



КОЗЛОВ Игорь Олегович

**МЕТОД И УСТРОЙСТВО ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ
ИЗМЕНЕНИЙ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ НА ОСНОВЕ
АНАЛИЗА СПЕКТРОВ ДОПЛЕРОВСКОГО УШИРЕНИЯ ЛАЗЕРНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ**

Специальность 2.2.12. Приборы, системы и изделия медицинского назначения
(технические науки)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

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

Руководитель:

кандидат технических наук
Жеребцов Евгений Андреевич

Официальные оппоненты:

Фролов Сергей Владимирович,
доктор технических наук, профессор
ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный
технический университет», заведующий кафедрой
«Биомедицинская техника» (г. Тамбов)
Волынский Максим Александрович,
кандидат технических наук, доцент
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
университет ИТМО», ведущий научный сотрудник,
Физико-технический мегафакультет
(г. Санкт-Петербург)

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Самарский национальный исследовательский
университет имени академика С.П. Королева»
(г. Самара)

Защита состоится 16 декабря 2022 года в 11:00 часов на заседании объединённого диссертационного совета 99.2.029.03, созданного 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 государственного университета и на сайте <https://swsu.ru/dis/d-999-099-03/kozlov-igor-olegovich/>.

Автореферат разослан _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
99.2.029.03



Милостная Наталья Анатольевна

Актуальность работы.

Система микроциркуляции крови (МЦК) в организме человека играет важнейшую роль в обеспечении клеточного дыхания и доставки питательных веществ. Процессы регуляции системы МЦК проявляют себя в виде активных процессов констрикции и дилатации гладкомышечных тканей сосудов, называемых вазомоциями. Данные процессы являются частью глобальной саморегулирующейся системы управления кровоснабжением тканей. Снижение активных вазомоций ведёт к отёкам, застойным явлениям, нарушению тканевого питания. Также система МЦК вовлечена в поддержание гомеостаза и в формирование иммунного ответа. Своевременная диагностика патологических изменений системы МЦК может предупредить развитие осложнений для широкого круга хронических заболеваний.

За последние годы проведено значительное количество исследований в области создания методов оценки МЦК, а также разработаны диагностические приборы на различных физических принципах. Одним из них является метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), направленный на регистрацию параметра, называемого показателем перфузии ткани кровью. Согласно проведённым исследованиям, осцилляции данного параметра отражают состояние кровотока с точки зрения достаточности функции эндотелия микрососудов, их иннервации, мышечной активности, распространения пульсовых волн и волн, связанных с дыхательными движениями. Группой А. Стефановской и другими ранее обоснованы частотные диапазоны колебаний перфузии, ассоциированные с работой структурных элементов системы МЦК: эндотелиальные колебания, нейрогенные, связанные с работой сенсорно-пептидергических волокон и рецепторов, миогенные, дыхательные и сердечные, отражающие распространение пульсовой волны. Кроме процессов осцилляций, диагностический интерес также предоставляет и среднее значение показателя перфузии за некоторое время, а также его изменения в ответ на функциональные тесты, такие как холодовая прессорная проба, тепловой тест, электростимуляционный тест, ортостатическая проба, фармакологическая и другие. Таким образом, метод ЛДФ хорошо зарекомендовал себя одним из самых универсальных методов, пригодных к диагностике патологических изменений системы МЦК при социально-значимых заболеваниях, таких как сахарный диабет 1 и 2 типов (СД2), синдром Рейно, вибрационная болезнь, склеродермия, псориаз и другие кожные заболевания, синдром Шегрена, а также некоторые нейродегенеративные заболевания. Стоит выделить особую актуальность диагностики функционального состояния МЦК при сахарном диабете различной этиологии из-за патологических эффектов заболеваний данного класса оказываемых на систему МЦК с точки зрения наблюдаемой средней перфузии ткани кровью и угнетения основных процессов регуляции микрокровоотока в связи с нарушениями обмена глюкозы в организме.

Степень разработанности темы исследования.

В настоящий момент известен значительный объем публикаций, посвященных физиологическим исследованиям кожного микрокровоотока методом ЛДФ, а также развитию технического обеспечения данного метода. В области исследований диагностической значимости регистрации параметров микроциркуляции крови, а также анализа временных рядов показателя перфузии известны пионерские работы (Kvernmo, H., 1998; Stefanovska, A., 1999). Развитие этого подхода в течение последних десятилетий представлено серией работ (Kvandal, P., 2006; Tikhonova, I., 2010; Mizeva I., 2015; Jan, Y., 2019), посвящённых аспектам применения частотного анализа параметров кровотока для задач диагностики патологических изменений в

системе микроциркуляции крови при различных заболеваниях. Технические аспекты ЛДФ и доведение этой технологии до практической приборной реализации освещены в серии работ научных групп из Linköping University (Nillson, G., 1980; Tenland, T., 1982; Sallerud, G., 1985). Современное техническое обеспечение метода ЛДФ последовательно развивается в работах (Fredriksson, I., 2010, 2016). Применение портативного исполнения устройств ЛДФ для исследования параметров кожного кровотока представлено в работах (Федорович, А.А., 2019, 2022).

Современные устройства ЛДФ реализуют подход к обработке сигнала, основанный на вычислении первого центрального момента от спектра мощности фототока и нормировании результата на квадрат постоянной составляющей. Таким образом, в связи с интегрированием по широкому частотному диапазону, потенциально полезная информация о распределении сигнала по частотам доплеровского уширения теряется. Декомпозиция распределения сигнала перфузии ткани кровью при применении функциональных проб потенциально дает возможность получить новую диагностическую информацию о периферическом кровотоке на основе анализа изменения амплитудных значений и формы распределения сигнала по частотам доплеровского уширения.

Исходя из вышесказанного, на сегодняшний день актуальными задачами для развития метода ЛДФ является расширение его диагностических возможностей новым пространством признаков на основе анализа распределения показателя перфузии по частотам доплеровского уширения лазерного излучения, а также апробация данного подхода в клинических условиях.

Объектом исследования являются неинвазивные оптические методы диагностики патологических изменений, возникающих в системе микроциркуляции крови организма человека.

Предметом является метод обработки сигнала ЛДФ, учитывающий распределение регистрируемого параметра перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения, модель классификации, а также биотехническая система (БТС) для диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови.

Целью является повышение качества диагностики патологических изменений в системе микроциркуляции крови за счёт разработки усовершенствованного метода, устройства и программного обеспечения ЛДФ с возможностью декомпозиции распределения сигнала по частотам доплеровского уширения и обоснование подходов для оценки патологических изменений системы микроциркуляции крови без использования дополнительных каналов регистрации информации.

Задачами исследования являются:

1) обзор существующих инструментальных методов оценки патологических изменений в системе микроциркуляции крови, а также анализ подходов к обработке сигнала и проведению измерений методом ЛДФ;

2) разработка устройства для диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови с возможностью анализа распределения показателя перфузии по частотам доплеровского уширения;

3) разработка БТС на основе усовершенствованного устройства для диагностики и проведении тепловой пробы с последующим анализом сигнала с использованием декомпозиции показателя перфузии по частотам доплеровского уширения;

4) обоснование пространства диагностических признаков на основе декомпозиции показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского

уширения и расчете кумулятивных кривых распределения показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения;

5) разработка модели классификации для выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови на основе анализа распределения вычисляемого показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения лазерного излучения;

б) апробация разработанного устройства для диагностики в клинических условиях эндокринологического отделения больницы, подтверждающая возможность выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови в нижних конечностях пациентов с СД2;

7) разработка метода диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови, основанная на декомпозиции вычисляемого показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения лазерного излучения и последующей обработке с применением частотно-временного анализа.

Методы исследования. Результаты работы получены на основе методов математического анализа, теории динамического рассеяния света, математической статистики, цифровой обработки сигналов, линейного дискриминантного анализа.

