

На правах рукописи



ДРЁМИН Виктор Владимирович

**МЕТОД И УСТРОЙСТВО ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ ТКАНЕВОГО
МЕТАБОЛИЗМА НА ОСНОВЕ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ
(НА ПРИМЕРЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА)**

Специальность 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Орел – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»

Научный руководитель: кандидат технических наук, доцент
Дунаев Андрей Валерьевич

Официальные оппоненты: **Фролов Сергей Владимирович**,
доктор технических наук, профессор
ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный техниче-
ский университет»,
профессор кафедры «Биомедицинская техника»
(г. Тамбов)

Волынский Максим Александрович
кандидат технических наук,
ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский
национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики»,
доцент кафедры компьютерной фотоники и видеоин-
форматики (г. Санкт-Петербург)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Тульский государственный университет» (г. Тула)

Защита состоится 10 ноября 2017 года в 12⁰⁰ часов на заседании диссертаци-
онного совета Д 999.099.03 на базе Юго-Западного государственного университета,
Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева, Белгородского
государственного национального исследовательского университета по адресу:
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Юго-Западного государ-
ственного университета и на сайте <http://swsu.ru/ds/diss-swsu/>

Автореферат разослан ___ октября 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 999.099.03



Милостная
Наталья Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Нарушение метаболических процессов в организме человека связано с развитием большого числа заболеваний. Одним из примеров таких патологий являются нарушения, возникающие при прогрессировании и осложнениях сахарного диабета, которые связаны с развитием гипоксии тканей, накоплением токсичных продуктов углеводного обмена и т.п. Однако в арсенале клинициста имеется ограниченное количество инструментальных методов оценки подобных изменений.

В настоящее время проводится множество исследований, направленных на изучение процессов тканевого или клеточного метаболизма с использованием различных методов, регистрирующих флуоресценцию флуорофоров, например, флуоресцентная спектроскопия (ФС). Митохондриальная функция является важным параметром жизнеспособности ткани. Так, например, по показателям активности дыхательной цепи имеется возможность предсказывать гибель клетки, диагностировать состояние тканевой ишемии или говорить о злокачественной активности. Одним из методов оценки митохондриальной функции является анализ содержания коферментов NADH и FAD, определяемого по интенсивности их эндогенной флуоресценции. Выявление изменений их концентраций методами флуоресцентной спектроскопии является одним из многообещающих направлений *in vivo* диагностики метаболических нарушений в биотканях.

Однако определение митохондриальной функции *in vivo* до сих пор является не полностью решенной задачей. Сравнительно мало исследований проводится на органном уровне. Между тем, результаты экспериментов на конкретном органе или участке организма имеют большие шансы быть успешно применены в клинической практике по сравнению с исследованиями на клеточном и субклеточном уровне. В данном направлении относительное распространение получили исследования в рамках так называемого мультипараметрического или мультимодального подхода. Данный подход заключается в использовании нескольких измерительных каналов с целью определения параметров дыхательной цепи (NADH/FAD) на фоне влияющих факторов. Группой А. Маевского были получены убедительные данные по определению митохондриальной функции в тканях мозга. Множество работ в настоящее время направлено на изучение эндогенной флуоресценции миокарда для оценки повреждений, индуцированных ишемией в условиях кардиохирургического вмешательства.

Задача определения параметров дыхательной цепи по соотношению флуоресценции коферментов NADH и FAD в эпителиально-стромальных или эпителиально-дермальных тканях в настоящее время удовлетворительно не решена. Основная проблема, которая может влиять на результаты измерений, заключается в необходимости учитывать вклад других флуорофоров в итоговый сигнал. Так, например, при сахарном диабете при длительно существующей гипергликемии наблюдается повышение гликирования белков, что сопровождается увеличением так называемых конечных продуктов гликирования (КПГ), участвующих в гликировании коллагена и других белков капиллярной мембраны и кожи. Учитывая, что коллаген является основным компонентом соединительной ткани, накопление КПГ может увеличивать интенсивность флуоресценции исследуемого участка и это необходимо учитывать при интерпретации диагностического результата. Изменения флуоресценции основных

флуорофоров NADH и FAD тесно связаны с кровотоком в большинстве органов тела, что требует также регистрации и анализа гемодинамических параметров. Данному требованию в полной мере удовлетворяет лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) – метод оптической неинвазивной диагностики, позволяющий оценивать интенсивность кровотока в микроциркуляторном звене кровеносного русла, а также обнаруживать и исследовать ритмические процессы системы микроциркуляции крови. При этом дополнительные возможности оценки функционального состояния микроциркуляторного русла при исследованиях методами ЛДФ дает применение функциональных проб, например, холодной, тепловой, окклюзионной и т.п.

Таким образом, на сегодняшний день актуальными задачами диагностики нарушений метаболизма биологических тканей человека являются поиск и обоснование диагностически значимых критериев оценки метаболического состояния биотканей, базирующихся на совместном использовании различных оптических технологий, а также разработка методов, реализующих данный подход.

Объектом исследования являются метаболические нарушения, возникающие в биологических тканях человека при сахарном диабете.

Предметом исследования являются метод и средства диагностики метаболических нарушений, возникающих в биологических тканях человека при сахарном диабете.

Целью диссертации является повышение качества диагностики тканевого метаболизма человека на примере нарушений, возникающих в нижних конечностях при сахарном диабете, за счет выявления патологических процессов с меньшей вероятностью ложноотрицательного результата посредством разработки метода и устройства диагностики, основанных на совместном использовании методов флуоресцентной спектроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии при тепловых пробах.

Задачами исследования являются:

- 1) обзор и анализ существующих инструментальных методов оценки метаболических процессов в биологических тканях человека;
- 2) обоснование принципа получения диагностической информации о метаболическом состоянии тканей человека, заключающегося в совместном использовании оптических технологий, таких как ФС и ЛДФ, в том числе при проведении локальных тепловых проб, на примере метаболических нарушений, возникающих в биотканях человека при сахарном диабете;
- 3) разработка математической модели для анализа глубины проникновения зондирующего излучения измерительного устройства, описывающей распространение оптического излучения в мутных биологических средах и учитывающей их многослойность и различные морфологические свойства;
- 4) проведение теоретических и экспериментальных исследований с целью создания диагностического критерия выявления метаболических нарушений в биотканях человека;
- 5) разработка метода и устройства диагностики метаболических нарушений биотканей человека.

Методы исследования. Результаты работы получены на основе математических теорий дифференциального и интегрального исчисления, теории переноса из-

лучения, стохастического моделирования Монте-Карло, диффузионной теории, прикладной математической статистики, экспертного оценивания, методов регрессионного, корреляционного и линейного дискриминантного анализа, методов клинических исследований.

Научная новизна работы заключается в том, что при решении задач выявления тканевых метаболических нарушений предложены:

1) математическая модель процесса распространения оптического излучения в мутных биологических средах, основанная на законе Бугера-Ламберта-Бера и теории диффузионного приближения, отличающаяся учетом многослойности структуры биологической ткани и верифицированная с помощью адаптированного к конкретной задаче моделирования Монте-Карло;

2) диагностический критерий оценки метаболического состояния биологических тканей, базирующийся на дискриминантной функции, включающей значение перфузии и амплитуд сигналов флуоресценции на выбранных длинах волн, вычисляемые по данным ФС и ЛДФ, и позволяющий классифицировать состояние кожных покровов нижних конечностей при сахарном диабете на классы отсутствия, наличия или более тяжелой формы метаболических нарушений;

3) метод диагностики нарушений тканевого метаболизма, базирующийся на совместном применении технологий ФС и ЛДФ при локальных тепловых пробах и отличающийся возможностью выявления нарушений с помощью предложенного диагностического критерия с меньшей вероятностью ложноотрицательного результата диагностики.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что предложена математическая модель процесса распространения оптического излучения в мутных биологических средах, а также метод диагностики нарушений тканевого метаболизма нижних конечностей при сахарном диабете.

