

ИНСТИТУТ МЕХАНИКИ СПЛОШНЫХ СРЕД УРО РАН – ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи



Мизёва Ирина Андреевна

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ АНАЛИЗ
КОЛЕБАНИЙ КРОВОТОКА В МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОМ
РУСЛЕ ЧЕЛОВЕКА ПО ДАННЫМ ОПТИЧЕСКИХ И
ТЕРМОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ

1.5.2 — Биофизика

Диссертация на соискание учёной степени
доктора физико-математических наук

Пермь–2021

Оглавление

Введение	7
1 Микроциркуляция крови: анатомия, функции и биофизические подходы к исследованию.	20
1.1 Анатомия микроциркуляторного русла	21
1.2 Особенности кожной микроциркуляции	25
1.3 Функции системы микроциркуляции	27
1.4 Авторегуляция тонуса микрососудистого русла человека . .	31
1.5 Источники модуляции микроциркуляции крови	36
1.5.1 Пульсовая волна	39
1.5.2 Респираторная модуляция	40
1.5.3 Миогенные колебания сосудистого тонуса	41
1.5.4 Нейрогенные осцилляции сосудистого тонуса	41
1.5.5 Эндотелиальные осцилляции сосудистого тонуса	42
1.6 Норма и патология системы микроциркуляции	43
1.6.1 Дисфункция эндотелия	43
1.6.2 Сахарный диабет	45
1.6.3 Атеросклероз и хроническая артериальная недоста- точность	49
1.6.4 Ревматические заболевания	51
1.7 Применение физиологических тестов для оценки функции системы микроциркуляции	53
1.7.1 Локальный температурный тест	53
1.7.2 Холодовой прессорный тест	55
1.7.3 Тест с локальной компрессией тканей	56
1.7.4 Дыхательные тесты	57
1.7.5 Фармакологические тесты	57
1.8 Методы мониторинга кровотока в микрососудах	58

1.9	Методы спектрального анализа колебаний периферического кровотока	60
1.10	Численное моделирование	74
1.11	Выводы по главе	76
2	Экспериментальное исследование особенностей регистрации колебаний периферического кровотока методом лазерной доплеровской флоуметрии	78
2.1	Связь средней и колебательной компонент сигнала лазерной доплеровской флоуметрии	81
2.1.1	Методика эксперимента	81
2.1.2	Результаты	83
2.1.3	Обсуждение результатов	95
2.2	Проба с локальным нагревом	97
2.2.1	Методика эксперимента	97
2.2.2	Результаты	98
2.2.3	Исследование кожного кровотока вблизи области локального нагрева	105
2.2.4	Синхронизация в двух точках	106
2.3	Исследование реакции системы микроциркуляции в различных точках на локальный нагрев	109
2.3.1	Методы исследования	110
2.3.2	Результаты	113
2.3.3	Выводы по разделу	115
2.4	Влияние давления оптического датчика на спектральные свойства ЛДФ сигнала	116
2.4.1	Методика эксперимента	117
2.4.2	Результаты	119
2.4.3	Выводы по разделу	122
2.5	Заключение по главе	124
3	Использование лазерной доплеровской флоуметрии для диагностики нарушения функции системы микроциркуля-	

ции на примере сахарного диабета и ревматических заболеваний	126
3.1 Исследование функционального состояния кожной микроциркуляции в группе с сахарным диабетом первого типа методом лазерной доплеровской флоуметрии при помощи локальной тепловой пробы	129
3.2 Исследование кожного кровотока у пациентов с сахарным диабетом на основе протокола со ступенчатым нагревом . . .	133
3.2.1 Методика эксперимента	135
3.2.2 Особенности кожного кровотока у добровольцев с сахарным диабетом в нативных условиях	140
3.2.3 Изменения кожного кровотока вызванные местным охлаждением до 25°C.	141
3.2.4 Изменения кожного кровотока, вызванные нагревом кожи до 35°C	143
3.2.5 Изменения кожного кровотока вызванные нагревом кожи до 42°C	147
3.2.6 Выводы по разделу	147
3.3 Особенности динамики кожного кровотока при ревматических заболеваниях	150
3.4 Обсуждение результатов главы	156
4 Исследование спектрального состава сигналов, характеризующих динамику периферического кровотока, полученных методами лазерной доплеровской флоуметрии, фотоплетизмографии и лазерной спекл-контрастной визуализации	159
4.1 Формирование сигнала фотоплетизмографии	160
4.2 Экспериментальное исследование взаимосвязи сигналов, полученных методами лазерной доплеровской флоуметрии и фотоплетизмографии	164
4.2.1 Методика обработки экспериментальных данных	165
4.3 Измерение времени распространения пульсовой волны.	174

4.3.1	Методика эксперимента	175
4.4	Связь кровотока, регистрируемого методами ЛДФ и ФПГ во время теста с глубокой задержкой дыхания	184
4.5	Исследование сигналов, зарегистрированных методами ФПГ и ЛДФ, при контролируемом дыхании.	186
4.6	Соотношение характеристик микроциркуляции, полученных методами ЛДФ и ЛСВ	190
4.6.1	Методика исследования	193
4.6.2	Результаты	197
4.7	Заключение по главе	203
5	Исследование спектральных характеристик фотоплетизмограмм пациентов с хронической артериальной недостаточностью	207
5.1	Исследование спектров фотоплетизмограмм в окрестности частоты сердечных сокращений	208
5.1.1	Методика исследования	208
5.1.2	Результаты	210
5.2	Исследование спектральных свойств фотоплетизмограмм при проведении реконструктивной операции	216
5.3	Выводы по главе	217
6	Развитие методологических основ контактной кожной термометрии для изучения колебаний кожного кровотока	219
6.1	Сравнение низкочастотных колебаний кожной температуры и кровотока	221
6.1.1	Методика исследования	222
6.1.2	Результаты	223
6.2	Связь кожной температуры и периферического кровотока при проведении холодовой пробы	231
6.2.1	Методика исследования	232
6.2.2	Результаты исследования	232
6.2.3	Выводы по разделу	235

6.3	Численное моделирование процесса распространения тепла от уединённого кровеносного сосуда	236
6.3.1	Результаты	237
6.4	Численное исследование колебаний кожной температуры при контралатеральном охлаждении	243
6.5	Исследование функциональных нарушений системы микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом при помощи термометрии высокого разрешения	252
6.5.1	Результаты	257
6.6	Выводы по главе	261
	Заключение	263
	Список литературы	267

Введение

Актуальность и степень разработанности темы исследования.

Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения является приоритетным направлением научно-технологического развития Российской Федерации. На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания являются одной из самых частых причин летального исхода трудоспособного населения.

Система микроциркуляции присутствует во всех органах человеческого тела и включает в себя обращение крови в капиллярах, интерстициальной жидкости по межклеточному пространству, лимфы по лимфатическим сосудам [1]. Основные функции микроциркуляции: транспортная, терморегулятивная, контроль кровотока и поддержание тургора тканей [2]. Микрососуды вносят вклад в периферическое сосудистое сопротивление, сосудистую емкость и регуляцию кровяного давления.

Нарушение нормального функционирования системы микроциркуляции крови имеет фундаментальное значение при развитии метаболических, неврологических, аутоиммунных и сердечнососудистых заболеваний, может проявляться во всех органах человеческого организма и влиять на их функцию, что значительно снижает качество жизни человека и может привести к инвалидизации. Развивающиеся трофические расстройства зачастую являются необратимыми. Недостаточность питания тканей и связанные с этим изменения могут развиваться при различных патологических процессах, в частности, при затруднении артериального кровоснабжения, нарушениях регионарного венозного кровотока, лимфостазе, нарушении иннервации.

Предсказывается, что к 2045 году в мире будет 693 миллионов взрослых, возраста 18-99 лет, больных сахарным диабетом [3]. Основными при-

чинами нарушения качества жизни и смертности при сахарном диабете являются микро- и макроциркуляторные нарушения. Атеросклероз сосудов нижних конечностей у больных сахарным диабетом развивается на 10 лет раньше и протекает тяжелее, чем у лиц общей популяции, и сопровождается высоким процентом ампутаций поражённой конечности. Количество летальных исходов в последующие 5 лет после большой или малой ампутации достигает 50%. Совершенствование диагностики и тактики лечения больных позволяют снизить частоту ампутаций у больных с синдромом диабетической стопы на 45-85%.

Патологические изменения функций микроциркуляции зачастую имеют место до появления клинических и морфологических признаков заболевания. Эндотелиальная дисфункция может инициировать отдельные нарушения, но чаще является универсальным звеном в патогенезе многих заболеваний [4]. На этой стадии изменения ещё носят обратимый характер, и их ранняя диагностика является актуальной задачей современной медицины, и имеет важное социально-экономическое значение, связанное с сохранением качества жизни населения и снижением экономических потерь.

Локальная перфузия ткани регулируется тонусом микрососудов, который находится под контролем ряда центральных и местных факторов нервной и гуморальной природы. Их совместное действие приводит к вариации тонуса микрососудов, вызывающей последовательность вазоконстрикций и вазодилатаций — вазомоциям [5, 6]. Физиологически эти механизмы настроены так, чтобы удовлетворить метаболические потребности ткани. Помимо этого существуют пульсовые и респираторно-зависимые колебания [7], которые не связаны с модуляцией тонуса. Таким образом, набор физиологических факторов обуславливает наличие спонтанных осцилляций диаметра просвета сосудов, вызывающих колебания микрокровотока. В полосе частот 0.01-0.15 Гц выделяют колебания связанные с миогенной (0.05–0.14 Гц), нейрогенной (0.02–0.05 Гц) и эндотелиальной (0.0095–0.02 Гц) механизмами регуляции сосудистого тонуса [8]. Параметры этих колебаний несут информацию не только о физических свойствах сосуда, но и о скорости и возможности прохождения биохимических реакций, состоянии

нервной системы, и дают основу для новых диагностических методов [9].

В большинстве случаев поражение микроциркуляции носит системный характер, и кожа человека, наиболее доступный орган для неинвазивных исследований, отражает состояние микроциркуляторного русла во всем организме [10, 11]. На сегодняшний день разрабатываются методы, позволяющие оценить активность тех или иных механизмов регуляции сосудистого тонуса по энергии колебаний в определённых диапазонах частот. Большинство таких исследований связано с методом лазерной доплеровской флоуметрии [12, 13]. Сделана попытка систематизировать сведения об изменении параметров отдельных ритмов колебаний кровотока при различных физиологических и патологических состояниях с целью клинического использования [14]. Несмотря на богатую историю и значительный объем результатов, требуется разработка ряда методологических аспектов, связанных с построением исследовательских протоколов и анализа данных, и обоснование применимости метода лазерной доплеровской флоуметрии. Этот метод до сих пор не нашёл широкого применения в клинической практике в силу дороговизны и сложности приборного решения, чувствительности к артефактам, высоких требований к квалификации исследователя, временной и пространственной неоднородности измеряемого сигнала [15].

По этой причине актуальной задачей является поиск доступных интегральных методов, позволяющих проводить запись характеристик кровотока в мелких сосудах. Изменения параметров микрокровотока можно обнаружить различными неинвазивными методами (оптическими, импедансометрическими или термометрическими) при проведении физиологических тестов. Одним из самых доступных и распространённых оптических методов для регистрации периферического кровотока, позволяющим проводить мониторинг объёма пульсирующей крови является фотоплетизмография. Возможность использования фотоплетизмографии для исследования микроциркуляции была описана в работе [16], связь вариаций средних значений перфузии зарегистрированной фотоплетизмографией и лазерной доплеровской флоуметрией исследована в [17], а сравнение спектральных характеристик в [18]. В основе лазерной спекл-контрастной визуализации лежит тот же принцип динамического рассеяния света, что

и в лазерной доплеровской флоуметрии, и связь получаемых параметров перфузии [19] этими двумя методами изучена экспериментально [20] и теоретически [21], хотя вопрос о взаимосвязи спектральных характеристик сигналов, получаемых этими методами, в литературе не рассматривался.

Связь спонтанных осцилляций температуры [22, 23], и кожного кровотока изучалась в терминах почастотной корреляции [24], вейвлет-когерентности [25]. В работе [26] проведён анализ синхронных записей сигналов фотоплетизмографии и кожной термометрии и предложен алгоритм восстановления периферического кровотока по температурным данным

Таким образом, актуальными задачами современной биофизики являются совершенствование существующих методик исследования осцилляций кровотока в микроциркуляторном русле, разработка и внедрение новых неинвазивных методов их регистрации, развитие единого методического подхода анализа получаемых сигналов.

Целью работы является разработка единого биофизического подхода для решения группы задач исследования нарушения функции системы микроциркуляции, основанного на пространственно-временном анализе колебаний кровотока в микрососудах, регистрируемых различными оптическими и термометрическими методами. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

- Изучить имеющийся к настоящему времени материал по исследованию колебаний в системе микроциркуляции в норме и при патологии.
- Построить и протестировать на модельных сигналах, алгоритмы анализа данных для выявления вклада колебаний различной частоты, анализа корреляции, фазовой синхронизации, проверки значимости полученных результатов.
- Изучить связь вариации среднего значения и амплитуд колебательных компонент перфузии крови, измеренной методом лазерной доплеровской флоуметрии в покое и при проведении функциональных тестов, исследовать вопросы гетерогенности вазодилатационного ответа и пространственной синхронизации колебаний у здоровых добровольцев.

- Исследовать колебания кровотока при тепловых тестах в норме и при патологических изменениях и при развитии различных патологических процессов методом лазерной доплеровской флоуметрии.
- Провести сравнительный анализ временных вариаций кровотока в микроциркуляторном русле, зарегистрированных методами лазерной доплеровской флоуметрии, фотоплетизмографии, лазерной спеклометрии, термометрией высокого разрешения, в покое и при проведении различных функциональных тестов.
- Для верификации метода термометрии высокого разрешения провести численное моделирование процесса теплопереноса в ткани человека.
- Изучить возможность применения метода термометрии высокого разрешения и фотоплетизмографии в клинических исследованиях.

Научная новизна полученных в диссертационном исследовании результатов:

- Предложен алгоритм анализа вариации спектральной плотности энергии колебаний течения крови в микрососудах, вызванной функциональными пробами, без предварительного выделения частотных диапазонов.
- Экспериментально установлена немонотонная связь вариации среднего значения и амплитуды колебаний перфузии, измеренной методом лазерной доплеровской флоуметрии. Показано, что физиологические свойства микроциркуляторного русла и различный вид передаточной функции влияют на характеристики сигнала лазерной доплеровской флоуметрии, что объясняет разнонаправленную реакцию колебательной компоненты на контралатеральное холодовое воздействие у различных индивидов.
- Определено влияние локализации датчика и оказываемого им давления на измеряемые характеристики микрокровотока.

- Уточнены функциональные маркеры вазомоторных нарушений, рассчитанные на основе вариации спектрального состава сигнала лазерной доплеровской флоуметрии во время теплового нагрузочного теста у пациентов с ревматическими заболеваниями и сахарным диабетом.
- На основе вейвлет-анализа электрокардиограммы и фотоплетизмограммы создан новый метод определения времени распространения пульсовой волны. Показано, что предложенный метод позволяет определить искомую величину в случае значительно сниженной амплитуды сигнала и наличия крупномасштабных трендов, что делает его предпочтительным при проведении динамических физиологических тестов.
- Проведенный подробный сравнительный анализ кожного кровотока, зарегистрированного различными оптическими методиками (лазерной доплеровской флоуметрией, фотоплетизмографией и лазерной спекл-контрастной визуализацией), позволил установить высокую корреляцию колебаний сигналов, характеризующих колебания перфузии в микрососудах, в диапазоне частот, связанных с факторами регуляции сосудистого тонуса.
- Предложен метод скрининговой диагностики хронической артериальной недостаточности нижних конечностей, основанный на анализе спектрального состава фотоплетизмограмм.
- Показано, что учёт экспериментально измеренных фазовых соотношений колебательных составляющих сигналов, полученных методами лазерной доплеровской флоуметрии и кожной термометрии, позволяет проводить восстановление низкочастотных колебаний кровотока в микроциркуляторном русле по данным термометрии высокого разрешения.
- Построена одномерная математическая модель распространения температурной волны от уединенного сосуда, позволяющая исследовать связь характеристик кожного кровотока, и температуры поверхности

кожи. На основе трехмерной численной модели кисти руки человека, при моделировании процесса терморегуляции за счёт изменения эффективной пористости ткани, изучено пространственное распределение колебаний кожной температуры.

Теоретическая и практическая значимость работы. Методы анализа сигналов, разработанные и развитые в ходе теоретических исследований в рамках диссертационной работы, имеют фундаментальное значение для исследования различных биомедицинских систем. Значимые теоретические результаты, расширяющие фундаментальные представления о функционировании исследуемых биофизических систем, получены также при интерпретации полученных результатов. В частности: установлена нелинейная связь модуляции среднего и амплитуд пульсаций перфузии, измеренной методом лазерной доплеровской флоуметрии; продемонстрирован локальный эндотелий-зависимый вазодилатационный ответ на локальную компрессию тканей; обнаружен двухфазный отклик скорости распространения пульсовой волны на глубокий вдох; предложен алгоритм восстановления пульсаций кровотока в микрососудах по данным термометрии высокого разрешения поверхности кожи; модифицированы индексы, характеризующие вазомоторные свойства микрососудов, для них определены границы норма-патология. Наиболее значимым теоретическим результатом, полученным в ходе выполнения работ в рамках диссертации, является разработка методов регистрации, анализа и интерпретации сигналов, описывающих колебательные процессы в микроциркуляторном русле человека, вместе с разработанными протоколами нагрузочных проб. Практическая значимость показана при апробации разработанных подходов в клинических исследованиях и заключается в выявлении особенностей колебаний периферического кровотока у пациентов с сахарным диабетом, ревматическими заболеваниями. Цитируемость работ по базе РИНЦ составляет 236 (137 без самоцитирования), по базе WOS 146 (80 без самоцитирования).

Методология и методы диссертационного исследования. Все основные результаты, представленные в диссертационном исследовании, получены с помощью различных современных экспериментальных методик

как традиционно применяемых в экспериментальной гидродинамике, так и оригинальных, разработанных и реализованных автором работы.

Положения, выносимые на защиту:

1. Немонотонная связь вариации среднего и колебательного компонентов перфузии, измеренной методом лазерной доплеровской флоуметрии, обусловлена различным вкладом тонуса гладких мышц в колебания кровотока в случае низкой перфузии, когда основной кровоток осуществляется через артериолы и аорто-венулярные анастомозы, и при высокой перфузии, когда кровоток, в значительной степени, обеспечивается капиллярным руслом.
2. Адаптивный подбор частотных диапазонов, основанный на анализе полного спектра вариаций спектральной плотности энергии, вызванных изменениями колебаний кровотока при проведении тепловых тестов, позволяет детально изучать механизмы регуляции сосудистого тонуса и выявлять особенности микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом и ревматическими заболеваниями.
3. Локальная компрессия кожи и тканей, возникающая при креплении измерительного датчика, приводит к изменению спектральных характеристик колебательного компонента перфузии.
4. Предложенный для измерения времени распространения пульсовой волны метод, основанный на измерении сдвига фаз между сигналами, полученными при вейвлет-анализе данных электрокардиографии и фотоплетизмографии, в полосе частот, близких к частоте сердечных сокращений, позволяет проводить измерения при динамических тестах.
5. Статистически значимая корреляция спектральных характеристик колебаний сигналов, полученных методами фотоплетизмографии, лазерной спекл-контрастной визуализации и лазерной доплеровской флоуметрии, в частотных диапазонах, соответствующих миогенному, нейрогенному и эндотелиальному механизмам регуляции сосудистого тонуса, доказывает возможность их совместного использования для

изучения функционального статуса системы микроциркуляции крови.

6. Сравнение энергии колебаний микрокровотока, зарегистрированных методом фотоплетизмографии на одинарной и удвоенной частотах сердечных сокращений, является более чувствительным методом выявления хронической артериальной недостаточности, чем стандартная скрининговая диагностическая методика, основанная на определении лодыжечно-плечевого индекса.
7. Возможность восстановления низкочастотных колебаний кровотока в микроциркуляторном русле по данным локальных измерений температуры на поверхности кожи позволяет использовать термометрию высокого разрешения для изучения механизмов регуляции сосудистого тонуса.

Степень достоверности представляемых результатов обеспечивается тщательной разработкой методик проведения эксперимента, применением современных экспериментальных методов визуализации и измерения физических величин, воспроизводимостью результатов наблюдений и измерений, а также сравнением, где возможно, полученных результатов с результатами имеющихся, теоретических и экспериментальных, исследований.

Апробация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 82 печатных работ, из них 25 статей в журналах входящих в перечень рецензируемых научных изданий, установленный Министерством образования и науки Российской Федерации для представления результатов докторских диссертаций, 2 главы в коллективных монографиях, 10 статей в сборниках статей и трудах конференций и 45 публикации в тезисах конференций.

Результаты диссертационного исследования докладывались на следующих научных конференциях и семинарах: Зимняя школа по механике сплошных сред (17-я 2011, 18-я 2013, 19-я 2015, 20-я 2017, г. Пермь); Пермский городской гидродинамический семинар им. Г.З. Гершуни и Е.М. Жувицкого под руководством проф. Т.П. Любимовой; Семинар Института

механики сплошных сред УрО РАН под руководством академика РАН В.П. Матвеевко; семинары лаборатории физической гидродинамики ИМСС УрО РАН под руководством проф. П.Г. Фрика; научный семинар Технологического университета г.Далянь (DUT) под руководством проф.Ю.Хи, Далянь, Китай (2015); международная конференция Saratov fall meeting, г. Саратов, 2016, 2018; V всероссийская конференция "Пермские гидродинамические научные чтения" 2015, 2018 г. Пермь; Неравновесные процессы в сплошных средах, Пермь, 2011, 2019; Joint meeting of the european society of microcirculation and German society of microcirculation and vascular biology, Мюнхен, Германия, 2011; World congress medical physics and biomedical engeneering 2012, Пекин, Китай, China; 17 Всероссийские научные школы «Нелинейные волны — 2012, », Нижний Новгород; Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине Саратов, 2014; 7-th International joint conference on biomedical engineering systems and technologies 2014 (г.Анже, Франция); 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2015, Милан, Италия; Научные биомедицинские технологии: от фундаментальных исследования до внедрения, Пермь, 2016 International conference on biological oscillations and ESGCO–2016, г.Ланкастер, Великобритания, ESGCO - 2020, Пиза, Италия; Международная конференция "Микроциркуляция и гемореология Ярославль, 2017; Международная научно-практическая конференция «Трансляционная медицина», Орел 2017; VII всероссийской с международным участием школы-конференции Физиология и патология кровообращения 3-6 февраля 2020, Москва, МГУ; Summer School on Optics and Photonics 2017 (Оулу, Финляндия); XI Всероссийская конференция с международным участием и школы-семинара для молодых ученых Биомеханика - 2014, Пермь, 2014 г; 10th IEEE International Conference on Control and Automation (ICCA) 2013, Гуанжоу, Китай; International Conferention on the Cooperation and Integration of Industry, Education, Reseach and Application), Шеньян, Китай 2019. IV Summer School “Photonics Meets Biology”, (Tarragona, Spain, September 19-22, 2017);

Личный вклад автора.

Автор принимал непосредственное участие в постановке задач исследова-

дований, обработке и анализе данных и публикации результатов, представленных в диссертации. Во всех работах автору принадлежит разработка и реализация оригинальных алгоритмов обработки и анализа данных. В методических работах [27, 28] автором выполнена постановка задачи, эксперименты проведены в ОГУ им Тургенева (г. Орел) И.Козловым, доц. к.т.н. Потаповой Е.В., схема экспериментальной установки разработана к.т.н. Дреминым В.В. В работе [29] соавторами к.б.н. А.Танканаг (г. Пущино) и к.б.н. Г.Красниковым (г. Тула) осуществлялась разработка протокола исследования и набор экспериментальных данных. В работах [30–36] автором проведена обработка данных и интерпретация результатов, постановка задачи сделана совместно с соавторами Дж.Алленом (г. Ньюкасл), проф. д.ф.-м.н. П.Г.Фриком, к.ф.-м.н. С.Ю.Подтаевым (г. Пермь) эксперимент проведён К.Ди Мария (г. Ньюкасл), экспериментальные данные в работах [31, 34] получены лично соискателем. В работе [37] автором совместно с Л.Бокки выполнена постановка задачи, разработан протокол исследования, анализ данных проведён соискателем совместно с М.Сорелли (г. Флоренция), набор экспериментальных данных, интерпретация результатов, подготовка публикаций выполнены всеми соавторами статьи.

Клинические исследования осуществлялись под руководством врачей. В работах [38–40] набор экспериментальной базы данных произведен в ОГУ им Тургенева, Орел соавторами статей (Жарких Е.В., Новиковой И.). Планирование экспериментальных исследований и разработка протокола осуществлялись В.В. Дрёминым, Е.В., Новиковой И., Потаповой Е.В. под руководством к.т.н. Дунаева А.В. Консультации и организации экспериментальных исследований в условиях клиники предоставляли Е.А. Алимичева, Г.И. Масалыгина, Орловская областная клиническая больница (г. Орел). В клиническом исследовании [41] автором выполнена постановка задачи, адаптация экспериментальной установки для клинических исследований [42, 43]. Формирование дизайна клинического исследования проведено доцентом к.м.н. Думлером А.А. (г. Пермь). Экспериментальные данные в группе контроля были набраны автором, в клинике Муравьевым Н.Г. (г. Пермь). Работы [44, 45] осуществлялись под руководством профессора д.м.н. Смирновой Е.Н. (г. Пермь), набор данных проведён к.м.н. Лоран

Е.А. Автором был создан пакет программ для обработки результатов эксперимента, проведена обработка полученных данных. Численные исследования [46–49] осуществлялись в рамках российско-китайского проекта под совместным руководством соискателя и проф.Ю.Хи (г.Далянь, Китай), руководителями была выполнена постановка задачи и анализ полученных результатов. Моделирование проводилось аспирантами проф.Ю.Хи.

Работы [50, 51] представляют собой обзорные статьи.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения и списка литературы, включающего 537 наименований. Работа содержит 110 рисунков и 24 таблицы. Общий объём диссертации составляет 328 страниц.

Связь исследований с научными программами.

Работы по тематике диссертации проводились при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования (ГР 01201281037, ГР 115112310008, АААА-А19-119012290101-5), правительства Пермского края (Программа поддержки Научных школ Пермского края, Соглашение № С-26/788), Программы УрО поддержки молодых ученых, Российского фонда фундаментальных исследований (проекты РФФИ-Урал 17-44-590755, 17-41-590560, 14-04-96027, 14-01-96030), Российского научного фонда (проекты №14-15-00809, 18-15-00201), совместного проекта поддержанного Министерством Науки и Технологии Китая и Министерства науки и высшего образования РФ "Экспериментальные и численные исследования колебаний тонуса микрососудов по данным термометрии"(№ 2014-212-18).

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность коллегам: заведующему лабораторией физической гидродинамики, своему научному руководителю, профессору Петру Готлобовичу Фрику, сотрудникам лаборатории физической гидродинамики, директору по НИОКР НПП Системы контроля Сергею Юрьевичу Подтаеву, коллегам медикам, с которым посчастливилось провести большинство исследований в условии клиники: к.м.н. Андрею Артуровичу Думлеру, проф. Елене Николаевне Смирновой, к.м.н. Евгении Александровне Лоран, к.м.н. Анне Ильиничне Ершовой, д.м.н. Александру Владимировичу Попову. Благодарю за поддержку и возможность участия в совместных исследованиях весь коллектив НТЦ биоме-

дицинской фотоники (г.Орел), в частности, директора центра к.т.н. Андрей Валерьевича Дунаева, к.т.н. Елену Потапову, к.т.н. Виктора Дремина.

Неоценима поддержка родителей Андрея Ивановича и Тамары Вадимовны Кетовых, мужа Алексея и терпение детей Ксюши и Андрея.

1. Микроциркуляция крови: анатомия, функции и биофизические подходы к исследованию.

С биофизической точки зрения система микроциркуляции крови представляет собой сложную нелинейную динамическую систему автономных осцилляторов, обладающую большим количеством обратных связей, обусловленных наличием как внутренних, так и внешних регуляторных механизмов различной физиологической природы. Для корректного выбора физических методов исследования и математических методов анализа получаемых сигналов, а также адекватной интерпретации результатов измерений необходимо детальное представление об анатомическом строении и функционировании системы микроциркуляции и ее структурных элементов.

Система микроциркуляции крови является частью сердечно-сосудистой системы человека. Крупные сосуды выполняют в основном транспортную роль, в то время как микроциркуляторное русло (МЦР) обеспечивает движение биологических жидкостей на тканевом уровне. Система микроциркуляции присутствует во всех органах человеческого тела и включает в себя капиллярное кровообращение (движение крови по микрососудам капиллярного типа), обращение интерстициальной жидкости и веществ по межклеточному пространству, ток лимфы по лимфатическим сосудам. Основная функция МЦР состоит в транспорте крови и веществ к тканям и от тканей. Кроме того, микроциркуляция участвует в процессах терморегуляции и поддержании тургора тканей [52]. МЦР – это сложная распределенная система которая находится под контролем ряда механизмов центрального (например, центральная нервная система) и локального (эндотелиальные вазодилататоры, такие как простагландин, и вазоконстрикторы) генеза, которые влияют на периферическое кровообращение для удовлетворения потребностей организма в доставке питательных веществ, утилизации метаболитов и терморегуляции.

Нарушение нормального функционирования системы микроциркуляции крови играет фундаментальное значение при развитии метаболических, неврологических, аутоиммунных и сердечно-сосудистых заболеваний [53]. Нарушения микроциркуляции крови могут проявляться во всех органах человеческого организма и влиять на их функцию, что значительно снижает качество жизни человека. Патологические изменения функций МЦР имеют место до появления клинических и морфологических признаков нарушения [54]. Поскольку на этой стадии изменения ещё носят обратимый характер, то их своевременная диагностика является актуальной задачей современной медицины.

1.1. Анатомия микроциркуляторного русла

МЦР представляет собой сложный анатомо-физиологический комплекс [1], структура которого определяется пространственной упорядоченностью образующих её сосудистых элементов и их взаимосвязью с другими системами и тканями организма [55]. МЦР любого органа представлена следующими структурными единицами:

- *Артериолы* – конечные отделы артериальной кровеносной системы с наиболее выраженными резистивными функциями, диаметр которых составляет 50-100 мкм. Внутренний просвет артериол выстлан эндотелием, под которым лежат единичные клетки подэндотелиального слоя и тонкая внутренняя эластическая мембрана. В средней оболочке спиралевидно располагаются гладкомышечные клетки (миоциты). Они образуют всего 1-2 слоя. По мере уменьшения диаметра артериол доля сосудистой стенки, занимаемой клетками гладкой мускулатуры, сохраняется за счёт уменьшения числа слоёв миоцитов до одного слоя в самых маленьких артериолах. По мере приближения к капиллярам эти клетки оказываются все больше отодвинутыми друг от друга, в результате чего мышечный слой перестаёт быть сплошным. Фактическая объёмная доля миоцитов может увеличиваться до 70-85% от общего объёма среды, увеличивая способность микроциркуляторных артерий модулировать диаметр сосуда, тем самым контролируя внут-

рисосудистое давление и, следовательно, поддерживая оптимальную кожную перфузию. По сравнению с другими тканями артериолы в кожной микроциркуляции имеют высокую плотность сенсорных, симпатических и парасимпатических нервных аксонов [56] и играют главную роль в нервном контроле и регуляции кожного микрососудистого тонуса [2].

- *Прекапилляры (прекапиллярные артериолы)* – сосудистые сегменты диаметром около 15 мкм, соединяющие капилляры с артериолами. Исключение составляют гемокапилляры в клубочках почек, которые располагаются между приносящими и выносящими артериолами. У прекапилляров, в отличие от капилляров, поверх эндотелия располагаются разрозненные гладкие мышечные клетки, лишённые эластических элементов. Высокая чувствительность к различным сосудорасширяющим и сосудосужающим веществам является главной особенностью прекапилляров и определяет их функционирование. Они являются промежуточным звеном между артериолами и истинными капиллярами [1].
- *Прекапиллярные сфинктеры* расположены в местах ответвления капилляров от прекапиллярных артериол. Находясь под контролем гуморальных факторов и химических веществ, прекапиллярные сфинктеры регулируют кровоток в пределах капиллярной сети. В норме часть данных элементов МЦР тонически закрыта и открывается при различных нагрузках.
- *Капилляры* являются основным структурным элементом МЦР и играют главную роль в обмене веществ между кровью и тканями. Это тонкие (диаметром, от 3–5 до 30–40 мкм) сосуды, ветвящиеся на своём протяжении между артериальным и венозным отделами системы кровообращения. Внутренний диаметр капилляров постепенно увеличивается по направлению к венолярному отделу примерно на 20%. Стенка капилляра состоит из эндотелиальной и адвентициальной оболочек и лишена сократительных элементов. По этой причине данное звено МЦР не сокращается, а механические свойства окружа-

ющей среды объясняют малую способность капилляров к растяжению. Соединённые между собой капилляры образуют капиллярную сеть, густота и пространственная ориентация которой определяется конструкцией и функциональными особенностями органа [1]. Расстояния между капиллярами переменны. В тканях с интенсивным обменом веществ густота капилляров выше, чем в тканях, отличающихся низким уровнем обменных процессов. Так, например, в скелетной мышечной ткани на площади сечения в 1 мм² встречается до 1400 срезов капилляров, в коже — около 40. Число функционирующих капилляров определяется состоянием органа. В случае длительного снижения обменных процессов количество закрытых капилляров увеличивается, при этом часть их подвергается редукции.

У здоровых людей капилляры имеют однородный размер, форму и цвет и расположены поперек кутикулы. Капиллярные петли могут представлять сдержанные морфологические вариации, такие как скрещённые или извилистые петли (с переплетением). Субпапиллярное венозное сплетение можно увидеть в различной степени примерно у 60% населения. В норме может наблюдаться небольшое количество капиллярных дилатаций, но обнаружение мегакапилляров или участков деваскуляризации считается аномальным, за исключением случая если деваскуляризации связана с травмами [57].

- *Посткапилляры (посткапиллярные вены)* образуются в результате соединения двух или нескольких истинных капилляров. Их диаметр больше, чем у капилляров, и составляет 15–30 мкм. Меняется форма эндотелиальных клеток. Число перифитов резко возрастает, они образуют вместе с базальной мембраной тонкую адвентициальную оболочку. Стенки посткапилляров растяжимы, обладают высокой проницаемостью и лишены мышечных клеток. Вместе с венами посткапилляры составляют лабильное звено МЦР с выраженной ёмкостной и резистивной функциями. Посткапиллярные вены впадают в собирающие вены, вместе с которыми они составляют первые компоненты венозной системы.

- Размер *собирательных венул* широко варьируется и в обычных условиях находится в пределах 25—50 мкм. Стенка венул становится толще за счёт соединительнотканых клеток и волокон. Появляются рассеянные мышечные клетки. Возможность трансмурального перехода жидкости в венулах сохраняется. В структуре венул также имеются расширенные участки, которые указывают на их ёмкостную функцию. Кроме этого, в мелких венах обнаружены мышечные сфинктеры и клапаны, регулирующие отток крови из капиллярной сети. Топологическая организация сети артериол и венул схожи и имеют вид ветвящегося дерева.
- *Артериоловенулярные анастомозы* (АВА) – специфические терморегуляторные структуры, которые состоят из сосудов с толстыми мышечными богато иннервированными стенками. Эти сосуды соединяют артериолы с венулами, выполняя роль шунтов, с помощью которых часть крови может переводиться в венозный отдел в обход капилляров [58]. Благодаря развитому мышечному компоненту, АВА обладают выраженной зависимостью тонуса их артериолярных отделов от нейросинаптической адренергической регуляции [59]. Благодаря АВА часть движущейся крови переходит непосредственно в венозное русло, что ускоряет движение всего объёма крови. Перераспределяя кровотоки, АВА играют ключевую роль в его регуляции, регуляции сосудистого давления, участвуют в депонировании крови и процессах терморегуляции.

В целом такой набор структурных единиц МЦР характерен для большинства органов человека. Особенности строения системы микроциркуляции в различных органах даны в монографии [52]. Кровь, протекающая по МЦР, отделена от окружающих тканей эндотелием. Сообщения между компонентами всей системы микроциркуляции находятся на ультраструктурном уровне и характеризуются как механизмы капиллярной, клеточной и мембранной проницаемости. Все звенья МЦР снабжены механизмами, обеспечивающими проницаемость сосудистой стенки и регуляцию кровотока на микроскопическом уровне. Микроциркуляция крови регулируется работой

мускулатуры артерий и артериол, а также особых мышечных сфинктеров, расположенных в пре- и посткапиллярах. Одни сосуды МЦР (артериолы) выполняют преимущественно распределительную функцию, а остальные (прекапилляры, капилляры, посткапилляры и венулы) – преимущественно трофическую (обменную). Движение крови по МЦР разделяется на два потока: транскапиллярный (основной), служащий для обмена веществ, и внекапиллярный (добавочный, предохранительный), необходимый для регуляции гемодинамического равновесия. Поскольку для обеспечения жизнедеятельности органов и тканей требуется регуляция поступления и оттока крови, транскапиллярного обмена, периферический кровоток находится под контролем различных механизмов регуляции.

1.2. Особенности кожной микроциркуляции

При построении современных диагностических методов большое внимание уделяется проведению исследования без нарушения целостности ткани (неинвазивности). Поскольку наиболее доступным органом является кожа, была сформулирована гипотеза о возможности использования микроциркуляции крови в коже в качестве генерализованной модели всей системы микроциркуляции крови человека [11,60,61]. В подтверждение справедливости этой гипотезы приводятся экспериментальные данные о том, что сосудистая реактивность в различных сегментах сосудистого русла (коронарные артерии, плечевая артерия и кожная микроциркуляция) коррелируют у здоровых людей и пациентов с нарушениями, как минимум, функции эндотелия [10]. Диагностические возможности выявления эндотелиальной дисфункции в микроциркуляции кожи для болезни коронарных артерий, гипертонии [62], сердечной недостаточности были рассмотрены в обзоре [63]. К настоящему времени получены результаты для нарушений МЦР при широком спектре различных хронических состояний, таких как астма [64], обструктивное апноэ [65], ревматоидный артрит [66]. Общей чертой этих заболеваний является хроническое воспаление, причём в некоторых исследованиях было показано, что дисфункция МЦР коррелирует с биомаркерами системного воспаления [67,68]. Кроме того, периферическая

микроциркуляция может быть использована в качестве маркера системной микрососудистой дисфункции при острых воспалительных состояниях, таких как сепсис [69], а также в реконструктивной хирургии или у пациентов с ожогами для оценки жизнеспособности и функции тканей [70]. Исследование кожной микроциркуляции у пациентов может помочь в расшифровке основных патофизиологических механизмов или быть использовано в качестве прогностического маркера ответа на лечение. Несмотря на большой объем данных, на сегодняшний день эта задача не решена [71], что обусловлено значительной неоднородностью методов, используемых для оценки микрососудистых нарушений, различием в популяциях пациентов, значительной вариабельностью физиологических реакций [72], и недостаточностью проработки и унификации исследовательских протоколов.

Современные знания об анатомии микроциркуляции кожи в значительной степени опираются на работы Ирвина Брейвермана (г. Нью Хэвен, США) и Агнес Йен (г. Йель, США). Нормальная кожная микроциркуляция организована в двух сплетениях, расположенных параллельно поверхности кожи (Рис.1.1) [73, 74].

Верхнее сплетение, расположенное в сосочковой дерме, играет важную роль в питании кожи (Рис. 1.2). Оно состоит из небольших артериол и венул, наружного диаметра приблизительно 20 мкм, с капиллярными петлями, которые простираются перпендикулярно к поверхности кожи [75], расположенных в пределах 1 мм от поверхности. Стоит отметить, что телеангиэктазии, расширенные формы этих структур, видны через эпидермис [76].

Нижнее сплетение расположено на кожно-гиподермальном границе и состоит из артерий и вен, вытекающих из низлежащей мышечной и жировой ткани и перфорирующих фасцию с образованием восходящих артериол и нисходящих венул, соединенных с поверхностным сплетением [76]. Сосуды с 4-5 слоями сосудистой гладкой мускулатуры обычно имеют больший диаметр, чем сосуды верхнего сплетения [73]. Восходящие артериолы расположены случайным образом, но примерно через каждые 1.5 мм, разветвляясь, они образуют микрососудистые сети вокруг потовых желез и волосяных фолликулов. Высокоиннервированные артериолы контролируют

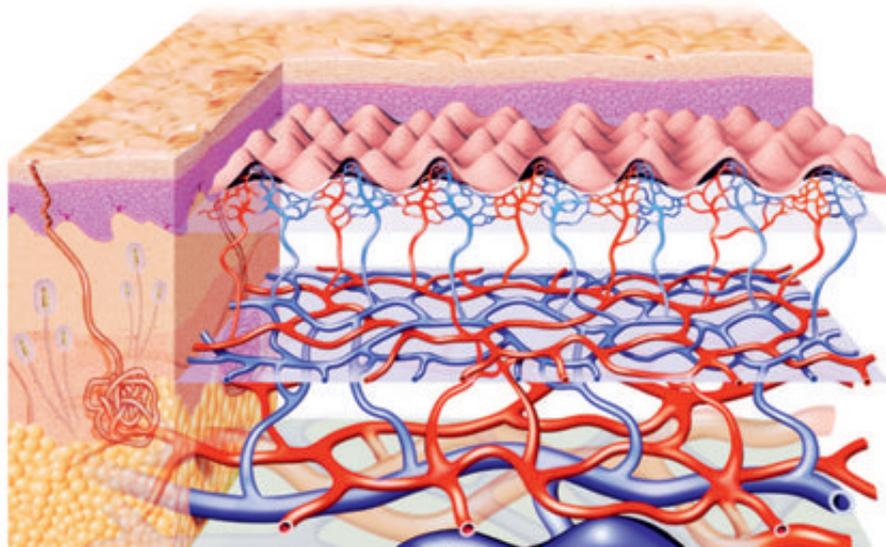


Рис. 1.1. Строение микроциркуляторного русла кожи

ют кровотоков через папиллярные петли. Несмотря на то, что расположение сплетений и папиллярных петель в целом согласуется, существуют анатомические различия между областями кожи. Обнаружены значительные различия в строении толстой (кожа ладоней, стопы, губ) и тонкой кожи. Для толстой кожи характерно отсутствие волосяного покрова, что нашло отражение в английском термине *glabrous*. Именно в этих участках кожи содержится большое количество АВА, которые имеют меньшую площадь поверхности и залегают глубже в дерме, чем папиллярные петли. АВА, залегающие в дерме, в большом количестве содержатся в коже конечностей (кисти рук, подошвы ног) и наиболее многочисленны в ногтевом ложе, при этом они не были обнаружены в коже предплечий, и голени. В коже ладоней, губ и подошвенной части стоп (толстой коже) АВА обходят резистивные сосуды, непосредственно соединя артериолы и вены [73].

1.3. Функции системы микроциркуляции

Основная функция МЦР состоит в транспорте крови и веществ к тканям и от тканей. Помимо этого МЦР играет важную роль в регулировании сосудистого давления, обмене между кровью и тканями, терморегуляции.

- Регулирование сосудистого давления

Артериолы обладают значительной сократительной способностью.

