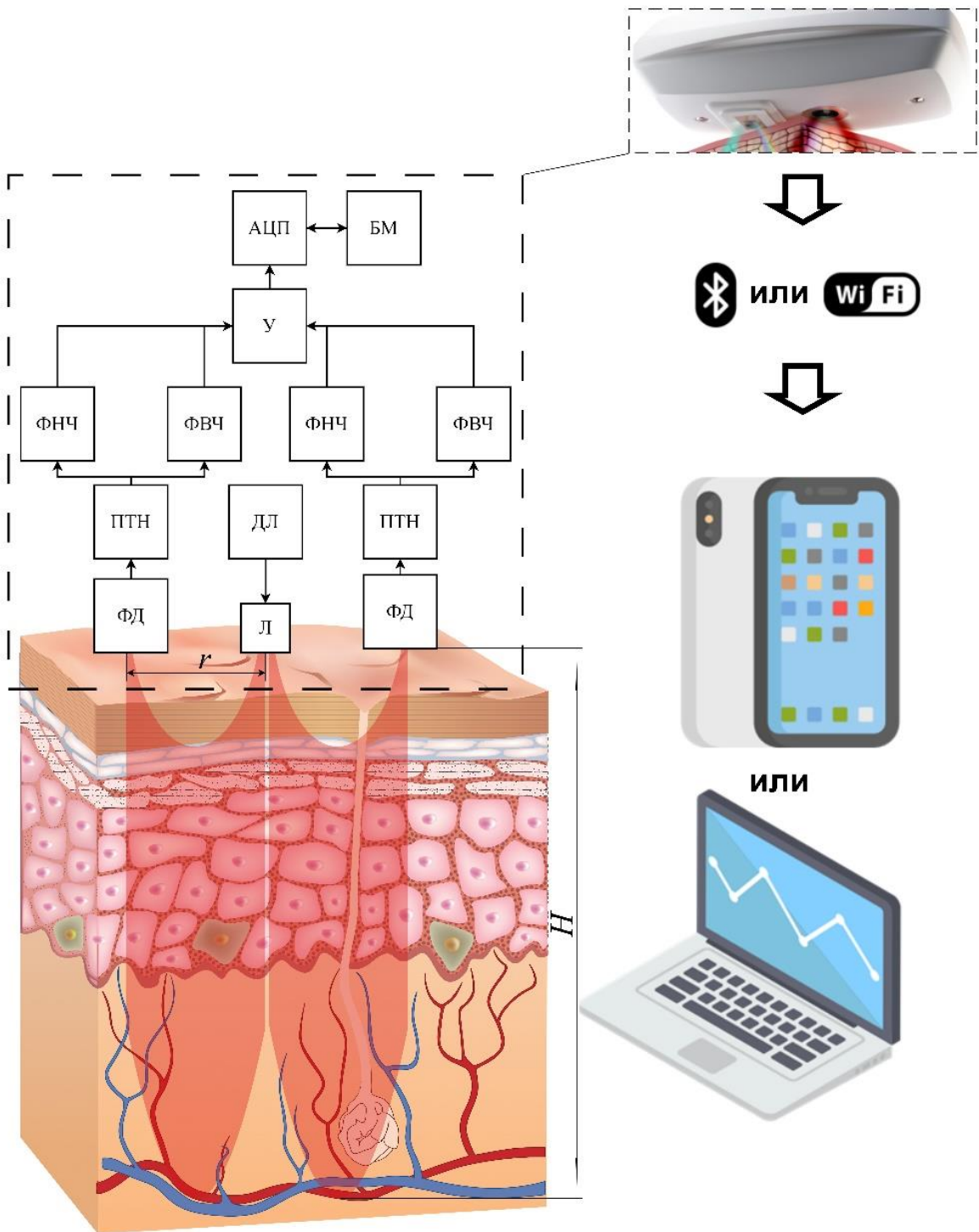


Рисунок 2.10 – Функциональная схема портативного устройства ЛДФ

Устройство работает следующим образом. На одномодовый VCSEL-лазер (Л) подаётся ток от драйвера лазерного источника (ДЛ). В биологической ткани лазерное излучение ближнего ИК-диапазона частично рассеивается и частично отражается от движущихся эритроцитов, накапливая доплеровский сдвиг частоты. Интенсивность светового поля на поверхности кожи регистрируется

фотодиодами (ФД), расположенными симметрично в линии с лазерным источником в центре.

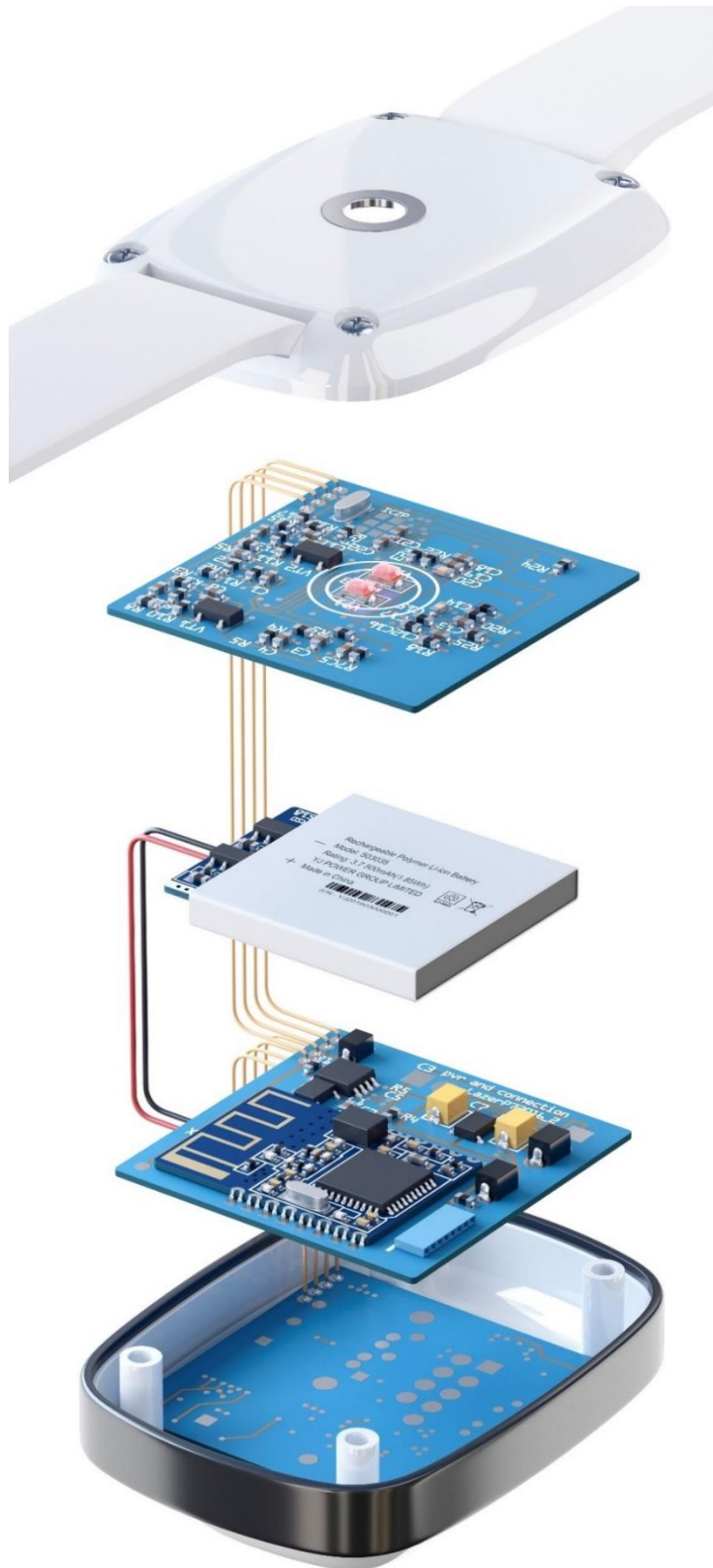


Рисунок 2.11 – Один из вариантов приборной реализации беспроводного портативного ЛДФ устройства

Благодаря использованию двух идентичных измерительных каналов (дифференциальная схема), синфазная составляющая фототока может быть уменьшена за счёт принципа сбалансированного детектирования. Фотодиоды генерируют фототок, пропорциональный падающему излучению, который преобразователь ток-напряжение (ПТН) преобразует в напряжение. Далее сигнал передаётся на два фильтра – фильтр нижних частот (ФНЧ) и фильтр высоких частот (ФВЧ). Аналого-цифровой преобразователь (АЦП) преобразует отфильтрованный сигнал в цифровую форму, который затем передаётся по Bluetooth или Wi-Fi на персональный компьютер (ПК) или смартфон. С помощью специально разработанного программного обеспечения оператор управляет устройством (запуск и остановка записи, установка таймера измерения и др.).

На рисунке 2.11 представлено изображение одного из вариантов приборной реализации беспроводного портативного устройства ЛДФ.

Обоснованные медико-технические требования учитывались при разработке портативного устройства ЛДФ «ЛАЗМА ПФ» производства ООО НПП «ЛАЗМА» (г. Москва, Россия) на основе совместной научно-исследовательской работы (получен акт апробации результатов диссертационной работы). Внешний вид и основные технические характеристики устройства представлены на рисунке 2.12 и в таблице 2.6 соответственно.



а)



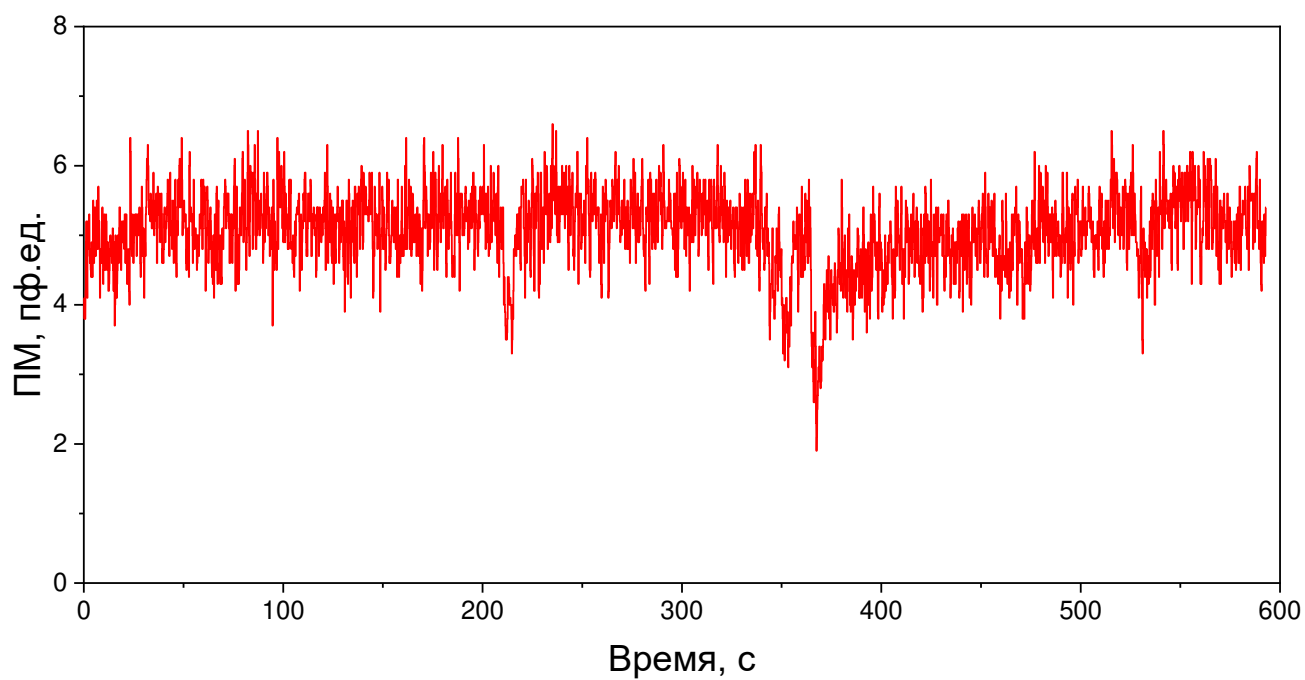
б)

Рисунок 2.12 – Внешний вид устройства «ЛАЗМА ПФ»

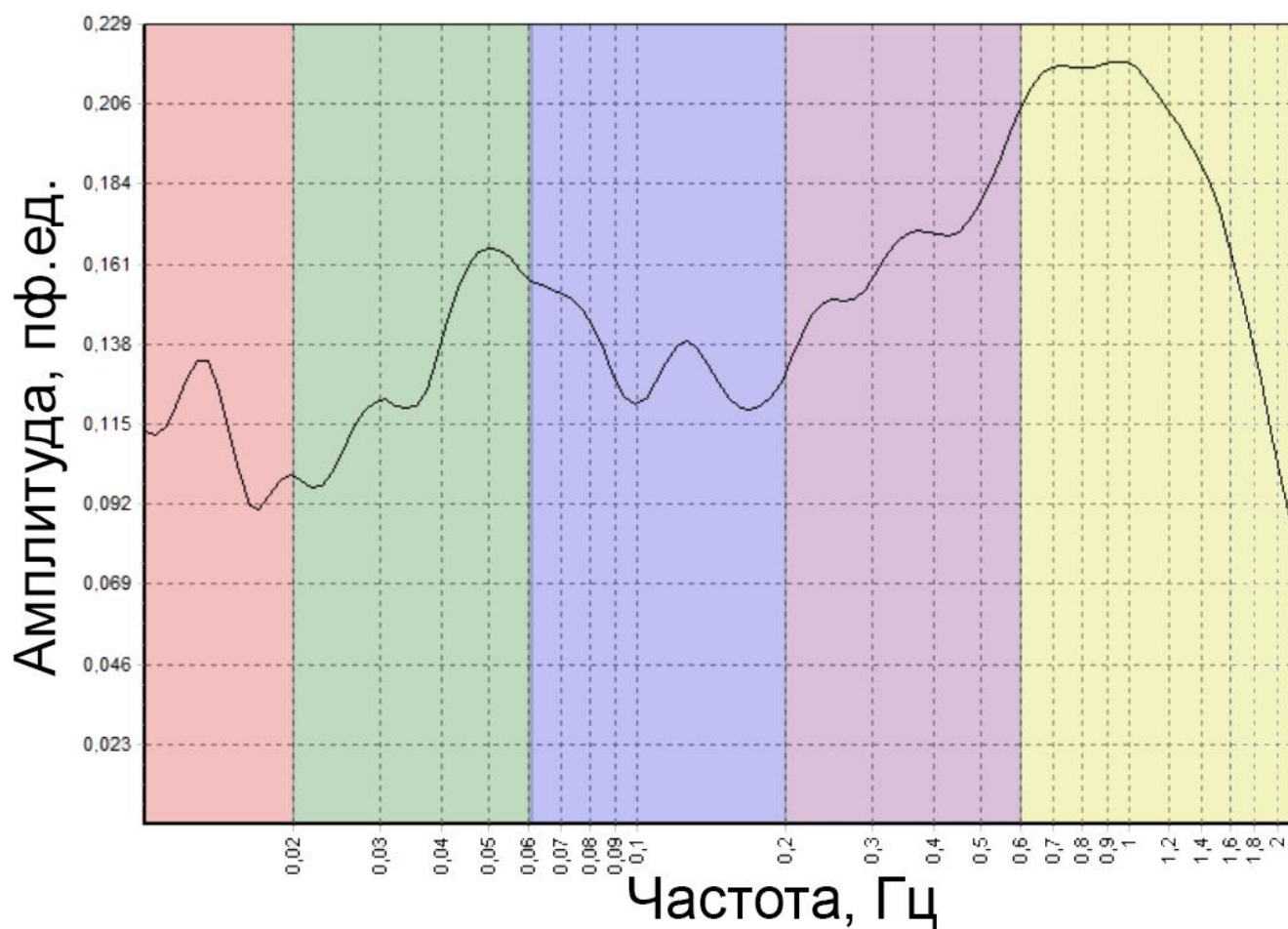
Таблица 2.6 – Основные технические характеристики устройства «ЛАЗМА ПФ»

№	Техническая характеристика, единица измерения	Значение
1	Длина волны излучения, нм	850
2	Мощность излучения на выходе, мВт	<1
3	Диапазон регистрируемых скоростей эритроцитов, мм/с	0,8-4,5
4	Диапазон измерения температуры, °С	15-40
5	Питание, В	3,7
6	Время установки рабочего режима, мин	5
7	Габаритные размеры ш×в×г, мм	80×60×20
8	Масса, кг	0,2

Пример ЛДФ-граммы, зарегистрированной устройством «ЛАЗМА ПФ» с дорсальной стороны запястья условно здорового добровольца, а также результат её вейвлет-анализа приведены на рисунке 2.13.



а)



б)

Рисунок 2.13 – Пример регистрации ЛДФ-граммы устройством «ЛАЗМА ПФ» (а) и результат её вейвлет-анализа (б)

Таким образом, на основании ранее обоснованных специализированных медико-технических требований к портативным устройствам лазерной доплеровской флоуметрии в виде базы измерения 1200 мкм, позволяющих при использовании вертикально-излучающего лазера с длиной волны 850 нм регистрировать диагностический сигнал из кожи с глубины более 2 мм, научно-производственным предприятием «ЛАЗМА» впервые разработано портативное устройство ЛДФ, позволяющее за счёт объединения в единую систему нескольких устройств одновременно регистрировать параметры МЦК в нескольких точках организма человека и неинвазивно и без применения функциональных нагрузочных проб диагностировать наличие расстройств периферического кровотока.

2.6 Экспериментальные исследования по сравнению результатов измерения тканевой перфузии портативным и стационарным устройствами лазерной доплеровской флоуметрии

Стационарные мониторы ЛДФ давно и прочно утвердились в исследованиях функционирования микроциркуляторного русла в нормальных и патологических условиях в различных областях медицины. К настоящему времени накоплена значительная база экспериментальных исследований с применением этого метода. Неудовлетворительная стандартизация оборудования для ЛДФ может способствовать обстоятельствам, препятствующим его более широкому использованию в клинике, что значительно затрудняет сравнение результатов, полученных разными авторами [150,151]. Поэтому появление портативных устройств ЛДФ приводит к необходимости проведения сравнительных измерений с использованием новых приборов с результатами измерений традиционно используемыми стационарными мониторами ЛДФ с волоконно-оптическими зондами для грамотного сопоставления вновь измеренных данных с результатами, полученными ранее в предыдущих исследованиях. Таким образом, было принято решение провести сравнительные измерения и оценить уровень корреляции тканевой перфузии (показателя микроциркуляции крови), измеренных

портативным устройством «ЛАЗМА ПФ», с одновременно измеренными при помощи стационарного устройства ЛДФ в той же анатомической области параметрами.

В исследовании приняли участие 14 человек (6 мужчин и 8 женщин) со средним возрастом 22 ± 3 года, по состоянию здоровья входящих в группу условно здоровых добровольцев. Портативное устройство «ЛАЗМА ПФ» крепилось на дорсальной стороне запястья на срединной линии в точке, расположенной на 2 см выше шиловидного отростка (так называемая «точка сердца» зоны Захарьина-Геда). Для сравнения параметров использовался стационарный монитор ЛДФ «ЛАЗМА-Д» (ООО НПП «ЛАЗМА»), оптическое волокно которого крепилось на срединной линии запястья ближе к кисти и вплотную к краю носимого устройства. Расположение портативного устройства ЛДФ и крепление оптического зонда на руке испытуемого представлено на рисунке 2.14.



Рисунок 2.14 – Расположение портативного анализатора ЛДФ (слева) и оптического зонда стационарного устройства ЛДФ (справа) на руке испытуемого при проведении исследования

Исследование заключалось в одновременной 20 мин регистрации сигнала ЛДФ двумя устройствами, для оценки воспроизводимости измерения ЛДФ 2-мя устройствами в исследовании была применена функциональная нагрузочная проба

– 3 мин окклюзия плечевой артерии. На рисунке 2.15 приведена схема протокола проведения исследования.

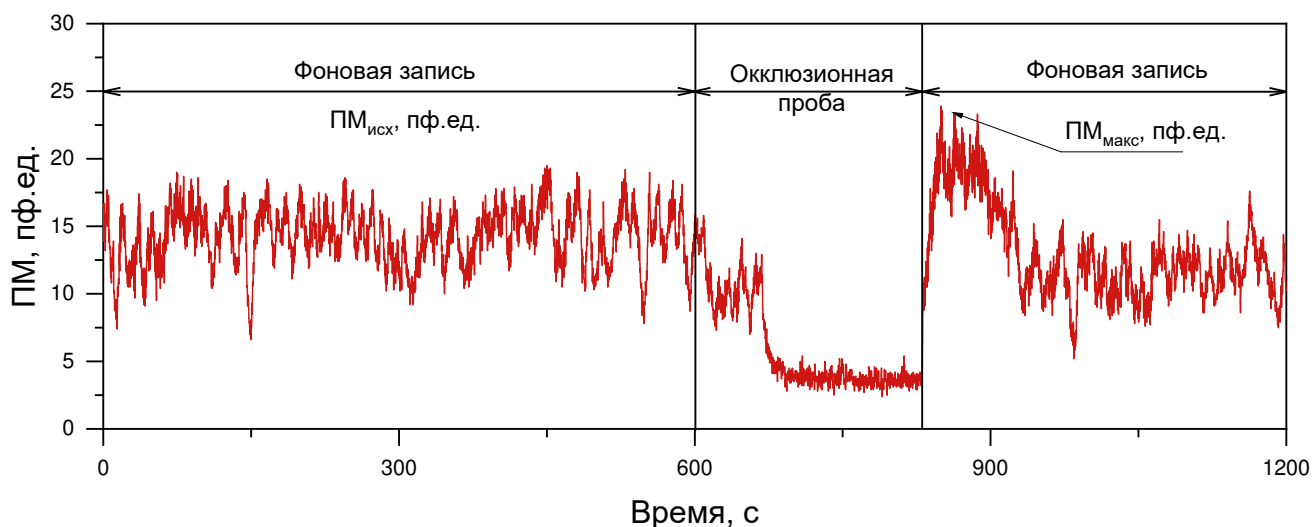


Рисунок 2.15 – Схема протокола экспериментального исследования

При проведении исследования оценивалось среднее значение показателя микроциркуляции крови (ПМ, пф.ед.) в период фоновой записи сигнала до окклюзионной пробы, а также значение параметра резерва капиллярного кровотока, рассчитываемого по формуле:

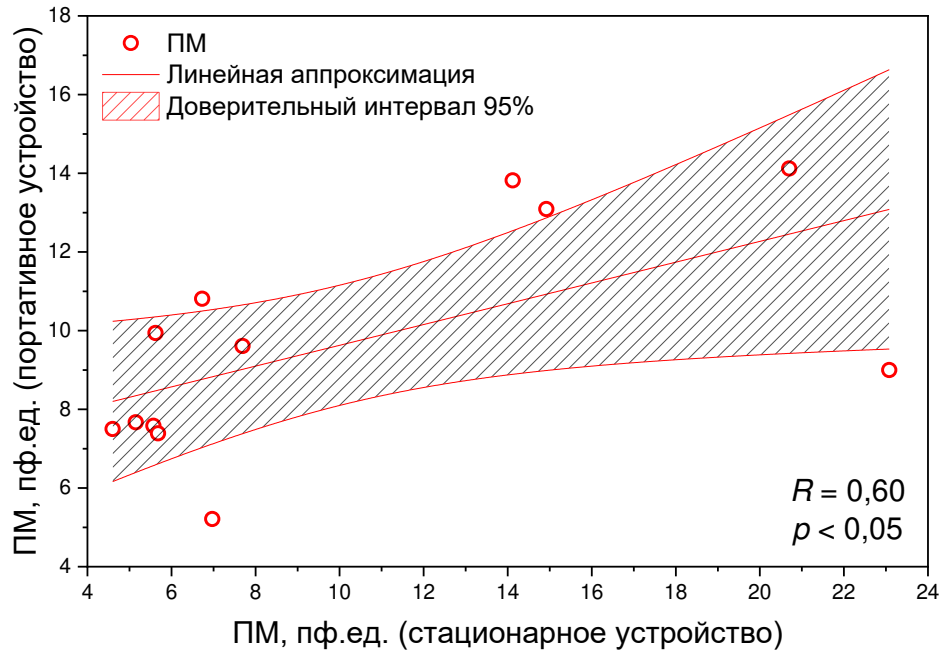
$$РКК = \frac{ПМ_{макс}}{ПМ_{исх}} \cdot 100\%. \quad (2.12)$$

Коэффициент корреляции Пирсона использовался для анализа корреляционных взаимосвязей между параметрами.

Стоит отметить, что устройства, используемые в настоящем исследовании, оперируют на разных длинах волн (850 нм для портативного и 1064 нм для стационарного устройства), а также отличаются конструктивными особенностями (разные диаметры источника и приёмника излучения, разная база измерения, разная числовая апертура) и способами доставки оптического излучения к биологическим тканям. Кроме того, вследствие особенностей проведения исследования регистрация диагностического сигнала осуществлялась с участков кожи, удалённых друг от друга по крайней мере на 1 см. Эти факты позволяют

предположить, что измерения в этих устройствах не обязательно отражают состояние одного и того же слоя биоткани и микрососудистого русла.

Несмотря на указанные особенности, устройства продемонстрировали высокий уровень корреляции оцениваемых параметров. Карты корреляции исследуемых параметров приведены на рисунке 2.16.



а)

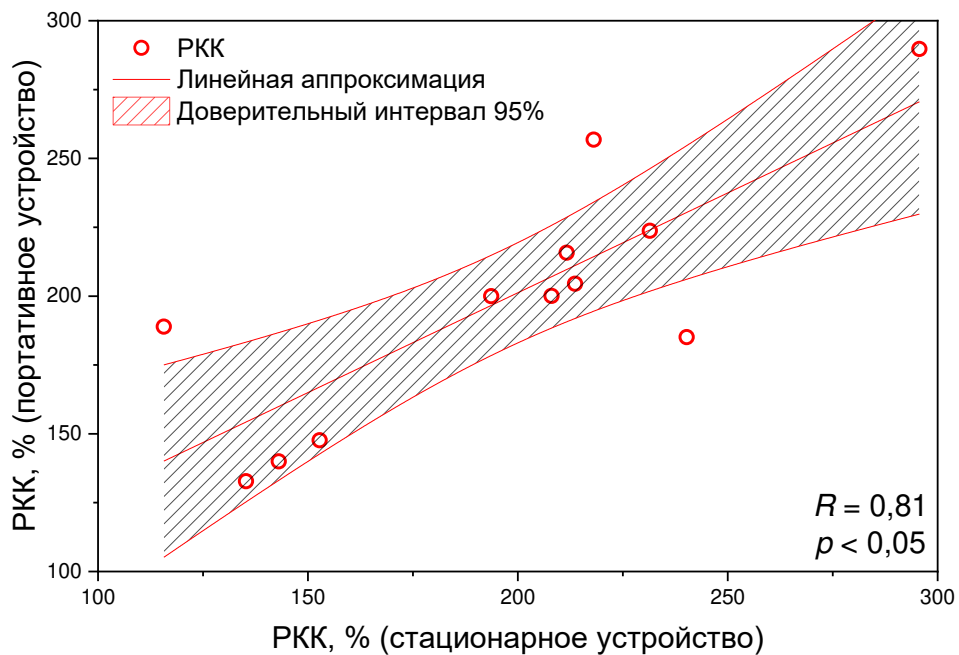


Рисунок 2.16 – Графики линейной аппроксимации Пирсона для результатов измерений показателя микроциркуляции (а) и резерва капиллярного кровотока (б)

Таким образом, проведённое исследование показало, что портативные устройства ЛДФ обладают высоким уровнем корреляции измеряемых данных с данными, регистрируемыми широко применяемыми в настоящее время в научно-исследовательских целях стационарными устройствами ЛДФ. Однако, стоит отметить, что портативные устройства обладают целым рядом преимуществ, таких как – контактный способ регистрации перфузии без применения оптических волокон и, как следствие, более низкая чувствительность к артефактам движения и простота проведения диагностической процедуры ввиду удобства закрепления приборов на коже исследуемых.

2.7 Выводы по главе 2

1) Разработана модель процесса распространения оптического излучения в коже для портативного устройства ЛДФ, основанная на численном методе Монте-Карло, отличающаяся учётом разного уровня кровенаполнения и содержания меланина в ткани и позволяющая учесть конструктивные особенности устройства в виде расстояния между источником и приёмником излучения (базы измерения) и обосновать специализированные МТТ к портативному устройству ЛДФ, обеспечивающие исследование периферического кровотока.

2) Сформированы специализированные МТТ, предъявляемые к портативным устройствам лазерной доплеровской флоуметрии, включающие длину волны зондирования – 850 нм, значение базы измерения $r = 1200$ мкм, обеспечивающие зондирование биологической ткани на глубину более 2 мм у человека европеоидной расы, позволяя таким образом производить диагностику периферического кровотока в слоях вплоть до глубокого сосудистого сплетения.

3) Предложен принцип построения устройства диагностики расстройств периферического кровотока с учётом сформированных специализированных МТТ (глубина распространения оптического излучения составляет не менее 2,5 мм, величина диагностического объёма – до 6-7 мм³ для длины волны зондирования 850 нм и базы измерения 1200 мкм), заключающийся в применении одномодового VCSEL-лазера, 2-х фотодиодов, соответствующих каналов фильтрации и

обработки данных и беспроводного модуля сбора данных (Bluetooth/Wi-Fi), что позволяет диагностировать состояние периферического кровотока вплоть до глубокого сосудистого сплетения.

4) Проведены экспериментальные исследования по сравнению результатов измерения тканевой перфузии портативным и стационарным устройствами лазерной доплеровской флоуметрии, показавшие высокий уровень корреляции между ними.

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВотоКА

3.1 Цели и задачи экспериментальных исследований

На следующем этапе диссертационного исследования с целью оценки возможностей применения портативных устройств ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока при различных социально-значимых заболеваниях проведены экспериментальные исследования. Следующие задачи сформированы для реализации данного этапа:

1) выбор и обоснование наиболее информативных областей проведения исследований;

2) проведение экспериментальных исследований с участием условно здоровых добровольцев, не имеющих расстройств периферического кровотока, и пациентов с различными социально-значимыми заболеваниями, входящими в группу риска развития расстройств периферического кровотока;

3) оценка и интерпретация возможных различий в измеряемых данных и рассчитываемых комплексных параметрах в основной и контрольной группах;

4) разработка диагностических критериев, позволяющих классифицировать состояние пациента на классы наличия или отсутствия расстройств периферического кровотока.

3.2 Исследования возрастных изменений состояния системы микроциркуляции крови

Первая часть работы направлена на изучение изменений, происходящих в системе МЦК в процессе старения. Как ранее показано в 1-й главе, процесс старения организма связан с рядом структурных и функциональных изменений в системе МЦК, влияние которых необходимо учитывать при анализе регистрируемых данных.

К настоящему времени метод ЛДФ в стационарном варианте исполнения уже применялся в исследованиях возрастных изменений кровотока. Так, исследования

проводились как в состоянии покоя, так и с различными функциональными пробами [152–154], среди которых чаще всего используются локальные тепловые и окклюзионные пробы [155]. Обычно в этих тестах оценивается максимальный пик кровотока, достигаемый путём применения умеренного локального нагревания кожи (обычно до 42-44 градусов) или во время постокклюзионной гиперемии.

Однако, в настоящий момент проводится недостаточно исследований, посвященных количественной оценке возрастных изменений микроциркуляции *in vivo* в различных анатомических участках кожи. Кроме того, в научной литературе очень мало данных, касающихся одновременной регистрации сигналов ЛДФ в правой и левой конечностях в разных возрастных группах.

Экспериментальные исследования проводились с использованием 4-х носимых беспроводных устройств «ЛАЗМА-ПФ». В исследовании приняли участие 36 здоровых добровольцев без сердечно-сосудистых заболеваний, гипертонии, СД и других серьёзных хронических заболеваний, которые влияют на систему МЦК. Перед началом исследования каждый волонтер давал добровольное информированное письменное согласие на участие в эксперименте. Волонтеры заполняли анкету для выявления возможных проблем со здоровьем. Добровольцы с алкогольной, медикаментозной или наркотической зависимостью также были исключены из исследований. Участники исследования разделены на 2 группы в соответствии с их возрастом: 18 человек были включены в группу добровольцев моложе 20 лет (1-я группа: средний возраст составил $19,4 \pm 0,6$ лет), 18 добровольцев были старше 40 лет (2-я группа: средний возраст $52,6 \pm 10,2$ лет). Основные характеристики 2-х исследуемых групп представлены в таблице 3.1. Помимо возраста, параметры групп не имели статистически значимых различий.

