

ного анализа других биосубстратов: ногтей, волос, слюны и др. Их состав при различных патологических состояниях организма коррелирует с составом костной ткани, результатами биомеханических исследований. Учет этих особенностей при осуществлении предварительной оценки донорского материала позволяет получать важную дополнительную информацию с целью оптимизации процесса репаративного остеогенеза при использовании костных имплантатов [1, с. 201].

Другой современной тенденцией в развитии подходов к повышению эффективности методов лечения опорно-двигательного аппарата является все более широкое использование специально созданных лекарственных средств, для целевой доставки которых непосредственно в зону костной пластики в качестве носителя служат костные имплантаты. Их характеристики должны удовлетворять ряду специфических требований в зависимости от конкретных условий их применения (механические свойства, композиционный состав), которые задаются и контролируются в процессе изготовления [1, с. 201].

Представленные в кратком обзоре сведения о новых медико-технических подходах, практических разработках лечебных методик, опыте их многолетнего применения дают возможность оценить научно-технический уровень и значимость результатов проводимых исследований, выявить общие тенденции их развития. Это способствует успешному решению актуальных научно-практических задач: коррекции и лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата – важнейшей составляющей современных программ здравоохранения по созданию эффективных здоровьесберегающих технологий.

Список литературы:

1. XIV Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ'2020». Владимир-Суздаль, 2020. Доклады, кн. 1, 2.
2. Воробьев К.А., Божкова С.А., Тихилов Р.М., Черный А.Ж. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. 2017. № 23 (3). С. 134-147.
3. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Литвинов Ю.Ю. Изучение биофизических свойств костной ткани для медико-биологических приложений // Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44. № 2. С. 193-202.
4. Краснов В.В., Матвейчук И.В., Розанов В.В. и др. Оптимизация качества поверхностного слоя костных имплантатов с целью повышения их регенеративного потенциала // Гены и клетки. 2019. Т. XIV. № 5. С. 125.

5. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Шутеев С.А. Исследование температурных полей на поверхности нативной костной ткани после гидродинамической инцизии // Медицинская техника. 2017. № 3. С. 18-20.
6. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Черняев А.П., Николаева Н.А., Краснов С.А. Современное состояние и направления дальнейшего развития высокотехнологичных методов радиационной стерилизации // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2020. Т. 84. № 4. С. 521-524.
7. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Черняев А.П., Николаева Н.А. Изменения морфомеханических характеристик костных имплантатов при радиационной стерилизации // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2019. Т. 83. № 10. С. 1435-1440.
8. Лоцилов В.И. Внутренние собственные напряжения в трубчатых костях животных // Ортопедия, травматология и протезирование. 1971. № 8. С. 63-68.
9. Матвейчук И.В., Розанов В.В., Скальный А.В., Литвинов Ю.Ю. Вклад биоэлементологии в здоровьесберегающие технологии / Медико-технические технологии на страже здоровья «Медтех-2013», Португалия (о. Мадейра), 20-27.09.2013 г. Материалы XV научно-технической конференции. – М.: МГТУ, 2013. С. 108-110.

*Владимир Викторович Розанов,
д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник,
кафедра физики ускорителей и радиационной медицины,
физический факультет,
ФГБОУ ВО Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова,
гл. научный сотрудник,
Научно-исследовательский и учебно-методический центр
биомедицинских технологий,
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений»,
Игорь Васильевич Матвейчук,
д-р биол. наук, профессор, гл. научный сотрудник,
Научно-исследовательский и учебно-методический центр
биомедицинских технологий,
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений»,
г. Москва,
e-mail: vrozanov@mail.ru*

И.О. Козлов, Е.А. Жеребцов, К.В. Подмастерьев, А.В. Дунаев

Цифровая лазерная доплеровская флоуметрия: устройство, обработка сигнала и апробация в клинической практике

Аннотация

Предлагаются метод и устройство для цифровой лазерной доплеровской флоуметрии, и исследуется подход к обработке сигнала с реализацией анализа распределения амплитудных значений спектра мощности по частотам доплеровского уширения. Представлен прототип устройства, описаны технические характеристики и настройки, согласно которым регистрировались эксперименты. Отработка методики проводилась с привлечением условно здоровых добровольцев разных возрастов и пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Результатом проведенных исследований является разработка бинарных классификаторов, позволяющих отнести добровольцев и пациентов в группы по функциональному состоянию микроциркуляции.