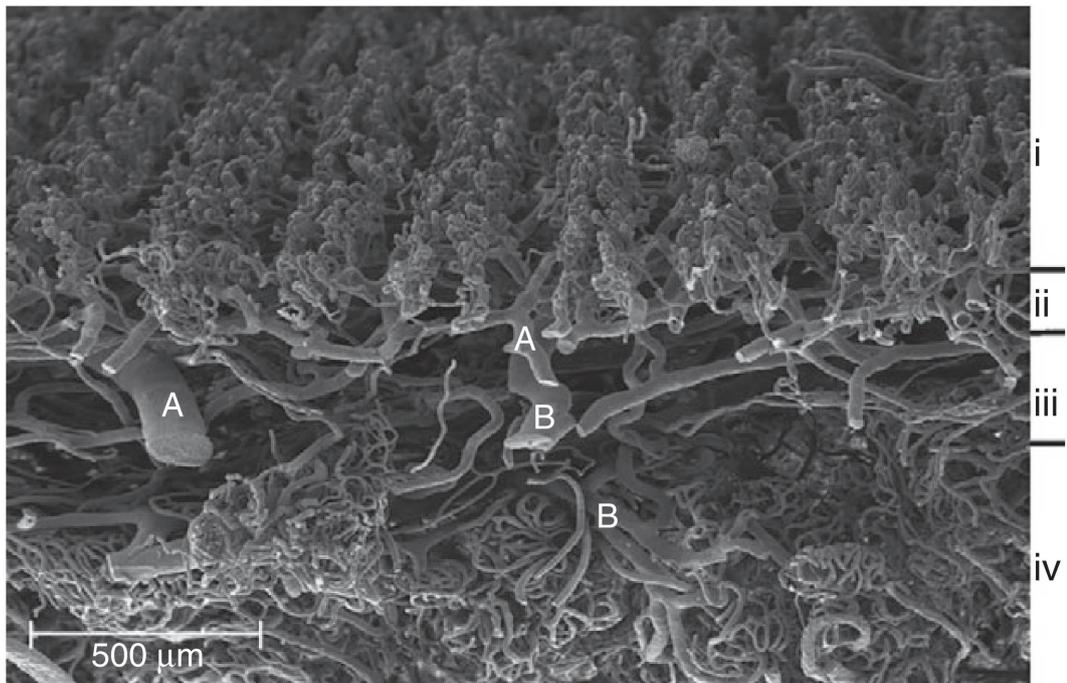


Рис. 1.2. Коррозионный препарат, полученный в результате заполнения сосудистого русла ладонной поверхности кожи хирургически удалённого пальца 18-летнего мужчины затвердевающим наполнителем [77]. На фотографии можно различить папиллярный слой, из которого возникают капиллярные петли (i), субпапиллярное сплетение (ii), ретикулярный слой (iii) и гиподермальный слой (iv) вместе с восходящими артериолами (A) и нисходящие венулы (B). Регулярное линейное расположение капиллярных петель повторяет рисунок линий отпечатков пальцев. Печатается по работе [78]

Согласно уравнению Пуазейля скорость течения в трубе пропорциональна 2-й степени радиуса сечения трубы, поэтому изменение просвета сосудов вследствие вазоконстрикции и вазодилатации существенным образом влияет на кровоток. Именно в артериолах происходит значительный скачок давления, например, в скелетных мышцах они отвечают за 50-60% изменения сосудистого давления, и, как следствие, резистивности сосудистого русла [79]. На капиллярное звено обычно приходится не более 15% падения давления, за счёт изменения количества функционирующих капилляров.

- Обменная функция между кровью и тканями

Благодаря разветвлённой сети, при малой площади поперечного сечения сосуды МЦР имеют большую площадь контакта крови и поверхности сосудов. В этих сосудах происходит обмен [55] различными веществами (кислородом [80,81], жидкостью [82], растворами [83]) между кровью и окружающим интерстицием, миграция лейкоцитов в ткань [84]. Помимо доставки питательных веществ к тканям и вывода продуктов распада микроциркуляция играет важную роль в обмене жидкостью между кровью и тканью, доставки гормонов от эндокринных органов непосредственно к тканям [85].

- Терморегулятивная

В нейтральном состоянии температура кожи составляет около 33°C, но при этом может варьироваться в достаточно широком диапазоне. Находясь в непосредственной близости от кожно-эпидермального перехода, где наблюдается как высокий температурный градиент, так и высокое кровяное давление [73], папиллярные петли являются основным регулятором теплообмена с окружающей средой. Хотя объём капилляров небольшой, площадь их поверхности велика по сравнению с другими кожными сосудами, что способствует теплообмену. При низких скоростях потока температура крови в капиллярах стремится к тепловому равновесию с температурой кожи, и кровь, достигающая капиллярных петель, охлаждается за счёт теплообмена с кожей.

При высоких скоростях кровотока температура крови, проходящей

через капилляры, может не успевать прийти в равновесие с окружающими тканями, и тепло вместе с кровью возвращается обратно в верхние венозные сплетения в дерме, лежащие параллельно поверхности кожи. Хотя сосуды в этих сплетениях многочисленны и имеют составную площадь поверхности примерно в два раза больше площади капиллярных петель, их отношение поверхности к объёму меньше, чем в капиллярах. Кроме того, кровь, поступающая в вены имеет меньшую температуру за счёт того, что была предварительно охлаждена при прохождении через капилляры. Таким образом венозные сплетения менее эффективны в плане теплообмена, чем капиллярные петли, но они обеспечивают полезный резервный механизм, когда теплообмен через капиллярные петли перегружен.

АВА имеют меньшую площадь поверхности и лежат глубже в дерме, чем капиллярные петли, они считаются менее эффективными для терморегуляции, особенно в ряде условий, например, при вертикальных упражнениях, ручном труде и т.д. В условиях покоя кожа рук и ног может значительно влиять на рассеивание и сохранение тепла; например, за счёт вызванной холодом вазодилатации [86]. В толстой коже, когда температура окружающей среды низкая, АВА закрыты. При повышении окружающей температуры АВА открываются, но, они, вероятно, играют лишь незначительную роль в терморегуляции, потому что активная вазодилатация, вызванная симпатическими холинергическими механизмами, вызывает значительное повышение кровотока кожи [87]. В результате поверхностные венозные сплетения в коже заполняются тёплой кровью и кроме того тёплая кровь поступает в венозный отдел через АВА. Это тепло передаётся окружающим тканям и происходит потоотделение и его испарение. Когда тело близко к термонеutralным условиям, АВА играют большую роль в контроле температуры, поскольку температура тела контролируется исключительно кожным кровотоком без изменений в обмене веществ. В конечностях тёплая кровь переносится по АВА к венам ритмичным активным образом, вызванным всплесками в адренергических сосудосуживающих аксонах, вероятно, происходящими из цен-

тра контроля температуры в гипоталамусе. Частота и амплитуда пиков в потоке первоначально увеличиваются при переходе из холодной среды в теплую, но снова уменьшаются при дальнейшем повышении температуры окружающей среды, когда все АВА открыты.

1.4. Авторегуляция тонуса микрососудистого русла человека

Под авторегуляцией понимают локальный контроль перфузии, который заключается в поддержании адекватного кровотока через МЦР при изменениях артериального давления, метаболизма, концентрации питательных веществ в крови человека, или других факторов которые могут влиять на потребность тканей в питательных веществах. Сердечно-сосудистая система человека является многоуровневым комплексом регуляторных структур с большим количеством внутренних и внешних связей, участвующих в регуляции кровообращения. Жизнедеятельность связана с постоянным изменением потребности тканей и органов в кислороде и питательных веществах, что требует регуляции поступления крови и транскапиллярного обмена. Основные направления регуляции периферического кровообращения следующие: регуляция объемного кровотока через органы и ткани, регуляция транскапиллярного обмена. Подробный обзор физиологических основ регуляции тканевого кровотока представлен в книге [14,88].

Первоначально исследование авторегуляции кровотока проводилось в отдельных органах животных. Было показано что после изменения давления через достаточно непродолжительный промежуток времени (30-90 с) кровоток восстанавливается, и поддерживается постоянным в достаточно большом диапазоне изменения давления (60-120 мм рт. ст.), результаты были получены для скелетных мышц, мозга, сердца, кишечника, почек и исключение составили лишь лёгкие [88]. Позднее результаты были подтверждены на отдельных сосудах и было показано, наиболее активно в процесс авторегуляции вовлечены артериолы [89].

Артериолы имеют наибольшее (по сравнению с другими сосудами) соотношение толщины стенки сосуда к диаметру просвета. Их мышечная стенка, с одной стороны, сама по себе реагирует на трансмуральное давле-

ние, с другой стороны, находится под воздействием местных вазодиллататоров и воздействия нервной системы. За счет сократительной активности гладкомышечных клеток артериол происходит значительная часть авторегуляции. Прекапиллярные сфинктеры способные перераспределять соотношение нутритивного и шунтового кровотока отвечают за перфузию ткани кровью.

Механическую силу, действующую со стороны потока на стенку сосуда, можно разложить на две компоненты: сила давления, действующая перпендикулярно стенке сосуда (трансмуральное давление), и сила вязкого трения, направленная по касательной к поверхности сосуда со стороны движущейся крови. Чувствительность гладкомышечной ткани к изменению растягивающего напряжения трансмуральным давлением, известная как эффект Бейлисса или *миогенный* ответ [90, 91], включает в себя индуцированную растяжением активацию неселективных катионных каналов в миоцитах [92], не зависит от нейрогенных влияний и сохраняется даже после перерезки симпатических волокон. При гипоксии гладкомышечные клетки способны расслабляться даже без метаболических вазодиллататоров, что приводит к появлению кислородозависимого механизма миогенной активности.

Наличие вязкого трения приводит к появлению напряжения сдвига на стенке сосуда, численно равного удельной (отнесенной к единичной площади) силе вязкого трения, величину которой можно оценить, как произведение скорости крови на ее вязкость, поделённое на поперечный размер сосуда. Поскольку скорость потока крови уменьшается с уменьшением диаметра сосуда, то величина напряжения сдвига в крупных и мелких сосудах оказывается примерно одного порядка.

Напряжение сдвига, возникающее между клетками крови и люминальной поверхностью сосудистого эндотелия, определяет активацию молекулярных путей, в частности синтез оксида азота (NO) [93, 94]. Поверхность эндотелия контактирующая с кровью, покрыта развитым гликокаликсом, толстым слоем, состоящим из макромолекул (белков, гликолипидов, гликопротеинов и протеогликанов), связанных с эндотелиальными мембранами. Его молекулярные домены обеспечивают клеточную адгезию, модулируют

коагуляцию и фибринолиз путем активации и/или ингибирования тромбина, тканевого фактора и плазминогена, контролируют жидкостный и метаболический транспорт. В ответ на напряжение сдвига эндотелиальные клетки вытягиваются вдоль потока, ядро становится эксцентрическим, толщина клетки увеличивается. Очень быстро после увеличения напряжения сдвига происходит изменение ионной проводимости, продукции инозитолтрифосфата, повышается концентрация цитозольного Ca^{2+} . Открытие K^+ каналов облегчает гиперполяризацию мембраны, что обеспечивает электрохимический градиент для проникновения Ca^{2+} . Плазматическая мембрана утолщается и начинает образовывать инвагинации [95]. Именно на уровне этих субклеточных структур происходит синтез оксида азота. NO – это высокореактивный свободный радикал, который образуется в результате двухступенчатого окисления L-аргинина [96].

Среди его многочисленных эффектов NO является мощным модулятором гемореологии [97]: он повышает деформируемость эритроцитов и тромбоцитов, уменьшает адгезию и агрегацию тромбоцитов [98], снижает адгезию лейкоцитов [99] и, самое главное, вызывает вазодилатацию [100]. В ряде исследований было показано, что длительное воздействие повышенного напряжения сдвига не только увеличивает продукцию и высвобождение NO, но и увеличивает экспрессию эндотелиальной NO-синтазы, обеспечивая тем самым молекулярную основу для его повышенной продукции [101]. Таким образом, важной особенностью, общей для всех эндотелиальных клеток, изученных в различных сосудистых и клеточных культурах, является способность реагировать на локальные изменения кровотока, в частности как на непродолжительные, так и на устойчивые изменения гемодинамических сдвиговых напряжений, деформирующих клетку [102, 103]. Ацетилхолин индуцирует эндотелий-зависимую вазодилатацию и используется в качестве стандартного метода индуцирования эндотелий-зависимых реакций [104], наличие эндотелиальных клеток является обязательным условием ацетилхолин-зависимой релаксации что было продемонстрировано и на изолированных артериях [105]. Открытие этого факта привело к пониманию роли оксида азота NO, как основного эндотелиального вазорелаксирующего фактора.

Существует постоянное взаимодействие между NO-трактом и симпатической вазоконстрикторной функцией у человека. Введение нитропрусида натрия, донора NO, методом микродиализа, вызывало такое же увеличение кровотока в кожных сосудах, как и изопротеренол, агонист адренергических рецепторов β_2 [106]. Напротив, при холодовом стрессе снижение объёмного расхода через систему кожных сосудов было гораздо менее выражено с нитропрусидом натрия, чем с изопротеренолом, что позволяет предположить, что экзогенный NO способен специфически ингибировать вызванную холодом вазоконстрикцию кожи. Предыдущие исследования предполагали, что местное нагревание кожи ингибирует экзогенную вазоконстрикцию норадреналина и что это может быть связано с отсутствием высвобождения при местном нагревании [107].

Сосуды кожи лишены парасимпатической холинергической иннервации. Нейрогенный компонент связи связан с поступлением вазоконстрикторных импульсов по постганглионарным адренергическим симпатическим волокнам. При этом необходимо отличать тоническую активность нервных центров в условиях физиологического покоя от физической рефлекторной в ответ на афферентные влияния. Традиционно считается, что адренергические симпатические волокна иннервируют прекапиллярные сфинктеры, регулируя, таким образом, распределение притока крови в сеть нутритивных капилляров либо его шунтирование через АВА. В наибольшей степени указанная особенность характерна для кожи акральных отделов конечностей. В отличие от факторов гуморальной регуляции, симпатическая иннервация в равной степени играет роль как в поддержании базального тонуса, так и в адаптации к меняющимся условиям внешней и внутренней среды. Эффектором указанных механизмов являются лейомиоциты стенок артериол, прекапиллярных сфинктеров и венул [108]. В ответ на различные раздражители, такие как изменение местной или окружающей температуры, воспаление кожи или давление включается норадренергическая вазоконстрикция, аналогичная той, что обнаружена в скелетных мышцах, и отдельный, не адренергический вазодилататорный механизм, обнаруженный в толстой коже [109]. В кровообращении кожи спонтанная симпатическая активность оказывает вазоконстрикторное дей-

стве [71]. Симпатическая активность участвует в рефлекторной вазоконстрикции после охлаждения всего тела, когда температура кожи снижается ниже 33°C и может быть обусловлена двумя различными механизмами: рефлекторными эффектами дистанционного охлаждения кожи, связанными с симпатической вазоконстрикцией, и локальными охлаждающими эффектами.

Аксон-рефлексы отличаются от рефлексов спинного мозга тем, что они обходят интеграционные центры или промежуточные нейроны чтобы передать сигнал. Первоначально они считались однонаправленными: от кожных сенсорных нервных окончаний через афферентную аксональную ветвь к периваскулярной нейроэффекторной терминальной сети. Однако современные данные свидетельствуют о том, что отдельные нервные окончания включают в себя как сенсорный преобразователь, так и воздействующий медиатор с двунаправленной природой рефлекса. Кроме того, имеет место механизм регуляции осуществляемый с помощью вегетативной нервной системы через барорецепторы сосудистой стенки, чувствительные к трансмуральному давлению [110].

Гуморальная системная регуляция осуществляется за счёт циркулирующих в крови активных веществ. В физиологических условиях ее воздействие на тонус артериол незначительно по сравнению с нервными и местными механизмами и приобретает клиническое значения при развитии системной или регионарной патологии кровообращения. К факторам гуморальной регуляции относятся гормоны, осуществляющие эндокринное, преимущественно, вазоконстрикторное действие (адреналин, норадреналин, вазопрессин и др.) и биологически активные вещества, действующие паракринно (эндотелиальный релаксирующий фактор, простагландин I₂, брадикинин и др.), вызывающие, преимущественно, вазодилатацию. Как для гормонов, так и для биологически активных веществ характерно непериодическое действие, связанное с их секрецией при определённых условиях.

Результирующий тонус сосудов и состояние транскапиллярного обмена определяется соотношением множества разнонаправленных нейрогенных, местных, гормональных влияний на сократительную активность миоцио-

тов сосудов или стенку капилляров и посткапиллярных венул. Помимо вариаций средних значений перфузии, исследователи отмечали колебательную составляющую, которая долгое время воспринималась как паразитный сигнал, которые отфильтровывали при анализе данных. В 90-е годы прошлого века осцилляции периферического кровотока, связанные с авторегуляцией микрососудистого тонуса [111, 112], привлекли внимание ряда исследователей.

1.5. Источники модуляции микроциркуляции крови

Колебательные режимы характерны для различных биологических систем [113] на многих временных масштабах [114, 115]. Такие колебания позволяют системе подстроиться под условия окружающей среды, обеспечивают временную координацию между физиологическими процессами и гарантируют эффективную иерархию между отдельными частями системы. Ритмическая активность физиологических характеристик обусловлена результатом деятельности автономных осцилляторов. Одним из таких осцилляторов является сердце, ответственное за колебания нескольких физиологических переменных, а именно артериальное давление и изменение кровотока с частотой сердечных сокращений (ЧСС). Автономные осцилляторы взаимодействуют друг с другом таким образом, что ритмическая активность одних может быть модулирована действием других. Например, ЧСС модулируется дыхательными центрами, расположенными в стволе головного мозга, через блуждающую иннервацию синусового узла, вызывая изменения сердечного периода, синхронные с частотой дыхания, которые способствуют дыхательной синусовой аритмии [116]. Активность этих автономных осцилляторов нарушает механизмы, ответственные за управление физиологическими переменными, и результирующая реакция также может проявляться как периодическая активность. Например, связанный с сердцем ритм интегрированной мышечной симпатической нервной активности в основном обусловлен периодической модификацией центрального торможения, вызванного импульсно-синхронной барорецепторной нервной активностью, связанно с колебаниями АД [117]. Колебательное поведение

физиологических переменных является следствием не только непрерывной активности внутренних ритмических источников, но и периодических внешних воздействий. Физиологические колебания, происходящие на частотах ниже ЧСС (т.е. ниже 0.5 Гц у человека в состоянии покоя на спине), обычно называют вариабельностью. Этот термин приобрёл популярность с распространением анализа вариаций интервала между ударами сердца по электрокардиограмме (ЭКГ) [118]. Процесс медленной регуляции кровяного давления и сердечного ритма с собственной частотой вблизи 0.1 Гц называется волной Майера [119, 120]. В результате взаимодействия эти ритмы проявляются в различных сигналах: ЭКГ, кровяном давлении, потоке крови, вариабельности сердечного ритма [121].

Несмотря на то, что вариабельность периферического кровотока может быть истолкована как ошибка измерения или как побочный эффект действия гомеостаза, направленного на поддержание относительного постоянства внутренней среды организма, ее более глубокое значение было немедленно признано [122]. Некоторые новаторские работы в области изучения вариабельности ритма сердца [123, 124] и кровообращения в системе микроциркуляции [125] сделали возможным количественный анализ изменчивости и доказали, что она несёт информацию о регуляторных механизмах. Анализ спонтанной изменчивости стал более важным, когда стало ясно, что аномальный или отсутствующий ответ может быть использован в качестве признака патологического состояния, а маркеры изменчивости были очень чувствительны при выявлении дисфункции [118].

При анализе сигналов, связанных с кровообращением, физиологические колебания с частотой ниже 0.15 Гц связывают с вазомоциями – вариациями тонуса сосудов. Сосудистые гладкомышечные клетки демонстрируют различные типы динамики кальция. Статический сосудистый тонус связан с несинхронизированными кальциевыми волнами, а развиваемая сила зависит от количества набранных клеток. Глобальные кальциевые переходные процессы, синхронизированные между большим количеством клеток, вызывают ритмическое развитие процесса, известного как вазомоция. Клеточная динамика кальция в сосудистой стенке неоднородна в организме. В стимулированных сосудах некоторые гладкомышечные клетки остаются

ся неподвижными, в то время как другие демонстрируют волны переменной частоты. В начале вазомоции все гладкомышечные клетки включаются в синхронное колебание. Моделирование связанных миоцитов показывает, что экспериментально наблюдаемый клеточный рекрутинг, наличие покоящихся клеток и изменение частоты колебаний могут возникать, если клеточная популяция фенотипически гетерогенна. В этом случае покоящиеся клетки могут быть захвачены в начале вазомоции коллективной движущей силой от синхронизированных колебаний мембранного потенциала окружающих клеток. Частичная синхронизация возникает с увеличением концентрации циклического гуанозинмонофосфата, но в гетерогенной клеточной популяции полная синхронизация также требует высокой проводимости пути, обеспечивающего сильную связь между клетками [126].

Вазомоции привлекают внимание со стороны исследователей, изучающих свойства гемодинамики сердечной деятельности и кровотока с помощью количественной оценки ритмических изменений диаметра сосудов [125]. Одновременная регистрация электрической и гемодинамической активности у людей, находящихся в расслабленном состоянии, выявила наличие колебаний вплоть до частот 0.01 Гц и ниже, связанными с миогенной, нейрогенной, эндотелиальной механизмами регуляции сосудистого тонуса и обменными процессами [5, 127]. Вклад сосудистой системы в колебательное поведение происходит от ритмической активности гладкомышечных клеток в сосудистых стенках, ритмической активации симпатических нервов, иннервирующих сосуды, и вовлечения эндотелиальных клеток, выстилающих внутренний слой сосудистых стенок. Конечная цель деятельности сердечно-сосудистой системы состоит в том, чтобы доставить питательные вещества в каждую клетку и принять отходы их метаболизма, процессы, которые предположительно должны быть синхронизированы с клеточными метаболическими колебаниями, которые уже наблюдались *in vitro* [128, 129].

Природа механизмов, приводящих к низкочастотным колебаниям микрокровотока, интенсивно обсуждается [130, 131]. В работе [132] предположено, что в генерации низкочастотных колебаний микрокровотока преобладают центральные механизмы [133]. С другой стороны обнаружено,

что центральный барорефлекторный механизм [134] синхронизирует низкочастотные колебания во всей сердечно-сосудистой системе. Разработаны методы, позволяющие оценить активность тех или иных механизмов по энергии колебаний в определённых диапазонах частот, но спектральный подход, несмотря на простоту, до сих пор не нашёл широкого применения в клинических исследованиях. Более того, вопрос о применимости такого метода подвергается сомнениям, доказательством чего может быть дискуссия [15, 135], развернувшаяся после публикации в журнале «Microvascular Research» [136]. В качестве недостатков спектрального подхода упоминается низкая воспроизводимость, возникающая вследствие негетерогенности микрососудистого русла, и необходимость длительного времени мониторинга [137]. Действительно, для корректного спектрального анализа при частотах порядка 0.01 Гц необходимы стационарные сигналы длительностью более 20 мин.

Спонтанные пульсации кровотока в микрососудах привлекают значительное внимание в контексте биомедицинских исследований [6, 12, 138]. В диапазоне частот от 0.005 до 1.6 Гц выделяют шесть частотных диапазонов [112, 139, 140], природа возникновения которых а также возможная диагностическая ценность рассмотрены подробно ниже.

1.5.1. Пульсовая волна

Диапазон частот сокращений сердца составляет 0.6 – 2 Hz (в некоторых источниках указывается диапазон 0.8–1.6 Гц в [141]). Колебания кровотока в микрососудистом русле в этом диапазоне частот обусловлены пульсовой волной, т.е. распространяющейся по аорте и артериям волной повышенного давления, вызванной выбросом крови из левого желудочка в период сокращения сердечной мышцы (фазы систолы) [7]. Прохождение волны давления по артериальной части сосудистой системы вызывает кратковременное расширение участка артериальной стенки, которое можно зарегистрировать в виде пульсового толчка. Скорость распространения пульсовой волны по сосудам не зависит от скорости течения крови, а определяется эластичностью и диаметром сосуда, толщиной его стенки, плотностью крови [142].

Профиль объёмной пульсовой волны формируется в результате взаимодействия между левым желудочком и сосудами большого круга кровообращения. Первый пик пульсовой волны образуется за счёт систолической, прямой волны, второй – за счет отражённой волны, которая возникает из-за отражения объёма крови, передающегося по аорте и крупным магистральным артериям к нижним конечностям, и направляющегося обратно в восходящий отдел аорты. Результаты исследований [143] показывают, что интенсивность отражения определяется тонусом мелких мышечных артерий в основных местах отражения, поэтому анализ формы объёмной пульсовой волны является простым неинвазивным методом скрининговой диагностики факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений. Увеличение амплитуды пульсовой волны на фоне повышенных или нормальных величин показателя микроциркуляции свидетельствует об увеличении притока в МЦР артериальной крови [141].

1.5.2. Респираторная модуляция

Колебания кожного кровотока с частотами 0.145–0.6 Гц связаны с дыхательной активностью [7, 144, 145]. Считается, что основным механизмом, приводящим к изменению дыхательного ритма микрокровоотока является артериоло-венулярный градиент давления [146]. Указывается, что его снижение приводит к увеличению амплитуды колебаний в дыхательном диапазоне и маркирует застойные явления на уровне венул. Подобная точка зрения разделена также в отношении сердечно-сосудистой патологии [9, 147]. Дисфункция венулярного отдела сосудистого русла является одним из звеньев патогенеза артериальной гипертензии.

Диагностическое значение дыхательной волны заключается в ее связи с венулярным звеном в условиях естественного дыхания. Например, увеличение амплитуды дыхательной волны указывает на снижение микроциркуляторного давления и/или ухудшение венозного оттока. Ухудшение оттока крови из МЦР может сопровождаться увеличением объёма крови в венулах и эритроцитов венулярного звена; увеличивается отраженная от них составляющая ЛДФ-сигнала, что приводит к росту амплитуды дыхательной волны [141].

1.5.3. Миогенные колебания сосудистого тонуса

Известно, что даже изолированная артериола демонстрирует спонтанные осцилляции в поперечном сечении. Частота таких колебаний близка к 0.1 Гц, и возникают они за счёт синхронной активности миоцитов [5], [148]. С другой стороны происхождение таких колебаний связывают с центральной гемодинамикой [149]. В работе [121] было предсказано что миогенные колебания с частотой близкой к 0.1 Гц могут быть слабо синхронизированы в различных точках, а в работе [150] это было продемонстрировано экспериментально при проведении локального теплового теста.

В настоящее время классифицируемые частотные границы общего диапазона миогенных колебаний достаточно широки 0.05–0.145 Гц [8], в различных работах приводятся незначительные вариации границ этого диапазона. Выделяют два поддиапазона общих миогенных осцилляций — более низкочастотный 0.05–0.069 [151] и 0.07–0.145 Гц. В первом из них могут проявляться влияния сенсорных пептидергических волокон, а второй отражает собственно миогенные колебания или вазомоции. Экспериментально показано, что в артериолах разного диаметра представлены миогенные осцилляции разной частоты — в сосудах меньшего диаметра частота вазомоций выше, чем в более крупных артериолах [152].

Появление высокоамплитудных осцилляций в диапазоне 0.05–0.069 Гц свидетельствует об активации сенсорных пептидергических волокон. Увеличение амплитуды таких колебаний, в сочетании со значительным снижением перфузии, свидетельствует об активации миогенного тонуса артериол. Диагностическое значение собственно миогенных колебаний (диапазон 0.07–0.145 Гц) заключается в оценке состояния колебательного компонента мышечного тонуса прекапилляров, регулирующих приток крови в нутритивное русло.

1.5.4. Нейрогенные осцилляции сосудистого тонуса

Нейрогенный диапазон колебаний (0.021–0.052 Гц по одним источникам и 0.02–0.046 Гц по другим) в спектре пульсаций кожного кровотока, связан с активностью симпатического отдела нервной системы [153].

Диагностическое значение колебаний нейрогенного симпатического генеза заключается в возможности оценивать осцилляторный компонент симпатической адренергической регуляции артериол и анастомозов [154]; доминирование их амплитуды среди активных колебаний в вейвлет-спектре свидетельствует о преобладании эрготропной направленности регуляции микрогемодиализаторно-тканевых систем.

1.5.5. Эндотелиальные осцилляции сосудистого тонуса

Эндотелиальный NO-зависимый частотный диапазон, связанный с продукцией оксида азота (NO), составляет 0.0095 - 0.021 Гц [155] и NO-независимый диапазон – 0.005 - 0.0095 Гц [112, 139]. Исследование корреляции между метаболическими и микрогемодинамическими процессами в коже [156] показали, что улучшение поглощения кислорода и утилизации глюкозы тканями сопровождается значительным увеличением амплитуды эндотелиального ритма. Подтверждена взаимосвязь сосудистых эндотелиальных осцилляций кожи человека с сатурацией кислородом крови [157]. Диагностическое значение эндотелиальных колебаний заключается в оценке эндотелиальной дисфункции по изменению нормированных амплитуд колебаний вблизи 0.007 и 0.01 Гц (NO-зависимый диапазон). Доминирование в вейвлет-спектре осцилляций около 0.01 Гц, особенно в сочетании с высокоамплитудным пульсовым ритмом, свидетельствует о дилатации артерий и крупных артериол.

При вейвлет-анализе вариабельности сердечного ритма [158] было установлено, что эндотелиальный, нейрогенный, миогенный и дыхательный механизм синхронизованы с сердечной деятельностью. Сведения об изменении отдельных ритмов микроциркуляции при различных физиологических и патологических состояниях систематизированы с целью клинического использования [146]. Таким образом, характеристики колебаний в МЦР несут информацию не только о физических свойствах сосуда, но и о скорости и возможности прохождения биохимических реакций, состоянии нервной системы, синтезе веществ, влияющих на свойства сосудов. Физиологически эти механизмы настроены так чтобы удовлетворить метаболические потребности ткани и связаны состоянием метаболизма [159].

Вопросу применения метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) для изучения микроциркуляции крови, методики функциональных проб, и клинических приложений посвящена монография [160].

Активно проводятся исследования реакции пульсаций кожного кровотока на физиологические тесты [161], работы, обобщенные в недавних обзорах [6, 162], признаны перспективными. Тематика активно развивается, создаются методики для исследования других патологий, среди последних работ можно выделить изучение развития меланомы [163].

Приведённые выше границы частотных диапазонов характерны для человека, в настоящее время установлены характерные частоты колебаний кровотока связанные с регуляцией сосудистого тонуса у лабораторных мышей [164] и крыс [165].

1.6. Норма и патология системы микроциркуляции

В норме параметры микроциркуляции достаточно сильно варьируются от человека к человеку. Известно, что на свойства МЦР влияют возраст [166], пол [167], раса, циркадные ритмы [168]. Кроме того существуют анатомические различия кожи, которые необходимо учитывать при анализе вариаций кожного кровотока [8]. Тем не менее развитие патологических процессов в организме влияет на все его подсистемы. К настоящему времени существует достаточно большой объем данных о наличии взаимосвязи между здоровьем сердечно-сосудистой системы и функцией кожных микрососудов [71].

1.6.1. Дисфункция эндотелия

Сосудистый эндотелий – активный диффузный орган, представляющий собой одноклеточный слой выстилающий все кровеносные сосуды человека. Эндотелиальные клетки обладают целым набором функций, а именно они опосредуют воспалительные и иммунные процессы, влияют на адгезию лейкоцитов, сосудистый тонус, участвуют в системе гемостаза и процессах ангиогенеза [169].

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) является системным патологическим нарушением, которое проявляется ослаблением эндотелий-зависимой вазодилатации и ремоделировании сосудов, что является ранним проявлением патологических процессов в сердечно-сосудистой системе. Нарушение состояния эндотелия сосудов в клинических условиях можно диагностировать по биохимическим и функциональным маркерам. К гуморальным, биохимическим маркерам поврежденного эндотелия относятся изменение концентрации в крови большого количества биологически активных веществ, синтезируемых эндотелием и экспрессируемых на его поверхности, к ним относят: фактор фон Виллебранда (vVW), эндотелин-1, молекулы адгезии (Е-селектин, Р-селектин), тканевый активатор плазминогена (t-РА) (гемостатическая функция эндотелия) и его ингибитор тромбомодулин (ТМ), фибронектин, васкулоэндотелиальный фактор (ВЭФ) роста, гомоцистеин и др [170–173]. Молекулярные основы ЭД рассмотрены в [174].

Для рутинного исследования функции эндотелия целесообразно использовать доступные и неинвазивные методы, имеющие хорошую чувствительность, специфичность и воспроизводимость, однако, золотого стандарта для оценки функции эндотелия в настоящее время не существует [175]. Относительно быстрая и неинвазивная оценка вазомоторной функции эндотелия, основанная на измерении параметров гемодинамики с помощью лазерных, ультразвуковых доплерографических, сфигмоманометрических, пневмо-, фото- или электроплетизмографических методов, а также капилляроскопии, является главным подспорьем в выборе этих методов в качестве скрининга дисфункции эндотелия [176, 177]. Данные неинвазивные методики коррелируют с инвазивными, что подтверждено многочисленными исследованиями [178]. Однако имеются некоторые их недостатки: сложность качественного выполнения, разнородные протоколы выполнения, необходимость стандартизации, субъективизм в оценке нарушений микроциркуляции и затруднение общей интерпретации результатов исследования при наличии сопутствующих заболеваний или определённых состояний [176]. В любом случае оценка выраженности нарушений функции эндотелия при различных заболеваниях, а также, при возможности, изучение профиля ЭД предоставляют важную информацию, позволяющую

персонализировать лечение [179].

На сегодняшний день существуют разнообразные методики для определения ЭД инструментальными методами. Наиболее признанным методом признана проба с реактивной гиперемией [180], основанная на ультразвуковом определении способности артерий к расширению путём определения диаметра плечевой артерии после снятия 5-минутной окклюзии манжетой для измерения артериального давления. Точность данного измерения значительно зависит от позиционирования датчика и требует опыта и квалификации врача, проводящего исследование [181].

По этой причине актуальным является поиск более чувствительных методов для выявления ЭД. Среди этих методов наиболее информативными оказались такие неинвазивные оптические методики, как ЛДФ и фотоплетизмография [182] при проведении различных функциональных проб. В настоящее время в научных исследованиях широко применяется спектральный анализ ЛДФ сигналов для выявления функциональных свойств системы микроциркуляции [12].

1.6.2. Сахарный диабет

В основе патогенеза сахарного диабета (СД) лежит агрессивное действие гипергликемии, приводящее к развитию диабетической ангиопатии, которая распространяется как на мелкие сосуды (микроангиопатия), так и на сосуды среднего и крупного калибра (макроангиопатия) [183–185]. Повреждающее воздействие гипергликемии на МЦР и метаболические процессы, происходящие в тканях, связано с активацией ряда биохимических процессов, приводящих к изменению свойств сосудистой стенки: неферментативное гликирование белков; полиоловый путь метаболизма глюкозы и накопление сорбитола; активация протеинкиназы C; повышенное образование свободных радикалов и оксидативный стресс. Диабет затрагивает МЦР в тканях всего организма: патологии сетчатки, почек и нервной системы, сопровождающие диабет, возникают в каждом случае из-за микроциркуляторных нарушений в относительно небольших областях тела [186]. При поражении каждой МЦР в патологический процесс вовлекаются микрососуды-мишени большой площади, которые при дисфункции

могут влиять на общее метаболическое состояние [187]. Исследованию развития микроангиопатии у пациентов с СД посвящено значительное количество работ, поскольку на момент постановки диагноза СД 2 типа (СД2) у 40% уже имеются осложнения [188].

Клинические наблюдения показывают, что постоянный повышенный уровень сахара в крови приводит к повреждению кровеносных сосудов, в результате чего нарушения МЦР проявляются уже на доклинических стадиях развития СД [189]. Поскольку эндотелий непосредственно контактирует с кровью, он чувствителен к изменению ее химического состава, включая гипергликемию, что увеличивает риск развития сосудистых осложнений [190]. В основе механизма ЭД лежит изменение структуры рецепторного аппарата эндотелия и его чувствительности к инсулину, действие окислительного стресса, активация клеток эндотелия противовоспалительными факторами, митохондриальная дисфункция [191]. Нарушение способности эндотелия адекватно реагировать на физиологические раздражители в итоге приводит к дисбалансу местных процессов регуляции гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистого тонуса. При этом ЭД может предшествовать развитию СД, а именно, обнаружено, что у здоровых лиц, не страдающих диабетом и имеющих первую степень родства с больным СД2 наблюдается ЭД и повышение уровня плазменных маркеров ЭД [192]. Возникновение ЭД до развития СД2 предполагает наличие общих патофизиологических механизмов и причинно-следственной связи между гипергликемией и ЭД. ЭД неразрывно связана с резистентностью к инсулину через стимулирующие эффекты инсулина по утилизации глюкозы в тканях и продукцию NO в эндотелии. Величину ЭД при диабете часто соотносят со степенью тяжести и продолжительностью заболевания [193] и с уровнем гликированного гемоглобина HbA1c.

Важную роль в патогенезе развития микроангиопатических осложнений СД играет ухудшение реологических свойств крови [194]. Гипергликемия вызывает повышение вязкости цельной крови и плазмы, агрегацию эритроцитов, снижение способности эритроцитов к деформации, отрицательно влияет на гемоглобин и мембранные белки в эритроцитах, что кор-

релирует с пониженной текучестью мембран.

Одним из серьёзных осложнений СД, значительно снижающим качество жизни, является синдром диабетической стопы (СДС), который объединяет ряд поражений стоп вследствие повреждения нервов и кровеносных сосудов [195]. Своевременная диагностика, мониторинг и лечение СДС снижают тяжесть их проявления и потенциально предотвращают их дальнейшее развитие [196]. СДС играет ключевую роль в развитии язв стопы и является основной причиной замедления или отсутствия их заживления. Ни один из существующих сегодня методов диагностики не может быть признан абсолютно точным для раннего распознавания СДС, поэтому существует постоянная потребность в улучшении диагностической точности процедур. В этой связи разработка новых методов диагностики в данной области актуальна.

При СД характерны следующие морфологические изменения микроциркуляторного русла: повышается извитость капилляров на фоне нарушения работы эндокринной системы. Через некоторое время капилляры закручиваются по своей оси, и повышается внутрикапиллярное давление. Такие изменения происходят в рамках компенсации для увеличения диффузной поверхности с целью улучшить качество циркуляции крови при ухудшении её реологических свойств. Также происходит сужение артериального отдела и утолщение стенки капилляра. Увеличенная толщина базальной мембраны капилляров, так называемый ультраструктурный признак диабетической микроангиопатии, была описана в капиллярах кожи [197]. Увеличенная толщина базальной мембраны увеличивает пространство между перицитами и эндотелиальными клетками и уменьшает контакт между ними [198], перициты демонстрируют увеличенное количество более тонких цитоплазматических проекций, а выпадение перицитов происходит в диабетической сетчатке и эндоневральной микрососудистой сети. Увеличенные цитоплазматические проекции возникают на люминальной и аблюминальной поверхности диабетических эндотелиальных клеток, а промежутки между эндотелиальными клетками встречаются чаще. Гиперплазия эндотелиальных клеток очевидна, эти структурные изменения могут приводить к нестабильности стенки сосуда и объясняют повышенную

герметичность ретинального или ногтевого капиллярного ложа, например, флуоресцеином.

В отличие от капилляров в артериолах пробелы между эндотелиальными клетками встречаются очень редко. В артериолах молодых пациентов с СД первого типа (СД1) были обнаружены аномалии эластических волокон, обычно связанные со старением, что позволяет предположить, что ускоренный процесс старения происходит в связи с диабетом. [199]. Изменения в структуре посткапиллярных венул аналогичны таковым в капиллярах. У пациентов с СД наблюдаются утолщенная базальная мембрана, нерегулярная люминальная поверхность, увеличение межэндотелиальных клеточных пространств [200].

В крупном популяционном исследовании, включавшем группы пациентов с СД второго типа (СД2) и нарушением толерантности к глюкозе (НТГ), а также добровольцев с нормальным метаболизмом глюкозы, было показано что в группе с НТГ были нарушены как реактивность сосудов сетчатки глаза так и кожных микрососудов независимо от основных сердечно-сосудистых факторов риска и клинических микрососудистых осложнений СД. Была выявлена отрицательная достоверная корреляция с уровнем HbA_{1c}, концентрацией глюкозы в плазме натощак и через 2 ч после нагрузки [201]. Эти данные говорят в пользу того, что генерализованная микрососудистая дисфункция появляется на ранней стадии и предшествует диагностике СД2. Кроме того нарушение тканевой перфузии на ранних стадиях происходит не только при диабете, но и у пациентов с гиперхолестеринемией или ожирением [202]. Таким образом выдвинута гипотеза о том, что ранняя микрососудистая дисфункция порождает порочный круг, который в конечном счёте может привести к дисфункции органов [203, 204].

Исследования показали, что базальный кожный кровоток обычно ниже у пациентов с диабетом [205, 206]. Свойства колебаний периферического кровотока при диабете и НТГ изучались в [207], а СД2 [208] на лабораторных животных [209]. В настоящий момент в клинической диабетологии наблюдается дефицит методов объективной оценки состояния МЦР [210].

Большинство авторов поддерживают идею о том, что гипергликемия

– это основной фактор влияющий на дисфункцию сосудов [211–213]. При длительной гипергликемии возникает дисфункция эндотелия. С другой стороны, СД характеризуется развитием таких осложнений, как вегетативная нейропатия, которая проявляется нарушением регуляции сосудистого тонуса со стороны парасимпатической и симпатической нервной систем. Предположительно, высокая концентрация глюкозы в плазме крови блокирует адренорецепторы в кровеносных сосудах, что снижает их способность сокращаться в ответ на действия катехоламинов и других вазоконстрикторов [183]. Косвенные доказательства нарушения терморегуляторного контроля кожного кровотока у пациентов с СД2 типа были представлены в ряде работ, включающих нарушения симпатического контроля диафореза и артериального давления [214]. Таким образом, нарушение вазодилатации у пациентов с СД2 можно рассматривать как снижение содержания вазоактивных веществ (NO и простаглицлина), так и преобладающую активность дисфункции симпатической нервной системы, которая связана с вегетативной нейропатией в коже [215].

Несмотря на большой объем накопленных данных о нарушениях системы микроциркуляции до сих пор невыясненными остаётся вопрос о том, предшествует ли дисфункция МЦР или развивается параллельно с метаболическими заболеваниями. Результаты недавнего мета-анализа, включающего данные 193 исследований, сравнивающих 26 570 испытуемых, разделённых на шесть групп (здоровые, с избыточным весом, ожирением, НТГ, метаболическим синдромом, с СД2 с осложнениями или без них), доказывают раннее и прогрессирующее снижение эндотелий-зависимой сосудистой функции по всему спектру перечисленных патологий не только в кожной микроциркуляции, но и в крупных сосудах [216].

1.6.3. Атеросклероз и хроническая артериальная недостаточность

Атеросклероз является самой распространённой патологией магистральных артерий нижних конечностей [217, 218]. Течение заболевания сопряжено с их окклюзионно-стенотической трансформацией и формированием комплекса клинических признаков, обозначаемого как хроническая

артериальная недостаточность нижних конечностей (ХАН) [14, 217]. Прогрессирование стеноза и (или) окклюзии магистральных артерий ведёт к постепенной декомпенсации кровотока в конечности, что обуславливает высокие показатели летальности и инвалидизации [14, 219]. Далеко зашедшие случаи ХАН подлежат оперативному лечению. Проводимая операция направлена на восстановление магистрального кровотока и увеличение просвета стенозированного сосуда, однако 20% оперированных погибают в течение первого года после операции, а 50% возвращаются для повторного оперативного вмешательства [220]. Таким образом, ХАН является серьёзной медико-социальной проблемой и требует совершенствования методов ее раннего выявления.

Диагностика ХАН заключается в сборе анамнеза заболевания, проведении клинического осмотра и использовании инструментальных методов обследования, среди которых наиболее распространены ультразвуковая доплерография поражённых артерий и измерение лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) [220]. Ультразвуковая доплерография артерий нижних конечностей позволяет визуализировать поражённые артериальные сегменты, характер кровотока в них, ориентировочно оценить объем поражения, степень стеноза. Индекс ЛПИ характеризует отношение систолического давления на артериях голени и плеча, и наиболее точно определяется при использовании ультразвукового датчика [219]. Значение ЛПИ < 1 свидетельствует о нарушениях магистрального кровотока в нижних конечностях [220], При ХАН значение ЛПИ несимметрично [221], что связано с разной степенью поражения в конечностях. Вышеперечисленные методы неинвазивны и могут применяться для первичной диагностики заболевания.

Достоверным методом, используемым при планировании хирургического вмешательства для лечения ХАН, считается рентгеноконтрастная аортоартериография [14, 217, 219]. Принцип метода заключается в зондировании брюшной аорты, введении рентгеноконтраста и выполнении серии рентгеновских снимков артериального русла нижних конечностей [14]. Данный метод предполагает существенное вмешательство в организм человека, проводится в условиях операционной, и не может быть применим

для скрининговых обследований пациентов.

Повреждение эндотелия является ключевым фактором развития атеросклероза, возникает в доклинических стадиях и углубляется при прогрессировании заболевания [222]. Существуют данные, что у пациентов с терминальной стадией заболевания периферических сосудов была значительно нарушена эндотелий-зависимая вазодилатация [223]. Предположение о том, что повышенный уровень гомоцистеина, одного из маркеров ЭД, может быть независимым фактором риска развития атеросклероза и его прогрессирования на сегодняшний день подтверждено несколькими исследованиями [172, 224]. Включение этого маркера в шкалу биохимических исследований может повысить качество определения степени риска у больных с ХАН.