Научная новизна работы заключается в том, что при решении задач по повышению качества диагностики и расширению диагностических возможностей метода ЛДФ, впервые предложены:

1) пространство диагностических признаков, *базирующееся* на декомпозиции показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения и расчете кумулятивных кривых распределения показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения, *отличающееся* возможностью учёта изменения формы распределения данного параметра и распределения осцилляций показателя перфузии по частотам доплеровского уширения;

2) модель классификации для выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови, *базирующаяся* на анализе распределения вычисляемого показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения лазерного излучения, *отличающаяся* повышенными показателями чувствительности и специфичности выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови в сравнении с известными современными методами обработки сигнала ЛДФ;

3) метод диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови, *базирующийся* на декомпозиции вычисляемого показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения лазерного излучения и последующей обработке с применением частотно-временного анализа, а также на предложенной модели классификации, *позволяющий* выявлять патологические изменения в микроциркуляторном русле без использования дополнительных каналов регистрации информации.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что предложена модель классификации для выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови, а также базирующийся на нём метод диагностики нижних конечностей пациентов при СД2.

Практическая значимость работы состоит в том, что:

– разработано устройство для диагностики, позволяющее выявлять патологические изменения системы микроциркуляции крови с повышенным качеством диагностики без использования дополнительных каналов регистрации информации, что снижает затраты на медицинское обслуживание пациентов с сахарным диабетом 2 типа;

– проведена апробация разработанного метода и устройства в клинических условиях эндокринологического отделения больницы, подтвердившая возможность выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови в нижних конечностях пациентов с сахарным диабетом 2 типа;

– проведена апробация предложенного метода регистрации изменений параметров микроциркуляции крови в модели на малых лабораторных животных в условиях вивария, что подтверждает возможность применения полученных результатов в задачах медико-биологических исследований, в том числе на этапе доклинических испытаний новых фармакологических препаратов.

Результаты диссертационного исследования использованы в БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орёл), а также приняты к внедрению в ООО НПП «ЛАЗМА» (г. Москва) и 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»). Отдельные результаты диссертационного исследования использованы при выполнении научных исследований, поддержанных грантом «РФФИ-Аспиранты» № 19-32-90253 на тему «Метод декомпозиции спектров доплеровского уширения лазерного излучения для оценки распределения осцилляций микрокровотока»; Фондом содействия инновациям по конкурсу «У.М.Н.И.К», договор № 0033759; грантом РФФИ № 18-79-00237 на тему «Гибкая сенсорная матрица для регистрации капиллярного кровотока в задачах носимой электроники»; грантом Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных в российских образовательных организациях высшего образования, научных учреждениях и государственных научных центрах Российской Федерации № 075-15-2019-1877 на тему «Митохондрии как мишени в механизме нейродегенеративных заболеваний»; грантом РФФИ № 20-08-01153 на тему «Разработка фундаментальных основ создания и применения носимых многоканальных лазерных доплеровских сенсоров микроциркуляции крови для диагностики нарушений сердечно-сосудистой системы»; грантом Президента Российской Федерации № МК-3400.2018.8 на тему «Носимый сенсор для неинвазивного мониторинга компонентов кожного кровотока, основанный на анализе динамического рассеяния лазерного излучения». Результаты проведённых исследований были отмечены победой в областном конкурсе «Лучшая научно-исследовательская работа молодых учёных-2020».

Личный вклад автора заключается в проведении обзора актуальных направлений исследований в диагностике нарушений микроциркуляции крови, разработке метода и устройства для диагностики, модели классификации и протокола исследования патологических изменений системы микроциркуляции крови в стопах пациентов с СД2, проведении экспериментальных исследований в клинических условиях.

Положения, выносимые на защиту:

1) модель классификации, *базирующаяся* на анализе полученных из последовательностей спектров мощности фототока кумулятивных кривых распределения показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения и вычислении распределения осцилляций показателя перфузии по частотам доплеровского уширения, *позволяет учесть* изменения формы распределения данного параметра и *обосновать* диапазоны усреднения частот доплеровского уширения и частот осцилляций микрокровотока с более высокой

значимостью статистических различий для повышения показателей качества диагностики системы микроциркуляции крови;

2) метод диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови при сахарном диабете 2 типа, основанный на декомпозиции вычисляемого показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения лазерного излучения до и во время тепловой пробы с последующей математической обработкой получаемой временной последовательности с применением частотно-временного анализа, а также на предложенной модели классификации, *позволяет* выявлять патологические изменения в системе микроциркуляции крови с повышенным показателем качества диагностики AUROC равным 0,87 в сравнении с известными современными методами обработки сигнала ЛДФ;

3) устройство для диагностики, основанное на регистрации волоконно-оптическим зондом разностного сигнала интенсивности обратно-рассеянного излучения и усовершенствованной обработке сигнала в части учёта распределения показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения при тепловой функциональной пробе, *позволяет регистрировать* новое пространство диагностических признаков для выявления патологических изменений системы микроциркуляции крови с повышенным качеством диагностики без использования дополнительных каналов регистрации информации.

Степень достоверности и апробация результатов.

Апробация результатов диссертационной работы проводилась на базе эндокринологического отделения БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница».

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на 21 международной и 5 всероссийских конференциях, в том числе: Всероссийский конгресс молодых учёных (2014-2017, 2021 – Санкт-Петербург, Россия), Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ» (2016, 2018, 2020 – Владимир-Суздаль, Россия); Международная научно-практическая конференция «Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия» (2016 – Смоленск, Россия); Всероссийская научно-техническая конференция молодых учёных и специалистов «Биотехнические, медицинские, экологические системы и робототехнические комплексы» (2018, 2019 – Рязань, Россия); Международная научно-техническая конференция «Современные технологии в задачах управления, автоматизации и обработки информации» (2018, 2019 – Россия).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 22 научные работы, из которых 5 статей в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК по специальности диссертации, и 13 научных трудов в изданиях, индексируемых базами данных Web of Science/Scopus. Получен патент Российской Федерации на полезную модель (№ 200025) и свидетельство о регистрации программы для ЭВМ (№ 2020618500).

Структура и объем диссертационной работы. Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованных источников из 166 наименований. Диссертация изложена на 155 страницах машинописного текста, содержит 45 рисунков, 13 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** раскрыта актуальность темы диссертационной работы, поставлены цель и задачи исследования, сформулированы научная новизна и положения, выносимые на защиту.

В **первой главе** приводится обоснование важности исследования микроциркуляции крови неинвазивными методами, проанализированы заболевания, затрагивающие систему МЦК, а также современные подходы, описывающие рассеяние света в мутных средах. Рассмотрены процессы осцилляций показателя перфузии ткани кровью, функционирования основных физиологических структур в составе микроциркуляторного русла, а также наблюдающиеся в них изменения при развитии патологии. Показаны примеры изменения архитектуры капиллярной сети при различных социально-значимых заболеваниях. Проведён обзор современных инструментальных методов диагностики системы МЦК, а также приведены теоретические основы ЛДФ и развитие подходов к обработке сигнала. Продемонстрированы примеры применения метода ЛДФ и его модификаций для диагностики патологических изменений системы МЦК в различных областях медицины, таких как эндокринология, ревматология, хирургия, стоматология демонстрирующие перспективы его использования в клинической практике.

Вторая глава посвящена, разработке устройства для диагностики с усовершенствованной обработкой сигнала, а также теоретическим и экспериментальным исследованиям патологических изменений в кожном микрокровоотоке с его использованием.

Метод ЛДФ основан на регистрации обратно-рассеянного излучения на движущихся эритроцитах. Исходя из этого, возникают требования к зондирующей длине волны, которая обычно находится в диагностическом окне от 630 до 1064 нм, так как оптическое излучение данного диапазона длин волн хорошо проникает через кожу и ткани и часто используется для анализа динамических характеристик кровотока. Для улучшения соотношения сигнал-шум в канале зондирования биологической ткани лазерным излучением используется одномодовое волокно.