Введение

Лазерная доплеровская флоуметрия – метод неинвазивной медицинской диагностики, развитие которого насчитывает более 40 лет, и активно применяющийся в медицинской практике. В пионерской публикации [1] описана возможность регистрации параметров микрокровотока на основе анализа параметров рассеяния когерентного излучения на движущихся

частицах крови [2]. В дальнейших работах была обнаружена возможность регистрации методом ЛДФ-модуляции кожного микрокровотока, обусловленной наличием физиологических механизмов активной регуляции микрососудистого русла. В последующие годы лазерная доплеровская флоуметрия технически совершенствовалась, были разработаны методы обработки и регистрации сигнала, а также его математическое моделирование.

Метод ЛДФ используется как в научных исследованиях, так и в практической медицине для диагностики осложнений при сахарном диабете (диабетическая стопа, диабетическая ретинопатия), ревматологических заболеваниях (синдром Рейно, склеродермия, системная красная волчанка), болезнях десен (гингивит) [3]. Развитие применения метода ЛДФ в медицинской практике связано с рядом исследований (к примеру, [4]) связи осциллирующей перфузии крови с физиологическими процессами в организме. В ряде работ обоснована возможность ЛДФ регистрировать эндотелий-зависимые и эндотелий-независимые ритмы, мышечную активность микрососудов, сердечные и дыхательные колебания в кровотоке.

Функциональное состояние микроциркуляции обычно невозможно надежно диагностировать без выполнения специальных функциональных тестов (тепловых, холодовых, электростимуляционных, лекарственных), основанных на активации той или иной физиологической системы путем изменения ее начального состояния посредством физического воздействия внешнего или внутреннего характера. Проведение тепловых проб обосновано во многих работах, в частности в [5]. Холодовой тест часто сопутствует тепловому тесту. Перенос активных веществ через слизистые и кожу посредством электрофореза также является функциональным тестом и находит свое применение в медицинской практике [6]. Электростимуляция редко применяется, однако существуют работы, обосновывающие подобные диагностические процедуры [7].

На сегодняшний день приборы ЛДФ и методы обработки сигнала развиваются в контексте распределенного контроля перфузии крови. Многоканальная регистрация помогает в изучении компенсаторных возможностей системы микроциркуляции одновременно на разных топографо-анатомических участках кожи в ответ на изменение внешних условий среды (окружающая температура, положение тела в пространстве) и внутренних факторов (прием медикаментов, форсированное дыхание, физические упражнения и т. д.) [8].

В ряде работ, посвященных обработке регистрируемого сигнала ЛДФ, используются данные о спектре мощности фототока. В работе [9] представлены результаты вычисления перфузии крови для нескольких скоростных диапазонов с учетом теоретического распределения скоростей эритроцитов в диагностическом объеме. В работах другой научной группы [10] представлен несколько иной подход. В нем через функцию распределения вероятности значений угла между падающей и рассеянной волной лазерного излучения моделируются фазовая функция рассеяния и модельные спектры мощности. Модельные спектры мощности вычисляются исходя из того, что распределения вероятности доплеровских сдвигов на различных скоростях рассеивающих частиц представляются как линейная комбинация.

Однако до сих пор в литературных источниках достаточно мало освещен метод, заключающийся в вычислении и последующей обработке перфузии, вычисленной в определенных узких частотных полосах доплеровского уширения [11]. Представляя результат измерения в частотно-временном масштабе, можно получить и визуализировать изменения в перфузии крови и ее перераспределение вследствие влияния функцио-

нальных тестов. Использование такого распределения предоставляет дополнительное пространство признаков для анализа получаемого сигнала, что увеличивает диагностические возможности метода ЛДФ.