На сегодняшний день выявлен ряд изменений функционально состояния МЦР при ХАН. Так в работе [225] описаны изменения в собственной функциональной активности микрососудов, позволяющих проводить дифференциальный диагноз между критической и субкритической ишемией нижних конечностей. В диссертации [226] проведена оценка функционального резерва микроциркуляции при IV стадии синдрома ХАН нижних конечностей атеросклеротического генеза, в результате которого выделено три типа ишемических расстройств, имеющих различную прогностическую ценность для определения отдалённых исходов оперативного лечения. Кроме того продемонстрировано, что исследование вазомоций имеет ценность при исследовании ХАН, как метод диагностики и контроля лечения [227, 228].

1.6.4. Ревматические заболевания

Под ревматическими болезнями понимают хронические аутоиммунные заболевания, обусловленные системным или локальным поражением соединительной ткани, наиболее часто проявляющимся суставным синдромом. Они серьёзно ограничивают социальную активность пациентов и в большинстве случаев ведут к инвалидизации, потери трудоспособности и уменьшению продолжительности жизни. Детальный анализ распространённости ревматических болезней представлен в работе [229].

Микроциркуляторные нарушения являются объединяющим звеном патогенеза всех ревматических болезней и могут проявляться в сбое функционирования регуляторных механизмов, расстройствах микроциркуляции крови и архитектурной дезорганизации микрососудов. Архитектурная дезорганизация и регуляторные нарушения микроциркуляторного кровотока в совокупности приводят к изменению кровоснабжения тканей, дисбалансу концентраций основных хромофоров кожи (оксигемоглобина и дезоксигемоглобина), деструктуризации компонентов сосудистой стенки, что в конечном итоге вызывает ухудшение проницаемости мембран для кислорода, влекущее за собой развитие гипоксии, отёков тканей и появление некробиотических процессов. Таким образом, вовлечение сосудов в патологический процесс как на начальных стадиях течения болезни, так и на фоне уже имеющейся системной дезорганизации соединительной ткани при ревматических заболеваниях может приводить к усугублению течения и исхода болезни и в большинстве случаев оказывать влияние на тактику лечения и прогноз заболевания в целом. При развитии ревматических заболеваний характерен ряд морфологических изменений структуры системы микроциркуляции. Прежде всего это разрежение капиллярной сети, несимметричность капилляров, появление мегакапилляров с диаметром более 50 микрон [230]. Отмечается и нарушения регуляции сосудистого тонуса [231] и дисфункция эндотелия [232]. Функциональные нарушения у пациентов с ревматическими заболеваниями наблюдались при температурных [233] и фармакологических [234] тестах.

Своевременное выявление нарушений МЦР как на ранних стадиях, когда патологические изменения ещё обратимы, так и при развитом заболевании для корректировки курса лечения — актуальная задача современной медицины. Подробному изучению нарушения системы микроциркуляции при ревматических заболеваниях посвящена работа группы Study Group on Microcirculation in Rheumatic Diseases, Eular.

1.7. Применение физиологических тестов для оценки функции системы микроциркуляции

Перспективным методом определения функционального состояния МЦР является оценка динамических изменений кожного кровотока [2, 137, 160, 161, 235], под воздействием внешних факторов, которые могут быть использованы в качестве провокационных тестов [236]. Среди физиологических тестов, проводимых при изучении функции МЦР, выделяют температурные [214, 237–239], дыхательные [240–245], ортостатические [246–248], окклюзионные (подробный обзор [249]), ментальные [250], электростатические. Также существует широкий класс фармакологических проб [251] среди которых наиболее часто используется проба с ионофоретическим введением ацетилхолина [252–254]. Функциональные тесты позволяют выявить резервные и адаптивные к внешним воздействиям возможности МЦР, могут быть использованы для выявления физиологических нарушений, сопровождающих различные патологии, и оценки функционального состояния периферического сосудистого русла человека.

1.7.1. Локальный температурный тест

Неинвазивные и простые в реализации, тепловые тесты, связанные с локальным нагреванием или охлаждением ткани, используются достаточно часто [255, 256]. Поток-зависимая вазодилатация и вазоконстрикция вызывают изменения как кровотока, так и кожной температуры [238], и отражают функцию регуляторных механизмов [130]. Изменение чувствительности гладких сосудистых мышц к симпатической стимуляции при локальном охлаждении [257, 258] вызывает вазоконстрикцию.

Первоначально предполагалось, что реакция на локальный нагрев является следствием аксон-рефлексов. Однако было обнаружено, что у пациентов, получавших лечение от тяжёлых ожогов, локальный гиперемический ответ был нормальный, несмотря на изменение активной кожной вазодилатации. Ещё одно доказательство того, что реакция кожи на общее и местное нагревание тела не опосредуется теми же механизмами, возникло из демонстрации Д.Келлога в которой было показано, что ботулинический

токсин изменяет кожную вазодилатацию, не влияя на локальный тепловой гиперемический ответ [259].

В настоящий момент цепочка физиологических реакций, вызывающих изменение кровотока в МЦР в ответ на локальный нагрев, описана достаточно подробно [237, 260, 261]. Вариация кровотока существенно зависит от режима нагрева (скорость [262], продолжительность, максимальная температура, мощность нагревателя, локализация датчика). Обычно под локальным тепловым тестом понимают нагрев небольшой области кожи (2-3 см²) до температуры (40-42)°С. Эволюция перфузии во времени при проведении этого теста имеет несколько фаз. После включения нагревателя в течение нескольких минут (5-6 минут) кровоток быстро возрастает, что вызвано аксон-рефлексом [257, 263] (Рис. 1.3), наиболее выраженная реакция наблюдается при быстром нагреве [264]. Аксон-рефлекс опосредован каналозависимой активацией TRPV1 афферентных нейронов С-волокна, которые высвобождают вещество-Р и ген кальцитонина-родственный пептид (GCRP) со незначительным вкладом NO [265], и может отражать как функцию эндотелия, так и функцию мелких нервных волокон [214]. Отмечается, что несмотря на тщательно контролируемый протокол нагрева вариация ответа системы микроциркуляции за счёт аксон рефлекса очень высока, и чувствительна к возрасту пациентов и физиологическим условиям [266]. Медленный нагрев (0.5°С за 5 мин и более) [264] снижает эффект реакции МЦР, в то время как при быстром нагреве (0.5°С за 5 с и менее) до температуры выше 39°С имеет место более высокая воспроизводимость [255].

При продолжении нагрева с той же температурой перфузия спадает, на кривой возникает локальный минимум, после которого кровоток вновь медленно нарастает вплоть до фазы плато [261] благодаря синтезу NO [237, 267]. При условии, что выход на стационарное состояние достигается 10–15 минут, минимальное время проведения одного теплового теста должно быть порядка 40 мин. Аналогичные зависимости наблюдаются и на фотоплетизмограммах [268].

Локальный тепловой тест широко применяется для оценки нарушений МЦР у пациентов с СД [68, 269], поскольку диабет в первую очередь

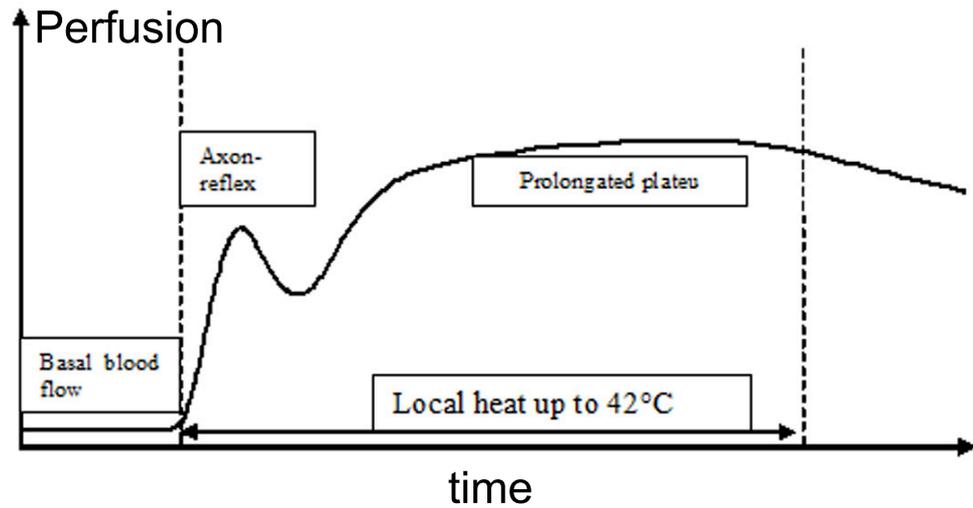


Рис. 1.3. Характерная зависимость перфузии от времени во время локального нагрева. Печатается по работе [214]

повреждает немиелинизированные ноцицептивные с-волокна, которые активируются при нагревании выше 42°C [270]. Вид зависимости перфузии от времени различается у здоровых и у пациентов с патологией [271–274]. В этих работах зависимость сигнала ЛДФ от времени сглажена и пульсации не рассматриваются, в то время как исследованию колебательных компонент микрокровотока при локальном нагреве посвящена работа [275].

1.7.2. Холодовой прессорный тест

Среди холодových тестов выделяют прямой (проводящийся на той же конечности) и контралатеральный. Второй имеет преимущества так как сводит к минимуму артефакты движения датчика, размещённого на измеряемой конечности, и уменьшает прямое воздействие охлаждения на датчик во время процедуры регистрации. При прессорном контралатеральном холодovém воздействии происходит массивная стимуляция терморепцепторов, что приводит к активации симпатического тонуса и умеренному повышению содержания катехоламинов в плазме крови без увеличения ЧСС. Такой процесс вызывает вазоконстрикцию (артерий, артериол и аортовенулярных анастомозов), снижение кожного кровотока [214], и, возможно, увеличение артериального давления [238, 276, 277]. Непрямой холодовой тест

используется для оценки функции эндотелия.

Контралатеральная холододовая проба исключает прямое воздействие на сосуды кисти и вызывает рефлекс, опосредованный повышением норадренергического сосудосуживающего тонуса и обеспечивающим сильную вазоконстрикцию [278, 279]. Впервые этот эффект был описано Льюисом в 1930 году [280]. Кожные рецепторы, стимулируемые охлаждением одной руки, повышают симпатическую нервную активность кожи ладони контралатеральной конечности [281], кровоток уменьшается, что отражается в снижении кожной температуры [282] в постоянных условиях окружающей среды [239]. Прессорный холододовый тест имеет важное значение для построения диагностического метода исследования микроциркуляции у больных СД [283]. Применимость холододового прессорного воздействия не ограничивается только диагностикой нарушений МЦР, но может иметь терапевтическое влияние [284].

1.7.3. Тест с локальной компрессией тканей

Окклюзионная проба [285] позволяет оценить величину кровотока в отсутствии притока крови через артериальное звено и резервные возможности МЦР по приросту перфузии во время реактивной постокклюзионной гиперемии [286]. Локальное давление или, другими словами, слабая компрессия, оказываемая на здоровую кожу, не вызывающее болевого синдрома, индуцирует вазодилатацию. Данный эффект получил название в англоязычной литературе *pressure-induced vasodilation* (PIV) [235], далее в тексте также будет использована устоявшаяся английская аббревиатура. Известно, что PIV нарушена у пожилых людей [287] и больных СД [2, 288, 289]. В работе [290] показано, что PIV может служить физиологическим тестом для изучения реактивности МЦР и степени риска развития СДС. Именно степень вазодилатации в ответ на локальную компрессию чувствительна к дисфункции эндотелия при диабете [291, 292].

С другой стороны, приложенное внешнее давление на кожу создаёт местную ишемию ткани и, тем самым, моделирует определяющие факторы поражений кожи в различных клинических ситуациях (пролежни [293] и диабетические язвы на ногах [294]). Давление датчика влияет на пара-

метры микроциркуляции, измеряемые различными оптическими методами: спектроскопии диффузного отражения [295, 296], флуоресцентной спектроскопии [295, 297, 298] и ЛДФ [299–301]. Изучению изменения параметров колебаний микрокровотока во время PIV посвящено всего несколько исследований [302, 303]. В работе [304] разработан датчик для одновременной записи кровотока и оказываемого давления, и описан метод коррекции записанного кровотока в зависимости от приложенной силы.

1.7.4. Дыхательные тесты

Цепочка физиологических реакций, которую вызывает тест с глубокой задержкой дыхания, достаточно интенсивно изучается и описана в литературе. Известно, что задержка дыхания вызывает изменение в сердечном ритме и кровяном давлении [305–309], приводит к кратковременной вазоконстрикции кожных артериол [240] за счет активации симпатической нервной системы, которая может быть зарегистрирована на основе термометрии или оптических измерений кровотока [310]. На основе этой реакции может быть построена методика изучения функции МЦР в различных условиях, в т.ч. и для СД [241, 242], синдрома Рейно [243], эритромелалгии [244] и проказы [242]. В работе [311] было показано, что кожная вазоконстрикция происходит в пальцах с интактной периферической симпатической иннервацией, в то время как она отсутствует после денервации и десимпатизации.

1.7.5. Фармакологические тесты

Широко изучается реакция кровотока на фармакологические тесты, призванные оценить функциональный статус МЦР. Кожа легко доступна для местной или внутрикожной доставки фармакологических препаратов, что позволяет использовать высокие местные концентрации лекарств при ограничении системного воздействия. Таким образом не происходит нагрузки на сердце и центральную гемодинамику, что гарантирует, что наблюдаемые эффекты не будут смещены системным эффектом. Для локальных фармакологических тестов используют микродиализ, микроинъекции,

ионофорез. Именно при изучении колебаний периферического кровотока при проведении фармакологических проб были установлены границы диапазонов частот, характеризующие те или иные механизмы регуляции сосудистого тонуса. Ионофорез с ацетилхолином, эндотелий-зависимым вазодилататором, и нитропруссидом натрия, эндотелий-независимым вазодилататором, не только увеличивает средний кровоток в несколько раз, но и изменяет амплитуды всех колебательных компонент кровотока [112]. Разница в относительной реакции на оба вещества наблюдалась в пределах двух самых низких частотных диапазонов. Именно основываясь на этом факте, была высказана гипотеза о связи низкочастотных колебаний с активностью эндотелия и построена неинвазивная методология определения ЭД, основанная на спектральном анализе данных ЛДФ в сочетании с ионофорезом [112]. Аргументом в пользу этой методики является тот факт, что амплитуда частоты 0.01 Гц выше при стимуляции ацетилхолином, чем при стимуляции нитропруссидом натрия, разница отменяется ингибированием NO и вновь появляется после инфузии l-аргинина, что указывает на участие NO в этом колебании [254]. Дальнейшие доказательства того, что колебания низкочастотного диапазона являются эндотелий-зависимыми, были получены в результате исследования с использованием внутрикожного микродиализа для ингибирования NO, которое обнаружило значительное подавление колебаний в диапазоне частот 0.0095-0.021 Гц при стимуляции ацетилхолином, а также при нестимулированном кровотоке [312].

1.8. Методы мониторинга кровотока в микрососудах

Понятие тонуса сосудов МЦР и вазомоций связано с изменением характерного размера их просвета. Задача измерения *in-vivo* просвета сосуда достаточно сложная, поэтому на практике измеряют вариации кровотока в МЦР, которые несут информацию о вазомоциях. История развития методов регистрации кожного кровотока изложена в обзоре Д.Лоу [313]. Косвенная оценка перфузии крови у человека впервые была проведена в 1930-х годах по кожным теплопотерям [314]. В 1940-х годах была проведена прямая оценка кожного кровотока с помощью диффузии гелия через

кожу и последующего измерения скорости его поглощения [315], а также с помощью фотоэлектрической плетизмографии [316]. С тех пор разрабатываются разнообразные медицинские устройства для описания и/или количественной оценки микроциркуляции кожи [317]. Основное различие этих технологий в том, что они направлены либо на описание поверхностной двумерной структуры микрососудов, либо на количественную оценку кожного кровотока или насыщения тканей кислородом в одной точке или в пределах заданной поверхности или объёма кожи. Идеальная техника измерения кровотока должна обеспечивать значение объёмного расхода крови, выраженное в системных единицах; однако большинство методов обеспечивают измерение только относительных величин.

На сегодняшний день для исследования МЦР применяются различные методики [318], как инвазивные (с нарушением целостности ткани), так и неинвазивные [319], однако, предпочтение отдаётся неинвазивным. Среди большого количества неинвазивных методов можно выделить класс, который позволяет проводить протяжённые во времени записи параметров микродинамики, т.е. осуществлять мониторинг и измерять кровоток во время функциональных проб [320]. В общем, эти методы характеризуются регистрацией физического параметра, так или иначе отражающего базальный тонус сосуда и его изменения. К таким методам относятся ЛДФ [160, 321], фотоплетизмография (ФПГ) [182, 182], лазерная спекл-контрастная визуализация (ЛСВ) [322, 323], кожная термометрия [24, 324], флуоресцентная [325, 326] и ближняя инфракрасная [327] спектроскопия, спектроскопия диффузного отражения, реовазография и др [328].

Важной особенностью перечисленных методов является возможность получения *in-vivo* всего спектра ритмических процессов в микрососудах от пульсовых ритмов до циркадных. Регистрируемые параметры, во-первых, сами по себе являются информативными показателями при постановке диагноза в клинике, во-вторых, интерес представляет соотношение регистрируемых параметров, в норме, при патологии, в покое и при проведении нагрузочных проб. Абсолютное большинство исследований в области изучения колебаний тонуса сосудов в МЦР выполнено методом ЛДФ [329, 330], который позволяет косвенно изучить динамику объёмного расхода крови в

ткани, называемого перфузией $P(t)$ и измеряемый в условных или перфузионных единицах. В основе метода ЛДФ лежит рассеяние когерентного света на движущихся эритроцитах. Вопросу применения метода ЛДФ для изучения микроциркуляции крови, методики функциональных проб, и клинических приложений посвящена монография [160]. Метод ЛСВ [331, 332] близок по физической реализации к ЛДФ и при этом намного проще в аппаратном решении.

В настоящее время широко распространён метод видеокапилляроскопии (ВКС) [333], которую как правило проводят на ногтевом ложе человека, где капилляры расположены параллельно поверхности кожи. На всех остальных участках кожи капилляры выходят к поверхности кожи перпендикулярно, и изучить их структуру не представляется возможным. ВКС широко применяется в клинике при синдроме Рейно [57], СД [334].

При изучении морфологических свойств системы микрососудов оценивают следующие параметры [334, 335]:

- диаметр капилляров (норма 25-50 мкм). При наблюдении капилляров меньших по диаметру чем 15-20 мкм говорят об эктазии капилляров, и при наблюдении капилляров в 4-10 раз толще нормального размера говорят о мегакапиллярах.
- выявление закрученных, искривлённых, разорванных и пересекающихся капилляров
- наблюдение неваскуляризированных областей (области более 500 мкм в которых отсутствуют капилляры)

1.9. Методы спектрального анализа колебаний периферического кровотока

Сложная природа взаимодействий между физиологическими подсистемами, наличие автономных генераторов ритма, нелинейные отношения и вложенные рефлексy с различными иерархиями и латентностями, неоднозначные причинные эффекты, наличие замкнутых связей, приводят к

тому, что оценка вкладов различных механизмов регуляции тонуса и обнаружение связей является сложной задачей, требующей развития методов обработки сигнала. Современная обработка сигналов может быть плодотворно использована для обеспечения отдельной характеристики внутренних возмущений и вызванных реакций, позволяет оценить силу реакции от стимула при учёте косвенных влияний и наличия буферных эффектов, оценить силу зависимости реакции от стимула [336–338].

Как было показано выше, при исследовании функционального состояния МЦР возникает необходимость спектрального анализа изменяющихся во времени величин для выявления вклада тех или иных колебаний в общую энергию сигнала. Живые системы характеризуются высокой вариабельностью во времени, нестационарностью и, как правило, высоким уровнем шумов. Кроме того, для живых систем невозможно зафиксировать все условия, при которых производится запись, следствием чего является нестационарность сигналов. Зачастую время измерений ограничено либо скоростью протекающих физиологических реакций, либо, в случае создания клинических протоколов исследования, временем врача, что приводит к получению сравнительно коротких рядов данных.

Для количественного описания ритмических процессов применяются методы спектрального анализа. В частности, используется спектральная плотность энергии, под которой, строго говоря, понимают результат фурье-разложения сигнала [339]. Разложение Фурье основано на использовании гармонических функций, определённых от $-\infty$ до $+\infty$. Значительное ограничение времени наблюдения приводит к тому, что Фурье-спектр очень изрезан. Сглаженный спектр будет наблюдаться при $T \rightarrow \infty$. Это существенно ограничивает выявление доминирующих частот в низкочастотном диапазоне. Одним из возможных решений данной проблемы является применение оконного преобразования Фурье, который успешно применяется к сигналам ЛДФ [6]. Ту же цель можно достичь путём перехода от традиционного спектрального анализа к вейвлет-анализу, основанному на использовании самоподобных осциллирующих функций, локализованных как во времени, так и в частотном пространстве [340]. Вейвлет-анализ, разработанный в 1980-х годах признан эффективным инструментом для анализа

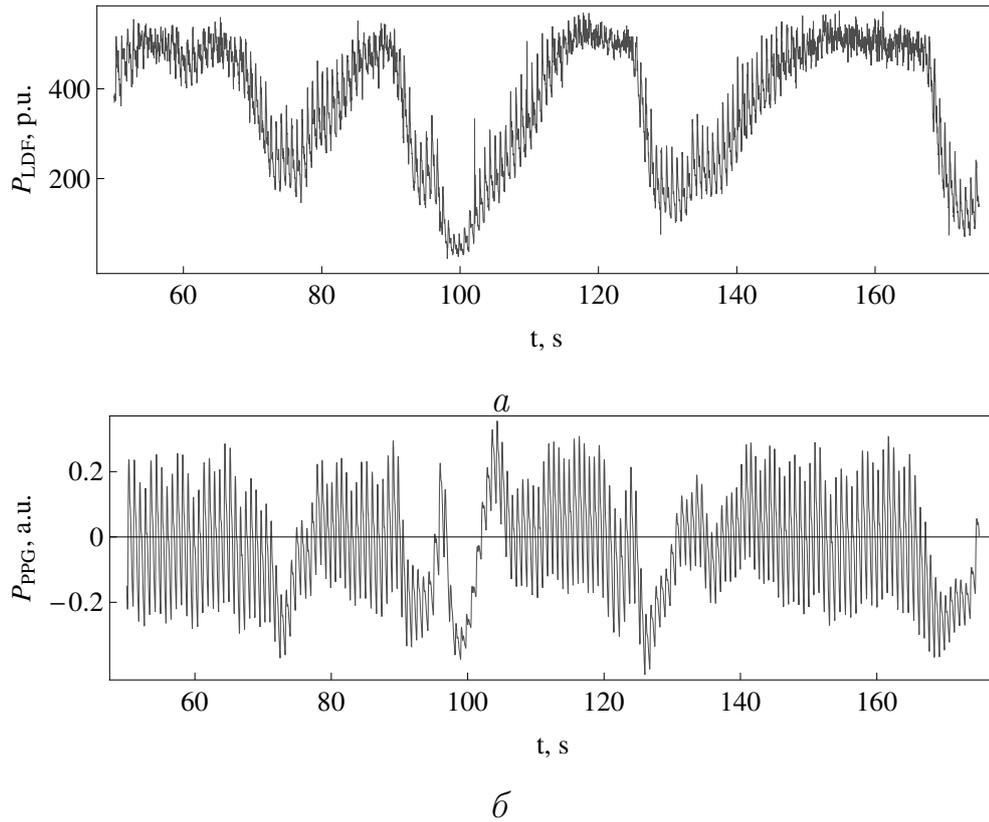


Рис. 1.4. Характерные записи сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, полученные на ладонной поверхности дистальных фаланг верхних конечностей.

коротких нестационарных сигналов с низким отношением сигнал/шум.

Для иллюстрации методологии спектрального и частотного кросс-корреляционного анализа рассмотрим два характерных сигнала полученных при помощи ЛДФ ($P_{LDF}(t)$) и ФПГ ($P_{PPG}(t)$). На Рис. 1.4 показаны фрагменты двадцатиминутных записей сделанных синхронно на одной верхней конечности человека. Датчики ЛДФ и ФПГ расположены на указательном и среднем пальцах. Условия эксперимента и методы получения данных сигналов подробно рассмотрены в Главе 4.

Для сигнала $x(t)$ распределение энергии колебаний по диапазону частот определяется спектральной плотностью распределения энергии $F_{xx}(\nu)$, которая для случайного (но статистически стационарного) сигнала определяется через преобразование Фурье автокорреляционной функции $R_{xx}(\tau)$ [341]

$$R_{xx}(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T (x(t) - \bar{x})(x(t + \tau) - \bar{x}) dt, \quad (1.1)$$

$$F_{xx} = \int_0^T R_{xx}(\tau) e^{-2\pi i \nu \tau} d\tau, \quad (1.2)$$

здесь T – длительность сигнала, а черта над переменной означает среднее по всему интервалу значение. На практике T всегда ограничено, и требование о бесконечной T невыполнимо, таким образом $T \rightarrow \infty$ означает, что $\tau \ll T$, и для анализа доступны частоты только $\nu \gg 1/T$.

Спектры Фурье для сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ показаны тонкими серыми линиями на рис. 1.5. В районе частоты 1 Гц в спектрах обоих сигналов заметен пик, соответствующий частоте сердечных сокращений (ЧСС).

Непрерывное вейвлет-преобразование сигнала $x(t)$ определяется как

$$W_x(\nu, \tau) = \sqrt{\nu} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi^*(\nu(t - \tau)) dt, \quad (1.3)$$

где символ $*$ означает комплексное сопряжение, t – время, τ – сдвиг по времени, ν ($\sim 1/a$, где a – временной масштаб) – частота, и $\psi(t)$ функция называемая анализирующим вейвлетом. Вид функции $\psi(t)$ определяется видом сигнала и задачами исследования [342]. В данной работе использован комплексный вейвлет Морле [343]:

$$\psi(t) = e^{2\pi i t} e^{-t^2/2\sigma^2}. \quad (1.4)$$

Параметр σ устанавливает длину анализирующей функции (количество осцилляций в ней), т.е. пространственно-временное разрешение. Вейвлет Морле является комплексной функцией и две его части (действительная и мнимая) показаны на Рис. 1.6 слева. При $\sigma \rightarrow \infty$ функция $\psi(t)$ стремится к гармонической, и вейвлет-преобразование переходит в преобразование Фурье. Функция $\psi(t)$ в таком случае хорошо локализована по частоте и не определена в пространстве, при уменьшении параметра σ ухудшается частотное разрешение и улучшается пространственное. Вид действительной

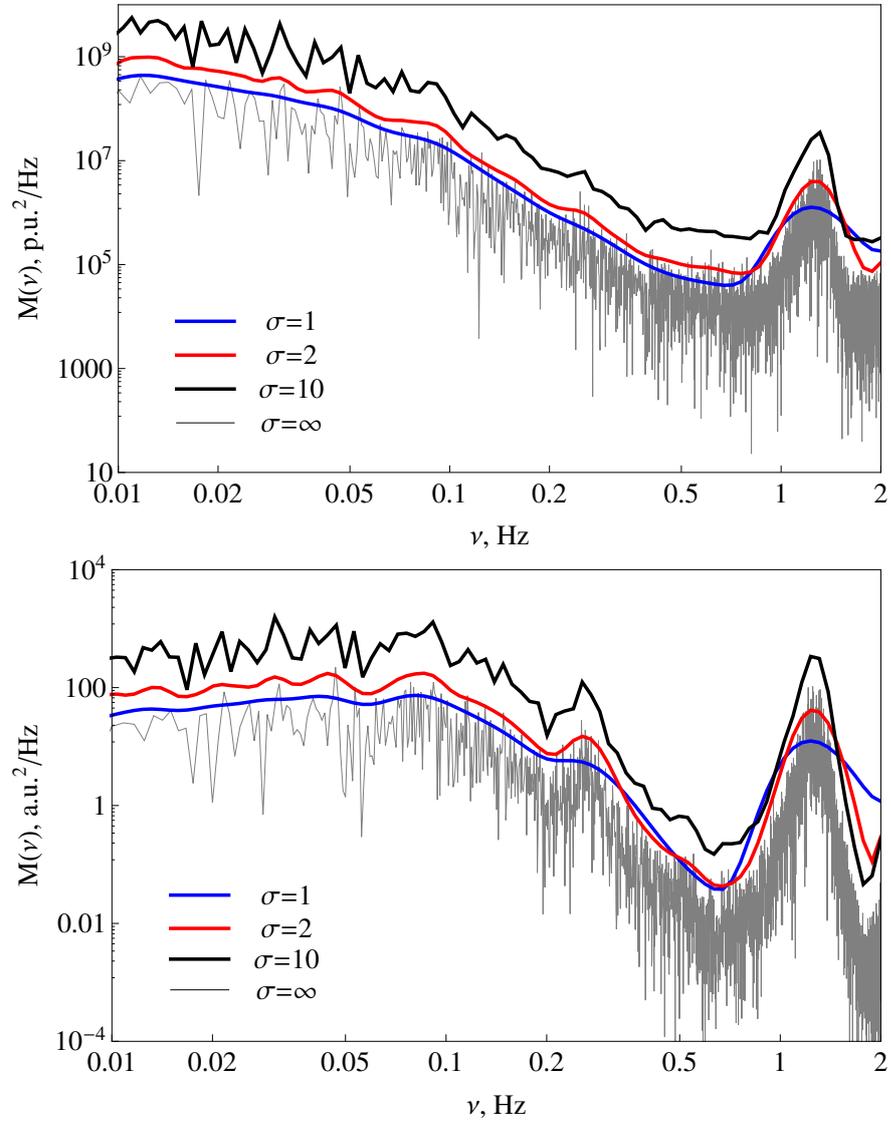


Рис. 1.5. Фурье- (тонкая серая линия) и вейвлет-спектры (жирные линии) записей $P_{LDF}(t)$ вверху и $P_{PPG}(t)$ внизу. Разными цветами обозначены Вейвлет-спектры рассчитанные с помощью вейвлета Морле (1.4) для различных $\sigma = 1, 2, 10, \infty$. $\sigma = \infty$ соответствует анализу Фурье.

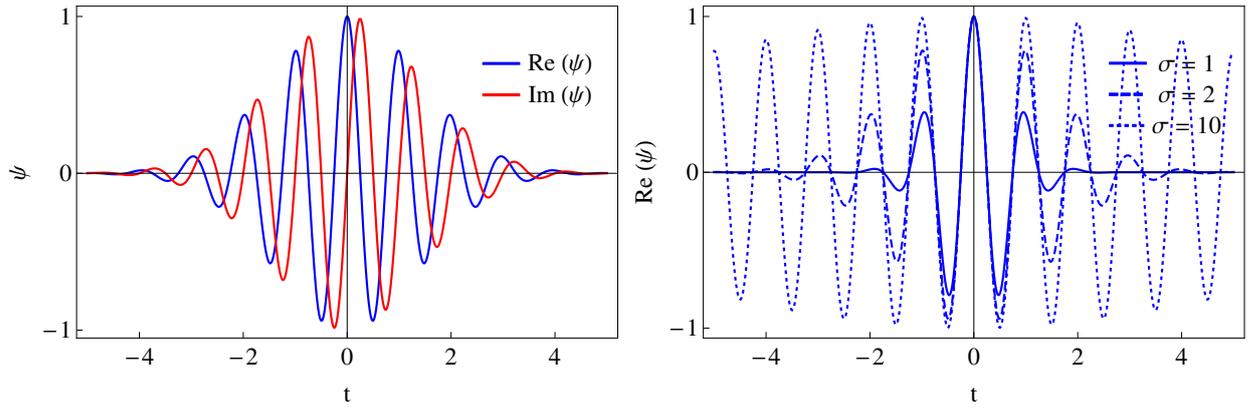


Рис. 1.6. Слева – вейвлет Морле $\psi(t)$ (1.4) для $\sigma = 2$ (действительная и мнимая части), справа – действительная часть $Re(\psi)$ для различных значений $\sigma = 1, 2, 10$.

части функции $\psi(t)$ для различных значений параметра σ представлен на Рис.1.6 справа.

Вейвлет-преобразование (1.3) одномерного сигнала даёт двумерное отображение на частотно-временной плоскости – вейвлет-спектрограмму. Такое представление позволяет исследовать изменение колебательных характеристик различных масштабов во времени. На Рис.1.7 представлены вейвлет-спектрограммы для 10-ти минутных фрагментов записей $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ показанных на Рис. 1.4. На представленных спектрограммах видны выделенные частоты в области 1 Гц, соответствующие ЧСС и вклад низкочастотных колебаний (частота 0.1 Гц и ниже). На вейвлет-спектрограмме сигнала $P_{PPG}(t)$ отчётливо прослеживается дыхательная модуляция кровотока на частоте 0.3 Гц.

При интегрировании по времени $W(\nu, t)$ получаем аналог спектра мощности

$$M(\nu) = \frac{1}{T} \int_0^T |W(\nu, t)|^2 dt, \quad (1.5)$$

нормировка $\sqrt{\nu}$ в (1.3) позволяет сравнить спектр Фурье и $M(\nu)$. Полученная величина $M(\nu)$ по аналогии со спектром Фурье называется вейвлет-спектром. Вид вейвлет-спектров для сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ рассчитанных с использованием вейвлета Морле при различных значениях пара-

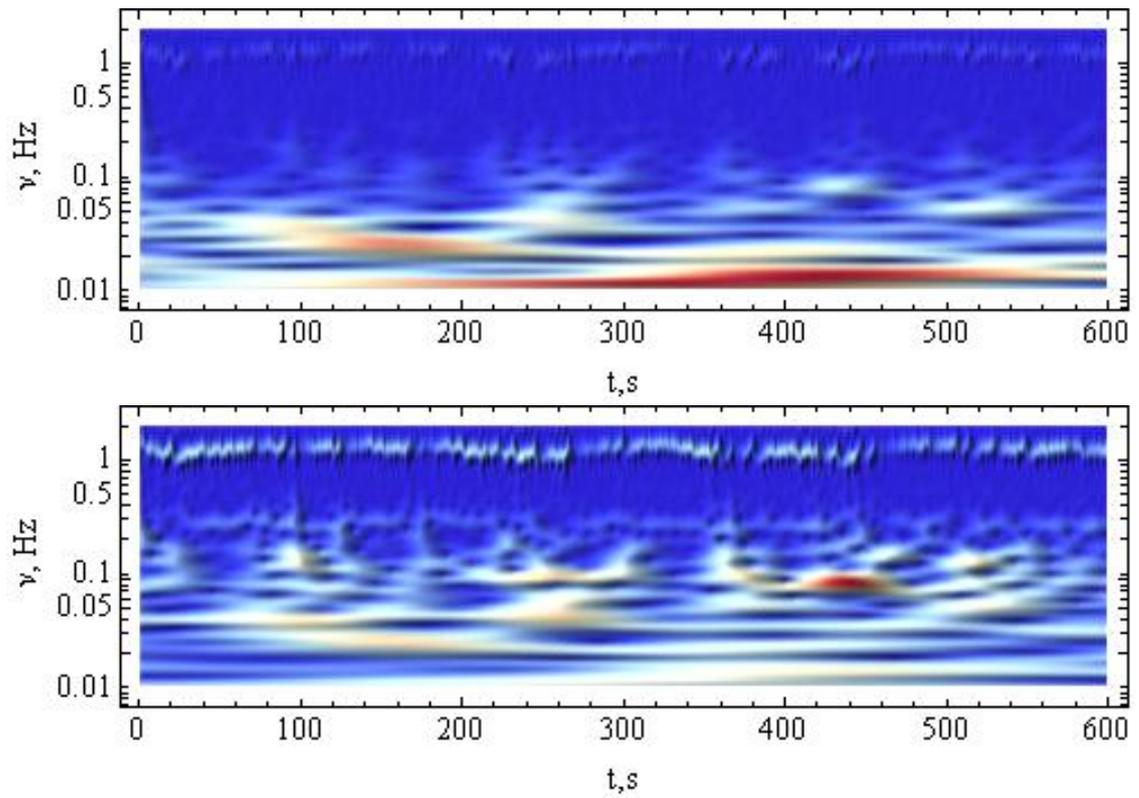


Рис. 1.7. Вейвлет-спектрограммы для представленных выше сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ рассчитанные при помощи вейвлета Морле (1.4) для $\sigma = 2$

метра σ показан на Рис. 1.5. Чем выше значение σ тем более вейвлет-спектр приближен к спектру Фурье, при небольших значениях σ спектр становится сглаженным.

Для выявления степени корреляции двух сигналов $x(t)$ и $y(t)$ вычисляют кросс-корреляционную функцию

$$R_{xy}(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T (x(t) - \bar{x})(y(t + \tau) - \bar{y}) dt, \quad (1.6)$$

и соответствующий ей кросс-спектр

$$F_{xy} = \int_{-T}^T R_{xy}(\tau) e^{2\pi i \nu \tau} d\tau. \quad (1.7)$$

В отличие от автокорреляционной функции, кросс-корреляция не является чётной функцией и ее спектр содержит как вещественную, так и мнимую часть. На Рис. 1.8 показаны модуль и фаза кросс-спектра $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$. Модуль кросс-спектра F_{xy} имеет структуру, схожую с автоспектрами F_{xx} и F_{yy} и новой информации не даёт. Интерес представляет степень коррелированности вариаций на каждой частоте, которую определяет нормированная функция, называемая иногда "когерентностью" [344]. Фаза кросс-спектра показывает разность фаз колебаний различных частот в рассматриваемой паре сигналов. В представленном примере для частот выше 0.2 Гц сигналы находятся практически в фазе. Однако анализировать данную информацию необходимо в паре с плотностью распределения энергии по частотам. Видно что в диапазоне 0.2-1 Гц на спектре наблюдается минимум, то есть вклад колебаний таких частот незначителен и на данной частоте сигналы содержат лишь шум, поэтому и разброс фаз в этом диапазоне большой. В диапазоне частот 1-1.5 Гц на кросс-спектре наблюдается максимум, в сигналах присутствуют колебания с данной частотой, разброс сдвига фаз уменьшается. Отметим, что в рассматриваемом примере колебания на ЧСС идут в фазе.

Представленный выше кросс-спектр, по сути, не даёт информации о взаимосвязи колебаний в рассматриваемых сигналах. Для того чтобы

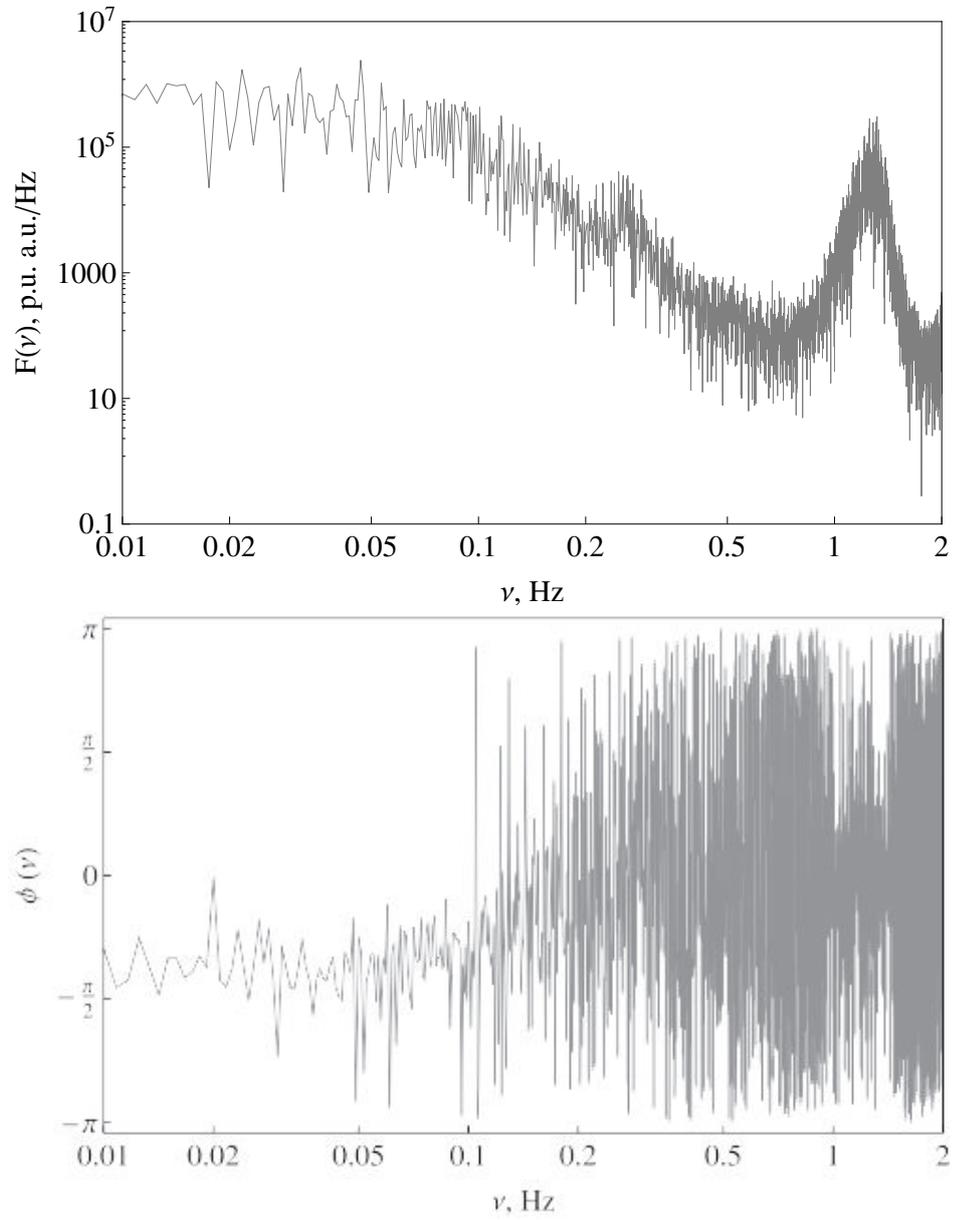


Рис. 1.8. Модуль и фаза кросс-спектра сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$

оценить по частотную корреляцию необходимо нормировать кросс-спектр на спектральную плотность энергии обоих сигналов:

$$\Gamma_{xy}(\nu) = \frac{|F_{xy}(\nu)|^2}{F_{xx}(\nu)F_{yy}(\nu)}. \quad (1.8)$$

Определённая таким образом функция $\Gamma_{xy}(\nu) = 1$ для любой частоты ν , что является следствием использования в фурье-анализе гармонических функций, определённых на всем интервале $[0, T]$. По определению корреляция двух гармонических функций одинаковой частоты равна 1. На практике важно выяснить, сохраняется ли сдвиг фаз колебаний заданной частоты в двух сигналах (есть синхронизация квазипериодических сигналов или нет). Поэтому для оценки когерентности используются различные варианты анализа Фурье в окнах, что можно интерпретировать как использование частотных фильтров, смысл которых сводится к сглаживанию спектров Фурье [345].

Вейвлет-корреляционный анализ позволяет определить корреляцию между двумя сигналами для каждой отдельной частотной составляющей [346]. В случае, когда используется комплексный анализирующий вейвлет, временная задержка колебаний различных частот в двух сигналах в каждый момент времени может быть вычислена по сдвигу фаз их вейвлет-разложений. По сути вейвлетная кросс-корреляция является нормированным вейвлетным кросс-спектром

$$C_{xy}(\nu) = \frac{\int_0^T W_x(\nu, \tau)W_y^*(\nu, \tau)d\tau}{\sqrt{\int_0^T |W_x(\nu, \tau)|^2d\tau \int_0^T |W_y(\nu, \tau)|^2d\tau}}. \quad (1.9)$$

Модуль комплексной функции $C_{xy}(\nu)$ может принимать значения от 0 до 1 и характеризует степень корреляции вариаций сигналов на частоте ν . Фаза кросс-спектра определённая как

$$\phi(\nu) = \tan^{-1} \left(\frac{\Im(C_{xy}(\nu))}{\Re(C_{xy}(\nu))} \right) \quad (1.10)$$

характеризует среднюю разницу фаз соответствующих пульсаций.

Рис. 1.9 показывает, как изменяется поведение модуля вейвлетной кросс-корреляции (1.9) при использовании анализирующего вейвлета (1.4) с различными значениями параметра σ (показаны кривые для $\sigma = 1, 2, 10, \infty$). При $\sigma \sim 1$ получается достаточно гладкая функция, указывающая на высокую корреляцию сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ как вблизи ЧСС (острый максимум при $\nu \sim 1\text{Hz}$), так и в области низкочастотных колебаний ($\nu < 0.15\text{Hz}$). На промежуточных частотах, включающих, кстати, и частоту дыхания, уровень корреляции достаточно низок. По мере роста σ кривая $|C_{xy}(\nu)|$ становится все более изрезанной, приближаясь, тем не менее, все ближе к предельному случаю $|C_{xy}(\nu)| = 1$, соответствующему преобразованию Фурье, то есть случаю $\sigma = \infty$. Важно отметить, что в отличие от модуля, фаза функции $C_{xy}(\nu)$ достаточно устойчива по отношению к параметру σ . На Рис. 1.9 поведение фазы показано только для двух случаев, $\sigma = 1$ и $\sigma = 10$. Во втором случае фаза сильно осциллирует (особенно в высокочастотной области), но в среднем следует достаточно точно за кривой, полученной при $\sigma = 1$.

