

7. Dunaev A.V. et al. Investigating tissue respiration and skin microhaemocirculation under adaptive changes and the synchronization of blood flow and oxygen saturation rhythms // *Physiological Measurement*. – 2014. – Т. 35. – № 4. – С. 607-621.

8. Филина М.А. и др. Функциональные изменения микроциркуляции крови в коже стопы при тепловых пробах у пациентов с сахарным диабетом // *Физиология человека*. – 2017. – Т. 43. – №. 6. – С. 95-102.

ESTIMATION OF DYNAMIC CHANGES IN BLOOD MICROCIRCULATION AND OXIDATIVE METABOLISM IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS USING TEMPERATURE TESTS

^{1*}Zharkikh E.V., ¹Loktionova Y.I., ¹Kozlov I.O., ¹Zherebtsov E.A., ¹Zherebtsova A.I., ¹Dunaev A.V., ²Sidorov V.V., ³Krupatkin A.I.

¹Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, *e.zharkikh@oreluniver.ru,

²SPE «LAZMA» Ltd, Moscow,

³National Medical Research Center of Traumatology and Orthopaedics, Moscow

Keywords: non-invasive diagnostics, laser Doppler flowmetry, fluorescence spectroscopy, microcirculation, diabetes mellitus

Annotation. The article presents the results of evaluating dynamic changes in perfusion and the state of oxidative metabolism of biological tissues in patients with diabetes mellitus using local temperature influences (cooling and heating). It is shown that the proposed approach in the form of joint application of laser Doppler flowmetry and fluorescence spectroscopy using local temperature tests has prospects in the analysis of the functional state of biological tissues. The registered increase in microcirculation and oxidative metabolism when using a local heat sample is significantly less pronounced in patients with diabetes compared to healthy controls.



АНАЛИЗ И ДЕКОМПОЗИЦИЯ ЛАЗЕРНОГО ДОППЛЕРОВСКОГО СПЕКТРА ДЛЯ ОЦЕНКИ МИКРОСОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ВТОРОГО ТИПА

¹Козлов И.О., ^{1,2}Жеребцов Е.А., ¹Жеребцова А.И., ¹Дунаев А.В.

¹ Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орел, *igor_57_orel@mail.ru,

² Optoelectronics and Measurement Techniques, University of Oulu, Oulu

Ключевые слова: лазерная доплеровская флоуметрия, неинвазивная диагностика, сахарный диабет 2 типа

Аннотация. Статья описывает новый подход к анализу доплеровский спектров, зарегистрированных от кожи пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Для обработки зарегистрированных данных было применено вычисление кривых кумулятивных сумм, записанных в течение базовой записи и реакции на нагрев. Результатом данной работы является введение нового параметра – значения площади между кривыми кумулятивных сумм. Данный подход показал свою эффективность в выявлении различий между пациентами и здоровыми добровольцами при проведении теплового теста.

Проблема растущей заболеваемости сахарным диабетом второго типа является вызовом для мировой системы здравоохранения и, по некоторым оценкам, затронет около 17 процентов населения к 2030 году [1]. На сегодняшний день разработано множество подходов к диагностике сосудистых осложнений при сахарном диабете [2][3]. В области диагностики микрокровотока хорошо зарекомендовали себя методы из области биофотоники: флуоресцентная спектроскопия [4], фотоплетизмография [5], видеокапилляроскопия [6], а также методы регистрации рассеянного в коже лазерного излучения [7]. Методы флуоресцентной спектроскопии направлены на анализ параметров клеточного дыхания с помощью анализа эндогенных флуорофоров NADH/FAD, регистрации уровня гликированного гемоглобина и гликированного коллагена. Методы, основанные на регистрации рассеянного света, часто используются для регистрации динамических параметров кровотока кожи: объема крови в диагностическом объеме (фотоплетизмография), а также перфузии (спекл-контрастная визуализация и лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ)). Данная работа посвящена развитию метода ЛДФ в области обработки регистрируемого сигнала и его применения в работе эндокринологического отделения городской больницы для анализа состояния микроциркуляции в коже верхней части стоп пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Метод ЛДФ основан на регистрации обратно рассеянного в коже рук лазерного излучения, претерпевшего доплеровский сдвиг [8]:

$$I_m = \int_{f_1}^{f_2} f \cdot S(f) df, \quad (1)$$

где I_m – перфузия крови f – частота доплеровского уширения лазерного излучения, $S(f)$ – спектр мощности фототока. В методе ЛДФ регистрируется параметр перфузии крови – интегральный показатель, характеризующий скорость и концентрацию кровотока в диагностическом объёме. В серии публикаций обосновано [9,10], что данный параметр несёт информацию о естественных активных ритмах работы микрососудов. Также была выявлена природа связи этих колебаний с активностью гладкомышечных клеток сосудов, работой нервных сенсорно-пептидергических волокон, а также эндотелиальной активности стенок венул и артериол. Одним из распространённых способов исследовать микроциркуляцию кровотока с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии является применение специализированных тестов: холодowych, тепловых, электростимуляционных и др. Такие тесты позволяют выявить и оценить адаптационные возможности микрокровотока в ответ на внешние воздействия. В работе [11] представлен метод оценки состояния микрокровотока методом лазерной доплеровской флоуметрии в сосудах больных ревматоидными заболеваниями при воздействии высоких и низких температур. Для оценки состояния микрокровотока в стопах пациентов с сахарным диабетом 2 типа в работе [12] был рассмотрен мультимодальный подход, сочетающий лазерную доплеровскую флоуметрию, спектроскопию диффузного отражения и флуоресцентную спектроскопию в анализе данных при применении теплового теста. В целом, температурное воздействие на микрокровооток в коже конечностей у здоровых добровольцев и пациентов позволяет выявить соответствующие нарушения при различных нозологиях, затрагивающих работу системы микроциркуляции.

В данной работе предлагается анализировать микрокровооток с точки зрения распределения регистрируемого сигнала по частотам доплеровского уширения спектра лазерного излучения в ответ на тепловое воздействие. Были проведены эксперименты на условно-здоровых добровольцах и пациентах с сахарным диабетом второго типа с длительностью заболевания более 10 лет. В качестве области интереса была выбрана зона дорсальной поверхности стоп ниже большого пальца (рис. 1). Выбор данной зоны обусловлен тем, что наиболее часто именно поражения стоп приводят к инвалидизации пациентов из-за развития язв, некроза мягких тканей и гангрены при неспецифических и нерегенерирующих повреждениях поверхности кожи [13]. Каждый эксперимент был разбит на следующие три стадии: регистрация фонового кровотока в течение 10 минут при температуре 33°C, пятиминутный плавный нагрев зоны исследования до 42°C, и запись в течение 5 минут перфузии крови [14]. Нагрев до 33°C области интереса обусловлен выравниванием температуры верхнего слоя кожи стопы у всех пациентов и добровольцев и призван исключить влияние разброса температуры кожи от пациента к пациенту. Участники исследования были разделены на три группы. Группа 1 включала в себя 7 молодых условно-здоровых добровольцев с возрастом 22±0.5 лет, группа 2 – 6 волонтеров с возрастом 51±6, и группа пациентов, включающая 10 волонтеров (61±7) с сахарным диабетом 2 типа и стажем заболевания более 10 лет. Регистрация перфузии производилась с помощью лазерного доплеровского флоуметра с возможностью сохранения зарегистрированных спектров фототока для постобработки сигнала.