Разработанные математическая модель и метод диагностики составили основу для получения результатов, представляющих **практическую значимость**:

– методика диагностики нарушений тканевого метаболизма нижних конечностей, позволяющая классифицировать состояние кожных покровов нижних конечностей при сахарном диабете;

– устройство диагностики нарушений тканевого метаболизма, позволяющее совместно регистрировать интенсивность флуоресценции тканевых флуорофоров и показатель микроциркуляции крови и классифицировать состояние кожных покровов нижних конечностей при сахарном диабете.

Результаты диссертационного исследования использованы в БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», а также приняты к внедрению в ООО НПП «ЛАЗМА» (г. Москва) и ООО «НПП «АСТРОН ЭЛЕКТРОНИКА» (г. Орел), а также в учебный процесс ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева» при подготовке бакалавров и магистров по направлению «Биотехнические системы и технологии». Отдельные результаты, полученные соискателем, использованы при выполнении работ по темам: «Разработка прибора неинвазивной диагностики для флуоресцентной спектроскопии биоткани» (Договор (Соглашение) № 2249ГУ1/2014 от 18.06.2014; Договор (Соглашение) № 7678ГУ2/2015 от 08.10.2015), финансируемой Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере; ГЗ-14/9 «Разработка методов и средств контроля для диагностики функцио-

нального состояния системы микроциркуляции крови и концентраций ферментов биоткани» (2014-2016 гг.), выполняемой в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки РФ № 310 Госуниверситету-УНПК; № МК-7168.2016.8 «Разработка технологии визуализации метаболической активности биологических тканей *in-vivo* на основе методов флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения» (2016-2017 гг.), выполняемой в рамках гранта Президента Российской Федерации; № 16-32-00662 мол_а «Разработка научных основ оценки митохондриальной функции в эпителиальных тканях методом флуоресцентной диагностики *in vivo*» (2016-2017 гг.) и № 16-32-50144 мол_нр «Исследование влияния морфологии капилляров и скорости кровотока на регистрируемые спектры эндогенной флуоресценции биологических тканей» (2016 г.), выполняемые в рамках грантов РФФИ.

Личный вклад автора заключается в проведении обзора текущего состояния вопросов диагностики метаболических процессов в биологических тканях человека, разработке математических моделей, планировании и проведении экспериментальных исследований, разработке аппаратных и программных средств экспериментальных макетов предложенных устройств, формулировке требований и разработке метода диагностики нарушений тканевого метаболизма на основании проведенной аналитической работы и математического моделирования.

Положения, выносимые на защиту:

1) математическая модель процесса распространения оптического излучения в мутных биологических средах, основанная на законе Бугера-Ламберта-Бера и теории диффузионного приближения и верифицированная с помощью адаптированного к конкретной задаче моделирования Монте-Карло, отличающаяся учетом многослойности структуры биологической ткани, позволяет решать задачу определения глубины зондирования диагностическим устройством.

2) метод диагностики нарушений тканевого метаболизма нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом, включающий регистрацию спектров интенсивности флуоресценции и сигналов ЛДФ при проведении локальных тепловых проб с дорсальной поверхности стопы, а также последующую математическую обработку полученных данных с вычислением диагностических критериев, базирующихся на дискриминантной функции, позволяет классифицировать состояние биологических тканей на классы отсутствия, наличия или более тяжелой формы метаболических нарушений с вероятностью ложноотрицательного результата диагностики менее 0,2;

3) устройство, основанное на совместном использовании методов ФС и ЛДФ при локальных тепловых пробах, позволяет выявлять метаболические нарушения биотканей человека.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обоснована использованием апробированных и подтвержденных методов и методик обработки результатов измерений, сравнением результатов аналитического моделирования с результатами стохастического моделирования Монте-Карло. Апробация результатов диссертационной работы проводилась на базе эндокринологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница».

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на 23 международных и 5 всероссийских конференциях, в том числе: III, IV, V-м Всерос-

сийском конгрессе молодых учёных (Санкт-Петербург, 2014-2016); XXIII-м Международном научно-техническом семинаре «Современные технологии в задачах управления, автоматизации и обработки информации» (Алушта, 2014); II, III, IV Symposium: Optics and Biophotonics – Saratov Fall Meeting (Саратов, 2014-2016); International Congress SPIE «Photonics West», Conference BiOS (Сан-Франциско, США, 2015-2017); 19-й Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых – Биология – наука XXI века (Пущино, 2015); X-й Международной конференции «Микроциркуляция и гемореология (Клиника и эксперимент: из лаборатории к постели больного)» (Ярославль, 2015); V International School and Conference on Photonics «PHOTONICA2015» (Белград, Сербия, 2015), 3RD Fast-Dot Summer School «Photonics Meets Biology» (Крит, 2015); VI-й Всероссийской с международным участием школе-конференции по физиологии кровообращения (Москва, 2016); XII-й Международной научной конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии» ФРЭМЭ'2016 (Суздаль, 2016); International conference Physica.SPb/2016 (Санкт-Петербург, 2016); Summer School on Optics & Photonics (Оулу, Финляндия, 2017); European Conferences on Biomedical Optics (Мюнхен, Германия, 2017); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы эндокринологии» (Санкт-Петербург, 2017); IV MESO-BRAIN Summer School «Photonics Meets Biology» (Таррагона, Испания, 2017).

Публикации. По теме диссертации опубликовано более 40 научных работ, в том числе 21 публикация в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, получено свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

Структура и объем диссертационной работы. Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованных источников, включающего 170 наименований, 6 приложений и изложена на 195 страницах машинописного текста, содержит 70 иллюстраций, 20 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационного исследования, сформулированы цель и задачи работы, а также научная новизна и положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена обзору, краткому описанию и классификации методов и устройств диагностики тканевого метаболизма человека, а также проведению предварительных теоретических и экспериментальных исследований с целью определения основных флуорофоров, формирующих сигнал флуоресценции биологических тканей.

На этапе аналитического обзора были рассмотрены современные подходы к изучению интенсивности флуоресценции в живых тканях. Проведенный обзор включает анализ физических основ, лежащих в основе диагностики. Рассмотрены основные физические параметры флуоресценции главных флуорофоров эпителиально-стромальных тканей, а также основные факторы, которые могут влиять на результат измерений. Особое внимание в обзоре уделено методам оценки митохондриальной функции в эпителиально-стромальных тканях по данным эндогенной флуоресценции коферментов NADH и FAD. Проанализированы вопросы клинического применения измерения интенсивности флуоресценции и изучены основные проблемы методологического обеспечения рассматриваемой технологии. Показаны перспективы использования мультипараметрического подхода объединения методов ФС и ЛДФ в оценке жизнеспособности биоткани, заключающегося в синергетиче-

ском эффекте и обладающего хорошим потенциалом для сбора детальной информации о биохимических, функциональных и структурных изменениях биомолекулярных комплексов непосредственно в живых тканях.

Вторая глава посвящена разработке математической модели распространения оптического излучения через мутную рассеивающую среду. Правильная интерпретация измерений интенсивности флуоресценции в здоровых тканях и областях патологии возможна, если известны глубина проникновения излучения, а также диагностический объем биоткани. Кроме того, важно, чтобы исследователь или практикующий врач понимали глубину проникновения зондирующего излучения при лазерных доплеровских измерениях для конкретного измерительного устройства. Это давало бы информацию о типах кровеносных сосудов, участвующих в формировании сигнала. Как для ЛДФ измерений, так и для измерений флуоресценции диагностический объем биоткани рассчитывали посредством оценки распределения зондирующего излучения. Для измерений флуоресценции справедливость такого подхода основана на том, что по правилу Стокса сдвига спектр флуоресценции смещается в длинноволновую область. Известно также, что поглощение света в большинстве биологических тканей для длин волн видимого спектра падает с увеличением длины волны. Таким образом, чтобы получить оценку нижней границы диагностического объема измерений, достаточно оценить объем выборки излучения для длины волны возбуждения флуоресценции.

Был проведен обзор, анализ и классификация математических моделей, описывающих распространения оптического излучения через мутную рассеивающую среду.