Для оценки вклада колебаний в заданном частотном диапазоне $[\nu_1, \nu_2]$ можно использовать вейвлет-фильтрацию, которая позволяет восстановить колебания с частотой в заданном диапазоне

$$f(t) = \frac{1}{C_\psi} \int_{\nu_1}^{\nu_2} \int_{-\infty}^{\infty} W(\nu, \tau) \psi(\nu(t - \tau)) \sqrt{\nu} d\nu d\tau, \quad (1.11)$$

где

$$C_\psi = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{|\hat{\psi}(\nu)|}{|\nu|} d\nu, \quad (1.12)$$

и $\hat{\psi}(\nu)$ – Фурье образ анализирующего вейвлета.

Результат вейвлет-фильтрации рассматриваемых сигналов в двух частотных диапазонах (кардио и миогенном) показаны на Рис. 1.10 тонкими синими линиями.

Мерой интенсивности пульсаций является среднее квадратичное отклонение (СКО) фильтрованного сигнала $f(t)$. Эта методика не позволяет проследить изменения амплитуды пульсаций во времени и оценить погреш-

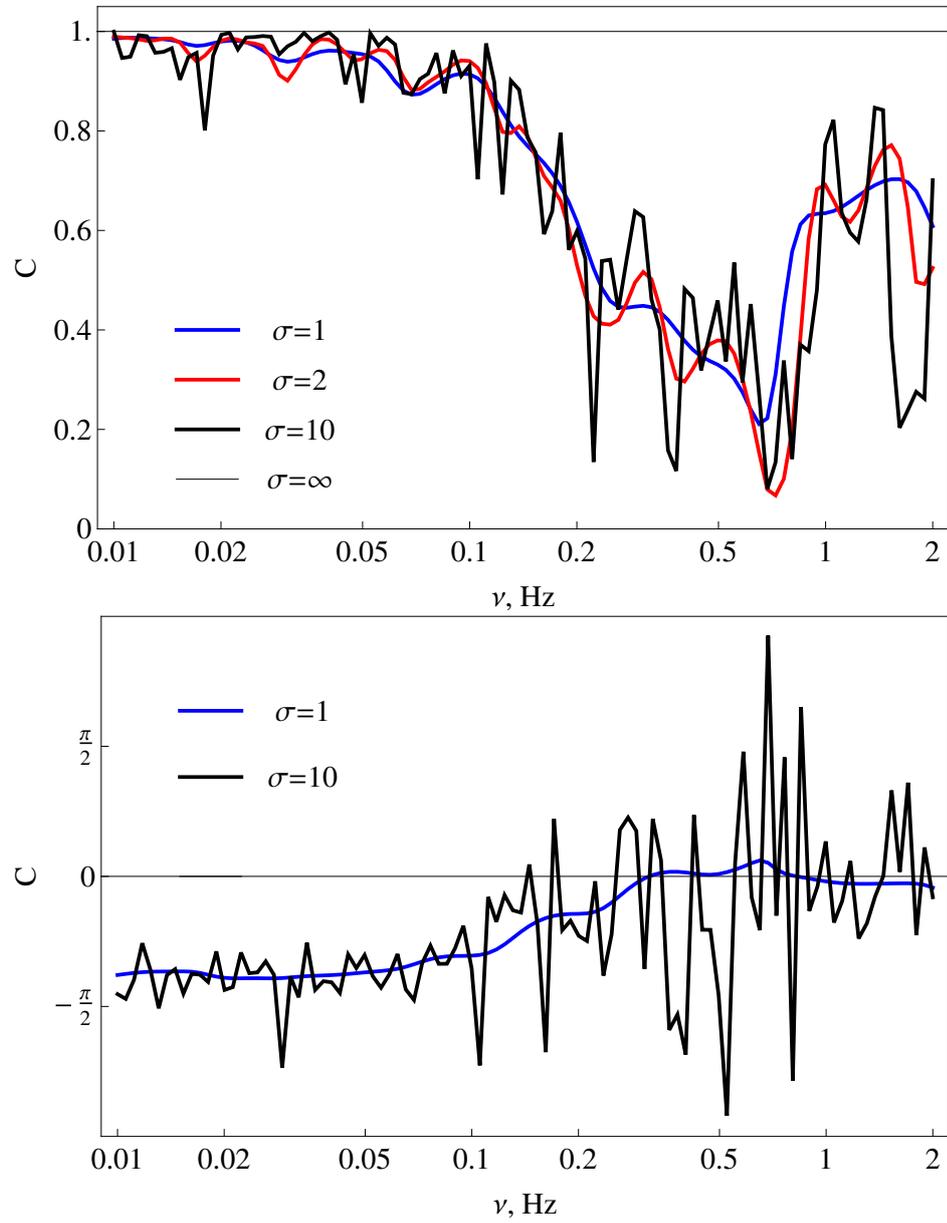
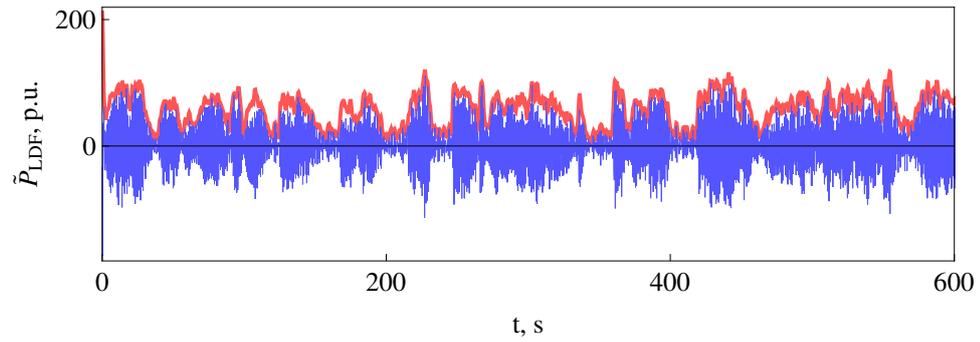
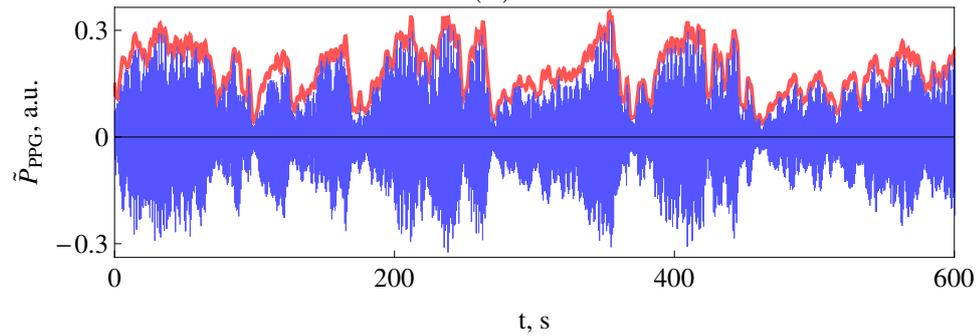


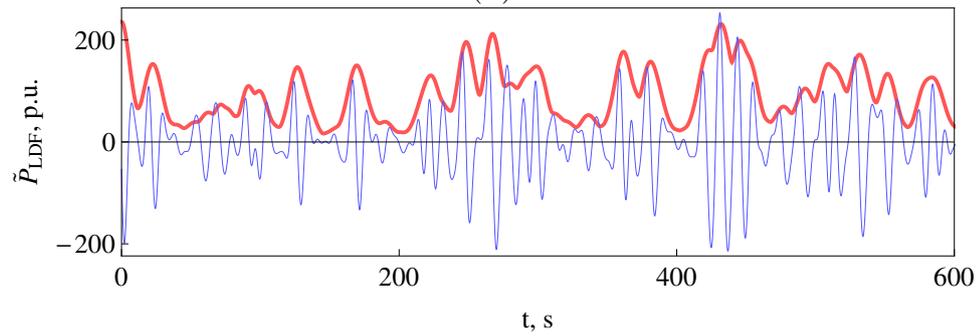
Рис. 1.9. Вейвлет кросс-спектр (вверху) и разность фаз (внизу) для пары сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$.



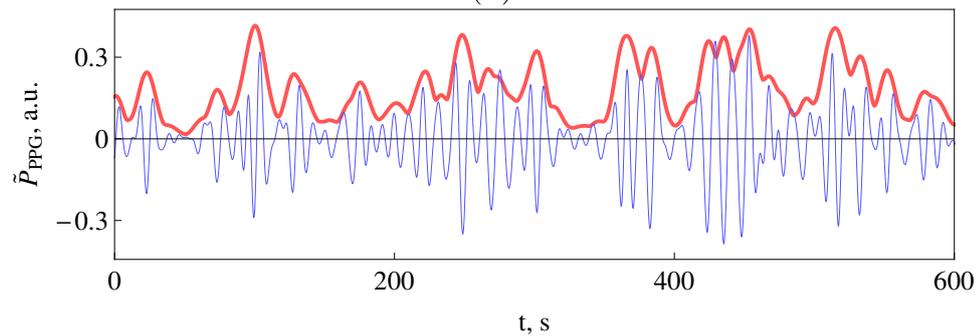
(a)



(б)



(в)



(г)

Рис. 1.10. Вейвлет фильтрация сигналов $P_{LDF}(t)$ (а, в) и $P_{PPG}(t)$ (б, г) в частотном диапазоне, связанном с активностью сердца (а, б) и миогенном частотном диапазоне (в,г) показана синими тонкими линиями. Толстые красные линии соответствуют вейвлет-оглабляющим фильтрованному сигнала.

ность расчётного значения. Для исследования динамики изменения амплитуд сигнала в заданном частотном диапазоне может использоваться огибающая вейвлет коэффициентов Wavelet coefficient envelope (WCE) [347]:

$$A(t) = \frac{1}{C_\psi} \int_{amin}^{amax} |w(a, \tau)| \frac{da}{a}, \quad (1.13)$$

которая даёт кривую $\tilde{F}(t)$ (Рис.1.10). По сути $A(t)$ является сглаженной характеристикой амплитуд пульсаций на заданном диапазоне частот.

Мерой фазовой синхронизации колебаний выступает показатель фазовой когерентности

$$\Psi(\nu) = \sqrt{\langle \cos \Delta\phi(\nu, t) \rangle^2 + \langle \sin \Delta\phi(\nu, t) \rangle^2}. \quad (1.14)$$

Величина $\Psi(\nu)$ зависит от длительности сигнала, короткие сигналы будут иметь более высокую корреляцию, поэтому уровень значимости следует оценивать до начала исследования. При исследовании достоверности связи двух и более сигналов используется метод суррогатных данных, который позволяет проводить надежные статистические оценки, гарантирующие, что наблюдаемые результаты получены не случайно, а являются истинной характеристикой базовой системы. Этот метод основан на сравнении конкретного свойства данных (дискриминантной статистики) с распределением того же свойства, вычисленным в наборе модельных сигналов (суррогатов), которые соответствуют исходному набору данных, но не обладают тестируемым свойством.

Подводя итог данного раздела отметим, что вейвлет-разложение позволяет визуализировать данные на частотно-временной плоскости и извлекать информацию о том, как частотные характеристики изменяются со временем. Вейлет-анализ имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными частотно-временными методами, основанными на анализе Фурье и широко используется в физике для описания нестационарных процессов, особенно в тех случаях, когда время всего сигнала сопоставимо с характерным временем процесса [348, 349]. Вейлет-анализ успешно применяется для анализа биомедицинских сигналов, в том числе ЭКГ [350], вариабельности сердечного ритма [158], электромиограммы [351], сигналов пери-

ферического кровотока [12, 140, 352–354]. Спектральный анализ сигналов $P_{LDF}(t)$ проводится как при помощи быстрого преобразования Фурье [6], так и на основе вейвлет-анализа [127, 139]. При вейвлет-разложении эффекты кратных гармоник, шума и артефактов движения существенно слабее, чем в случае разложения Фурье. Результаты вейвлет-анализа нуждаются в точной интерпретации, поскольку вейвлет-преобразование основано на разложении на функции с собственным спектральным портретом, а это влияет на полученные результаты. Вопросы исследования вейвлет-когерентности для физиологических систем в том числе для электроэнцефалографии мозга представляют значительный интерес [355], [356].

Поскольку система микроциркуляции является существенно нелинейной, с большим количеством обратных связей, то необходимо исследовать такие корреляции в широкой области параметров. Частотно-временной анализ имеет свои недостатки, а именно, он не способен охарактеризовать нелинейную динамику колебаний. Комплекс нелинейных свойств кожного кровотока можно отнести к энтропии, которая обычно выражается как степень беспорядка и неопределенности сигнала, то есть “внутреннего хаоса” сигналов кожного кровотока [357]. Хотя это и многообещающе, энтропия и анализ сложности сигналов остаётся исследовательским инструментом без какого-либо клинического применения. Активно развитием данных методов занимается группа университета г.Анже [358, 359].

1.10. Численное моделирование

Численному моделированию периферического кровотока посвящён значительный объем работ, которые описаны в обзоре [360]. Потребность в математических и вычислительных моделях стала очевидной из-за присущей им сложности и взаимодействий, связанных с микроциркуляторными процессами на различных клеточных и субклеточных уровнях, а также в широком диапазоне биологических масштабов. Вычислительные модели могут служить нескольким целям в микроциркуляторных исследованиях, включая обеспечение понимания биологического феномена, проверку гипотезы о лежащих в основе механизмов, определение количественных

соотношений между внешне несвязанными явлениями. Валидация таких вычислительных моделей с соответствующими экспериментальными данными очень сложна.

Процессы авторегуляции сосудов успешно описываются при помощи аналитических и численных методов. В работе [361] предложена математическая модель, учитывающая многослойное строение артериальной стенки, протекающие в ней диффузионно-кинетические процессы и нелинейные вязкоупругие свойства материала стенки. Численное моделирование задачи авторегуляции показало возможность адаптации артерии при возмущении радиуса, существование медленных осцилляций и переход системы в новое равновесное состояние при изменении уровня кровотока.

Анализ публикаций по математическому моделированию функций сосудистой системы показывает, что существуют две различные и слабопересекающиеся области, одна из которых базируется на гидродинамическом подходе, где в целях решаемости уравнений, описывающих поток, стандартным приёмом является предположение об относительно малых изменениях диаметра сосуда и, как следствие, о его постоянной степени упругости. Работы во второй области ориентированы на исследование клеточных механизмов регуляции сосудистого тонуса, которые сами по себе настолько разнообразны и сложны, что дело редко доходит до моделирования потока [362]. По этим объективным причинам крайне мало работ, в которых учитывались бы оба аспекта.

Вазомоции необходимо рассматривать не как колебания в просвета изолированного сосуда, а как сетевое явление [363]. Кровоток в одном сосуде зависит как от свойств данного сосуда, так и тех, с которым он связан. Для увеличения притока крови к данному капилляру, например, недостаточно открыть местный прекапиллярный сфинктер; необходимо сопутствующее открытие минимального набора проксимальных сосудов, чтобы создать путь с низким гидродинамическим сопротивлением для крови из более крупных сосудов. Такое развитие событий требует скоординированных изменений в нескольких сегментах МЦР [364]. Чтобы понять пространственно-временную динамику такой сети, необходимо рассмотреть не только ритмы в отдельных сосудах, но и взаимосвязь таких ритмов

между сосудами. Для связанных сегментов МЦР существуют анатомические предпосылки для синхронизации вазомоций [148], что необязательно для пространственно разделённых сосудов. Таким образом, пространственно-временная сложность вазомоции характеризуется: (1) хаосом против периодического поведения на уровне одного сосуда и (2) синхронностью против асинхронности на уровне пространственного распределения сосудов. Описанный подход к проблеме приводит к тому, что систему микроциркуляции рассматривают по аналогии с совершенно иной физиологической системой -нервной [365].

1.11. Выводы по главе

Система микроциркуляции крови представляется собой сложный анатомо-физиологический комплекс, которому в организме отведена важнейшая роль снабжения кислородом и питательными веществами органов и тканей. На уровне МЦР проходят метаболические терморегулятивные процессы. Кровоток через сосуды МЦР находится под управлением системы авторегуляции которая включает в себя локальные, гуморальные, нервные факторы. Нарушение функции системы МЦР предшествует морфологическим изменениям микрососудов и ее выявление может быть основой для диагностики и методов контроля лечения. МЦР кожи является чувствительным инструментом для исследования системной микроциркуляции, даже при резких и кратковременных изменениях функции сосудов.

Для изучения физических взаимодействий, лежащих в основе процессов в микрососудистом русле необходимо детальное представление об анатомии и функционировании данной сложной, существенно нелинейной системы, обладающей большим количеством обратных связей. Для проведения натурных исследований необходимы современные физические методы и математический аппарат обработки сигналов.

Одна из основных современных проблем современного неинвазивного изучения системы микроциркуляции, независимо от используемого метода регистрации, – это отсутствие стандартизации проводимых физиологических тестов и единого методологического подхода к анализу сигналов.

Условия проведения тестов: величина достигаемой при тесте температуры или окклюзии, скорость проведения теста и место регистрации сигнала влияют существенно на получаемый результат. Более того, измерения полученные различными приборами могут отличаться. Все это существенно усложняет задачу выхода разрабатываемых методик в клиническую практику. В значительном количестве работ указывается на необходимость стандартизации проводимых исследований и методов обработки сигналов.

На сегодняшний день исследования системы микроциркуляции не теряют своей актуальности. Современные биофизические методы регистрации сигналов биомедицинской природы и развитие математических методов их анализа позволяют получать новые данные о физиологии и функционировании микроциркуляторной системы. Большое количество патологических состояний, существенно влияющих на качество и продолжительность жизни человека, в которых страдает система микроциркуляции, создаёт практически бесконечное поле для исследователя. В диссертации представлены результаты, относящиеся как к методологическим аспектам использования различных биофизических методов (Главы 2,4,6), так и к клиническим (Главы 3,5,6) аспектам их применения для исследования функционального состояния системы микроциркуляции крови человека оптическими (Главы 2-5) и термометрическими (Глава 6) методами. В каждой главе уделено внимание современному состоянию использования полученных результатов в мировой практике.

2. Экспериментальное исследование особенностей регистрации колебаний периферического кровотока методом лазерной доплеровской флоуметрии

Метод ЛДФ, разработанный в 70-е годы XX века [329, 366], позволяет проводить мониторинг микрокровотока *in-vivo*. Метод ЛДФ основан на обработке рассеянного на ткани когерентного излучения и выделении из зарегистрированного доплеровского сдвига частоты отражённого сигнала [321]. Одноточечный датчик ЛДФ состоит из пары оптических волокон (передающего и принимающего), установленных в большинстве коммерчески доступных приборов на расстоянии 250 мкм. Расстояние может быть увеличено для увеличения глубины измерения за счёт более высокого отношения сигнал/шум.

Механизм генерации сигнала ЛДФ достаточно сложный, интерпретация таких измерений активно обсуждается [367–369]. В первом приближении сигнал ЛДФ, называемый перфузией, пропорционален потоку эритроцитов в диагностическом объёме и измеряется в относительных перфузионных единицах (р.е.) [370]. Величина $P_{LDF}(t)$ зависит, во-первых, от концентрации эритроцитов в зондируемом объёме ткани и, во-вторых, от усреднённой линейной скорости их движения. Оба эти компонента — скоростной и объёмный — являются составляющими объёмной скорости кровотока. Концентрация эритроцитов определяется двумя факторами — содержанием эритроцитов в исследуемом МЦР или внутрисосудистым гематокритом и количеством функционирующих микрососудов, в том числе капилляров. Поскольку ЛДФ-датчики регистрируют движения клеток крови во всех направлениях [371], то под скоростью кровотока понимают среднее значение модуля скорости. Метод ЛДФ достаточно точен при количественной оценке быстрых изменений кожного кровотока, но при этом обладает существенными ограничениями [320]:

- измерения производятся в несистемных единицах
- даже при отсутствии кровотока измеряемая величина не стремится к нулю (так называемая проблема "биологического нуля"),
- пространственная вариабельность сигнала [372, 373] и низкая воспроизводимость [136].
- погрешность измерений возрастает при уменьшении угла между зондирующим лучом и направлением движения эритроцитов.

Использование зондов, состоящих из нескольких собирающих волокон, улучшает воспроизводимость за счёт усреднения сигнала от различных объёмов рассеяния, тем самым уменьшая пространственную вариабельность за счёт снижения пространственного разрешения и увеличения объёма зондируемой ткани [374]. Важно отметить, что высокая концентрация меланина в коже не оказывает существенного влияния на $P_{LDF}(t)$, что делает его подходящим инструментом для использования на пигментированной коже.

Индивидуальные различия толщины кожи, плотности капиллярной сети приводят к существенной вариабельности $P_{LDF}(t)$ от человека к человеку. Для физиологической интерпретации измеренных значений $P_{LDF}(t)$ важно знать на какой глубине и в каком объёме преимущественно сформирован сигнал, и также иметь представление о том, как концентрация красных кровяных телец, тип ткани и параметры установки влияют на глубину, на которой формируется сигнал [375]. Для оценки этих параметров в работе [376] была разработана модель кожи, состоящая из шести слоёв. Для каждого слоя кожи задаются характерные параметры (толщина слоя, концентрация эритроцитов) и рассматриваются различные скорости кровотока. В Таблице 2.1 даны характерные значения глубины на которой формируется ЛДФ сигнал для разных типов кожи. Морфологическое строение кожного МЦР показано на Рис. 1.1. Изменяя длину волны излучения, возможно получить сигнал с различных составляющих МЦР. В коммерческих приборах используются лазеры с различной длиной волны. Увеличение расстояния между источником лазерного излучения и приёмником

приводит к тому, что полезный сигнал формируется на большей глубине и, как следствие, увеличивается диагностический объём ткани [377]. Помимо этого имеет значение способ крепления датчика ЛДФ. Как правило производители стараются обеспечить минимальное попадание внешнего света на исследуемую область, уменьшение компрессии ткани.

Таблица 2.1. Глубина проникновения лазерного излучения используемого в методе ЛДФ (мм) при расстоянии между световодами 0.25 мм, печатается по работе [377]

изучаемая ткань	543 нм	633 нм	780 нм
подушечка указательного пальца	0.32	0.35	0.41
предплечье в базальном состоянии	0.44	0.49	0.52
предплечье при воздействии	0.53	0.61	0.66

На основе метода ЛДФ была разработана лазерная доплеровская перфузионная визуализация [378–380]. Процесс сканирования, реализуемый в таких системах, значительно ухудшает временное разрешение метода, ограничивая частоту кадров несколькими кадрами в минуту. Другой подход предполагает использование высокоскоростных камер [381, 382]. Эта технология развивается и сегодня, основные проблемы с которыми сталкиваются производители связаны с высокой стоимостью оборудования, низким пространственным разрешением и низким отношением сигнал/шум (SNR) реконструированной карты кровотока. Небольшая величина SNR связана с необходимостью повышать чувствительность и, тем самым, увеличивать уровень шума детекторов из-за максимально допустимой интенсивности лазерного излучения на поверхности кожи.

Подавляющий объем исследований, направленных на изучение вазомоций и на выявление физиологических механизмов регуляции микрокровотока [146, 383], проводится при помощи метода ЛДФ. Важной связующей работой является статья [384], в которой была продемонстрирована связь пульсаций кровотока в уединенном капилляре и интегрального сигнала $P_{LDF}(t)$. Несмотря на то, что метод ЛДФ разработан достаточно давно, существует ряд методических вопросов, касающихся регистрации колеба-

ний микрокровотока, которые не решены к сегодняшнему дню. В разделе 2.1 данной главы изучен вопрос связи средней и колебательных компонент сигнала $P_{LDF}(t)$ на различных участках кожи человека. При этом для увеличения динамического диапазона сигнала $P_{LDF}(t)$ использована пресорная холодовая проба. Методический раздел 2.2 посвящён отладке пробы с локальным нагревом, изучению основных статистических распределений параметров, характеризующих средние и колебательные характеристики. Раздел 2.2.3 направлен на изучение механизма генерации колебаний периферического кровотока для чего изучена синхронизация $P_{LDF}(t)$ при локальном нагреве, а разделе 2.3 рассмотрен вопрос гетерогенности реакции МЦР на локальный тепловой тест. В разделе 2.4 экспериментально исследовано изменение $P_{LDF}(t)$ при компрессии ткани оптическим датчиком.

2.1. Связь средней и колебательной компонент сигнала лазерной доплеровской флоуметрии

2.1.1. Методика эксперимента

Измерения $P_{LDF}(t)$ были проведены у 14 здоровых добровольцев (6 мужчин, 8 женщин) возраста 35 ± 5 лет при контролируемой температуре окружающей среды (24°C). В группе не было курильщиков, никто из добровольцев не получал никаких лекарств, кофе был исключён по крайней мере за 4 ч до начала исследования. Измерение $P_{LDF}(t)$ проводилось у испытуемого, находящегося в положении сидя, при этом человек находился в расслабленной позе. Этический комитет Пермского государственного медицинского университета утвердил протокол исследования, и во всех случаях информированное согласие пациентов было получено до проведения теста.

В данном исследовании был использован лазерный доплеровский флоуметр (Moor Instruments FloLAB Server, Великобритания), длина волны зондирующего излучения составляет 780 нм в работе использован датчик VP-1 (MoorInstruments, Великобритания). Оптический датчик прикрепляется при помощи двухстороннего липкого диска, поставляемого в комплекте с прибором, на указательный палец испытуемых. У пяти добровольцев из всей группы одновременно проводилось мониторингирование мик-



Рис. 2.1. Схема размещения датчиков ЛДФ, и протокола контралатеральной холодной пробы.

роковотока на тыльной стороне ладони между основанием большого и указательного пальцев (Рис. 2.1). В исследовании использовалась полоса пропускания 22 кГц, которая обеспечивает максимальную чувствительность к скорости эритроцитов и минимально подавляет пульсационную составляющую ЛДФ сигнала. Частота дискретизации составила 40 Гц.

Был использован следующий протокол контралатеральной холодной пробы: до проведения эксперимента все добровольцы проходили 10-ти минутную акклиматизацию в условиях лаборатории, датчики ЛДФ приклеплялись к левой ладони испытуемого. В течение первых 10 мин запись сигнала $P_{LDF}(t)$ проводилась в нативных условиях, при этом испытуемый находился в расслабленном состоянии. В течение следующих 3 мин правую (контралатеральную) верхнюю конечность погружали в ванну с водно-ледовой смесью, а затем правую руку клали на полотенце, влагу с руки убирали при помощи салфеток. Такой протокол проведения контралатерального холодого теста позволяет минимизировать движение конечности на которой проводятся измерения, и тем самым убрать артефакты из сигнала $P_{LDF}(t)$, оказывающие существенное влияние на спектральный состав.

Таблица 2.2. Среднее относительное изменение перфузии кожи δP_{LDF}^{ij} , определённое как 2.1, за три временных интервала: до ($i = 1$), во время ($i = 2$) и после ($i = 3$) охлаждения, MAD – среднее абсолютное отклонение от медианы, СКО – среднеквадратичное отклонение.

Величина	Медиана \pm MAD	Среднее \pm СКО
$\delta P_{LDF}^{1,2}$	0.55 ± 0.11	0.45 ± 0.22
$\delta P_{LDF}^{3,2}$	0.46 ± 0.14	0.45 ± 0.19
$\delta P_{LDF}^{1,3}$	0.07 ± 0.08	0.08 ± 0.09

2.1.2. Результаты

На Рис. 2.2 представлены два примера записи $P_{LDF}(t)$ на дистальной фаланге ладонной поверхности пальцев во время контралатерального холодного теста. В обоих случаях охлаждение вызывает постепенное снижение перфузии, которая восстанавливается после окончания охлаждения. В примере, приведённом на Рис. 2.2 сверху, отмечается значительная реакция местного кровотока на охлаждение контралатеральной конечности. Начиная с начального уровня около 450 р.у., перфузия снизилась во время охлаждения до уровня около 100 р.у. На Рис. 2.2 внизу рассмотрен другой пример на котором продемонстрирована значительно более слабая реакция $P_{LDF}(t)$ на контралатеральное охлаждение (около 450 р.у. во время записи в нативных условиях, и уменьшение до 350 р.у. во время охлаждения).

Для того, чтобы количественно оценить изменения местного кровотока на контралатеральное охлаждение использовано относительное изменение сигнала $P_{LDF}(t)$ определяемое как

$$\delta P_{LDF}^{ij} = \frac{\langle P_{LDF}^i(t) \rangle - \langle P_{LDF}^j(t) \rangle}{\langle P_{LDF}^i(t) \rangle}, \quad (2.1)$$

где индексы $i, j = 1, 2, 3$ показывают временной интервал. В Таблице 2.2 показаны усреднённые по всей группе значения $\delta P_{LDF}^{i,j}$. Перфузия уменьшается во время контралатерального охлаждения у всех 14 испытуемых, несмотря на индивидуальные особенности регистрируемых сигналов, медианное значение относительной вариации составляет $\delta P_{LDF}^{12} = 0.55 \pm 0.11$.

Схожая реакция средней величины перфузии не подразумевает схо-

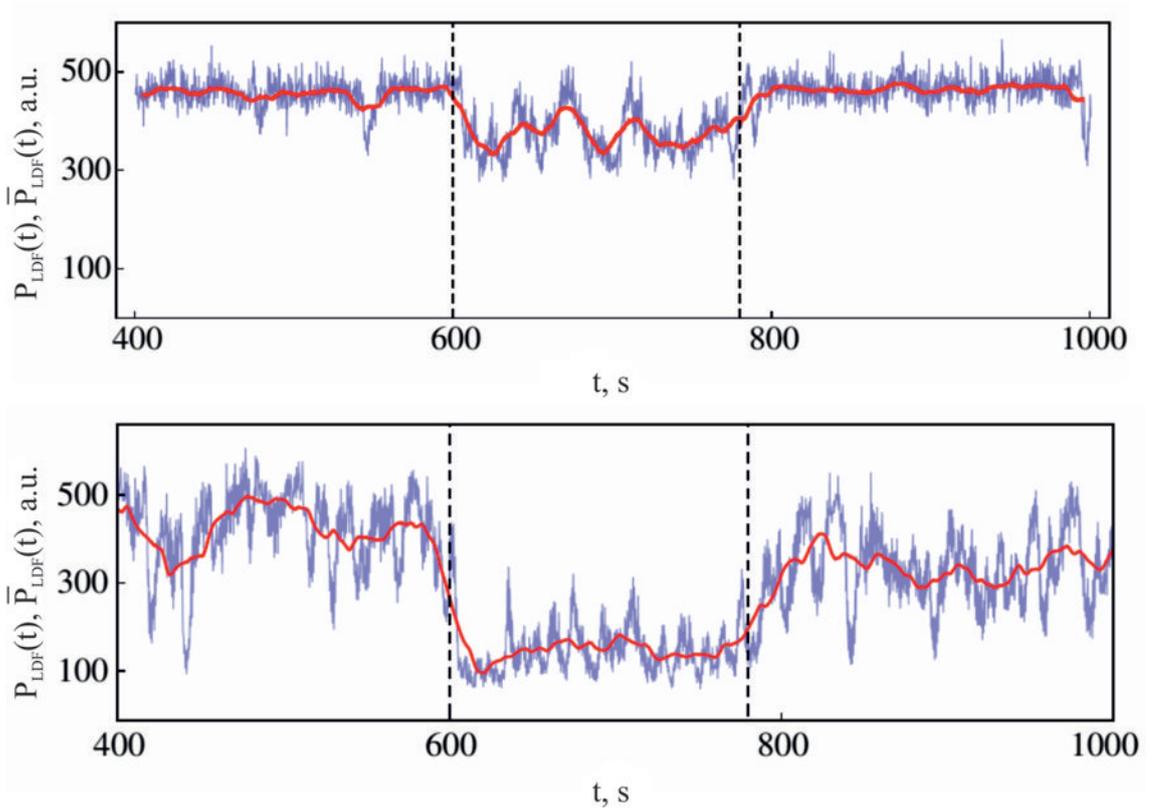


Рис. 2.2. Два характерных примера сигналов $P_{LDF}(t)$. Исходная $P_{LDF}(t)$ (синяя тонкая линия) и сглаженная скользящим средним с 20-ти секундным окном $\bar{P}_{LDF}(t)$ (красная толстая линия) записи для двух испытуемых во время контралатеральной холодной пробы. Вертикальные пунктирные линии обозначают временной интервал во время которого проводилось охлаждение.

Таблица 2.3. Корреляция среднего значения перфузии $\langle P_{LDF}(t) \rangle$ и амплитуды пульсаций \tilde{P}_{LDF}^k за 3 временных интервала: нативные условия до охлаждения – 1, во время контралатерального охлаждения – 2, восстановительный период – 3

Частотный диапазон	1	2	3
Кардио	0.67	0.27	0.019
Дыхательный	0.68	0.20	-0.083
Миогенный	0.19	0.31	-0.007
Нейрогенный	0.14	0.12	-0.068

жей реакции в колебательных компонентах сигнала. В примере, показанном на Рис. 2.2 вверху, охлаждение контралатеральной конечности приводит к уменьшению амплитуды пульсаций $P_{LDF}(t)$, а в примере представленном на Рис. 2.2 внизу, напротив, к увеличению. Таким образом, осцилляции демонстрируют более сложную реакцию на проводимый холодовой тест и их поведение имеет существенные индивидуальные различия. Для проведения детального изучения реакции обоих компонентов ($\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$) на контралатеральное охлаждение было проведено вейвлет-разложение сигнала, описанное в разделе 1.9, и выделены колебания в пяти частотных диапазонах (кардио $\tilde{P}_{LDF}^C(t)$, дыхательном $\tilde{P}_{LDF}^R(t)$, миогенном $\tilde{P}_{LDF}^M(t)$, нейрогенном $\tilde{P}_{LDF}^N(t)$ и эндотелиальном $\tilde{P}_{LDF}^E(t)$). Модули фильтрованного сигнала в рассматриваемых полосах частот показаны на Рис. 2.3 тонкими синими линиями. После вычисления вейвлет-оггибающей (WCE), получена эволюция амплитуд пульсаций (Рис. 2.3), которая показана красной жирной линией. В дальнейшем в этом разделе будут показаны только вейвлет-оггибающие WCE .

Для изучения вопроса взаимосвязи интенсивности колебаний перфузии \tilde{P}_{LDF}^k в определённой полосе частот со средней перфузией $\langle \bar{P}_{LDF}(t) \rangle$ были рассчитаны значения СКО пульсаций \tilde{P}_k в каждой полосе частот для каждого испытуемого и оценена ранговая корреляция Спирмена этих величин по всем испытуемым (Таблица 2.3).

Значимая корреляция в базальных условиях наблюдается только для колебаний, связанных с активностью сердца. Это означает, что в состоянии

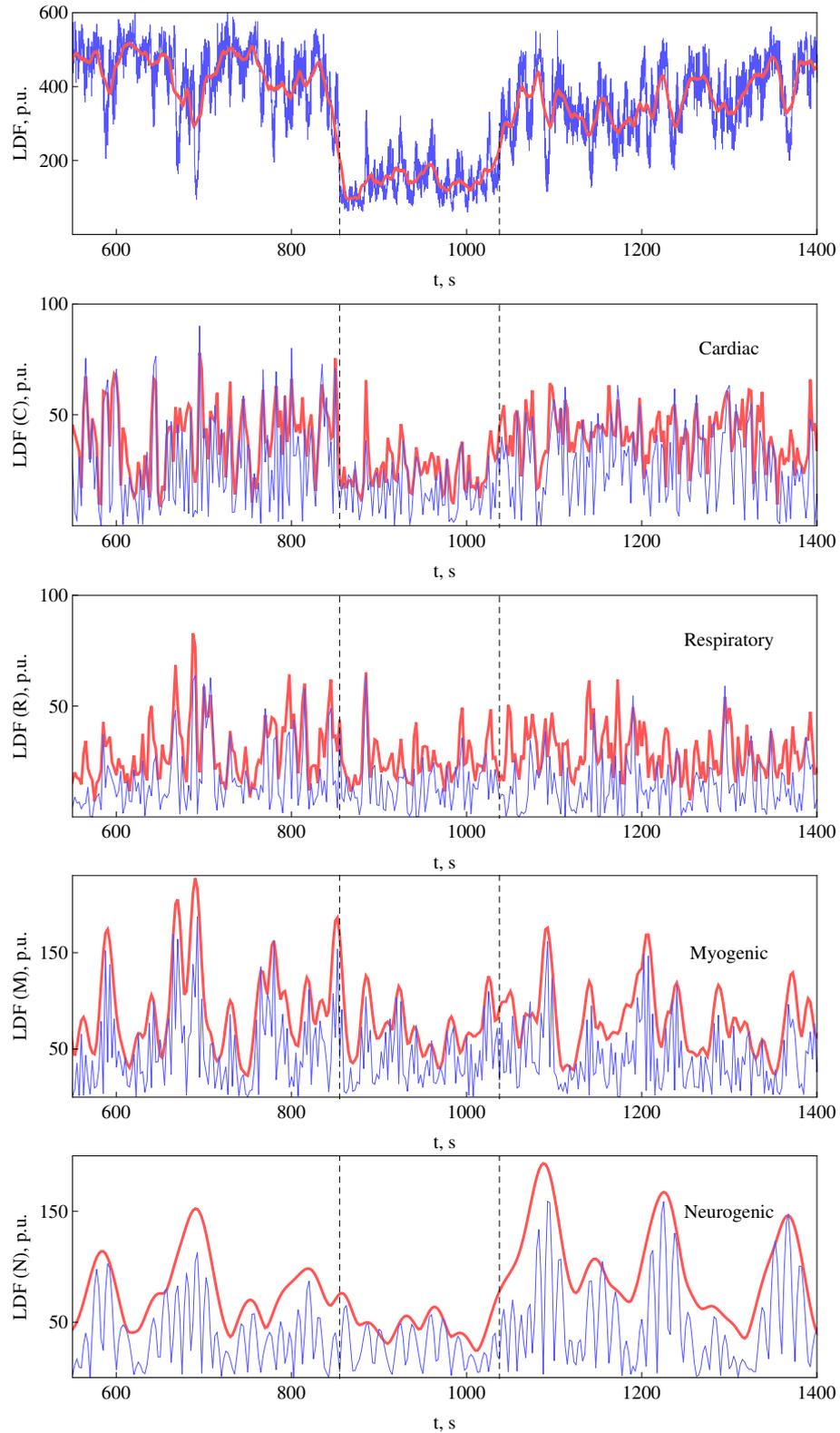


Рис. 2.3. Пример сигнала $P_{LDF}(t)$, модуля вейвлет-фильтрации IWT , и вейвлет-огibaющей WCE для кардио, дыхательного, миогенного и нейрогенного диапазонов частот. Временной интервал, во время которого проводилось охлаждение контралатеральной конечности, обозначен вертикальными пунктирными линиями.

Таблица 2.4. Корреляция относительных средних значения перфузии $\langle P_{LDF}(t) \rangle$ и амплитуды пульсаций. Цифрами обозначены временные интервалы 1 – нативные условия, 2 – во время контралатерального охлаждения, 3 – восстановительный период после охлаждения

Частотный диапазон	$\langle P_{LDF}(t) \rangle_2 - \langle P_{LDF}(t) \rangle_1$	$\langle P_{LDF}(t) \rangle_3 - \langle P_{LDF}(t) \rangle_2$
Кардио	0.77; p=0.002	0.68; p=0.01
Респираторный	0.43; p=0.14	0.34; p=0.26
Миогенный	0.47; p=0.098	0.31; p=0.31
Нейрогенный	0.51; p=0.07	0.37; p=0.2

покоя колебания кровотока в МЦР, вызванные пассивными [385] механизмами регуляции сосудистого тонуса, слабо связаны со средним значением перфузии и находятся на границе значимости, а рефлекторный ответ вызванный контралатеральным охлаждением практически разрушает корреляцию. Амплитуды пульсаций, соответствующих эндотелиальному, нейрогенному и миогенному механизмам регуляции кровотока, полностью независимы от $\langle P_{LDF}(t) \rangle$. Полученный результат, по всей видимости, связан основным недостатком метода ЛДФ – относительностью измерений.

Изменения относительных (по отношению к нативным) значений кровотока и амплитуд пульсаций (Таблица 2.4) демонстрируют более высокие значения корреляции, особенно это выражено для колебаний в кардио-частотном диапазоне. Полученный результат в целом подтверждает общепринятое положение о применимости в клинической практике именно относительных изменений перфузии, измеренной методом ЛДФ.

При изучении собранных в рамках эксперимента записей $P_{LDF}(t)$ были обнаружены сигналы, в которых реакция колебательной компоненты отличается от представленной на Рис. 2.3. В этом примере контралатеральное охлаждение вызывает изменение амплитуды пульсаций и отличается в разных частотных диапазонах (например, в дыхательном диапазоне частот вообще не видны изменения пульсационной составляющей). При этом, в рассматриваемом примере в полосах частот, в которых существует уменьшение $\bar{P}_{LDF}(t)$, наблюдается уменьшение амплитуды колебаний $A(t)$, полученной методом вейвлет-огнивающей, во время контралатерального охла-

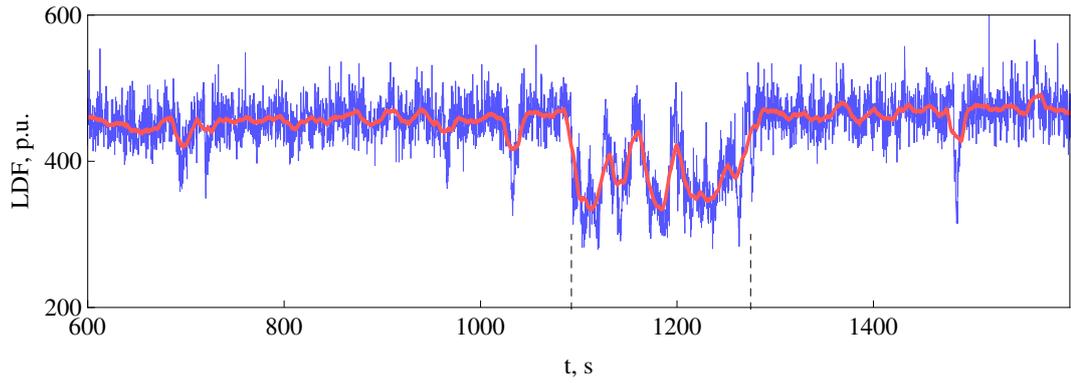
Таблица 2.5. Корреляция изменений $\bar{P}_{LDF}(t)$ и амплитуды пульсаций $\tilde{P}_{LDF}(t)$ для примера представленного на Рис. 2.3 в трёх временных интервалах.

Частотный диапазон	ТI-1	ТI-2	ТI-3
Кардио	-0.59	0.77	-0.47
Дыхательный	-0.3	0.49	-0.26
Миогенный	-0.68	0.31	-0.55
Нейрогенный	-0.45	0.12	-0.27

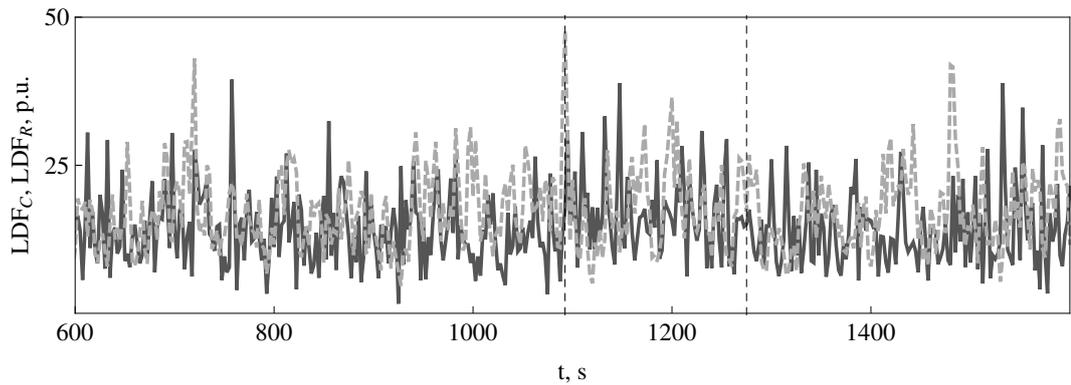
ждения. В другом примере (Рис. 2.4) колебания перфузии $\tilde{P}_{LDF}(t)$ увеличиваются во время контралатерального охлаждения, и методика *WCE* помогает количественно оценить увеличение амплитуд, вызванное реакцией МЦР.