Обоснование предлагаемой методики

Известно, что доплеровский сдвиг от движущихся эритроцитов может быть оценен посредством анализа фототока, поступающего с фотодиода. Перфузия крови является интегральной характеристикой, пропорциональной количеству эритроцитов, участвующих в формировании доплеровского сдвига оптического сигнала в данном диагностическом объеме, а также средней скорости движения этого ансамбля. Таким образом, результат измерения методом ЛДФ в первом приближении линейен относительно скорости и количества движущихся эритроцитов в диагностическом объеме. Значение перфузии в диапазоне частот от f_1 до f_2 вычисляется согласно следующему выражению:

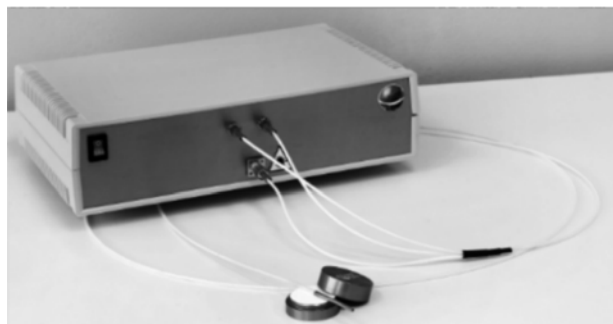
$$I_m = \frac{1}{i_{dc}} \int_{f_1}^{f_2} f \cdot S(f) df, \quad (1)$$

где I_m – перфузия крови; f – частота доплеровского уширения лазерного излучения; $S(f)$ – спектр мощности фототока; i_{dc} – постоянная составляющая фототока.

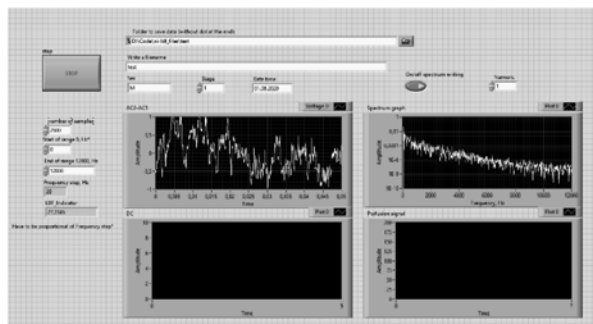
На сегодняшний день в устройствах лазерной доплеровской флоуметрии реализован способ обработки спектров мощности по широкому диапазону распределения спектра мощности по частотам доплеровского уширения (например, 20...12000 Гц), что ведет к потере потенциально полезной диагностической информации. Данное распределение несет важную физиологическую информацию о локальных и системных процессах, влияющих на микрочреволок. Ранее было исследовано [12] влияние локального нагрева, надавливания на оптический зонд, исследованы спектры доплеровского уширения при зондировании кожи на различных стадиях окклюзионной и дыхательной проб. Проведенные исследования позволили выявить эффект перераспределения перфузии крови по частотам доплеровского уширения при форсированном цикле вдоха-выдоха.

Устройство ЛДФ с цифровой обработкой сигнала

Для реализации регистрации сигнала ЛДФ был собран прототип установки. Вид установки представлен на *рис. 1а*. Генерация излучения осуществлялась с использованием лазерного диода LPS-785-FC с длиной волны 785 нм. Для дискретизации сигнала была использована плата сбора данных NI USB 6211 с частотой дискретизации 50 кГц на канал в дифференциальном режиме регистрации. Цикл регистрации и обработки составлял 0,05 с, за это время регистрировалось соответственно 2500 значений. Для усиления сигнала перед обработкой в АЦП платы сбора данных был использован специально разработанный блок усилителя со стабилизацией напряжения питания. Управление прибором осуществлялось при помощи интерфейса, разработанного в среде визуального программирования LabVIEW (*рис. 1б*). Интерфейс включает в себя следующие окна: визуализация рассчитанного спектра мощности,



а)



б)

Рис. 1. Вид экспериментальной установки (а) и интерфейс управления (б)

график перфузии, осциллограмма разности сигналов от двух каналов и адресная строка для сохранения данных.