При выборе частоты дискретизации сигнала руководствуются следующим выражением, учитывающим скорость эритроцитов (около 5-10 мм/с для разных испытуемых), выбранную длину волны зондирующего излучения и углы рассеяния:

$$\Delta f = \frac{2nV}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \cos \alpha, \quad (1)$$

где θ – угол рассеяния; α – угол между направлением распространения фотона и движущейся частицей; n – эффективный показатель преломления; λ – длина волны излучения; V – скорость движения рассеивателей. Частота дискретизации сигнала должна отвечать требованиям возможности регистрации наиболее высокочастотного ритма осцилляций микрокровоотока – сердечного. Таким образом, было принято решение принять частоту дискретизации для каждого канала регистрации ЛДФ равной 50 кГц и количество отсчётов для вычисления значения показателя перфузии – 2500, регистрируемых в течение 0,05 с, что даёт возможность получать результаты измерений с частотой 20 отсчётов в секунду и обеспечивает необходимую разрешающую способность.

При синтезе структурной схемы разрабатываемого устройства выбрана двухканальная схема обработки сигнала с нормированием на квадрат постоянной составляющей фототока. Вычисление показателя перфузии выполняется с помощью следующего выражения:

$$I_m(t) = \frac{\int_{f_1}^{f_2} f \cdot S[U_1(t, f) - U_2(t, f)] df}{i_{dc}^2}, \quad (2)$$

где $S[U_1(t, f) - U_2(t, f)]$ – спектр мощности разностного сигнала от двух фотоприёмных каналов; $U_1(t, f), U_2(t, f)$ – сигнал, полученный от фотоприёмников, преобразованный в напряжение, соответствующим образом усиленный и отфильтрованный; i_{dc}^2 – квадрат постоянной составляющей фототока, f_1 и f_2 – выбранные частоты ограничения анализируемой полосы сигнала. Двухканальная схема использована потому, что синфазные помехи, связанные с внешними вибрациями и колебаниями исследуемой поверхности, подавляются путём вычитания сигнала одного фотоприёмника из другого. Согласно основным работам в области ЛДФ, произведение частот на спектр мощности фототока выражает такие характеристики кровотока, как скорость и концентрация движущихся частиц в диагностическом объёме.

Для реализации данного принципа обработки была разработана структурная схема устройства для диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови (рисунок 1).

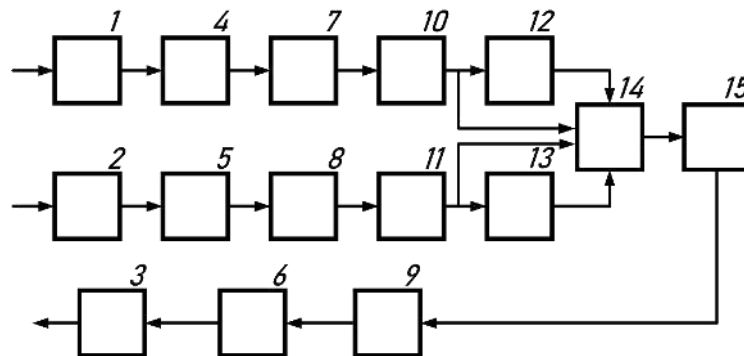


Рисунок 1 – Структурная схема устройства для диагностики. 1, 2 – фотодиоды; 3 – излучатель; 4, 5 – преобразователи ток-напряжение; 6 – драйвер лазерного излучения; 7, 8 – усилители напряжения; 9 – блок питания; 10, 11 – фильтры нижних частот; 12, 13 – фильтр высоких частот; 14 – плата сбора данных; 15 – персональный компьютер

После включения устройства персональный компьютер 15 передаёт сигнал включения на блок питания 9. Блок питания подаёт питающее напряжение на драйвер лазерного излучения 6, который запускает лазерный излучатель 3. Лазерное излучение, отражённое от биологического объекта и претерпевшее доплеровский сдвиг на движущихся рассеивателях, поступает в фотодиоды 1, 2 и попадает в преобразователи ток-напряжение 4, 5. Далее сигнал поступает на усилители 7, 8 и фильтр нижних частот 10, 11. Фильтры высоких частот 12, 13 подавляют высокочастотную составляющую сигнала. Далее сигнал принимается платой сбора данных 14 и передаётся в персональный компьютер 15, где реализован усовершенствованный алгоритм обработки сигнала. Данный алгоритм принимает массив данных от двух каналов регистрации, включающих переменную и постоянную составляющие, в режиме реального времени. На следующем этапе

происходит вычитание переменных составляющих и вычисление спектра мощности этой разности. Далее получившиеся значения нормируются на квадрат постоянной составляющей фототока, усреднённой по двум каналам. Для расчёта показателя перфузии каждое амплитудное значение спектра перемножается на соответствующую частоту.

Внешний вид устройства для диагностики патологических изменений системы микроциркуляции, созданного согласно разработанной структурной схеме, представлен на рисунке 2.

а)



б)

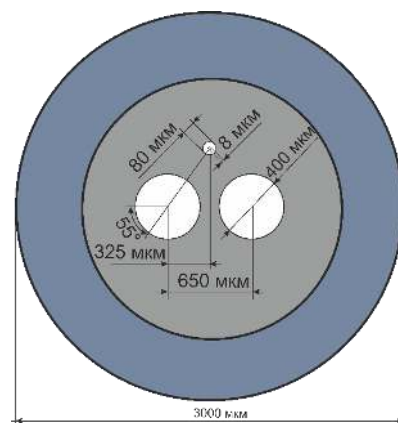


Рисунок 2 – Внешний вид устройства для диагностики (а) и геометрическая конфигурация торца волоконно-оптического зонда (б)

Основным результатом нововведений в обработку сигнала ЛДФ является получение нового пространства признаков для классификации по принципу наличия/отсутствия патологических изменений в системе МЦК на основе декомпозиции показателя перфузии по частотам доплеровского уширения.

Предварительные эксперименты на разработанном устройстве подтвердили возможность регистрации изменения показателя перфузии при проведении стандартных функциональных тестов (температурного, электростимуляционного, венозного окклюзионного). Также было оценено влияние надавливания волоконно-оптического зонда на распределение показателя перфузии по частотам доплеровского уширения.

Протокол исследований для выявления патологических изменений в системе МЦК для пациентов с СД2 базировался на выполнении тепловой пробы (ТП). Локальная ТП – широко распространённый подход к выявлению микроциркуляторных нарушений, при котором производится местный нагрев кожи в области площадью около 2-3 см². Для проявления физиологических эффектов регуляции кровотока обосновано применение нагрева области исследования до 42 °С. Данная температура приводит к протеканию цепи адапционных реакций, связанных с активацией афферентных С-волокон периферической нервной системы и выработкой оксида азота NO, являющегося сильным вазодилататором. При этом известно, что сахарный диабет 2 типа провоцирует дегенерацию данного типа нервных волокон, а также разрушение эндотелиального слоя, ответственного за выделение NO.

Нагрев области исследования осуществлялся с помощью аппарата для проведения функциональных проб «ЛАЗМА-ТЕСТ» (ООО НПП «ЛАЗМА», г. Москва, Россия). В качестве области интереса была выбрана дорсальная поверхность стопы между 1-ой и 2-ой плюсневными костями (рисунок 3), так как наиболее часто трофические язвы и некротические поражения у пациентов с СД2 возникают именно на стопах и пальцах ног. Закрепление волоконно-оптического зонда и нагревательного элемента осуществлялось с помощью самоклеящихся бинтов без значительного надавливания на область исследования.

В исследовании приняли участие условно-здоровые добровольцы разных возрастов и пациенты с СД2. Группа 1 представляла собой 10 молодых условно-здоровых добровольцев (5 мужчин и 5 женщин) со средним возрастом $22 \pm 0,5$. Группа 2 состояла из 7 возрастных условно-здоровых добровольцев (4 мужчин и 3 женщин) со средним возрастом 51 ± 6 . Группа «Пациенты» (4 мужчин и 7 женщин, средний возраст – 61 ± 7) включала в себя пациентов с наличием СД2 в анамнезе в течение не менее 5 лет. Все добровольцы и пациенты были некурящими, исследование проводилось спустя 2 часа после приёма пищи и стимулирующих лекарств или напитков (чай, кофе, иные источники кофеина). Критериями исключения из группы пациентов было наличие видимых язв и повреждений кожи стопы, а также отсутствие диагноза «диабетическая стопа».

Экспериментальные исследования проводились согласно протоколу, рассмотренному и утверждённому на заседании этического комитета ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» (протокол №15 от 19 февраля 2019 года). Участники исследования получали бланки с подробным описанием исследования, были ознакомлены с его ходом и подписывали информированные согласия о готовности быть участником исследований.