Анализируя эти два характерных примера, можно сделать вывод, что реакция пульсирующей компоненты $\tilde{P}_{LDF}(t)$ отличается от поведения средней перфузии. Предположим, что существует внутренняя связь $\bar{P}_{LDF}(t)$ и интенсивности пульсации $\tilde{P}_{LDF}(t)$. Для уточнения вопроса о взаимосвязи модуляции среднего значения $\bar{P}_{LDF}(t)$ и его амплитуды пульсаций приведём диаграмму рассеяния (Рис. 2.5). Заметим, что диаграмма рассеяния иллюстрирует сложную немонотонную связь $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$ во всех частотных диапазонах. Наиболее ярко эта зависимость выражена для колебаний, связанных с активностью сердца. В то время как перфузия $\bar{P}_{LDF}(t)$ меньше 0.5 от максимальной, амплитуда колебаний \tilde{P}_{LDF}^C пропорциональна $\bar{P}_{LDF}(t)$. При более высоких значениях перфузии амплитуда колебаний уменьшается, что обеспечивает обратную зависимость амплитуды пульсаций $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$. В терминах линейной корреляции это означает, что коэффициент корреляции изменяется с отрицательного числа на положительное (Таблица 2.5). Для экстремальных значений перфузии (высоких или низких) $\bar{P}_{LDF}(t)$ и амплитуда пульсаций $\tilde{P}(t)$ связаны достаточно сильно.

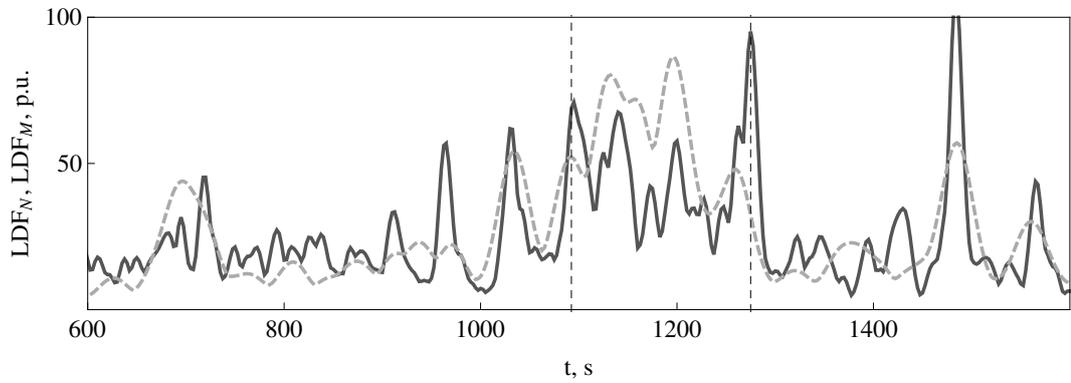
В базальных условиях большинство испытуемых имели высокую перфузию $\bar{P}_{LDF}(t)$, и это состояние соответствует правой части с отрицатель-



(a)



(б)



(в)

Рис. 2.4. (a) - Пример сигнала $P_{LDF}(t)$ с возрастающей осциллирующей составляющей. Пунктирными вертикальными линиями обозначены временные границы охлаждения контралатеральной конечности. На панели (б) – сплошная линия соответствует вейвлет-огibaющей WCE пульсаций кардио волны, а пунктирная – дыхательной волны. Колебания кровотока, связанные с миогенным (сплошная линия) и нейрогенным (пунктирная линия) тонусом регуляции сосудов представлены на панели (в).

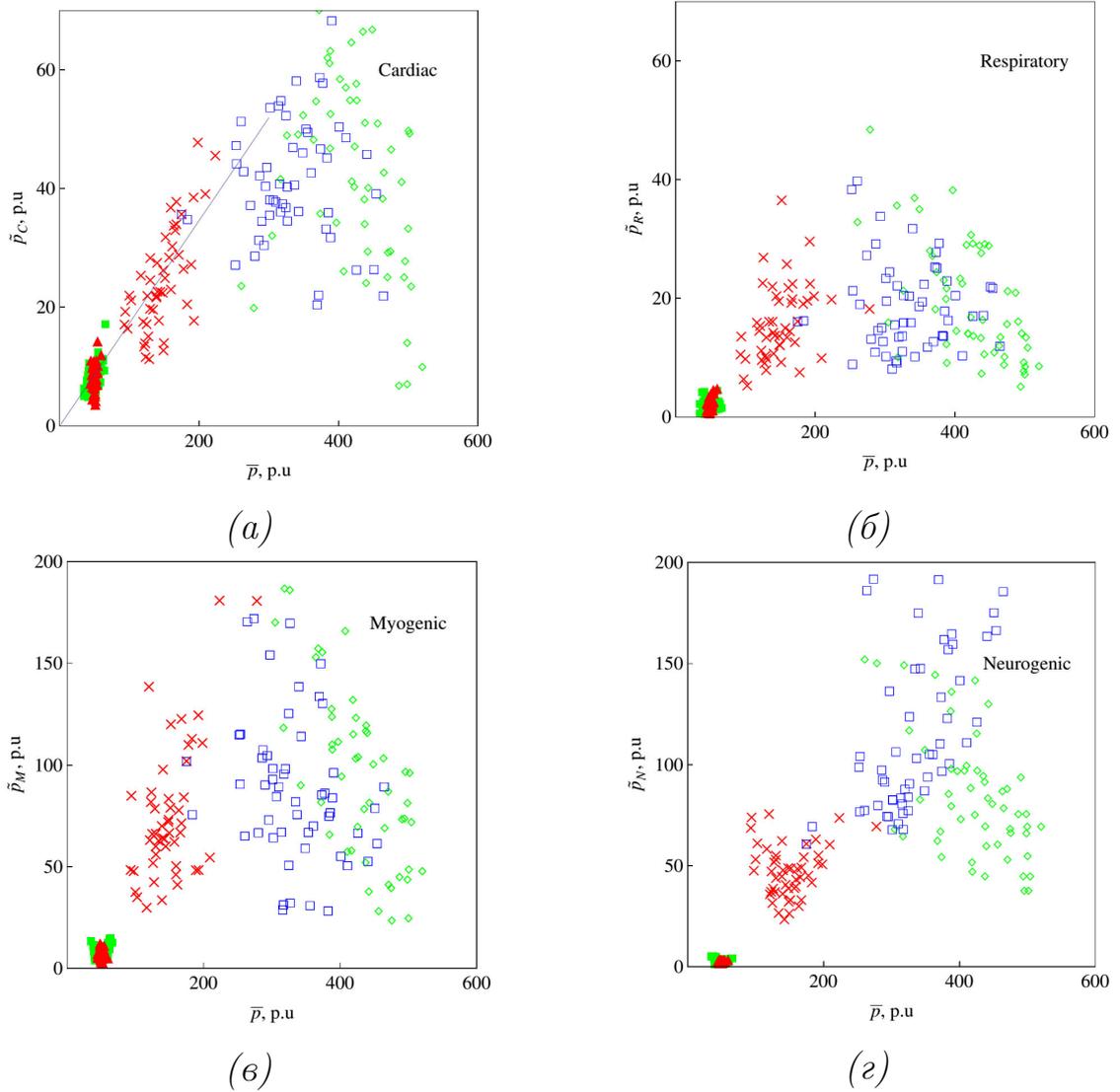


Рис. 2.5. Диаграмма рассеяния $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$, для ЛДФ сигналов представленных на Рис. 2.2 внизу в базальных условиях (синий) во время вазоконстрикции, вызванной охлаждением контралатеральной конечности (красный) и во время восстановительного периода (зеленый). (а) – пульсации в диапазонах частот связанных с активностью сердца (б) – дыхательной (крестики), (в) – миогенной и (г) – нейрогенной. Зелёные незакрашенные ромбы соответствуют данным, собранным с дистальной фаланги в период покоя до охлаждения, красные крестики соответствуют времени охлаждения, а синие открытые прямоугольники были получены после охлаждения. Данные, собранные с ладони, обозначаются закрашенными символами: зелёные прямоугольники до, красные треугольники во время и синие круги после охлаждения.

ным углом наклона диаграммы рассеяния. Контралатеральное охлаждение вызывает вазоконстрикцию, что приводит к снижению перфузии. У тех испытуемых, у которых реакция была выражена слабо и изменения в $\bar{P}_{LDF}(t)$ не велики, возможно перейти к максимуму диаграммы рассеяния, который соответствует умеренным значениям перфузии и большой амплитуде пульсаций. В случае индивидов с умеренной (примерно 0.6 от максимально возможной) перфузией, в базальных условиях вазоконстрикция обеспечивает снижение амплитуды пульсаций.

Анализируя и интерпретируя полученные результаты необходимо учесть, что рассматриваемый сигнал $P_{LDF}(t)$, полученный при помощи метода ЛДФ, может быть нелинейно связан с истинной перфузией ткани $P(t)$. Измеряемую величину можно представить следующим образом:

$$P_{LDF} = G(P). \quad (2.2)$$

Функция $G(P)$ является передаточной функцией и зависит от оптических свойств ткани, особенностей морфологического строения МЦР и варьируется от человека к человеку. Точный вид этой функции неизвестен, можно сделать предположение о ее виде исходя из базовых принципов ЛДФ и вида полученного сигнала.

В работе [386] показано, что передаточная функция $G(P)$ линейна для умеренных значений P и выходит на насыщение при больших P . Предположим, что она имеет вид $G(P) = a \arctan(P/b)$ и рассмотрим три передаточных функции с разными параметрами a и b , которые характеризуют слабое, умеренное и сильное насыщение (соответственно красная, синяя и зелёная линии на Рис. 2.6а. Помимо различных передаточных функций $G(P)$ рассмотрим три теста зависимости истинной колебательной составляющей перфузии ткани от ее среднего значения: в первом случае средняя и колебательная компонента не связаны между собой, то есть при увеличении средней перфузии ее колебательная компонента остаётся постоянной Рис. 2.6 (b), пропорциональное увеличение колебательного компонента с увеличением средней перфузии (Рис. 2.6 (d), нелинейная связь средней и колебательных компонент перфузии (Рис. 2.6 (f). Для трёх рассмотренных случаев строится искусственный сигнал $P_{LDF} = G(P)$ и проводится проце-

дура аналогичную той, что была использована при построении диаграммы Рис. 2.5, результаты представлены на Рис. 2.6 (с), (е), (g).

Анализируя Рис. 2.6 можно сделать вывод, что при наличии нелинейной передаточной функции при измерении $P(t)$ методом ЛДФ и в случае если амплитуда колебаний перфузии, монотонно возрастает с ее средним значением, на диаграмме $\bar{P}_{LDF}(t) - \tilde{P}_{LDF}(t)$ может появиться нисходящая ветвь такая, как это показано на Рис. 2.6. Другой возможной причиной такого поведения может быть монотонное уменьшение амплитуды колебаний при больших значения $\bar{P}(t)$. В этом случае на $\bar{P} - \tilde{P}$ диаграмме появляется ниспадающая асимметричная ветвь подобно представленной на Рис. 2.5. В большинстве измерений представленных выше $P_{LDF}(t)$ была высокой, более 300 р.ц., и наблюдались слабые пульсации, которые можно объяснить большим вкладом капиллярного кровотока в сигнал $P_{LDF}(t)$. Как правило в капиллярах кровотоков постоянен и колебания достаточно слабые [387], поэтому амплитуда колебаний в результирующем сигнале $P_{LDF}(t)$ становятся ниже.

В примере, показанном на Рис. 2.6 (g) зелёной и синей линиями, можно выделить три фрагмента на диаграмме $\bar{P} - \tilde{P}$. При низкой перфузии кривая определяется линейной зависимостью $\tilde{P}_{LDF} \sim \bar{P}_{LDF}$; при умеренной – передаточная функция играет главную роль и наклон кривой уменьшается; при высокой перфузии затухание колебаний обеспечивается некоторой внутренней причиной. Тестовые примеры демонстрируют, что передаточная функция искажает $\bar{P}_{LDF}(t) - \tilde{P}_{LDF}(t)$ диаграмму. Именно поэтому, особенно при высоких значениях перфузии, которые характерны для ладонной поверхности кисти, имеющей толстую кожу, интерпретация сигналов $P_{LDF}(t)$ должна выполняться с большой аккуратностью.

У большинства обследованных добровольцев выявлена зависимость $\tilde{P}_{LDF}(t)$ от $\bar{P}_{LDF}(t)$ близкая представленной диаграммах на Рис. 2.5. В нескольких измерениях обнаружена умеренная перфузия в базальных условиях, что приводит к отсутствию правой части кривой. Также в нескольких случаях значение $P_{LDF}(t)$ высокое, при этом вазоконстрикторный ответ на контралатеральное охлаждение – слабый. В таких измерениях отсутствует левая часть кривой Рис. 2.5.

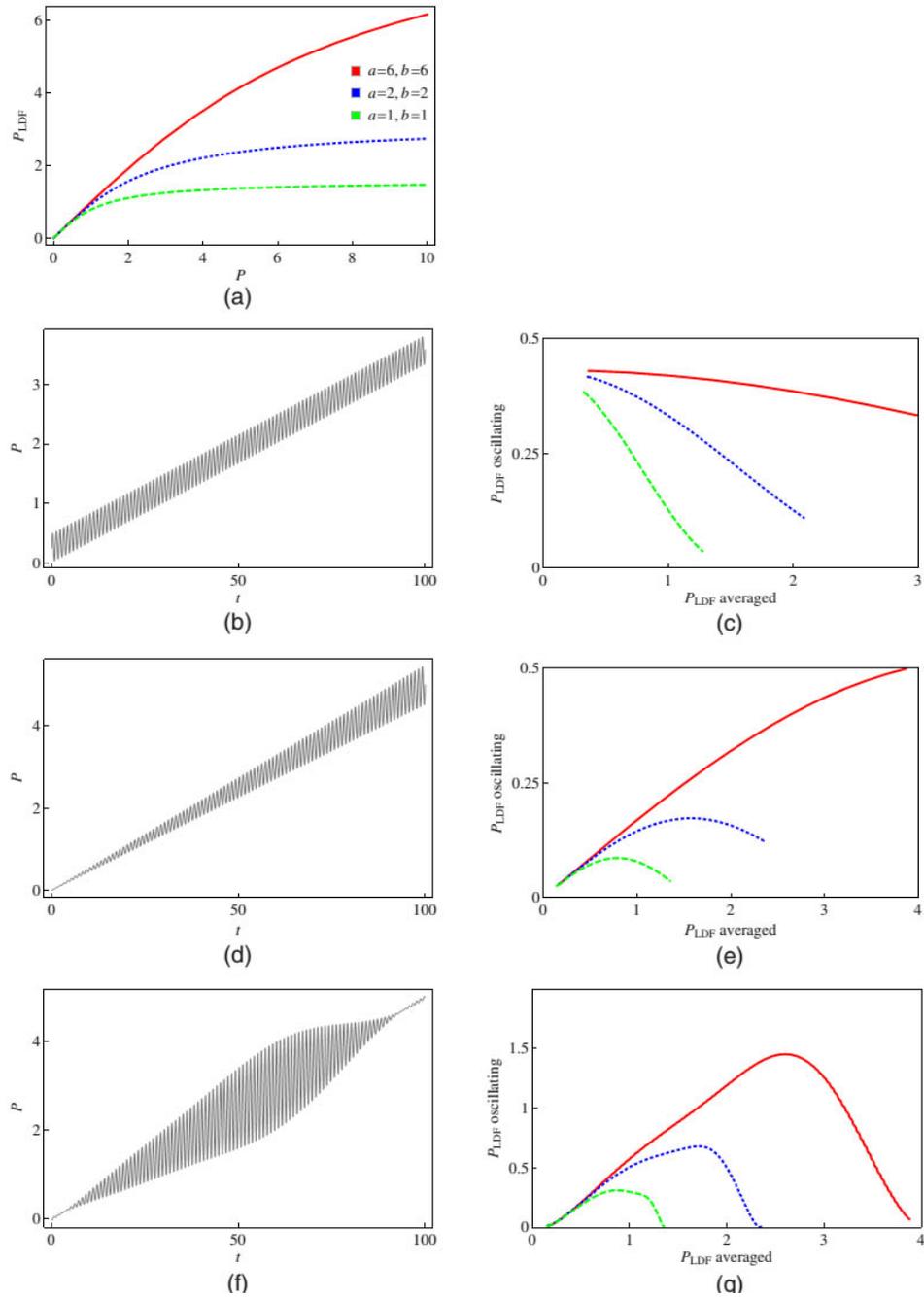


Рис. 2.6. Различные модели передаточных функций $P(t)$ и получаемые в таком случае диаграммы $\bar{P} - \tilde{P}$ при различных передаточных функциях. (a) - передаточные функции для различных значений параметров a и b . Во второй, третьей и четвёртой строках рассматривается влияние передаточной функции на наблюдаемую перфузию: колебание перфузии не зависит от $\bar{P}(t)$ (b), амплитуда пульсации перфузии пропорциональна $\bar{P}(t)$ (d), увеличение перфузия сопровождается нелинейным изменениями амплитуды колебаний (f). В правой колонке (c), (e), (g) представлены диаграммы $\tilde{P}_{LDF} - \bar{P}_{LDF}$ для соответствующих примеров

Усредняя полученные результаты по всей подгруппе, получаем диаграмму размаха для коэффициентов корреляции в 4 частотных диапазонах и трех временных интервалах. В нативных условиях (до и после контралатерального охлаждения) линейная корреляция Пирсона $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$ отрицательна, вазоконстрикция изменяет знак коэффициента корреляции Рис. 2.7. Это означает, что поведение, показанное на Рис. 2.5, типично для большинства измерений.

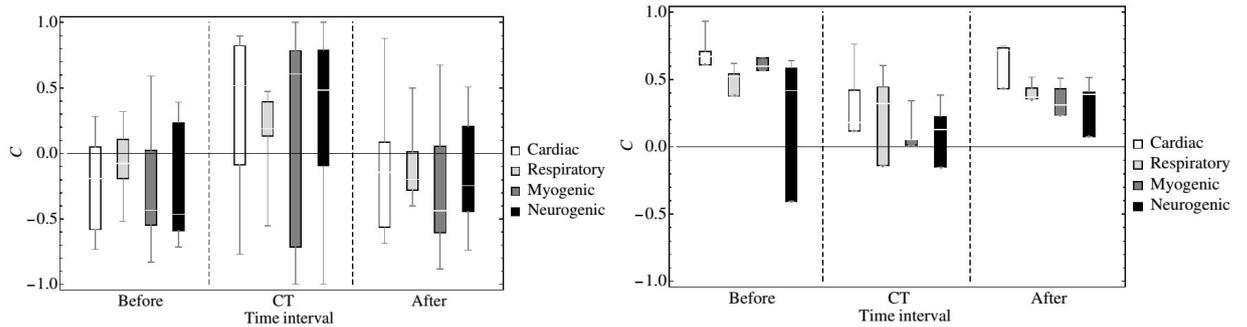


Рис. 2.7. Диаграмма размаха коэффициента корреляции $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}^i(t)$ где i показывает 4 частотных диапазона C, R, M, N в исследуемой подгруппе из 14 человек. (а) измерения проведены на ладонной, (б) – на тыльной поверхности кисти.

У пяти испытуемых из всей группы одновременно с записями на ладонной поверхности фаланги пальцев были проведены записи $P_{LDF}(t)$ на тыльной поверхности ладони между основанием большого и указательного пальцев, как показано на схеме Рис. 2.1. Эта часть ладони имеет тонкую кожу, в которой отсутствуют АВА, плотность капилляров мала, соответственно перфузия не велика (до 30 р.и. в рассматриваемом примере). Данные, полученные на тыльной стороне ладони, представлены на диаграммах рассеяния $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$ (Рис. 2.5) закрашенными символами. Примечательно, что зависимость $\tilde{P}_{LDF}(t)$ от $\bar{P}_{LDF}(t)$, полученная на тыльной стороне ладони, следует тому же линейному закону что и на ладонной поверхности. Таким образом, соотношение $\tilde{P}_{LDF}(t) - \bar{P}_{LDF}(t)$ не зависит от точки сбора данных, но имеет индивидуальные различия. Коэффициенты линейной корреляции для этих пяти записей показаны на диаграмме размаха Рис. 2.7(б), они положительны на тыльной стороне ладони и незначительно снижаются из-за контралатерального охлаждения.

2.1.3. Обсуждение результатов

Массивное охлаждение, или так называемый прессорный холодовой тест, активирует симпатическую нервную систему, что приводит к рефлекторному вазоконстрикторному ответу в том числе и на контралатеральной конечности, и, как следствие, снижению перфузии. В результате происходит перераспределение кровотока между элементами МЦР, а именно возникает констрикция артериол, увеличивается тонус прекапиллярных сфинктеров и повышается кровоток через АВА [388]. В этом случае переменная составляющая сигнала ЛДФ собирается в основном с артериол, пульсации кровотока в которых обусловлены наличием гладкомышечной стенки. На тыльной стороне ладони перфузия значительно (в 7-8 раз) ниже из-за разницы в морфологическом строении и плотности капилляров.

Диапазон вариаций сигнала $P_{LDF}(t)$ имеет существенные индивидуальные отличия, при этом соотношение $\bar{P}_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}_{LDF}(t)$ сохраняется. Для демонстрации результаты всех измерений были помещены на диаграмму рассеяния безразмерных $\bar{P}'_{LDF}(t)$ и $\tilde{P}'_{LDF}(t)$ Рис. 2.8. Процедура обезразмеривания была проведена в два этапа. Во-первых, был найден угловой коэффициент θ для линейной части этой кривой, а затем все данные были нормированы на $\theta = 1$. Во-вторых, перфузия для каждого объекта наблюдений была нормирована на максимальную $\bar{P}'(t) = \bar{P}(t)/\max(P(t))$, а $\tilde{P}'(t) = \tilde{P}(t)/\max(P(t))$. Представленная диаграмма рассеяния (Рис. 2.8) объясняет разнонаправленную реакцию на контралатеральное холодовое воздействие $\tilde{P}_{LDF}(t)$ у различных индивидов.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что реакция колебательной компоненты $\tilde{P}_{LDF}(t)$ на холодовую пробу зависит от исходного значения перфузии и степени вазоконстрикции. В базальных условиях перфузия умеренная, а контралатеральное охлаждение провоцирует сужение сосудов и уменьшает колебательный компонент. Если исходный уровень перфузии высокий, то колебательная составляющая достаточно мала и контралатеральное охлаждение провоцирует снижение перфузии \bar{P} и увеличение \tilde{P}_{LDF}^C . Пульсации во всех пяти частотных диапазонах ведут себя сходным образом. В случае если перфузия умеренная,

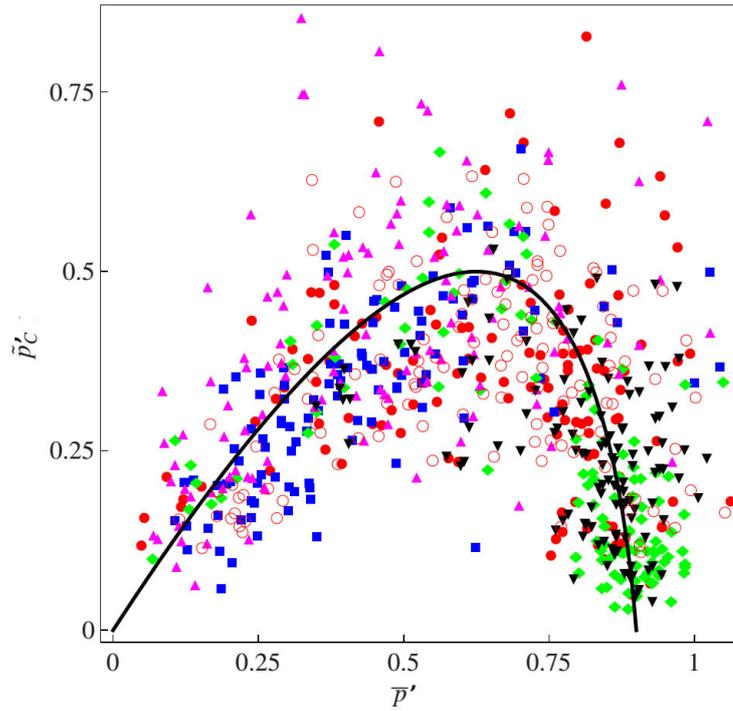


Рис. 2.8. Диаграмма рассеяния $\bar{P}'(t)$ и $\bar{P}'(t)$ для 6 испытуемых. Разными символами обозначены точки, соответствующие разным испытуемым.

амплитуда пульсаций пропорциональна $\bar{P}(t)$, а с увеличением $\bar{P}(t)$ пульсации становятся менее интенсивными.

Методика ЛДФ даёт усреднённое значение кровотока в объёме около 1 мм^3 , а глубина проникновения лазерного излучения составляет 1-2 мм. Таким образом, в сигнал $P_{LDF}(t)$ вносят вклад пульсации кровотока в различных микрососудистых структурах. Толщина эпидермиса близка к 0.4 мм, и он не вносит вклад в сигнал ЛДФ. Капилляры, которые находятся на поверхности дермы, обычно ориентированы перпендикулярно к ее поверхности. Существуют более глубокие сплетения, под которыми располагаются вены, артериолы и АВА. Контралатеральная холодовая проба провоцирует перераспределение крови между элементами этой структуры. Низкая перфузия соответствует умеренному количеству активных капилляров, также АВА дают преимущественный кровоток от артериол к венам. В этом случае сигнал формируется в основном на артериолах, которые имеют мышечную стенку и демонстрируют пульсации. Для низкой перфузии в рассматриваемой полосе частот установлена положительная корреляция пульсаций и средней перфузии.

Увеличение перфузии означает, что через капилляры протекает больше крови, и вклад капиллярного кровотока в сигнал $P_{LDF}(t)$ увеличивается. При значениях, близких к половине максимальной перфузии, амплитуда пульсаций достигает максимума, а затем увеличение перфузии провоцирует уменьшение пульсаций, что по всей видимости связано с тем, что в капиллярах практически отсутствуют колебания [387].

Таким образом, зависимость реальной физиологической амплитуды пульсаций $\tilde{P}(t)$ от уровня $\bar{P}(t)$ вызванных перераспределением крови между структурными единицами МЦР в которых существуют колебания, связанные с вариацией тонуса сосудов (артериол и АВА), и в которых их не существует (капилляров) объясняют немонотонную связь между $\tilde{P}_{LDF}(t)$ и $\bar{P}_{LDF}(t)$. Нелинейная передаточная функция, свойственная методу ЛДФ при высоких значения перфузии, которая характерна для анатомически толстой кожи в базальных условиях, также вносит вклад в наблюдаемое соотношение.

2.2. Проба с локальным нагревом

Как было сказано в разделе 1.7.1, одним из наиболее часто проводимых тестов для выявления функции МЦР является проба с локальным нагревом [214]. Целью работ приведённых в данном параграфе является изучение реакции системы микроциркуляции на локальный тепловой тест с целью отладки методики эксперимента и сравнения полученных закономерностей с результатами известными в литературе. Помимо этого при подготовке данного эксперимента ставилась цель изучения изменения кровотока на некотором расстоянии от точки приложения нагревателя и изучения синхронизации низкочастотных колебаний кровотока в выбранных точках.

2.2.1. Методика эксперимента

В исследовании принимали участие 12 здоровых некурящих добровольцев. Из рациона за 12 ч до исследования были исключены кофеиносодержащие продукты, а за 2 часа – приёмы пищи. В течение 15 мин

испытуемые находились в комфортных условиях в лаборатории. Для исследования потока крови в нагретом участке кожи использовался двухканальный лазерный доплеровский флоуметр VMS-LDF (Moor Instruments, Великобритания). На предплечье левой руки при помощи двухстороннего липкого диска прикреплялся стандартный нагревательный элемент прибора moorVMS-Heat. В отверстие нагревательного элемента, температура которого фиксировалась с точностью до 0.1°C , был вставлен датчик ЛДФ. Управление экспериментом осуществлялось при помощи стандартного программного обеспечения мониторов Moor Instruments. Запись температуры $T(t)$ и сигнала $P_{LDF}(t)$ проводилась непрерывно, при этом в первые 10 мин эксперимента нагреватель был отключён и регистрировался базальный кровоток. На 11-й минуте включался нагреватель (нагрев до 40°C проводился плавно в течение 1 минуты по 1°C за 15 с). Далее при фиксированной температуре 40°C проводилась запись перфузии в течение 40 минут. На 50-й минуте эксперимента нагреватель отключался, и ещё в течении 15 минут регистрировался сигнал $P_{LDF}(t)$ (Рис. 2.9).

Для исследования параметров микрокровотока и синхронизации колебаний в нагретой и невозмущенной областях кожи на некотором расстоянии от точки приложения нагревателя был расположен второй датчик ЛДФ. Он фиксировался в непосредственной близости к нагревательному элементу на расстоянии 3 см от геометрического центра нагревателя. Воображаемая линия соединяющая датчики перпендикулярна кровотоку в основных артериях.

2.2.2. Результаты

На характерной зависимости $P_{LDF}(t)$ (Рис. 2.9), при локальном нагреве через 4-7 секунд после включения нагревателя наблюдается значительное увеличение перфузии. Эта стадия вызвана действием аксон-рефлекса, задержка связана по всей видимости, прогревом эпидермиса. В течение 20 с после нагрева перфузия достигает локального максимума. После небольшого спада $P_{LDF}(t)$ снова плавно нарастает в течение 100 с, после чего среднее значение остаётся постоянным, на графике можно выделить плато. Местный кровоток в этой стадии теплового теста поддерживается за

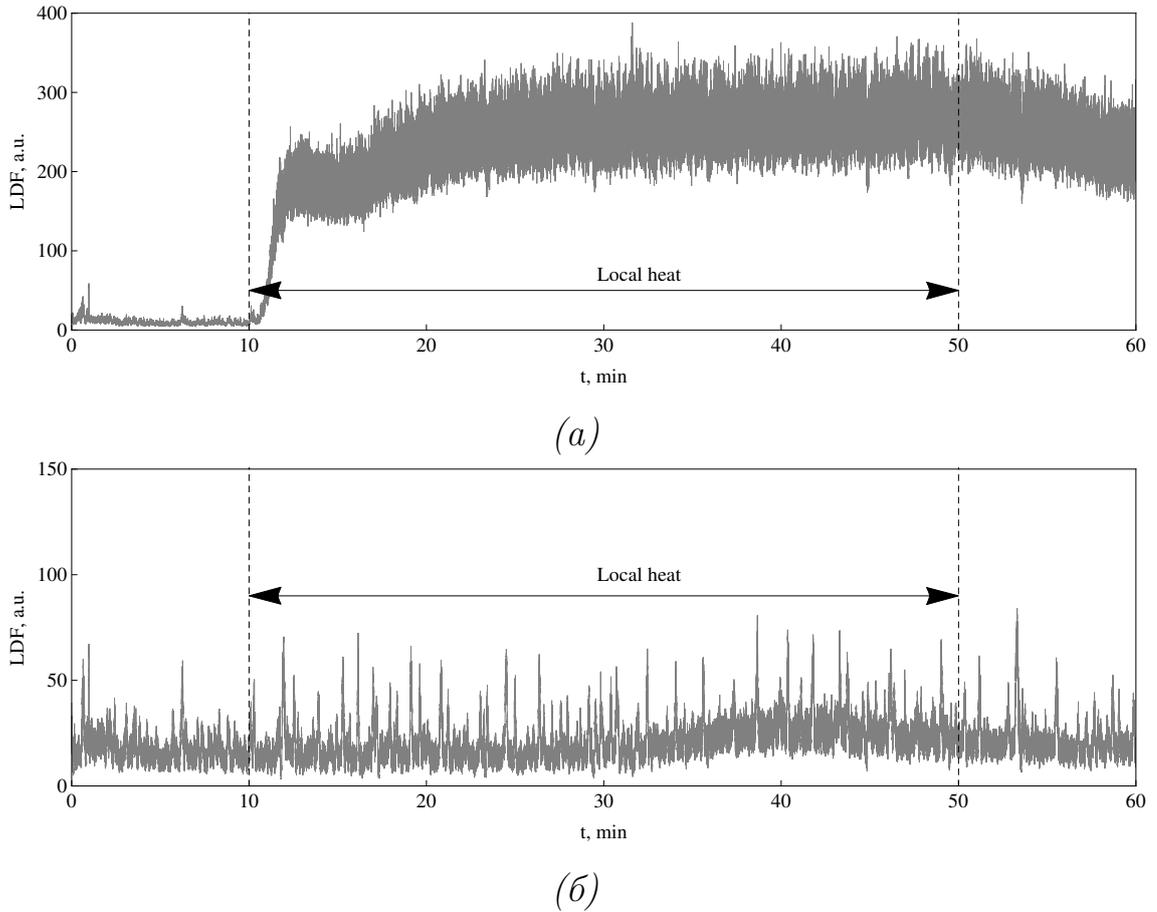


Рис. 2.9. Пример записи $P_{LDF}(t)$ под нагревателем (а) и на расстоянии 3 см от нагревателя (б). Вертикальными линиями обозначен временной интервал, во время которого включён нагреватель.

счёт синтеза вазодилататора NO. Приведённый пример $P_{LDF}(t)$ соответствует типичной зависимости реакции кожного кровотока на локальный нагрев [237]. Кривая эволюции перфузии $P_{LDF}(t)$ (Рис. 2.9, б) на некотором расстоянии от нагревателя обсуждается в разделе 2.2.3.

Усреднённое по всем экспериментам значение перфузии до включения нагрева составило (9.5 ± 0.8) р.и., в фазу вазодилатации, связанной с аксон-рефлексом, – (190 ± 90) р.и., в фазу NO-зависимой вазодилатации – (250 ± 100) р.и. Относительные вариации перфузии, вызванные аксон-рефлексом и NO-зависимой вазодилатацией, полученные в двух группах, отличались незначительно. Был проведён линейный корреляционный анализ ($R_{m,n}$) для изучения средних значений перфузии в течение трёх основных фаз эксперимента базального кровотока, увеличения кровотока за счёт

аксон-рефлекса и во время фазы плато, связанной с NO зависимой вазодилатацией, и обозначенных соответственно $m, n = \text{“B”}, \text{“ar”}, \text{“NO”}$. Обнаружена умеренная антикорреляция перфузии $P_{LDF}(t)$ в нативных условиях и во время вазодилатации вызванной аксон-рефлексом (-0.44). Кроме того, перфузия на стадии NO-опосредованной вазодилатации и в базальных условиях антикоррелирована (-0.65). Наблюдалась достоверная корреляция (0.96) максимального значения $P_{LDF}(t)$ во время аксон-рефлекторной вазодилатации и средним значением $P_{LDF}(t)$ во время NO-зависимой вазодилатации. Отрицательная корреляция кровотока в МЦР в базальном состоянии и при обеих фазах вазодилатации при локальном нагреве свидетельствует о меньшем резерве системы МЦР у лиц с высокой базальной перфузией. Результаты, полученные в группе контроля, использованы в качестве референтных в Главе 3 при сравнении с группой пациентов с СД.

При вейвлет-анализе сигналов $P_{LDF}(t)$ необходимо учитывать дополнительные сложности связанные с границами и переходными процессами. При достаточно длительных (больше нескольких десятков наибольшего из исследуемых периодов) сигналах можно исключить границы из рассмотрения. В случае же коротких нестационарных сигналов при таком подходе не будет использовано значительное количество информации [13]. Кроме того, в рассматриваемом случае интересны колебания микрокровотока вблизи переходных процессов после нагрева. Из сигнала $P_{LDF}(t)$ исключался крупномасштабный тренд, в период увеличения кровотока была подобрана аппроксимирующая функция вида

$$G(t) = a + b \operatorname{tg}(ct + d). \quad (2.3)$$

При отключённом нагревателе на большинстве записей присутствовал линейный тренд, который также не учитывался при анализе сигнала. Вычисление коэффициентов a, b, c, d проводилось путём минимизации квадратичного отклонения. Для анализа интенсивности колебаний в выбранных частотных диапазонах были рассчитаны вейвлет-коэффициенты для 40 частот в интервале (0.01-2) Гц. Результат разложения представлен в виде вейвлет-спектрограммы на Рис. 2.10 а. При нагреве происходит увеличение интенсивности пульсаций во всем диапазоне частот. Появление на

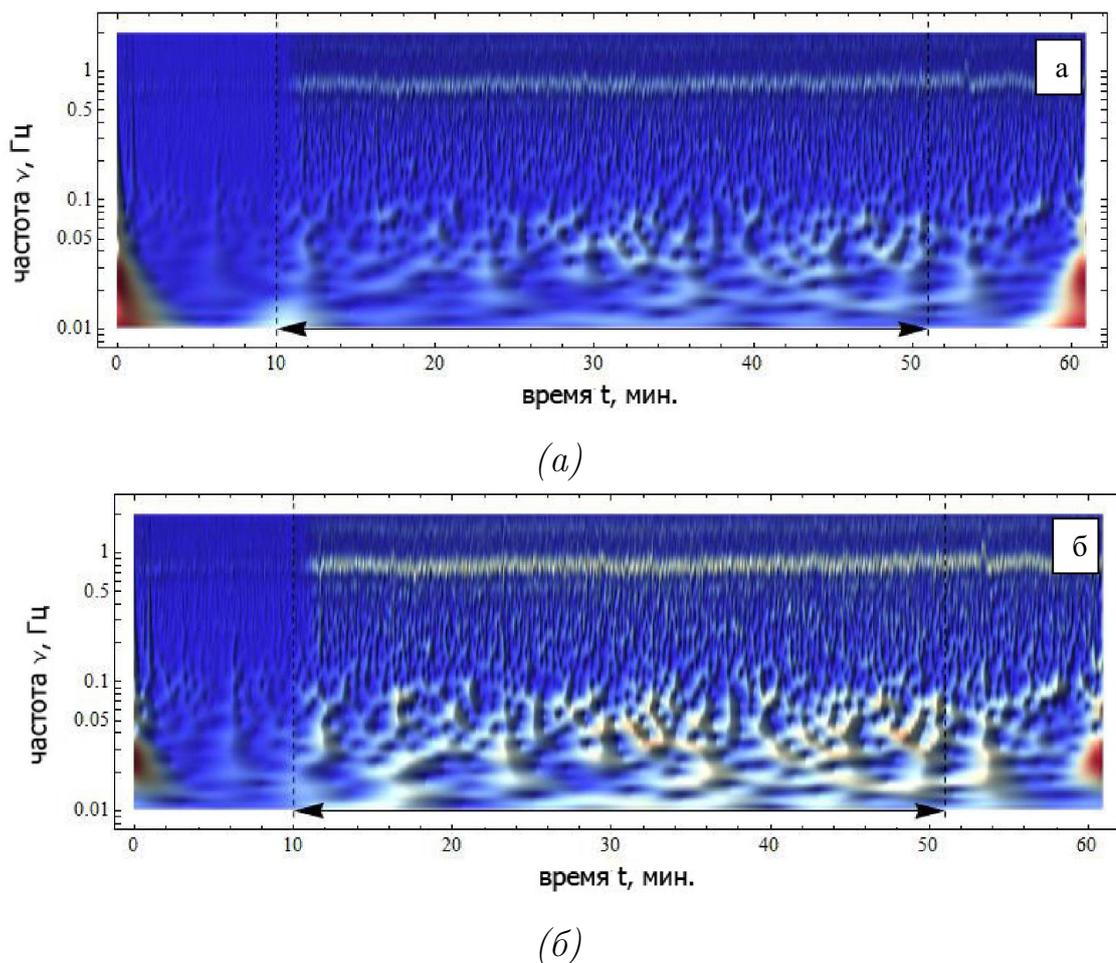


Рис. 2.10. (а) - вейвлет-спектрограмма сигнала $P_{LDF}(t)$, записанного во время проведения пробы с локальным нагревом (Рис. 1.3). (б) - вейвлет-спектрограмма того же сигнала после вычета крупномасштабного тренда. Интенсивность цвета характеризует модуль вейвлет-коэффициента: синий – минимальное значение, красный – максимальное.

12 мин выраженной белой полосы на частоте, близкой к 1 Гц свидетельствует о нарастании амплитуды пульсаций локального кровотока, связанного с активностью сердца, при этом сама ЧСС не изменяется. Сравнивая вейвлет-спектрограммы исходного сигнала и сигнала с вычтенным крупномасштабным трендом (Рис.2.10 б) можно установить, что имеющийся крупномасштабный тренд влияет на спектральный состав во время переходного процесса (в районе $t=10$ мин) и на границах.

Для количественного анализа изменения свойств колебаний микрокровотока со временем было проведено вычисление спектральных характеристик сигналов $P_{LDF}(t)$ за промежутки времени $\Delta t=10$ мин. При выбо-

ре временного интервала принималась во внимание характерная длительность самых медленных из рассматриваемых физиологических процессов. Для статистического анализа результатов вейвлет-разложения были вычислены средние значения энергии пульсаций M_i' в заданном диапазоне частот ν за заданный интервал времени t_i . Полученные результаты проанализированы при помощи статистического непараметрического теста Вилкоксона для зависимых выборок.

Диаграмма размаха изменения энергии пульсаций в 5 различных диапазонах частот M_i' в 5 временных интервалах представлена на Рис.2.11, медианные значения энергии и коэффициенты достоверности приведены в Таблице 2.6. Амплитуда пульсаций достоверно нарастает в первые 10 мин после нагрева во всех исследуемых частотных диапазонах. При продолжении нагрева динамика поведения пульсаций различных частот отличается.

На частоте близкой к ЧСС практически на протяжении всего времени нагрева наблюдается достоверный рост пульсаций, при этом в области плато отличия энергии колебаний небольшие. В диапазоне частот, соответствующих миогенному и нейрогенному механизмам регуляции сосудистого тонуса, также происходит нарастание энергии пульсаций в 1-й и 2-й временные интервалы и далее в области плато пульсации остаются практически на том же уровне. В диапазоне частот 0.01–0.02 Гц колебаний кровотока в микрососудах, связанным с активностью эндотелия, достоверное увеличение энергии пульсаций обнаружено только сразу после нагрева и далее сохраняется тенденция к увеличению энергии, отличия носят недостоверный характер. Таким образом, в первые 10 мин увеличение энергии пульсаций достоверно во всех 5 исследуемых частотных диапазонах, в области плато пульсации остаются практически без изменения и поддерживаются на одном и том же уровне за счёт действия локальных механизмов регуляции сосудистого тонуса. Важно отметить, что увеличение энергии пульсаций после нагрева в частотном диапазоне 0.01–0.02 Гц связано, по всей видимости, не с активностью эндотелия, а с аксон-рефлексом (этот процесс имеет близкое характерное время к эндотелиальным колебаниям, соответственно, также вносит вклад в спектральный состав). При продолжительном нагреве (область плато) колебания во всех исследуемых частотных диапа-

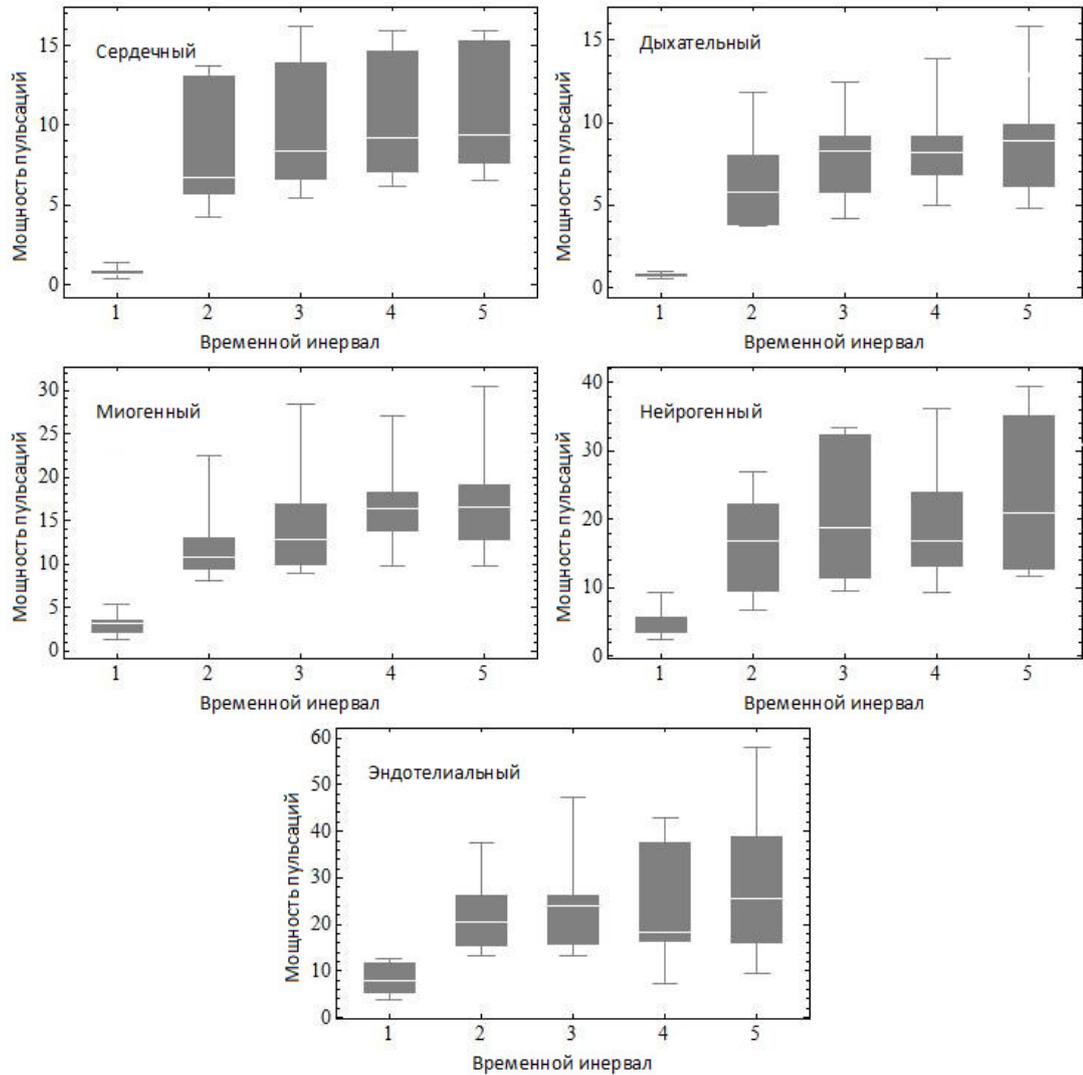


Рис. 2.11. Диаграмма размаха изменения энергии пульсаций в пяти частотных диапазонах (кардио, дыхательном, миогенном, нейрогенном, эндотелиальном) со временем.