Исследования проводились в положении сидя, в состоянии физического и психического покоя не ранее, чем через 2 ч после приёма пищи. Руки добровольцев были расположены на столе на уровне сердца. Индекс микроциркуляции крови регистрировали в течение 10 мин с устройствами, закреплёнными на ладонной поверхности дистальных фаланг 3-их пальцев рук и дорсальной поверхности предплечий без оказания какого-либо давления на область исследования.

Таблица 3.1 – Основные параметры исследуемых групп

Параметр	1-я группа	2-я группа
Возраст, лет	19±1*	53±10
Пульс, ударов/мин	80±9	74±9
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	121±8	125±8
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	77±5	78±7

* – статистическая значимость различий подтверждена по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$)

На рисунке 3.1 показано расположение приборов во время исследования. Выбор данных областей исследования обосновывается тем, что с физиологической точки зрения они представляют 2 основных типа кожи – гладкую и негладкую. Негладкая кожа в основном покрывает поверхности ладоней, подошв и лица. Данный тип кожи в первую очередь участвует в механизмах терморегуляции тела, кроме того, этот тип кожи является одним из основных органов восприятия внешней среды за счёт большого количества расположенных в ней различных специализированных рецепторов. Стоит отметить, что данный тип кожи содержит большое количество АВА. Таким образом, симпатическая регуляция является доминирующим механизмом, участвующим в кровотоке гладкой кожи [156].

Гладкая кожа покрывает почти всю поверхность человеческого тела. Она содержит только небольшое количество АВА, так что кровоток в ней в основном имеет нутритивную функцию. Рефлекторная нервная регуляция данного типа кожи включает в себя как работу симпатических норадренергических сосудосуживающих нервов, так и влияние отдельных симпатических холинергических сосудорасширяющих нервов [99]. Из небольшого количества исследований, посвящённых оценке возрастных изменений микроциркуляции крови, большинство было сосредоточено на гладкой коже с меньшим вниманием к участкам с негладкой кожей.



Рисунок 3.1 – Расположение портативных устройств ЛДФ при проведении исследования возрастных изменений микроциркуляции крови

На рисунке 3.2 приведены результаты измерения среднего уровня тканевой перфузии на подушечке среднего пальца руки (а) и на тыльной стороне предплечья (б) для 2-х исследуемых групп. У добровольцев в старшей группе наблюдается более высокий уровень перфузии крови в пальцах по сравнению с добровольцами в младшей группе ($18,23 \pm 2,97$ пф. ед. и $14,26 \pm 4,68$ пф. ед. соответственно). Аналогичная ситуация с более высокой перфузией у добровольцев старшего возраста ($7,28 \pm 2,21$ пф. ед. по сравнению с $6,35 \pm 1,88$ пф. ед.) наблюдалась в предплечьях, но эта разница не достигла статистически значимого уровня.

Лишь в нескольких работах рассматривались различия в сигналах ЛДФ разных возрастных групп при нормальных условиях (без применения ФП). В большинстве исследований [152,153,157,158] оценивался уровень перфузии в областях с гладкой кожей, где не было обнаружено статистически значимых различий в базальном кровотоке между молодыми и пожилыми участниками. Ранее полученные данные полностью совпадают с нашими результатами исследований

МЦК на тыльной стороне запястий, полученными с помощью портативных устройств.

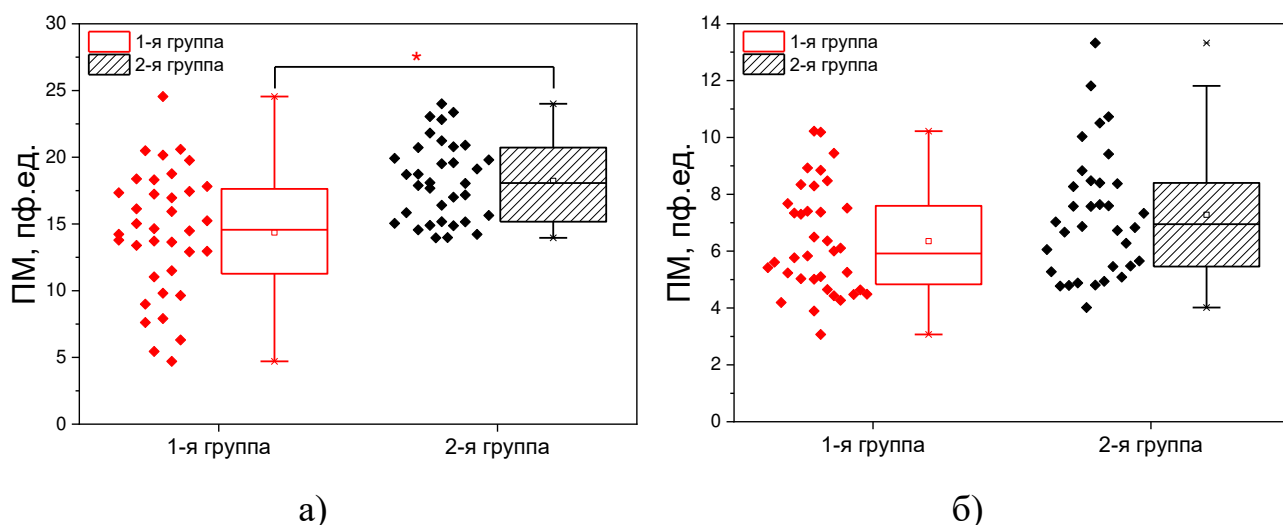


Рисунок 3.2 – Результаты исследований возрастных изменений тканевой перфузии

Напротив, статистически более высокие показатели перфузии наблюдались у старшей возрастной группы по сравнению с более молодыми участниками при проведении эксперимента на подушечке третьего пальца (в области с негладкой кожей). Положительная корреляция между возрастом и уровнем базального кровотока, измеренным посредством метода ЛДФ, подтверждена в предыдущих исследованиях [11,152]. Данный результат может быть связан со структурными изменениями в МЦК при старении, в том числе с увеличением общей параллельной длины сосудов [11].

Более высокий уровень сигнала в старшей группе также можно объяснить истончением кожи во время процесса старения, в результате чего лазерное излучение меньше рассеивается, что увеличивает диагностический объём [157]. Актуальным предметом дальнейших исследований остаётся вопрос о том, является ли получающиеся в результате данные о более высоком уровне средней перфузии в старшей группе результатом структурных и функциональных изменений в МЦК при старении или влиянием большей глубины проникновения лазерного излучения в кожу.

После проведения сравнения уровней средней перфузии в 2-х исследуемых группах проведена дополнительная обработка сигналов ЛДФ, полученных с пальцев рук. Записи ЛДФ-грамм подвергались ранее описанному вейвлет-анализу. Статистически значимые различия между 2-я группами обнаружены в амплитудах эндотелиальных ($A_{Э}$) и миогенных ($A_{М}$) колебаний. Результаты анализа колебаний периферического кровотока представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Результаты вейвлет-анализа полученных данных

Параметры	ПМ, пф.ед.	$A_{Э}$, пф.ед.	$A_{Н}$, пф.ед.	$A_{М}$, пф.ед.	$A_{Д}$, пф.ед.	$A_{С}$, пф.ед.
1 группа	14,26±4,68*	0,74±0,32*	0,35±0,15	0,56±0,26*	0,61±0,30	0,59±0,28
2 группа	18,23±2,97	0,59±0,56	0,35±0,16	0,43±0,23	0,55±0,35	0,63±0,42

* – значимость различий между значениями подтверждена по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$)

Также было проведено сравнение сигналов, регистрируемых в правой и левой конечностях испытуемых, оценена вейвлет-когерентность (спектральная корреляция) 2-х сигналов (с правой и левой руки) у каждого испытуемого. Результаты анализа приведены на рисунке 3.3.

Согласно полученным данным, миогенные колебания перфузии крови в младшей возрастной группе имели более высокое значение параметра вейвлет-когерентности, чем в старшей возрастной группе, при этом статистическая значимость различий была подтверждена по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Колебания кровотока с частотой приблизительно 0,1 Гц (так называемые вазомоции) характеризуют активность гладкомышечной мускулатуры сосудов. В предыдущих исследованиях было показано, что выраженность вазомоций может в значительной степени зависеть от наличия патологий и условий проведения эксперимента. Такие патологические состояния, как СД, артериальная гипертензия и окклюзирующие заболевания периферических артерий, связаны с изменениями характера вазомоций [159]. Поскольку испытуемые, включённые в обе исследуемые группы, были здоровыми добровольцами, без выявленных проблем со здоровьем и с похожими параметрами артериального давления и пульса,

предполагается, что полученный результат связан с возрастной характеристикой микроциркуляторного русла.

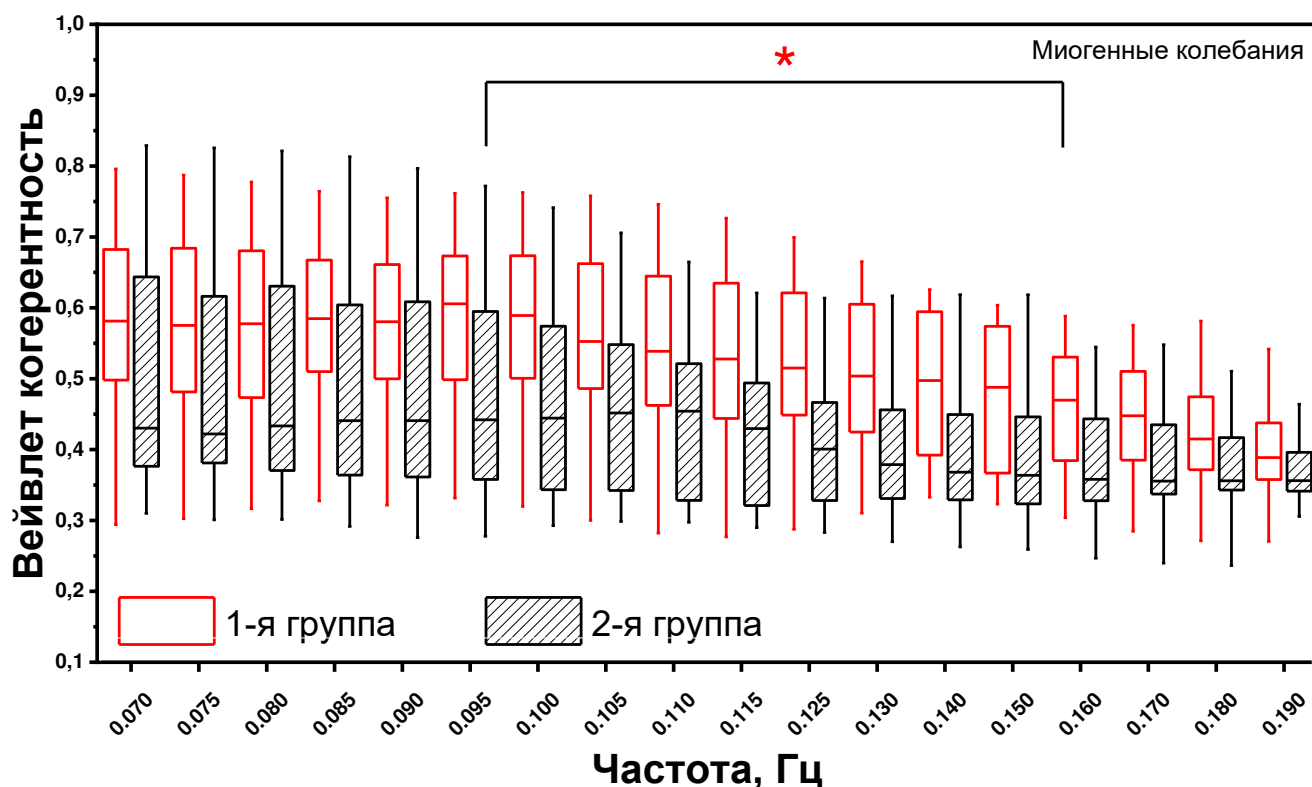


Рисунок 3.3 – Анализ вейвлет-когерентности перфузии крови между средними пальцами правой и левой рук 1-й (красные боксы) и 2-й (чёрные боксы) групп добровольцев

* – значимость различий между значениями подтверждена по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$)

Таким образом, можно сказать, что с возрастом работа механизмов, синхронизирующих колебания в этом частотном интервале по всей сердечно-сосудистой системе, меняется, вызывая различия в тоне сосудов правой и левой частей тела. Полученные результаты согласуются с данными, полученными ранее другими исследователями, подтверждая, что колебания около 0,1 Гц сильно синхронизированы в сердечно-сосудистой системе молодых здоровых людей [160]. Кроме того, проведённые экспериментальные исследования показали перспективность применения одновременно нескольких (например, двух) портативных устройств, объединяемых в распределённую систему и

располагаемых на разных конечностях организма человека, способствующих учёту асимметрии регистрируемой тканевой перфузии с различных сторон организма и нивелирующих данный эффект в случае необходимости путём усреднения данных.

3.3 Исследования изменений в периферическом кровотоке при СД 2 типа

Для обоснования принципа анализа расстройств периферического кровотока при СД 2 типа, базирующегося на применении распределённой системы портативных устройств ЛДФ, спектрального анализа ЛДФ-сигналов, а также для выявления параметров, которые могли бы лечь в основу модели классификации наличия и отсутствия расстройств периферического кровотока были проведены экспериментальные исследования на базе эндокринологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» согласно договору о научном сотрудничестве (исследования поддержаны этическим комитетом при ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» (протокол заседания № 15) от 21.02.2019).

В исследовании приняли участие 26 пациентов, проходивших плановую госпитализацию в эндокринологическом отделении, с диагнозом СД 2 типа. Для сравнения полученных данных была также отобрана группа условно здоровых добровольцев, состоящая из 31 человека, не имевших СД и не отмечавших других проблем с состоянием сердечно-сосудистой системы и периферическим кровотоком. Из исследования были исключены участники с сердечно-сосудистыми заболеваниями и другими серьёзными заболеваниями, влияющими на систему кровообращения, а также с алкогольной или наркотической зависимостью. В таблице 3.3 представлены основные клинические и лабораторные параметры исследуемых групп.

Перед началом измерений добровольцы заполняли анкету для выявления проблем со здоровьем, которые могут повлиять на результаты исследования. Перед началом исследования испытуемые в течение 15-20 мин адаптировались к нормальным комнатным условиям. Добровольцы находились в состоянии физического и психического покоя. Экспериментальные исследования

проводились в первой половине дня, не ранее чем через 2 часа после приёма пищи. Устройства прикреплялись на область интереса без оказания значительного давления за несколько минут до начала записи сигналов. Устройства крепились к запястьям на 2 см выше шиловидного отростка на дорсальной стороне рук, к плантарной поверхности 1-ых пальцев ног, волярной поверхности 3-их пальцев рук и внутренней части верхней трети голеней. Расположение портативных устройств на теле пациента представлено на рисунке 3.4. В течение 10 мин процесса измерения испытуемый находился в положении лёжа.

Таблица 3.3 – Основные клинико-лабораторные показатели исследуемых групп

Параметр	Контрольная группа	Основная группа
Средний возраст, лет	51±10	56±13
Пол, м/ж	16/15	12/14
ИМТ, кг/см ²	27±4	32±7
Систолическое давление, мм рт.ст.	123±11	133±14
Диастолическое давление, мм рт.ст.	76±8	79±8
Длительность СД, лет	–	13±8
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	–	6,03±1,96
Гликированный гемоглобин HbA1c, %	–	8,5±2,1

По зарегистрированным ЛДФ-граммам были оценены такие параметры как среднее значение показателя микроциркуляции (ПМ, пф.ед.), среднеквадратическое отклонение (σ , пф.ед.) и коэффициент вариации (K_B , %). После проведения исследования зарегистрированные ЛДФ-граммы подвергались вейвлет-анализу с целью определения значений амплитуд колебаний кровотока в

эндотелиальном ($A_{Э}$, пф.ед.), нейрогенном ($A_{Н}$, пф.ед.), миогенном ($A_{М}$, пф.ед.), дыхательном ($A_{Д}$, пф.ед.) и сердечном ($A_{С}$, пф.ед.) частотных диапазонах.

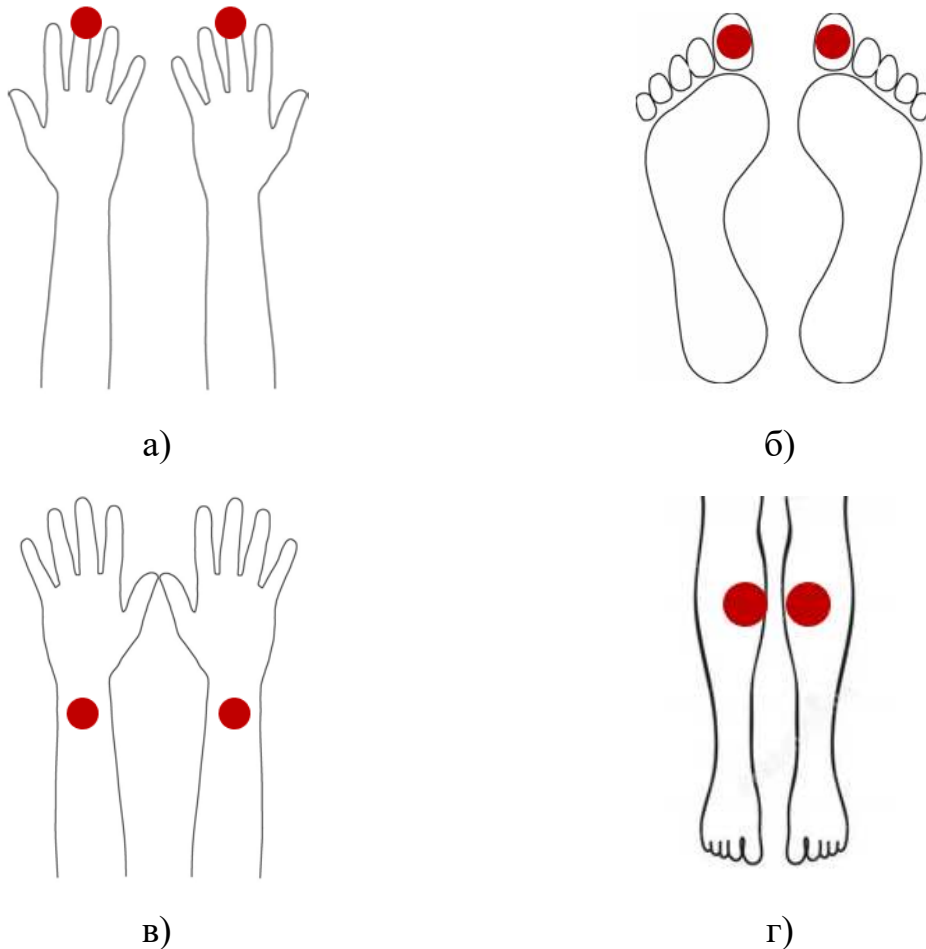


Рисунок 3.4 – Расположение портативных устройств ЛДФ на теле пациентов во время проведения исследования

Результаты исследований показали, что пациенты с СД 2 типа отличаются значительно меньшим уровнем показателя микроциркуляции крови в области нижних конечностей (пальцы ног), в то время как в верхних конечностях наблюдается противоположная картина – значения ПМ статистически значимо выше в основной группе по сравнению с контрольной. На рисунке 3.5 приведены диаграммы размаха значений показателя микроциркуляции крови в исследуемых группах.

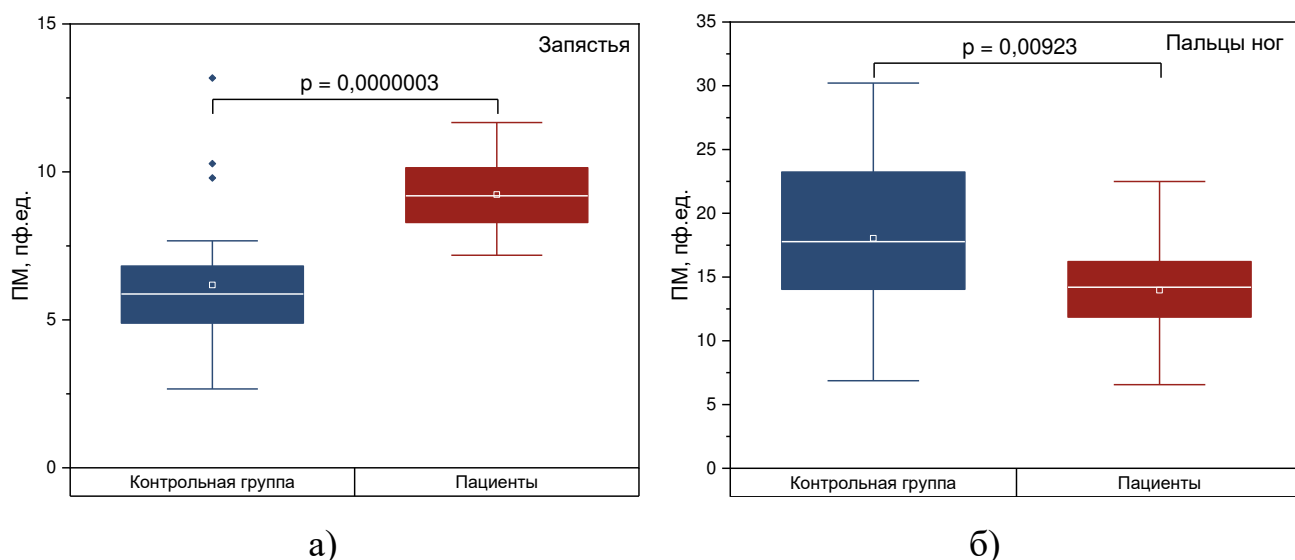


Рисунок 3.5 – Диаграммы размаха значений показателя микроциркуляции у исследуемых групп в верхних (а) и нижних (б) конечностях

Стоит отметить, что результаты исследований базальной перфузии у пациентов с СД существенно разнятся у разных авторов. Некоторые данные свидетельствуют о снижении показателя микроциркуляции у больных [156,161,162], другие, наоборот, отмечают более высокие значения [163,164]. Зачастую упомянутые различия не достигают статистически значимого уровня. Такое несоответствие получаемых результатов является следствием отсутствия чёткой методологии исследования и различием областей проведения исследования. Кроме того, учёные сходятся во мнении о том, что важную роль играет наличие у пациентов диабетической периферической нейропатии, приводящей к увеличению кожного кровотока [165,166], так как выявлены значимые различия в данных пациентов с нейропатией и без неё [156].

Зарегистрированные в нашем исследовании результаты со сниженными значениями перфузии в области плантарной поверхности пальцев ног у пациентов сходятся с результатами большинства более ранних исследований и свидетельствуют о развитии расстройств периферического кровотока в нижних конечностях. Результаты, полученные в области верхних конечностей, показывают более высокие значения перфузии у пациентов. Так как нарушения микроциркуляции при СД проявляются в первую очередь в области нижних

конечностей в силу ряда причин – прямохождение, большая нагрузка на ноги, ношение обуви и др., то увеличенный кровоток в области запястий может свидетельствовать о попытках организма скомпенсировать развивающиеся нарушения микроциркуляции крови в верхних конечностях [167].

В дальнейшем, на основании измеренной тканевой перфузии и результатов её спектрального анализа был произведён расчёт значения нутритивного кровотока ($M_{\text{нутр}}$):

$$M_{\text{нутр}} = A_M / (A_H + A_C). \quad (3.1)$$

Расчёт данного параметра позволяет оценить функционирование нутритивного русла и распределение кровотока по капиллярным и шунтовым путям.

Результаты анализа показали, что тенденции в изменениях $M_{\text{нутр}}$ повторяют ранее полученные результаты по измерению показателя микроциркуляции, однако в случае с нутритивным кровотоком статистически значимое снижение параметра в верхних конечностях было выявлено как в области запястий, так и в области пальцев рук. Диаграммы размаха значений $M_{\text{нутр}}$ представлены на рисунке 3.6.

Для оценки напряжённости регуляции системы МЦК со стороны различных регуляторных механизмов были рассчитаны значения амплитуд осцилляций микроциркуляторного кровотока при их нормировке на значение ПМ, показавшие значимые различия в колебаниях сердечного диапазона в области пальцев ног (рисунок 3.7). Значимое повышение этого параметра у пациентов с СД может свидетельствовать о лучшем по сравнению с контрольной группой распространении пульсовой волны по сосудам вследствие увеличения жёсткости сосудистой стенки у пациентов.

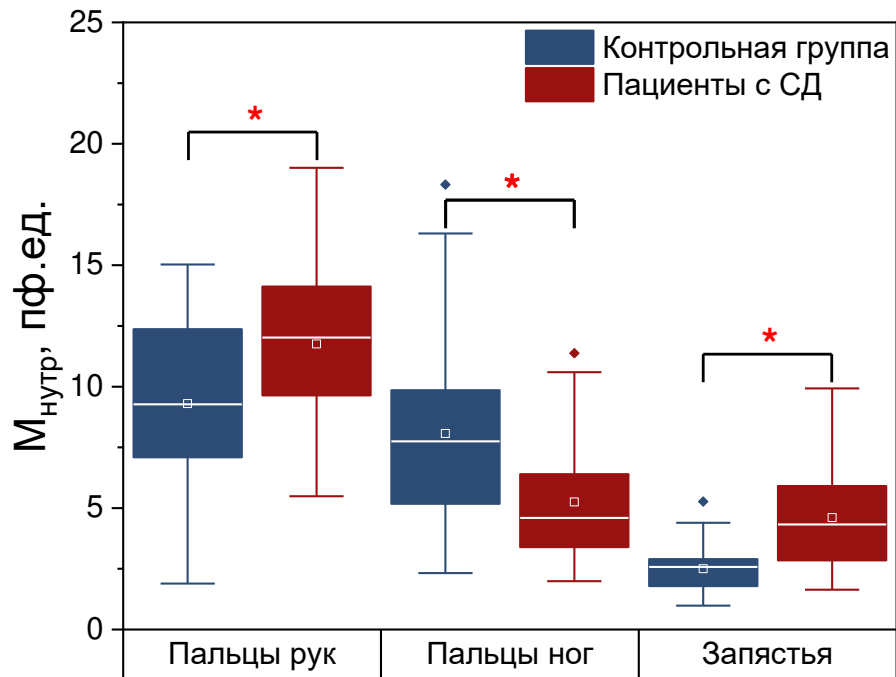


Рисунок 3.6 – Диаграммы размаха значений $M_{\text{нутр}}$ в исследуемых группах
 * – статистическая значимость различий подтверждена по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

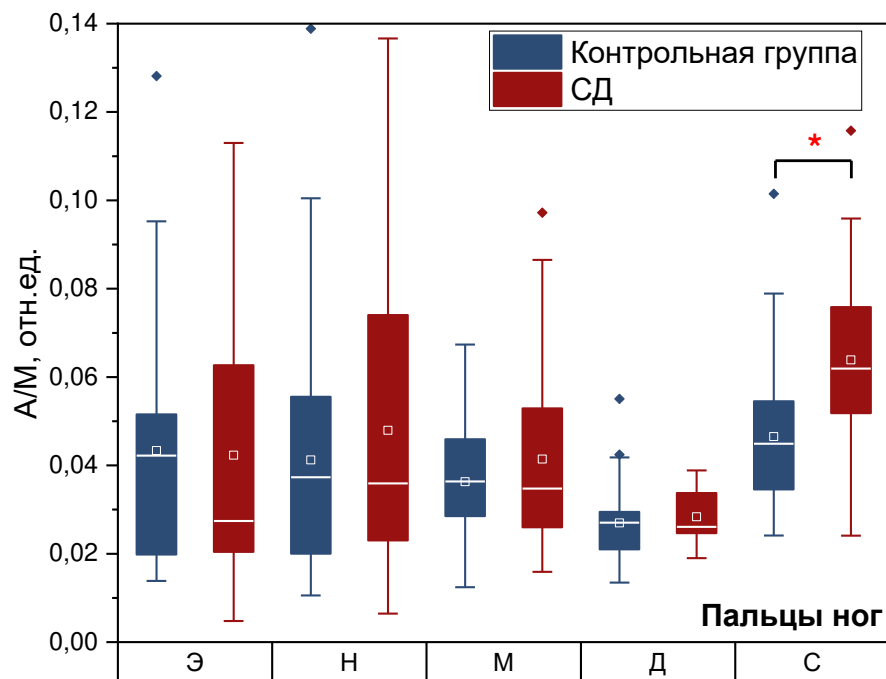


Рисунок 3.7 – Диаграммы размаха значений нормированных на ПМ амплитуд колебаний тканевой перфузии в области пальцев ног в исследуемых группах
 * – статистическая значимость различий подтверждена по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

Для выявления механизмов регуляции кровотока, наиболее вовлечённых в регуляторные процессы у пациентов с СД 2 типа и здорового контроля, по известной методике [168] были рассчитаны значения общей мощности амплитудно-частотного спектра ЛДФ-грамм и значения вкладов в общую мощность спектра отдельных ритмических составляющих по формулам 3.2 и 3.3 соответственно:

$$P = A_{\text{Э}}^2 + A_{\text{Н}}^2 + A_{\text{М}}^2 + A_{\text{Д}}^2 + A_{\text{С}}^2, \quad (3.2)$$

$$i_P = A_i^2 / P \cdot 100\%, \quad (3.3)$$

где A_i – амплитуда колебаний в каждом частотном диапазоне.

Результаты расчёта приведены на рисунке 3.8 для верхних (а) и нижних (б) конечностей.

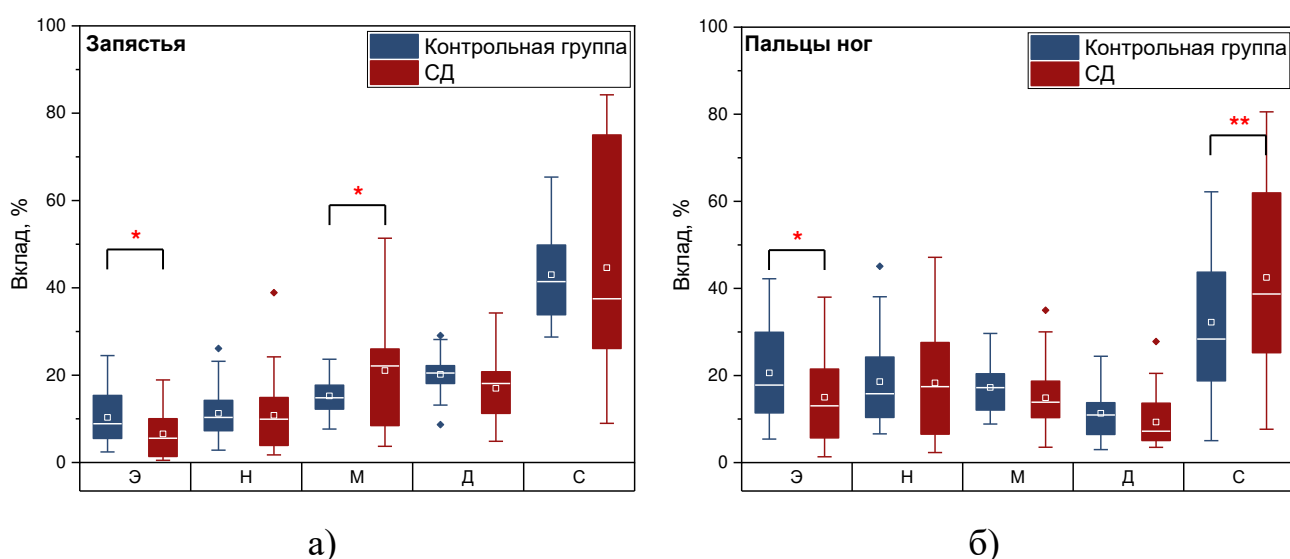


Рисунок 3.8 – Диаграммы размаха значений вклада ритмических составляющих в общую мощность амплитудно-частотного спектра тканевой перфузии в верхних (а) и нижних (б) конечностях

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

Анализ результатов расчётов показал значительное снижение вклада эндотелиальных колебаний в общую мощность спектра у пациентов с СД 2 типа по

сравнению с контрольной группой как в верхних, так и в нижних конечностях. Снижение вклада эндотелиальных колебаний в регуляцию периферического кровотока свидетельствует о развитии у пациентов системной эндотелиальной дисфункции. При этом в запястьях наблюдается увеличенный вклад миогенных колебаний. Так как миогенные колебания косвенно связаны с работой прекапиллярных сфинктеров, то увеличение их вклада может быть связано с увеличением числа функционирующих капилляров и увеличением нутритивного кровотока в верхних конечностях в результате включения механизмов компенсации расстройств периферического кровотока. В пальцах ног у пациентов увеличен вклад сердечных осцилляций в общую мощность спектра, что согласуется в предыдущими результатами и свидетельствует об увеличении жёсткости сосудистой стенки в результате ее кальцификации.