Каждое исследование включало в себя следующие этапы (рисунок 4). На подготовительной стадии на стопе испытуемого размещается волокно прибора, совмещённое со специальным нагревательным зондом на основе элемента Пельтье.



Рисунок 3 – Расположение зонда для исследований: 1 – волоконно-оптический зонд; 2 – приспособление для тепловой и холодной проб (содержит элемент Пельтье с водяным охлаждением)

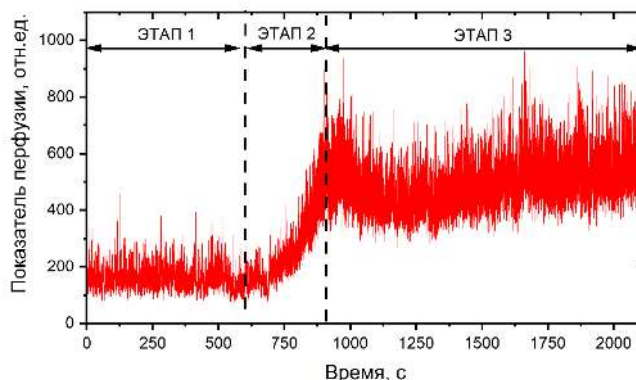


Рисунок 4 – Основные этапы эксперимента и пример регистрации показателя перфузии крови

На первом этапе производилась запись показателя перфузии при температуре 33 °С в течение 10 минут для выравнивания температурных условий эксперимента у всех испытуемых и регистрации базовой линии. На втором этапе, последовательно, со скоростью 2 °С в минуту температура нагрева повышалась до уровня 42 °С в течение 5 минут, а на третьем проводилась регистрация при достигнутой температуре в течение 20 минут показателя перфузии и эффектов, возникающих в капиллярном кровотоке вследствие нагрева. Проведенные экспериментальные исследования подтвердили, что разработанное усовершенствованное устройство для диагностики с возможностью декомпозиции показателя перфузии по частотам доплеровского уширения позволяет воспроизводимо регистрировать сигнал показателя перфузии крови для дальнейшего анализа эффектов, происходящих в системе микроциркуляции вследствие нагрева.

Третья глава посвящена анализу полученных результатов, разработке модели классификации, определению перспективных диагностических параметров и получению на их основе решающего правила для выявления патологических изменений в кожном микрокровотоке.

При анализе полученных экспериментальных результатов регистрировался показатель перфузии (2) для всех информативных полос частот доплеровского уширения $I_m(t, f_D)$, где $f_D = (f_1 + f_2)/2$ – центральная частота доплеровского уширения для полосы частот $[f_1, f_2]$.

Для количественной оценки эффектов, связанных с перераспределением показателя перфузии относительно частотных диапазонов регистрации при локальном нагреве кожи, была предложена методика вычисления кумулятивных сумм от усреднённых спектров доплеровского уширения (рисунок 5). Кумулятивная сумма для каждого спектра вычисляется согласно следующему выражению:

$$C(f_D) = \frac{\int_{f_{\min}}^{f_D} f \cdot S(f) df}{\int_{f_{\min}}^{f_{\max}} f \cdot S(f) df}, \quad (3)$$

где $C(f_D)$ – кумулятивная сумма, вычисляемая в анализируемом диапазоне доплеровских частот $[f_{\min}, f_{\max}]$, по которому производится расчет показателя перфузии; f_D – частота доплеровского уширения из диапазона частот $[f_{\min}, f_{\max}]$; $S(f)$ – усредненный спектр мощности сигнала фототока фотоприемника. Для дальнейшего анализа данных использовались участки первого и третьего этапов регистрации перфузии (см. рисунок 4). Вводится новый диагностический параметр площади в контуре, замкнутом между двумя графиками кумулятивных сумм, рассчитанных для этапов 1 и 3 (*Area between Curves – AbC*). Данный параметр *AbC* количественно характеризует перераспределение амплитуд сигнала по частотам доплеровского уширения в связи с изменением формы распределения скоростей

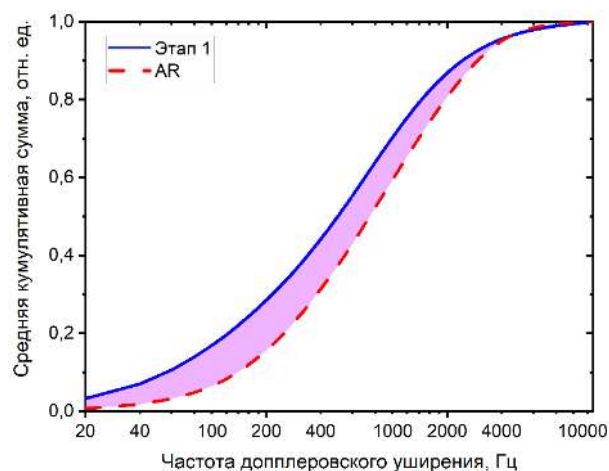


Рисунок 5 – Пример графиков средних кумулятивных сумм, зарегистрированных на этапе измерения 1 и во время проявления аксон-рефлекса (AR, этап 3)

эритроцитов в диагностическом объёме. Пример графиков кумулятивных сумм для сигнала, зарегистрированного на этапе 1 и во время проявления аксон-рефлекса AR (этап 3), представлен на рисунке 5. Также для анализа состояния микроциркуляции был предложен подход к регистрации распределения осцилляций показателя перфузии по частотам доплеровского уширения на основе регистрируемых последовательностей спектров мощности фототока.

Далее для каждого временного ряда показателя перфузии $I_m(t, f_D)$, вычисляемого в полосе частот с центральной частотой f_D и шириной 200 Гц, применялась процедура вейвлет-анализа согласно следующему выражению:

$$W_x(f_{osc}, t) = \sqrt{f_{osc}} \int_{-\infty}^{\infty} I_m(t) \psi^* [f_{osc}(t - \tau)] dt, \quad (4)$$

где $W_x(f_{osc}, t)$ – частотно-временной спектр; t – время; τ – время сдвига материнского вейвлета; $\psi(t)$ – материнский вейвлет; $*$ – оператор произведения на комплексно-сопряжённое число. В качестве материнского вейвлета был выбран вейвлет Морле:

$$\psi(t) = e^{2\pi i t} e^{-t^2/2\sigma^2}, \quad (5)$$

где σ – параметр затухания, t – параметр времени.

Далее, для частотно-временного спектра $W_x(f_{osc}, \tau)$ вычисляется глобальный вейвлет-спектр во временном интервале T :

$$M_{osc}(f_{osc}) = \frac{1}{T} \int_0^T |W_x(f_{osc}, \tau)|^2 d\tau. \quad (6)$$

Благодаря возможностям декомпозиции показателя перфузии по частотам доплеровского уширения глобальный вейвлет-спектр показателя перфузии может быть представлен как функция, в том числе зависящая и от центральной доплеровской частоты f_D . Таким образом, результат обработки набора временных рядов для каждой центральной полосы частот f_D , полученных за время T , может быть представлен как матрица значений:

$$M_{osc} = \begin{bmatrix} a_{11} & \cdots & a_{1J} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{I1} & \cdots & a_{IJ} \end{bmatrix}, \quad (7)$$

где I – количество полос доплеровских частот; J – количество частот глобального вейвлет-спектра $M_{osc}(f_{osc})$. Вейвлет-анализ каждого временного ряда проводился в частотном диапазоне от 0,01 до 2,07 Гц, с логарифмическим разбиением на 94 масштаба с шагом в 12 масштабов на октаву. Для сравнения с классическим подходом обработки сигнала ЛДФ, также были вычислены глобальные вейвлет-спектры для показателя перфузии $I_m(t)$ с интегрированием по всему информативному диапазону доплеровских частот (20 Гц, 12800 Гц).