Протокол исследований на пациентах и добровольцах

Разработанный протокол основан на тепловой пробе. При проведении тепловой пробы происходит выделение сильного вазодилатора – оксида азота, который системно влияет на микрососудистое русло. Фиксация изменений в значениях перфузии, фазовом и амплитудном спектрах позволяет строить на основе таких измерений диагностические критерии наличия недостаточности в работе микроциркуляторной системы. В качестве области интереса была выбрана дорсальная поверхность стопы, так как наиболее часто трофические язвы и некротические поражения у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа возникают именно на стопах и пальцах ног.

На подготовительной стадии, на стопе испытуемого размещали волокно прибора, совмещенное со специальным нагревательным зондом на основе элемента Пельтье. На первой стадии производилась запись перфузии крови при температуре 33 °С в течение 10 мин для выравнивания температурных условий эксперимента у всех испытуемых. На втором этапе последовательно, со скоростью 2 °С/мин температура повышалась до уровня 42 °С в течение 5 мин, а на третьем – производилась регистрация в течение 5 мин перфузии крови и эффектов, возникающих в капиллярном кровотоке вследствие нагрева (рис. 2).

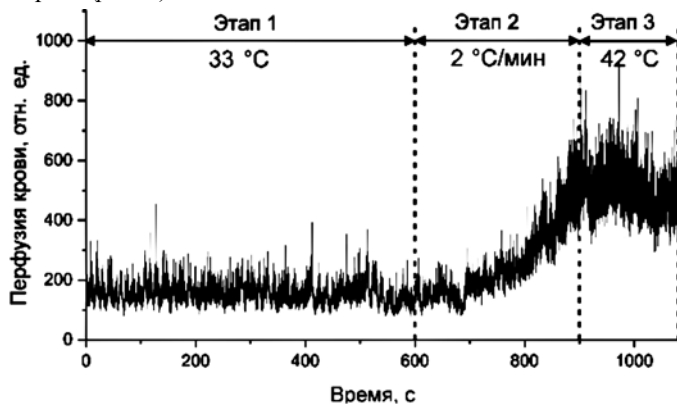


Рис. 2. Протокол эксперимента и пример регистрации перфузии крови

Измерения выполнены при помощи прототипа цифрового доплеровского флоуметра и устройства для проведения локальных функциональных проб «ЛЯКК-ТЕСТ» (НПП «ЛАЗМА», г. Москва). Волонтеры и пациенты были разделены на три группы: группа 1 – 7 добровольцев в возрасте (22 ± 0,5) лет, группа 2 – 6 добровольцев в возрасте (51 ± 6) лет и группа 3 – из 10 пациентов в возрасте (61 ± 7) лет с сахарным диабетом 2-го типа и стажем заболевания более 10 лет. Исследования на пациентах проводились с обязательным заполнением информированного согласия на исследование.

Результаты экспериментальных исследований

Перед дальнейшей обработкой амплитудные значения в спектрах мощности суммировались по полосам частот с шагом в 200 Гц. Для обработки данных был выбран диапазон от 0 до 12800 Гц; таким образом, каждый результат измерения представлялся в виде массива из 64 записей перфузии, вычисленных на частотных поддиапазонах.

Для объективной оценки эффектов, связанных с перераспределением перфузии относительно частотных диапазонов в связи с влиянием локального нагрева, был привлечен метод вычисления кумулятивных сумм от усредненных за некоторый период последовательностей спектров, согласно выражению (2):

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

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 (рис. 3).