Для оценки функционирования отдельных механизмов регуляции сосудистого тонуса также были рассчитаны значения эндотелиального, нейрогенного и миогенного тонусов в соответствии со следующей формулой:

$$\text{ЭТ} = \sigma / A_3, \quad (3.4)$$

где для вычисления значений нейрогенного (НТ) и миогенного (МТ) тонуса в знаменатель подставлялись амплитуды нейрогенных (A_N) и миогенных (A_M) колебаний соответственно.

По результатам анализа расчётов выявлено снижение миогенного компонента микрососудистого тонуса в верхних конечностях (рисунок 3.9), связанное с упомянутым ранее механизмом компенсации расстройств периферического кровотока.

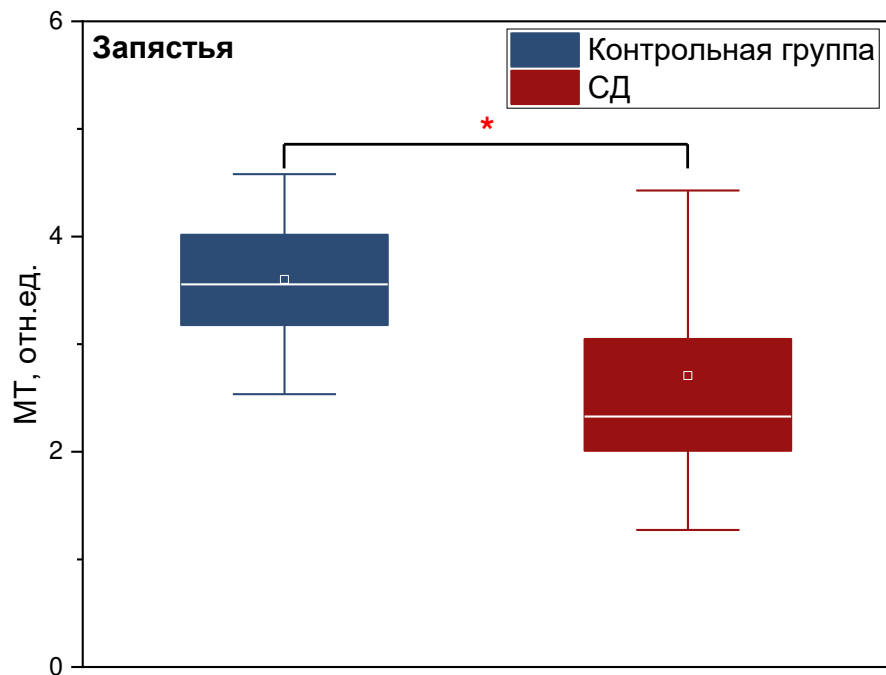


Рисунок 3.9 – Диаграммы размаха значений миогенного тонуса в запястьях

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

Кроме того, оценено значение внутрисосудистого сопротивления, рассчитываемого по формуле:

$$R = (A_d + A_c) / \sigma. \quad (3.5)$$

Увеличение значений данного параметра в верхних конечностях в группе пациентов (рисунок 3.10) связано с увеличением перфузии тканей кровью в этой области вследствие открытия прекапиллярных сфинктеров и увеличения нутритивной составляющей микроциркуляторного кровотока.

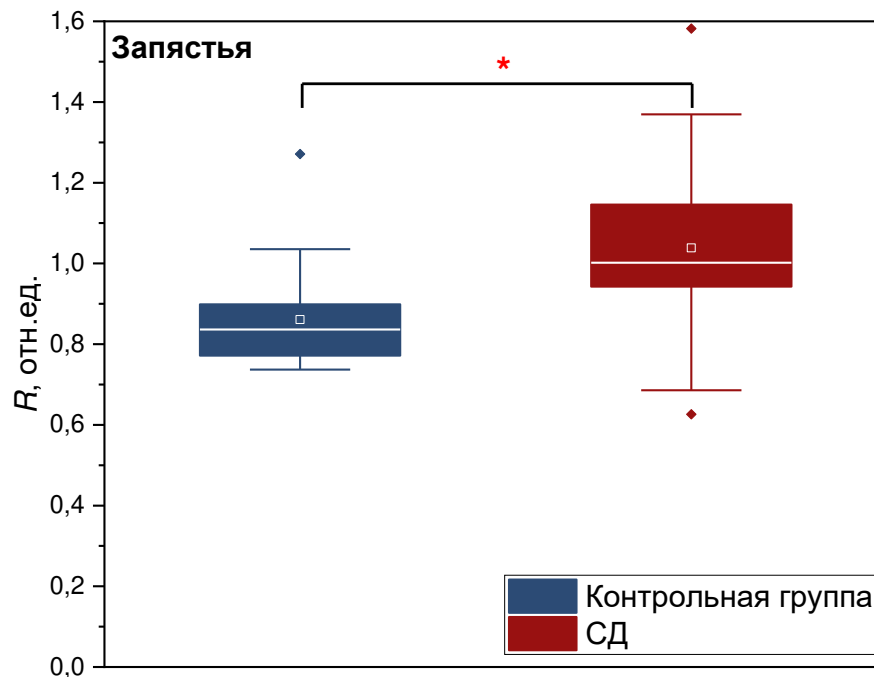


Рисунок 3.10 – Диаграммы размаха значений внутрисосудистого сопротивления, измеренных в запястьях: * – статистическая значимость различий подтверждена по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

Таким образом, проведённые экспериментальные исследования по анализу изменений в периферическом кровотоке у пациентов с СД 2 типа показали, что пациенты с СД 2 типа характеризуются сниженными значениями показателя микроциркуляции и нутритивного кровотока в области нижних конечностей и повышенными значениями этих параметров в верхних конечностях по сравнению с контрольной группой. У пациентов с СД 2 типа выявлены более высокие значения нормированной амплитуды колебаний сердечного диапазона в нижних конечностях и более высокий вклад этого диапазона в общую мощность амплитудно-частотного спектра и сниженный вклад амплитуды эндотелиальных колебаний в общую мощность спектра как в верхних, так и в нижних конечностях. В верхних конечностях у пациентов снижен миогенный тонус, что свидетельствует о включении компенсаторного механизма, активирующего нутритивный кровоток в области верхних конечностей.

3.4 Контроль динамических изменений тканевой перфузии у пациентов с СД 2 типа в процессе инфузий

Одним из перспективных направлений применения новых портативных лазерных доплеровских флоуметров в клинической практике СД является оценка эффективности терапии его осложнений. Стационарные мониторы ЛДФ уже применялись в оценке эффективности симптомов диабетической полинейропатии (ДПН) с применением, в частности, разных доз витамина D [95]. Так как одной из ведущих причин развития осложнений при СД считается окислительный стресс [169], довольно часто в их терапии применяют антиоксидантную терапию. Предыдущие исследования показали возможность замедлять или даже предотвращать на ранних стадиях развитие диабетических осложнений с помощью антиоксидантной терапии [170]. К ряду сильных антиоксидантов, используемых в терапии осложнений СД, относят и альфа-липоевую (АЛК) или тиоктовую кислоту.

Сообщалось, что АЛК обладает рядом потенциально полезных эффектов как для профилактики, так и для лечения заболеваний, связанных с перекисным окислением. В исследованиях, изучающих применение АЛК в лечении осложнений СД, было показано, что она способствует снижению веса при ожирении [171] и повышает чувствительность к инсулину у больных диабетом [172]. Наибольшее применение лечение с помощью АЛК находит в области диабетической нейропатии. Многочисленные исследования в этом направлении показали, что такая терапия может значительно снизить степень выраженности симптомов диабетической полинейропатии [173–176]. Несмотря на все вышеперечисленные положительные эффекты АЛК, до сих пор недостаточно данных исследований о влиянии курсовой терапии этим веществом на изменение функции сосудов и состояние МЦК.

Целью данного этапа работы явилось изучение одновременного отклика системы микроциркуляции крови в нескольких точках тела на курс внутривенных инфузий препарата АЛК у пациентов с СД с использованием распределённой системы портативных устройств ЛДФ. В задачи исследования входило оценить возможность и перспективность применения метода ЛДФ и его реализации в виде

распределённой системы портативных приборов в практике оценки эффективности терапии расстройств, связанных с нарушениями периферического кровотока, а также провести комплексное и всестороннее изучение изменений параметров МЦК у пациентов с СД в процессе осуществления курсового лечения с применением внутривенных инфузий раствора АЛК.

В исследованиях приняли участие 10 пациентов эндокринологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» с диагностированным СД 2 типа, осложнённым ДПН верхних или нижних конечностей. В исследование не включались пациенты с синдромом диабетической стопы в анамнезе, а также в остром периоде заболеваний сердечно-сосудистой, бронхолёгочной систем, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови, которые могли оказывать влияние на диагностический результат. Исключались пациенты с анамнестическими сведениями об алкоголизме и наркомании. Основные клиничко-лабораторные показатели обследованных пациентов эндокринологического профиля были измерены в соответствии со стандартными лабораторными процедурами и приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Основные клиничко-лабораторные показатели обследованных пациентов

№ п/п	Наименование показателя	Значение
1	Пол (М/Ж)	4/6
2	Возраст, лет	56±14
3	Индекс массы тела, кг/м ²	32,0±6,8
4	Длительность заболевания, лет	14±7
5	Систолическое давление, мм рт.ст.	142,0±22,1
6	Диастолическое давление, мм рт.ст.	82,5±6,3
7	Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	15,2±7,0

Экспериментальные исследования были проведены в соответствии с разработанным протоколом исследования, утверждённым на заседании этического

комитета при ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» от 21.02.2019 (протокол заседания №15). Все участники экспериментальных исследований были предварительно ознакомлены с содержанием исследования и подписывали бланк информированного согласия с указанием их готовности к участию в измерениях.

Все исследования проводились в первой половине дня не ранее, чем через 2 часа после последнего приёма пищи. При проведении исследований пациенты находились в положении лёжа в состоянии физического и психического покоя.

Для оценки состояния периферического кровотока в верхних и нижних конечностях пациентов применялась распределённая система, состоящая из 4-х портативных лазерных доплеровских анализаторов «ЛАЗМА-ПФ», позволяющая осуществлять регистрацию тканевой перфузии синхронно в нескольких точках тела. В процессе проведения исследований приборы крепились на волярной поверхности 3-их пальцев рук и на плантарной поверхности 1-ых пальцев ног пациентов. Схема расположения портативных приборов на поверхности тела пациента в процессе проведения исследования приведено на рисунке 3.11.

В процессе прохождения стационарного лечения каждому из пациентов, принимавших участие в исследовании, был назначен курс, состоящий из 5 внутривенных инфузий раствора АЛК в разведении 600 МЕ на 200 мл физиологического раствора. Раствор АЛК вводился в латеральную подкожную вену правой или левой руки, выбор руки осуществлялся медицинским персоналом из соображений удобства сосудистого доступа, состояния периферических вен в зоне инъекции и собственных предпочтений пациента, и разнился от пациента к пациенту. Циклограмма проведения измерений на пациентах приведена на рисунке 3.12.

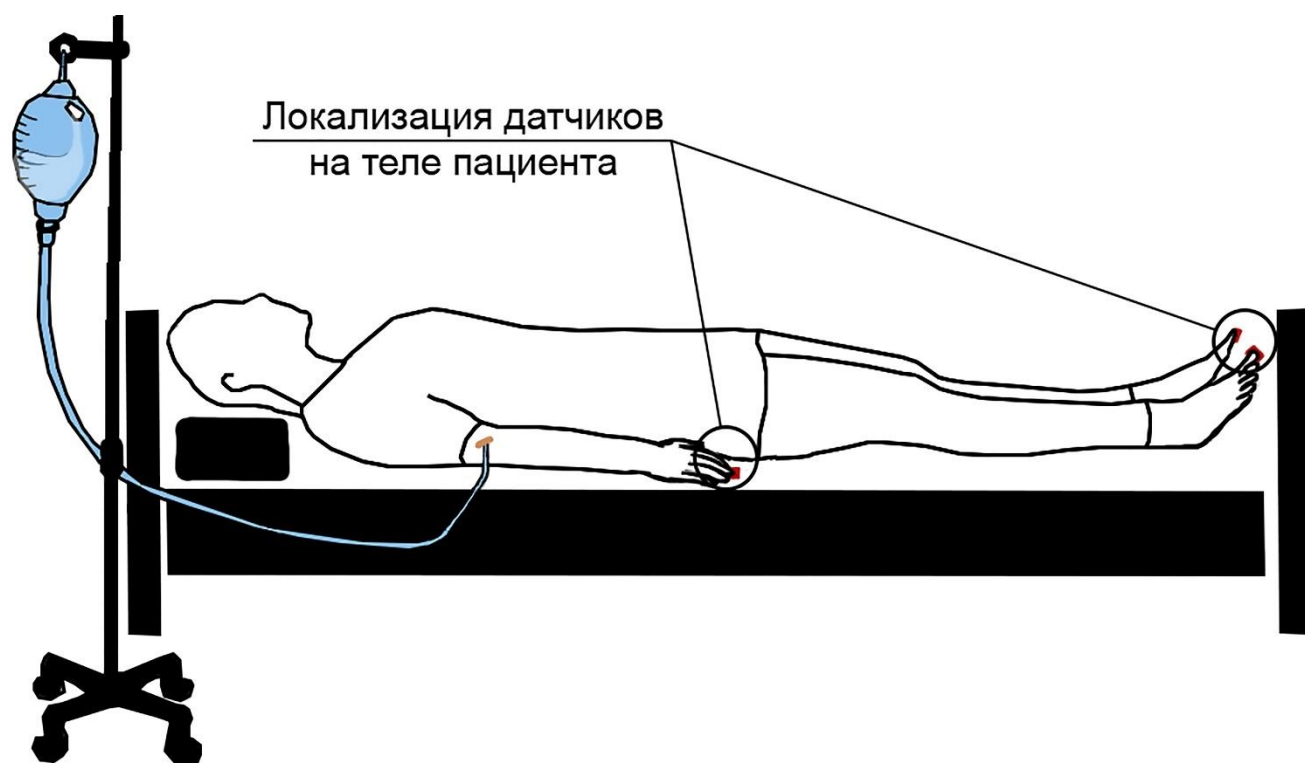


Рисунок 3.11 – Схема расположения портативных приборов ЛДФ на теле испытуемого в процессе проведения исследований

1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день	6-й день	7-й день	...	n-й день
поступление в больницу	1-я капельница	2-я капельница	3-я капельница	4-я капельница	5-я капельница			выписка из больницы
	Измерения: • До капельницы – 10 мин; • Во время капельницы – 20 мин; • После капельницы – 20 мин	Измерения: • До капельницы – 10 мин				Измерения: • Утром – 10 мин		

Рисунок 3.12 – Циклограмма проведения измерений на пациентах

Таким образом, каждый пациент, принимавший участие в исследовании, был обследован 5 раз на протяжении 6 дней, начиная со второго дня пребывания в стационаре. В ходе каждого исследования проводилась регистрация 4-х ЛДФ-грамм с верхних и нижних конечностей продолжительностью от 10 до 20 мин. Первые 3 записи были сделаны в 1-й день исследования (то есть на 2-й день пребывания пациента в больнице). Записи проводились непосредственно перед (10 мин), во время (20 мин) и сразу после (10 мин) внутривенной инфузии раствора АЛК. Следующая запись (10 мин) проводилась на следующий день,

непосредственно перед 2-й внутривенной инфузией раствора АЛК, последняя запись (10 мин) проводилась на 7-й день пребывания пациента в больнице, на следующий день после последней внутривенной инфузии раствора АЛК.

При осуществлении исследования методом ЛДФ проводилась регистрация изменения показателя микроциркуляции крови во времени. Оцениваемыми параметрами явились среднее значение показателя микроциркуляции (ПМ, пф. ед.) в каждом из этапов проведения исследования, СКО ПМ (σ , пф. ед.), и коэффициент вариации ПМ (K_B %). Также был осуществлён вейвлет-анализ регистрируемых ЛДФ-сигналов с использованием математического аппарата, заложенного в программное обеспечение портативных приборов ЛДФ. Оценивались колебания кровотока в 5 основных частотных диапазонах, а также значения амплитуд колебаний активного диапазона, нормированные на СКО ($\Delta/3\sigma$, $H/3\sigma$, $M/3\sigma$, отн.ед.). По известным соотношениям оценивались значения показателя шунтирования (ПШ, отн.ед.) и нутритивного кровотока ($M_{\text{нутр}}$, пф.ед.) [5].

Для более качественного анализа полученных результатов терапии с использованием растворов АЛК, измеренные данные были сравнены с результатами измерений контрольной группы условно-здоровых добровольцев, в которую вошли 10 человек со средним возрастом 58 ± 11 лет. Контрольная группа была измерена однократно таким же образом, как и группа пациентов без применения функциональных проб или вмешательств в организм испытуемых. В последствии результаты измерений контрольной группы сравнивались с данными измерений группы пациентов до и после прохождения курса внутривенных инфузий. Значимость статистических различий выборок оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимой считалась вероятность $p < 0,05$.

Результаты измерения основных параметров периферического кровотока пациентов приведены в таблице 3.5, из которой видно незначительное уменьшение показателя микроциркуляции крови и его вариабельности к концу курса терапии, изменения амплитуд колебаний кровотока активного и пассивного диапазонов, а также разнонаправленные изменения показателя шунтирования и значения

нутритивного кровотока. В настоящем исследовании в группе пациентов не было выявлено статистически значимых изменений параметров, однако тенденции к уменьшению или увеличению того или иного параметра повторялись практически у всех исследуемых пациентов.

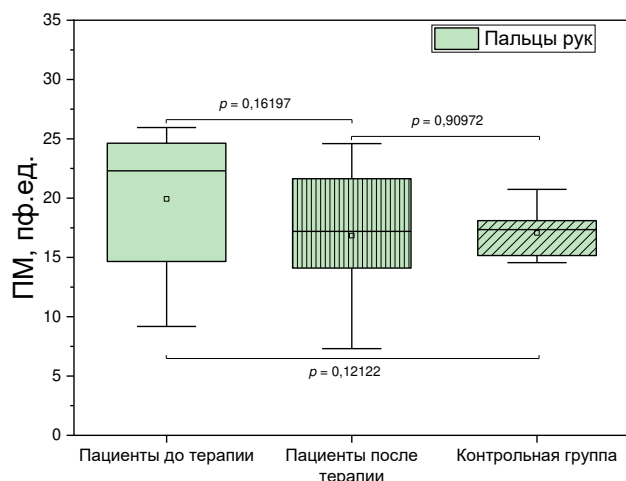
Тенденция к изменению параметров микроциркуляции крови у пациентов при оказании терапии наиболее очевидна при сравнении измеренных значений с данными контрольной группы. На рисунке 3.13 приведены диаграммы размаха показателя микроциркуляции крови пациентов до и после оказываемой терапии и данные контрольной группы для верхних (а) и нижних (б) конечностей. На данном рисунке (и последующих 2-х) зелёные боксы соответствуют значениям, измеренным с пальцев рук, оранжевые – с пальцев ног, боксы без штриховки – измерения пациентов до начала терапии, с вертикальной штриховкой – измерения пациентов после окончания курса внутривенных инфузий, с диагональной штриховкой – результаты измерения контрольной группы (центральная линия бокса является медианой группы, а края – 25-й и 75-й процентиля).

Таблица 3.5 – Результаты измерений группы пациентов с помощью носимых анализаторов ЛДФ

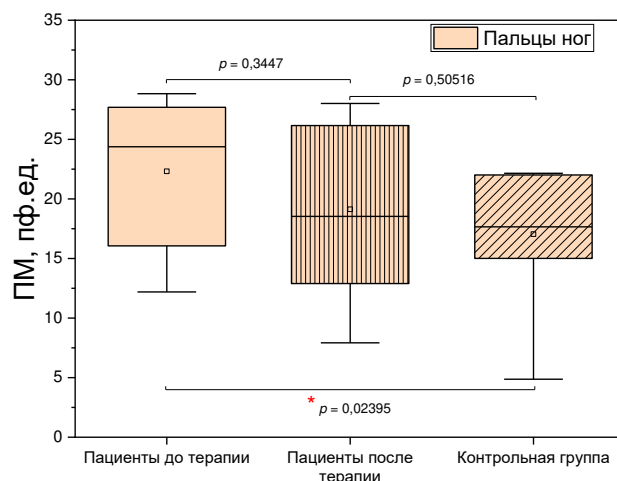
Параметр	Пальцы рук		Пальцы ног	
	До начала курса	После окончания курса	До начала курса	После окончания курса
1	2	3	4	5
ПМ, пф.ед.	19,94±6,45	16,84±5,73	22,32±5,99	19,13±6,79
σ , пф.ед.	2,16±0,96	1,85±0,49	2,11±0,73	2,04±0,65
K_B , %	12,78±8,48	13,24±9,25	10,74±5,84	11,82±4,80
A_3 , пф.ед.	1,08±0,55	1,06±0,51	0,82±0,53	0,66±0,56
A_H , пф.ед.	1,04±0,48	1,05±0,40	0,82±0,51	0,57±0,42
A_M , пф.ед.	0,75±0,34	0,71±0,28	0,60±0,28	0,45±0,20
A_D , пф.ед.	0,47±0,13	0,44±0,14	0,44±0,05	0,43±0,17

Продолжение таблицы 3.5

A_C , пф.ед.	$0,72 \pm 0,29$	$0,93 \pm 0,55$	$0,77 \pm 0,45$	$0,82 \pm 0,72$
$A_3/3\sigma$, отн.ед.	$0,20 \pm 0,16$	$0,22 \pm 0,17$	$0,13 \pm 0,06$	$0,11 \pm 0,08$
$A_H/3\sigma$, отн.ед.	$0,19 \pm 0,13$	$0,21 \pm 0,14$	$0,13 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,06$
$A_M/3\sigma$, отн.ед.	$0,12 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,07$	$0,10 \pm 0,05$	$0,08 \pm 0,06$
ПШ, отн.ед.	$2,41 \pm 1,09$	$3,00 \pm 1,93$	$2,64 \pm 0,84$	$3,17 \pm 1,79$
$M_{\text{нупр}}$, пф.ед.	$8,86 \pm 3,67$	$7,44 \pm 5,21$	$9,35 \pm 3,92$	$7,74 \pm 4,69$



а)



б)

Рисунок 3.13 – Сравнение значений показателя микроциркуляции пациентов до и после терапии и контрольной группы в верхних (а) и нижних (б) конечностях (здесь и на последующих 2-х рисунках)

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

Из данных, представленных на рисунке 3.13 видно, что к концу курса внутривенных инфузий раствора АЛК у пациентов наблюдается тенденция к снижению показателя микроциркуляции крови как в верхних, так и в нижних конечностях. Данная тенденция, однако, не достигает статистически значимых

значений. Данный результат можно объяснить различающейся динамикой изменения параметров у разных пациентов.

Результаты исследований периферического кровотока пациентов с СД в базальных условиях противоречивы [177,178]. Некоторые исследования сходятся на том, что нет статистически значимых различий в параметрах перфузии между группами пациентов с СД и здорового контроля, хотя сигнал ЛДФ у пациентов ниже в абсолютных значениях [156,162]. В других исследованиях, напротив, отмечаются значительно более высокие значения индекса микроциркуляции у больных диабетом [164,179,180]. Среди последних результаты обычно связывают с влиянием длительной симпатической нейропатии на микроциркуляторную функцию, что вызывает увеличение кожного кровотока, особенно в нижних конечностях [156]. В свете данных наблюдений снижение перфузии к концу курса внутривенных инфузий у большинства пациентов в нашем случае можно отнести к положительному влиянию оказываемой терапии. Данная гипотеза подтверждается также тем фактом, что после оказания терапии результаты измерения пациентов по своим значениям приближаются к результатам измерения контрольной группы, о чем свидетельствует уменьшение различий между выборками пациентов и контроля до статистически незначимых значений (рисунок 3.13 б). Особенно сильно данные изменения проявляются в нижних конечностях, в то время как в верхних конечностях они менее значимы. Данное различие может быть объяснено преимущественной вовлечённостью именно микрососудистого русла нижних конечностей в развитие диабетических осложнений, так как они в большей степени подвержены влиянию различных стрессовых факторов (давление вследствие ношения обуви и прямохождения и т.п.). В целом, стоит отметить, что ранее в различных исследованиях с применением метода ЛДФ разные группы учёных уже отмечали различия в функционировании микроциркуляторного русла верхних и нижних конечностей как в стандартных условиях, так и при применении функциональных проб [156,181].

На рисунке 3.14 представлено сравнение параметра нутритивного кровотока в группе пациентов до и после терапии с применением АЛК и в контрольной группе

при измерениях на пальцах рук (рисунок 3.14 а) и на пальцах ног (рисунок 3.14 б), а также параметра показателя шунтирования в группе пациентов до и после терапии с применением АЛК и в контрольной группе при измерениях на пальцах рук (рисунок 3.14в) и на пальцах ног (рисунок 3.14г). Расчёт параметров $M_{\text{нутр}}$ и ПШ осуществлялся по известной методике [5,6,94]. Из представленных данных видно, что с течением курса терапии у пациентов происходит снижение уровня нутритивного кровотока с одновременным увеличением шунтовой его составляющей. Как и в случае с показателем микроциркуляции крови, после осуществления курса инфузий раствора АЛК различия между группой пациентов и контрольной группой перестают быть статистически значимыми, то есть измеряемые параметры периферического кровотока пациентов стремятся к контрольным значениям при оказании терапии.

Из данных, представленных в таблице 3.5 и на рисунке 3.14, можно сделать вывод о перераспределении периферического кровотока у пациентов из нутритивных в шунтовые пути под воздействием оказываемой терапии. Данные изменения могут быть обусловлены как снижением показателя микроциркуляции исследуемых областей в целом, так и снижением метаболической активности (это подтверждается снижением доли нутритивного кровотока) биологических тканей, что может рассматриваться как одно из проявлений положительного влияния оказываемой терапии. Интересно также отметить различающуюся динамику этих изменений в верхних и нижних конечностях. Данное различие может быть объяснено выявленными в более ранних работах нарушениями распределения микроциркуляторного кровотока по нутритивным и терморегуляторным путям в стопах пациентов с СД, возникающими под разрушающим действием нейропатии на регулятивную функцию артериоло-венулярных шунтов [182].

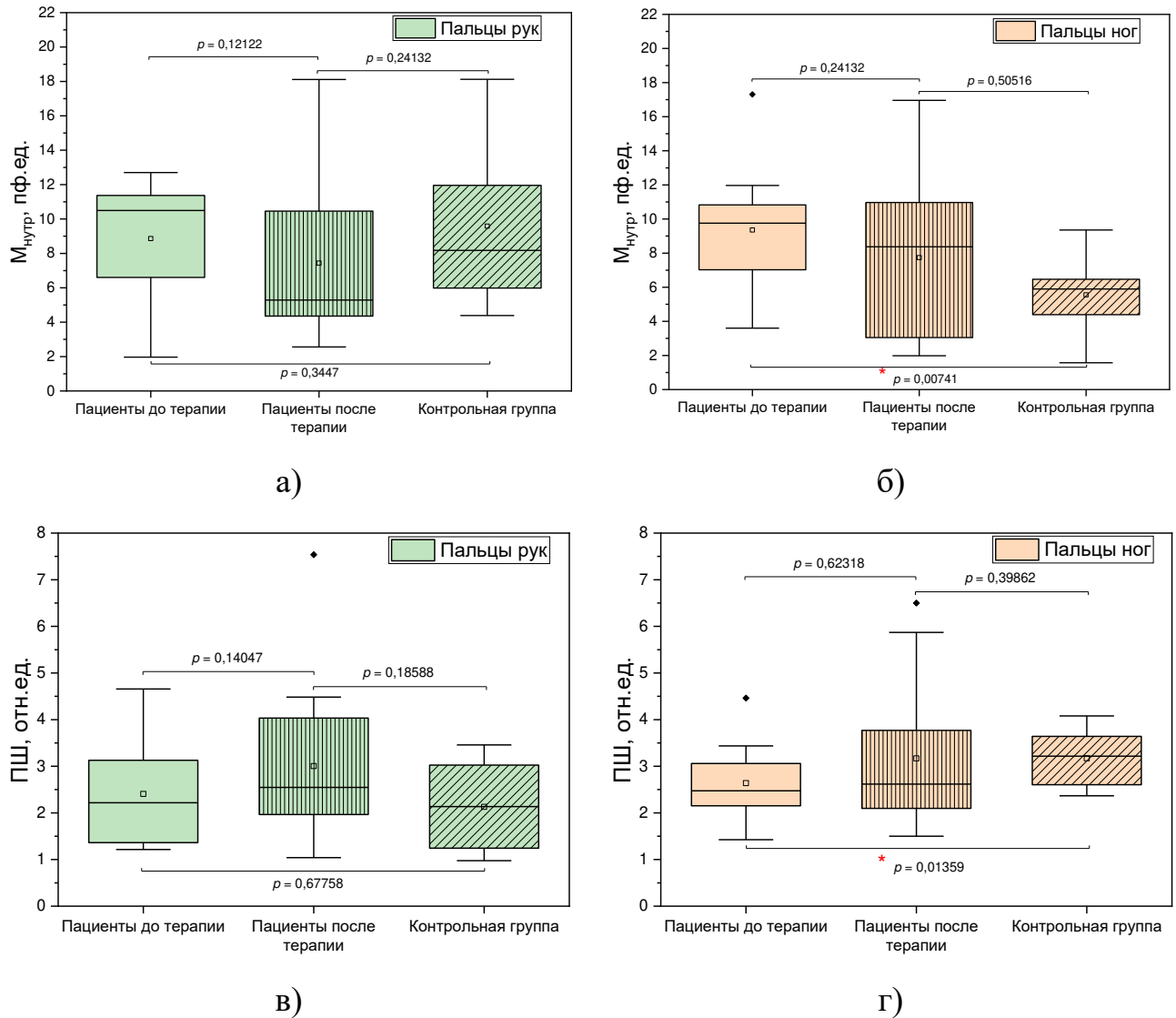


Рисунок 3.14 – Изменение параметров $M_{\text{нутр}}$ и ПШ в процессе прохождения курса терапии для верхних (а и в) и нижних (б и г) конечностей: * – статистическая значимость различий подтверждена по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

Важно также отметить различающуюся динамику изменений нормированных колебаний активного диапазона в верхних и нижних конечностях пациентов (таблица 3.5). Разнонаправленные изменения колебательных компонент сигнала ЛДФ в верхних и нижних конечностях могут быть также отнесены к указанному выше нарушению в распределении кровотока по нутритивным и шунтовым путям, развивающемуся у пациентов с СД именно в нижних конечностях, так как они в большей степени подвержены влиянию стрессовых факторов. Уменьшение же амплитуд колебаний в стопах пациентов в процессе терапии является признаком положительного влияния АЛК на состояние

периферического кровотока, так как свидетельствует о росте колебательного компонента тонуса микрососудов, что в условиях длительно текущего СД снижает приток крови в микрососуды и таким образом уменьшает риски развития отёка и воспаления тканей.