В настоящее время для описания процессов распространения оптического излучения в ткани применяют теорию переноса излучения, которая берет свое начало с работы Шустера 1903 г. Согласно данной теории уравнение переноса может быть представлено в следующем виде:

$$\frac{dI(\vec{r}, \hat{s})}{ds} = -\mu_t(\vec{r}) \cdot I(\vec{r}, \hat{s}) + \frac{\mu_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') I(\vec{r}, \hat{s}') d\omega' + \varepsilon(\vec{r}, \hat{s}), \quad (1)$$

где $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ – полный коэффициент затухания; μ_a – коэффициент поглощения; μ_s – коэффициент рассеяния; $p(\hat{s}, \hat{s}')$ – фазовая функция или функция рассеяния; $\varepsilon(\vec{r}, \hat{s})$ – функция источников; $d\omega'$ – элемент телесного угла вдоль направления единичного вектора \hat{s} .

Полную интенсивность I удобно разделить на две части: ослабленную падающую интенсивность I_{ri} и диффузную интенсивность I_d . Если ослабленная падающая интенсивность затухает по тривиальному экспоненциальному закону за счет поглощения и рассеяния, то главная проблема, с которой имеет дело теория переноса – определение диффузной составляющей интенсивности, так как рассеяние фотонов носит случайный характер. Поэтому применяются различные приближения: теория Кубелки-Мунка, диффузионное приближение, метод Монте-Карло и др.

Как один из наиболее часто используемых методов был рассмотрен метод стохастического моделирования Монте-Карло, а именно подходов с использованием объектно-ориентированного моделирования, которое позволяет описывать фотоны и структурные компоненты биоткани в качестве независимых объектов, взаимодействующих друг с другом. Для ускорения моделирования были реализованы парал-

тельные вычисления. В качестве основы расчетов использовалась технология параллельных вычислений CUDA (NVIDIA Corporation).

Для моделирования диагностического объема и глубины проникновения зондирующего излучения была использована модифицированная семислойная модель ткани, изначально предложенная Дорониным и Меглинским. На рисунке 1а показано распределение зондирующего излучения, полученное для параметров моделирования, соответствующих параметрам приборной части, задействованной в экспериментальных исследованиях, для длины волны 365 нм. Диагностическая глубина составляет по меньшей мере несколько сотен мкм и включает эпидермис, слой папиллярной дермы и небольшую часть верхнего кровеносного сплетения. Диагностический объем биоткани, оцененный с помощью моделирования, составляет порядка $0,2 \text{ мм}^3$.

Для длины волны возбуждения 450 нм диагностическая глубина достигает 450-500 мкм и проникает в эпидермис, папиллярную дерму и большую часть верхнего кровеносного сплетения (рисунок 1б). В этом случае диагностический объем биоткани приблизительно оценивается как $0,35 \text{ мм}^3$.

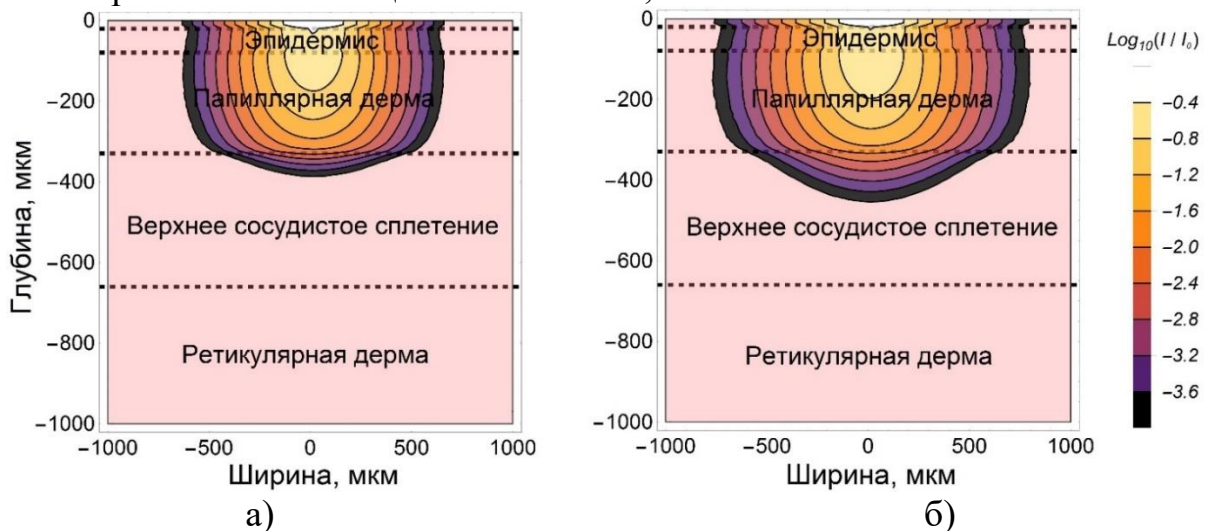


Рисунок 1 – Результат моделирования диагностического объема биоткани для флуоресцентных измерений

Проведенное моделирование показывает, что предлагаемый в экспериментальных исследованиях зонд позволяет регистрировать флуоресценцию из эпидермиса, основными флуорофорами которого являются NADH и FAD, и из дермы от коллагена.

Результаты моделирования диагностического объема биоткани для канала ЛДФ показывают, что значение составляет около $1,8 \text{ мм}^3$. Это подтверждает, что зонд разработанного устройства очень чувствителен к изменениям кровотока в папиллярной дерме, верхнем кровеносном сплетении и способен покрывать верхнюю часть ретикулярной дермы (рисунок 2).

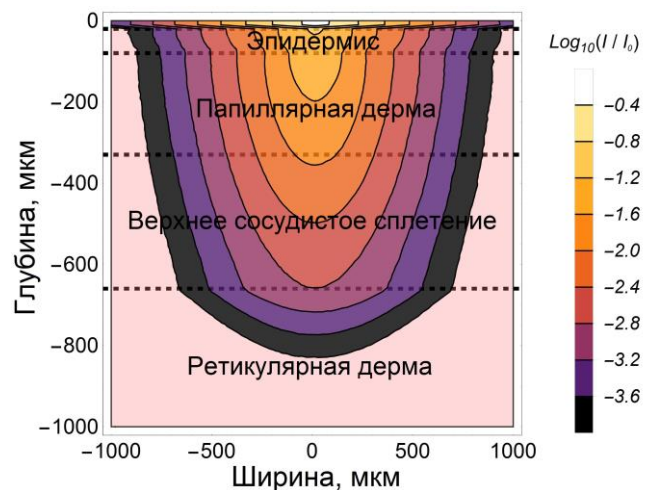


Рисунок 2 – Результат моделирования диагностического объема биоткани для ЛДФ-измерений

Однако метод Монте-Карло требует длительных компьютерных вычислений и не позволяют получать решение в виде конечного аналитического выражения, которое могло бы быть легко проанализировано на предмет влияния того или иного параметра на конечный диагностический результат.

В этой связи по результатам анализа с позиций возможности применения для оценки распространения оптического излучения наиболее перспективной нестохастической моделью признана модель, основанная на решении уравнения диффузии. Модифицированная форма данного уравнения легла в основу разработанной математической двухслойной модели биологической ткани, состоящей из эпителиального слоя и слоя соединительной ткани – дермы. Биоткань принимается двухслойной средой, состоящей из слоя эпителия толщиной D и полубесконечного слоя соединительной ткани – дермы. Каждый из этих двух слоев предполагается однородными по отношению к оптическим свойствам, таким как коэффициент рассеяния и поглощения. Волоконно-оптический зонд, находящийся на одном уровне с поверхностью ткани, обеспечивает зондирование и сбор излучения. Зонд состоит из пучка оптических волокон с числовой апертурой $NA = 0,22$.

Распространение излучения зависит от общего поглощения и рассеяния (задается коэффициентами μ_a и μ_s , соответственно) и фактора анизотропии в пределах каждого слоя g . В диапазоне длин волн интереса (от 350 нм до 650 нм) эти свойства весьма различны для двух слоев. Были рассмотрены две различные модели для описания распространения света в двух слоях. Учитывая, что средняя длина свободного пробега $\delta = 1/(\mu_s + \mu_a)$ для эпителиальных тканей (приблизительно 100-200 мкм) сравнима с его толщиной, распространение света может быть аппроксимировано с помощью закона Бугера-Ламберта-Бера. В противоположность этому слой соединительной ткани имеет относительно высокий уровень рассеяния с альбедо порядка 0,9 и средней длиной свободного пробега приблизительно 30-50 мкм. В этих условиях теория диффузии обеспечивает хорошее описание распространения света.