Чтобы выявить перспективные параметры для построения диагностического классификатора, были проанализированы полученные карты M_{osc} для каждой анализируемой группы волонтеров. Чтобы определить диапазоны усреднения для доплеровских частот f_D и частот осцилляций f_{osc} был предложен следующий подход. Полученные карты значений $M(f_{osc}, f_D)$ для групп условно-здоровых добровольцев и пациентов для измерений за третий этап подвергались анализу значимости статистических различий p по критерию Манна-Уитни для каждого элемента из

матрицы $M_{osc}(f_{osc}, f_D)$. Далее полученные результаты значений p от 0 до 1 подвергались окрашиванию в псевдоцвета.

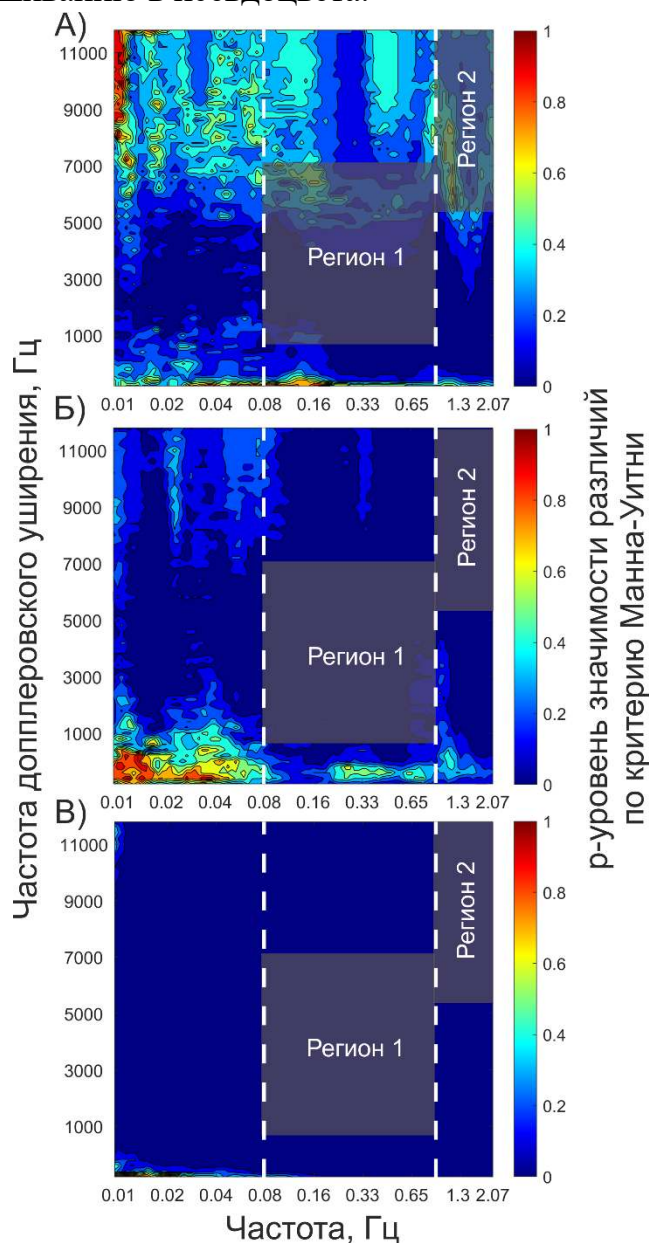


Рисунок 6 – Карта p -значений, вычисленных по критерию Манна-Уитни для амплитуд на частотах f_{osc} и f_D для групп: А – возрастные добровольцы/молодые добровольцы; Б – возрастные добровольцы/пациенты; В – молодые добровольцы/пациенты

Значения, близкие к нулю, показывают значимые статистические различия. В результате визуализируются области, наилучшие с точки зрения построения диагностических параметров. В качестве первого параметра для построения классификатора, ассоциированного с миогенной и дыхательной активностью, были выбраны следующие диапазоны для усреднения $f_{osc} \in (0,08 \text{ Гц}, 0,8 \text{ Гц})$ и $f_D \in (800 \text{ Гц}, 7000 \text{ Гц})$, или M_1 . В качестве второго параметра, ассоциированного с сердечной активностью выбраны диапазоны $f_{osc} \in (0,8 \text{ Гц}, 2 \text{ Гц})$ и $f_D \in (5000 \text{ Гц}, 12800 \text{ Гц})$, или M_2 (рисунок 6). Для сравнения предложенной методики с ЛДФ без усовершенствованной обработки сигнала использовались средние амплитуды интегрального вейвлет-спектра в диапазоне $f_{osc} \in (0,08 \text{ Гц}, 0,8 \text{ Гц})$ ($M_{0,08-0,8}$) и $f_{osc} \in (0,8 \text{ Гц}, 2 \text{ Гц})$ ($M_{0,8-2}$). Также в качестве общепринятого параметра для сравнения с предложенными была выбрана разница между средними перфузиями для периода проявления аксон-рефлекса в течение стадии 3 и стадии 1 (*Difference Between Perfusions – DBP*):

$$DBP = \langle I_m(t) \rangle_{AR} - \langle I_m(t) \rangle_1, \quad (8)$$

где $\langle \dots \rangle$ – символ операции усреднения.

Анализ осцилляций показателя перфузии в диапазоне частот 0,8-2 Гц призван оценить влияние прохождения пульсовой волны по микрососудистому руслу и, косвенно, демпфирующую способность микрососудистого сплетения. Осцилляции в диапазоне частот 0,08 Гц-0,8 Гц демонстрируют работу миогенного механизма регуляции микрокровотока, а также, модуляции микрокровотока дыхательными

движениями. Параметр AbC учитывает изменение формы распределения показателя перфузии по частотам доплеровского уширения и рост средней перфузии в период аксон-рефлекса, соответственно.

Измеренные значения предложенных параметров с проверкой значимости статистических различий по критерию Манна-Уитни для групп пациентов и объединённой группы условно-здоровых добровольцев представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты обработки выполненных экспериментальных исследований

Название параметра	Пациенты	Волонтёры
Область между кривыми (AbC)	$10,7 \pm 3,8^*$	$18,9 \pm 4,2$
Различия в среднем показателе перфузии для базовой записи и аксон-рефлекса (DBP)	$4,6 \pm 2,5^*$	$7,5 \pm 1,7$
M_1	$0,15 \pm 0,03^{**}$	$0,38 \pm 0,1$
M_2	$0,021 \pm 0,005^{**}$	$0,057 \pm 0,01$
$M_{0,08-0,8 \Gamma_{ц}}$	$0,17 \pm 0,06^*$	$0,19 \pm 0,03$
$M_{0,7-2 \Gamma_{ц}}$	$0,32 \pm 0,06^*$	$0,51 \pm 0,2$

* – статистическая значимость различий по отношению к группе волонтёров с вероятностью $p < 0,05$;

** – статистическая значимость различий по отношению к группе волонтёров с вероятностью $p < 0,01$.

Далее на основе предложенных параметров были построены модели классификации наличия патологических изменений в каждом микрокровотоке. С использованием линейного дискриминантного анализа (ЛДА), вычислены чувствительность и специфичность, а также оценка AUROC для группы пациентов и условно-здоровых добровольцев. Результаты вычислений представлены в таблице 2. Чувствительность и специфичность классификаторов и оценка AUROC подтверждены с применением кросс-валидации методом скользящего экзамена.

Таблица 2 – Значения чувствительности, специфичности и оценки AUROC дискриминантных функций с учётом кросс-валидации методом скользящего экзамена

Параметры	$AbC; M_1$	$AbC; M_2$	DBP	$M_{0,08-0,8}$	$M_{0,8-2}$
Чувствительность, %	73	73	64	0	54
Специфичность, %	76,5	71	88	100	71
AUROC	0,87	0,88	0,73	0,63	0,74

Результаты обработки данных предложенным новым методом (первые два столбца таблицы 2) показали улучшенную оценку AUROC (выше 0,87) при близких значениях чувствительности и специфичности по сравнению с уже используемыми на практике параметрами разниц между перфузией в период проявления аксон-рефлекса и базовой записью, а также средних амплитуд миогенных и сердечных осцилляций показателя перфузии $I_m(t)$.