При сравнении параметров колебаний кровотока пациентов и контрольной группы (рисунок 3.15) выявлено сниженное значение амплитуд миогенных колебаний в нижних конечностях пациентов в момент их поступления на стационарное лечение. Данный результат также подтверждает высказанную ранее гипотезу о положительном влиянии оказываемой терапии на снижение метаболической активности биологических тканей пациентов в исследуемой области, так как он свидетельствует о повышении тонуса прекапиллярных сфинктеров кожи стопы, их защите от повышенного притока крови в капилляры, что в свою очередь способствует уменьшению отёка, воспаления и возможностей развития диабетической стопы.

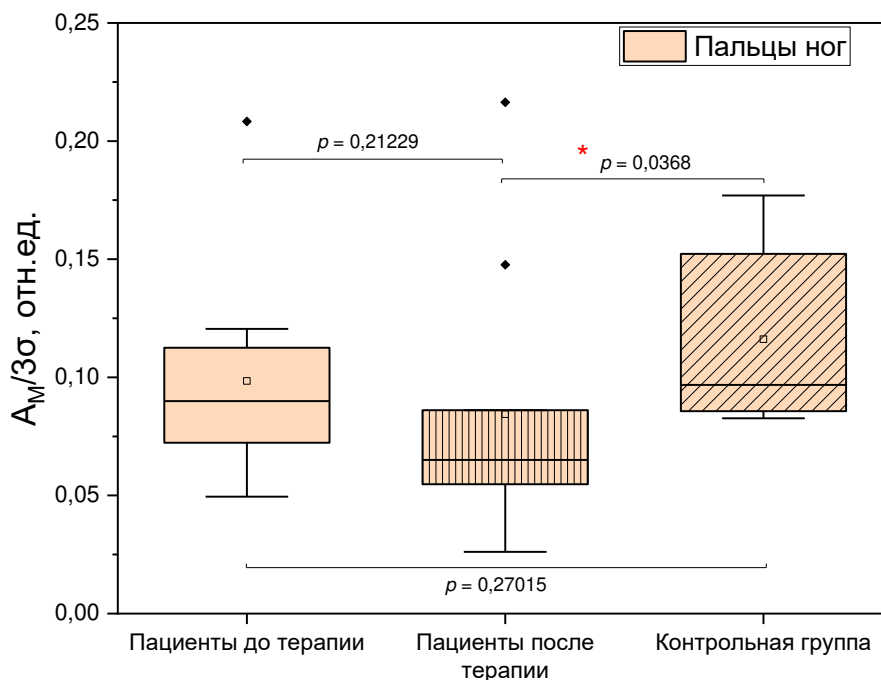


Рисунок 3.15 – Изменение параметра $A_M/3\sigma$ в процессе прохождения курса терапии для нижних конечностей

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

Отдельные исследования показывали значительное улучшение симптомов нейропатии после 8-недельного курса терапии с применением в качестве лечашего агента АЛК [183]. Стоит также принимать во внимание, что лечение с помощью АЛК имеет кумулятивный эффект и может не проявляться в параметрах МЦК в течение первой недели. В медицинской практике смешанные курсы с употреблением АЛК в виде таблеток в течение нескольких недель после курса внутривенной инфузии более распространены и показывают лучшие результаты [176].

3.5 Исследования расстройств периферического кровотока при постковидном синдроме

Несмотря на широкое распространение COVID-19 и частоту развивающихся при нём сердечно-сосудистых осложнений, а также доказанное обширное вовлечение периферического кровотока в происходящие патологические процессы, до настоящего времени было проведено очень малое количество исследований, посвященных неинвазивной оценке состояния системы микроциркуляции крови после перенесённого COVID-19 [184–186].

В клинике COVID-19 к настоящему времени основное внимание при проведении исследований с использованием ЛДФ уделялось изучению динамических характеристик кровотока в основном при применении функциональных (нагрузочных) проб. С помощью ЛДФ было показано, что во время острой фазы COVID-19 пациенты демонстрируют сниженный вазодилататорный ответ на локальное нагревание и сниженную микрососудистую реактивность [187]. Также были проанализированы корреляции между параметрами МЦК, измеренными с помощью ЛДФ, и результатами лабораторных тестов пациентов в острый период заболевания [188]. Другое исследование с использованием технологии ЛСКВ продемонстрировало снижение вазодилатации у пациентов с COVID-19 в ответ на ацетилхолин и нитропруссид натрия, которое сохраняется в течение как минимум 3 месяцев после заболевания [189].

При этом спектральному анализу записей ЛДФ-грамм у пациентов, перенёвших COVID-19, уделено несправедливо мало внимания. Поскольку ранее в данной работе было продемонстрировано, что такой анализ даёт ценную диагностическую информацию о состоянии систем, регулирующих кровоток, данный этап диссертационного исследования был направлен на восполнение пробелов в этой области.

Целью данного этапа явилось провести экспериментальные исследования и изучить изменения в периферическом кровотоке, происходящие как в остром периоде заболевания COVID-19, так и в долгосрочной перспективе во время реабилитационных процедур.

Задачами этапа явилось:

1) Обосновать возможность применения портативных лазерных доплеровских флоуметров для анализа изменений периферического кровотока у пациентов в коже с различными анатомическими особенностями.

2) Проанализировать изменения параметров периферического кровотока в первые дни после выздоровления от COVID-19 по сравнению с параметрами до болезни.

3) Оценить отличия в функционировании периферического кровотока у пациентов, проходящих реабилитацию после перенесённого COVID-19, и условно здоровых добровольцев.

В настоящей работе на первом этапе проводилась динамическая оценка процессов, происходящих в периферическом кровотоке в острый период коронавирусной инфекции. Во время рутинных ежедневных измерений ЛДФ у 16-летнего пациента была выявлена инфекция SARS-CoV-2 (подтвержденная PCR анализом мазков из носоглотки). Следует отметить, что у пациента было сопутствующее заболевание, СД 1 типа (длительность болезни 8 лет), он не был вакцинирован против COVID-19 до исследования и не имел предыдущего опыта COVID-19. Измерения проводились в положении лёжа, каждое длилось 10 мин. Для оценки влияния COVID-19 на состояние периферического кровотока применялись портативные лазерные доплеровские флоуметры «ЛАЗМА-ПФ».

Для регистрации ЛДФ-сигналов приборы крепились на волярной поверхности дистальной фаланги третьих пальцев рук и больших пальцев ног, а также на дорсальной поверхности запястий и внутренней части верхней трети голеней. Расположение портативных устройств на теле пациента во время исследования показано на рисунке 3.4. Измерения проводились за 10 дней до начала заболевания и в течение 26 дней после выздоровления. Во время острой фазы заболевания (7 дней) измерения не проводились из-за плохого самочувствия пациента. Всего за весь период исследования у данного пациента было измерено и обработано более 170 ЛДФ-грамм.

Второй этап исследования включал сравнение параметров периферического кровотока, измеренных с помощью ЛДФ, в группе пациентов, проходящих реабилитационные процедуры после перенесённого COVID-19, и в группе условно здоровых добровольцев без предшествующей истории коронавирусной инфекции. Основная группа (ОГ) состояла из 23 человек, которые проходили реабилитацию в частном лечебно-профилактическом учреждении «Санаторий «Хилово» (Псковская область) после перенесённой острой коронавирусной инфекции. У 3-х из них течение инфекции COVID-19 было тяжёлым. Средний возраст основной группы составил 58 ± 9 лет. Контрольная группа (КГ) включала 13 условно здоровых добровольцев (средний возраст 53 ± 8 лет), которые были измерены в 2019 году до распространения пандемии, что позволяет предположить, что добровольцы из контрольной группы никогда не сталкивались с COVID-19. Добровольцы с любой историей сердечно-сосудистых или других серьёзных хронических заболеваний, влияющих на систему кровообращения, были исключены из исследования. Исследование проводилось с испытуемым в положении лёжа в расслабленном состоянии и состояло из 10 мин измерения тканевой перфузии с помощью портативного устройства ЛДФ «ЛАЗМА-ПФ». Приборы крепились на дорсальной поверхности предплечий в точке на 2 см выше шиловидного отростка и на внутренней стороне верхней трети голеней (см. рисунок 3.4в и 3.4г), так как эти точки оказались наиболее информативными на

предыдущем этапе исследования. Протокол исследования схематично отображён на рисунке 3.16.

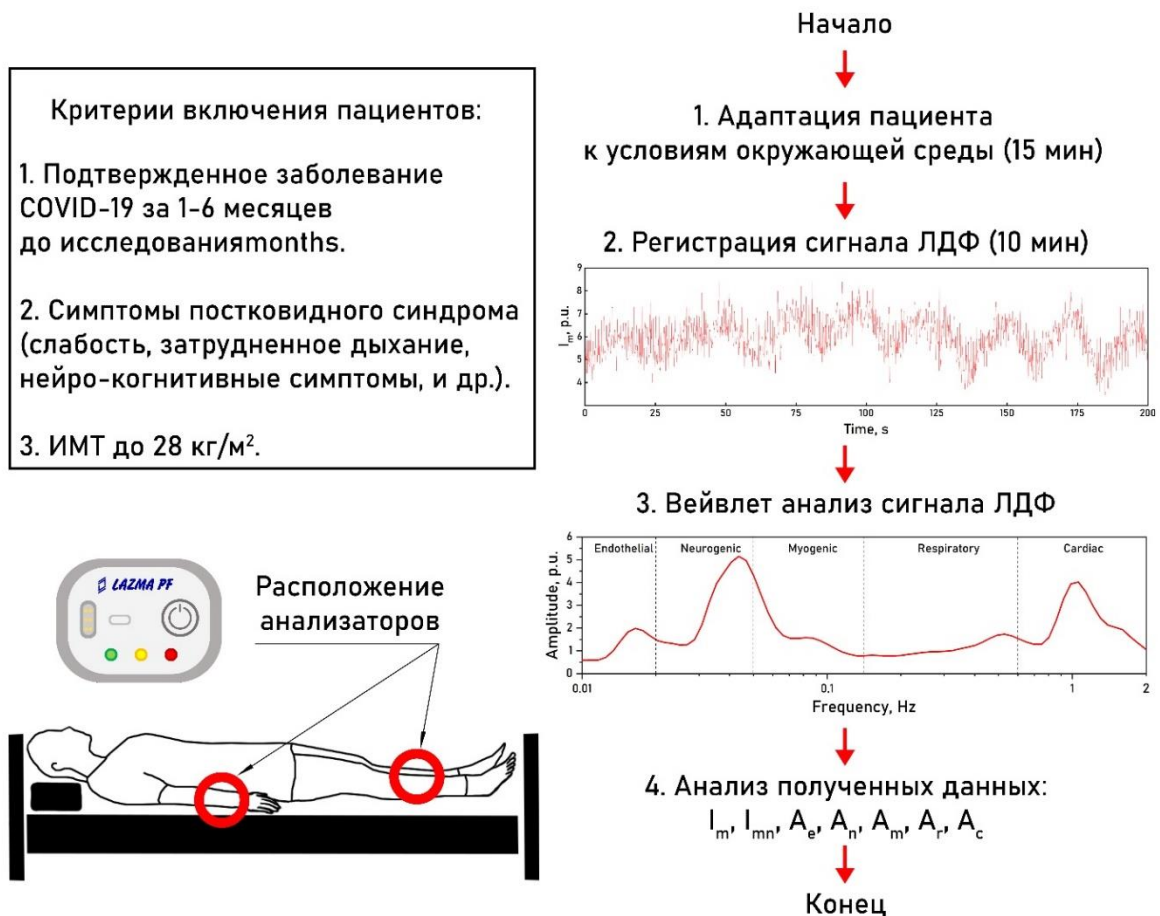


Рисунок 3.16 – Схема протокола 2-ого этапа экспериментальных исследований периферического кровотока при постковидном синдроме

В настоящем исследовании анализируемыми параметрами являлись величина показателя микроциркуляции и амплитуды колебаний кровотока, соответствующие различным механизмам регуляции микроциркуляторного кровотока.

Кроме того, рассчитывались параметры нутритивного и шунтового кровотока ($M_{\text{нутр}}$, пф. ед.; $M_{\text{шунт}}$, пф. ед.), оцениваемые по известному алгоритму, рассмотренному ранее. Использование этих параметров позволяет оценить распределение кровотока по капиллярным и шунтирующим сосудам.

Статистический анализ данных проводился в программе Origin Pro 2021. В связи с ограниченным объёмом выборки для проверки статистической значимости

различий использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Значения $p < 0,05$ считались значимыми.

Первый этап исследования показал, что COVID-19 приводит к изменениям в механизмах регуляции периферического кровотока, которые могут быть обнаружены путём оценки спектральных характеристик ЛДФ-сигнала [190,191]. Результаты исследований представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Результаты 1-ого этапа исследований

	Предплечья		Голени		Пальцы рук		Пальцы ног	
	до	после	до	после	до	после	до	после
ПМ, пф.ед.	4,85±0,71	4,92±0,61	8,60±1,29	8,25±1,61	21,83±1,22	21,41±1,88	19,43±3,92	17,48±2,78
M _{нутр} , пф.ед.	1,99±0,44	1,78±0,33	3,10±0,78	3,14±0,78	9,56±1,64	8,70±1,69	9,15±2,99	9,71±1,78
M _{шунт} , пф.ед.	2,86±0,35	3,13±0,40	5,50±0,87	5,12±0,91	12,27±0,93	12,71±0,82	10,27±2,70	7,77±3,16
A _э , пф.ед.	0,15±0,04	0,22±0,10	0,22±0,06	0,28±0,12	0,56±0,37	0,58±0,26	0,75±0,37	0,90±0,26
A _н , пф.ед.	0,20±0,03	0,24±0,11	0,24±0,07	0,26±0,08	0,61±0,36	0,64±0,32	0,81±0,44	1,03±0,38
A _м , пф.ед.	0,26±0,03	0,21±0,04*	0,25±0,05	0,24±0,05	0,59±0,22	0,51±0,09	0,90±0,31	1,18±0,41
A _д , пф.ед.	0,27±0,01	0,24±0,04	0,32±0,01	0,28±0,04*	0,45±0,03	0,42±0,03	0,44±0,08	0,43±0,05
A _с , пф.ед.	0,42±0,03	0,39±0,06	0,49±0,05	0,42±0,05*	0,77±0,17	0,69±0,16	1,10±0,11	0,98±0,16

* – Статистически значимые различия подтверждены тестом Манна-Уитни ($p < 0,05$)

В пальцах рук и ног на данном этапе исследований не наблюдалось значительных изменений, хотя наблюдалась общая тенденция к снижению микроциркуляции после болезни, а также величины нутритивного кровотока в верхних конечностях. Наблюдаемые изменения значений ПМ, нутритивного и шунтового кровотока могут свидетельствовать об уменьшении интенсивности

питания биологических тканей в исследуемых зонах. На рисунке 3.17 приведены графики изменения показателя микроциркуляции крови, а также значений амплитуд колебаний кровотока дыхательного и сердечного диапазонов для стадий до и после болезни, измеренные во всех областях исследования.

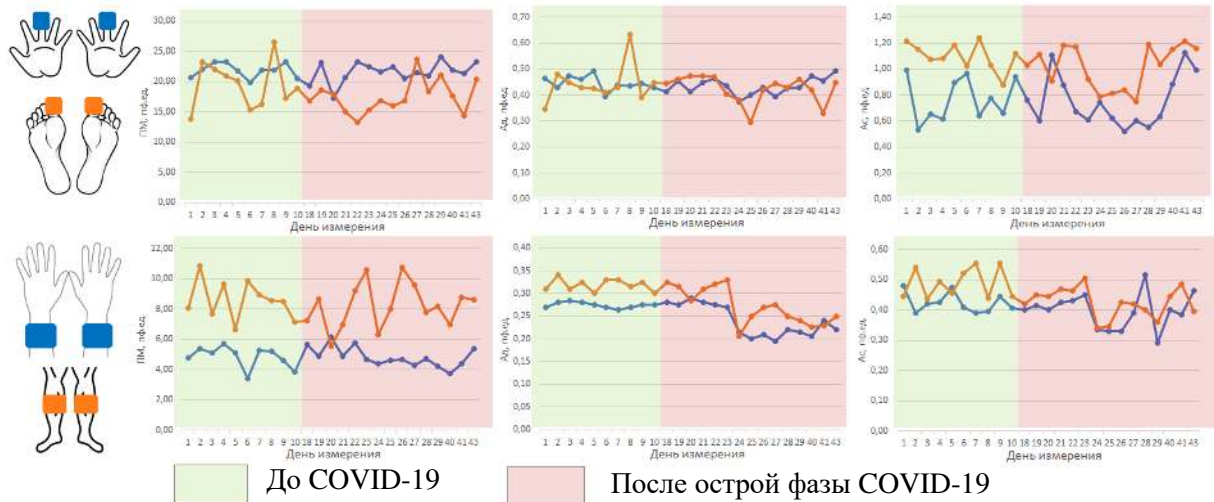


Рисунок 3.17 – Изменение параметров периферического кровотока в динамике

Статистически значимое снижение амплитуды миогенных колебаний было обнаружено на руках после перенесённого заболевания. В ногах наблюдалось значительное снижение амплитуд дыхательных и сердечных колебаний. Подобные изменения прослеживаются и в верхних конечностях, но там они не достигают статистически значимого уровня. Зафиксировано возрастание показателей нутритивного кровотока в ногах и его снижение в руках, что может свидетельствовать о попытках организма направить все свои силы на снабжение клеток нижних конечностей кислородом и питательными веществами. На данном этапе исследования наблюдается обратная нутритивному реакция шунтового кровотока, то есть в ногах происходит перераспределение крови в капиллярную часть русла.

Амплитуды эндотелиальных колебаний возросли во всех зонах измерения, что может свидетельствовать о повышенном притоке артериальной крови в микроциркуляторное русло. Наблюдается тенденция на увеличение и нейрогенных осцилляций, что является индикатором снижения тонуса сосудов и возможного

усиления кровотока. Обнаружено статистически значимое снижение амплитуд миогенных колебаний в предплечьях, при этом происходит их незначительное снижение в пальцах рук и возрастание в голенях, что обусловлено состоянием мышечного тонуса прекапилляров, регулирующих приток крови в нутритивное русло. Дыхательные осцилляции постепенно снизились во всех зонах измерения, в голенях выявлены статистически значимые различия. Амплитуды сердечных колебаний начинают снижаться после окончания острой фазы заболевания, что может свидетельствовать о начале адаптации организма к возникшим нарушениям.

Результаты 2-ого этапа экспериментальных исследований также были проанализированы [192] и представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Результаты второго этапа исследований

Параметр	Предплечья		Голеня	
	КГ	ОГ	КГ	ОГ
ПМ, пф.ед.	6,70±2,13	5,60±2,13	8,08±2,19	6,33±1,31*
М _{нутр} , пф.ед.	1,51±0,58	1,15±0,48*	1,93±0,99	1,28±0,48*
М _{шунт} , пф.ед.	5,19±1,60	4,45±1,73	6,16±1,38	5,05±1,08*
А _э , пф.ед.	0,20±0,11	0,27±0,11	0,20±0,07	0,30±0,20
А _н , пф.ед.	0,19±0,07	0,28±0,12*	0,24±0,08	0,32±0,18
А _м , пф.ед.	0,19±0,05	0,28±0,14	0,27±0,13	0,27±0,12
А _д , пф.ед.	0,20±0,03	0,28±0,10*	0,24±0,04	0,23±0,06
А _с , пф.ед.	0,26±0,04	0,45±0,13*	0,39±0,06	0,54±0,31

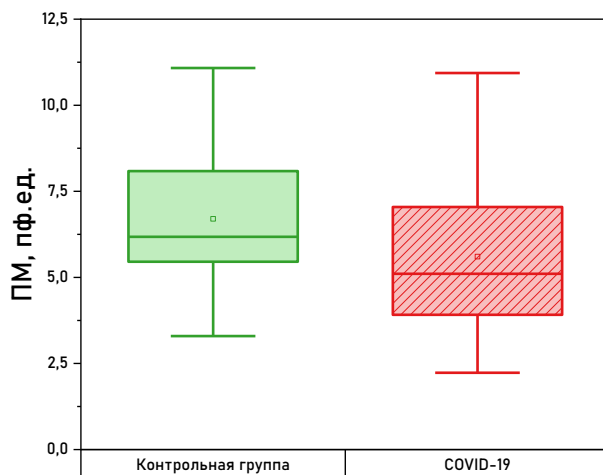
* – статистически значимые различия подтверждены тестом Манна-Уитни ($p < 0,05$)

Как в верхних, так и в нижних конечностях отмечаются значительно более низкие значения показателя микроциркуляции крови и нутритивного кровотока. Также наблюдаются статистически значимые различия между вкладками нутритивного и шунтового кровотока в общую перфузию крови у условно здоровых и переболевших испытуемых: полученные реакции взаимнообратны –

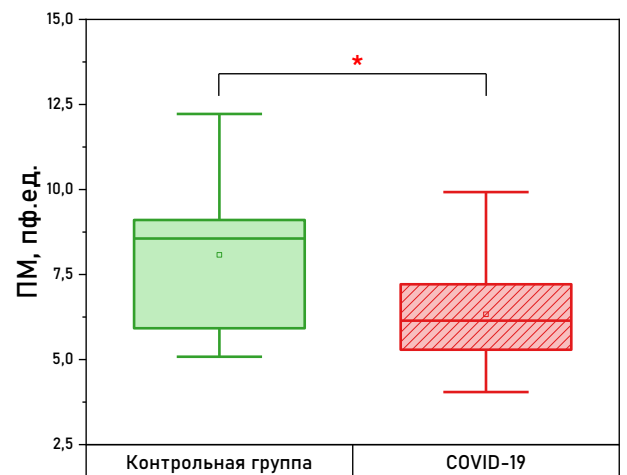
вклад нутритивного кровотока уменьшился после болезни, а вклад шунтового увеличился. Диаграммы размаха для этих параметров показаны на рисунке 3.18.

Поскольку показатель микроциркуляции является комплексным параметром, характеризующим как скорость, так и концентрацию эритроцитов в зондируемых сосудах, полученный результат можно объяснить замедлением периферического кровотока, а также разрежением капиллярной сети, что уже отмечалось рядом других авторов по данным видеокапилляроскопии ногтевого ложа [185,186].

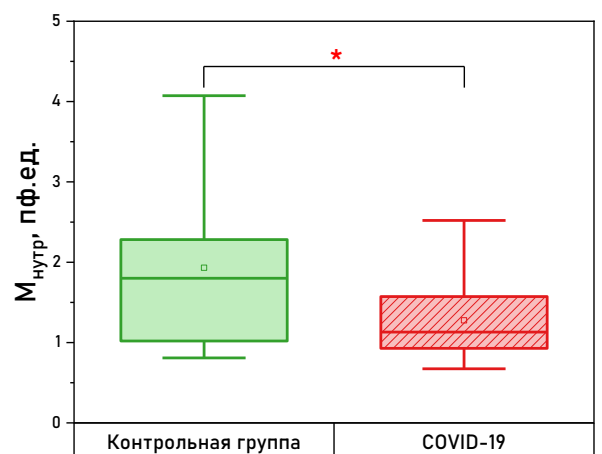
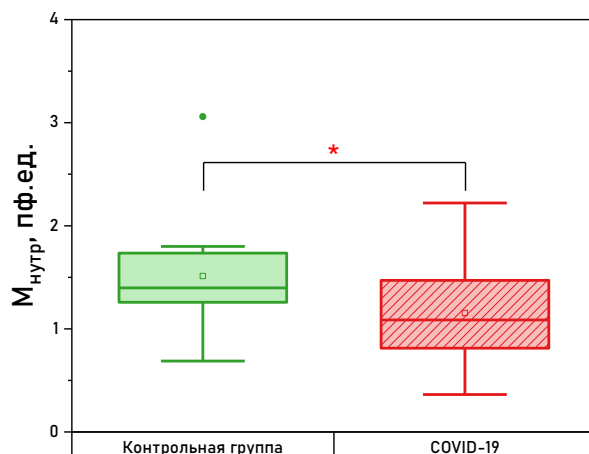
Увеличение общей колебательной активности кровотока также было отмечено как в верхних, так и в нижних конечностях со статистически значимыми различиями в нейрогенном, дыхательном и сердечном диапазонах в запястьях. Диаграммы размаха для дыхательных и сердечных колебаний, измеренных в запястьях, показаны на рисунке 3.19.



а)



б)



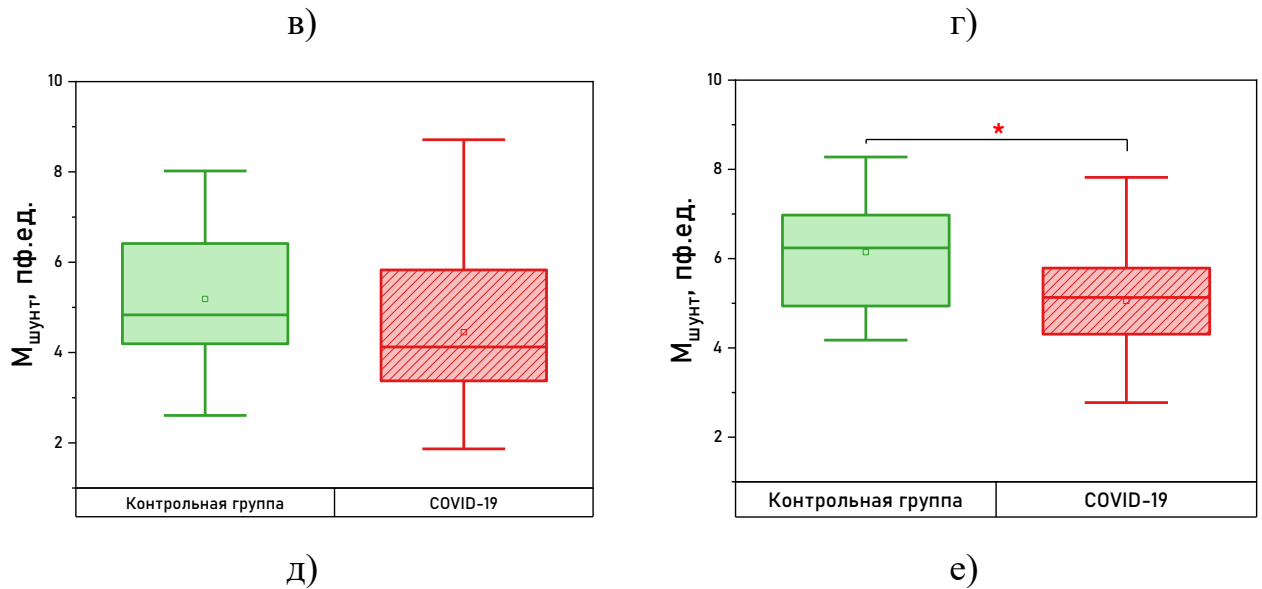


Рисунок 3.18 – Диаграммы размаха ПМ (а, б), нутритивного (в, г) и шунтового (д, е) кровотока для контрольной группы и группы пациентов, перенёсших COVID-19, измеренные в запястьях (а, в, д) и голенях (б, г, е)

* – статистически значимые различия подтверждены тестом Манна-Уитни ($p < 0,05$)

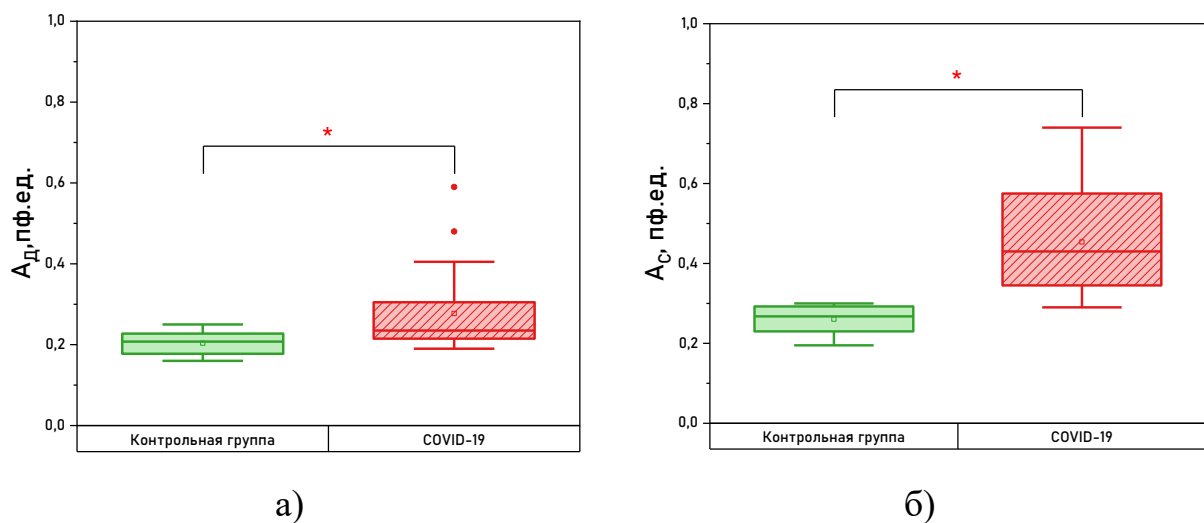


Рисунок 3.19 – Диаграммы размаха амплитуд колебаний дыхательного (а) и сердечного (б) диапазонов, измеренные в запястьях

* – статистически значимые различия подтверждены тестом Манна-Уитни ($p < 0,05$)

Повышенные значения сердечных колебаний у пациентов свидетельствуют об усиленном артериальном притоке в микроциркуляторное русло, что может служить механизмом компенсации сниженной тканевой перфузии. Кроме того,

известно, что для пациентов с COVID-19 характерно значительное расширение кровеносных сосудов [193].

Повышенные значения амплитуды дыхательных колебаний в группе пациентов могут быть связаны с наличием органических поражений вен в результате осложнений COVID-19, включая воспалительные реакции, которые приводят к расширению венозных сосудов [193].

Кроме того, интерес вызывает изменение амплитуды нейрогенных колебаний у пациентов после перенесённого COVID-19. Данное нарушение является, по всей видимости, доминирующим в системе микроциркуляции крови. Такое увеличение амплитуды нейрогенных вазомоций указывает на снижение нейрогенного тонуса.

Снижение нейрогенного тонуса приводит к расширению артериол [193,194] и, соответственно, достоверно увеличивается амплитуда пульсовых колебаний. На фоне снижения нейрогенного тонуса расширяются и артериоло-венулярные анастомозы кожи, величина просвета которых регулируется исключительно нейрогенными механизмами. Расширение АВА приводит к артериоло-венулярному шунтированию крови в обход капиллярного русла, что объясняет достоверное снижение ПМ, снижение количества функционирующих капилляров [185,186] и переполнение венулярного звена из-за сброса артериальной крови, что, в свою очередь, приводит к расширению венул [193,194] и достоверному увеличению амплитуды респираторно обусловленных колебаний кровотока.

Таким образом, проведённые экспериментальные исследования расстройств периферического кровотока при постковидном синдроме продемонстрировали значительные изменения в механизмах регуляции периферического кровотока после перенесённой инфекции. Полученные данные показывают, что методы ОНД и их портативная реализация имеют потенциал для дальнейшего применения в исследованиях расстройств периферического кровотока при широком спектре заболеваний.

3.6 Выводы по главе 3

1) Проведены предварительные экспериментальные исследования по оценке возможностей портативных устройств ЛДФ в диагностике возрастных изменений периферического кровотока с участием 36 условно здоровых добровольцев разных возрастных групп, показавшие высокую чувствительность портативных устройств ЛДФ к выявлению изменений в системе микроциркуляции крови, происходящих при старении, в том числе показано увеличение показателя микроциркуляции и уменьшение регуляторной активности кровотока.

2) Предложен протокол проведения исследований расстройств периферического кровотока у пациентов с СД 2 типа, предполагающий одновременное измерение значения показателя микроциркуляции крови при помощи портативных устройств ЛДФ в 4-х точках кожи тела – симметрично справа и слева в верхних и нижних конечностях в течение 10 мин без оказания на систему МЦК испытуемого какой-либо функциональной нагрузки (то есть при регистрации базального кровотока).

3) Согласно разработанному протоколу проведены экспериментальные исследования с участием контрольной группы условно здоровых добровольцев (31 человек) и пациентов с СД 2 типа (26 человек). По результатам проведённых экспериментальных исследований области плантарной поверхности первых пальцев ног и дорсальной поверхности запястий были выбраны в качестве зон интереса, так как эти области представляют разные механизмы регуляции микроциркуляторного кровотока и демонстрируют наибольшие различия в данных основной и контрольной группы.