Таблица 2.6. Медианные значения плотности спектральной энергии в 5 частотных диапазонах (С – кардио, R – дыхательный, М – миогенный, N – нейрогенный, Е – эндотелиальный). Значение величины оценено в пяти частотных диапазонах : 1 – до включения нагрева (1–10-я мин записи), 2 – первые 10 мин после нагрева, время аксон-рефлекса (10–20-я мин записи), 3, 4, 5 – интервалы в области плато (20–30-я, 30–40-я, 40–50-я мин записи соответственно). Достоверности (p) оценены по критерию Вилкоксона в одном и том же частотном диапазоне в разные интервалы времени.

Частотный диапазон	Временной интервал				
	1	2	3	4	5
С	0.6	6.7	8.4	9.2	9.3
		$p_{12}^C = 0.009$	$p_{23}^C = 0.009$	$p_{34}^C - NS$	$p_{45}^C = 0.03$
R	0.9	5.8	8.2	8.2	8.9
		$p_{12}^R = 0.009$	$p_{23} = 0.009$	$p_{34} = NS$	$p_{45} - NS$
М	3.2	10.1	12.8	16.3	16.5
		$p_{12} = 0.009$	$p_{23} = 0.009$	$p_{34} = 0.05$	$p_{45} - NS$
N	5.7	17.0	18.9	16.9	20.1
		$p_{12} = 0.009$	$p_{23} = 0.009$	$p_{34} = NS$	$p_{45} - NS$
Е	8.0	20.6	23.9	18.2	25.4
		$p_{12} = 0.009$	$p_{23} - NS$	$p_{34} - NS$	$p_{54} = NS$

зонах достоверно выше, чем в отсутствие нагрева, при этом они остаются практически на одном и том же уровне, начиная с двадцатой минуты после включения нагрева вплоть до конца проведения эксперимента.

2.2.3. Исследование кожного кровотока вблизи области локального нагрева

При выполнении классического теста с локальным нагревом небольшая область поверхности кожи ($\sim 1 \text{ см}^2$) нагревается до температуры $40\text{--}42^\circ\text{C}$, и в центре нагретой области при помощи точечного датчика ЛДФ измеряется кровоток. Однако реакция МЦР на некотором расстоянии от нагревателя мало изучена. Предпосылкой для проведения этой работы является тот факт, что и на сегодняшний день происхождение низкочастотных колебаний кожного кровотока активно обсуждается. В [132] предполагается, что низкочастотные колебания микрокровотока регулируются локальными механизмами [133]. С другой стороны, установлено, что центральные механизмы [134] синхронизирует низкочастотные колебания через всю сердечно-сосудистую систему.

Рассмотрим колебания периферического кровотока с частотой, близкой к 0.1 Гц . На этой частоте в спектре регистрируется устойчивый максимум. С одной стороны пульсации с частотой $\sim 0.1 \text{ Гц}$ связаны с синхронным действием клеток миоцитов и они могут быть не синхронизированы в различных точках организма. С другой стороны, такие колебания связаны с центральными механизмами [149]. Во втором случае локальное воздействие не будет влиять на синхронизацию. Рассмотрим действие локального нагрева [150] на колебания кровотока в различных точках. Методика эксперимента описана в разделе 2.2.1. На Рис. 2.9б показана характерная эволюция $P'_{LDF}(t)$ на некотором расстоянии от нагревателя. Примерно на 35 минуте эксперимента отмечается увеличение $P'_{LDF}(t)$, которое тем не менее достаточно быстро спадает. Такое поведение отмечалось в большинстве записей, тем не менее существуют наблюдения где увеличение перфузии не было обнаружено. Возможны две причины такого поведения $P'_{LDF}(t)$: прогрев кожи или опосредованная NO-зависимая вазодилатация. Выделить ведущий механизм в данном случае достаточно сложно и этот вопрос, требует

проведения отдельных исследований.

2.2.4. Синхронизация в двух точках

Рассмотрим показатель фазовой когерентности $\Psi(\nu)$ сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P'_{LDF}(t)$, собранных в двух близлежащих точках (Рис. 2.9), на выделенных частотах (1.9). Предварительно из сигнала был убран крупномасштабный тренд и случайные пики. Поскольку величина $\Psi(\nu)$ зависит от длительности сигнала, уровень значимости оценивался для каждого измерения отдельно. В данном исследовании используются суррогатные данные, полученные из исходного методом амплитудно-скорректированного преобразования Фурье. При таком подходе в сигнале сохраняются спектральные свойства реальных данных, при этом теряется временная информация. При анализе значимости корреляции было построено 5000 пар суррогатных данных, каждый длительностью 15 минут, для каждой пары была рассчитана вейвлет-корреляция, для полученного набора вейвлет-корреляций суррогатных данных были рассчитаны среднее значение и СКО. Порог значимости был определён как удвоенное СКО выше среднего значения корреляций для суррогатных данных. Уровень значимости зависит от частоты пульсаций, причём выше на более низких частотах Рис. 2.12.

Для достоверной статистики медленных колебаний необходимы более длительные записи, значимое значение показателя фазовой когерентности $\Psi(\nu)$ для пульсаций с частотой 0.01 Гц для 15-ти минутной записи составляет порядка 0.7. В проведённом исследовании таких высоких значений корреляции получено не было, поэтому изучалась только полоса частот 0.05-2 Гц. Были проанализированы колебания, связанные с деятельностью сердца ($\nu \sim 1$ Гц) и с частотой близкой к 0.1 Гц, изучена динамика $\Psi(\nu)$ пульсаций $P_{LDF}(t)$ и $P'_{LDF}(t)$ на этих двух частотах (Рис. 2.13).

В нативных условиях для пульсаций перфузии с частотой 0.1 Гц в двух точках $\Psi(0.1) = 0.7$, это значение и достоверно выше уровня значимости, который составляет порядка 0.3 и отмечен горизонтальной пунктирной линией на Рис.2.13. При нагревании $\Psi(0.1)$ снижался, разница между нативными условиями и при нагревании становилась значимой в стадии НО-опосредованной вазодилатации ($p < 0.05$). После выключения нагре-

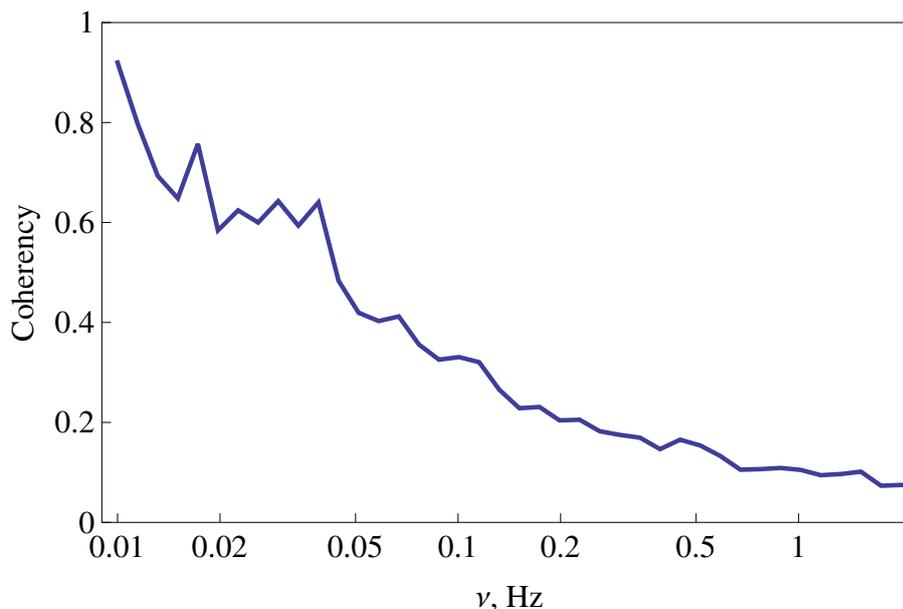


Рис. 2.12. Уровень значимости $\Psi(\nu)$, рассчитанной при помощи 5000 пар суррогатных данных.

вателя $\Psi(0.1)$ восстанавливается до уровня нативного состояния. Динамика поведения показателя фазовой когерентности была одинакова в обеих группах. Для сравнения на Рис. 2.13,б проведено аналогичное исследование для частоты 1 Гц близкой к ЧСС. Эти колебания центрального генеза и нагрев кожи не должен оказывать влияния на их синхронизацию, что и подтверждено в данном эксперименте и свидетельствуют об адекватности предложенной методики.

Используя ту же методику, были проанализированы пульсации с частотой 1 Гц (ЧСС) (Рис. 2.13 справа). Уровень значимости для таких пульсаций (показан пунктирной линией на Рис. 2.13) ниже, чем для 0.1 Гц. Показатель фазовой когерентности пульсаций с частотой 1 Гц статистически значим в течение всего времени измерений, достоверных различий получено не было.

Таким образом, установлено, что локальный нагрев не влияет на показатель фазовой когерентности колебаний кровотока в микрососудах на частоте сердечных сокращений. Полученный результат тривиален и призван подтвердить адекватность предложенного метода. В то же время пульсации с частотой 0.1 Гц были синхронны в базальном состоянии и остава-

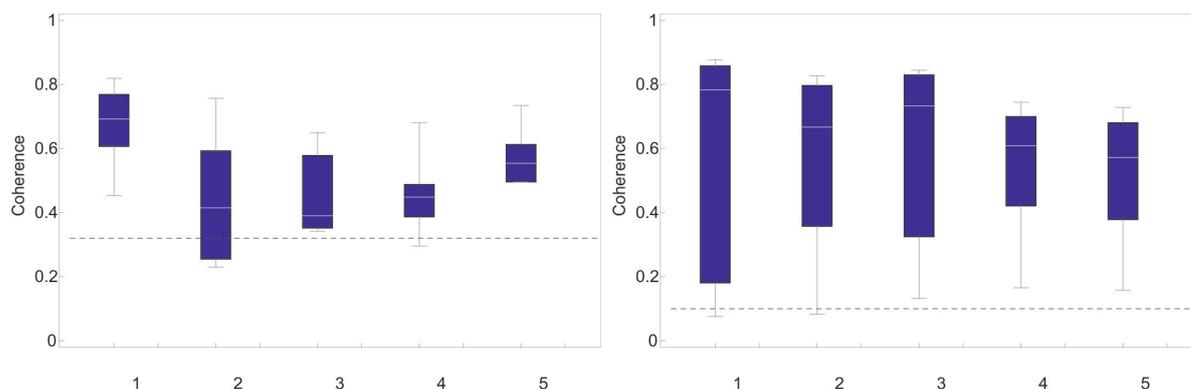


Рис. 2.13. Диаграмма размаха для показателя фазовой когерентности сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P'_{LDF}(t)$ в разных точках в пяти временных интервалах 1 – базальное состояние, 2 – вазодилатация, вызванная аксон-рефлекс, 3 – переходный процесс к плато во время NO-зависимой вазодилатации, 4 – плато NO-зависимой вазодилатации, 5 – восстановительный процесс после выключения нагрева. Уровень значимости показан пунктирными линиями. Слева – $\Psi(\nu)$ при $\nu = 0.1$ Гц, справа – и 1 Гц

лись синхронными во время вазодилатации вызванной аксон-рефлексом. Ситуация во время NO опосредованной вазодилатации качественно отличалась, а именно $\Psi(\nu)$ снижается. Таким образом, показано, что во время локального нагрева снижается показатель фазовой когерентности пульсаций $P_{LDF}(t)$ связанных с миогенной регуляцией сосудистого тонуса.

Проводимое исследование существенно перекликается с работой [389] опубликованной в том же году. В этой работе независимо была изучена синхронизация колебаний кровотока верхних конечностей при несимметричным нагреве. В работе было получено, что несимметричный нагрев приводит к значимому уменьшению синхронизации колебаний периферического кровотока, измеренного методом ЛДФ, связанных с эндотелиальной, нейрогенной, миогенной и дыхательной активностями. Для колебаний кровотока в МЦР с частотой близкой к ЧСС синхронизация нарастала.

На основании полученных результатов авторы пришли к выводу о том, что высокие значения показателя фазовой когерентности колебаний кровотока в диапазоне кардиоритма в покое и в последнюю фазу нагрева обусловлена центральным механизмом их генерации: сердечным выбросом. Напротив, снижение $\Psi(\nu)$ в диапазоне респираторного ритма в последнюю

фазу локального нагрева по сравнению с таковой в состоянии покоя свидетельствует о большей рассинхронизации колебаний кровотока в этом частотном интервале под действием внешнего стимула. Обнаруженная достоверная фазовая скоррелированность колебаний кровотока как в покое, так и в последнюю фазу нагрева в диапазонах эндотелиальной, нейрогенной и миогенной активности у большей части участников исследования является весомым подтверждением нашей гипотезы о существовании в микроциркуляторном русле центрального механизма, синхронизирующего низкочастотные колебания кровотока во всем микрососудистом русле кожи. Таким образом, выводы этих двух работ согласуются.

2.3. Исследование реакции системы микроциркуляции в различных точках на локальный нагрев

Как было сказано в разделе 1.7.1 на сегодняшний день не существует стандартизированной методики тепловой пробы. В целом вазодилататорный двухфазный ответ на локальный нагрев достаточно хорошо изучен [214], однако, в разных работах для записи сигнала $P_{LDF}(t)$ используются различные участки кожи, скорости нагрева, мощности нагревателя. Зачастую выбор различных морфологических участков вызван доступностью определённого участка кожи (пальцы рук и предплечья), более выраженным вазодилататорным ответом (анатомически толстая кожа), или же исследуемыми патологиями (кисти рук в случае синдрома Рейно и вибрационной болезни, ступни в случае СД). Перечисленные факторы значительно усложняют сравнение, анализ и интерпретацию результатов.

В данном параграфе представлены результаты количественного сравнения реакции микрокровотока на тепловую пробу в трёх различных по строению участках кожи, выбрав при этом наиболее часто используемые в подобных работах области размещения датчиков ЛДФ. Записи $P_{LDF}(t)$ в трёх анатомических участках были произведены у 41 здорового добровольца, измерения проводились на коже внутренней части предплечья, подушечке указательного пальца правой руки, подушечке большого пальца правой нижней конечности.

2.3.1. Методы исследования

Все добровольцы дали информированное письменное согласие об участии в исследовании. Измерения проводились в трёх учреждениях: клиника профессиональных заболеваний университетской больницы Святого Ивана Рильского, (София, Болгария), Институт механики сплошных сред (Пермь, Российская Федерация) и лаборатория биомедицинской инженерии Университета Флоренции (Флоренция, Италия). Среди добровольцев, участвовавших в исследовании, у 6 испытуемых сигнал $P_{LDF}(t)$ был измерен только на подушечке большого пальца ноги, 5 – на указательном пальце, у 30 – на всех сравниваемых участках. В общей сложности было собрано 36, 35 и 30 записей для трёх различных анатомических участков.

Перфузия и температура кожи регистрировались с помощью датчиков ЛДФ 5010 и 5020 Periflux 5000 system (Perimed, Стокгольм, Швеция). Разрешающая способность датчика температуры составляет 0.1°C . В качестве источника когерентного излучения используется маломощный диодный лазер длиной волны 633 Нм с глубиной проникновения около 1.5 мм. Для обеспечения контролируемого локального нагрева и одновременного получения данных о перфузии $P_{LDF}(t)$ и температуре $T(t)$ был использован термостатический зонд, который крепился при помощи двухстороннего липкого диска. Участники эксперимента сидели в удобном положении и старались избегать резких движений. Сигналы $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ записывались с частотой опроса 40 Гц и 10 Гц, соответственно. Все измерения проводились при контролируемой температуре окружающей среды 21°C . Перед началом эксперимента лазерный доплеровский флоуметр был должным образом откалиброван в соответствии со спецификациями производителя, калибровка повторялась каждые две недели как указано в сертификате производителя.

Для проведения анализа вариаций $P_{LDF}(t)$ были использованы 6-ти минутные записи, из которых первые 60 секунд производилась запись базального кровотока и 300 с при нагреве. Начальная и конечная точки фазы нагрева, определённые по сигналу $T(t)$, были приняты в качестве надёжных и воспроизводимых временных ориентиров для определения вышеука-

занных фаз. При анализе средних полученные в эксперименте сигналы были предварительно обработаны 10-секундным медианным фильтром. Для того чтобы снизить влияние граничных артефактов были использованы зеркальные граничные условия. Полученный после применения медианного фильтра сигнал, был дополнительно сглажен с помощью локальной регрессии с использованием полиномиальной модели 2-й степени с взвешенным линейным методом наименьших квадратов, примененным на 10-секундных интервалах.

Для количественного описания полученного в эксперименте изменения $\bar{P}_{LDF}(t)$ была подобрана следующая функция:

$$F(t) = k + a_{ar}e^{-\left(\frac{t-t_{ar}}{\sigma_{ar}}\right)^2} + 0.5(1 + \text{sgn}(t - t_p))a_p(e^{-b_p(t-t_p)} - e^{-c_p(t-t_p)}). \quad (2.4)$$

Качественный график функции 2.4 представлен на Рис. 2.14. Функция $F(t)$ состоит из двух слагаемых: гауссовой функции для описания быстрого увеличения кровотока, связанного с аксон-рефлексом, и суммы экспонент для описания устойчивого гиперемического плато связанного с НО рефлексом. Константа k в (2.4) отвечает за базальный кровоток, a_{ar} и t_{ar} характеризуют амплитуду и временную задержку во время вазодилатации вызванной аксон-рефлексом, а σ_{ar} показывают продолжительность этой фазы. Параметры с индексом p связаны с параметрами эволюции микрокровотока во время фазы “плато”, связанной с НО-зависимой вазодилатацией. Время t_p характеризует время начала фазы плато, a_p – амплитуду вазодилататорного ответа вызванного синтезом НО, константы b_p и c_p связаны со скоростью роста во время фазы возрастания и убывания перфузии соответственно.

Перед проведением вейвлет-разложения также применена процедура препроцессинга, а именно, из полученного в эксперименте сигнала удалён крупномасштабный тренд [390] при помощи частотной фильтрации на частотах ниже 0.0095 Гц и шумов с частотами выше 2 Гц.

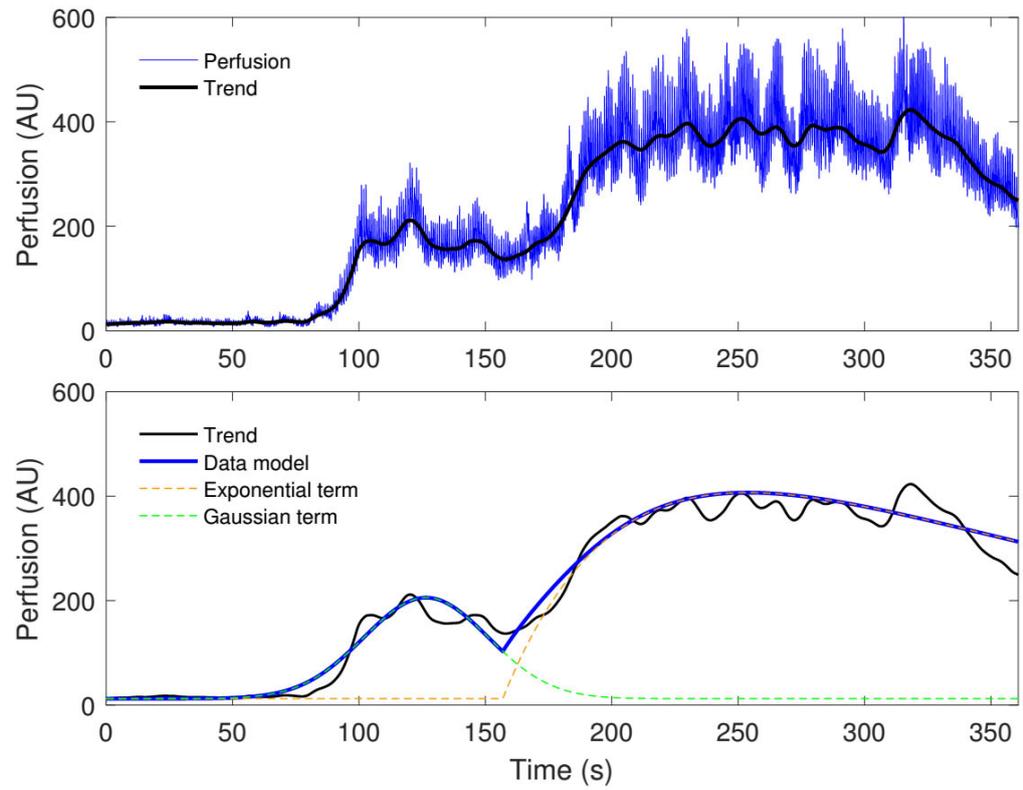


Рис. 2.14. Эволюция перфузии $P_{LDF}(t)$, черной линией показано сглажен-
ная кривая $\bar{P}(t)$. Внизу сглаженная кривая перфузии и модель (2.4).

Таблица 2.7. Количественные характеристики вариации $\bar{P}_{LDF}(t)$ при локальном нагреве поверхности кожи

Локализация	Указательный палец		Предплечье		Большой палец	
Параметр	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>
a_{ar} (AU)	230	270	180	130	250	320
σ_{ar} , с	27	26	42	18	33	17
t_{ar} , с	51	29	74	29	55	15
a_p (AU)	990	3950	280	170	1000	4170
b_p , 1/с	0.0076	0.011	0.0004	0.0016	0.0040	0.0072
c_p , 1/с	0.026	0.018	0.029	0.028	0.024	0.026
t_p , с	64	43	83	33	65	19

2.3.2. Результаты

В Таблице 2.7 представлены результаты измерения вариации средних значений $\bar{P}_{LDF}(t)$ при пробе с локальным нагревом. В качестве характеристик выбраны медианные значения (обозначено как *Me*) и интерквартильный диапазон (*IQR*). Оценка значимости полученных отличий представлена в Таблице 2.8.

Проведённый анализ зависимости $\bar{P}_{LDF}(t)$ при локальном нагреве выявил ряд существенных различий количественных характеристик вазодилаторного ответа на различных участках кожи. На коже предплечья была выявлена наиболее медленная вазодилатация ($t_{ar} = 74 \pm 16$ с) тогда как значение этого параметра на пальце руки составляет $t_{ar} = 51 \pm 15$ с ($p < 0.001$, $r=0.53$) и 55 ± 7 с на большом пальце ноги ($p < 0.001$; $r=0.53$). Параметр σ_{ar} выше на коже предплечья ($\sigma = 42 \pm 11$) с, чем на акральных участках кожи пальца руки $\sigma_{ar} = 27 \pm 13$ с и ноги $\sigma_{ar} = 33 \pm 9$, полученные отличия статистически значимы ($p=0.003$, $r=0.38$). Время второй фазы вазодилатации, вызванной NO-опосредованным механизмом, на коже предплечья ($t_p = 83 \pm 17$) с также достоверно выше, чем аналогичный параметр на пальце руки ($t_p = 64 \pm 20$, $p=0.012$, $r=0.32$) и ноги ($t_p = 65 \pm 10$ с, $p=0.015$, $r=0.33$). Амплитуда вазодилатации связанная с синтезом NO на предплечье ниже чем аналогичный показатель для акральной кожи конечностей.

Таблица 2.8. Оценка статистической значимости выявленных различий параметров, характеризующих вариацию средней перфузии, вызванной локальным нагревом

Сравнение ($\alpha = 0.05$)	Все группы	Указательный -предплечье		Указательный -большой		предплечье -большой	
	KW	MW		MW		MW	
	p	p	r	p	r	p	r
α_{ar}	0.11	0.17	0.18	0.45	0.10	0.043	0.28
σ_{ar}	0.008*	0.003*	0.38	0.38	0.11	0.030	0.30
t_{ar}	<0.001*	<0.001*	0.53	0.32	0.14	<0.001*	0.52
a_p	<0.001*	<0.001*	0.57	0.93	0.01	<0.001*	0.54
c_p	0.43	0.35	0.12	0.61	0.07	0.24	0.16
t_p	0.015*	0.012*	0.32	0.77	0.04	0.015*	0.33

Полученные результаты свидетельствуют о том, что резерв вазодилатации в коже предплечья ниже, чем в акральных зонах конечностей, что связано с морфологическими особенностями МЦР в данных участках (более низкой плотностью микрососудов на коже предплечья по сравнению с анатомически толстой кожей) и особенностью регуляции кровотока и согласуется с работой [8], где было обнаружено, что NO-опосредованная вазодилатация более эффективна в коже нижних конечностей.

Результаты спектрального анализа кривых $P_{LDF}(t)$ представлены в виде диаграммы размаха энергии пульсаций в пяти частотных диапазонах на Рис. 2.15. Как было показано в разделе 2.1 колебательная и средняя компонента сигнала $P_{LDF}(t)$ связаны между собой, поэтому была применена нормировка на полную энергию спектра и результаты представлены в виде доли энергии приходящейся на данный частотный диапазон. Значимые отличия энергии колебаний были выявлены только в респираторном частотном диапазоне. Таким образом, показано, что энергия пульсаций кожного кровотока, измеренного методом ЛДФ, зависит от локализации измерений. Важным результатом является тот факт, что в остальных частотных диапазонах на выборках данного размера значимые отличия выявлены не были.

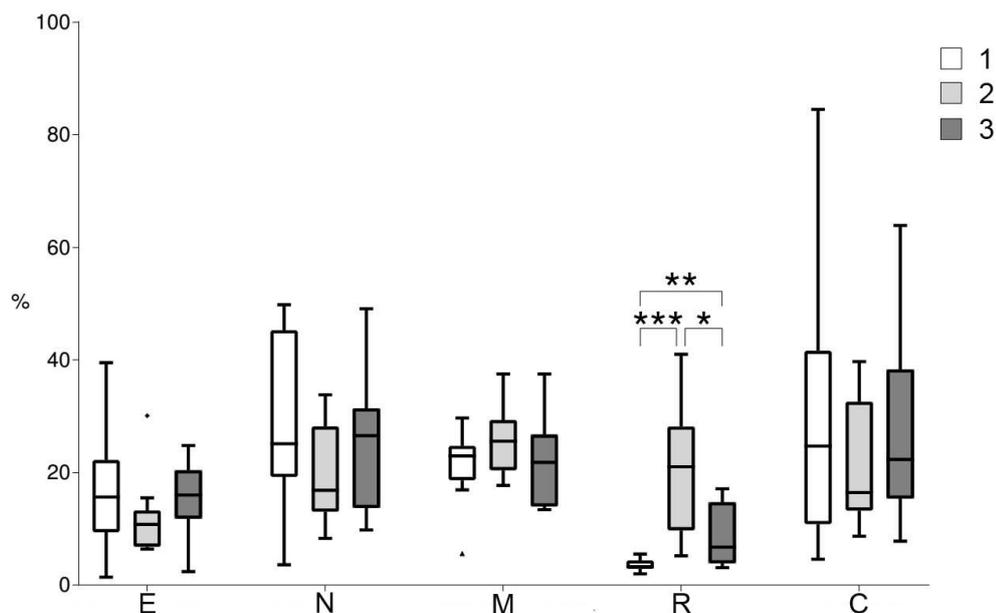


Рис. 2.15. Диаграмма размаха для относительной спектральной плотности энергии. Цифрами на графике отмечены различные точки измерения $P_{LDF}(t)$ 1 – подушечка указательного пальца, 2 – предплечье, 3 – подушечка большого пальца ноги.

2.3.3. Выводы по разделу

В данном разделе обсуждаются результаты исследования, в котором впервые было проведено количественное сравнение вазодилаторного ответа, измеренного на коже в различных участках тела человека. В исследовании был полностью стандартизирован протокол и единственным отличием является локализация измерений.

Показано, что скорость и амплитуда вазодилатации во время обеих фаз в различных участках кожи различна, что свидетельствует о различном резерве вазодилатации. Выявлена неоднородность отношения амплитуд a_p/a_{ar} на различных участках кожи. На коже предплечья это соотношение составляет порядка 1.5, а на подушечках пальцев до 4. Эти данные свидетельствуют о различии в относительном вкладе аксон-рефлекса и NO-зависимой вазодилатации в реакцию на локальный нагрев. Кожа подушечек пальцев имеет высокую плотность капилляров и АВА, которые богато иннервированы и активно участвуют в терморегуляции. Эта физиологическая особенность объясняет более быструю и выраженную реакцию

на тепловой стимул. С другой стороны, вазодилататорный ответ на подушечках пальцев имеет более высокий разброс между испытуемыми (400% во время NO-зависимой вазодилатации), чем на предплечье (70% во время стадии NO-зависимого плато). С этой точки зрения изучение реакции системы микроциркуляции крови на локальный тепловой тест методом ЛДФ на предплечье предпочтительнее.

Сигналы $P_{LDF}(t)$ демонстрируют сходный спектральный состав в трех сравниваемых участках. Анализ характеристик спектральной плотности энергии сигналов $P_{LDF}(t)$ осложняется зависимостью амплитуды колебаний от среднего уровня перфузии. В этом отношении нормировка спектров играет ключевую роль при сравнении. Обнаруженный существенный вклад дыхательной модуляции кровотока, измеренного на коже предплечья, в спектр колебаний по сравнению с кожей акральных отделов конечностей согласуется с выводами А.И.Крупаткина [7] о том, что дыхательные колебания особенно выражены в участках кожи, лишённых АВА, к которым относится волярная поверхность предплечья.

Важным результатом является тот факт, что вклад низкочастотных колебаний связанных с миогенным, нейрогенным и эндотельным механизмами регуляции сосудистого тонуса не зависит от локализации измерений.

2.4. Влияние давления оптического датчика на спектральные свойства ЛДФ сигнала

Во время записи сигнала $P_{LDF}(t)$ в большинстве коммерчески доступных лазерных доплеровских флоуметров датчик крепится к коже с помощью ленты велкро или при помощи двухсторонних липких дисков. Такое крепление исключает смещение датчика по поверхности кожи, при этом важно не допускать давления датчика на кожу [299]. Ранее было показано, что слабое локальное давление вызывает вазодилатацию, в то время как возрастающая компрессия тканей полностью прекращает кровоснабжение сдавленной области [391].

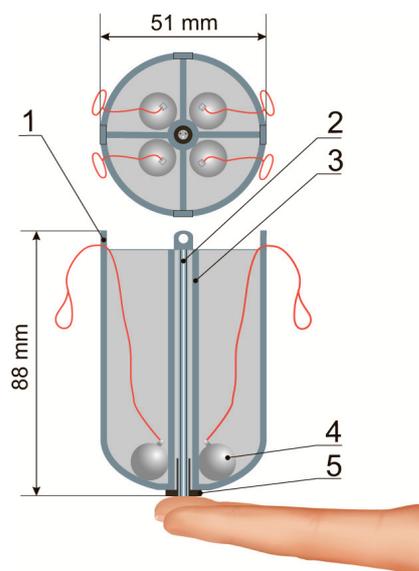


Рис. 2.16. Схема экспериментальной установки 1 - насадка для распределения давления, 2 - датчики ЛДФ, 3 - отверстие в насадке для датчика ЛДФ, 4 - грузики, 5 - наконечник датчика ЛДФ.

2.4.1. Методика эксперимента

Измерения проводились при помощи лазерного доплеровского флоуметра ЛАКК-02 (НПО Лазма, Россия). Была использована специальная насадка (1 на Рис. 2.16) на оптический зонд, разработанная в рамках работ [297, 299]. Насадка позволяет распределить вес грузиков (4) на поверхности кожи вокруг датчика ЛДФ (2), вставленного в отверстие (3) в насадке. Во время эксперимента кожи касалось только основание датчика площадью 70 мм².

Исследовательский протокол включал в себя непрерывную запись перфузии методом ЛДФ $P_{LDF}(t)$ во время шести последовательных нагрузочных проб. Во время каждой пробы последовательно изменялось давление зонда на кожу в диапазоне от 0 до 200 мм рт.ст., на последнем, шестом этапе, дополнительная нагрузка с насадки снималась, и давление снова составляло 30 мм рт.ст. Во время проведения эксперимента испытуемый находился в расслабленном состоянии в положении сидя, правая рука была расположена на столе. Датчик ЛДФ устанавливался на ладонной поверхности дистальной фаланги третьего пальца. В этом исследовании использовался протокол ступенчатого нагружения, длительность каждой записи $P_{LDF}(t)$

составляла 10 минут. Вначале сигнал записывался без нагружения, далее давление повышалось в следующей последовательности: 30, 90, 140, 200 мм рт.ст. и далее снова 30 мм рт.ст. Важно подчеркнуть, что на последнем этапе все грузики были убраны, и давление было таким же как на второй стадии эксперимента (из-за собственного веса применяемой насадки и оптического датчика). Если сравнить приложенное давление со значениями артериального давления, то выбранные диапазоны давлений соответствуют диастолическому артериальному давлению (ДАД), значению немного выше ДАД и значениям немного и значительно превышающим нормальное систолическое давление (САД).

В исследовании принимали участие 6 здоровых добровольцев (3 мужчины и 3 женщины). Средний возраст составил 20 ± 2 лет. Участники исследования не принимали кофе и лекарственные препараты как минимум в течение 24 часов до проведения исследования. Для того, чтобы избежать артефактов движения все добровольцы, принимающие участие в исследовании, старались минимально двигаться, не разговаривать. Все добровольцы дали письменное согласие на участие в исследованиях. Исследование было одобрено локальным Этическим комитетом Орловского государственного университета им. Тургенева. У каждого добровольца было проведено 5 записей сигнала $P_{LDF}(t)$, таким образом, для анализа было доступно 30 сигналов, собранных по описанному протоколу.

Для изучения колебательных компонент полученных сигналов были рассчитаны вейвлет-коэффициенты $W(\nu, t)$ согласно 1.3. Далее по отдельности был рассчитан спектр на каждом i -м временном промежутке T_i по формуле

$$M(\nu) = \frac{1}{T} \int_{T_i+\Delta}^{T_{i+1}-\Delta} |W(\nu, t)|^2 dt, \quad (2.5)$$

где i принимают значения от 1 до 6, время T_i соответствует времени начала пробы, Δ – величина отступа от границы диапазонов, равна 90 с. Для анализа выбран диапазон частот от 0.01 до 2 Гц, разбитый логарифмически на 50 диапазонов.

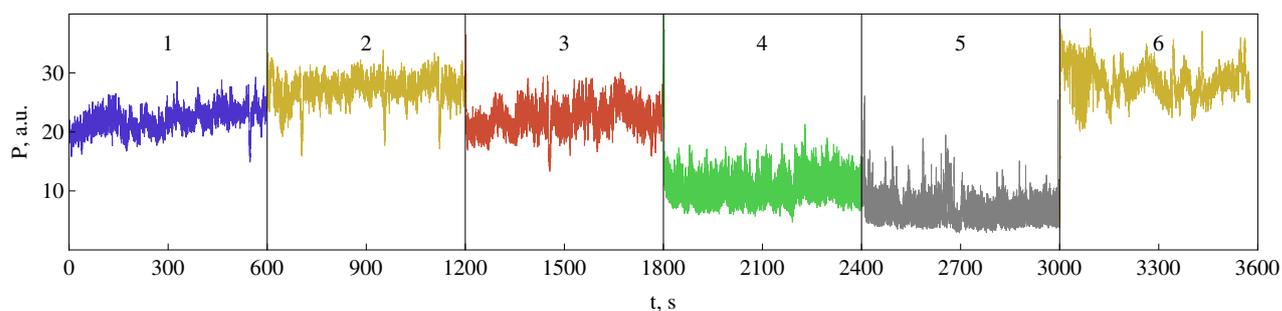


Рис. 2.17. Пример сигнала $P_{LDF}(t)$ при ступенчатом увеличении локальной компрессии. Различные цвета и номера 1..6 обозначают стадии эксперимента, которые отделены штриховыми вертикальными линиями

2.4.2. Результаты

Характерный пример $P_{LDF}(t)$ при ступенчатом повышении давления показан на Рис. 2.17. Приложенное локальное давление вызывает изменение в перфузии ткани. На втором этапе эксперимента (30 мм рт.ст.), перфузия увеличивается, при дальнейшем увеличении давления постепенно уменьшается до момента снятия нагрузки. При снятии нагрузки наблюдается рост $P_{LDF}(t)$, при этом перфузия достигает значения выше, чем вначале эксперимента при той же самой нагрузке. Такая реакция напоминает реакцию реактивной гиперемии. Для того, чтобы численно охарактеризовать вариации средней перфузии $\bar{P}_{LDF}(t)$, вызванные различным приложенным давлением, вычисляется среднее значение $\delta P_{LDF}(t)^i = \langle P_{LDF}(t)^i \rangle - \langle P_{LDF}(t)^1 \rangle$, где индекс i обозначает номер проводимого теста ($i = 2..6$), а $\langle P_{LDF}(t)^1 \rangle$ – среднее значение перфузии без нагрузки в каждом эксперименте.

Воспроизводимость изменений средней перфузии $\delta P_{LDF}(t)^i$ при проведении предложенного теста была оценена как для одного человека, так и в исследуемой группе (Рис. 2.18). При небольших значениях давления датчика ($i = 2, 30$ мм рт.ст.) средняя перфузия увеличивается, и наблюдается вазодилатация ($\delta P_{LDF}^i(t) > 0$). Возрастание кожного кровотока, наблюдаемое в данной фазе эксперимента, может быть вызвано двумя факторами. Одна из возможных причин – это вазодилататорный ответ на внешнее давление (*pressure induced vasodilation – PIV*), обнаруженный у человека [392] и подтвержденный у лабораторных животных, мышей и крыс [393], и яв-

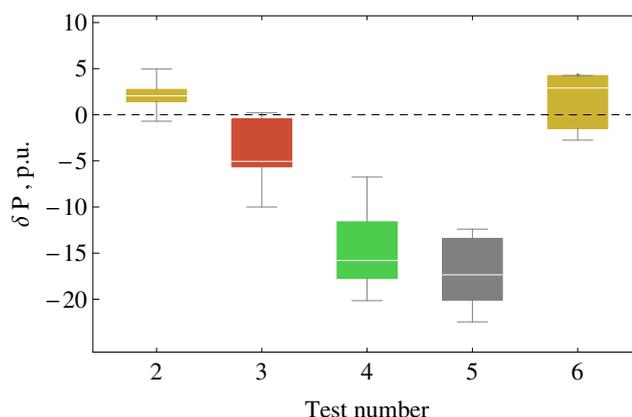


Рис. 2.18. Изменение средней перфузии $\delta P_{LDF}^i(t)$, вызванное приложенным локальным давлением.

ляющийся физиологическим проявлением локальной вазомоторной функции. Дальнейшее увеличение локальной компрессии вызывает уменьшение перфузии ($\delta P_{LDF}^3(t) < 0$), вызванное вероятнее всего внешними факторами, такими как деформация ткани, вытеснение крови из диагностического объёма, а не изменением мышечного тонуса. Снятие нагрузки вызывает быстрое восстановление перфузии ткани.

Подобно тому, как изменяется средняя перфузия при ступенчато возрастающей компрессии, меняется и спектральный состав сигнала. На Рис. 2.19 представлены спектры сигнала $P_{LDF}(t)$, показанного на Рис. 2.17. В рассматриваемом примере отмечается ряд особенностей, а именно, существенные отличия спектрального состава во время локальной компрессии. Интерес представляет вариация энергии колебаний в пяти частотных диапазонах, связанных с физиологическими механизмами регуляции сосудистого тонуса (Рис. 2.20- 2.21). Для того, чтобы численно описать изменения спектрального состава были рассчитана вариация средней спектральной плотности энергии в заданном диапазоне частот ν $M(\nu)_i - M(\nu)_1$. Здесь индекс 1 обозначает энергию колебаний в заданном диапазоне на первом этапе проводимого эксперимента, а i изменяется в диапазоне от 2 до 6 и показывает номер этапа протокола локальной компрессии. Диапазоны частот ν соответствуют эндотелиальному (E), нейрогенному (N), миогенному (M) кардио (C) диапазонам частот. Также был рассмотрен дыхательный частотный диапазон, однако, значимых отличий в нем обнаружено не бы-

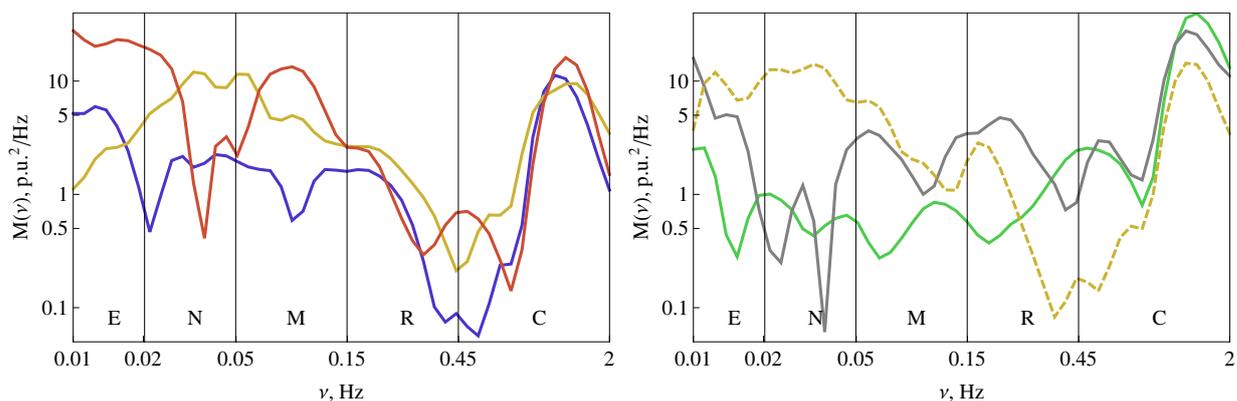


Рис. 2.19. Спектры сигнала $P_{LDF}(t)$, представленного на Рис. 2.17. Цветовая схема соответствует Рис. 2.17. Слева показаны 1-3 этапы проведения экспериментов (синий – без нагрузки, давление 30 мм рт.ст. (желтый), 90 мм рт.ст. (красный)), справа нагрузка 140 мм рт.ст. (зеленый), 200 мм рт.ст. (серый), и спектр сигнала $P_{LDF}(t)$ при снятии нагрузки с давлением – 30 мм рт.ст. (штриховой желтый).

ло, поэтому результат не представлен. Вариация энергии была усреднена по пяти измерениям для каждого добровольца и далее по этим данным построена диаграмма размаха для всех испытуемых.