С точки зрения получения наилучших значений чувствительности и специфичности, а также принимая во внимание оценку AUROC, для дальнейшего синтеза модели классификации были выбраны параметры AbC и M_1 . Далее для серии полученных на основе кросс-валидации моделей линейного дискриминантного анализа и выбранных параметров было произведено ранжирование согласно значению F -меры, которая вычисляется, согласно выражению:

$$F = 2 \cdot \frac{precision \cdot recall}{precision + recall}, \quad (9)$$

где «*precision*» – специфичность, а «*recall*» – чувствительность. *F*-мера является оценкой точности классификатора, в условиях, когда не достигается равенство классов. В противном случае использование обычной оценки точности на основе отношения ошибок к количеству испытаний может неоправданно завышать или занижать расчётные значения точности и вводить в заблуждение относительно реальной способности модели разделять классы.

Таким образом, наилучшая выбранная модель из пула моделей, полученных с помощью кросс-валидации параметров *AbC* и *M₁* методом скользящего экзамена для групп пациентов и условно-здоровых добровольцев, имеет вид:

$$f(x) = -3,36 + 0,06AbC + 10,1M_1. \quad (10)$$

Диаграмма рассеяния и вид классификатора представлены на рисунке 7. Проявление патологических изменений в микроциркуляции связано со сдвигом значений влево и вниз.

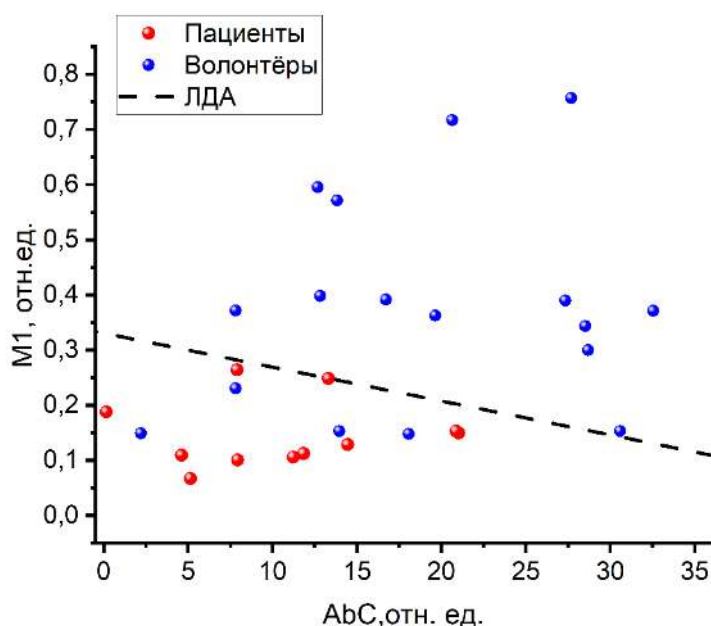


Рисунок 7 – Диаграмма рассеяния выбранных параметров и модель классификации

Данный классификатор обладает чувствительностью на уровне 100 % и специфичностью на уровне 73 % и AUROC 0,89. Максимальный уровень чувствительности определен таким образом, чтобы исключить недостаточную диагностику наличия патологических изменений в каждом микрокровотоке у пациентов.

Наблюдаемые изменения параметра *AbC* могут быть связаны с различными факторами регуляции МЦК. В первую очередь, влияет скорость рассеивающих частиц

и их концентрация. Действительно, в течение тепловой пробы в верхнем слое кожи может происходить как увеличение концентрации эритроцитов, так и изменение их средней скорости. Кроме того, форма спектров мощности зависит от формы распределения эритроцитов по скоростям движения. Как это показано на рисунке 7, для пациентов с СД2 заметно, что изменения формы спектра мощности в ответ на тепловой тест весьма незначительны по сравнению с группами здоровых добровольцев, как это демонстрирует предложенный параметр *AbC*. Также, известно, что у пациентов с СД2 происходит изменение геометрической формы капиллярных петель, появляются извитые и пересекающиеся капилляры, что меняет распределение скоростей эритроцитов и, в том числе, характеристики распределения спектра мощности фототока. Другим влияющим фактором является поперечное сечение капиллярных петель, так как известно явление его увеличения при наличии прогрессирующего СД2. Таким образом, изменение геометрической формы капилляров, их поперечного сечения и уменьшение их количества (т.е., инволюция капиллярной сети) приводит к тому, что увеличение показателя перфузии ткани кровью происходит только за счёт пропорционального увеличения амплитуд спектра

мощности при относительно постоянной форме спектра мощности, не зависящей от воздействующих факторов.

Частотный анализ показателя перфузии M_I , взвешенного по идентифицированным частотам доплеровского уширения, демонстрирует лучшую чувствительность и специфичность, чем при применении аналогичного диапазона частот при обычной обработке сигнала. Данный результат можно объяснить тем, что используемый диапазон частот доплеровского уширения обладает большим соотношением сигнал-шум, чем при анализе показателя перфузии на основе интегрирования по широкой частотной полосе $I_m(t)$.

Таким образом, было показано, что использование декомпозиции показателя перфузии по частотам доплеровского уширения позволяет достигнуть лучших значений чувствительности, специфичности и AUROC по сравнению с существующими методиками применения ЛДФ для оценки патологических изменений системы микроциркуляции крови в стопах пациентов с СД2 без использования дополнительных каналов получения информации.

Четвёртая глава посвящена разработке метода ЛДФ с возможностью декомпозиции сигнала по частотам доплеровского уширения, синтезу БТС диагностики микроциркуляторных нарушений при СД2

На рисунке 8 представлена схема алгоритма диагностики предложенного метода оценки патологических изменений при СД2 в кожном микрокровотоке стоп пациентов, на основе тепловой пробы и последующего анализа на основе декомпозиции сигнала по частотам доплеровского уширения.

Предложена биотехническая система (БТС) для диагностики патологических изменений в кожном микрокровотоке при СД2, структурная схема которой представлена на рисунке 9. БТС включает оператора, электронный блок ЛДФ и блок сопряжения с пациентом.

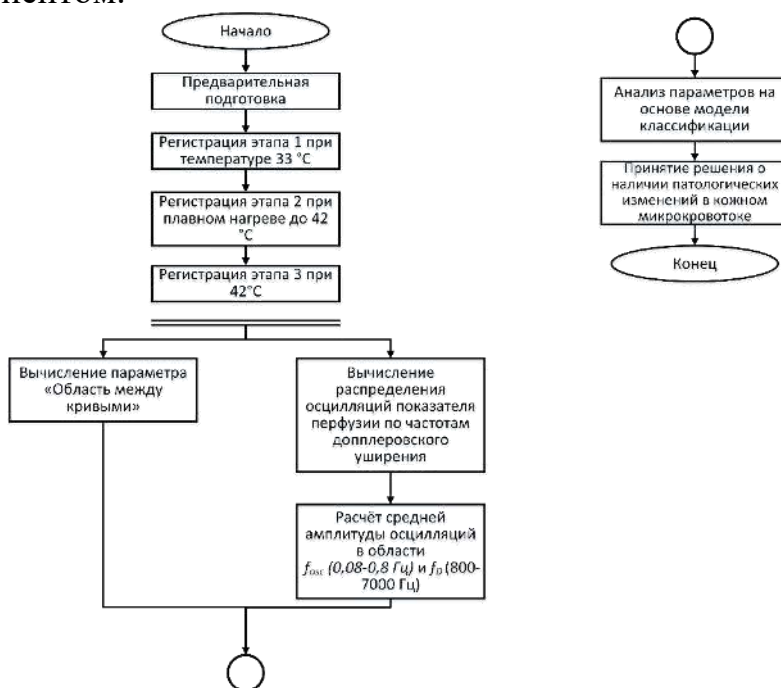


Рисунок 8 – Схема алгоритма диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови

Разработанная БТС для диагностики патологических изменений микроциркуляции крови обладает высокой чувствительностью к форме

распределения сигнала перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения, выявляя изменения, которые ранее были недоступны для непосредственной регистрации. Применение предложенного усовершенствованного метода ЛДФ позволило впервые установить влияние белков-синуклеинов на регуляцию перфузии ткани кровью в модели на малых лабораторных животных.

На базе Института биологии клетки РАН (Пушино) были проведены исследования параметров микроциркуляции крови лабораторных мышей, относящихся к четырем группам: дикого типа, нокаутным по α - и γ -синуклеинам, нокаутным по β -синуклеинам и нокаутным по α -, β - и γ -синуклеинам. Перфузия ткани кровью на вентральной поверхности лап животных измерялась в течение 15 минут в покое при помощи разработанного устройства для диагностики.