4) Выявлены статистически значимые различия в измеренных и рассчитанных комплексных параметрах периферического кровотока в исследуемых группах. У пациентов с СД отмечено снижение значений показателя микроциркуляции и нутритивного кровотока в области нижних конечностей и повышенные значения этих параметров в верхних конечностях по сравнению с контрольной группой. Принято решение использовать эти параметры в качестве

диагностических критериев для дальнейшей разработки метода диагностики расстройств периферического кровотока при СД 2 типа.

5) Исследованы возможности применения портативных устройств ЛДФ в оценке эффективности терапии осложнений СД, продемонстрировавшее информативность использования устройств в оценке эффективности лечения расстройств периферического кровотока, возникающих при СД.

6) На основе разработанного ранее протокола проведено пилотное исследование расстройств периферического кровотока у пациентов, проходящих реабилитацию после перенесённого COVID-19, показавшее значимые различия в параметрах периферического кровотока у здоровых людей и пациентов, перенёвших COVID-19.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МЕТОДА И БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВОТОКА

4.1 Построение модели классификации с применением линейного дискриминантного анализа

В качестве основы для разработки метода диагностики расстройств периферического кровотока в настоящей работе были выбраны данные, полученные при исследовании группы пациентов с СД 2 типа. Предложенный в данной главе диссертационной работы подход к разработке метода диагностики расстройств периферического кровотока может быть применён и для других заболеваний, характеризующихся вовлечённостью системы МЦК в патофизиологический процесс, с коррекцией областей исследования и анализируемых параметров, наиболее точно отображающих изменения микроциркуляции крови, характерные для каждого отдельного заболевания.

Для интерпретации различий между рассматриваемыми группами, а также для классификации новых объектов при проведении исследований состояния микроциркуляторного русла и диагностике расстройств периферического кровотока, было принято решение провести моделирование с целью определения дискриминантной функции, которая позволила бы максимально разделить рассматриваемые группы с минимальной вероятностью ошибки. Уровень ошибки 1-ого рода, установленный на основе экспертного анализа с привлечением ведущих врачей-специалистов в данной области, должен быть менее 0,2.

Для построения модели классификации и выявления признаков, наилучшим образом разделяющих объекты по наличию и отсутствию расстройств периферического кровотока, в настоящей работе применён широко известный подход, основанный на линейном дискриминантном анализе (ЛДА) [91,195–198].

Результатом ЛДА является дискриминантная функция, которая должна обеспечивать высокую чувствительность и специфичность с допустимым уровнем ошибки 1-ого рода. Дискриминантная функция имеет следующий вид:

$$f(x) = \sum_1^n a_i x_i + c, \quad (4.1)$$

где $X = (x_1, \dots, x_n)$ – вектор значений дискриминантных переменных;

$a = (a_1, \dots, a_n)$ – вектор коэффициентов дискриминантной функции;

n – количество рассматриваемых переменных;

c – свободный член (константа).

В качестве $x_1 \dots x_n$ рассмотрим полученные количественные параметры ПМ и $M_{\text{нутр}}$ в верхних и нижних конечностях пациентов. Данные параметры, измеренные в разных частях организма человека, удовлетворяют принципам статистической независимости и значимости различий значений в исследуемых группах, которые были подтверждены на этапе обоснования принципа получения диагностической информации. В качестве областей измерения были выбраны плантарная поверхность 1-ых пальцев ног и дорсальная сторона запястий. Параметры ПМ и $M_{\text{нутр}}$ показали наибольшие различия между контрольной и основной группой именно в этих областях исследования. В качестве X_1 будем применять параметр $M_{\text{нутр}}$, в качестве X_2 – ПМ. Проверка гипотезы о законе распределения многомерной величины с применением непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова подтвердила соответствие случайного значения каждой из дискриминантных переменных внутри рассматриваемых групп нормальному закону распределения.

Исходные матрицы переменных для 1-й и 2-й групп имели вид:

$$X_1 = \begin{pmatrix} x_{1,1} & x_{2,1} \\ x_{1,2} & x_{2,2} \\ \vdots & \vdots \\ x_{1,p_1} & x_{2,p_1} \end{pmatrix}; X_2 = \begin{pmatrix} x_{1,1} & x_{2,1} \\ x_{1,2} & x_{2,2} \\ \vdots & \vdots \\ x_{1,p_2} & x_{2,p_2} \end{pmatrix}, \quad (4.2)$$

где p_1, p_2 – количество объектов в 1-й и 2-й группах, при этом $p_1 = 31, p_2 = 26$.

Коэффициенты дискриминантной функции $a_1 \dots a_n$ вычислялись по формуле:

$$A = S_*^{-1}(\overline{X}_2 - \overline{X}_1), \quad (4.3)$$

где \overline{X}_1 и \overline{X}_2 – векторы средних значений дискриминантных переменных в 1-й и 2-й группах;

S_* – совместная ковариационная матрица;

S_*^{-1} – матрица, обратная совместной ковариационной матрице.

Установлено, что переменные в группах X_1 и X_2 описываются бинормальным распределением для уровня значимости $\alpha = 0,05$ с параметрами вектора средних значений дискриминантных переменных \bar{X}_1 и \bar{X}_2 и параметрами рассеяния σ_1 , σ_2 и ρ . Для бинормального распределения матрица ковариаций вычисляется как [199]:

$$S = \begin{pmatrix} \sigma_1^2 & \rho\sigma_1\sigma_2 \\ \rho\sigma_1\sigma_2 & \sigma_2^2 \end{pmatrix}. \quad (4.3)$$

Совместная ковариационная матрица S_* при этом вычислялась как сумма ковариационных матриц для первой и второй групп.

Свободный член в (4.1), определяющий границу, которая разделяет в частном случае две рассматриваемые группы, рассчитывался по формуле:

$$c = -A \frac{1}{2} (\bar{X}_1 + \bar{X}_2). \quad (4.4)$$

Произведён расчёт вектора коэффициентов дискриминантной функции и её свободного члена для каждой из комбинаций дискриминантных коэффициентов, определён вид дискриминантной функции.

В таблице 4.1 представлены векторы средних значений дискриминантных переменных \bar{X}_1 и \bar{X}_2 и параметры рассеяния σ_1 , σ_2 и ρ для исследуемых групп.

Таблица 4.1 – Векторы средних значений дискриминантных переменных \bar{X}_1 и \bar{X}_2 , параметры рассеяния σ_1 , σ_2 и ρ для исследуемых групп

Дискриминантные переменные	Контрольная группа				Основная группа			
	\bar{X}_1	σ_1	σ_2	ρ	\bar{X}_2	σ_1	σ_2	ρ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
ПМ ноги, M _{нутр} руки	(18,04; 2,50)	6,42	0,94	0,56	(13,97; 4,61)	3,68	2,06	0,22

Продолжение таблицы 4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
$M_{\text{нутр}}$ ноги, $M_{\text{нутр}}$ руки	(8,07; 2,50)	4,00	0,94	0,54	(5,31; 4,61)	2,43	2,06	0,35
$M_{\text{нутр}}$ ноги, ПМ руки	(8,07; 6,21)	4,00	2,06	0,42	(5,31; 9,27)	2,43	1,22	0,05
ПМ ноги, ПМ руки	(18,04; 6,21)	6,42	2,06	0,50	(13,97; 9,27)	3,68	1,22	-0,02

Рассчитанные матрицы ковариаций для контрольной и основной групп и матрица, обратная совместной ковариационной матрице, полученные для комбинации дискриминантных переменных, представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Матрицы ковариаций для контрольной и основной групп и матрица, обратная совместной ковариационной матрице

Дискриминантные переменные	S_1	S_2	S_*^{-1}
ПМ ноги, $M_{\text{нутр}}$ руки	$\begin{pmatrix} 41,16 & 3,37 \\ 3,37 & 0,88 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 13,56 & 1,63 \\ 1,63 & 4,24 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0,02 & -0,02 \\ -0,02 & 0,21 \end{pmatrix}$
$M_{\text{нутр}}$ ноги, $M_{\text{нутр}}$ руки	$\begin{pmatrix} 16,02 & 2,05 \\ 2,05 & 0,88 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 5,93 & 1,74 \\ 1,74 & 4,24 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0,05 & -0,04 \\ -0,04 & 0,22 \end{pmatrix}$
$M_{\text{нутр}}$ ноги, ПМ руки	$\begin{pmatrix} 16,03 & 3,46 \\ 3,46 & 4,24 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 5,93 & 0,15 \\ 0,15 & 1,49 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0,05 & -0,03 \\ -0,03 & 0,19 \end{pmatrix}$
ПМ ноги, ПМ руки	$\begin{pmatrix} 41,16 & 6,64 \\ 6,64 & 4,24 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 13,56 & -0,08 \\ -0,08 & 1,49 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0,02 & -0,02 \\ -0,02 & 0,20 \end{pmatrix}$

В таблице 4.3 представлены рассчитанный вектор коэффициентов, свободный член, а также общий вид дискриминантной функции, полученные для комбинации дискриминантных переменных исследуемых групп.

Таблица 4.3 – Вектор коэффициентов A , свободный член c и общий вид дискриминантной функции f

Дискриминантные переменные	A	c	Общий вид дискриминантной функции
ПМ ноги, $M_{\text{нутр}} \text{ руки}$	(-0,24; 1,13)	-0,30	$f = (-0,24 \cdot \text{ПМ}) + (1,13 \cdot M_{\text{нутр}}) - 0,30$
$M_{\text{нутр}} \text{ ноги},$ $M_{\text{нутр}} \text{ руки}$	(-0,45; 1,22)	-1,55	$f = (-0,45 \cdot M_{\text{нутр}_{\text{ног}}}) + (1,22 \cdot M_{\text{нутр}_{\text{рук}}}) - 1,55$
$M_{\text{нутр}} \text{ ноги},$ ПМ руки	(-0,47; 1,3)	7,09	$f = (-0,47 \cdot M_{\text{нутр}}) + (1,3 \cdot \text{ПМ}) - 7,09$
ПМ ноги, ПМ руки	(-0,32; 1,38)	-5,72	$f = (-0,32 \cdot \text{ПМ}_{\text{ног}}) + (1,38 \cdot \text{ПМ}_{\text{рук}}) - 5,72$

Таким образом, с применением ЛДА для набора дискриминантных переменных определён общий вид дискриминантных функций, на которых будет базироваться итоговая модель классификации.

4.2 Верификация, оценка чувствительности и специфичности модели классификации

Для проведения верификации полученных дискриминантных функций был применён метод скользящего экзамена (leave-one-out), который относится к группе методов скользящего контроля [200]. При применении данного подхода исходная выборка из m объектов, где $m = p_1 + p_2$, разделялась на обучающую выборку L , состоящую из $(m - 1)$ объектов, и контрольную K из 1 объекта. С учётом изменившихся матриц ковариации и вектора средних значений дискриминантных переменных вычислялись значения вектора коэффициентов дискриминантной функции, свободного члена, формировалась модифицированная дискриминантная функция, с применением которой оценивалось, к какой из двух распределяемых групп принадлежит контрольный объект. После верификации для каждой

дискриминантной функции рассчитывались значения показателей чувствительности (Se) и специфичности (Sp):

$$Se = \frac{e}{e+g}, \quad (4.5)$$

где e – количество пациентов с СД 2 типа, у которых выявлены расстройства периферического кровотока при проведении исследования (истинно положительные); g – количество пациентов с СД 2 типа, у которых не выявлены расстройства периферического кровотока при проведении исследования (ложноотрицательные).

$$Sp = \frac{f}{h+f}, \quad (4.6)$$

где h – количество условно здоровых добровольцев, у которых выявлены расстройства периферического кровотока при проведении исследования (ложноположительные); f – количество условно здоровых добровольцев, у которых не выявлены расстройства периферического кровотока при проведении исследования (подлинно отрицательные).

Также для каждой дискриминантной функции рассчитывались ошибки 1-ого и 2-ого рода в соответствии с формулами (4.7) и (4.8):

$$FN = \frac{g}{(e+g)}, \quad (4.7)$$

$$FP = \frac{h}{(h+f)}, \quad (4.8)$$

где FN – ошибка 1-го рода (ложноотрицательный результат), FP – ошибка 2-го рода (ложноположительный результат).

С точки зрения достижения наибольшей чувствительности и специфичности в качестве наиболее приемлемой выбрана дискриминантная функция с применением в качестве дискриминантных переменных значения $M_{\text{нутр}}$ в области подушечек пальцев ног и ПМ в области дорсальной поверхности запястий. При

этом ошибка 1-го рода (ложноотрицательный результат) составляет 0,12, а 2-го рода (ложноположительный результат) – 0,1, что меньше желаемого уровня ошибки 1-ого рода (0,2), установленного в результате экспертного анализа (параграф 1.5), а также соответствует ранее полученным данным в работах по исследованию системы микроциркуляции крови с применением функциональных проб на стационарных приборах ЛДФ [63,91,105,198,201].

Таблица 4.4 – Значения чувствительности и специфичности, ошибки первого и второго рода для полученных дискриминантных функций

Параметр	ПМ ноги, M _{нутр} руки	M _{нутр} ноги, M _{нутр} руки	M _{нутр} ноги, ПМ руки	ПМ ноги, ПМ руки
Чувствительность	0,69	0,65	0,88	0,85
Специфичность	0,87	0,90	0,90	0,90
AUC	0,92	0,93	0,94	0,94
Ошибка 1-го рода	0,31	0,35	0,12	0,15
Ошибка 2-го рода	0,13	0,10	0,10	0,10

Стоит особенно подчеркнуть тот факт, что полученный в нашем исследовании приемлемый результат ошибки 1-ого рода для портативного устройства ЛДФ не требует применения функциональных нагрузочных проб и позволяет сократить длительностью процедуры диагностики расстройств периферического кровотока.

4.3 Синтез итоговой модели классификации для выявления расстройств периферического кровотока у пациентов с СД 2 типа

На основании наиболее высоких значений показателей чувствительности и специфичности (в таблице 4.4) итоговая модель классификации имеет следующий вид для случая регистрации ЛДФ-грамм в области плантарной поверхности 1-х пальцев ног и дорсальной поверхности запястий:

$$f = -0,47 \cdot M_{\text{нутр}_{\text{ног}}} + 1,30 \cdot \text{ПМ}_{\text{рук}} - 7,09. \quad (4.9)$$

На рисунке 4.1а представлены результаты проведённого ЛДА в виде графика рассеяния экспериментальных данных (ПМ и $M_{\text{нутр}}$), а также полученная дискриминантная функция, которая делит экспериментальные точки на 2 группы (здоровые добровольцы и пациенты с расстройствами периферического кровотока). На рисунке 4.1б представлена ROC-кривая ($AUC=0,94$), вычисленная для полученной дискриминантной функции.

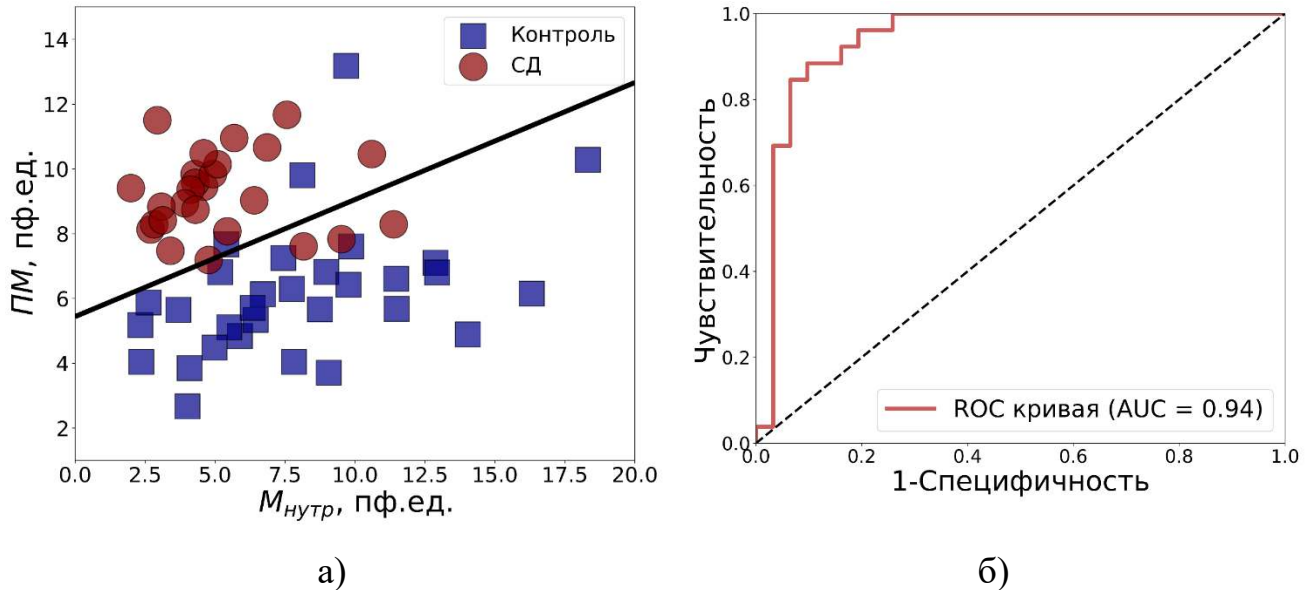


Рисунок 4.1 – Диаграмма рассеяния значений ПМ и $M_{\text{нутр}}$ с дискриминантной функцией (а), ROC-кривая, вычисленная для полученной дискриминантной функции (б)

Таким образом, если полученная экспериментальная точка лежит на плоскости ниже дискриминантной линии, то делается вывод об отсутствии расстройств периферического кровотока, при положении экспериментальной точки выше дискриминантной линии – о наличии расстройств периферического кровотока.

4.4 Метод диагностики расстройств периферического кровотока при сахарном диабете 2 типа

На основании проведённого в 1-й главе настоящей диссертационной работы обзора существующих подходов к диагностике расстройств периферического

кровотока, проведённых в 3-й главе теоретических и экспериментальных исследований расстройств периферического кровотока при различных социально-значимых заболеваниях и разработанной модели классификации, предложен метод диагностики расстройств периферического кровотока на примере пациентов с СД 2 типа.

Предложенный метод заключается в одновременном измерении сигнала тканевой перфузии при помощи портативных устройств ЛДФ в области дорсальной поверхности запястий и плантарной поверхности первых пальцев ног пациентов и в дальнейшем анализе полученных данных с выделением значений амплитуд осцилляций кровотока в нейрогенном, миогенном и сердечном частотных диапазонах, расчётом параметра нутритивного кровотока согласно формуле (4.9) и вычислением диагностического критерия (решающего правила), основанного на применении предложенной модели классификации в виде дискриминантной функции, позволяющей классифицировать вновь измеренные данные на классы с отсутствием или наличием расстройств периферического кровотока.

Схема алгоритма предложенного метода диагностики расстройств периферического кровотока с помощью портативных устройств ЛДФ представлена на рисунке 4.2.

Предлагаемый метод диагностики расстройств периферического кровотока при СД 2 типа представляет следующую последовательность действий:

- 1) Осуществляется предварительная подготовка пациента, заключающаяся в его адаптации к температурному режиму помещения в течение 15 мин, дезинфекции участков тела, подлежащих исследованию, а также поверхностей приборов, соприкасающихся с телом пациента.

- 2) Пациент располагается на кушетке в положении лёжа на спине с руками, вытянутыми вдоль туловища.

- 3) Осуществляется крепление 4-х портативных устройств ЛДФ на теле пациента: 2-х устройств на дорсальной поверхности запястий на срединной линии в точке, расположенной на 2 см выше шиловидного отростка, и 2-х устройств на плантарной поверхности 1-ых пальцев ног. Крепление портативных приборов

предлагается осуществлять при помощи медицинских самофиксирующихся бинтов, таким образом, чтобы не создавать давления на область измерения.

4) С помощью метода ЛДФ регистрируют значение ПМ в течение 10 мин без оказания какого-либо воздействия на систему МЦК (то есть без осуществления функциональных нагрузочных проб).

5) Зарегистрированные ЛДФ-граммы подвергают спектральному анализу с применением вейвлет-преобразования для выделения амплитуд осцилляций периферического кровотока в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном, дыхательном и сердечном диапазонах.

6) По зарегистрированным значениям ПМ и рассчитанным амплитудам осцилляций периферического кровотока в нейрогенном, миогенном и сердечном диапазонах производят расчёт параметра нутритивного кровотока $M_{\text{нутр}}$ для измерений в нижних конечностях.

7) Полученные значения параметров подставляют в решающее правило (модель классификации), на основании чего делают вывод о наличии или отсутствии расстройств периферического кровотока у пациента.

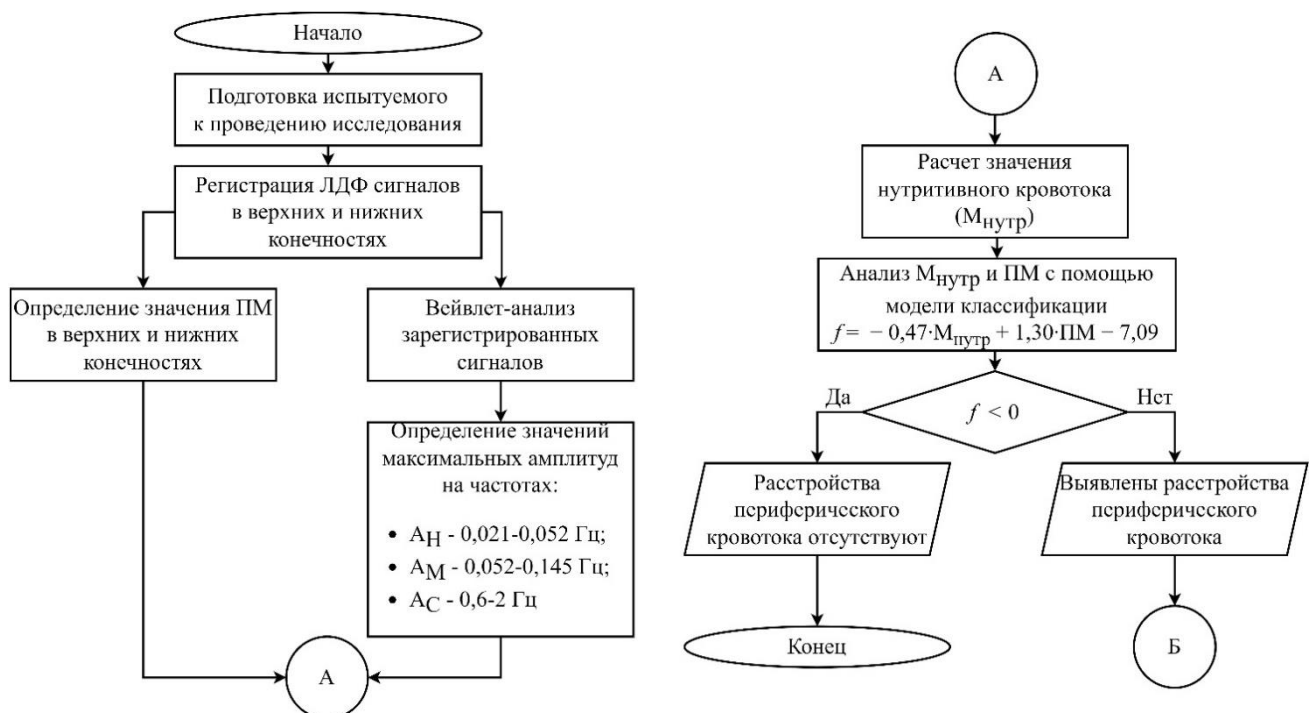


Рисунок 4.2 – Алгоритм предложенного метода диагностики расстройств периферического кровотока при СД 2 типа

На последнем этапе реализации метода в случае выявления у пациента расстройств периферического кровотока осуществляется дополнительный анализ данных, позволяющий оценить наличие физиологических нарушений в микроциркуляторном русле отдельно верхних и нижних конечностей (рисунок 4.3).

В верхних конечностях анализируется вклад эндотелиального (\mathcal{E}_M) и миогенного (M_M) ритмов в общую мощность спектра колебаний сигнала ЛДФ, полученные значения подставляют в модель классификации:

$$f_1 = -0,61 - 0,11 \cdot \mathcal{E}_M + 0,09 \cdot M_M. \quad (4.10)$$

В случае, если $f_1 > 0$, делается вывод о наличии нарушений в функционировании эндотелиального и миогенного механизмов в регуляции периферического кровотока, если $f_1 < 0$, то считается, что нарушения в функционировании эндотелиального и миогенного механизмов в регуляции периферического кровотока отсутствуют.

Дополнительно анализируется значение миогенного тонуса сосудов верхних конечностей. Миогенный тонус тесно связан с регуляцией нутритивного кровотока и его увеличение свидетельствует об активации нутритивных путей кровотока (например, за счёт задействования неактивных капилляров). Полученное значение миогенного тонуса подставляют в решающее правило:

$$f_2 = -3,85 + 1,2 \cdot MT, \quad (4.11)$$

которое позволяет вывить включение механизма компенсации за счёт активации нутритивного кровотока (в случае если $f_2 < 0$) или отсутствие этого механизма (при $f_2 > 0$).

В нижних конечностях анализируется жёсткость сосудистой стенки и функционирование эндотелиального механизма регуляции МЦК. Для анализа жёсткости сосудистой стенки рассчитывается значение нормированных амплитуд колебаний сердечного диапазона ($A_H(C)$), которые в дальнейшем анализируют с помощью модели классификации:

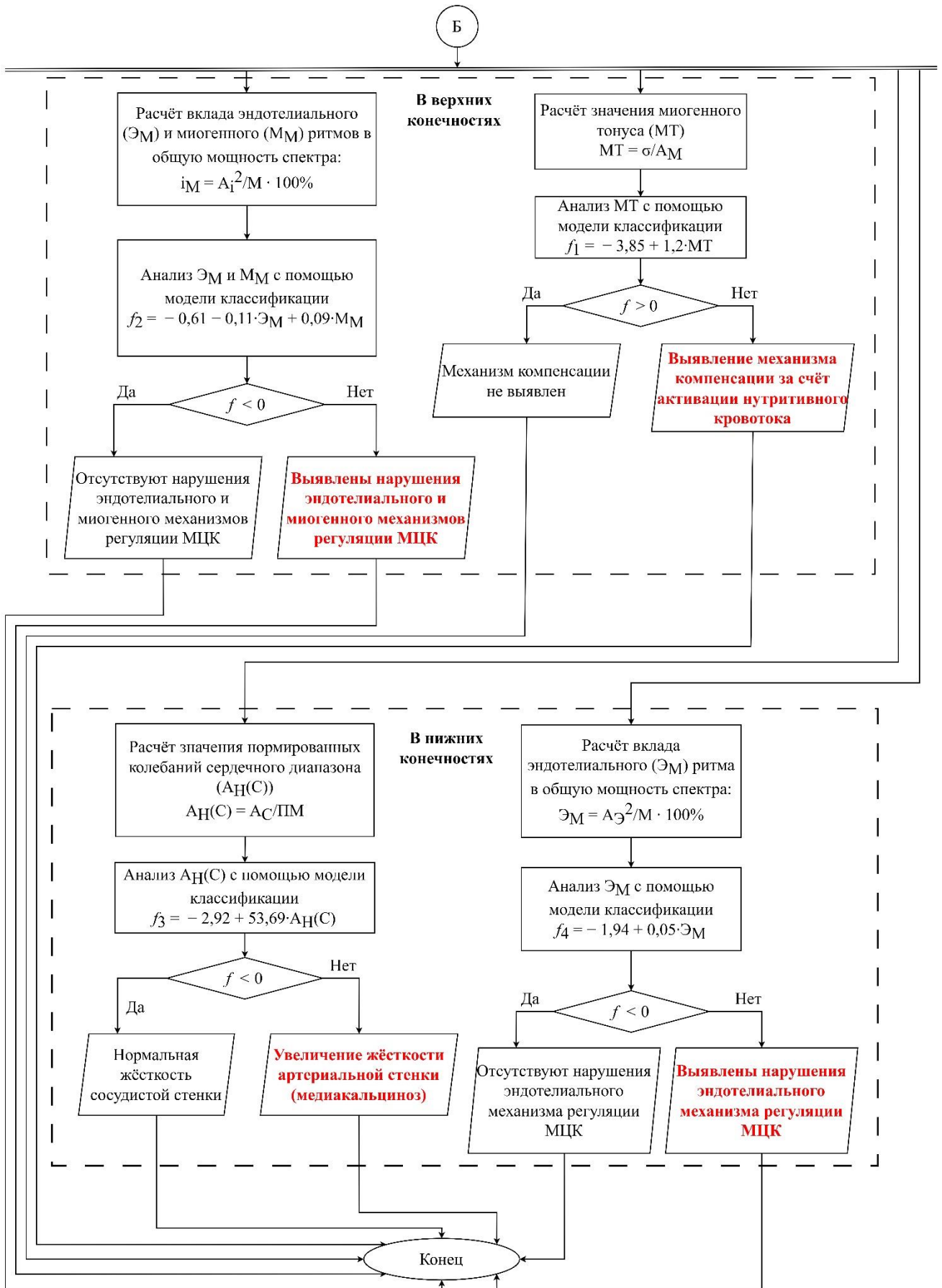


Рисунок 4.3 – Схема алгоритма анализа физиологических нарушений МЦК при СД 2 типа

$$f_3 = -2,92 + 53,69 \cdot A_H(C). \quad (4.12)$$

Если $f_3 > 0$, то делается вывод об увеличении жёсткости сосудистой стенки вследствие развития медиакальциноза, если $f_3 < 0$, то жёсткость сосудистой стенки считается нормальной.

Для оценки функционирования эндотелиального механизма регуляции периферического кровотока анализируется вклад эндотелиального (\mathcal{E}_M) ритма в общую мощность спектра колебаний перфузии, а полученное значение подставляют в модель классификации:

$$f_4 = -1,94 + 0,05 \cdot \mathcal{E}_M, \quad (4.13)$$

позволяющую выявить нарушения в функционировании эндотелиального механизма регуляции периферического кровотока (если $f_4 > 0$) или сделать вывод об отсутствии нарушений (если $f_4 < 0$).

Стоит подчеркнуть, что разработанный метод диагностики расстройств периферического кровотока для пациентов с СД 2 типа, по сути, является частным случаем более общего подхода по разработке методологии применения портативных устройств ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока при различных патологических состояниях (самых разных социально-значимых заболеваниях), включающего следующие этапы:

- обзор и анализ основных патофизиологических изменений системы МЦК при исследуемом заболевании;
- выбор наиболее информативных областей проведения исследования в зависимости от локализации нарушений;
- формирование базы данных измерений пациентов с нарушениями периферического кровотока и здоровых добровольцев;
- выбор наиболее информативных параметров для формирования диагностических критериев;
- формирование решающего правила и итоговой модели классификации.

Стоит также отметить, что предложенный метод и все основные результаты диссертационной работы прошли апробацию в эндокринологическом отделении БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл), в клинике «Медискан» (ООО «Диагностический медицинский центр», г. Орёл), в ООО НПП «ЛАЗМА» (г. Москва), являющимся производителем портативных приборов ЛДФ, а также внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева» (г. Орёл) при подготовке магистров по направлению 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии» (направленность «Фотоника и электроника в медико-биологической практике») и специалистов по направлению 31.05.01 «Лечебное дело» (направленность «Лечебное дело»).

4.5 Синтез биотехнической системы диагностики расстройств периферического кровотока

На основании разработанного метода диагностики, следуя теории синтеза биотехнических систем [197,202–205], синтезирована БТС распределённого мониторинга расстройств периферического кровотока.

В процессе разработки БТС в настоящей диссертационной работе были рассмотрены различные концепции, включающие:

- 1) подход системного анализа, при котором БТС является единым целым, включающим простые составные части и их взаимосвязанное функционирование;
- 2) подход, при котором для синтеза БТС рассматриваются конкретные проявления расстройств периферического кровотока;
- 3) мультимодальный подход, при котором БТС рассматривалась как совокупность связанных в едином контуре управления биологических (оператор, пациент, периферическое кровообращение) и технических элементов (распределённая система портативных устройств ЛДФ и метод диагностики расстройств периферического кровотока с их применением).