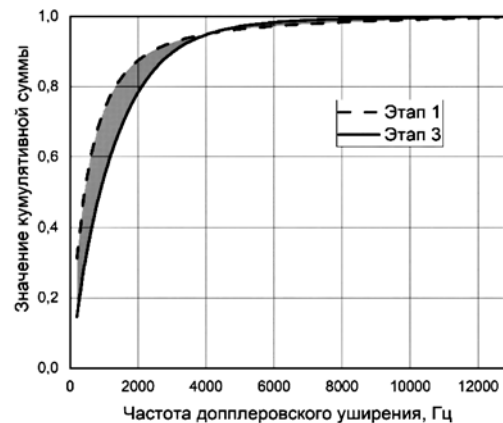


Рис. 3. Пример графиков кумулятивных сумм для стадий 1 и 2 и площади между ними

Для дальнейшего анализа данных выделялись периоды первого этапа эксперимента и проявления аксон-рефлекса в начале третьего этапа. Количественной характеристикой перераспределения амплитуды сигнала по частотам для усредненных спектров первого этапа и периода регистрации аксон-рефлекса является площадь между графиками кумулятивных сумм, вычисленная методом трапеций.

На основе площади между кривыми кумулятивных сумм и средней перфузии за выделенный период были построены бинарные классификаторы на основе линейного дискриминантного анализа (ЛДА) для группы 2 (возрастные добровольцы) и пациентов (Y1), и группы 1 (молодые добровольцы) и группы 2 (Y2) и оценки Area under Curve (AUC) (рис. 4):

$$Y1 = -5,0622 + 0,84X1_{2p} + 0,0177X2_{2p}; \quad (3)$$

$$Y2 = -4,28022 + 0,86X1_{12} + 0,0076X2_{12}. \quad (4)$$

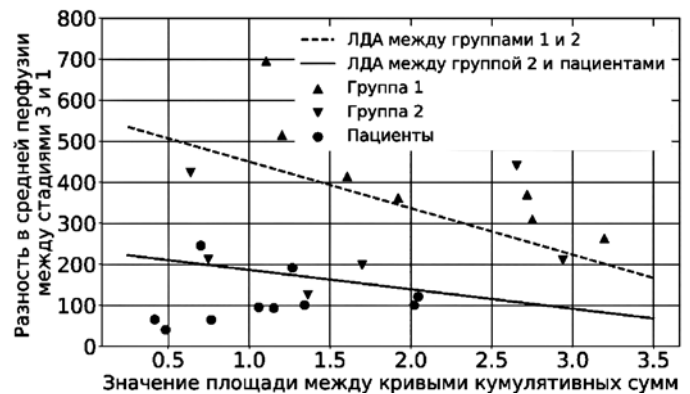


Рис. 4. Линейный дискриминантный анализ для групп условно здоровых добровольцев и пациентов

Значение AUC для ROC-кривой бинарного классификатора Y1 составило 0,86, а для классификатора Y2 – 0,9.

Таким образом, разработанные протоколы измерений, устройство и бинарные классификаторы позволяют разделять участников эксперимента по возрастным изменениям в микроциркуляции и нарушениям, связанным с сахарным диабетом 2-го типа.

Заключение

Цифровая лазерная доплеровская флоуметрия и подходы, основанные на предложенной последовательности спектров мощности фототока, демонстрируют перспективность разра-

ботанного протокола исследования для применения в медицинской практике. Предложенный подход к обработке сигнала ЛДФ не требует введения дополнительных каналов измерения (температуры, флуоресценции, спектроскопии диффузного отражения, и др.), является относительно простым, не требующим высокой квалификации для массового тестирования в условиях кабинета функциональной диагностики и обладает достаточной точностью диагностики с разделением испытуемых на группы по состоянию микроциркуляции. Развитие метода заключается в дальнейшем исследовании возможностей, предоставляемых регистрацией распределения спектра мощности по частотам доплеровского уширения, в частности обоснования новых диагностических критериев на основе распределения осцилляций перфузии по частотам.

Материалы данной статьи были представлены на XIV Международной конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии» (ФРЭМЭ'2020) [13].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-32-90253.