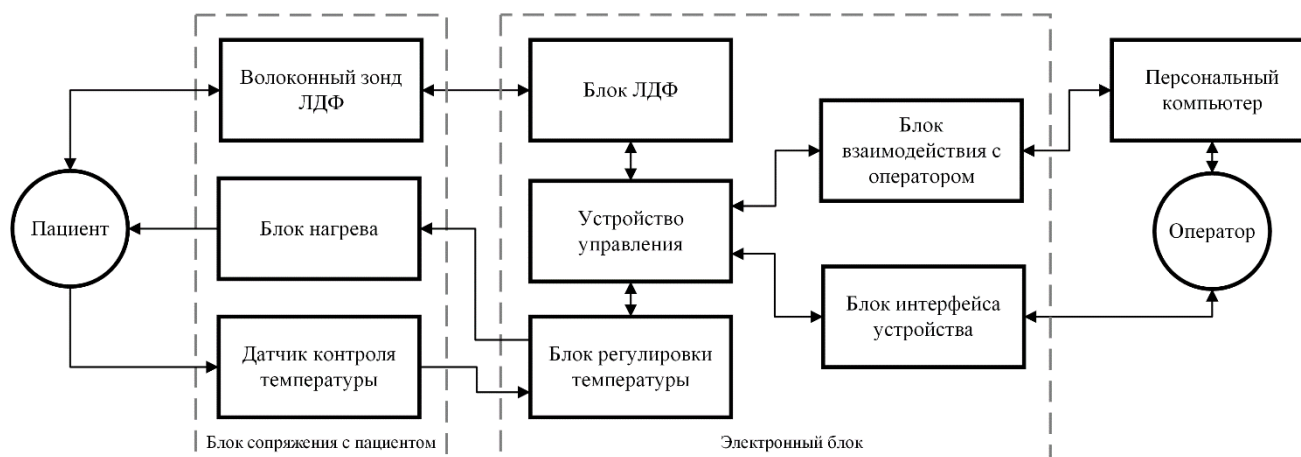


Рисунок 9 – БТС для диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови при СД2

Для обработки данных из полученных экспериментов были выделены временные ряды длительностью 10 минут без наличия артефактов движения. В результате, всего было получено 3 эксперимента на мышах дикого типа, 2 – на мышах с нокаутом по β -синуклеинам, 3 – с нокаутом по α - γ синуклеинам и 3 – с тройным нокаутом, всего 11 экспериментов. Амплитудно-частотное преобразование полученных временных рядов проводилось с помощью материнского вейвлета Морле с вычислением глобального вейвлета по оси времени.

Для поиска влияния синуклеинов на микроциркуляцию анализ результатов обработки проводился с перекрёстным группированием. То есть, в одном случае животные были разделены по группам с отсутствием экспрессии β -синуклеина, а в другом – по группам с отсутствием α -гамма синуклеинов. В качестве параметров для создания классификатора были выбраны средние осцилляции в следующих диапазонах, ассоциированных с эндотелиальной (0,01-0,02 Гц), нейрогенной (0,02-0,08 Гц) и миогенной (0,08-0,2 Гц) активностью системы МЦК. В таблице 3 показаны результаты линейного дискриминантного анализа по группам с расчётом чувствительности и специфичности получаемых классификаторов (с учётом кросс-валидации методом скользящего экзамена).

Таблица 3 – Анализ чувствительности и специфичности классификаторов по факторам наличия/отсутствия $\alpha\gamma$ - и β - синуклеинов с учётом кросс-валидации

Влияющий фактор	Чувствительность, %	Специфичность, %
Наличие/отсутствие $\alpha\gamma$ -синуклеинов	83	40
Наличие/отсутствие β -синуклеина	100	80

Результаты показывают, что линейный классификатор на основе дискриминантного анализа демонстрирует более низкую специфичность при группировании по принципу наличия/отсутствия α -гамма синуклеинов, чем для β -синуклеинов. Тогда как и чувствительность, и специфичность при анализе по группам с наличием/отсутствием β -синуклеинов значительно выше, чем в других группах.

Таким образом, выполненные экспериментальные исследования подтвердили возможность усовершенствованного устройства для диагностики с высокими показателями чувствительности и специфичности регистрировать эффекты влияния экспрессии белка β -синуклеина на регуляцию микрокровотока.

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

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

Диссертационная работа посвящена решению задачи повышения качества диагностики патологических изменений в системе микроциркуляции крови за счёт разработки усовершенствованного метода, устройства для диагностики и программного обеспечения ЛДФ с возможностью декомпозиции распределения сигнала по частотам доплеровского уширения и обоснование подходов для оценки патологических изменений системы микроциркуляции крови без использования дополнительных каналов регистрации информации, с достижением следующих результатов:

1. Проведён анализ методов и устройств для диагностики функционального состояния системы микроциркуляции крови, изучены физиологические основы её функционирования, выполнен обзор актуальных работ в области регистрации и обработки сигнала ЛДФ.

2. Выявлено и изучено новое диагностическое пространство признаков, основанное на декомпозиции показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения и расчёте кумулятивных кривых распределения показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения, а также учитывающее изменение формы распределения данного параметра и распределения осцилляций показателя перфузии по частотам доплеровского уширения.

3. Предложен новый диагностический параметр, основанный на расчёте площади между средними кумулятивными суммами распределения показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения за периоды базовой записи и при тепловой пробе, оценивающий форму распределения показателя перфузии по частотам доплеровского уширения.

4. Предложен новый диагностический параметр, основанный на расчёте распределения осцилляций показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения и методике анализа статистических различий в картах амплитуд осцилляций по критерию Манна-Уитни в исследуемых группах дающий более высокий параметр значимости статистических различий ($p < 0,01$) для групп условно-здоровых добровольцев и пациентов с сахарным диабетом 2 типа при сравнении с известными современными методами обработки сигнала ЛДФ.

5. Разработана модель классификации, позволяющая выявлять патологические изменения системы микроциркуляции крови, базирующаяся на анализе распределения вычисляемого показателя перфузии ткани кровью по частотам доплеровского уширения лазерного излучения, отличающаяся повышенными показателями чувствительности и специфичности выявления патологических

изменений системы микроциркуляции крови в сравнении с известными современными методами обработки сигнала ЛДФ.

6. Разработан метод лазерной доплеровской флоуметрии с возможностью анализа распределения показателя перфузии по частотам доплеровского уширения с улучшенными чувствительностью и специфичностью по сравнению с известными методиками обработки сигнала ЛДФ. При этом в задаче диагностики патологических изменений системы микроциркуляции крови в нижних конечностях при сахарном диабете 2 типа достигаются значения чувствительности 73%, специфичности 76,5 % и площади под ROC-кривой 0,87, превышающие параметры качества диагностики современного технического уровня метода ЛДФ.

7. Разработана БТС, базирующаяся на усовершенствованном устройстве для диагностики и проведения тепловой пробы с последующим анализом сигнала с использованием декомпозиции показателя перфузии по частотам доплеровского уширения.

8. Разработано устройство для диагностики, позволяющее выявлять патологические изменения системы микроциркуляции крови с повышенным качеством диагностики без использования дополнительных каналов регистрации информации, что снижает затраты на медицинское обслуживание пациентов с СД2.

9. С применением усовершенствованного устройства для диагностики на основе принципа ЛДФ впервые получены результаты, свидетельствующие о влиянии экспрессии синуклеинов на кожный микрокровоток малых лабораторных животных (мышей), что подтверждает возможность применения предложенного устройства в задачах медико-биологических исследований, в том числе на этапе доклинических испытаний новых фармакологических препаратов.

Рекомендации. Результаты диссертационного исследования рекомендуются к применению в разработке новых устройств лазерной доплеровской флоуметрии для диагностики патологических изменений в системе МЦК и в задачах фундаментальных исследований регуляции микрокровотока.

Перспективы дальнейшей разработки темы.