БТС диагностики расстройств периферического кровотока с помощью портативных устройств ЛДФ может содержать различные компоненты, основные из которых представлены на рисунке 4.4, а именно объект исследования в виде

периферического кровообращения, врача, оператора, инженера и программиста. При этом все перечисленные составляющие взаимосвязаны и объединены в единый контур.

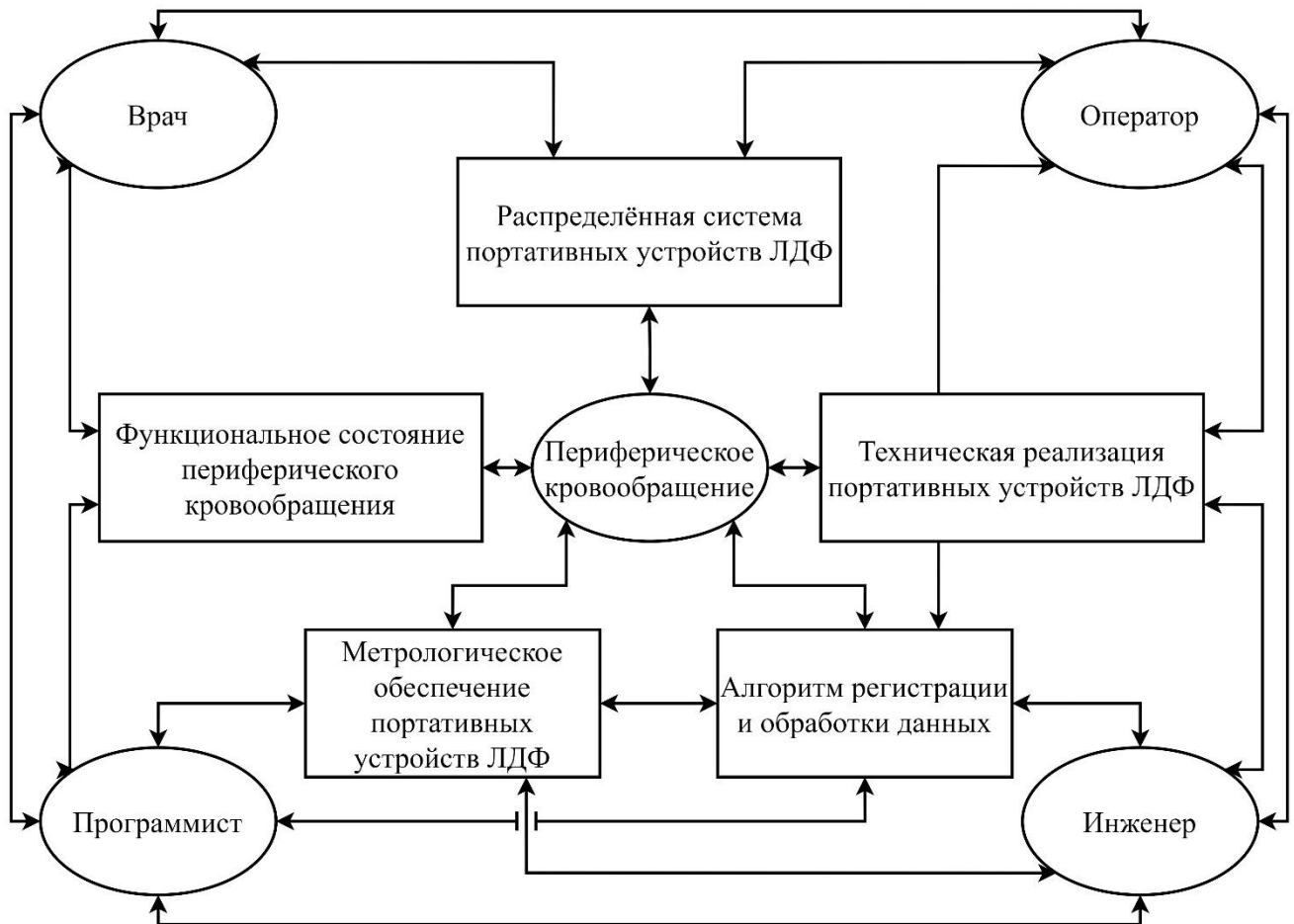


Рисунок 4.4 – Составляющие синтезируемой БТС диагностики расстройств периферического кровотока с помощью портативных устройств ЛДФ и взаимосвязи между ними

Согласно ранее разработанного метода диагностики расстройств периферического кровотока, синтезированная БТС (рисунок 4.5) включает 4 портативных устройства ЛДФ, которые закрепляются на верхних и нижних конечностях пациента, модуль приёма и передачи данных по протоколу Bluetooth или Wi-Fi и блок управления и обработки данных, реализованный на ПК.

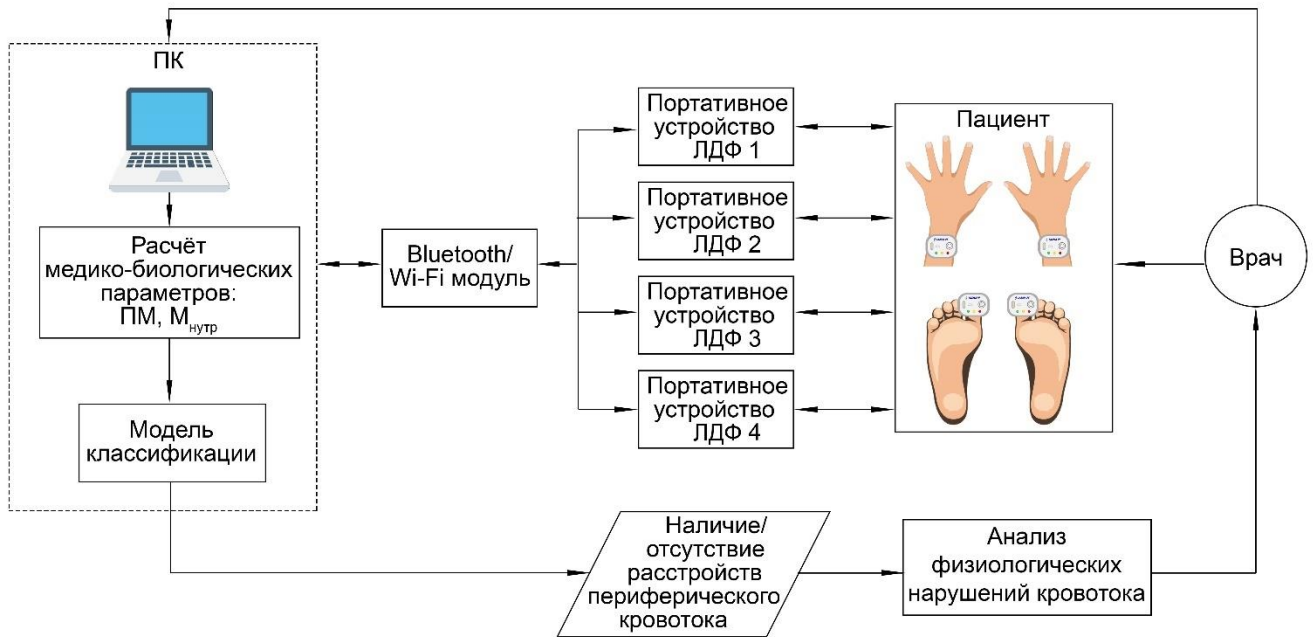


Рисунок 4.5 – БТС диагностики расстройств периферического кровотока с помощью портативных устройств ЛДФ

БТС работает следующим образом. Врач закрепляет портативные устройства ЛДФ на тыльной стороне запястий в точке, расположенной на срединной линии на 2 см выше шиловидного отростка, и плантарной поверхности первых пальцев ног пациента, после чего при помощи ПК запускает процесс диагностики. Устройства осуществляют регистрацию ЛДФ-грамм и передают регистрируемые данные на ПК посредством протокола Bluetooth или Wi-Fi через специализированный модуль. После окончания регистрации данных на ПК данные подвергаются вейвлет-анализу и производится расчёт параметров ПМ и $M_{нутр}$, а также дополнительных комплексных параметров (\mathcal{E}_P , M_P , $A_H(C)$, MT). С помощью модели классификации (f , формула 4.9) формируется вывод о наличии или отсутствии расстройств периферического кровотока, и в случае наличия расстройств – о присутствии возможных физиологических изменений в периферическом кровотоке, связанных с нарушением эндотелиальной функции, увеличением жёсткости сосудистой стенки и включением компенсаторного механизма, активирующего нутритивные пути кровотока. После окончания диагностики данные передаются врачу (лицу, принимающему решение), который выносит решение об оптимальном

терапевтическом курсе (либо его необходимой коррекции) для данного пациента или о необходимости дополнительной диагностики.

4.6 Оценка перспектив расширения функциональных возможностей портативных диагностических устройств

В качестве одного из перспективных направлений по расширению функциональных возможностей разработанного портативного устройства ЛДФ для применения в эндокринологии в ходе выполнения диссертационной работы было изучено содержание инсулина в крови мышей дикого типа и мышей с нокаутом гена α -синуклеина, а также влияние прямой оптической генерации синглетного кислорода (при помощи облучения циркулирующей крови особей светом с длиной волны 1267 нм) на содержание инсулина в крови животных [206–208]. Следует подчеркнуть, что данные исследования потенциально в перспективе позволят дополнить портативное устройство возможностью терапевтического воздействия с длиной волны 1267 нм на участки кожи пациентов, тем самым создав, по сути, портативное устройство тераностики [209,210].

Патогенез нарушений системы регуляции содержания глюкозы в крови имеет весьма сложный характер и ассоциирован с различными влияющими факторами. В настоящий момент выявлено наличие взаимосвязи между болезнью Паркинсона (БП) и сахарным диабетом [211]. По разным данным от 50% до 80% пациентов с болезнью Паркинсона имеют нарушенную толерантность к глюкозе. Вместе с тем, почти у 60% людей с БП, у которых не был диагностирован СД, наблюдается инсулинорезистентность. Также пациенты с СД обладают повышенным риском развития БП (38%) по сравнению с людьми, не страдающими этим заболеванием. Ранее было показано [211], что у пациентов с СД, у которых развивается БП, наблюдается более агрессивная форма этого заболевания. Кроме того, распространённые антидиабетические препараты показали перспективность в лечении БП и когнитивных нарушений. Патофизиология СД и БП имеют общие механизмы, которые включают митохондриальную дисфункцию, окислительный стресс, гипергликемию и воспаление. Одним из возможных объяснений данной

связи является показанное влияние α -синуклеина на секрецию инсулина островками Лангерганса [212].

Синуклеины – это семейство небольших цитоплазматических белков, в настоящее время известно, что синуклеины кодируются тремя генами – α -, β - и γ -синуклеином. Формирование нейротоксических агрегатов белков синуклеинов, вызванное различными факторами, включая мутации в генах, кодирующих эти белки, является одной из гистопатологических характеристик БП.

Альфа-синуклеин экспрессируется не только в нейронах, но и в поджелудочной железе, также он вовлечён в митохондриальный метаболизм. Известно, что мономерный α -синуклеин связывается с митохондриями и усиливает синтез аденозинтрифосфата (АТФ) [213]. Поэтому его отсутствие может приводить к уменьшению производства АТФ и снижению выработки инсулина. Помимо этого показано, что в клетках поджелудочной железы данный белок локализован с инсулин-содержащими секреторными гранулами, а также играющими ключевую роль в секреции гормона калиевыми АТФ-каналами, что объясняет регулируемую роль α -синуклеина [212]. В связи с этим мыши с нокаутом гена α -синуклеина (SNCA-KO) могут быть использованы в качестве одной из моделей нарушений, связанный с развитием СД.

В рамках проведения исследований на первом этапе у мышей брали кровь, выделяли из неё сыворотку при помощи отстаивания и центрифугирования и в дальнейшем осуществляли анализ содержания инсулина иммуноферментным методом. На рисунке 4.6 представлены полученные результаты.

Установлено, что мыши с нокаутом гена α -синуклеина характеризуются значительно повышенной секрецией инсулина по сравнению с животными дикого типа. Это может являться следствием отсутствия описанной выше физиологической регулирующей роли α -синуклеина.

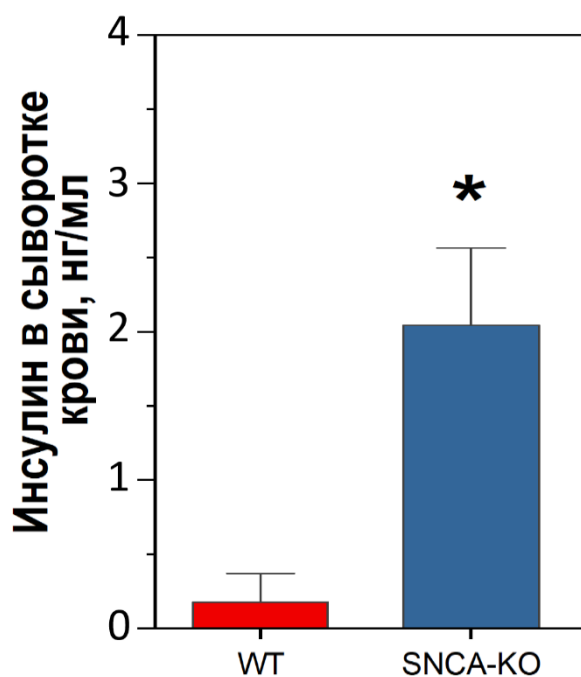


Рисунок 4.6 – Результаты иммуноферментного анализа содержания инсулина у мышей дикого типа (WT) и мышей с мутацией в гене α -синуклеина (SNCA-KO)

* – статистически значимая разница по сравнению с WT подтверждена по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

Следующим этапом выполнения исследования явилась оценка влияния облучения циркулирующей крови мышей лазером с длиной волны 1267 нм на секрецию инсулина. Для доставки оптического излучения использовалась специально разработанная установка, представленная на рисунке 4.7.

Для осуществления экспериментальных исследований были взяты 2 мыши дикого типа. Зонд лазера устанавливали на хвостовой вене животного. Облучение осуществлялось с использованием доз 50 Дж/см² и 100 Дж/см². В течение 5 мин после облучения у животных брали кровь по установленному протоколу и проводили анализ содержания инсулина иммуноферментным методом. Полученные результаты представлены на рисунке 4.8.

Установлено, что облучение лазером 1267 нм вызывает повышение продукции инсулина у мышей дикого типа как при дозе 50 Дж/см², так и 100 Дж/см². Причём, данное увеличение по всей видимости имеет дозозависимый эффект, что является предметом дополнительных исследований.

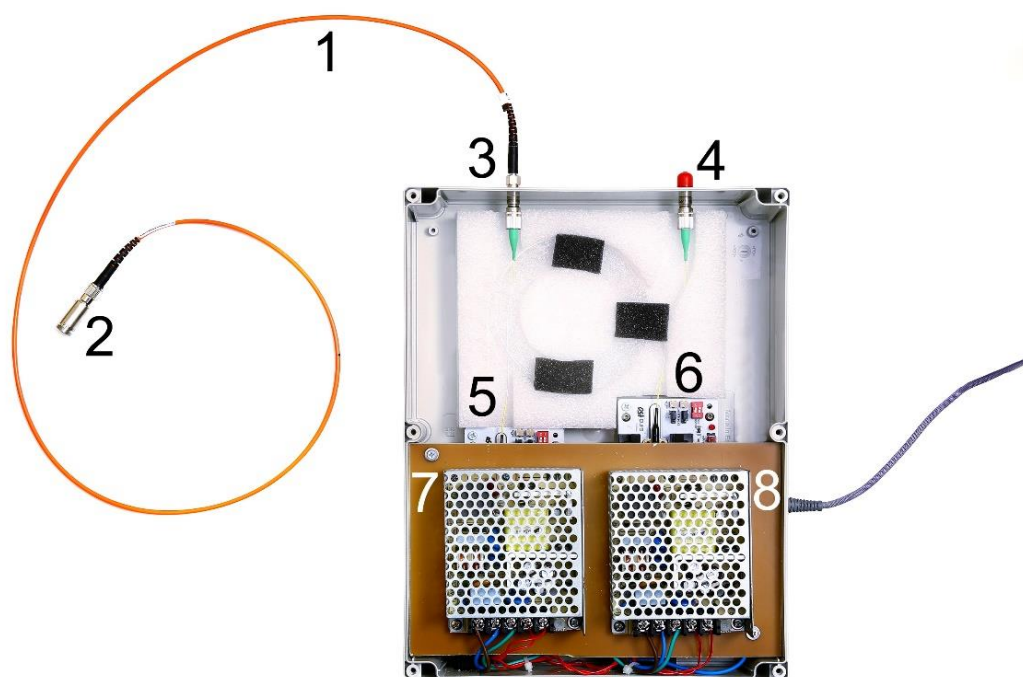


Рисунок 4.7 – Внешний вид устройства для прямой оптической генерации синглетного кислорода: 1 – оптическое волокно, 2 – коллиматор, 3,4 – оптические коннекторы, 5,6 – платы драйверов оптических излучателей с зафиксированными лазерными диодами, 7,8 – источники питания для лазерных диодов.

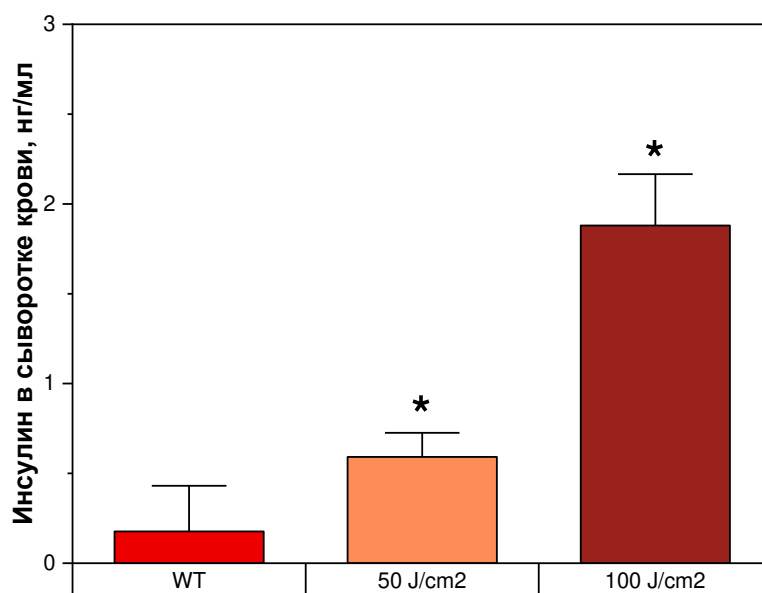


Рисунок 4.8 – Результаты иммуноферментного анализа на инсулин у мышей WT после облучения лазером с длиной волны 1267 нм

* – статистически значимая разница по сравнению с WT подтверждена по критерию МаннаУитни, $p \leq 0,05$

С учётом полученных результатов представляет интерес выяснение механизма влияния облучения лазером с длиной волны 1267 нм на функционирование секретирующих инсулин клеток поджелудочной железы мышей дикого типа и мышей SNCA-KO. На втором этапе исследования для измерений использовались островки Лангерганса животных моделей.

Методика исследования параметров метаболизма конгломератов клеток поджелудочной железы (островков Лангерганса) включала регистрацию интенсивности флуоресценции никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАД(Ф)Н) при титровании суспензии клеток глюкозой. Исследования осуществлялись с использованием широкопольного флуоресцентного микроскопа IX73P1F (Olympus Corporation, Япония) с длиной волны возбуждения 340 нм и регистрацией флуоресцентного излучения в интервале 400-475 нм.

Для всех образцов использовали одинаковый протокол с регистрацией базового уровня флуоресценции НАД(Ф)Н с последующей записью флуоресценции после добавок раствора глюкозы, обеспечивающих достижение концентрации 3,5 мМ, 8,5 мМ, 18,5 мМ и 38,5 мМ. В конце исследования к суспензии клеток добавляли 10 мкМ FCCP (митохондриальный разобщитель) и 5 мМ цианида калия, обеспечивающих, соответственно, максимальный и минимальный уровни митохондриального дыхания. Схема проведения исследования приведена на рисунке 4.9.

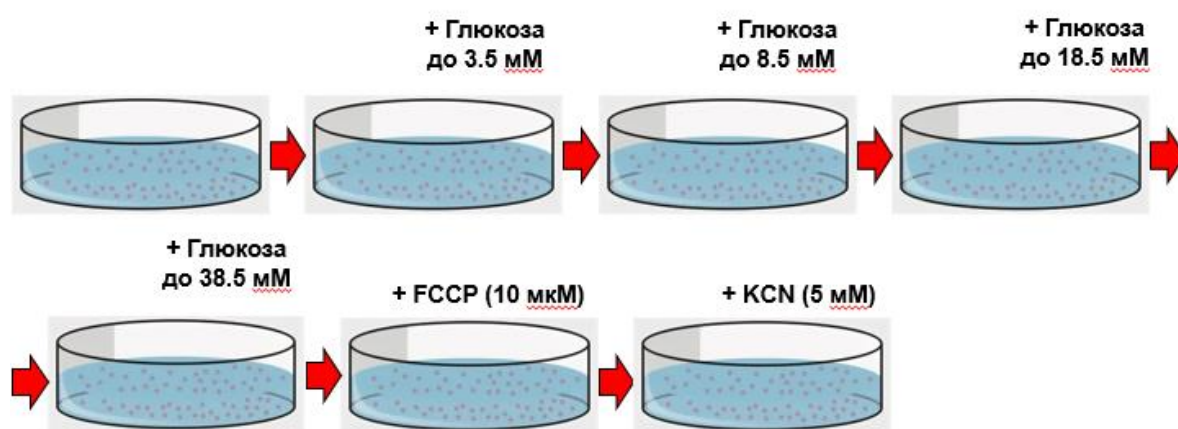


Рисунок 4.9 – Схема методики исследования параметров метаболизма клеток поджелудочной железы

На рисунке 4.10 представлены результаты изменения интенсивности флуоресценции НАД(Ф)Н островков Лангерганса при титровании суспензии глюкозой.

Наибольший ответ на добавление глюкозы отмечается в клетках мыши дикого типа. На рисунке 4.10 (а) показано, как происходит увеличение флуоресценции НАД(Ф)Н в ответ на каждую добавку глюкозы. Островки Лангерганса мышей с нокаутом гена α -синуклеина – рисунок 4.10 (б) – показывают снижение чувствительности к глюкозе, поскольку изменение флуоресценции происходит только в ответ на высокие концентрации глюкозы (3 и 4 добавки до 18,5 мМ и 38,5 мМ, соответственно).

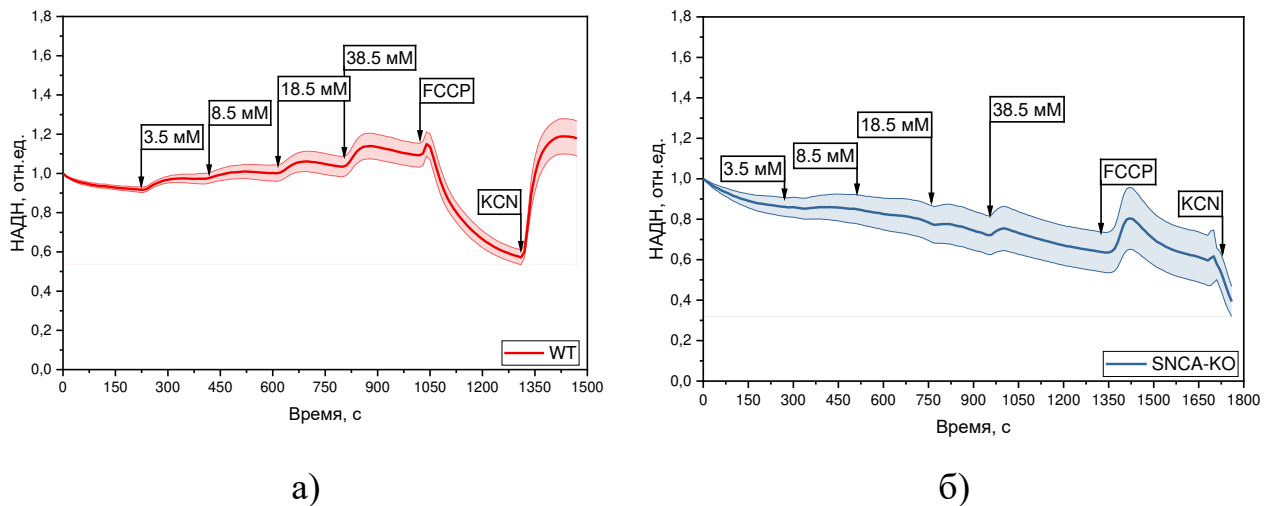


Рисунок 4.10 – Интенсивность флуоресценции НАД(Ф)Н при титровании глюкозой суспензии островков Лангерганса мышей WT (а) и с нокаутом гена α -синуклеина (б)

Для изучения влияния выработки синглетного кислорода на метаболизм островков Лангерганса проводились измерения с облучением суспензии островков лазером с длиной волны 1267 нм. В этих исследованиях также регистрировали базовый уровень флуоресценции НАД(Ф)Н до облучения, затем облучали суспензию островков с использованием дозы 100 Дж/см², после чего проводили эксперимент аналогично описанной ранее последовательности с постепенным увеличением концентрации глюкозы в суспензии. На рисунке 4.11 представлены

результаты оценки изменения интенсивности флуоресценции НАД(Ф)Н после облучения светом с длиной волны 1267 нм.

Облучение островков Лангерганса лазером 1267 нм приводит к увеличению их чувствительности к глюкозе у мышей дикого типа, а также у мышей с нокаутом гена α -синуклеина. Так, после облучения клетки мышей с нокаутом гена α -синуклеина начинают реагировать на меньшую концентрацию глюкозы, чем без облучения. Исходя из полученных данных можно предположить, что генерация синглетного кислорода приводит к повышению чувствительности островков Лангерганса к глюкозе.

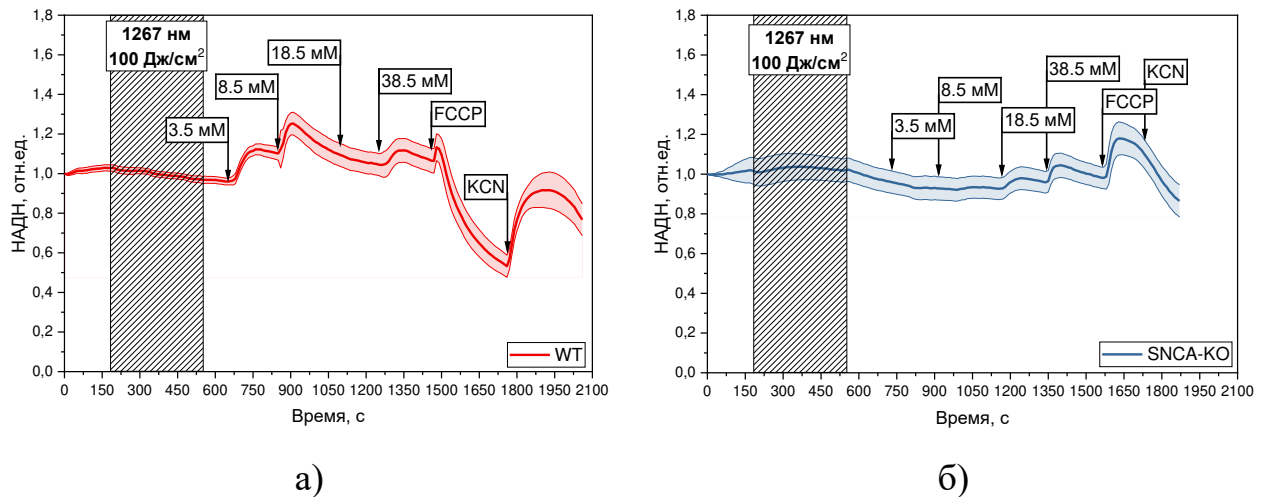


Рисунок 4.11 – Интенсивность флуоресценции НАД(Ф)Н при титровании глюкозой суспензии островков Лангерганса после облучения светом с длиной волны 1267 нм мышей WT (а) и с нокаутом гена α -синуклеина (б)

Для более наглядного сравнения данных до и после облучения был рассчитан относительный прирост интенсивности флуоресценции НАД(Ф)Н на каждую добавку глюкозы, результаты приведены на рисунке 4.12.

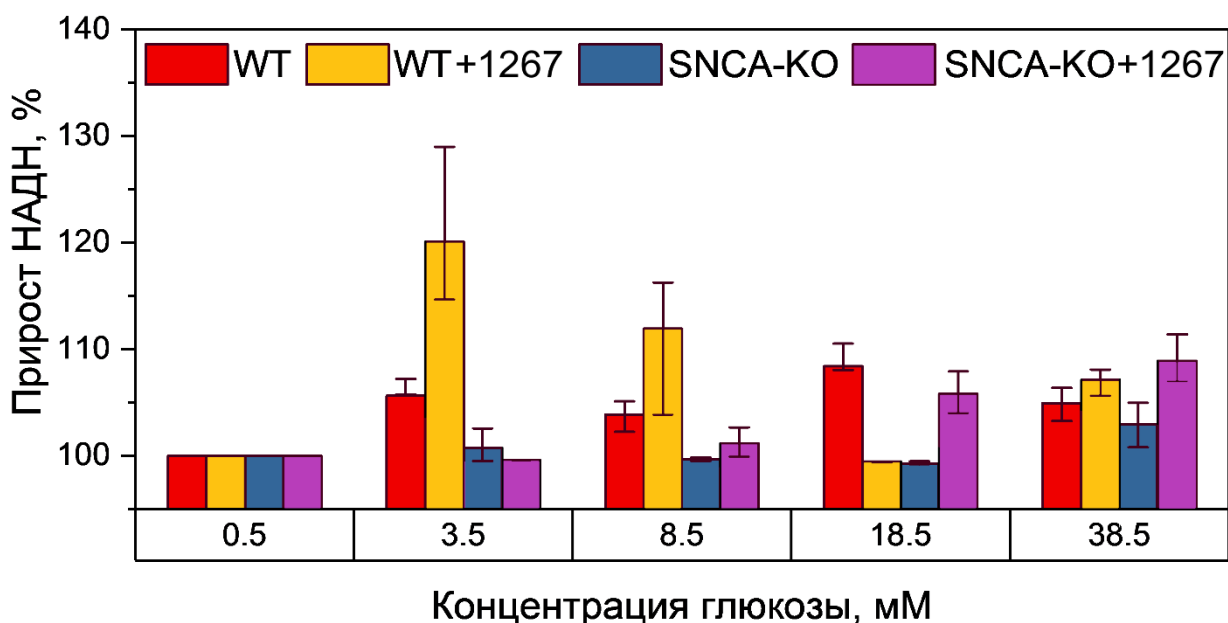


Рисунок 4.12 – Прирост интенсивности флуоресценции НАД(Ф)Н в ответ на добавление глюкозы в экспериментах без и с облучением суспензии островков Лангерганса лазером с длиной волны 1267 нм

Можно отметить, что облучение клеток приводит к кратному увеличению реакции на глюкозу как в клетках мышей дикого типа, так и при нокауте гена α -синуклеина. В частности, клетки с нокаутом α -синуклеина начинают реагировать на добавку глюкозы, обеспечивающую концентрацию 8,5 мМ (при этом без облучения реагировали только на добавку, обеспечивающую вдвое большее содержание).

Таким образом, животные с нокаутом гена α -синуклеина демонстрируют повышенный уровень содержания инсулина в крови вследствие нарушения регуляции секреции гормона. Прямая оптическая генерация синглетного кислорода в крови у мышей дикого типа приводит к дозозависимому увеличению секреции инсулина, что может быть результатом стимулируемого синглетным кислородом синтеза АТФ с подтверждением в связанном с облучением изменении автофлуоресценции НАД(Ф)Н. Облучение клеток поджелудочной железы лазером с длиной волны 1267 нм приводит к улучшению их чувствительности к глюкозе.

На основании проведённых предварительных исследований можно сделать вывод о перспективности внедрения принципов тераностики в разработанные в

настоящей диссертационной работе метод и устройство путём добавления дополнительного терапевтического канала с воздействием на биологический объект (кожные покровы) светом с длиной волны 1267 нм для прямой оптической генерации синглетного кислорода.