Для упрощения рассматривается одномерная геометрия с направлением распространения света перпендикулярно к поверхности ткани. Когда коллимированный возбуждающий свет с интенсивностью I_0 падает на эпидермис, интенсивность света затухает экспоненциально:

$$I = I_0 \cdot \exp(-\mu_{d1} \cdot D), \quad (2)$$

где $\mu_d = \sqrt{3\mu_a \mu'_t}$ – диффузионный коэффициент (эффективный коэффициент ослабления); $\mu'_t = \mu_a + \mu'_s$; $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$. Индекс 1 для всех оптических параметров относится к эпидермису. Дермальные оптические параметры указаны с индексом 2.

Часть направленного вниз зондирующего излучения достигает дермы, где оно может быть рассеяно обратно к поверхности ткани. Часть этого излучения, которое рассеяно вверх I_d , является результатом диффузного отражения I от полубесконечного дермального слоя. Согласно теории диффузионного приближения диффузная интенсивность может быть представлена как:

$$I_d(\vec{r}, \hat{s}) = U_d(\vec{r}) + \frac{3}{4\pi} F_d(\vec{r}) \hat{s}. \quad (3)$$

Поток может быть представлен в виде:

$$F_d(\vec{r}) = \frac{\mu_{s2} g_2 I}{\mu'_{t2}} \exp(-\mu_{t2} z) \hat{z} - \frac{4}{3\mu'_{t2}} \nabla U_d(\vec{r}). \quad (4)$$

Для случая падения коллимированного пучка на слой рассеивающих частиц средняя интенсивность может быть представлена как:

$$U_d(z) = A \exp(-\mu_{t2} z) + C_2 \exp(-\mu_d z), \quad (5)$$

где A и C_2 являются общим и частным решением уравнения диффузии:

$$A = -\frac{Q_0}{\mu_{t2}^2 - \mu_d^2}, \quad (6)$$

$$Q_0 = \frac{3I(\mu_{s2} \mu'_{t2} + g_2 \mu_{s2} \mu_{t2})}{4\pi}, \quad (7)$$

$$C_2 = -\frac{A(1 + \mu_{t2} h)}{1 + \mu_d h} - \frac{Q_1}{2\pi(1 + \mu_d h)}, \quad (8)$$

$$Q_1 = \left[\frac{\mu_{s2} g_2}{\mu'_{t2}} \right] \cdot I, \quad (9)$$

$$h = \frac{2}{3} \mu'_{t2}. \quad (10)$$

После всех преобразований I_d можно задать формулой:

$$I_d = \pi(A + C_2) - \frac{3\mu_{s2} g_2 I + 4\pi(A\mu_{t2} + C_2 \mu_{d2})}{6\mu'_{t2}}. \quad (11)$$

При выведении формулы было использовано приближение δ -Эддингтона для достижения лучшего описания фазовой функции рассеяния вперед в дермальном слое.

Излучение затем ещё раз затухает, возвращаясь обратно через эпидермис на поверхность ткани. I_d является фактически полусферическим потоком в направлении к поверхности ткани, и доля этого излучения, которая собирается с помощью волоконно-оптического зонда I_{bs} , аппроксимируется отношением R_{NA} телесного угла с числовой апертурой волокна к телесному углу полусферы:

$$I_{bs} = R_{NA} \cdot I_d \cdot \exp(-\mu_{d1} \cdot D). \quad (12)$$

На рисунке 3 представлены результаты предложенной аналитической модели по описанию глубины проникновения зондирующего излучения.

Наибольшая глубина проникновения оценивалась в момент достижения модельной интенсивности излучения постоянного значения. Разница в результатах в сопоставление с результатами Монте-Карло моделирования составляет не более 5 %. Таким образом, предложенная модель адекватна и может быть использована для теоретического исследования глубин проникновения оптического излучения в биоткань.

Третья глава посвящена проведению теоретических и экспериментальных исследований с целью обоснования метода диагностики тканевого метаболизма, заключающегося в совместном использовании методов ФС и ЛДФ при проведении тепловой пробы на примере нарушений, возникающих в биотканях при осложнениях сахарного диабета.

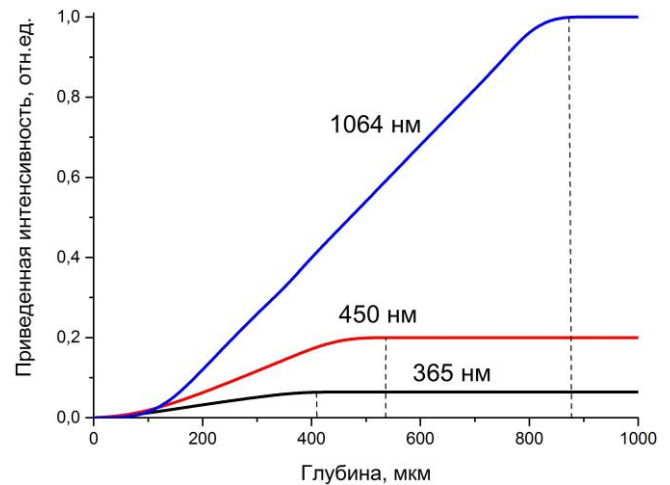


Рисунок 3 – Результаты аналитического моделирования глубины зондирования

В комплексных экспериментальных исследованиях оценивались флуоресценция биоткани методом ФС и перфузия ткани кровью методом ЛДФ при тепловой функциональной пробе.

Регистрация параметров перфузии и амплитуд флуоресценции биоткани обеспечивалась разработанным анализатором (ООО НПП «ЛАЗМА», г. Москва, Россия) одновременно и в одном объеме ткани. В доплеровском канале применялся лазерный модуль с длиной волны излучения 1064 нм, для возбуждения флуоресценции использовались источники на длинах волн излучения 365 нм и 450 нм. Доставка зондирующего излучения и прием обратно отраженного от ткани вторичного излучения осуществлялась одним оптическим волоконным зондом. Тепловые пробы осуществлялись при помощи аппарата «ЛАЗМА-ТЕСТ» (ООО НПП «ЛАЗМА», г. Москва, Россия). В процессе экспериментальных исследований оптический зонд устанавливался на дорсальной поверхности стопы в точке, расположенной на плато между 1-й и 2-й плюсневными костями. Схема экспериментальной установки для исследования гемодинамических параметров и флуоресценции биоткани, приведена на рисунке 4.

Каждое исследование включало в себя 4 этапа по 4 минуты каждый: базовый тест, охлаждение до 25 °С и локальные тепловые пробы с температурами 35 °С и 42 °С. Применение охлаждения до 25 °С было обусловлено различиями исходной температуры в исследуемой зоне и необходимостью приведения температуры кожи в зоне обследования у всех испытуемых к одинаковым начальным условиям.

В исследованиях приняли участие 76 пациентов (28 мужчин и 48 женщин) с сахарным диабетом в возрасте 53 ± 13 лет эндокринологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница». В исследование включали пациентов с СД 2 типа с длительным периодом заболевания и высоким уровнем гликированного гемоглобина, находящихся в зоне риска развития диабетической стопы. Из этой группы 14 человек имели видимые трофические нарушения на ногах, а также повышенные значения лабораторных показателей (8 мужчин и 6 женщин). Критериями исключения при проведении экспериментальных исследований являлись: острый период заболеваний сердечно-сосудистой, бронхолегочной систем, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови, диагностированные отеки, варикозное расширение вен, тромбофлебит, т.е. состояния, которые могли оказывать влияние на диагностический результат. Контрольную группу составили 48 условно здоровых добровольцев (16 женщин, 32 мужчины) со средним возрастом 46 ± 6 лет.