Список литературы:

1. *Cummins H.Z., Swinney H.L.* III Light Beating Spectroscopy / Ed. Wolf E. Elsevier. 1970. Vol. 8. PP. 133-200.
2. *Forrester A.T.* Photoelectric Mixing as a Spectroscopic Tool // *J. Opt. Soc. Am. OSA.* 1961. Vol. 51. № 3. PP. 253-259.
3. *Leahy M.J., Nilsson G.E.* Laser Doppler flowmetry for assessment of tissue microcirculation: 30 years to clinical acceptance // *Proc. SPIE.* 2010. Vol. 7563. PP. 75630E-75630E – 5.
4. *Kvandal P., Landsverk S.A., Bernjak A., Stefanovska A., Kvernmo H.D., Kirkeboen K.A.* Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin // *Microvasc. Res.* 2006. Vol. 72. № 3. P. 120.
5. *Mizeva I., Zharkikh E., Dremin V., Zherebtsov E., Makovik I., Potapova E., Dunaev A.* Spectral analysis of the blood flow in the foot microvascular bed during thermal testing in patients with diabetes mellitus // *Microvasc. Res.* 2018. Vol. 120. PP. 13-20.
6. *Stefanovska A., Bracic M., Kvernmo H.D.* Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1999. Vol. 46. № 10. PP. 1230-1239.
7. *Dremin V., Zherebtsov E., Makovik I., Kozlov I., Sidorov V., Krupatkin A., Dunaev A., Rafailov I., Litvinova K., Sokolovski S., Rafailov E.* Laser Doppler flowmetry in blood and lymph monitoring, technical aspects and analysis // *Proc. SPIE.* 2017. Vol. 10063. PP. 10063-03–10063-08.
8. *Zherebtsov E.A., Zharkikh E.V., Kozlov I.O., Loktionova Y.I., Zherebtsova A.I., Rafailov I.E., Sokolovski S.G., Sidorov V.V., Dunaev A.V., Rafailov E.U.* Wearable sensor system for multipoint measurements of blood perfusion: Pilot studies in patients with diabetes mellitus // *Clinical and Preclinical Optical Diagnostics II. Optical Society of America.* 2019. P. 11079-62.
9. *Fredriksson I., Larsson M., Strömberg T.* Model-based quantitative laser Doppler flowmetry in skin // *J. Biomed. Opt.* 2010. Vol. 15. № 5. PP. 57002-57012.
10. *Wojtkiewicz S., Liebert A., Rix H., Sawosz P., Maniewski R.* Estimation of scattering phase function utilizing laser Doppler power density spectra // *Phys. Med. Biol.* 2013. Vol. 58. № 4. P. 937.

11. *Sokolov V.G., Korsi L.V., Egorov S.Y.* Method of assessing blood oxygenation in microcirculation vessels based on Doppler approach // *Optical Diagnostics and Sensing of Biological Fluids and Glucose and Cholesterol Monitoring / Ed. Priezzhev A.V., Cote G.L // SPIE.* 2001. Vol. 4263. PP. 98-105.
12. *Дремин В.В., Козлов И.О., Жеребцов Е.А., Маковик И.Н., Дунаев А.В., Сидоров В.В., Крупаткин А.И.* Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке состояния микрогемолимфоциркуляции // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2017. Т. 16. № 4. С. 42-49.
13. *Козлов И.О., Жеребцов Е.А., Жеребцова А.И., Дунаев А.В.* Анализ и декомпозиция лазерного доплеровского спектра для оценки микрососудистых осложнений при сахарном диабете второго типа // 14-я Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ'2020». Владимир-Суздаль. Доклады. Т. 1. С. 51-55.

*Игорь Олегович Козлов,
аспирант,
кафедра приборостроения,
метрологии и сертификации,
стажер-исследователь,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет имени И.С. Тургенева»,
Евгений Андреевич Жеребцов,
канд. техн. наук, ст. научный сотрудник,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет имени И.С. Тургенева»,
Константин Валентинович Подмастерьев,
д-р техн. наук, профессор, директор,
Институт приборостроения, автоматизации
и информационных технологий,
ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет имени И.С. Тургенева»,
Андрей Валерьевич Дунаев,
канд. техн. наук, доцент,
кафедра приборостроения, метрологии
и сертификации,
ведущ. научный сотрудник,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет имени И.С. Тургенева»,
г. Орел,
e-mail: igor57_orel@mail.ru*

* * * * *