4.7 Выводы по главе 4

1) Разработана модель классификации, позволяющая выявлять наличие расстройств периферического кровотока, базирующаяся на методе линейного дискриминантного анализа с улучшенными показателями чувствительности и специфичности (показатель чувствительности – 0,88, показатель специфичности – 0,90).

2) Предложен метод диагностики расстройств периферического кровотока, основанный на измерении у пациентов тканевой перфузии в области верхних и нижних конечностей в течение 10 мин (что в 3-4 раза меньше, чем у применяемых в современной клинической практике методов) с использованием распределённой системы в виде 4-х портативных устройств ЛДФ, закрепляемых на тыльной стороне запястий и плантарной поверхности пальцев ног пациента, с последующим вейвлет-анализом зарегистрированных ЛДФ-грамм и отличающийся возможностью выявления данных расстройств с помощью предложенной модели классификации с вероятностью ложноотрицательного результата менее 0,2.

3) Предложен дополнительный метод анализа физиологических нарушений периферического кровотока, позволяющий оценивать патологические механизмы, вовлечённые в развитие расстройств периферического кровотока – эндотелиальную функцию в коже верхних и нижних конечностей, включение компенсаторного механизма, активирующего нутритивный кровоток и увеличение жёсткости сосудистой стенки вследствие развития медиакальциноза.

4) Синтезирована БТС диагностики расстройств периферического кровотока, реализующая предложенный метод диагностики с применением распределённой системы портативных устройств ЛДФ.

5) Проведены дополнительные экспериментальные исследования по оценке перспектив расширения функциональных возможностей портативных диагностических устройств, базирующиеся на анализе влияния прямой оптической генерации синглетного кислорода (при помощи облучения циркулирующей крови светом с длиной волны 1267 нм) на содержание инсулина в крови животных, которые показали перспективность применения предлагаемого подхода в качестве дополнительного терапевтического канала для оптической тераностики гипергликемических осложнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа посвящена решению научно-технической задачи разработки метода и портативного устройства ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока при различных патологических состояниях.

В диссертационной работе получены следующие основные научные результаты:

1. Изучено строение системы микроциркуляции крови и выполняемые ей функции, рассмотрены основные патологические состояния, возникающие в периферическом кровотоке. Анализ состояния современных методов и устройств диагностики расстройств периферического кровотока и существующих в этой области проблем показал, что применяемые в настоящий момент в клинической практике методы диагностики расстройств периферического кровотока не удовлетворяют предъявляемым к ним требованиям, а именно – обладают большой продолжительностью исследования (до 40 мин), болезненны или некомфортны для пациентов ввиду применения функциональных (нагрузочных) проб.

2. Проведено обоснование специализированных МТТ к портативным устройствам ЛДФ с помощью численного метода Монте-Карло в виде моделирования величины ослабления зондирующего излучения при его распространении в семислойной биоткани в соответствии с заданной геометрией приёмно-передающей части (диаметр источника излучения 35 мкм, диаметр приёмника излучения 500 мкм, расстояние между центрами источника и приёмника 1200 мкм) и различными параметрами кровенаполнения (от 20 до 200 %) и содержания меланина (от 1 до 40%).

3. Предложен принцип построения портативного устройства ЛДФ для диагностики расстройств периферического кровотока с учётом сформированных специализированных МТТ (глубина распространения оптического излучения составляет не менее 2,5 мм, величина диагностического объёма – до 6-7 мм³ для длины волны зондирования 850 нм и базы измерения 1200 мкм), заключающийся в применении одномодового VCSEL-лазера, 2-х фотодиодов, соответствующих

каналов фильтрации и обработки данных и беспроводного модуля сбора данных (Bluetooth/Wi-Fi).

4. Предложен принцип получения диагностической информации, основанный на одновременной регистрации ЛДФ-грамм в верхних и нижних конечностях пациентов с последующим вейвлет-анализом зарегистрированных ЛДФ-сигналов, который показал значительные преимущества в сравнении с традиционно применяемыми методами и признан перспективным с точки зрения разработки метода диагностики расстройств периферического кровотока как при возрастных изменениях, так и при наличии различных патологий, включая СД 2 типа и острую коронавирусную инфекцию COVID-19.

5. На основании проведённых клинических исследований и анализа экспериментальных данных разработана модель классификации, имеющая наименьший уровень ошибки 1-ого рода при выявлении расстройств периферического кровотока при СД и включающая вычисляемые по данным ЛДФ значения показателя микроциркуляции крови и нутритивного кровотока.

6. Разработан метод диагностики расстройств периферического кровотока при СД, основанный на измерении у пациентов тканевой перфузии в области верхних и нижних конечностей в течение 10 мин (что в 3-4 раза меньше, чем у применяемых в современной клинической практике методов) с использованием распределённой системы в виде 4-х портативных устройств, закрепляемых на тыльной стороне запястий и плантарной поверхности пальцев ног пациента, с последующим вейвлет-анализом зарегистрированных ЛДФ-грамм и отличающийся возможностью выявления данных расстройств с помощью предложенной модели классификации с вероятностью ложноотрицательного результата менее 0,2.

7. Синтезирована БТС диагностики расстройств периферического кровотока, реализующая предложенный метод диагностики с применением распределённой системы портативных устройств ЛДФ.

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в других областях медицины при разработке методов и портативных (носимых)

устройств для оптической неинвазивной диагностики расстройств периферического кровотока (например, при сердечно-сосудистых, ревматических заболеваниях, других респираторных инфекциях, приводящих к повреждению эндотелия и др.).

Применение совместно с предлагаемым методом других методов ОНД, согласно мультимодальному подходу, позволит осуществить углублённый анализ причин и оценивать степень развития расстройств периферического кровотока у пациентов, а динамические измерения позволят проводить оценку эффективности оказываемой терапии. На основе современного тренда в медицине – тераностики – перспективно в разработанный метод и портативное устройство добавить дополнительный терапевтический канал с воздействием на биологический объект светом с длиной волны 1267 нм для прямой оптической генерации синглетного кислорода.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АUC – площадь под ROC-кривой,
АВА – артериоло-венулярный анастомоз,
АЛК – альфа-липоевая кислота,
АТФ – аденозинтрифосфат,
БП – болезнь Паркинсона,
БТС – биотехническая система,
ДПН – диабетическая полинейропатия,
ДРС – динамическое рассеяние света,
ЗПА – заболевание периферических артерий,
ЛДА – линейный дискриминантный анализ,
ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия,
ЛДПВ – лазерная доплеровская перфузионная визуализация,
ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс,
ЛСКВ – лазерная спекл-контрастная визуализация,
МК – Монте-Карло,
МТС – микроциркуляторно-тканевая система,
МТТ – медико-технические требования,
МЦК – микроциркуляция крови,
НАД(Ф)Н – никотинамидадениндинуклеотидфосфат,
НЗ – начальная запись,
ОНД – оптическая неинвазивная диагностика,
ОП – окклюзионная проба,
ПК – персональный компьютер,
ПМ – показатель микроциркуляции,
ППИ – пальце-плечевой индекс,
РВГ – реовазография,
РЗ – ревматические заболевания,
СД – сахарный диабет,
СДО – спектроскопия диффузного отражения,

СКО – среднее квадратическое отклонение,

ССС – сердечно-сосудистая система,

ТП – тепловая проба,

ТПИ – теория переноса излучения,

УЗДГ – ультразвуковая доплерография,

ФП – функциональная проба.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. IJzerman, R.G. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin / R.G. IJzerman, R.T. De Jongh, M.A.M. Beijk, M.M. Van Weissenbruch, H.A. Delemarre-van De Waal, E.H. Serne, C.D. Stehouwer // *European journal of clinical investigation*. – 2003. – Vol. 33. – №. 7. – P. 536-542.
2. Levy, B.I. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? / B.I. Levy, G. Ambrosio, A.R. Pries, H.A.J. Struijker-Boudier // *Circulation*. – 2001. – Vol. 104. – №. 6. – P. 735-740.
3. Wheatcroft, S.B. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function / S.B. Wheatcroft, I.L. Williams, A.M. Shah, M.T. Kearney // *Diabetic Medicine*. – 2003. – Vol. 20. – №. 4. – P. 255-268.
4. Новицкий, В.В. Патологическая физиология: учебник в 2-х томах. Том 1 / В.В. Новицкий, Е.Д. Гольдберг, О.И. Уразова. – М.: Гэотар–Медиа, 2012, 848 с.
5. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Либроком, 2013. – 496 с.
6. Дунаев, А.В. Мультимодальная оптическая диагностика микроциркуляторно-тканевых систем организма человека / А. В. Дунаев. – Старый Оскол: ТНТ, 2022. – 440 с.: ил.
7. Harvey, W. The Works of William Harvey MD: Translated from the Latin with a life of the author. – Good Press, 2019. – 707 p.
8. Silverthorn, D.U. Human physiology. – Jones & Bartlett Publishers, 2015. – 981 p.
9. Tuma, R.F. Microcirculation / R.F. Tuma, W.N. Duran, K. Ley. – San Diego: Academic Press, 2008, 960 p.
10. Литвицкий, П.Ф. Нарушения регионарного кровотока и микроциркуляции // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2020. – Т. 19. – № 1. – С. 82-92.

11. Li, L. Age-related changes of the cutaneous microcirculation in vivo / L. Li, S. Mac-Mary, J.M. Sainthillier, S. Nouveau, O. De Lacharriere, P. Humbert // *Gerontology*. Karger Publishers. – 2006. – Vol. 52. – № 3. – P. 142-153.
12. Gates, P.E. Human endothelial function and microvascular ageing / P.E. Gates, W.D. Strain, A.C. Shore // *Exp. Physiol.* – 2009. – Vol. 94. – № 3. – P. 311-316.
13. Tsuchida, Y. The effect of aging and arteriosclerosis on human skin blood flow // *J. Dermatol. Sci.* – 1993. – Vol. 5. – № 3. – P. 175-181.
14. Дедов, И.И. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01. 2021 / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Викулова, А.В. Железнякова, М.А. Исаков // *Сахарный диабет*. – 2021. – Т. 24. – № 3. – С. 204-221.
15. Tabit, C.E. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: Molecular mechanisms and clinical implications / C.E. Tabit, W.B. Chung, N.M. Hamburg, J.A Vita // *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. – 2010. – Vol. 11. – P. 61-74.
16. Meza, C.A. Endothelial dysfunction: is there a hyperglycemia-induced imbalance of NOX and NOS? / C.A. Meza, J.D. La Favor, D.H. Kim, R.C. Hickner // *International journal of molecular sciences*. – 2019. – Vol. 20. – № 15. – P. 3775.
17. Салтыков, Б.Б. Диабетическая микроангиопатия / Б.Б. Салтыков, В.С. Пауков. – М.: Медицина, 2002, 969 с.
18. Федорович, А.А. Функциональное состояние микрососудистого русла кожи по данным ЛДФ в острую фазу COVID-19 / А.А. Федорович, Д.С. Марков, М.В. Малишевский, О.О. Юдаков, А.Ю. Горшков, А.В. Балдин, Д.М. Жук, А.Ю. Спасенов, А.И. Королев, А.В. Коптелов, О.М. Драпкина // *Кардиологический вестник*. – 2022. – Т. 17. – № 2. – С. 56-63.
19. Сидоров, В.В. Нарушение микроциркуляции и клеточного метаболизма у пациентов с постковидным синдромом / В.В. Сидоров, А.А. Лобанов, И.А. Гришечкина, А.Д. Фесюн, М.Ю. Яковлев, С.В. Андронов, Г.Н. Барашков, А.И. Попов // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2022. – Т. 29. – № 2. – С. 64-68.

20. Mardani, M. Post COVID syndrome // Archives of Clinical Infectious Diseases. – 2020. – Т. 15. – № 2. – Article No. e108819.
21. Raveendran, A.V. Long COVID: an overview / A.V. Raveendran, R. Jayadevan, S. Sashidharan // Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. – 2021. – Vol. 15. – №. 3. – P. 869-875.
22. Levi, M. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19 / M. Levi, J. Thachil, T. Iba, J.H. Levy // The Lancet Haematology. – 2020. – Vol. 7. – №. 6. – P. e438-e440.
23. Marfella, R. SARS-COV-2 colonizes coronary thrombus and impairs heart microcirculation bed in asymptomatic SARS-CoV-2 positive subjects with acute myocardial infarction / R. Marfella, P. Paolisso, C. Sardu, et al. // Critical Care. – 2021. – Vol. 25. – №. 1. – P. 1-12
24. Østergaard, L. SARS CoV-2 related microvascular damage and symptoms during and after COVID-19: Consequences of capillary transit-time changes, tissue hypoxia and inflammation // Physiological reports. – 2021. – Vol. 9. – №. 3. – Article No. e14726.
25. Gąsecka, A. Impaired microcirculation function in COVID-19 and implications for potential therapies / A. Gąsecka, K.J. Filipiak, M.J. Jaguszewski // Cardiology Journal. – 2020. – Vol. 27. – №. 5. – P. 485-488.
26. Yelin, D. Long-term consequences of COVID-19: research needs / D. Yelin, E. Wirtheim, P. Vetter, A.C. Kalil, et al.// The Lancet Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 20. – №. 10. – P. 1115-1117.
27. Nalbandian, A. Post-acute COVID-19 syndrome / A. Nalbandian, K. Sehgal, A. Gupta, M.V.Madhavan, et al. // Nature medicine. – 2021. – Vol. 27. – №. 4. – P. 601-615.
28. Кедров, А.А. Реография: сущность, перспективы, направления и ошибки использования // Клиническая медицина. – 1989. – № 1. – С. 13-18.
29. Портнова, Е.А. Реовазография с точки зрения биофизики // Физика и медицина: создавая будущее. – 2017. – С. 44–46.
30. Лелюк, В.Г. Ультразвуковая ангиология / В.Г. Лелюк, С.Э. Лелюк // М.:

Реальное время. – 2003. – Т. 336. – С. 3.

31. Вихерт, Т.А. Современные направления ультразвукового метода исследования артерий и периферического кровообращения / Т.А. Вихерт, К.М. Арзамасов // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2013. – №. 1. – С. 161-166.

32. Баходирова, А.Н. Рентгеноденситометрический анализ нарушений кост-ной системы у больных сахарным диабетом / А.Н. Баходирова, Н.С. Салахова. – Бишкек. – 1995. – 203 с.

33. Ryden, L. Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) // Eur Heart J. – 2007. – Vol. 28. – P. 88-136.

34. Нøyer, C. The toe-brachial index in the diagnosis of peripheral arterial disease / C. Нøyer, J. Sandermann, L.J. Petersen // Journal of Vascular Surgery. – 2013. – Vol. 58. – № 1. – P. 231-238.

35. Шишкин, И.Ф. Теоретическая метрология: учебник для вузов / И.Ф. Шишкин. – 4-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Питер, 2010. – Ч. 1: Общая теория измерений. – 192 с.: ил. – (Серия «Учебник для вузов»).

36. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2 т. / Пер. с англ. под ред. В.В.Тучина. – М.: Физматлит, 2007. – 368 с. – Т. 2.

37. Tuchina, D.K. Optical and structural properties of biological tissues under diabetes mellitus / D.K. Tuchina, V.V. Tuchin // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. – 2018. – Vol. 4. – №. 2. – P. 4-25.

38. Tuchina, D.K. Optical and Structural Properties of Biological Tissues under Simulated Diabetes Mellitus Conditions / D.K. Tuchina, A.B. Bucharskaya, P.A. Dyachenko, N.I. Dikht, et al. // Biomedical Photonics for Diabetes Research. – CRC Press, 2022. – P. 1-31.

39. Paul, D.W. Noninvasive imaging technologies for cutaneous wound

assessment: A review / D.W. Paul, P. Ghassemi, J.C. Ramella-Roman, N.J. Prindeze, et al. // *Wound Repair and Regeneration*. – 2015. – Vol. 23. – №. 2. – P. 149-162.

40. Mennes, O.A. Novel optical techniques for imaging microcirculation in the diabetic foot / O.A. Mennes, J.J. van Netten, R.H. Slart, W. Steenbergen // *Current pharmaceutical design*. – 2018. – Vol. 24. – №. 12. – P. 1304-1316.

41. Cutolo, M. Capillaroscopy / M. Cutolo, C. Pizzorni, A. Sulli // *Best practice & research Clinical rheumatology*. – 2005. – Vol. 19. – №. 3. – P. 437-452.

42. Scardina, G.A. Periodontal microcirculation in diabetics: An in vivo non-invasive analysis by means of videocapillaroscopy / G.A. Scardina, A. Cacioppo, P. Messina // *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. – 2012. – Vol. 18. – №. 2. – P. CR58.

43. Dremin, V. Dynamic evaluation of blood flow microcirculation by combined use of the laser Doppler flowmetry and high-speed videocapillaroscopy methods / V. Dremin, I. Kozlov, M. Volkov, N. Margaryants, et al. // *Journal of biophotonics*. – 2019. – Vol. 12. – №. 6. – Article No. e201800317.

44. Etehad, T.M. Nailfold capillaroscopy in rheumatic diseases: which parameters should be evaluated? / T.M. Etehad, A. Fatemi, A. Karbalaie, Z. Emrani, B.E. Erlandsson // *BioMed research international*. – 2015. – Article No. 974530.

45. Фабрикантов, О.Л. Капиллярскопические параметры микроциркуляции ногтевого ложа (обзор литературы) / О.Л. Фабрикантов, М.М. Проничкина // *Сибирский научный медицинский журнал*. – 2018. – Т. 38. – № 2. – С. 62–67.

46. Cutolo, M. Kapillarmikroskopie und rheumatische erkrankungen: State of the art / M. Cutolo, A. Sulli, M.E. Secchi, C. Pizzorni // *Zeitschrift für Rheumatologie*. – 2006. – Vol. 4. – №. 65. – P. 290-296.

47. Patil, A. Nailfold Capillaroscopy in Rheumatic Diseases / A. Patil, I. Sood // *Vascular Biology-Selection of Mechanisms and Clinical Applications*. – IntechOpen, 2020.

48. Chang, C.-H. Use of dynamic capillaroscopy for studying cutaneous microcirculation in patients with diabetes mellitus / C.H. Chang, R.K. Tsai, W.C. Wu,

S.L. Kuo, H.S. Yu // *Microvascular research*. – 1997. – Vol. 53. – №. 2. – P. 121-127.

49. Meyer, M.F. Assessment of diabetic alterations of microcirculation by means of capillaroscopy and laser-Doppler anemometry / M.F. Meyer, M. Pfohl, H. Schatz // *Medizinische Klinik (Munich, Germany)*: 1983). – 2001. – Vol. 96. – №. 2. – P. 71-77.

50. Kuryliszyn-Moskal, A. A study on microvascular abnormalities in capillaroscopy in patients with type 1 diabetes mellitus / A. Kuryliszyn-Moskal, W. Zarzycki, A. Dubicki, A. Zonenberg, M. Górska // *Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna*. – 2006. – Vol. 6. – №. 2. – P. 98-97.

51. Cicco, G. Hemorheology and microcirculation in some pathologies of internal medicine / G. Cicco, S. Cicco // *Minerva Medica*. – 2007. – Vol. 98. – №. 6. – P. 625-631.

52. Kaminska-Winciorek, G. Diabetic microangiopathy in capillaroscopic examination of juveniles with diabetes type 1 / G. Kaminska-Winciorek, G. Deja, J. Polańska, P. Jarosz-Chobot // *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*. – 2012. – Vol. 66. – P. 51-59.

53. Rajaei, A. Nailfold capillaroscopy findings in diabetic patients (a pilot cross-sectional study) / A. Rajaei, P. Dehghan, Z. Farahani // *Open Journal of Pathology*. – 2015. – Vol. 5. – №. 02. – P. 65.

54. Maldonado, G. Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus / G. Maldonado, R. Guerrero, C. Paredes, C. Ríos // *Microvascular research*. – 2017. – Vol. 112. – P. 41-46.

55. Hosking, S.P.M. Non-invasive detection of microvascular changes in a paediatric and adolescent population with type 1 diabetes: a pilot cross-sectional study / S.P. Hosking, R. Bhatia, P.A. Crock, I. Wright // *BMC endocrine disorders*. – 2013. – Vol. 13. – №. 1. – P. 1-9.

56. Pazos-Moura, C.C. Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus: morphological abnormalities and relationship with microangiopathy / C.C. Pazos-Moura, E.G. Moura, E. Bouskela, I.P. Torres-Filho, M.M. Breitenbach // *Brazilian journal of medical and biological research*. – 1987. – Vol. 20. – №. 6. – P. 777-780.

57. Kuryliszyn-Moskal, A. Microvascular abnormalities in capillaroscopy

correlate with higher serum IL-18 and sE-selectin levels in patients with type 1 diabetes complicated by microangiopathy / A. Kuryliszyn-Moskal, A. Dubicki, W. Zarzycki, A. Zonnenberg, M. Górska // *Folia histochemica et cytobiologica*. – 2011. – Vol. 49. – №. 1. – P. 104-110.

58. Gurfinkel, Y.I. Implementation of digital optical capillaroscopy for quantifying and estimating the microvascular abnormalities in type 2 diabetes mellitus / Y.I. Gurfinkel, O.V. Suchkova, M.L. Sasonko, A.V. Priezzhev // *Proc. SPIE*. – 2016. – Vol. 9917. – P. 991703.

59. Evers, D.J. Optical spectroscopy: current advances and future applications in cancer diagnostics and therapy / D.J. Evers, B.H.W. Hendriks, G.W. Lucassen, T.J.M. Ruers // *Future oncology*. – 2012. – Vol. 8. – №. 3. – P. 307-320.

60. Calin, M.A. Optical techniques for the noninvasive diagnosis of skin cancer / M.A. Calin, S.V. Parasca, R. Savastru, M.R. Calin, S. Dontu // *Journal of cancer research and clinical oncology*. – 2013. – Vol. 139. – P. 1083-1104.

61. Потапова, Е.В. Оценка микроциркуляторных нарушений у пациентов ревматологического профиля с использованием метода спектроскопии диффузного отражения / Е.В. Потапова, В.В. Дрёмин, Е.А. Жеребцов, И.Н. Маковик и др. // *Физиология человека*. – 2017. – Т. 43. – № 2. – С. 116–124.

62. Жарких, Е.В. Оптическая неинвазивная диагностика функционального состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической микрогемодинамики / Е.В. Жарких, И.Н. Маковик, Е.В. Потапова, В.В. Дрёмин и др. // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 23–32.

63. Потапова, Е.В. Комплексный подход к неинвазивной оценке микроциркуляторно-тканевых нарушений в стопах пациентов с сахарным диабетом методами спектроскопии / Е.В. Потапова, В.В. Дремин, Е.А. Жеребцов, И.Н. Маковик и др. // *Оптика и спектроскопия*. – 2017. – Т. 123. – № 6. – С. 946–956.

64. Zhang, H. Optical detection of middle ear infection using spectroscopic techniques: phantom experiments / H. Zhang, J. Huang, T. Li, S. Svanberg, K. Svanberg

// Journal of biomedical optics. – 2015. – Vol. 20. – №. 5. – P. 057001-057001.

65. McCully, K.K. Exercise-induced changes in oxygen saturation in the calf muscles of elderly subjects with peripheral vascular disease / K.K. McCully, C. Halber, J.D. Posner // Journal of gerontology. – 1994. – Vol. 49. – №. 3. – P. B128-B134.

66. Pichler, G. Reduced forearm blood flow in children and adolescents with type 1 diabetes (measured by near-infrared spectroscopy) / G. Pichler, B. Urlesberger, P. Jirak, H. Zotter et al. // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27. – №. 8. – P. 1942-1946.

67. Mohler, E.R. Impaired exercise-induced blood volume in type 2 diabetes with or without peripheral arterial disease measured by continuous-wave near-infrared spectroscopy / E.R. Mohler III, G. Lech, G.E. Supple, H. Wang, B. Chance // Diabetes care. – 2006. – Vol. 29. – №. 8. – P. 1856-1859.

68. Sujatha, N. Assessment of microcirculatory hemoglobin levels in normal and diabetic subjects using diffuse reflectance spectroscopy in the visible region—a pilot study / N. Sujatha, B.S. Anand, K.B. Nivetha, V.B. Narayanamurthy // Journal of applied spectroscopy. – 2015. – Vol. 82. – P. 432-437.

69. Anand, S. Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer—A pilot study / S. Anand, N. Sujatha, V.B. Narayanamurthy, V. Seshadri, R. Poddar // Optics and Lasers in Engineering. – 2014. – Vol. 53. – P. 1-5.

70. Lu, G. Medical hyperspectral imaging: a review / G. Lu, B. Fei // Journal of biomedical optics. – 2014. – Vol. 19. – №. 1. – Article No. 010901.

71. Chin, J.A. Evaluation of hyperspectral technology for assessing the presence and severity of peripheral artery disease / J.A. Chin, E.C. Wang, M.R. Kibbe // Journal of vascular surgery. – 2011. – Vol. 54. – №. 6. – P. 1679-1688.

72. Zuzak, K.J. Visible reflectance hyperspectral imaging: characterization of a noninvasive, in vivo system for determining tissue perfusion / K.J. Zuzak, M.D. Schaeberle, E.N. Lewis, I.W. Levin // Analytical chemistry. – 2002. – Vol. 74. – №. 9. – P. 2021-2028.

73. Yudovsky, D. Assessing diabetic foot ulcer development risk with hyperspectral tissue oximetry / D. Yudovsky, A. Nouvong, K. Schomacker, L. Pilon // Journal of biomedical Optics. – 2011. – Vol. 16. – №. 2. – Article No. 026009.

74. Yudovsky, D. Hyperspectral imaging in diabetic foot wound care / D. Yudovsky, A. Nouvong, L. Pilon // *Journal of diabetes science and technology*. – 2010. – Vol. 4. – №. 5. – P. 1099-1113.
75. Nouvong, A. Evaluation of diabetic foot ulcer healing with hyperspectral imaging of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin / A. Nouvong, B. Hoogwerf, E. Mohler, B. Davis // *Diabetes care*. – 2009. – Vol. 32. – №. 11. – P. 2056-2061.
76. Yudovsky, D. Monitoring temporal development and healing of diabetic foot ulceration using hyperspectral imaging / D. Yudovsky, A. Nouvong, K. Schomacker, L. Pilon // *Journal of biophotonics*. – 2011. – Vol. 4. – №. 7-8. – P. 565-576.
77. Kvernmo, H.D. Oscillations in the Human Cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependent and Endothelium-Independent Vasodilators / H.D. Kvernmo, A. Stefanovska, K.A. Kirkebøen, K. Kvernebo // *Microvascular research*. – 1999. – Vol. 57. – №. 3. – P. 298-309.
78. Söderström, T. Involvement of sympathetic nerve activity in skin blood flow oscillations in humans / T. Soderstrom, A. Stefanovska, M. Veber, H. Svensson // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2003. – Vol. 284. – №. 5. – P. H1638-H1646.
79. Stefanovska, A. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique / A. Stefanovska, M. Bracic, H.D. Kvernmo // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 1999. – Vol. 46. – №. 10. – P. 1230-1239.
80. Bonner, R. Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue / R. Bonner, R. Nossal // *Applied optics*. – 1981. – Vol. 20. – №. 12. – P. 2097-2107.
81. Jacobsen, J.C.B. Heterogeneity and weak coupling may explain the synchronization characteristics of cells in the arterial wall / J.C.B. Jacobsen, C. Aalkjaer, V.V. Matchkov, H. Nilsson // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. – 2008. – Vol. 366. – №. 1880. – P. 3483-3502.
82. Fredriksson, I. Laser doppler flowmetry-a theoretical framework / I. Fredriksson, C. Fors, J. Johansson // *Department of Biomedical Engineering, Linköping*

University. – 2007, 22 p.

83. Fedorovich, A.A. Skin microcirculation in middle-aged men with newly diagnosed arterial hypertension according to remote laser Doppler flowmetry data / A.A. Fedorovich, Y.I. Loktionova, E.V. Zharkikh, A.Y. Gorshkov et al. // *Microvascular Research*. – 2022. – Vol. 144. – P. 104419.

84. Жеребцова, А.И. Метод диагностики функционального состояния периферических сосудов пальцев рук для пациентов ревматологического профиля // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2015. – Т. 4. – № 312. – С. 113–121.

85. Новикова, И.Н. Возможности применения вейвлет-анализа осциллирующих параметров микроциркуляторно-тканевых систем при проведении холодовой прессорной пробы на пальцах рук / И.Н. Новикова, Дрёмин В.В., А.В. Дунаев, А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров и др. // *Биотехносфера*, 2015. – Т. 42. – №6. – С. 26-30

86. Zharebtsov, E.A. Combined use of laser Doppler flowmetry and skin thermometry for functional diagnostics of intradermal finger vessels / E.A. Zharebtsov, A.I. Zharebtsova, A. Doronin, A.V. Dunaev et al. // *Journal of biomedical optics*. – 2017. – Vol. 22. – №. 4. – Article No. 040502.

87. Makovik, I.N. Detection of angiospastic disorders in the microcirculatory bed using laser diagnostics technologies / I.N. Makovik, , A.V. Dunaev, , V.V. Dremin, , A.I. Krupatkin et al. // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2018. – Vol. 11. – №. 01. – Article No. 1750016.

88. Mizeva, I. Analysis of skin blood microflow oscillations in patients with rheumatic diseases / I. Mizeva, I. Makovik, A. Dunaev, A. Krupatkin, I. Meglinski // *Journal of biomedical optics*. – 2017. – Vol. 22. – №. 7. – Article No. 070501.

89. Потапова, Е.В. Особенности локальной микроциркуляции крови у пациентов с псориазом / Е.В. Потапова, М.А. Филина, И.О. Козлов, Е.В. Жарких // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 58–64.

90. Дрёмин, В.В. Возможности применения сочетанных методов оптической неинвазивной диагностики при исследовании жизнеспособности

тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом / В.В. Дрёмин, Е.В. Дрёмина, Е.В. Жарких, Е.В. Потапова и др. // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2016. – Т. 1. – № 315. – С. 136.

91. Dremin, V.V Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus / V.V. Dremin, E.A. Zherebtsov, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin et al. // *Journal of Biomedical Optics.* – 2017. – Vol. 22. – №. 8. – P. 085003.

92. Mizeva, I. Spectral analysis of the blood flow in the foot microvascular bed during thermal testing in patients with diabetes mellitus / I. Mizeva, E. Zharkikh, V. Dremin, E. Zherebtsov et al. // *Microvascular research.* – 2018. – Vol. 120. – P. 13-20.

93. Dremin, V.V Laser Doppler flowmetry in blood and lymph monitoring, technical aspects and analysis / V.V. Dremin, E.A. Zherebtsov, I.N. Makovik, I.O. Kozlov et al. // *Proc. SPIE.* – 2017. – Vol. 1063. – Article No. 1006303.

94. Dunaev, A.V Investigating tissue respiration and skin microhaemocirculation under adaptive changes and the synchronization of blood flow and oxygen saturation rhythms / A.V. Dunaev, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, I.E. Rafailov // *Physiological Measurement.* – 2014. – Vol. 35. – №. 4. – Article No. 607.

95. Степанова, А.П. Показатели микроциркуляции у больных сахарным диабетом II типа с диабетической периферической нейропатией на фоне терапии различными дозами витамина D / А.П. Степанова, Т.Л. Каронова, М.М. Галагудза // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2019. – Т. 18. – № 4. – С. 19–28.

96. Жарких, Е.В. Контроль параметров микроциркуляции крови при терапии альфа-липоевой кислотой у пациентов с сахарным диабетом / Е.В. Жарких, Ю.И. Локтионова, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин и др. // *Физиология человека.* – 2022. – Т. 48. – № 4. – С. 120–130.

97. Lanting, S.M. Post-occlusive reactive hyperaemia of skin microvasculature and foot complications in type 2 diabetes / S.M. Lanting, A.L. Barwick, S.M. Twigg, N.A. Johnson, M.K. Baker, S.K. Chiu, I.D. Caterson, V.H. Chuter // *Journal of Diabetes and its Complications.* – 2017. – Vol. 31. – №. 8. – P. 1305-1310.

98. Gomes, M.B. Evaluation of microvascular endothelial function in patients with type 1 diabetes using laser-Doppler perfusion monitoring: which method to choose? / M.B. Gomes, A.S.M. Matheus, E. Tibiriçá // *Microvascular research*. – 2008. – Vol. 76. – №. 2. – P. 132-133.