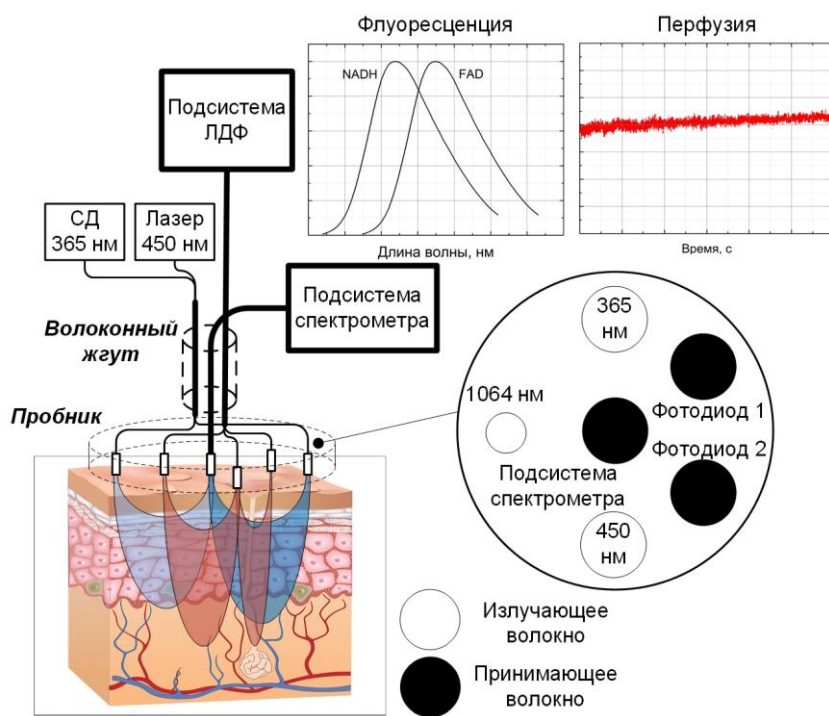
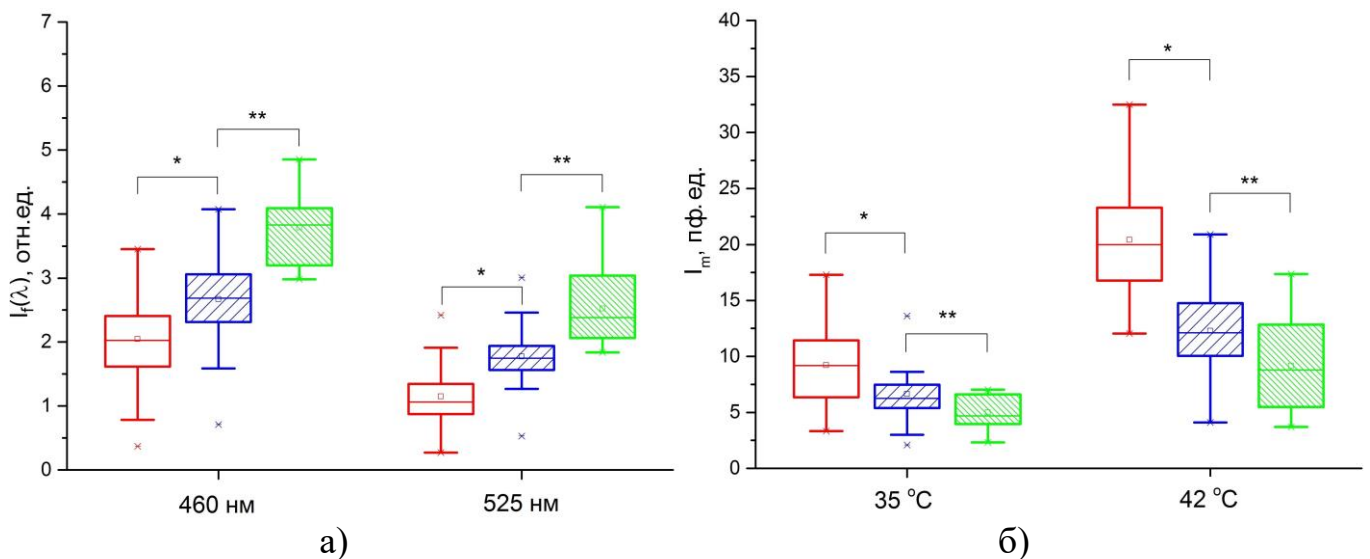


Рисунок 4 – Общая схема измерительной системы

Экспериментальные исследования были проведены в соответствии с разработанным протоколом исследования, утвержденным на заседании этического комитета при ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» от 03.11.2015 (протокол заседания № 7). Все участники экспериментальных исследований были ознакомлены с содержанием исследования и подписывали бланк информированного согласия с указанием их готовности к участию в измерениях.

Исследования показали, что у больных СД наблюдаются повышенные значения нормированных амплитуд флуоресценции $I_f(\lambda)$, а также более низкий отклик перфузии при локальном нагреве до 35 и 42 °С. При этом у выделенной группы с наличием выраженных осложнений эти параметры также достоверно отличаются от контроля и общей группы пациентов с диабетом (рисунок 5).



* – статистическая значимость различий по отношению к условно-здоровым добровольцам с вероятностью $p < 0,01$;

** статистическая значимость различий по отношению к группе пациентов эндокринологического профиля без язв с вероятностью $p < 0,01$

Рисунок 5 – Сравнение измеренных параметров: нормализованная амплитуда флуоресценции (а) и средняя перфузия на этапах нагрева до 35 и 42 °С (б)

Статистически значимые различия параметров могут быть связаны с рядом причин. При сахарном диабете может возникать гипоксия в тканях. При возникновении гипоксии аэробный путь дыхания клеток нарушается и замедляется окисление NADH в митохондриях клеток, при этом активируется гликолизный путь образования NADH. В этой связи накопление NADH может выступать признаком гипоксии тканей и его вклад в общий сигнал флуоресценции, как показатель общего кислородного голодания в тканях.

Конечные продукты гликирования также участвуют в механизмах развития осложнений диабета. Быстрое образование внутриклеточных КПП способствует нарушению функции белков, и их накопление может служить объективным маркером конечного гликозилирования в тканях. При этом общепринятый показатель гликозилирования в тканях HbA1c характеризует процессы гликирования, произошедшие за короткий период (около 3-х месяцев), изменения же в накоплении КПП в коже характеризуют более длительный период. Учитывая большую продолжительность жизни молекул коллагена и стабильность КПП, возможно использовать флуоресценцию кожи как показатель суммарного воздействия гипергликемии в течение жизни.

Также показано, что накопление КПП может подавлять синтез NO в эндотелиальных клетках. В том числе этим объясняется различия ответа перфузии на стимуляционное воздействие. При локальной тепловой пробе прирост перфузии происходит преимущественно за счет двух механизмов. При нагреве кожи до 35 °С происходит активация сенсорных пептидергических нервных волокон за счет активации термочувствительных ваниллоидных рецепторов сенсорных волокон TRPV1. При нагреве кожи до 42 °С вазодилатация связана с освобождением NO из эндотелия сосудов. Топографически при локальном нагреве участвуют как артериолы, так и капилляры. При СД закономерно происходит дисфункция всех звеньев микроциркуляторного русла и тканевых систем, в том числе эндотелия сосудов и периваскулярных нервных волокон. Поэтому тепловая проба патогенетически обоснована для диагностики этих расстройств при СД. Снижение прироста перфузии при нагреве кожи до 35 °С – объективный критерий дисфункции сенсорных нервных волокон как компонента диабетической невропатии. Снижение прироста перфузии при нагреве кожи до 42 °С отражает дефицит эндотелий-зависимых механизмов вазодилатации.

Флуоресценция кожи и уровень перфузии тканей кровью при тепловой пробе может быть маркером различной степени осложнений, от начала течения СД до образования трофических язв.

Для синтеза решающего правила в качестве анализируемых параметров предлагается использовать нормированные амплитуды флуоресценции кожи и среднюю перфузию в этапы локальной тепловой пробы. Предварительно было установлено, что эти параметры удовлетворяют принципам статистической независимости, а также значимости различий их значений, вычисленных для групп пациентов и контроля. Несмотря на то, что в базальном состоянии предложенные параметры могут быть физиологически связаны, в представленных результатах анализируются параметры, полученные в разные этапы исследований – флуоресценция базального состояния и микроциркуляция в разные этапы локальных тепловых проб. Причем уровень ошибки второго рода, установленный на основе экспертного анализа с привлечением ведущих врачей-специалистов в данной области, должен быть менее 0,2.