Рисунок 1 – Участок кожи стопы, используемый для проведения измерений. 1 – Зонд ЛДФ; 2 – Нагревательный зонд ЛАКК-ТЕСТ

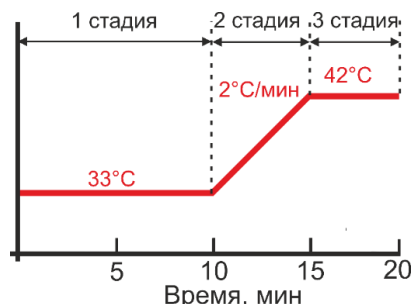


Рисунок 2 – Основные стадии протокола исследований

Нагревание осуществлялось с использованием устройства ЛАКК-ТЕСТ («ЛАЗМА», г. Москва) с возможностью коаксиально совмещать зонд ЛДФ и нагревательный элемент на основе элемента Пельтье. Контроль прибора и запись эксперимента осуществлялось в разработанной программе в среде визуального программирования LabVIEW. Регистрация фототока производилась на частоте дискретизации 50 кГц. Частота записи сигнала перфузии крови – 20 Гц.

Зарегистрированные спектры доплеровского уширения для всех экспериментов анализировались следующим образом. На первом этапе, частотный диапазон разбивался на 64 поддиапазона по 200 Гц с вычислением значения перфузии крови на каждом частотном поддиапазоне. Далее, для каждого спектра вычислялся график нормированных кумулятивных сумм – подход к обработке сигнала в лазерной доплеровской флоуметрии, ранее практически не применявшийся. Такой график позволяет оценивать в процентных долях суммарную мощность сигнала до определённой частотной полосы. Тем самым, при проведении диагностических процедур (тепловой тест, холодовой тест и т.д.) такой метод позволяет наглядно

оценить распределение мощности сигнала по частотам доплеровского уширения. Каждая кумулятивная сумма рассчитывается по следующей формуле:

$$C_n = C_{n-1} + \frac{A_n}{\sum_m A_i}, \quad (2)$$

где n – порядковый номер данной частоты в спектре мощности; C_n – кумулятивная сумма последовательности от единицы до n ; A_n – амплитудное значение спектра мощности на частоте с порядковым номером n ; m – максимальный порядковый номер. Для дальнейшего анализа строились следующие две кривые: усреднённый по времени график кумулятивных сумм для стадии 1 эксперимента и усреднённый по времени график кумулятивных сумм для периода так называемого «аксон-рефлекса» – локального повышения кровотока при достижения температуры 42 С. Чтобы оценить разницу между этими графиками оценивался специально введённый параметр который рассчитывается путём вычисления площади между кривыми двух графиков усреднённых кумулятивных сумм до первого пересечения этих графиков (рис. 3). Данная оценка позволяет объективно и наглядно выразить перераспределение спектра мощности сигнала доплеровского уширения лазерного излучения в область более высоких частот в связи с изменением скоростных компонент микрокровотока. Другой оцениваемый параметр был выбран на основе методики вычисления разницы между средней перфузией во время проявления аксон-рефлекса (стадия 3) и средней перфузией при базовой записи (стадия 1). Для данных двух параметров был выполнен линейный дискриминантный анализ между группами 2 и пациентами, и группами 1 и 2 (рис. 4).

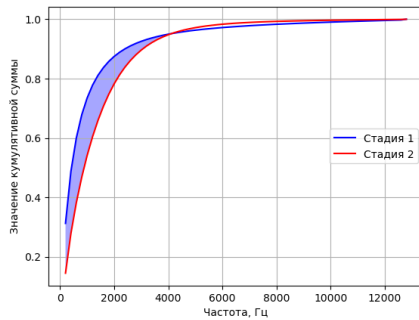


Рисунок 3 – Пример графиков усреднённых кумулятивных сумм для двух стадий эксперимента и выделение площади между двумя графиками

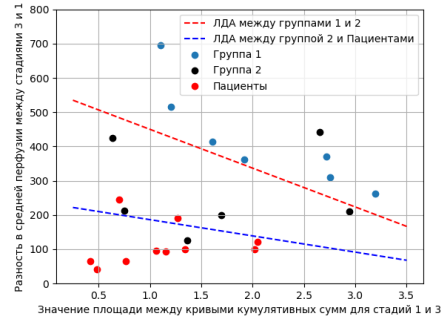


Рисунок 4 – Результат применения линейного дискриминантного анализа для разделения групп пациентов и 1 и 2 группами условно-здоровых добровольцев

Для оценки точности линейного дискриминантного анализа была проведена её оценка методом вычисления площади под кривой (AUC) для ROC-кривых. В таблице 1 показаны сравнительные характеристики точности классификаторов, построенных на основе анализируемых пар параметров.