99. Johnson, J.M. Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation / J.M. Johnson, C.T. Minson, D.L. Kellogg Jr // *Comprehensive physiology*. – 2011. – Vol. 4. – №. 1. – P. 33-89.

100. Fuchs, D. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser Doppler with local thermal hyperemia: a systematic review with meta-analysis / D. Fuchs, P.P. Dupon, L.A. Schaap, R. Draijer // *Cardiovascular diabetology*. – 2017. – Vol. 16. – Article No. 11.

101. Arora, S. Differences in foot and forearm skin microcirculation in diabetic patients with and without neuropathy / S. Arora, P. Smakowski, R.G. Frykberg, L.R. Simeone, R. Freeman, F.W. LoGerfo, A. Veves // *Diabetes care*. – 1998. – Vol. 21. – №. 8. – P. 1339-1344.

102. Brooks, B.A. The effects of diabetes and aminoguanidine treatment on endothelial function in a primate model of type 1 diabetes / B.A. Brooks, S. Heffernan, S. Thomson, S.V. McLennan, S.M. Twigg, D.K. Yue // *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*. – 2008. – Vol. 70. – №. 8. – P. 796-802.

103. Маковик, И.Н. Метод неинвазивной диагностики функционального состояния микроциркуляторно-тканевых систем верхних конечностей с помощью холодной прессорной пробы // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2016. – Т. 6. – № 320. – С. 103–116.

104. Глазков, А.А. Разработка способа диагностики нарушений микроциркуляции крови у больных сахарным диабетом методом лазерной доплеровской флоуметрии / А.А. Глазков, Д.А. Куликов, А.В. Древаль, Ю.А. Ковалева, В.И. Шумский, Д.А. Рогаткин // *Альманах клинической медицины*. – 2014. – №. 31. – С. 7-10.

105. Zhrebtsov, E. Diagnosis of skin vascular complications revealed by time-

frequency analysis and laser Doppler spectrum decomposition / E. Zherebtsov, I. Kozlov, V. Dremin, A. Bykov, A. Dunaev, I. Meglinski // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2022. – Vol. 70. – №. 1. – P. 3-14.

106. Essex, T.J.H. A laser Doppler scanner for imaging blood flow in skin / T.J.H. Essex, P.O. Byrne // *Journal of biomedical engineering*. – 1991. – Vol. 13. – №. 3. – P. 189-194.

107. Wardell, K. Laser Doppler perfusion imaging by dynamic light scattering / K. Wardell, A. Jakobsson, G.E. Nilsson // *IEEE Transactions on biomedical Engineering*. – 1993. – Vol. 40. – №. 4. – P. 309-316.

108. Freccero, C. Sympathetic and parasympathetic neuropathy are frequent in both type 1 and type 2 diabetic patients / C. Freccero, H. Svensson, S. Bornmyr, P. Wollmer, G. Sundkvist // *Diabetes Care*. – 2004. – Vol. 27. – №. 12. – P. 2936-2941.

109. Eriksson, S. Laser speckle contrast imaging for intraoperative assessment of liver microcirculation: a clinical pilot study / S. Eriksson, J. Nilsson, G. Lindell, C. Stureson // *Medical Devices: Evidence and Research*. – 2014. – Vol. 7. – P. 257-261.

110. Humeau-Heurtier, A. Relevance of laser Doppler and laser speckle techniques for assessing vascular function: state of the art and future trends / A. Humeau-Heurtier, E. Guerreschi, P. Abraham, G. Mahé // *IEEE transactions on biomedical engineering*. – 2013. – Vol. 60. – №. 3. – P. 659-666.

111. Kalchenko, V. A simple approach for non-invasive transcranial optical vascular imaging (nTOVI) / V. Kalchenko, D. Israeli, Y. Kuznetsov, I. Meglinski, A. Harmelin // *Journal of biophotonics*. – 2015. – Vol. 8. – №. 11-12. – P. 897-901.

112. Briers, J.D. Retinal blood flow visualization by means of laser speckle / J.D. Briers, A.F. Fercher // *Optics in Biomedical Sciences: Proceedings of the International Conference, Graz, Austria, September 7–11, 1981*. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 1982. – P. 158-161.

113. Tamaki, Y. Noncontact, two-dimensional measurement of retinal microcirculation using laser speckle phenomenon / Y. Tamaki, M. Araie, E. Kawamoto, S. Eguchi, H. Fujii // *Investigative ophthalmology & visual science*. – 1994. – Vol. 35. – №. 11. – P. 3825-3834.

114. Boas, D.A. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics / D.A. Boas, A.K. Dunn // *Journal of biomedical optics*. – 2010. – Vol. 15. – №. 1. – Article No. 011109.

115. Tankanag, A. Application of the adaptive wavelet transform for analysis of blood flow oscillations in the human skin / A. Tankanag, N. Chemeris // *Physics in Medicine & Biology*. – 2008. – Vol. 53. – №. 21. – Article No. 5967.

116. Tankanag, A.V. A method of adaptive wavelet filtering of the peripheral blood flow oscillations under stationary and non-stationary conditions / A.V. Tankanag, N.K. Chemeris // *Physics in Medicine & Biology*. – 2009. – Vol. 54. – №. 19. – Article No. 5935.

117. Жарких, Е.В. Возможности исследования изменений амплитуд колебаний кожного кровотока с помощью адаптивного вейвлет-анализа при проведении окклюзионных проб / Е.В. Жарких, А.И. Жеребцова, И.Н. Маковик, В.В. Дрёмин, Е.А. Жеребцов, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2015. – Т. 314. – №. 6. – С. 114-121.

118. Новикова, И.Н. Возможности холодовой пробы для функциональной оценки микроциркуляторно-тканевых систем / И.Н. Новикова, А.В. Дунаев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2015. – Т. 14. – №. 2. – С. 47-55.

119. Жеребцова, А.И. Оценка взаимосвязи параметров микроциркуляции крови и накожной температуры при окклюзионной пробе // *Биотехносфера*. – 2015. – Т. 38. – №. 2. – С. 15-21.

120. Kvandal, P. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines / P. Kvandal, A. Stefanovska, M. Veber, H.D. Kvermmo, K.A. Kirkeboen // *Microvascular research*. – 2003. – Vol. 65. – №. 3. – P. 160-171.

121. Zharkikh, E.V. Blood flow oscillations as a signature of microvascular abnormalities / E.V. Zharkikh, I.A. Mizeva, I.N. Makovik, V.V. Dremin, E.A. Zherebtsov, E.V. Potapova, A.V. Dunaev // *Proc. SPIE*. – 2018. – Vol. 10685. – Article No. 106854C.

122. Zherebtsov, E.A. Wireless Dynamic Light Scattering Sensors Detect Microvascular Changes Associated With Ageing and Diabetes / E.A. Zherebtsov, E.V. Zharkikh, Y.I. Loktionova, A.A. Zherebtsova, V.V. Sidorov, E.U. Rafailov, A.V. Dunaev // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2023.

123. Zharkikh, E. Sampling volume assessment for wearable multimodal optical diagnostic device / E. Zharkikh, V. Dremin, A. Dunaev // Journal of Biophotonics. – 2023. – Article No. e202300139.

124. Dunaev, A. Wearable Devices for Multimodal Optical Diagnostics of Microcirculatory-Tissue Systems: Application Experience in the Clinic and Space // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. – 2023. Vol. 9. – № 2. – Article No. 020201.

125. Дунаев, А.В. Методы и приборы неинвазивной медицинской спектрофотометрии: пути обоснования специализированных медико-технических требований / А.В. Дунаев, Е.А. Жеребцов, Д.А. Рогаткин // Приборы. – 2011. – № 1. – С. 40-48.

126. Dunaev, A.V. Substantiation of medical and technical requirements for noninvasive spectrophotometric diagnostic devices / A.V. Dunaev, E.A. Zherebtsov, D.A. Rogatkin, N.A. Stewart, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // Journal of Biomedical Optics. – 2013. – Vol. 18. – №. 10. – Article No. 107009.

127. Рогаткин, Д.А. Метрологическое обеспечение методов и приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии / Д.А. Рогаткин, А.В. Дунаев, Л.Г. Лапаева // Медицинская техника. – 2010. – Т. 2. – С. 30-7.

128. Fredriksson, I. Measurement depth and volume in laser Doppler flowmetry / I. Fredriksson, M. Larsson, T. Strömberg // Microvascular research. – 2009. – Vol. 78. – №. 1. – P. 4-13.

129. Hennessy, R. Effect of probe geometry and optical properties on the sampling depth for diffuse reflectance spectroscopy / R. Hennessy, W. Goth, M. Sharma, M.K. Markey, J.W. Tunnell // Journal of biomedical optics. – 2014. – Vol. 19. – №. 10. – Article No. 107002.

130. Жарких, Е.В. Моделирование диагностического объёма для

портативного устройства лазерной доплеровской флоуметрии // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2023. – Т. 22. – №. 8. – С. 42.

131. Ishimaru, A. *Wave propagation and scattering in random media.* – New York: John Wiley & Sons, 1997. – 571 p.

132. Cloud based Monte Carlo tool for photon transport [Электронный ресурс], режим доступа: www.biophotonics.fi.

133. Meglinskii, I.V. Analysis of the spatial distribution of detector sensitivity in a multilayer randomly inhomogeneous medium with strong light scattering and absorption by the Monte Carlo method / I.V. Meglinskii, S.D. Matcher // *Optics and Spectroscopy.* – 2001. – Vol. 91. – P. 654-659.

134. Doronin, A. Online object oriented Monte Carlo computational tool for the needs of biomedical optics / A. Doronin, I. Meglinski // *Biomedical optics express.* – 2011. – Vol. 2. – №. 9. – P. 2461-2469.

135. Petrov, G.I. Human tissue color as viewed in high dynamic range optical spectral transmission measurements / G.I. Petrov, A. Doronin, H.T. Whelan, I. Meglinski, V.V. Yakovlev // *Biomedical optics express.* – 2012. – Vol. 3. – №. 9. – P. 2154-2161.

136. Saidi, I.S. Mie and Rayleigh modeling of visible-light scattering in neonatal skin / I.S. Saidi, S.L. Jacques, F.K. Tittel // *Applied optics.* – 1995. – Vol. 34. – №. 31. – P. 7410-7418.

137. Тучин, В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / В.В. Тучин. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2012. – 812 с.

138. Roggan, A. The optical properties of biological tissue in the near infrared wavelength range / A. Roggan, K. Dorschel, O. Minet, D. Wolff, G. Muller // *Laser-induced interstitial therapy.* – 1995. – P. 10-44.

139. Ding, H. Refractive indices of human skin tissues at eight wavelengths and estimated dispersion relations between 300 and 1600 nm / H. Ding, J.Q. Lu, W.A. Wooden, P.J. Kragel, X.H. Hu // *Physics in Medicine & Biology.* – 2006. – Vol. 51. – №. 6. – Article No. 1479.

140. Vo-Dinh, T. *Biomedical photonics handbook: biomedical diagnostics.* –

Boca-Raton: CRC press, 2014. – 889 p.

141. Salomatina, E. Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range / E. Salomatina, B. Jiang, J. Novak, A.N. Yaroslavsky // *Journal of biomedical optics*. – 2006. – Vol. 11. – №. 6. – Article No. 064026.

142. Van Gemert, M.J.C. Skin optics / M.J.C. Van Gemert, S.L. Jacques, H.J.C.M. Sterenborg, W.M. Star // *IEEE Transactions on biomedical engineering*. – 1989. – Vol. 36. – №. 12. – P. 1146-1154.

143. Bosschaart, N. A literature review and novel theoretical approach on the optical properties of whole blood / N. Bosschaart, G.J. Edelman, M.C. Aalders, T.G. van Leeuwen, D.J. Faber // *Lasers in medical science*. – 2014. – Vol. 29. – P. 453-479.

144. Dremin, V.V. How the melanin concentration in the skin affects the fluorescence-spectroscopy signal formation / V.V. Dremin, A.V. Dunaev // *Journal of Optical Technology*. – 2016. – Vol. 83. – №. 1. – P. 43-48.

145. Dremin, V. Influence of melanin content on laser doppler flowmetry and tissue reflectance oximetry signal formation / V. Dremin, N. Golubova, E. Potapova, A. Dunaev // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2021. – Vol. 7. – № 4. – Article No. 40306.

146. Kurakina, D. Probing depth in diffuse reflectance spectroscopy of biotissues: a Monte Carlo study / D. Kurakina, V. Perekatova, E. Sergeeva, A. Kostyuk, I. Turchin, M. Kirillin // *Laser Physics Letters*. – 2022. – Vol. 19. – №. 3. – Article No. 035602.

147. Dremin, V. Influence of blood pulsation on diagnostic volume in pulse oximetry and photoplethysmography measurements / V. Dremin, E. Zhrebtsov, A. Bykov, A. Popov, A. Doronin, I. Meglinski // *Applied optics*. – 2019. – Vol. 58. – №. 34. – P. 9398-9405.

148. Корси, Л.В. Лазерные доплеровские методы и средства исследования периферического кровообращения / Л.В. Корси, В.Г. Соколов // *Лазерно-Оптические системы и технологии*. – 2009. – С. 95-100.

149. Liebert, A. Optoelectronic standardization of laser Doppler perfusion monitors / A. Liebert, P. Lukasiewicz, D. Boggett, R. Maniewski // *Review of scientific*

instruments. – 1999. – Vol. 70. – №. 2. – P. 1352-1354.

150. Dunaev, A.V. Novel measure for the calibration of laser Doppler flowmetry devices / A.V. Dunaev, E.A. Zherebtsov, D.A. Rogatkin, N.A. Stewart, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // Proc. SPIE. – 2014. – Vol. 8936. – Article No. 89360D.

151. Дунаев, А В. Принципы построения тест-объектов для контроля технического состояния приборов мультипараметрической оптической диагностики // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2020. – Т. 343. – №. 5. – С. 104.

152. Ogrin, R. Age-related changes in microvascular blood flow and transcutaneous oxygen tension under basal and stimulated conditions / R. Ogrin, P. Darzins, Z. Khalil // The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. – 2005. – Vol. 60. – №. 2. – P. 200-206.

153. Tikhonova, I.V. Age-related changes of skin blood flow during postocclusive reactive hyperemia in human / I.V. Tikhonova, A.V. Tankanag, N.K. Chemeris // Skin Research and Technology. – 2013. – Vol. 19. – №. 1. – P. e174-e181.

154. Nagashima, Y. Evaluation of the use of an integration-type laser-Doppler flowmeter with a temperature-loading instrument for measuring skin blood flow in elderly subjects during cooling load: comparison with younger subjects / Y. Nagashima, Y. Yada, T. Suzuki, A. Sakai // International Journal of Biometeorology. – 2003. – Vol. 47. – P. 139-147.

155. Tikhonova, I.V. Time–amplitude analysis of skin blood flow oscillations during the post-occlusive reactive hyperemia in human / I.V. Tikhonova, A.V. Tankanag, N.K. Chemeris // Microvascular Research. – 2010. – Vol. 80. – №. 1. – P. 58-64.

156. Urbancic-Rovan, V. Skin blood flow in the upper and lower extremities of diabetic patients with and without autonomic neuropathy / V. Urbancic-Rovan, A. Stefanovska, A. Bernjak, K. Ažman-Juvan, A. Kocijančič // Journal of vascular research. – 2004. – Vol. 41. – №. 6. – P. 535-545.

157. Hodges, G.J. Effect of age on cutaneous vasomotor responses during local skin heating / G.J. Hodges, M.M. Mallette, G.A. Tew, J.M. Saxton, J. Moss, A.D. Ruddock, M. Klonizakis // Microvascular research. – 2017. – Vol. 112. – P. 47-52.

158. Бабошина, Н.В. Особенности функционирования системы микроциркуляции у лиц обоего пола на разных возрастных этапах // Физиология человека. – 2018. – Т. 44. – №. 4. – С. 107-115.

159. Aalkjær, C. Vasomotion–what is currently thought? / C. Aalkjær, D. Boedtkjer, V. Matchkov // *Acta Physiologica*. – 2011. – Vol. 202. – №. 3. – P. 253-269.

160. Tankanag, A.V. Wavelet phase coherence analysis of the skin blood flow oscillations in human / A.V. Tankanag, A.A. Grinevich, T.V. Kirilina, G.V. Krasnikov, G.M. Piskunova, N.K. Chemeris // *Microvascular Research*. – 2014. – Vol. 95. – P. 53-59.

161. Jörneskog, G. Skin capillary circulation severely impaired in toes of patients with IDDM, with and without late diabetic complications / G. Jörneskog, K. Brismar, B. Fagrell // *Diabetologia*. – 1995. – Vol. 38. – P. 474-480.

162. Jonasson, H. Skin microvascular endothelial dysfunction is associated with type 2 diabetes independently of microalbuminuria and arterial stiffness / H. Jonasson, S. Bergstrand, F.H. Nystrom, T. Länne, C.J. Östgren, N. Bjarnegård, I. Fredriksson, M. Larsson, T. Strömberg // *Diabetes and Vascular Disease Research*. – 2017. – Vol. 14. – №. 4. – P. 363-371.

163. Rossi, M. Generalised wavelet analysis of cutaneous flowmotion during post-occlusive reactive hyperaemia in patients with peripheral arterial obstructive disease / M. Rossi, S. Bertuglia, M. Varanini, A. Giusti, G. Santoro, A. Carpi // *Biomedicine & pharmacotherapy*. – 2005. – Vol. 59. – №. 5. – P. 233-239.

164. Jan, Y.K. Differences in skin blood flow oscillations between the plantar and dorsal foot in people with diabetes mellitus and peripheral neuropathy / Y.K. Jan, F. Liao, G.L. Cheing, F. Pu, W. Ren, H.M. Choi // *Microvascular research*. – 2019. – Vol. 122. – P. 45-51.

165. Belcaro, G. Skin flow the venoarteriolar response and capillary filtration in diabetics. A 3-year follow-up / G. Belcaro, A.N. Nicolaidis, N. Volteas, M. Leon // *Angiology*. – 1992. – Vol. 43. – №. 6. – P. 490-495.

166. Stirban, A. Microvascular dysfunction in the context of diabetic neuropathy // *Current diabetes reports*. – 2014. – Vol. 14. – №. 11. – P. 541.

167. Жарких, Е.В. Портативные устройства лазерной доплеровской флоуметрии в диагностике расстройств периферического кровотока у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Е.В. Жарких, А.В. Дунаев // Медицинская физика. – 2023. – № 2. – С. 51–52.
168. Козлов, В.И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови / В.И. Козлов, Г.А. Азизов, О.А. Гурова, Ф.Б. Литвин // Методическое пособие для врачей. М. – 2012. – Т. 32.
169. Giacco, F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // Circulation research. – 2010. – Vol. 107. – №. 9. – P. 1058-1070.
170. Li, C. Oxidative stress-related mechanisms and antioxidant therapy in diabetic retinopathy / C. Li, X. Miao, F. Li, S. Wang, Q. Liu, Y. Wang, J. Sun // Oxidative medicine and cellular longevity. – 2017. – Vol. 2017. – Article No. 9702820.
171. Koh, E.H. Effects of alpha-lipoic acid on body weight in obese subjects / E.H. Koh, W.J. Lee, S.A. Lee, E.H. Kim, E.H. Cho, E. Jeong, D.W. Kim, M.S. Kim, J.Y. Park, K.G. Park, H.J. Lee, I.K. Lee, S. Lim, H.C. Jang, K.H. Lee, K.U. Lee // The American journal of medicine. – 2011. – Vol. 124. – №. 1. – P. 85-e1.
172. Kamenova, P. Improvement of insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus after oral administration of alpha-lipoic acid // HORMONES-ATHENS. – 2006. – Vol. 5. – №. 4. – P. 251.
173. SYDNEY Trial Authors, for the SYDNEY Trial Study Group, The Sensory Symptoms of Diabetic Polyneuropathy Are Improved With α -Lipoic Acid // Diabetes care. – 2003. – Т. 26. – №. 3. – С. 770-776.
174. Ziegler, D. Oral treatment with α -lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial / D. Ziegler, A. Ametov, A. Barinov, P.J. Dyck, I. Gurieva, P.A. Low, U. Munzel, N. Yakhno, I. Raz, M. Novosadova, J. Maus, R. Samigullin // Diabetes care. – 2006. – Vol. 29. – №. 11. – P. 2365-2370.
175. Bureković, A. The role of α -lipoic acid in diabetic polyneuropathy treatment / A. Bureković, M. Terzić, S. Alajbegović, Z. Vukojević, N. Hadžić // Bosnian Journal of Basic Medical Sciences. – 2008. – Vol. 8. – №. 4. – Article No. 341.
176. Han, T. Therapy of endocrine disease: A systematic review and meta-

analysis of α -lipoic acid in the treatment of diabetic peripheral neuropathy / T. Han, J. Bai, W. Liu, Y. Hu // *European journal of endocrinology*. – 2012. – Vol. 167. – №. 4. – P. 465-471.

177. Куликов, Д.А. Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете / Д.А. Куликов, А.А. Глазков, Ю.А. Ковалева, Н.В. Балашова, А.В. Куликов // *Сахарный диабет*. – 2017. – Т. 20. – №. 4. – С. 279-285.

178. Куликов, Д.А. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в оценке нарушений кожной микроциркуляции крови у пациентов с диабетической полинейропатией. Часть 2 / Д.А. Куликов, К.А. Красулина, П.А. Глазкова, Ю.А. Ковалева, А.А. Глазков, И.А. Барсуков // *Вестник Национального медико-хирургического центра им. НИ Пирогова*. – 2021. – Т. 16. – №. 3. – С. 77-83.

179. Schramm, J.C. Microvascular Changes in the Diabetic Foot / J.C. Schramm, T. Dinh, A. Veves // *The international journal of lower extremity wounds*. – 2006. – Vol. 5. – №. 3. – P. 149-159.

180. Burns, S. Diabetic foot ulceration and amputation / S. Burns, Y.-K. Jan // in *Rehabilitation Medicine*. Croatia: InTech. – 2012, 20 p.

181. Fagrell, B. Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine / B. Fagrell, M. Intaglietta // *Journal of internal medicine*. – 1997. – Vol. 241. – №. 5. – P. 349-362.

182. Hodges, G.J. Noninvasive examination of endothelial, sympathetic, and myogenic contributions to regional differences in the human cutaneous microcirculation / G.J. Hodges, A.T. Del Pozzi // *Microvascular research*. – 2014. – Vol. 93. – P. 87-91.

183. Saboori, S. Effects of alpha-lipoic acid supplementation on C-reactive protein level: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials / S. Saboori, E. Falahi, E. Eslampour, M.Z. Khosroshahi, E.Y. Rad // *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. – 2018. – Vol. 28. – №. 8. – P. 779-786.

184. Favaron, E. Capillary leukocytes, microaggregates, and the response to hypoxemia in the microcirculation of coronavirus disease 2019 patients / E. Favaron, C. Ince, M.P. Hilty, B. Ergin, P. van der Zee, Z. Uz, P.D.W. Garcia, D.A. Hofmaenner, C.T.

Acevedo, W.J. van Boven, S.Akin, D. Gommers, H. Endeman // *Critical Care Medicine*. – 2021. – Vol. 49. – №. 4. – P. 661.

185. Natalello, G. Nailfold capillaroscopy findings in patients with coronavirus disease 2019: Broadening the spectrum of COVID-19 microvascular involvement / G. Natalello, G. De Luca, L. Gigante, C. Campochiaro, E. De Lorenzis, L. Verardi, A. Paglionico, L. Petricca, A.M. Martone, S. Calvisi, M. Ripa, G. Cavalli, E. Della-Torre, M. Tresoldi, F. Landi, S.L. Bosello, E. Gremese, L. Dagna // *Microvascular research*. – 2021. – Vol. 133. – Article No. 104071.

186. Karahan, S. Nailfold videocapillaroscopy in patients with COVID-19-associated pneumonia in intensive care units / S. Karahan, K. Aydin, A. Cetinkaya, H.A. Sirakaya // *Age*. – 2022. – Vol. 60. – №. 7.05. – Article No. 0.623.

187. Sabioni, L. Systemic microvascular endothelial dysfunction and disease severity in COVID-19 patients: Evaluation by laser Doppler perfusion monitoring and cytokine/chemokine analysis / L. Sabioni, A. De Lorenzo, C. Lamas, F. Muccillo, H.C. Castro-Faria-Neto, V. Estado, E. Tibirica // *Microvascular research*. – 2021. – Vol. 134. – Article No. 104119.

188. Glazkov, A.A. Skin microcirculation reactivity to local thermal hyperaemia in patients with COVID-19—A pilot observational study / A.A. Glazkov, D.S. Ulbashev, G.G. Borshchev, A.A. Pulin, P.A. Glazkova, D.A. Kulikov // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. – 2023. – Vol. 83. – №. 1. – P. 19-29.

189. Tehrani, S. Skin microvascular reactivity correlates to clinical microangiopathy in type 1 diabetes: A pilot study / S. Tehrani, K. Bergen, L. Azizi, G. Jörneskog // *Diabetes and Vascular Disease Research*. – 2020. – Vol. 17. – №. 3. – Article No. 1479164120928303.

190. Власов, И.Ю. Применение портативных анализаторов микроциркуляции крови для контроля параметров гемодинамики в реабилитационном периоде после COVID-19 / И.Ю. Власов, Е.В. Жарких, Ю.И. Локтионова, Е.В. Шураева, А.А. Федорович, К.В. Подмастерьев, А.В. Дунаев // XV Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ'2022» – Владимир-Суздаль, Россия, Доклады, 315-318 (2022).

191. Власов, И.Ю. Оценка параметров периферического кровотока в период реабилитации после острой коронавирусной инфекции / И.Ю. Власов, Ю.И. Локтионова, Е.В. Жарких, Е.В. Шураева // Радиоэлектроника. Проблемы и перспективы развития [эл. ресурс]: сб. тр. VII Всерос. молодежн. науч. конф., май 2022 г. / под ред. Д.Ю. Муромцева и др. – Тамбов: Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2022. – С. 165-167.

192. Zharkikh, E.V. Assessment of blood microcirculation changes after COVID-19 using wearable laser Doppler flowmetry / E.V. Zharkikh, Yu.I. Loktionova, A.A. Fedorovich, A.Y. Gorshkov, A.V. Dunaev // *Diagnostics*. – 2023. – Vol. 13. – №. 5. – Article No. 920.

193. Invernizzi, A. Impending central retinal vein occlusion in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19) / A. Invernizzi, M. Pellegrini, D. Messenio, M. Cereda, P. Olivieri, A.M. Brambilla, G. Staurenghi // *Ocular Immunology and Inflammation*. – 2020. – Vol. 28. – №. 8. – P. 1290-1292.

194. Invernizzi, A. Retinal vessels modifications in acute and post-COVID-19 / A. Invernizzi, M. Schiuma, S. Parrulli, A. Torre, F. Zicarelli, V. Colombo, S. Marini, E. Villella, A. Bertoni, S. Antinori, G. Rizzardini, M. Galli, L. Meroni, A. Giacomelli, G. Staurenghi // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11. – №. 1. – P. 19373.

195. Корневский, Н.А. Биотехнические системы медицинского назначения: Учебник / Корневский Н.А., Попечителей Е.П. – Старый Оскол: ТНТ. – 2019. – 688 с.

196. Корневский, Н.А. Методология синтеза гибридных нечётких решающих правил для медицинских интеллектуальных систем поддержки принятия решений: Монография / Корневский Н.А., Родионова С.Н., Хрипина И.И. – Старый Оскол: ТНТ. – 2020. – 472 с.

197. Корневский, Н.А. Математические методы обработки медико-биологической информации. Математическая статистика: Учебник / Корневский Н.А., Юлдашев З.М., Конаныхина Т.Н. – Старый Оскол: ТНТ. – 2021. – 304 с.

198. Zharebtsova, A.I. Multimodal optical diagnostics of the microhaemodynamics in upper and lower limbs / A.I. Zharebtsova, V.V. Dremin, I.N.

Maikov, E.A. Zherebtsov, A.V. Dunaev, A. Goltsov, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Frontiers in physiology*. – 2019. – Vol. 10. – Article No. 416.

199. Эфрон, Б. Нетрадиционные методы многомерного статистического анализа: СБ. Ст. / Б. Эфрон ; пер. с англ. Ю.П. Адлера и др.; Под ред. Ю.П. Адлера; предисл. Ю.П. Адлера, Ю.А. Кошевника. – Москва: финансы и статистика. – 1988. – 261 с.

200. Воронцов, К.В. Комбинаторный подход к оценке качества обучаемых алгоритмов / К.В. Воронцов // *Математические вопросы кибернетики*. – №4. – 2004. – С. 5-36.

201. Жеребцова, А.И. Метод и устройство диагностики функционального состояния периферических сосудов верхних конечностей / А.И. Жеребцова, Е.А. Жеребцов, А.В. Дунаев, К.В. Подмастерьев, А.В. Коськин, О.В. Пилипенко // *Медицинская техника*. – 2017. – Т. 301. – №. 1. – С. 33.

202. Ахутин, В.М. Теория и проектирование диагностической электронно-медицинской аппаратуры / В.М. Ахутин, О.Б. Лурье, А.П. Немирко, Е.П. Попечителей. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1980. – 147 с.

203. Ахутин, В.М. Биотехнические системы: теория и проектирование / В.М. Ахутин, А.П. Немирко, Н.Н. Першин, А.В. Пожаров, Е.П. Попечителей, С.В. Романов. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1981. – 220 с.

204. Дунаев, А.В. Принципы построения технических средств мультипараметрической оптической диагностики для оценки функционального состояния микроциркуляторно-тканевых систем // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2020. – Т. 344. – №. 6. – С. 131-140.

205. Dunaev, A. Methodology of microcirculatory-tissue systems multimodal optical diagnostics // *Proc. SPIE*. – 2022. – Vol. 12192. – Article No. 121920T.

206. Жарких, Е.В. Регуляция синуклеинами и синглетным кислородом выработки инсулина у мышечной ткани / Е.В. Жарких, Ю.И. Локтионова, В.В. Дрёмин, К.Д. Чапуров, А.В. Дунаев, Н.Н. Нинкина, А.Ю. Абрамов // *Сборник научных трудов VII съезда биофизиков России: в 2 томах, том 1* – Краснодар: Типография ФГБОУ ВО «КубГТУ». - С. 408 (2023).

207. Novikova, I.N. Laser-induced singlet oxygen selectively triggers oscillatory mitochondrial permeability transition and apoptosis in melanoma cell lines / I.N. Novikova, E.V. Potapova, V.V. Dremin, A.D. Dunaev, A.Y. Abramov // *Life sciences*. – 2022. – Vol. 304. – Article No. 120720.

208. Makovik, I. Efficiency of direct photoinduced generation of singlet oxygen at different wavelengths, power density and exposure time of laser irradiation / I. Makovik, A. Vinokurov, A. Dunaev, E. Rafailov, V. Dremin // *Analyst*. – 2023.

209. Dremin, V. Direct laser-induced singlet oxygen in biological systems: application from in vitro to in vivo / V. Dremin, O. Semyachkina-Glushkovskaya, E. Rafailov // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2023.

210. Sokolovski, S.G. Singlet oxygen stimulates mitochondrial bioenergetics in brain cells / S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov, A.Y. Abramov, P.R. Angelova // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2021. – Vol. 163. – P. 306-313.

211. Wijesekara, N. α -synuclein regulates peripheral insulin secretion and glucose transport / N. Wijesekara, R. Ahrens, L. Wu, T. Langman, A. Tandon, P.E. Fraser // *Frontiers in Aging Neuroscience*. – 2021. – Vol. 13. – Article No. 665348.

212. Geng, X. α -Synuclein binds the KATP channel at insulin-secretory granules and inhibits insulin secretion / X. Geng, H. Lou, J. Wang, L. Li, A.L. Swanson, M. Sun, D. Beers-Stolz, S. Watkins, R.G. Perez, P. Drain // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2011. – Vol. 300. – №. 2. – P. E276-E286.

213. Deas, E. PINK1 deficiency in β -cells increases basal insulin secretion and improves glucose tolerance in mice / E. Deas, K. Piipari, A. Machhada, A. Li, A. Gutierrez-del-Arroyo, D.J. Withers, N.W. Wood, A.Y. Abramov // *Open biology*. – 2014. – Vol. 4. – №. 5. – Article No. 140051.