На рисунке ба представлены результаты проведенного линейного дискриминантного анализа в виде графика рассеяния экспериментальных данных с нанесением дискриминантных линий, которые делят экспериментальные точки на три группы (здоровые, диабетические и диабетические с язвами пациенты). Наименьший уровень ошибки удается получить при комбинации интенсивности флуоресценции при возбуждении длиной волны 365 нм и уровнем перфузии при стимуляции микроциркуляции при 42 °С. Непосредственным диагностическим критерием является модель классификации в виде дискриминантной функции, позволяющая классифицировать отсутствие, наличие или более тяжелую форму метаболических нарушений:

$$\begin{cases} D1 = -2.55 - 0.45I_{460} + 0.23I_m^{42^{\circ}C}, \\ D2 = -1.8 + 1.16I_{460} - 0.18I_m^{42^{\circ}C}. \end{cases} \quad (13)$$

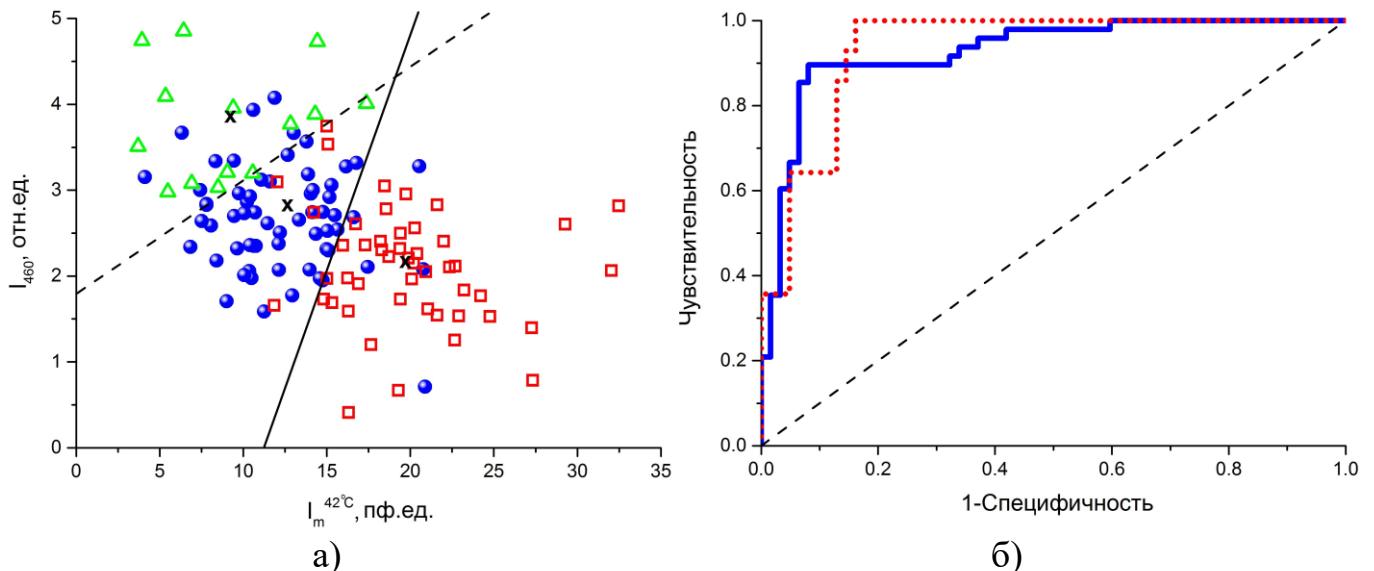


Рисунок 6 – Результаты линейного дискриминантного анализа (а); ROC-кривые для оценки эффективности классификатора (б)

Дискриминантные функции синтезированы таким образом, чтобы обеспечить высокую чувствительность при обеспечении хорошей специфичности. Для первого классифицирующего правила по разделению контрольной группы и группы пациентов с диабетом без язв были получены чувствительность и специфичность равные 0,92 и 0,90, соответственно. Для второго классифицирующего правила для группы пациентов с диабетом и группы с язвами – 0,86 и 0,85. Как видно из рисунка 6а, сдвиг влево-вверх характеризует ухудшение состояния пациента и увеличивает риск развития язв стопы.

На рисунке 6б представлены ROC-кривые, вычисленные для полученных дискриминантных функций. Для сравнения качества различных классифицирующих правил удобно использовать интегральную характеристику AUC (Area Under Curve) – площадь под ROC-кривой. В нашем случае для обоих классифицирующих правил $AUC=0,93$. Это говорит о высоком уровне качества классификатора.

Таким образом, результаты обработки совместных неинвазивных исследований нижних конечностей методами оптической спектроскопии позволяют осуществлять комплексный подход к диагностике нарушений тканевого метаболизма у больных СД и разработать соответствующий метод диагностики.

Четвертая глава посвящена разработке метода и принципов построения устройства диагностики метаболического состояния биотканей пациентов с СД.

Предложенный метод диагностики заключается в одновременной регистрации флуоресценции кожных флуорофоров методом ФС и показателя микроциркуляции крови методом ЛДФ при проведении локальных тепловых проб в области дорсальной поверхности стопы и последующем анализе полученных данных с вычислением диагностического критерия, базирующегося на модели классификации в виде дискриминантной функции и позволяющего классифицировать отсутствие, наличие или более тяжелую форму метаболических нарушений.

Предложена структура реализации устройства диагностики нарушений метаболического состояния биотканей человека (рисунок 7).

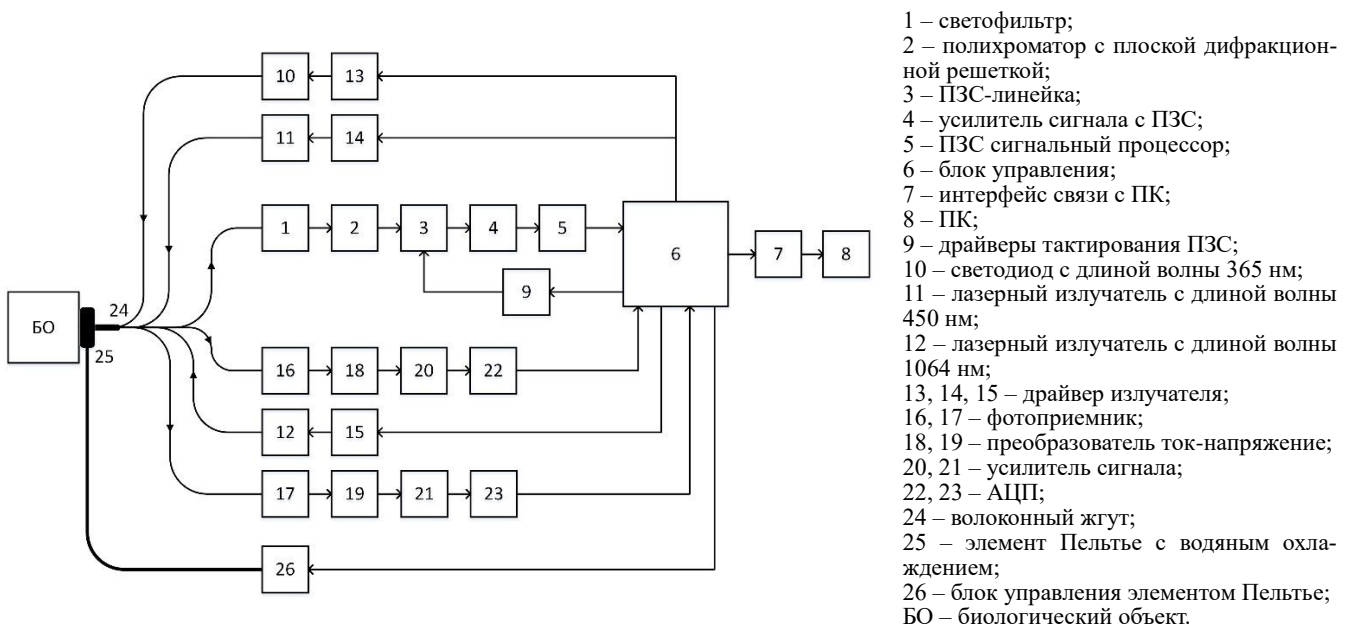


Рисунок 7 – Функциональная схема устройства диагностики

Разработана методика диагностики нарушений тканевого метаболизма нижних конечностей пациентов с СД согласно предлагаемому методу, заключающаяся в следующей последовательности действий:

- 1) после предварительной адаптации к условиям помещения испытуемый принимает положение лежа на спине;
- 2) фиксация оптического волокна с насадкой элемента Пельтье в области исследования;
- 3) этапами исследования являются:
 - регистрация пары спектров флуоресценции при возбуждении 365 или 450 нм в начале записи фонового показателя микроциркуляции;
 - регистрация фоновой записи показателя микроциркуляции методом ЛДФ в течение времени 4 мин;
 - регистрация показателя микроциркуляции методом ЛДФ в течение времени 4 мин при локальном нагреве области исследования до 42 °С;
- 4) по зарегистрированным спектрам флуоресценции производят расчет нормированных амплитуд, как отношение максимальной амплитуды флуоресценции к максимуму обратно отраженного излучения источника;
- 5) производят расчет среднего показателя микроциркуляции крови на каждом этапе исследования;
- 6) с помощью модели классификации (13) делают вывод об отсутствии, наличии или более тяжелой форме метаболических нарушений.

В четвертой главе рассмотрены приборные особенности и проблемы предлагаемого устройства диагностики.

В целом на результат регистрации спектров флуоресценции оказывают влияние различные приборные особенности, которые могут быть представлены как нестабильностью и качеством источника возбуждающего излучения, так и погрешностями фотоприемной части (светофильтры, дифракционная решетка, ПЗС-приемник и т.д.), загрязнением рабочего конца волоконного световода и т.п. Так экспериментальные исследования имеющегося на рынке оборудования показали необходимость

применения более точных входных оптических фильтров с узкой полосой фильтрации и высоким процентом пропускания на других длинах волн. Также оценено влияние температуры на результат измерений флуоресценции в виде увеличения темного тока ПЗС-приемника и сформулированы требования по решению данной проблемы.

В диссертационной работе произведен выбор оптимального ПЗС-приемника. Рассмотрены ПЗС TCD1304AP и ILX511, широко применяемые в современной спектроскопии. С использованием моделирования Монте-Карло была выполнена оценка мощности потока регистрируемой флуоресценции, и далее, сделана оценка соотношения сигнал-шум (SNR) выходного сигнала ПЗС в приложении к задаче диагностики кожных покровов человека. Целью расчета являлось определение пороговых (минимальных) значений потока излучения, попадающего на приемник, при которых уровень полезного сигнала равен значению темного шума ПЗС, так как предполагается, что он вносит доминирующий вклад в общий уровень шумов. Проведенные расчеты показали, что при малом содержании меланина в коже на уровне 1 % SNR при времени накопления 10 мс составляет 60-70 дБ. При увеличении пигментации SNR уменьшается и на уровне 11-12 % составляет 0-5 дБ, что в итоге затрудняет выделение полезного низкоинтенсивного сигнала флуоресценции на фоне шумов. ПЗС-приемник ILX511 несмотря на более высокую чувствительность в целом обладает более худшим соотношением сигнал/шум, что иллюстрирует рисунок 8. В связи с этим для реализации предлагаемого устройства предложено использовать ПЗС-приемник TCD1304AP.

Также в четвертой главе представлена модель, являющаяся расширенным вариантом модели, описанной во второй главе, которую возможно использовать для решения обратной задачи количественного анализа экспериментальных спектров флуоресценции.

В заключении сформулированы основные результаты диссертационной работы, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Диссертационная работа посвящена решению научно-технической задачи разработки метода и устройства диагностики нарушений тканевого метаболизма на основе оптической спектроскопии (на примере сахарного диабета).

В диссертационной работе получены следующие основные научные результаты:

1) Анализ общего состояния проблем неинвазивной диагностики нарушений тканевого метаболизма показал, что существующие методы в полной мере не удо-

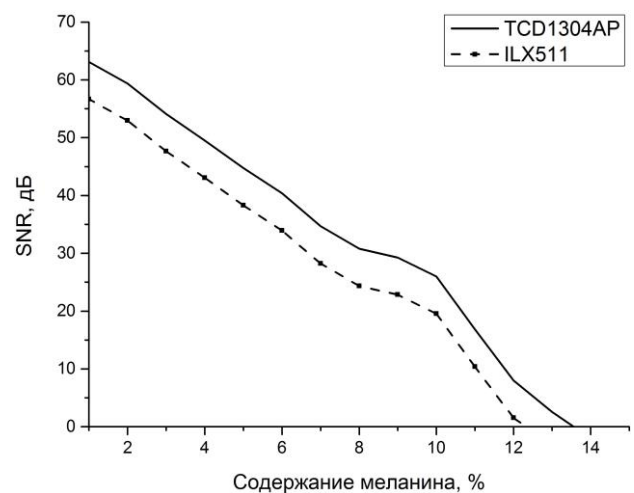


Рисунок 8 – Соотношение сигнал/шум для рассматриваемых ПЗС-приемников

влетворяют предъявляемым требованиям, главным образом в части информативности, достоверности, доступности и комфорта для пациента.

2) Предложенный метод получения диагностической информации, основанный на совместном использовании методов ФС и ЛДФ при проведении локальных тепловых проб, получил теоретическое и экспериментальное обоснование и признан перспективным с позиций диагностики нарушений тканевого метаболизма.

3) Разработана математическая модель процесса распространения оптического излучения в мутной биологической среде, позволяющая производить валидацию диагностической значимости применяемого оборудования.

4) Обоснован принцип получения диагностической информации о тканевом метаболизме, заключающийся в регистрации сигналов ФС и ЛДФ.

5) На основе теоретических исследований и анализа экспериментальных данных (на 48 условно здоровых добровольцах и 76 пациентах эндокринологического профиля) выявлены параметры ФС и ЛДФ, имеющие наибольший потенциал (наименьший уровень ошибки второго рода) в диагностике нарушений тканевого метаболизма нижних конечностей: нормированные амплитуды флуоресценции при возбуждении 365 нм и средний уровень перфузии при локальной тепловой пробе 42 °С.

6) С помощью предложенных параметров сформулировано решающее правило, позволяющее классифицировать принадлежность обследуемого объекта к категории лиц с отсутствием, наличием или более тяжелой формой метаболических нарушений.

7) Разработан метод диагностики тканевого метаболизма нижних конечностей, а также методика реализации метода для пациентов эндокринологического профиля, позволяющая определять отсутствие, наличие или более тяжелую форму метаболических нарушений с вероятностью ложноотрицательного результата диагностики менее 0,2.

8) Разработан принцип построения устройства диагностики нарушений тканевого метаболизма нижних конечностей.

9) Рассмотрены основные вопросы метрологического и методологического обеспечения данного типа устройств.