В дальнейшем планируется продолжать экспериментальные исследования в части выявления новых диагностических критериев с применением разработанного принципа обработки сигнала ЛДФ для других нозологий.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Публикации в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, входящих в Перечень ВАК Минобрнауки России

1 **Козлов И.О.** Цифровая лазерная доплеровская флоуметрия: устройство, обработка сигнала и апробация в клинической практике [Текст] / **Козлов И.О.**, Жеребцов Е.А., Подмастерьев К.В., Дунаев А.В. // Медицинская техника. – 2021. – Т. 325, №1. – С. 8-11.

2 **Козлов И.О.** Метод и устройство лазерной доплеровской флоуметрии для регистрации интенсивности компонентов кожного кровотока [Текст] / **Козлов И.О.**, Жеребцов Е.А., Жеребцова А.И., Дремин В.В., Дунаев А.В. // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2017. – № 6. – С. 68-74.

3 Локтионова Ю.И. Исследование возрастных и патологических особенностей параметров микрогемодинамики в норме и при сахарном диабете 2 типа с помощью носимых лазерных доплеровских флоуметров [Текст] / Ю.И. Локтионова, Е.В. Жарких, А.И. Жеребцова, **И.О. Козлов**, Е.А. Жеребцов, Г.И. Масалыгина, А.В. Дунаев // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2019. – Т. 338, № 6. – С. 131-137.

4 **Козлов И.О.** Метод анализа спектров доплеровского уширения лазерного излучения в оценке нарушений микрокровотока при сахарном диабете второго типа [Текст] / **Козлов И.О.** // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2020. – Т. 342, № 4 – С. 80-87.

5 **Козлов И.О.** Обзор подходов к описанию процессов рассеивания света в биологических тканях [Текст] / **Козлов И.О.** // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2020. – Т. 341, № 3 – С. 131-139.

Публикации в научных журналах и изданиях, индексируемых в наукометрических базах Scopus и Web of Science

6 **Kozlov, I.** Laser Doppler Spectrum Analysis Based on Calculation of Cumulative Sums Detects Changes in Skin Capillary Blood Flow in Type 2 Diabetes Mellitus [Text] / **Kozlov I.**, Zherebtsov E., Masalygina G., Podmasteryev K., Dunaev A. // *Diagnostics.* – 2021. – Vol. 11 – 267.

7 **Kozlov, I.O.** Investigation of Doppler spectra of laser radiation scattered inside hand skin during occlusion test [Text] / **Kozlov I.O.**, Zherebtsov E.A., Zherebtsova A.I., Dremin V.V., Dunaev A.V. // *Journal of Physics: Conference Series.* – 2017. – Vol. 929 – Art. 012063.

8 Zherebtsov, E.A. The influence of local pressure on evaluation parameters of skin blood perfusion and fluorescence [Text] / E.A. Zherebtsov, K.Y. Kandurova, E.S. Seryogina, **I.O. Kozlov**, V.V. Dremin, A.I. Zherebtsova, A.V. Dunaev, I. Meglinski // *Proceedings of SPIE.* – 2017. – Vol. 10336. – Art. 1033608.

9 Dremin, V. Dynamic evaluation of blood flow microcirculation by combined use of the laser Doppler flowmetry and high-speed videocapillaroscopy methods [Text] / Dremin V., **Kozlov I.**, Volkov M., Margaryants N., Potemkin A., Zherebtsov E., Dunaev A., Gurov I. // *Journal of Biophotonics.* – 2019. – Art. e201800317.

10 **Kozlov, I.** Analysis of changes in blood flow oscillations under different probe pressure using laser Doppler spectrum decomposition [Text] / **Igor O. Kozlov**, Evgeny A. Zherebtsov, Mikhail A. Mezentsev, Valery V. Shupletsov, Elena V. Potapova, Angelina I. Zherebtsova, Viktor V. Dremin, Andrey V. Dunaev, Igor V. Meglinski // *Proc. SPIE.* – 2019. – Vol. 11079. – Art. 110791Q.

11. Zherebtsov, E. Diagnosis of Skin Vascular Complications Revealed by Time-Frequency Analysis and Laser Doppler Spectrum Decomposition [Text] / E. Zherebtsov, **I. Kozlov**, V. Dremin, A. Bykov, A. Dunaev, I. Meglinski, // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering.* – 2022.

Научные работы в других изданиях

12 **Козлов, И.О.** Возможные подходы к построению тест-объектов для проверки работоспособности приборов лазерной доплеровской флоуметрии [Текст] / **И.О. Козлов** // *Труды III Всероссийского конгресса молодых ученых.* – (Санкт-Петербург, апрель 2014 г.). – СПб: Университет ИТМО, 2014. – С. 254-255.

13 **Козлов, И.О.**, Жеребцов Е.А., Дрёмин В.В., Жеребцова А.И., Дунаев А.В. Получение и исследование референсных спектров доплеровского уширения лазерного излучения, рассеянного в коже рук при окклюзионной пробе [Текст] / **И.О. Козлов**, Е.А. Жеребцов, В.В. Дрёмин, А.И. Жеребцова, А.В. Дунаев // 12-я Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ'2016» – Владимир-Суздаль, Россия. – Т. 2. – С.123-126.

14 **Козлов, И.О.** Исследование осцилляций микрокровотока методами лазерной доплеровской флоуметрии и видеокапилляроскопии [Текст] / **И.О. Козлов**, М.В. Волков, И.П. Гуров, Маргарянц Н.Б., Потёмкин А.В., Жеребцов Е.А., Дрёмин В.В., Дунаев А.В. // Тезисы международной научно-практической конференции «Трансляционная медицина». – Орёл, 15-17 декабря 2017. г. – Т. 1. – С. 79-82.

15 **Козлов, И.О.** Алгоритм обработки рассеянного на движущихся эритроцитах когерентного излучения в задаче регистрации сигнала лазерной доплеровской флоуметрии печени [Текст] / **И.О. Козлов**, А.В. Дунаев // *Современные технологии в задачах управления, автоматизации и обработки информации: сб. тр. XXIX Междунар. науч.-техн. конф. 14–20 сентября 2020.* – Т. 1. – С. 187–188

16 **Козлов, И.О.** Анализ и декомпозиция лазерного доплеровского спектра для оценки микрососудистых осложнений при сахарном диабете второго типа [Текст] / **И.О. Козлов**, Е.А. Жеребцов А.И. Жеребцова, А.В. Дунаев // 14-я Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ'2020» – Владимир-Суздаль, Россия. – Т. 1. – С. 51-55.

17 Ставцев, Д.Д. Возможности исследования микроциркуляторного русла при совмещении методов видеокапилляроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии [Текст] / Д.Д. Ставцев, **И.О. Козлов**, И.Н. Маковик, А.В. Потёмкин, А.В. Дунаев // Биотехнические, медицинские, экологические системы и робототехнические комплексы. – 2018. – С. 303–306.

18 Дрёмин В.В. Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке состояния микрогемолимфоциркуляции [Текст] // Дрёмин В.В., **Козлов И.О.**, Жеребцов Е.А., Маковик И.Н., Дунаев А.В., Сидоров В.В., Крупаткин А.И. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 42-49.

19 Потапова Е. В. Особенности локальной микроциркуляции крови у пациентов с псориазом [Текст] / Потапова Е.В., Филина М.А., **Козлов И.О.**, Жарких Е.В., Дрёмин В.В., Малая Н.С., Снимщикова И.А., Дунаев А.В., Сидоров В.В., Крупаткин А.И. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 58–64.

Свидетельства о регистрации программ

1 **Козлов, И.О.** Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2020618500 Программа для визуализации распределения перфузии крови по частотам доплеровского уширения лазерного излучения / **И.О. Козлов** // М.: РосПатент; Заявитель и правообладатель: Козлов И.О. № 2020615683; заявлено 01.06.2019; дата регистрации 30.07.2020.

Свидетельства о регистрации полезной модели

1 Грядунев И.М. Свидетельство о регистрации полезной модели № 200 025. Устройство для стереотаксиса лабораторное / И.М. Грядунев, Г.А. Пьявченко, **И.О. Козлов**, Е.С. Серёгина, С.Л. Кузнецов // Заявитель и патентообладатель: ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» № 200 025; заявлено 25.05.2020; дата регистрации 01.10.2020.