Рассмотрим отдельно динамику изменения спектральной энергии пульсаций кровотока во всех частотных диапазонах. На Рис. 2.20 слева показана диаграмма размаха для $\delta M(E)$. Было обнаружено, что пульсации, связанные с активностью эндотелия, во время второго этапа эксперимента, ниже, чем при отсутствии нагрузки. Дальнейшее нагружение приводит к значимому возрастанию энергии колебаний в диапазоне (0.01-0.02) Гц. Давление выше 140 мм рт.ст. вызывает уменьшение колебаний, связанных с активностью эндотелия. Этот результат наблюдался во всех 30 записях, полученных в эксперименте. После снятия нагрузки (6 этап эксперимента), уровень пульсаций падал до значений второго этапа эксперимента (нагрузка на 2 и 6 тестах была одинаковой). Подчеркнем, что поведение энергии колебаний связанных с активностью эндотелия $M(E)_i$ отличается от поведения средней перфузии P_i .

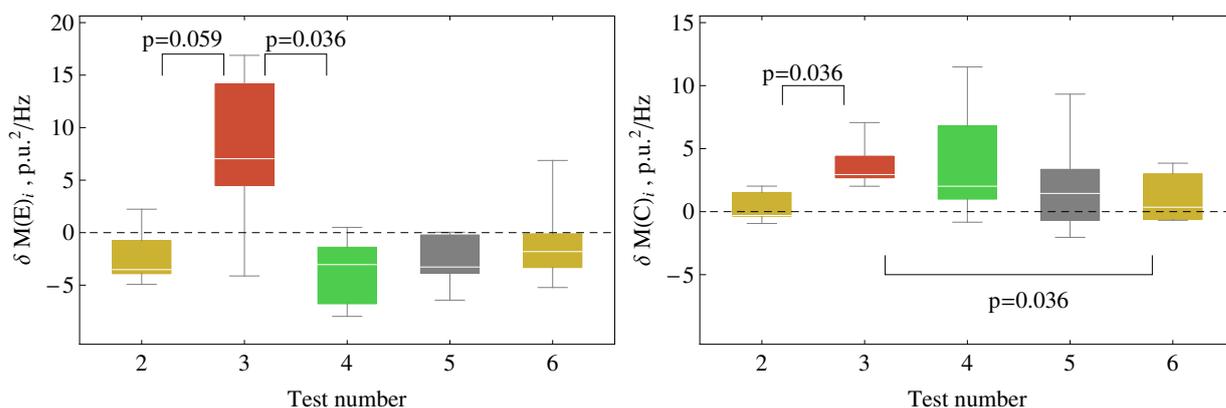


Рис. 2.20. Изменение средних значений спектральной плотности энергии $P_{LDF}(t)$, связанных с активностью эндотелия (слева) и активностью сердца (справа), вызванных локальной компрессией ткани

2.4.3. Выводы по разделу

Известно, что низкочастотные колебания кровотока связывают с вазорелаксационным эффектом NO продуцированного за счёт сдвигового напряжения на внутренней стенке кровеносного сосуда. Предыдущие исследования [393] показали, что сосуды МЦР восприимчивы к локальной компрессии. Уменьшение площади сечения просвета сосуда приводит к увеличению скорости кровотока, и, как следствие, увеличению сдвигового напряжения [102, 394, 395]. За счёт увеличения сдвигового напряжения клетки эндотелия стимулируются к выработке вазодилатора NO, простагландинов и ацетилхолина, что вызывает релаксацию гладкой мускулатуры сосудов.

С другой стороны, увеличенное внешнее давление приводит к сдавливанию ткани диагностического объёма [396] и схлапыванию капилляров. Возможно, что этим вызвано наблюдение выраженных эндотелиальных колебаний, формируемых на уровне артериол.

Одним из возможных механизмов увеличения кожного кровотока при низких значениях приложенного давления является нейрогенная механочувствительность мускулатуры, которая вызывает PIV локальную гиперемию. Предположительно это защитный механизм авторегуляции, который предотвращает ишемию ткани в ответ на внешнее приложенное давление.

Интересна динамика связанных с активностью сердца колебаний микротока при том, что осуществляемая нагрузка оказывает достаточно

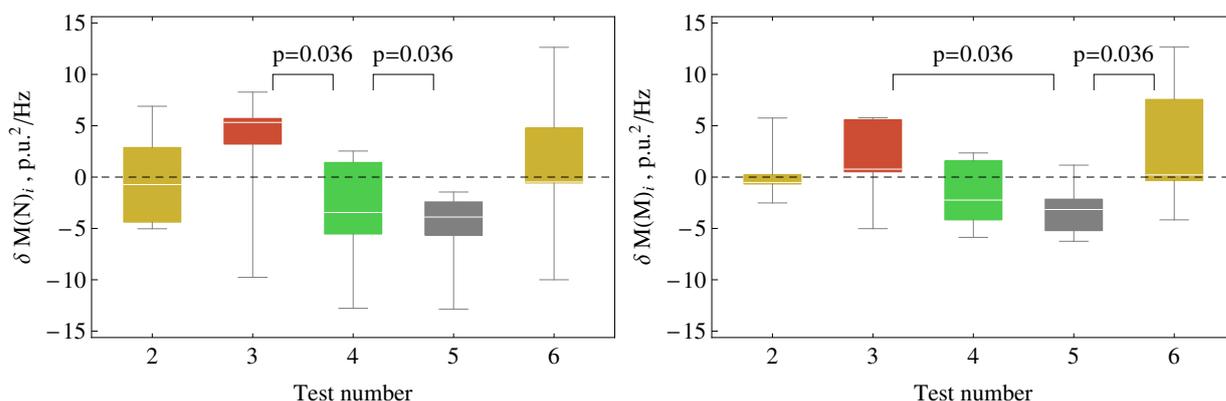


Рис. 2.21. Изменение средней энергии колебаний связанных с нейрогенным (слева) и миогенным (справа) механизмами регуляции сосудистого тонуса вызванное локальной компрессией ткани.

слабое местное влияние, не изменяющее характеристики макрогемодинамики. В полученном эксперименте наблюдается лишь изменение свойств проходящей пульсовой волны в периферических сосудах. При слабой компрессии во время 3 этапа эксперимента наблюдается небольшое увеличение колебаний связанных с активностью сердца во всех записях ($M(C)_3 > M(C)_2$). Энергия колебаний монотонно убывает по мере нагружения и полностью восстанавливается после снятия нагрузки.

Изменения спектрального состава кровотока в миогенном и нейрогенных диапазонах частот, вызванные локальной компрессией, имеют схожую тенденцию. Умеренное давление (90 мм рт.ст.) приводит к возрастанию амплитуд пульсаций в этих диапазонах. По всей видимости это связано с увеличением числа схлопнувшихся капилляров и увеличением вклада кровотока, зарегистрированного в артериолах, в сигнал P_{LDF} , и, как следствие, более выраженным пульсациям, формирующимся на этапе артериол. Локальное давление 90 мм рт.ст. значительно повышает амплитуду миогенных пульсаций в сигнале $P_{LDF}(t)$. Повышение миогенной активности может быть проявлением защитного механизма в ответ на сжатие сосудов внешним давлением. При увеличении давления выше 140 мм.рт.ст. (этапы 4 и 5), энергия колебаний уменьшается и становится ниже, чем без нагрузки. При снятии компрессии (6 этап проведения эксперимента) отмечалось увеличение энергии колебаний в нейрогенном и миогенном диапазонах частот.

Таким образом, показано, что предложенный протокол локального давления позволяет оценить динамику средних и колебательных компонент при локальной компрессии тканей, ввести количественные меры реакции МЦР на PIV и отследить динамику колебаний микрокровотока. Наиболее показательные изменения $P_{LDF}(t)$ зарегистрированы во время 2 и 3 этапов предложенного теста. В клинических исследованиях можно воспользоваться более коротким протоколом (40 минут), который включает в себя 10 минутные записи в невозмущенном состоянии и нагружении 30, 90 и 140 (или 200) мм.рт. ст. Полученные данные согласуются с аналогичным исследованием, проведенным позднее по подобному протоколу, в котором для регистрации кровотока был использован метод ФПГ [397].

Предложенная методика (установка и исследовательский протокол) могут быть использованы для исследований функции системы микроциркуляции и функции эндотелия целенаправленно в микрососудах в патологических состояниях, особенно в тех случаях, когда результаты других тестов противоречивы.

2.5. Заключение по главе

Несмотря на богатую историю и значительный объем результатов, полученных методом ЛДФ [162, 313, 398], до сих пор остаются незакрытыми некоторые методологические аспекты, которым посвящена данная глава.

В разделе 2.1 впервые экспериментально установлена связь средней и колебательных компонент перфузии, записанной методом ЛДФ. Этот важный результат показывает, что во-первых, средняя и колебательная компоненты связаны между собой, соответственно, обнаруженный методом ЛДФ высокий уровень перфузии в большинстве случаев приводит к росту и колебательных компонент. Во-вторых, выявленная связь немонотонна, что по всей видимости, обусловлено физиологическими особенностями функционирования МЦР. На модельных сигналах показано как эти свойства и различный вид передаточной функции могут влиять на связь средней и колебательных компонент перфузии. На основе вышесказанного можно указать метод определения динамического диапазона для измерения

перфузии на основе предложенной диаграммы рассеяния. Представленная диаграмма (Рис. 2.8) объясняет разнонаправленную реакцию на контра-латеральное холодное воздействие колебательной компоненты $\tilde{P}_{LDF}(t)$ у различных индивидов.

Установлено, что в результате локального нагрева снижается коэффициент фазовой синхронизации колебаний кожного кровотока с частотой около 0.1 Гц, измеренных на расстоянии 3 см, при нагреве одного из исследуемых участков. В то же время колебания, связанные с распространением пульсовой волны остаются когерентными при данном физиологическом тесте, что подтверждает адекватность предложенной методики.

Методическое исследование количественных характеристик вазодилататорного ответа на локальный нагрев в зависимости от точки крепления датчика 2.3 показало, что скорость и амплитуда изменения перфузии $\bar{P}_{LDF}(t)$ различна в толстой и тонкой коже. Значимых отличий колебательных характеристик связанных с миогенным, нейрогенным и эндотелиальными механизмами регуляции сосудистого тонуса выявлено не было.

В разделе 2.4 показано, что локальное приложенное давление существенным образом влияет на измеряемые характеристики микрокровотока. При незначительной компрессии возрастает измеряемый кровоток, при дальнейшем нагружении перфузия снижается, и после снятия нагрузки возникает вазодилататорный ответ. Обнаруженное статистически значимое изменение энергии колебаний связанных с активностью эндотелия может служить основанием для построения методики локальной оценки ЭД на основе теста с локальным давлением.

Получено подтверждение тому, что если крепление датчика ЛДФ незначительно сдавливает кожу, то измеряемая кожная перфузия будет изменена и значительно переоценена. Этот факт должен быть принят во внимание при разработке ЛДФ датчиков, в частности, носимых ЛДФ устройств.

3. Использование лазерной доплеровской флоуметрии для диагностики нарушения функции системы микроциркуляции на примере сахарного диабета и ревматических заболеваний

Данная глава посвящена применению анализа колебаний кожного кровотока, зарегистрированного методом ЛДФ в клинике. Для исследования были выбраны две патологии – СД и ревматические заболевания. Изменения морфологического строения и функции системы микроциркуляции при этих патологиях описаны в Главе 1. Морфологические изменения системы МЦР принципиально различны. У больных с ревматическими заболеваниями отмечается разрежение капиллярной сети [57], несимметричность капилляров, появление мегакапилляров с диаметром более 50 микрон [230]. На Рис. 3.2 показан характерный вид капилляров, наблюдаемых в ногтевом ложе пациента с ревматическим заболеванием, изображение получено методом капилляроскопии. При СД повышается извитость капилляров (Рис. 3.1). Можно предположить, что такие изменения происходят в рамках компенсации для увеличения диффузной поверхности с целью улучшить качество циркуляции крови. При развитии заболевания, через некоторое время капилляры закручиваются, и повышается внутрикапиллярное давление. Также происходит сужение артериального отдела и утолщение стенки капилляра.

При развитии рассматриваемых заболеваний помимо морфологических изменений отмечаются нарушения регуляции сосудистого тонуса (ревматические заболевания [231] и СД [208, 242, 399]), в частности, нарушение функции МЦР выявлялось при температурных тестах [233].

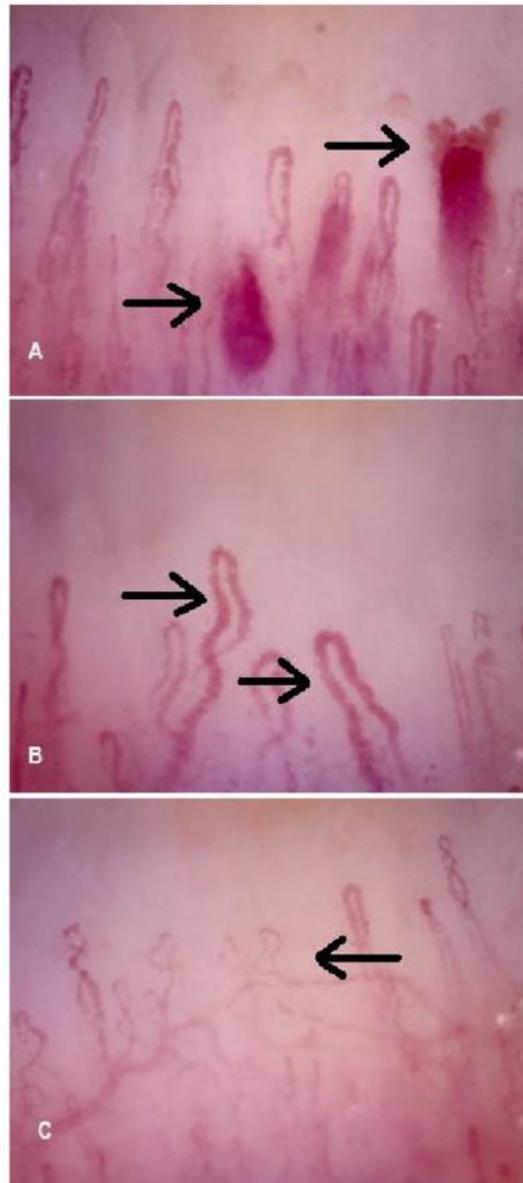


Рис. 3.1. Капилляроскопия ногтевого ложа пациента с СД. А – стрелками показаны кровоизлияния из-за повреждения капиллярной стенки, В – разрывание капиллярной сети, наличие искривлённых и расширенных капилляров (стрелки). С – изменённая капиллярная структура, пересекающиеся и закрученные капилляры (стрелки). Печатается по работе [334].

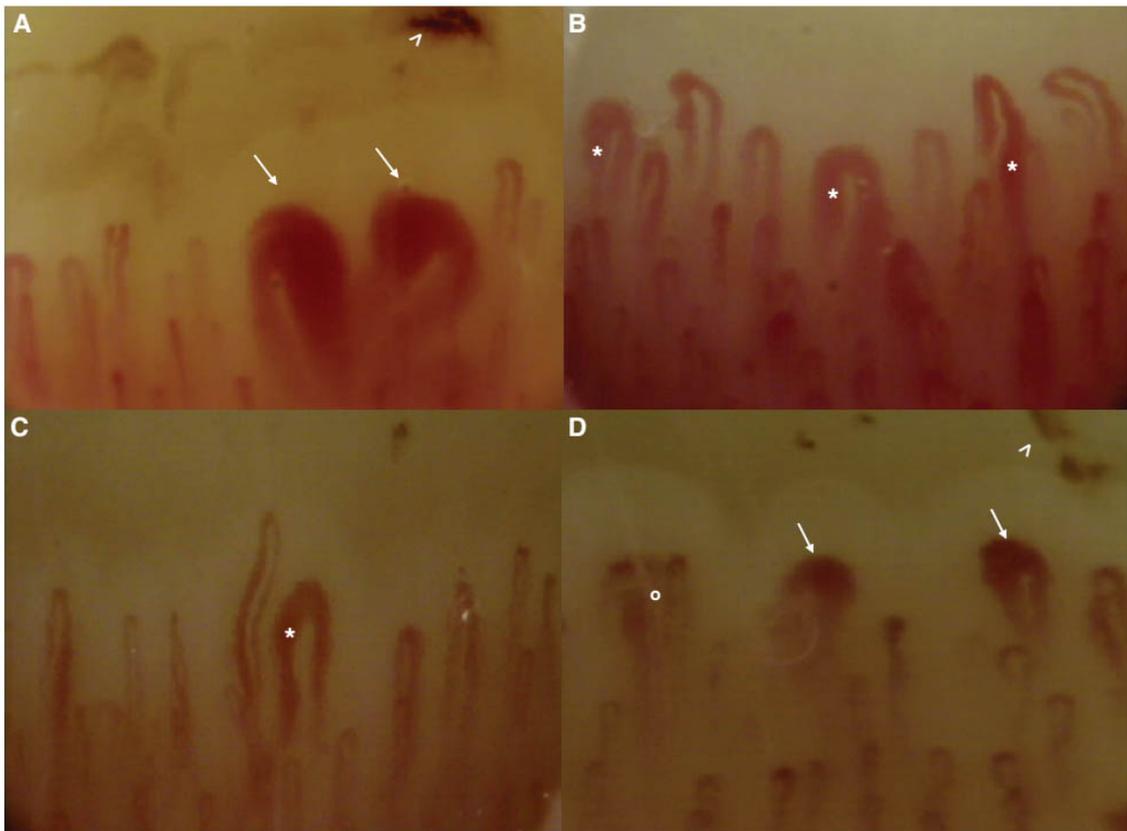


Рис. 3.2. Изображение микрососудов фрагмента ногтевого ложа пациента с ревматическим заболеванием, полученное методом капилляроскопии. На фотографии отмечены мегакапилляры (А), нарушение архитектуры микрососудов (В), гемморагии (D, С) и нео-ангиогенезис. Печатается по работе [230]

3.1. Исследование функционального состояния кожной микроциркуляции в группе с сахарным диабетом первого типа методом лазерной доплеровской флоуметрии при помощи локальной тепловой пробы

Для исследования реакции на локальный нагрев в исследование были включены 8 пациентов с СД1 без макроваскулярных осложнений, наблюдавшихся в Эндокринологическом отделении ГБУЗ Пермской краевой клинической больницы. Все пациенты были информированы о целях проведения исследования и подписали информированное согласие. Группа контроля описана в разделе 2.2. Исследование, проводимое по протоколу, описанному в разделе 2.2.1, было одобрено локальным этическим комитетом Пермского медицинского университета. Протокол пробы с локальным нагревом включал в себя запись нативного кровотока в течение 10 минут, фазу нагрева до 42°C в течение 40 минут и запись восстановления кровотока на протяжении 10 минут после окончания нагрева.

Усредненные по всем экспериментам значения перфузии сведены в Таблице 3.1. Разница кровотока в двух группах в базальном состоянии не является статистически значимой. Увеличение потока крови за счёт аксон-рефлекса меньше в группе с СД1, чем в группе контроля, при этом статистически значимых различий не обнаружено ($p=0.06$). Среднее значение потока крови, вызванного NO-зависимой вазодилатацией в группе контроля составляет (250 ± 100) р.у., и она достоверно выше чем в группе с СД1 (140 ± 70) р.у., $p=0.03$. Относительные вариации перфузии, вызванные аксон-рефлексом по отношению к нативной перфузии, и перфузии при NO-зависимой вазодилатации, полученные в двух группах, отличались лишь незначительно. Был проведён линейный корреляционный анализ ($R_{m,n}$) для изучения средних значений перфузии в течение трёх временных интервалов, которые обозначены как B – в базальных условиях, AR – во время аксон рефлекса, NO – во время NO индуцированной вазодилатации (Таблица 3.1). Результаты показали умеренную антикорреляцию перфузии в базальных условиях и во время вазодилатации вызванной аксон-рефлексом ($-0,44$ для группы контроля и $-0,40$ – для СД1). Кроме

того, перфузия на стадии NO-опосредованной вазодилатации антикоррелирована с перфузией, наблюдаемой в базальных условиях (-0,65 для группы контроля и -0,46 для добровольцев с СД1). В обеих группах наблюдалась достоверная корреляция (0,96) перфузии между максимальным значением во время аксон-рефлекторной вазодилатации и средним значением перфузии во время NO-зависимой вазодилатации. Результаты представлены на рис. 3.3.

Таблица 3.1. Статистические характеристики перфузии $P_{LDF}(t)$, измеренной методом лазерной доплеровской флоуметрии, во время теста с локальным нагревом.

Параметр	<i>Контроль</i>	<i>СД1</i>	p
P_B , р.и.	9.5 ± 0.75	7.5 ± 1.4	0.3
P_{AR} , р.и.	190 ± 90	110 ± 50	0.06
P_{NO} , р.и.	250 ± 100	140 ± 70	0.03
$R_{B,AR}$	-0.44	-0.40	
$R_{B,NO}$	-0.65	-0.46	
$R_{AR,NO}$	0.96	0.96	

Отрицательная корреляция кровотока в МЦР в нативных условиях и при обеих фазах вазодилатации при локальном нагреве свидетельствует о меньшем резерве системы микроциркуляции у лиц с высокой базальной перфузией. В целом, вторая стадия реакции микрососудистой системы на нагревание приводит к более высокой разнице вазодилатации ($p < 0.05$) между контрольной и СД1 группами.

В результате изучения изменений $P_{LDF}(t)$ в ответ на пробу с локальным нагревом установлено, что NO-опосредованная вазодилатация нарушается в группе СД1, что свидетельствует о дисфункции эндотелия или более слабом вазодилатационном ответе при патологических состояниях. Эти результаты совпадают с изученными ранее нарушениями вазодилатации, вызванными снижением продукции NO [400, 401]. Кроме того, показано, что наличие высокой базальной перфузии, приводит к снижению резерва вазодилатации микрососудов, причём этот эффект не зависит как от механизма вазодилатации, так и от рассматриваемой группы. Предпола-

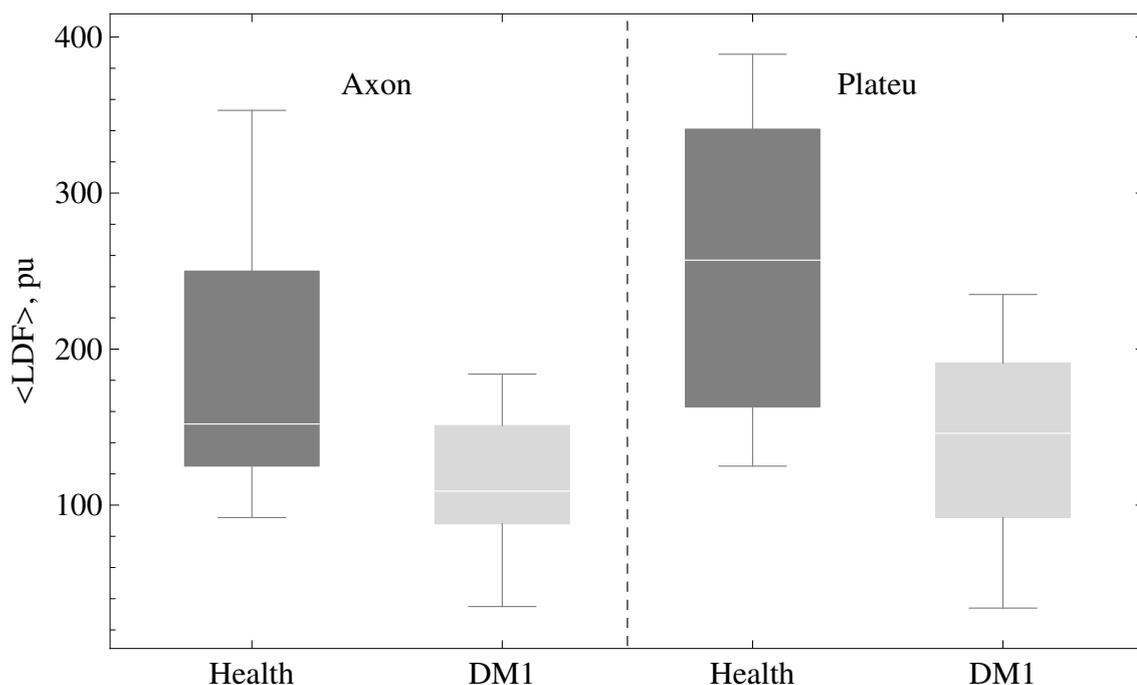


Рис. 3.3. Диаграмма размаха усредненных значений $P_{LDF}(t)$ при различных фазах локальной тепловой пробы: аксон-зависимой вазодилатации (Axon) и фазы плато, обусловленной синтезом NO (Plateau) в группах контроля (Health) и сахарного диабета (DM1).

гается, что существует предел насыщения тканей кровью, и поэтому более насыщенная изначально ткань способна получать меньший объем крови, чем менее насыщенная. Другая возможная причина – изменение динамического диапазона проницаемости от объекта к объекту. Более низкий динамический диапазон проницаемости означает, что система менее эластична. Заметим, что этот вывод верен для обеих групп, но в основном у пациентов с СД выявлен более низкий динамический диапазон вазодилатации. Подводя итог, можно сказать, что эти характеристики верны для обоих механизмов вазодилатации, и опосредованная NO-вазодилатация оказывается более эффективной, чем та, которая индуцируется аксон-рефлексом.

На рисунках 3.4, 3.5 представлены усредненные спектры в двух временных интервалах, соответствующие различным стадиям вазодилатации. На каждом графике показаны спектры в нативных условиях. Спектры пульсаций $P_{LDF}(t)$ в нативных условиях не имели существенных различий в исследуемых группах. При вазодилатации вызванной аксон-рефлексом амплитуды пульсаций увеличивались в обеих группах, изменялся наклон

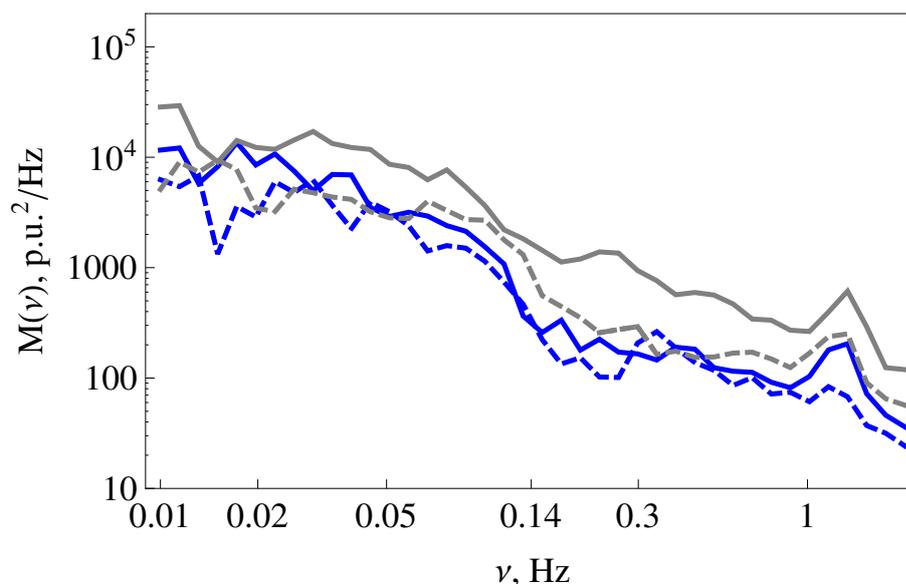


Рис. 3.4. Усредненные спектры сигнала $P_{LDF}(t)$ в группе контроля (синие линии) и группе с СД (серые линии) в нативных условиях (сплошная линия) и во время вазодилатации, вызванной аксон-рефлексом (штриховая).

спектра, поэтому высокочастотные колебания оказывали более сильное влияние на сигналы $P_{LDF}(t)$. Никакой существенной разницы между группами не было установлено.

Спектры пульсаций микрокровотока во время вазодилатации, вызванной синтезом NO, представлены на Рис. 3.5. Энергия пульсаций во всех частотных диапазонах достоверно выше в нагретом участке кожи по сравнению с невозмущенным состоянием. Высокочастотные колебания демонстрировали более высокий прирост, чем низкочастотные. Существенная разница между группой контроля и группой СД1 обнаружена в полосе частот 0.07-0.12 Гц, энергия пульсаций была выше в группе контроля.

В данном разделе изучены вариации средней и колебательных компонент $P_{LDF}(t)$, вызванные локальным нагревом, в группе контроля и у пациентов с СД1. Показано, что протокол локальной тепловой пробы может быть использован для выявления резерва системы микроциркуляции. Анализ колебательных компонент показал что во время обеих фаз достоверно увеличивается амплитуда пульсаций во всех частотных диапазонах.

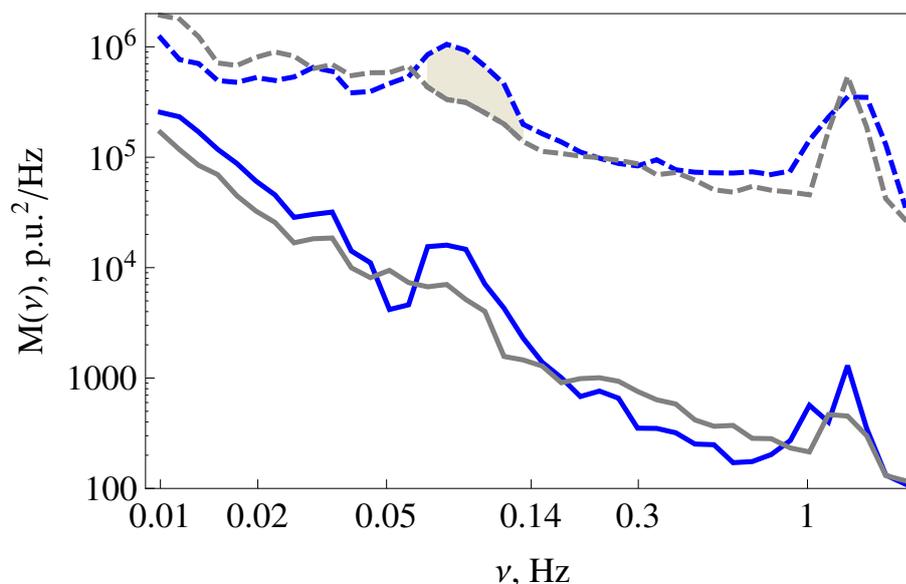


Рис. 3.5. Усредненные спектры сигналов ЛДФ в группе контроля (синие линии) и группе с СД (серые линии) в базальном состоянии (сплошные линии) и во время NO-зависимой вазодилатации (пунктирные линии).

3.2. Исследование кожного кровотока у пациентов с сахарным диабетом на основе протокола со ступенчатым нагревом

Одним из существенных недостатков проведения классической локальной тепловой пробы являются незафиксированные начальные условия эксперимента. В большинстве исследований пациенты проходят адаптацию к условиям лаборатории, также все условия в помещении находятся под контролем. В данной части работы мы используем ступенчатый тепловой тест, в результате которого человек находится в длительных контролируемых условиях. Поскольку нарушение микроциркуляции при СД раньше проявляется в нижних конечностях, в данном исследовании измерения перфузии производились на ногах.

В исследовании приняли участие 40 пациентов эндокринологического отделения Орловской областной клинической больницы (Россия) с СД1 и СД2. Все пациенты были разделены на группы в соответствии с рекомендациями ВОЗ [402]. Лабораторные, клинические и антропометрические характеристики, определённые для каждого испытуемого, приведены в Таблице 3.2. Клинические и лабораторные показатели измерялись в ходе

стандартных лабораторных процедур. Измерение АД проводили после 5-ти минутного отдыха пациента в положении сидя. Средний возраст пациентов составил 43 ± 10 лет. В группы входили испытуемые разного возраста, но близкой длительности заболевания.

Таблица 3.2. Основные антропометрические, клинические, лабораторные характеристики обследованных добровольцев. Данные представлены в виде среднее значение \pm среднеквадратичное отклонение.

	Группа контроля n=40	СД1 n=17	СД2 n=23
Пол (М/Ж)	26/14	10/7	10/13
Температура стопы, °C	27 ± 1	30 ± 1	30 ± 2
Возраст, лет	39 ± 9	35 ± 9	50 ± 6
Длительность диабета, лет	-	14 ± 10	7 ± 6
Индекс массы тела, кг/м ²	23 ± 3	25 ± 5	35 ± 5
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л		8.1 ± 4.7	9.2 ± 3.5
HbA1c, %		7.9 ± 0.8	8.8 ± 0.9
Уровень холестерина, ммоль/л		4.6 ± 0.9	5.4 ± 0.9
Уровень креатинина, мкмоль/л		88 ± 37	74 ± 16
Уровень мочевины, ммоль/л		6.1 ± 3.4	5.7 ± 1.8
АЛТ, ед/л		27 ± 14	36 ± 18
АСТ, ед/л		26 ± 10	27 ± 10
САД, мм.рт.ст.	125 ± 9	124 ± 16	141 ± 13
ДАД, мм.рт.ст.	80 ± 5	78 ± 7	86 ± 6

Контрольную группу составили 40 здоровых добровольцев без диагностированных заболеваний системы кровообращения, опорно-двигательного аппарата или соединительной ткани. Из исследования были исключены добровольцы с обострениями заболеваний сердечно-сосудистой, легочной и нейроэндокринной систем, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови и любых других серьезных хронических заболеваний, которые могли повлиять на систему микроциркуляции, а также испытуемые с алкогольным анамнезом и медикаментозной или

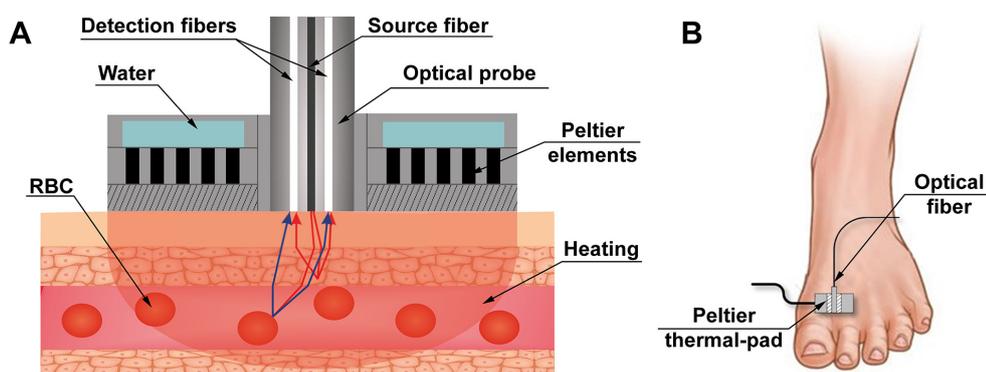


Рис. 3.6. Схема датчика, в котором совмещён элемент Пельтье и датчик ЛДФ (А), схема размещения датчика на нижней конечности (В)

наркотической зависимостью. Протокол исследования был одобрен Комитетом по этике Орловского государственного университета имени И. С. Тургенева. Все добровольцы дали письменное информированное согласие.

3.2.1. Методика эксперимента

Кожный кровоток исследовали с помощью лазерного доплеровского флоуметра (ООО НПП “ЛАЗМА”, Россия), с использованием одноточечного лазерного модуля с длиной волны 1064 нм. Мощность зондирующего излучения на выходе волоконного зонда не превышала 1.5 мВт. Геометрические параметры оптоволоконного зонда (светоизлучающее волокно диаметром 6 мкм, приёмное волокно диаметром 400 мкм и зазор зонда 1.5 мм) давали приёмную числовую апертуру 0.22. Для таких параметров зонда диагностический объем составляет порядка 1.8 мм³ [403]. Сигнал $P_{LDF}(t)$, полученный при помощи такого датчика, чувствителен к изменениям кровотока в сосочковой дерме и верхнем кровеносном сплетении и способен захватывать верхнюю часть ретикулярной дермы.

Оптический зонд устанавливался в отверстие нагревателя, температура контролировалась термистором с точностью 0.1°C. Эта система (элемент Пельтье и оптический зонд) была установлена на тыльной поверхности стопы (Рис. 3.6а) в точке, расположенной на плоскости между 1-й и 2-й плюсневыми костями (Рис. 3.6б).

Запись сигналов $P_{LDF}(t)$ проводилась примерно через 2 часа после еды, добровольцы не менее 10 минут адаптировались к условиям лаборато-

рии, в которой поддерживалась комнатная температура. Все исследования проводились у испытуемых, находящихся в положении лежа на спине. В нативных условиях испытуемые имели разную температуру кожи (см. Таблицу 3.2). Для унификации измерений вначале участок кожи охлаждался до 25°C . Такой подход позволяет избежать разного состояния в начальных условиях. Каждое исследование включало четыре этапа: запись $P_{LDF}(t)$ в базальных условиях в течение 4 мин, охлаждение до 25°C в последующие 4 мин и последовательность двух локальных тепловых тестов при температурах 35°C и 42°C в течение 4 и 10 мин соответственно. Таким образом, продолжительность измерения для одной ноги составила 22 минуты. У всех пациентов были исследованы обе стопы. Запись $P_{LDF}(t)$ проводилась непрерывно на протяжении 22 минут. Одним из недостатков построенного протокола является то, что на этапе планирования исследования не было сделано рандомизации выбора порядка исследований конечностей, всегда в первую очередь изучался сигнал с правой конечности, потом с левой. Таким образом нет возможности исключить эффект длительного пребывания в горизонтальном положении, поэтому для анализа использованы записи, полученные только на правой конечности.

Пример сигнала $P_{LDF}(t)$, записанного на конечности пациента с СД во время ступенчатого нагрева, представлен на Рис. 3.7. Охлаждение вызывает слабую вазоконстрикцию, а нагрев – значительные изменения как средней перфузии $\bar{P}_{LDF}(t)$, так и колебательных компонент $\tilde{P}_{LDF}(t)$. Во всех измерениях отмечается пик после включения нагрева, вызванный аксон-рефлексом. Самая высокая скорость вазодилатации обнаружена в контрольной группе, и эта характеристика снижена в обеих диабетических группах. Изменение колебательной компоненты $\tilde{P}_{LDF}(t)$ с периодом порядка 20 секунд хорошо заметно на Рис. 3.7 в время третьей фазы ступенчатого температурного теста.

На Рис. 3.8 показаны усредненные в группах зависимости $\bar{P}(t)$. Для построения данного графика сигнал $P_{LDF}(t)$ был сглажен при помощи скользящего среднего с размером окна 0.25 с. Далее в каждый момент времени было оценено среднее значение перфузии в группе $\langle \bar{P}_{LDF}(t) \rangle$, где $\langle \dots \rangle$ показывает усреднение в группе. Из Рис. 3.8 видно, что нативный кро-

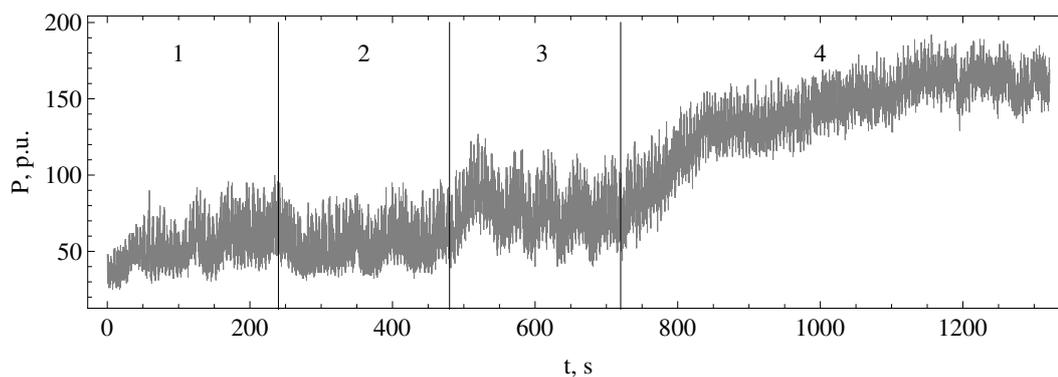


Рис. 3.7. Пример сигнала $P_{LDF}(t)$ полученных у пациента с СД2 (длительность СД - 30 лет). Цифры обозначают стадии эксперимента: 1 – базальные условия, 2 – охлаждение, 3 – нагрев до 35°C и 4 – нагрев до 42°C .

воток во всех трёх группах имеет близкие значения, перфузия у пациентов с СД1 несколько выше, чем в группе с СД2. Эти результаты соответствуют предыдущим исследованиям, в которых изучалось влияние диабетической нейропатии на перфузию [196, 269]. Та же тенденция обнаруживается при охлаждении до 25°C . Нагревание вызывает вазодилататорный ответ, вазодилатация выше в группе контроля. Для оценки значимости полученных различий был проведён статистический анализ $\bar{P}_{LDF}(t)$, результаты показаны в виде диаграммы размаха на Рис. 3.9. Значимые различия обнаружены между контрольной группой и группой СД2 во время теста 3 – нагрев до 35°C . Во время нагрева до 42°C отличия между группой контроля и обеими группами с СД были значимыми. Этот результат согласуется с полученными в разделе 3.1. Он подтверждает вывод о том, что СД приводит к снижению резерва к вазодилатации МЦР. Как было показано в разделе 1.3 одна из функций кровеносных сосудов МЦР – терморегулятивная. Увеличение кожного кровотока приводит к увеличению эффективной теплопроводности и более быстрому отводу тепла от поверхности кожи. Сниженный вазодилататорный ответ может привести к тому, что теплопроводность ткани, которая в основном связана с циркуляцией крови в микрососудах, снижается, таким образом, поверхность кожи при той же приложенной температуре может повышаться сильнее, что может приводить к термическим ожогам.

Для оценки вклада энергии колебаний различных частот в общую

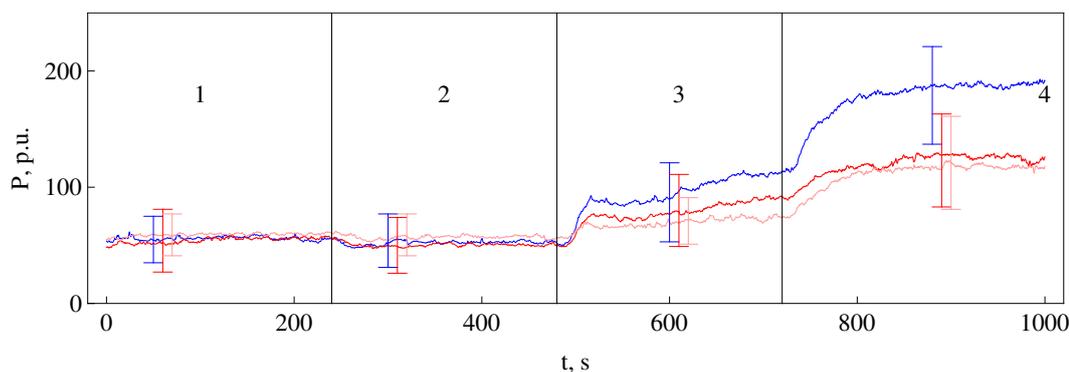


Рис. 3.8. Усредненная по всем измерениям динамика $\langle P_{LDF}(t) \rangle$ (синий - контроль, красный - пациенты с СД1, светло-красный - пациенты с СД2). Столбики ошибок показывают среднее стандартное отклонение на определенном этапе эксперимента. Числа показывают экспериментальные стадии: 1 - базальные условия, 2 - охлаждение, 3 - нагрев до 35°C , 4 - второй нагрев до 42°C .

энергию спектра был проведён вейвлет-анализ сигналов $P_{LDF}(t)$. Сначала рассчитывались вейвлет-коэффициенты для частотного диапазона 0.01-2 Гц с логарифмическим разбиением на 50 частотных полос. На первом этапе был рассчитан $M(\nu)$ для каждой записи, при этом был сделан необходимый отступ от границ сигнала и исключены переходные процессы, чтобы исключить их влияние на спектр. Полученные интегральные вейвлет-спектры были усреднены в группе. Для каждой полосы частот получено распределение энергии, которое в дальнейшем сравнивали в различных подгруппах.

Для получения достоверной статистики следует включить не менее 10 циклов для каждой исследуемой частоты. В данном протоколе есть 4-минутная запись для каждого из первых 3 этапов. Именно поэтому достоверные результаты могут быть получены только для частот не ниже 0.04 Гц. Для более низких частот результаты представлены на рисунках для того, чтобы качественно продемонстрировать тенденцию.