Рекомендации. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в различных областях медицины при разработке многофункциональных неинвазивных диагностических комплексов для диагностики и профилактики осложнений, связанных с изменением метаболического состояния биотканей при сахарном диабете, а также потенциально при других заболеваниях.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Создание базы данных типичных совместных записей спектров ФС и сигналов ЛДФ с их расшифровкой и интерпретацией для случаев различных патологий. Применение предложенных принципов спектроскопической диагностики в приложениях биоимиджинга.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях

- 1 **Дрёмин, В.В.** Оценка уровня сигнала методом Монте-Карло при лазерной флуоресцентной диагностике биоткани [Текст] / В.В. Дрёмин, Е.А. Жеребцов, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2012. – № 3 (293). – С. 134-139.
- 2 Дунаев, А.В. Анализ индивидуальной вариабельности параметров в лазерной флуоресцентной диагностике [Текст] / А.В. Дунаев, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, С.Г. Палмер, С.Г. Соколовский, Э.У. Рафаилов // *Биотехносфера*. – 2013. – № 2 (26). – С. 39-47.
- 3 Krupatkin, A.I. Evaluating adaptation options of microcirculatory-tissue systems based on the physiological link of nutritive blood flow and redox ratio [Text] / A.I. Krupatkin, V.V. Sidorov, **V.V. Dremin**, A.V. Dunaev, I.N. Novikova, S. Zhu, G. Nabi, K.S. Litvinova, A.P. Baklanova, R.M. Bakshaliyev, S.A. Ravcheev // *Proc. SPIE 9448*, 2014. – P. 944803- 944803.
- 4 Жарких, Е.В. Возможности исследования изменений амплитуд колебаний кожного кровотока с помощью адаптивного вейвлет-анализа при проведении окклюзионных проб [Текст] / 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. – № 6 (314). – С. 114-121.
- 5 Новикова, И.Н. Возможности применения вейвлет-анализа осцилляций параметров микроциркуляторно-тканевых систем при проведении холодовой прессорной пробы на пальцах рук [Текст] / И.Н. Новикова, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров // *Биотехносфера*. – 2015. – № 6 (42). – С. 26-30.
- 6 Rafailov, I.E. A novel photonics based cross-sectional model to aid visualisation and diagnosis of urinary bladder diseases [Text] / I.E. Rafailov, S.G. Palmer, K.S. Litvinova, **V.V. Dremin**, A.V. Dunaev, G. Nabi // *Proc. SPIE 9303*, 2015. – 93030W-93030W.
- 7 Dunaev, A.V. Individual variability analysis of fluorescence parameters measured in skin with different levels of nutritive blood flow [Text] / A.V. Dunaev, **V.V. Dremin**, Е.А. Zherebtsov, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova, S.G. Palmer, N. A. Stewart, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Medical Engineering & Physics*, 2015. – V. 37 – № 6. – P. 574-583.
- 8 Долгушина, Л.В. Анализ вклада рассеяния и поглощения в общее затухание сигналов в лазерной доплеровской флоуметрии при различном содержании меланина [Текст] / Л.В. Долгушина, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, Е.А. Жеребцов, К.В. Подмастерьев // *Биотехносфера*. – 2015. – № 6 (42). – С. 2-6.
- 9 **Dremin, V.V.** How the melanin concentration in the skin affects the fluorescence-spectroscopy signal formation [Text] / V.V. Dremin, A.V. Dunaev // *Journal of Optical Technology*, 2016. – V. 83 – № 1. – P. 43-48.
- 10 Rafailov, I.E. Computational model of bladder tissue based on its measured optical properties [Text] / I.E. Rafailov, **V.V. Dremin**, K.S. Litvinova, A.V. Dunaev, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Journal of Biomedical Optics*, 2016. – V. 21 – № 2. – P. 025006-1-025006-7.
- 11 **Dremin, V.V.** The development of attenuation compensation models of fluorescence spectroscopy signals [Text] / V.V. Dremin, Е.А. Zherebtsov, I.E. Rafailov, A.Y. Vinokurov, I.N. Novikova, A.I. Zherebtsova, K.S. Litvinova, A.V. Dunaev // *Proc. SPIE 9917*, 2016. – P. 99170Y-1-99170Y-6.
- 12 **Dremin, V.V.** The blood perfusion and NADH/FAD content combined analysis in patients with diabetes foot [Text] / V.V. Dremin, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, G.R. Galstyan, I.N. Novikova, A.I. Zherebtsova, Е.А. Zherebtsov, A.V. Dunaev, Z.N. Abdulvapova, K.S. Litvinova, I.E. Rafailov, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Proc. SPIE 9698*, 2016. – P. 969810-1-969810-7.
- 13 **Дрёмин, В.В.** Возможности применения сочетанных методов оптической неинвазивной диагностики при исследовании жизнеспособности тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом [Текст] / В.В. Дрёмин, Е.В. Дрёмина, Е.В. Жарких, Е.В. Потапова, Е.А. Алимичева, Г.И. Масалыгина, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2016. – № 1 (315) – С. 136-142.

14 **Дрёмин, В.В.** Аналитический обзор подходов к математическому моделированию флуоресценции биологических тканей [Текст] / В.В. Дрёмин // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*. – 2016. – № 6 (320) – С. 92-102.

15 **Dremin, V.V.** Laser Doppler flowmetry in blood and lymph monitoring, technical aspects and analysis [Text] / V.V. Dremin, E.A. Zherebtsov, I.N. Makovik, I.O. Kozlov, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, A.V. Dunaev, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Proc. SPIE 10063*, 2017. – P. 1006303-1-1006303-8.

16 Volkov, M.V. Laser Doppler flowmetry in blood and lymph monitoring, technical aspects and analysis [Text] / M.V. Volkov, D.A. Kostrova, N.B. Margaryants, I.P. Gurov, N.P. Erofeev, **V.V. Dremin**, E.V. Zharkikh, E.A. Zherebtsov, I.O. Kozlov, A.V. Dunaev // *Proc. SPIE 10336*, 2017. – P. 1033607-1-1033607-6.

17 Zherebtsov, E.A. Laser Doppler flowmetry in blood and lymph monitoring, technical aspects and analysis [Text] / E.A. Zherebtsov, K.Y. Kandurova, E.S. Seryogina, I.O. Kozlov, **V.V. Dremin**, A.I. Zherebtsova, A.V. Dunaev, I. Meglinski // *Proc. SPIE 10336*, 2017. – P. 1033608-1-1033608-5.

18 Potapova, E.V. Evaluation of Microcirculatory Disturbances in Patients with Rheumatic Diseases by the Method of Diffuse Reflectance Spectroscopy [Text] / E.V. Potapova, **V.V. Dremin**, E.A. Zherebtsov, I.N. Makovik, A.I. Zherebtsova, A.V. Dunaev, K.V. Podmasteryev, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, L.S. Khakhicheva, V.F. Muradyan // *Human Physiology*, 2017. – V. 43 – № 2. – P. 222-228.

19 Makovik, I.N. Detection of angiospastic disorders in the microcirculatory bed using laser diagnostics technologies [Text] / I.N. Makovik, A.V. Dunaev, **V.V. Dremin**, A.I. Krupatkin, V.V. Sidorov, L.S. Khakhicheva, V.F. Muradyan, O.V. Pilipenko, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2017. – V. 11 – № 1. – P. 1750016-1-1750016-15.

20 **Dremin, V.V.** Assessment of tissue ischemia of nail fold precapillary zones using a fluorescence capillaroscopy [Text] / V.V. Dremin, N.B. Margaryants, M.V. Volkov, E.V. Zhukova, E.A. Zherebtsov, A.V. Dunaev, E.U. Rafailov // *Proc. SPIE 10412*, 2017. – P. 104120W-1-104120W-4.

21 **Dremin, V.V.** Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus [Text] / V.V. Dremin, E.A. Zherebtsov, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, I.N. Makovik, A.I. Zherebtsova, E.V. Zharkikh, E.V. Potapova, A.V. Dunaev, A.A. Doronin, A.V. Bykov, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Journal of Biomedical Optics*, 2017. – V. 22 – № 8. – P. 085003-1-085003-10.

Методические материалы

1 Дунаев, А.В. Оптическая неинвазивная диагностика в медико-биологической практике: лабораторный практикум: учебное пособие [Текст] / А.В. Дунаев, Е.В. Потапова, Е.А. Жеребцов, А.И. Жеребцова, **В.В. Дрёмин**, И.Н. Маковик – Орел: ОГУ имени И.С. Тургенева, 2016. – 96 с.

Свидетельства о регистрации программ

1 **Дрёмин, В.В.** Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2017618099. Программа для моделирования спектров флуоресценции биологических тканей / В.В. Дрёмин, А.В. Дунаев. М.: РосПатент; Заявитель и правообладатель: Дрёмин В.В. № 2017614797; заявлено 25.05.2017; дата регистрации 21.07.2017.

Подписано в печать 07.09.2017 г.
Формат 60x84 1/16. Усл. печ. л. 1,2.
Тираж 100 экз. Заказ № 1305.

Отпечатано с готового оригинал-макета на полиграфической базе
ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева»
302026 г. Орёл, ул. Комсомольская, 95.