Таблица 1 – Анализ площади под ROC-кривой для анализируемых классификаторов

Параметр	AUC
Группа 1/Группа 2	
Разница между средним уровнем перфузии крови стадии 1	0.76
Значение площади между графиками кумулятивных сумм	0.64
Линейный дискриминантный анализ	0.86
Группа 2/Пациенты	
Разница между средним уровнем перфузии крови на стадии 3 и стадии 1	0.92
Значение площади между графиками кумулятивных сумм	0.86
Линейный дискриминантный анализ	0.9

Использование значений площади между графиками кумулятивных сумм усреднённых спектров мощности фототока является перспективным направлением в анализе результатов измерений методом лазерной доплеровской флоуметрии. Полученные результаты (рис. 3) показали, что выбранные оценки не являются

зависимыми, хотя и описывают одно и то же явление – усреднённый по времени спектр мощности фототока. Таким образом, перераспределение мощности в сигнале может происходить за счёт разных частотных диапазонов, однако, разница между параметрами перфузии крови на стадии 3 и стадии 1 будут неразличимы для разных пациентов. Исходя из этого, применение новой предложенной группы параметров позволяет разделять случаи с близкими значениями увеличения перфузии в ответ на нагревание. В перспективе, предполагается разработка диагностических критериев, разделяющих подгруппы по тяжести поражения микрососудистой системы внутри группы пациентов на основе критериев площади между графиками кумулятивных сумм и увеличению перфузии в ответ на тепловое воздействие на кровоток.

И.О. Козлов и А.В. Дунаев благодарят РФФИ (грант №19-32-90253) за финансовую поддержку.

Библиографический список

1. Rowley W.R. Diabetes 2030: Insights from Yesterday/ Rowley, W., Bezold, C., Arian, Y., Byrne, E., Krohe, S. // *Popul. Health Manag.*, 2017. – 20. – № 1. – 6-12.
2. Vaidya V. Impact of cardiovascular complications among patients with Type 2 diabetes mellitus: a systematic review/ Vaidya V., Gangan N., Sheehan J. // *Expert Rev. Pharmacoecon. Outcomes Res.*, 2015. – 15. – № 3. – 487-497.
3. Lotfy, M. Chronic Complications of Diabetes Mellitus: A Mini Review/ Lotfy, M., Adeghate, J., Kalasz, H., Singh, J., & Adeghate, E. // *Curr. Diabetes Rev.*, 2017. – 13. – № 1 – 3-10.
4. Дрёмин В.В. Возможности применения сочетанных методов оптической неинвазивной диагностики при исследовании жизнеспособности тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом/ Дрёмин, В. В., Дрёмина, Е.В., Жарких, Е.В., Потапова, Е.В., Алимичева, Е.А., Масалыгина, Г.И., Дунаев, А.В. // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*, 2016. – 1 – № 315. – 136.
5. Калакутский Л.И. Фотоплетизмограф для клинического мониторинга сердечного ритма/ Калакутский Л.И., Молчков Е.В., Бахтинов П.И. // *Известия Южного федерального университета. Технические науки*, 2012. – 136. – № 11. – 136.
6. Волков М.В. Исследование параметров капиллярного кровотока методом видеокапилляроскопии/ Волков, М.В., Кострова, Д. А., Маргарянц, Н.Б., Пименов, А.Ю. // *Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии--ФРЭМЭ'2016*. – 2016. – 77-80.
7. Козлов В.И. ЛДФ-метрия кожного кровотока в различных областях тела/ Козлов В.И., Морозов М.В., Гурова О.А. // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.*, 2012. – 11 – № 1. – 58-61.
8. Bonner R., Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue/ Bonner R., Nossal R. // *Appl. Opt. OSA*, 1981. – 20. – 12. – 2097-2107.
9. Bračić M. Wavelet-based Analysis of Human Blood-flow Dynamics/ Bračić M., Stefanovska A. // *Bull. Math. Biol.*, 1998. – 60. – № 5. – 919-935.
10. Lancaster G. Dynamic markers based on blood perfusion fluctuations for selecting skin melanocytic lesions for biopsy/ Lancaster, G., Stefanovska, A., Pesce, M., Marco Vezzoni, G., Loggini, B., Pingitore, R., Ghiara, F., Barachini, P., Cervadoro, G., Romanelli, M., Rossi, M. // *Sci. Rep.*, 2015. – 5. – 12825.
11. Zherebtsova A.I. Multimodal Optical Diagnostics of the Microhaemodynamics in Upper and Lower Limbs/ Zherebtsova, A. I., Dremin, V., Makovik, I., Zherebtsov, E. A., Dunaev, A., Goltsov, A., Sokolovsky, S., Rafailov, E. // *Front. Physiol.*, 2019. – 10. – 416.
12. Potapova E. V A Complex Approach to Noninvasive Estimation of Microcirculatory Tissue Impairments in Feet of Patients with Diabetes Mellitus using Spectroscopy/ Potapova, E. V., Dremin, V.V., Zherebtsov, E.A., Makovik, I.N., Zharkikh, E.V., Dunaev, A.V., Pilipenko O.V., Krupatkin, A.I. // *Opt. Spectrosc.* 2017. – 123. – № 6. – 955-964.
13. Gale L. Patients perspectives on foot complications in type 2 diabetes: a qualitative study/ Gale, L., Vedhara, K., Searle, A., Kemple, T., & Campbell, R. // *Br. J. Gen. Pract. Royal College of General Practitioners*, 2008., – 58, – № 553. – 555-563.
14. Mizeva I. Spectral analysis of the blood flow in the foot microvascular bed during thermal testing in patients with diabetes mellitus/ Mizeva, I., Zharkikh, E., Dremin, V., Zherebtsov, E., Makovik, I., Potapova, E., & Dunaev, A. // *Microvasc. Res.*, 2018. – 120. – 13-20.

ANALYSIS AND DECOMPOSITION OF LASER DOPPLER SPECTRUM FOR EVALUATION OF MICROVASCULAR COMPLICATIONS IN DIABETES MELLITUS TYPE 2

¹Kozlov I.O., ^{1,2}Zherebtsov E.A., ¹Zherebtsova A.I., ¹Dunaev A.V.

¹Research and Development Center of Biomedical Photonics, Orel State University, Orel,

*igor57_orel@mail.ru,

²Optoelectronics and Measurement Techniques Unit, University of Oulu, Oulu

Keywords: laser Doppler flowmetry, non-invasive diagnostics, type 2 diabetes mellitus

Annotation. The article describes a new approach to the analysis of Doppler spectra recorded from the skin of patients with type 2 diabetes. To process the registered data, the calculation of curves of cumulative sums recorded during the base record and the reaction to heating was applied. The result of this work is the introduction of a new

parameter – the value of the area between the curves of cumulative sums. This approach has been shown to be effective in identifying differences between patients and healthy volunteers when performing a heat test.

◆

МЕТОД ДИАГНОСТИКИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ НА ОСНОВЕ БИОИМПЕДАНСНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В АНОМАЛЬНЫХ ЗОНАХ ЭЛЕКТРОПРОВОДИМОСТИ

Протасова З.У., Шаталова О.В., Стадниченко Н.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Юго-Западный государственный университет», г. Курск, Shatolg@mail.ru

Ключевые слова: биоимпедансные исследования, аномальные зоны электропроводности, биологическая активная точка, нейронная сеть, интеллектуальный агент

Аннотация. Исследование направлено на создание интеллектуальных технологий, позволяющих прогнозировать критические состояния организма человека. Прогноз осуществляется путем анализа реакции платы на тестовые последовательности электрических импульсов напряжения, подаваемые на соответствующие критическому состоянию биологически активную точку или группы точек.

В качестве метода прогнозирования критических состояний используется анализ «реакции платы» на тестовые воздействия на биологически активные точки в виде спадающего или нарастающего напряжения, приложенного к биоматериалу. В процессе тестовых воздействий на биоматериал в качестве «реакции первичного ответа» исследовались показатели силы тока в биоматериале, а в качестве «реакции платы» - изменения пассивных электрических свойств биоматериала в окрестности биологически активной точки, вызванные тестовым воздействием. Континуум полученных таким образом вольтамперных характеристик оцифровывается и классифицируется нейронной сетью. Метод основан на изменении электрического сопротивления биоматериала (реакция платы), которое обусловлено прогнозируемым критическим состоянием, в процессе тестового воздействия в окрестности биологически активной точки.

В качестве апробации метода исследовалась интеллектуальная система прогнозирования успешности хирургического лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Информативные признаки формировались на основе анализа пяти вольтамперных характеристик и классифицировались посредством обучаемых нейронных сетей различной структуры. Массив исходных данных представлял набор из 27 дескрипторов, подаваемых на входы классификатора. Максимальная диагностическая чувствительность классификатора успешности хирургической операции на контрольной выборке составила 86%, диагностическая специфичность – 93%, диагностическая эффективность – 90%.

Апробация нейросетевых классификаторов успешности хирургической лечения ПЖ показывает, что аналогичные алгоритмические и методические решения могут быть использованы для прогнозирования других критических состояний. В перспективе результаты проведенных исследований возможно использование для бипперов для донозологической диагностики инфекционных заболеваний.

В настоящее время пристальное внимание привлекает контроль текущего функционального состояния (ФС) человека, которое может достаточно быстро изменяться под действием различных экзогенных и эндогенных факторов. Следить за состоянием здоровья можно посредством различных носимых приборов - бипперов, которые умеют не просто хранить, но и анализировать данные о ФС конкретного пациента. К наиболее универсальным и наиболее доступным средствам получения информации о текущем состоянии организма относятся энергетические характеристики биологически активных точек (БАТ) [1, 2].

Одним из недостатков энергетических показателей БАТ является их высокая чувствительность к изменению неконтролируемых экзогенных и эндогенных факторов и как следствие, высокий динамический диапазон фоновых значений этих показателей. Поэтому основным направлением в усовершенствовании методов контроля ФС на основе энергетических показателей БАТ, является переход от абсолютных значений показателей к относительным значениям.

Получение относительного показателя предусматривает выбор схемы нормирования абсолютных значений измеряемой величины. Схемы основаны на нормировании по статистическим показателям или по выбранным шкалам (например, по максимальному отклонению). Однако, в случае с БАТ использование таких схем нормирования не представляется возможным в связи с зависимостью статистических показаний не только от состояния экзогенной и эндогенной среды, но и от конституционных особенностей самого индивидуума.

Предлагаемая схема нормирования основана на контроле динамики энергетических характеристик БАТ в процессе периодического управляемого воздействия на БАТ экзогенным фактором.

В качестве экзогенного воздействия на БАТ использовались токовые посылки ступенчатой формы, эпюры которых представлены в правой нижней части рисунка 1. Реакцией первичного ответа служит ток в БАТ, который откладывается по оси ординат на графике вольтамперной характеристики (ВАХ), представленной на рисунке 1.