Для сравнения межгрупповых результатов использовался критерий Манна-Уитни, а для оценки внутригрупповых вариаций — статистический критерий Вилкоксона. Наконец, чтобы получить надёжные результаты, выполнена оценка размера выборки для минимизации ошибки второго типа:

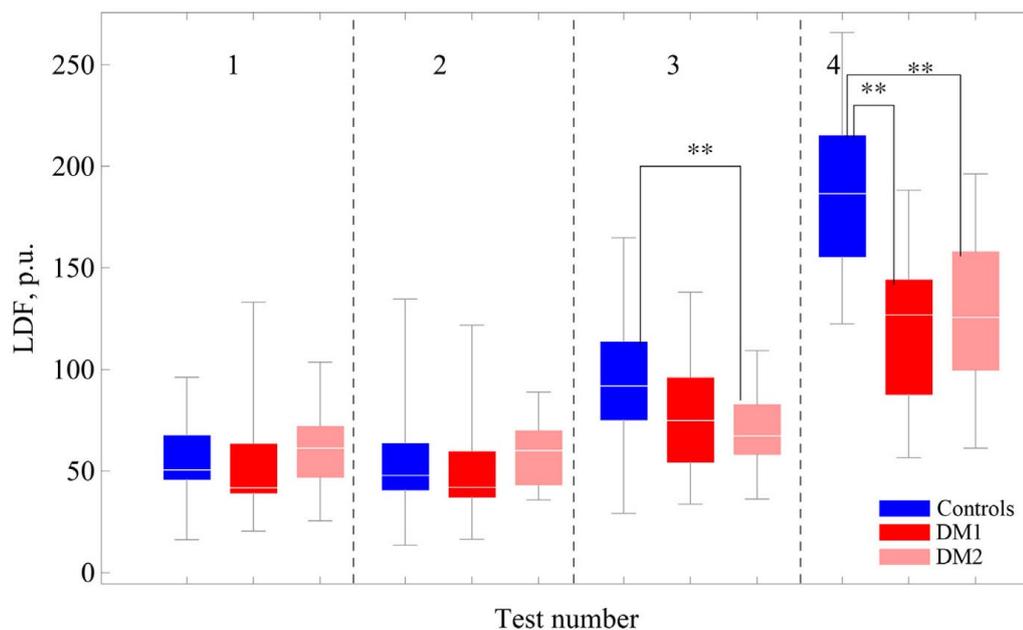


Рис. 3.9. Диаграмма размаха средней перфузии на 4-х этапах эксперимента: 1 - базальные условия, 2 - охлаждение, 3 - нагрев до 35°C, 4 - нагрев до 42°C. Звёздочками обозначен уровень значимости, оценённый с помощью критерия Манна-Уитни (** - $p < 0.01$). Увеличение перфузии во время тестов 3 и 4 также было значительным. В обеих группах тесты провоцировали достоверное изменение перфузии (уровень значимости оценивался с помощью критерия Вилкоксона, $p < 0,001$)

$$n = 2SD \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2}{d^2} \quad (3.1)$$

где SD – стандартное отклонение; $Z_{\alpha/2} = 1.96$ при ошибке первого рода на уровне 5%; $Z_{\beta} = 0.84$ при мощности 80%; d - разница между средними значениями [404].

3.2.2. Особенности кожного кровотока у добровольцев с сахарным диабетом в нативных условиях

Самая низкая перфузия в нативных условиях наблюдалась в контрольной группе ($P_{LDF} = 53 \pm 18$ р.и.). Пациенты с обоими типами диабета имели несколько более высокую перфузию, 54 ± 27 р.и. при СД1 и 58 ± 20 р.и. при СД2. В обеих группах с СД выявлено более низкое значение энергии колебаний $\tilde{P}_{LDF}(t)$ микрокровотока в диапазоне частот (0.012-0.045) Гц (Рис. 3.10) по сравнению с контрольной группой. Эти частоты попадают в интервалы, соответствующие нейрогенным и эндотелиальным механизмам регуляции сосудистого тонуса. Полученный результат нельзя охарактеризовать как надёжный в силу коротких рядов данных, и он отражает лишь общую тенденцию разности спектральных составов пульсаций периферического кровотока в группе контроля и пациентов с СД. Обнаружено, что колебания в диапазоне от 0.5-1 Гц слабее в группах с СД, чем в группе контроля, причём колебания этих частот были достоверно ниже в группе СД2, чем в группе СД1. Таким образом, даже в условиях покоя анализ колебаний кровотока выявил значительную разницу в микрогемодинамических параметрах здоровых и пациентов с СД. Амплитуда колебаний близких к 1 Гц была ниже в обеих группах СД, чем в группе контроля. Поскольку механизмы регуляции локального микрососудистого тонуса не участвуют в модуляции сердечной деятельности, то предполагается, что это различие связано с морфологическими нарушениями МЦР при СД. Наименьшая энергия пульсаций 1 Гц наблюдалась у обследованных с СД2, а при СД1 эта энергия была несколько выше. Однако оба значения заметно ниже по сравнению с контрольной группой. Ударный объём сердца у пациентов с СД выше [405, 406], чем у здоровых, и поэтому

можно сделать вывод, что пульсовая волна у добровольцев с СД сильнее демпфируется сердечно-сосудистой системой, чем в группе контроля. Метаболический синдром, инсулинорезистентность, нарушенная толерантность к глюкозе и накопление конечных продуктов гликирования положительно коррелируют с повышенной жёсткостью артерий [407]. Предполагается, что разница в колебаниях кровотока с частотой близкой к ЧСС, косвенно характеризует эластические свойства сосудов и указывает на повышенную жесткость артерий у больных СД. Полученные результаты согласуются с данными [408], где были обнаружены статистически значимые различия во вкладе относительной энергии в полосе сердечных частот в общий кровоток между контрольной группой и группой с СД2. Авторы выдвинули аналогичное предположение, что эти изменения обусловлены увеличением сосудистого сопротивления, вызванного вазоконстрикцией.

3.2.3. Изменения кожного кровотока вызванные местным охлаждением до 25°C.

Локальное охлаждение вызывает вазоконстрикцию и изменение спектральных свойств сигналов $P_{LDF}(t)$. Усреднённая по времени величина $P_{LDF}(t)$ 46 ± 16 р.у. в контрольной группе, 50 ± 23 р.у. в группе с СД1 и 55 ± 15 р.у. в группе с СД2. Для изучения изменения спектральных характеристик была оценена разница между $M(\nu)$ в базальных условиях и при охлаждении для каждого испытуемого. Полученные результаты представлены в виде диаграммы размаха (Рис. 3.11). Видно, что спектральный состав $P_{LDF}(t)$ у здоровых добровольцев лишь незначительно изменяется в ответ на охлаждение. Для каждой частоты были рассчитаны $M(\nu)_c$ во время охлаждения и в базальных условиях ($M(\nu)_b$), затем оценена их разница для каждой частоты $M(\nu)_c - M(\nu)_b$ и для всех записей $P_{LDF}(t)$. После этого была построена диаграмма размаха (Рис.3.11).

При охлаждении до 25°C наблюдалось достоверное снижение колебаний в полосе частот от 0.05 до 0.14 Гц у пациентов с СД1. Эта полоса частот попадает в диапазон, связанный с миогенной активностью. Спектральная энергия $P_{LDF}(t)$ у обследованных с СД2 в этой полосе частот оставалась неизменной. Обнаружена тенденция к увеличению энергии колебаний в по-

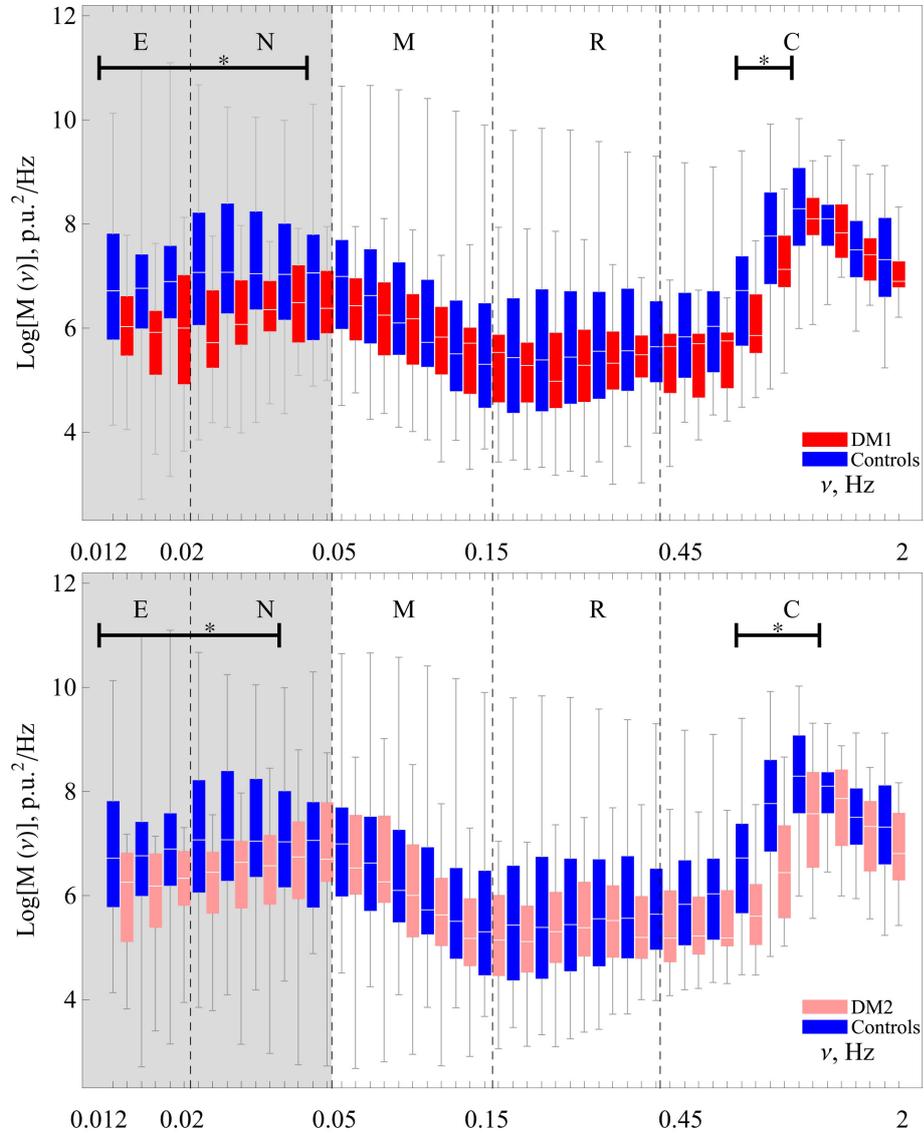


Рис. 3.10. Усредненные спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ в нативных условиях. Толстые отрезки в верхней части графика указывают на полосу частот, где $M(\nu)$ имеет значимые различия ($p < 0.05$). Низкочастотная часть спектров (заштрихованная серым цветом) имеет недостаточную статистику и показана только для того, чтобы качественно продемонстрировать тенденцию поведения спектров в области низких частот.

лосе частот 0.02-0.04 Гц, которая связана с нейрогенной активностью при охлаждении у больных СД2, однако полученные результаты должны быть проверены на сигналах большей длительности. Заметим, что изменение амплитуды пульсаций в этих частотных диапазонах, вызванное локальным охлаждением, существенно различается в двух диабетических группах.

Полученные качественные результаты согласуются с известным фактом о том, охлаждение вызывает стимуляцию симпатической системы, которая приводит к реакции гладких мышц сосудов, что в результате вызывает вазоконстрикцию [257]. Охлаждение практически не вызывает изменения спектральных характеристик сигналов $P_{LDF}(t)$ в группе контроля, небольшие вариации наблюдаются на левом крае полосы частот связанной с нейрогенным механизмом регуляции сосудистого тонуса. У пациентов с СД1 наблюдалось снижение миогенных колебаний, вызванных локальным охлаждением.

3.2.4. Изменения кожного кровотока, вызванные нагревом кожи до 35°C

Локальный нагрев до 35°C вызывает вазодилатацию. Разница усреднённой перфузии в этой стадии эксперимента становится значимой между исследуемыми группами, а $\bar{P}_{LDF}(t)$ увеличивается до 92 ± 28 р.и. у здоровых испытуемых, у пациентов с СД1 и СД2 перфузия несколько ниже чем в группе контроля и составляет 79 ± 30 р.и. у пациентов с СД1 и 67 ± 16 р.и. в группе с СД2.

На этом этапе колебания в полосе частот 0.05-0.45 Гц увеличивались в контрольной группе и в обеих группах с СД (Рис. 3.12). На диаграмме размаха изменения спектральной энергии наблюдается заметный пик на частоте, близкой к 0.14 Гц. Упомянутая выше вариабельность значительно ниже в обеих группах пациентов с СД по сравнению с контрольной группой. Наименьшая реакция наблюдалась у пациентов с СД1. Вместе с колебаниями, связанными с миогенной активностью, низкочастотные колебания увеличивались во всех трёх группах. Установлено, что разница в амплитуде колебаний кожного кровотока в нативных условиях и при локальном нагреве значима для всех трёх групп. Принимая во внимание связь между

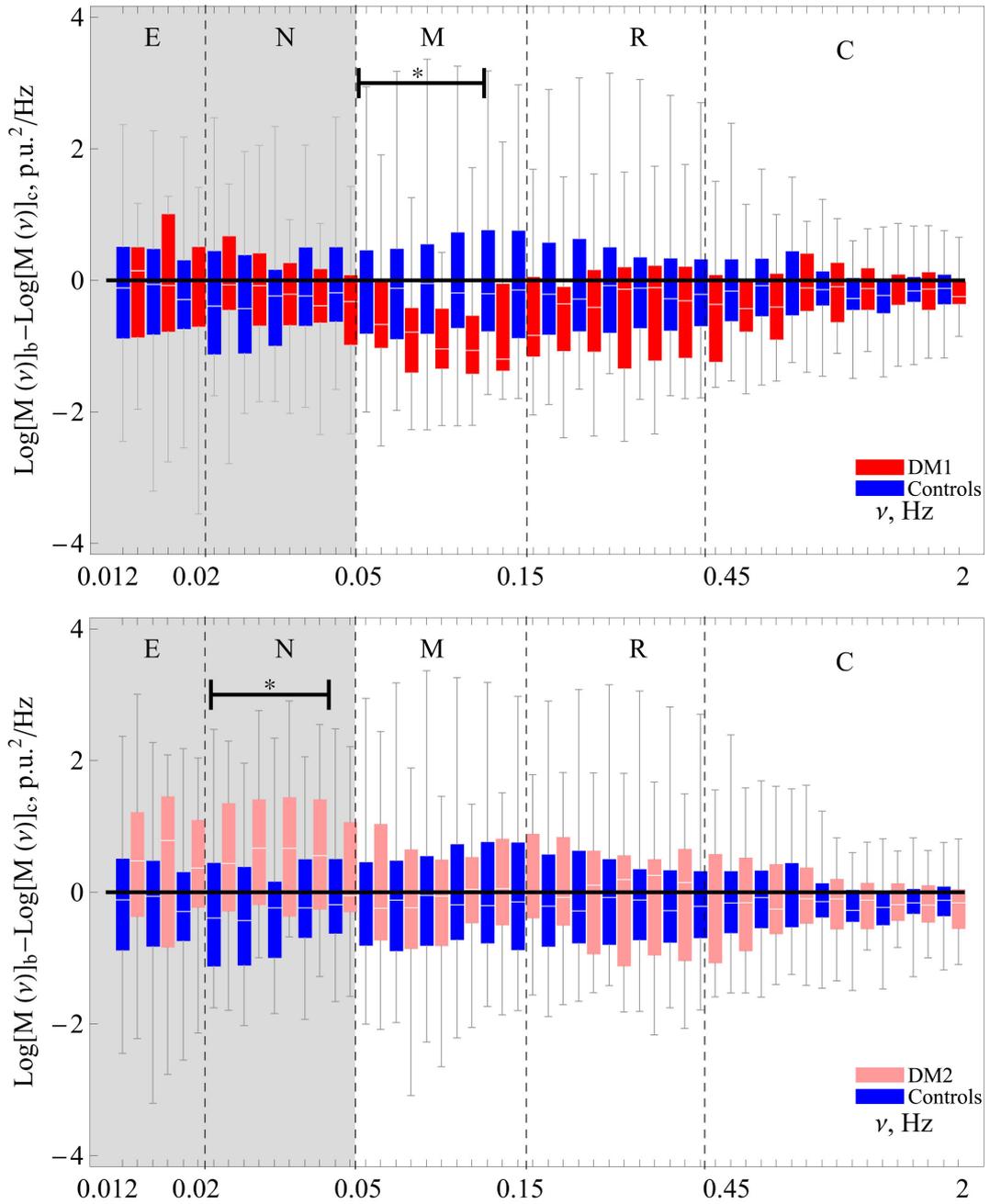


Рис. 3.11. Диаграмма размаха для вариации спектральной энергии, вызванной охлаждением в группе СД1 (вверху) и СД2 (внизу). Жирные линии в верхней части графика показывают полосы частот, где изменение энергии пульсации значительно ($p < 0.05$). Низкочастотная часть спектров (заштрихованная серым цветом) показана только для того, чтобы продемонстрировать тенденцию поведения, аналогично тому, как это сделано на Рис.3.10.

пульсирующей и усредненной составляющими сигнала $P_{LDF}(t)$, описанную в разделе 2.1, и повышением средней перфузии за счёт нагрева, обсуждать полученный результат достаточно сложно.

С другой стороны, усредненная перфузия в группах с СД статистически одинакова ($p > 0.05$), при этом необходимо отметить, что амплитуда колебаний в эндотелиальной полосе частот в патологических группах изменяется слабее. Таким образом, можно сделать вывод, что механизмы, участвующие в низкочастотной модуляции кожного кровотока, тесно связаны с СД1.

Локальный медленный нагрев инициирует последовательность рефлексов, которая приводит к вазодилатации [237]. В начале нагрева наблюдался локальный пик на кривой $\bar{P}_{LDF}(t)$, связанный с аксон-рефлексом; скорость вазодилатации и ее абсолютное значение снижены у добровольцев с СД по сравнению с аналогичными характеристиками в группе контроля. Далее, после появления небольшого локального минимума на кривой $\bar{P}_{LDF}(t)$, можно увидеть повторное увеличение перфузии, связанное с высвобождением NO [237]. Перфузия на этой стадии снижена в группе с СД, что согласуется с работами [400, 401] и результатами раздела 3.1. Имея самую высокую перфузию в нативных условиях, обследованные с СД1 имели самые низкие значения кровотока в условиях локального нагрева. В разделе 3.1 аналогичные тенденции интерпретировалось как низкий резерв МЦР при патологических состояниях. Поведение $P_{LDF}(t)$ во время этого теста нестационарно, медленные вариации связаны с аксон-рефлексом в первой части записи и с эндотелиальной активностью во второй его части. Поскольку длина сигнала мала для анализа медленных колебаний, низкочастотные части спектров не рассматриваются. Выявлено увеличение энергии колебаний, связанных с миогенным фактором регуляции тонуса сосудов, во всех группах, причём наибольшая ее вариабельность, наблюдавшаяся в контрольной группе, сопровождалась появлением резкого пика в усредненном спектре на частоте, близкой к 0.14 Гц. Аналогичное поведение, наблюдаемое в [130], было связано с высоким прекапиллярным давлением и растяжением артериол, вызывающим миогенные колебания. Пациенты с СД имели более низкую реакцию миогенной активности на нагревание.

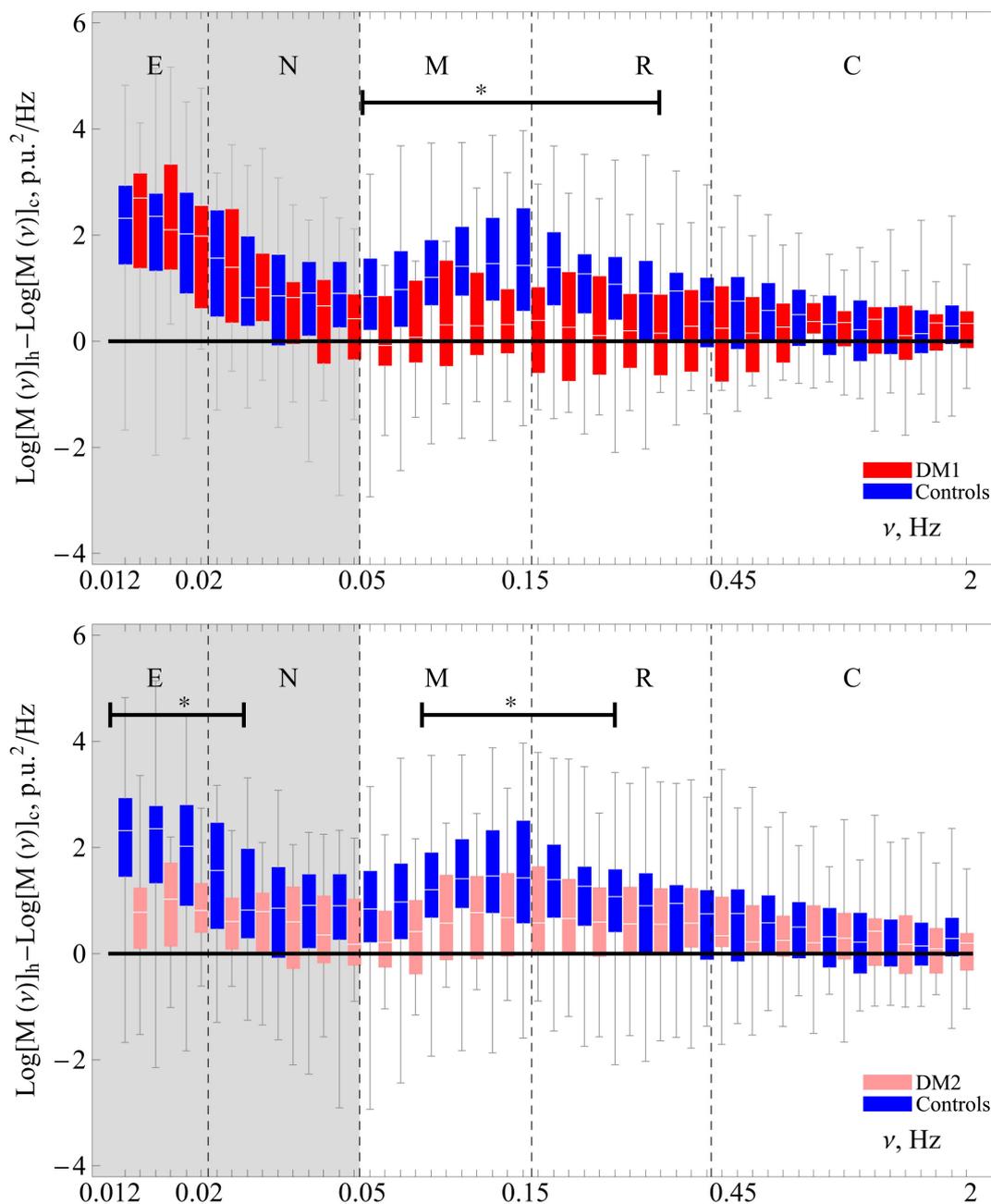


Рис. 3.12. Вариация спектральной плотности энергии ($M(\nu)_h - M(\nu)_b$) вызванная нагревом поверхности кожи до 35°C . Алгоритм построения графика аналогичен тому, который используется на Рис. 3.11. Низкочастотная часть спектров (заштрихованная серым цветом) показана только для того, чтобы продемонстрировать тенденцию, аналогичную Рис.3.10

3.2.5. Изменения кожного кровотока вызванные нагревом кожи до 42°C

На 4-м, заключительном, этапе исследования со ступенчатым нагревом поверхность кожи нагревалась до 42°C. Нагрев до такой температуры приводит к значительной вазодилатации, среднее значение $\bar{P}_{LDF}(t)$ увеличилось до 190 ± 27 р.у. в группе контроля. Вазодилатационный ответ в обеих группах пациентов (128 ± 38 р.у. при СД1 и 122 ± 38 р.у. при СД2) значительно ниже. Локальный нагрев до 42°C вызвал увеличение колебаний кожного кровотока во всех частотных диапазонах (Рис. 3.13). Отметим, что амплитуда колебаний ниже в обеих группах пациентов с СД по сравнению с контролем, и она значима для высокочастотных пульсаций в группе с СД2.

Длительное нагревание индуцирует NO-опосредованную вазодилатацию, которая ниже у пациентов с СД и связана с дисфункцией эндотелия [409]. Длительное воздействие высокой температуры вызывает увеличение перфузии $P_{LDF}(t)$ и изменение ее спектральных свойств. Спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ у здоровых добровольцев изменяются слабее в полосе частот, связанной с нейрогенным механизмом регуляции сосудистого тонуса, по сравнению с другими полосами частот. В обеих группах СД вазомоции были нарушены по сравнению с группой контроля.

3.2.6. Выводы по разделу

Большинство полученных в данном разделе результатов являются пилотными в силу значительных ограничений исследования. Во-первых, вопрос о корректном наборе групп при исследовании СД1 и СД2 достаточно сложен. Ключевым моментом при анализе влияния возраста, пола и длительности заболевания как на микро-, так и на макрогемодинамические параметры является определение того, какой фактор оказывает наиболее сильное влияние на измеряемые характеристики. В результате вычисления критерия Фишера, было выявлено, что различия между пациентами мужского и женского пола считаются статистически незначимы ($p=0.52$). В парах групп контроля и СД1 ($p=0.77$) и контроля – СД2 ($p=0.12$) также

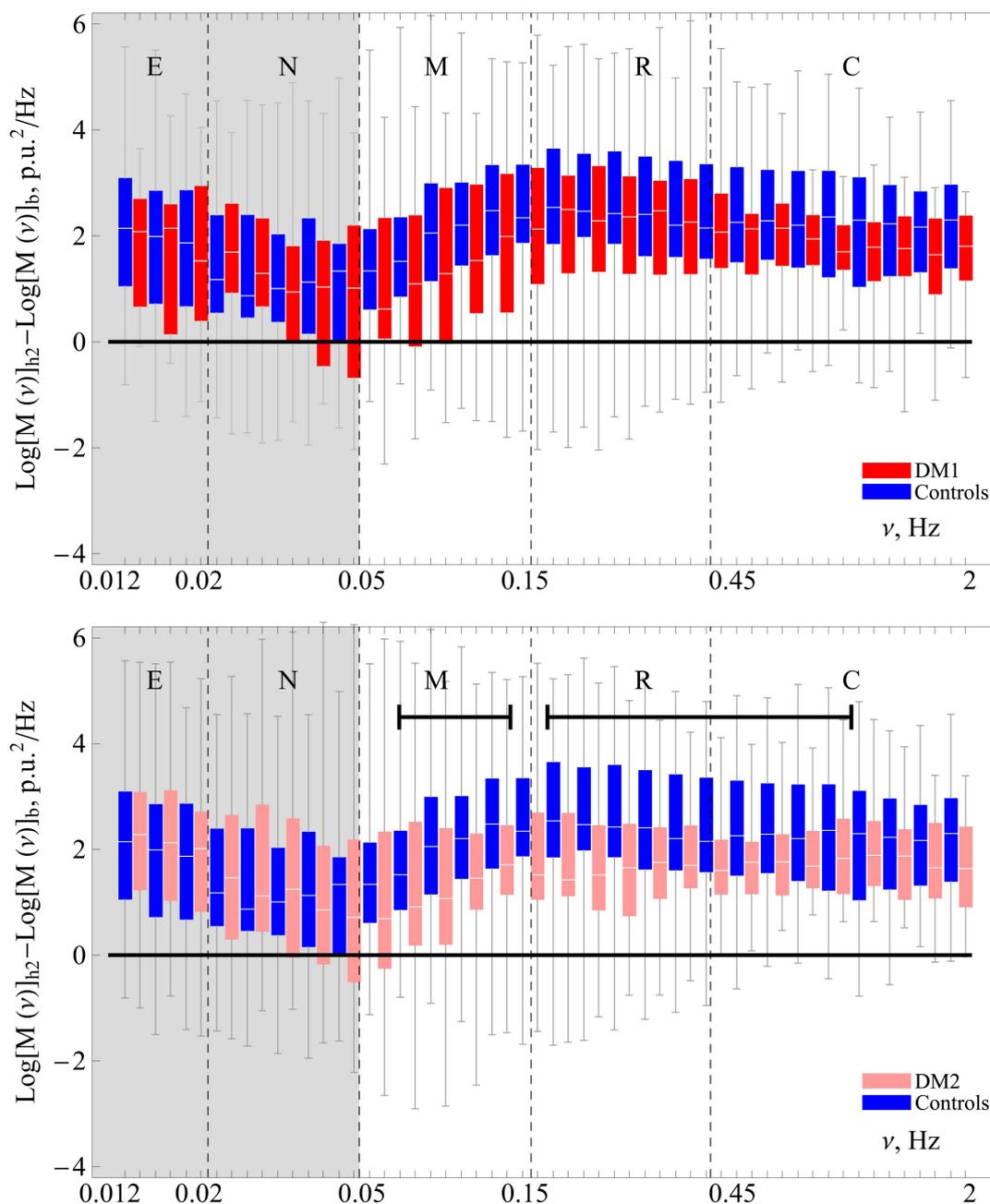


Рис. 3.13. Изменение спектрального состава сигналов $P_{LDF}(t)$, вызванное нагреванием поверхности кожи в окрестности нагревателя до 42°C . Алгоритм построения графика аналогичен тому, который используется на Рис. 3.11. Низкочастотная часть спектров (окрашенная серым цветом) показана только для того, чтобы продемонстрировать тенденцию, аналогичную Рис. 3.11. Верхний график построен для группы с СД1, а нижний – СД2.

различия статически незначимы.

Другой вопрос касается возраста и длительности заболевания. Поскольку большинство пациентов с СД1 молоды (35 лет в представленном исследовании), а СД2 обычно развивается позже (средний возраст в набранной группе равен 50 годам), эти две группы сравнивать достаточно сложно. Проведён дополнительный анализ в котором группы контроля и СД1 были разделены на две подгруппы – молодые (младше 35 лет) и возрастные (старше 35 лет). Для оценки значимости различий в осредненных спектрах $P_{LDF}(t)$ в данных подгруппах был использован тест Манна-Уитни. Никакого существенного влияния анализируемых параметров, которые могли бы влиять на представленные результаты, выявлено не было.

Для формулирования чётких границ нормы и патологии необходимо провести дальнейшие исследования с более обширной выборкой. В таком случае возможно изучить влияние таких параметров, как возраст, ИМТ, пол и т.д., чтобы доказать, что ошибка II рода не оказывает заметного влияния на выявленные в данном исследовании различия. Полученные пилотные результаты могут быть основой для дальнейших исследований и быть использованы для обоснования требуемого минимального размера выборки.

На основании полученных результатов сформулирован критерий получения робастных данных по предложенному протоколу. Размер группы определён для значимости $\alpha = 0.05$ и статистической мощности $1 - \beta = 0.8$ (3.1). В данном разделе были проанализированы: средняя перфузия на различных этапах температурного теста, энергия колебаний сигнала $P_{LDF}(t)$ в рассматриваемых частотных диапазонах и вариации этой энергии вызванные изменением температуры. Оказалось, что различия спектров в полосе сердечных частот строго обоснованы при рассмотрении выборок, близких к 40 испытуемым в группе. При тестировании 55 испытуемых обоснованы изменения механизмов регуляции миогенного сосудистого тонуса, вызванные охлаждением. Такое же количество испытуемых требуется для количественной оценки изменений колебаний кожного кровотока связанных с миогенным механизмом регуляции сосудистого тонуса, вызванных нагре-

ванием до 35°C. Разница в перфузии из-за нагрева до 42°C статистически значима в случае 12 испытуемых в выборке.

Предложенный протокол исследования имеет существенный недостаток из-за небольшой времени записи сигнала $P_{LDF}(t)$. Ограничение времени записи, приводит к значительной ошибке вычисления энергии низкочастотных колебаний. По этой причине можно говорить лишь о выявленной тенденции вариации к спектральной энергии, а не о статистически надёжном результате.

Важно отметить, что в данной работе не определялись статистические характеристики спектра энергии пульсаций (вычисление максимальной или средней энергии пульсаций в заданном диапазоне), а представлены полные спектральные распределения, на которых отмечены диапазоны частот со значимо различающимися характеристиками. Частотные полосы, соответствующие различным физиологическим механизмам, показаны на графиках для справки.

3.3. Особенности динамики кожного кровотока при ревматических заболеваниях

Как было показано в Главе 1 одна из патологий, приводящих к развитию нарушений системы МЦР, – ревматические заболевания [410]. Целью решения следующей задачи является определение маркеров функционального нарушения системы МЦР на основе метода ЛДФ.

В настоящем исследовании группу контроля составили 32 (16 мужчин и 16 женщин) здоровых добровольца. Средний возраст в группе контроля составил 22 ± 2 лет. Патологическую группу составили 60 добровольцев (12 мужчин и 48 женщин) с ревматическими заболеваниями, средний возраст в группе с патологией 55 ± 14 год. Пациенты с ревматическими заболеваниями наблюдались в ревматологическом отделении Орловской областной клинической больницы, Россия. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом, и все испытуемые подписали информированное согласие. Выбор обследуемых лиц осуществлялся лечащим врачом на основании истории болезни, анализа основного и сопутствующих заболеваний,

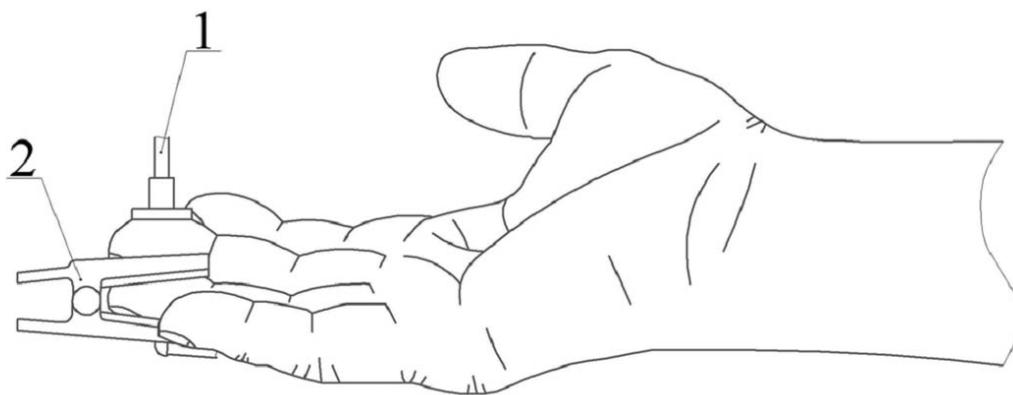


Рис. 3.14. Схема расположения датчика ЛДФ (1) на ладони.

результатов ранее проведённых исследований другими методами диагностики, наличия изменений в лабораторных анализах крови (повышение лабораторных показателей, таких как ревматоидный фактор, антинуклеарный фактор, тромбоцитоз, анемия), а также жалоб пациентов на боли в пальцах, повышенную чувствительность пальцев к холоду и изменение их цвета при воздействии холода.

Измерения микроциркуляции крови проводили с использованием экспериментальной системы “ЛАКК-ОП” и “ЛАКК-М” (ООО НПП “ЛАЗМА”, Россия). Оптический зонд лазерного доплеровского флоуметра помещали на ладонную поверхность дистальной фаланги среднего пальца правой руки, как показано на Рис. 3.14. Крепление датчика осуществлялось при помощи ленты велкро.

В течении 5 минут происходила запись перфузии $P_{LDF}(t)$, далее всем участникам проводилась прессорная холодовая проба, во время которой на 5 минут руки пациента погружали в холодную воду с температурой $(14.0 \pm 0.8)^\circ\text{C}$, температура контролировалась при помощи инфракрасного цифрового термометра (Sensitec NB401, Нидерланды). Сразу же после извлечения рук из холодной воды проводилась повторная запись $P_{LDF}(t)$, через двадцатиминутный перерыв ещё одна запись $P_{LDF}(t)$. Таким образом, для анализа были доступны три пяти-минутные записи сигналов ЛДФ (Рис. 3.15).

Усреднённые значения перфузии во время всех трёх стадий эксперимента представлены в виде диаграммы размаха на Рис. 3.16. В базальных

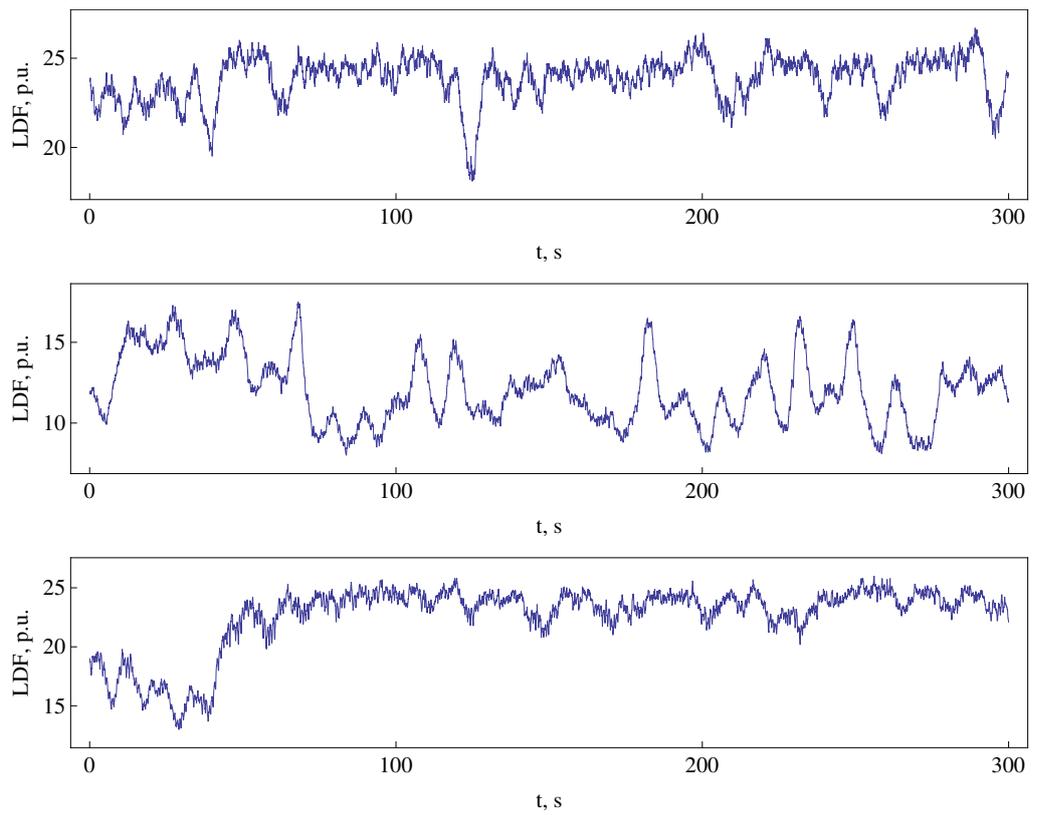


Рис. 3.15. Пример сигнала $P_{LDF}(t)$ здорового добровольца (а) – в нативных условиях, (б) – сразу после охлаждения, (с) – через 20 минут после окончания холодного воздействия

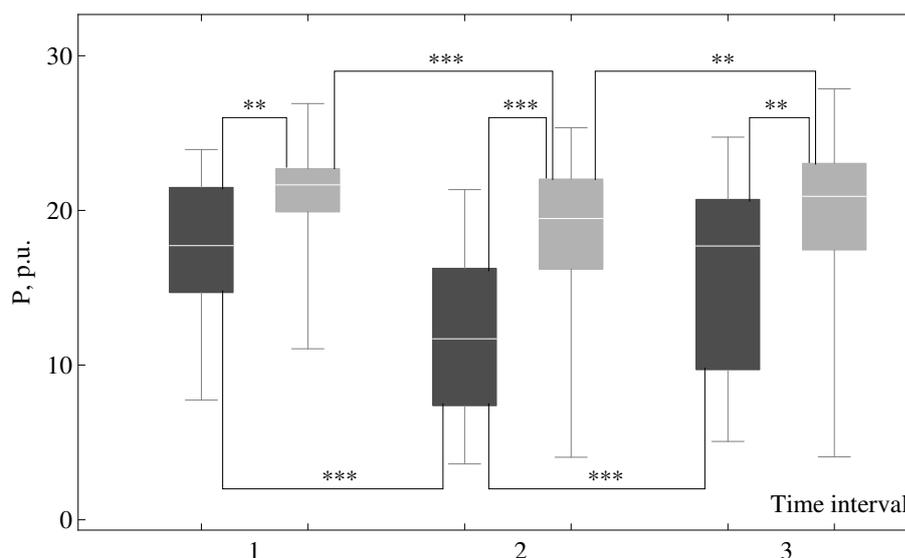


Рис. 3.16. Диаграмма размаха для средних значений перфузии во время трёх стадий эксперимента 1 – в нативных условиях, 2 – сразу после окончания холодого воздействия 3 – через 20 минут после окончания холодого воздействия. Тёмные прямоугольники соответствуют группе контроля, светлые – показателям перфузии, полученным у пациентов с ревматическими заболеваниями. Звёздочки показывают значимые различия ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.005$.

условиях перфузия у пациентов с ревматическими заболеваниями выше, чем в группе контроля, и составляет 21 ± 3 р.у. и 18 ± 4 р.у. соответственно. После охлаждения перфузия снижается, в группе контроля относительное изменение составляет 7 р.у., для группы с ревматическими заболеваниями – 2 р.у. После 20 минут перфузия полностью восстанавливалась до уровня нативной. Существенных различий в процессе восстановления не наблюдалось (Рис. 3.16, (3 временной интервал), что хорошо согласуется с результатами других исследований [411]. По всей видимости более высокая перфузия в нативных условиях и более слабый ответ на прессорное охлаждение в группе пациентов с ревматическими заболеваниями связаны с аномальным поведением периферического сосудистого русла, которое проявляется в склонности к ангиоспазму [412].

Для оценки вклада колебаний различных частот для данных $P_{LDF}(t)$ были рассчитаны вейвлет-коэффициенты и спектры $M(\nu)$ для каждого набора из трёх записей. В данном случае применён тот же подход анализа

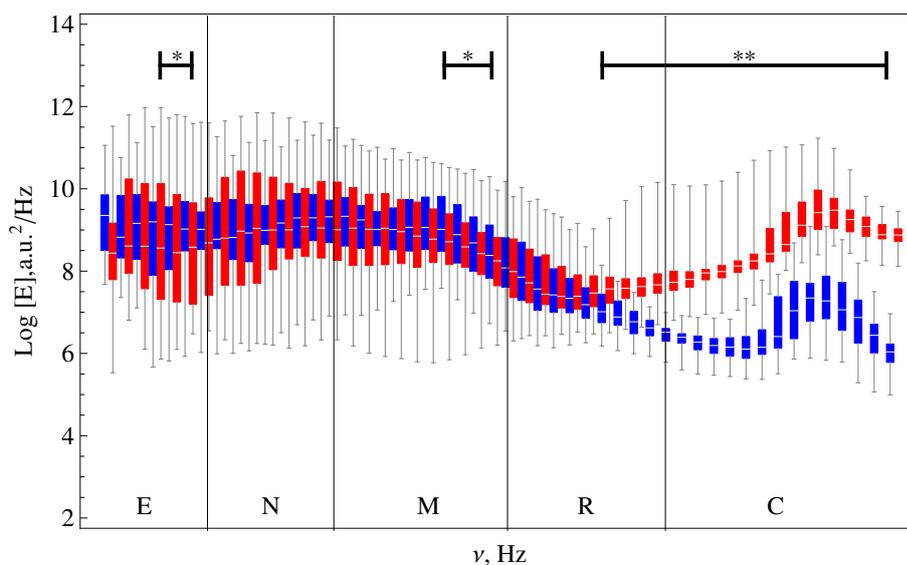


Рис. 3.17. Диаграммы размаха для спектральной плотности энергии колебаний кровотока в нативных условиях в группе контроля (синий) и группе добровольцев с ревматическими заболеваниями. Отрезками вверху рисунка помечены границы частотных диапазонов, в которых обнаружены значимые различия, символ * соответствует $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

полного спектрального состава, что и в разделе 3.2. Спектры $P_{LDF}(t)$ в нативных условиях представлены на Рис.3.17. Энергия пульсаций высоких частот ($\nu > 0.24$ Гц) достоверно выше у добровольцев с ревматическими заболеваниями.

Сравнение спектров пульсаций сразу после прессорного охлаждения конечностей и в исходном состоянии представлено в виде диаграммы размаха на Рис.3.18. После охлаждения у здоровых добровольцев энергия пульсаций кровотока в области высоких частот снижается. По всей видимости это связано с вазоконстрикцией мелких сосудов и снижением энергии пульсовой и дыхательных волн. В случае пациентов с ревматическими заболеваниями наблюдается увеличение колебаний кожного кровотока в области низких частот.

Существенно отличающиеся спектральные свойства в группе здоровых и группе с ревматическими заболеваниями могут быть обусловлены морфологическими и функциональными нарушениями МЦР. По всей видимости наличие мегакапилляров [230] и повышенная жёсткость сосудов снижают демпфирующие свойства системы кровообращения при прогрес-

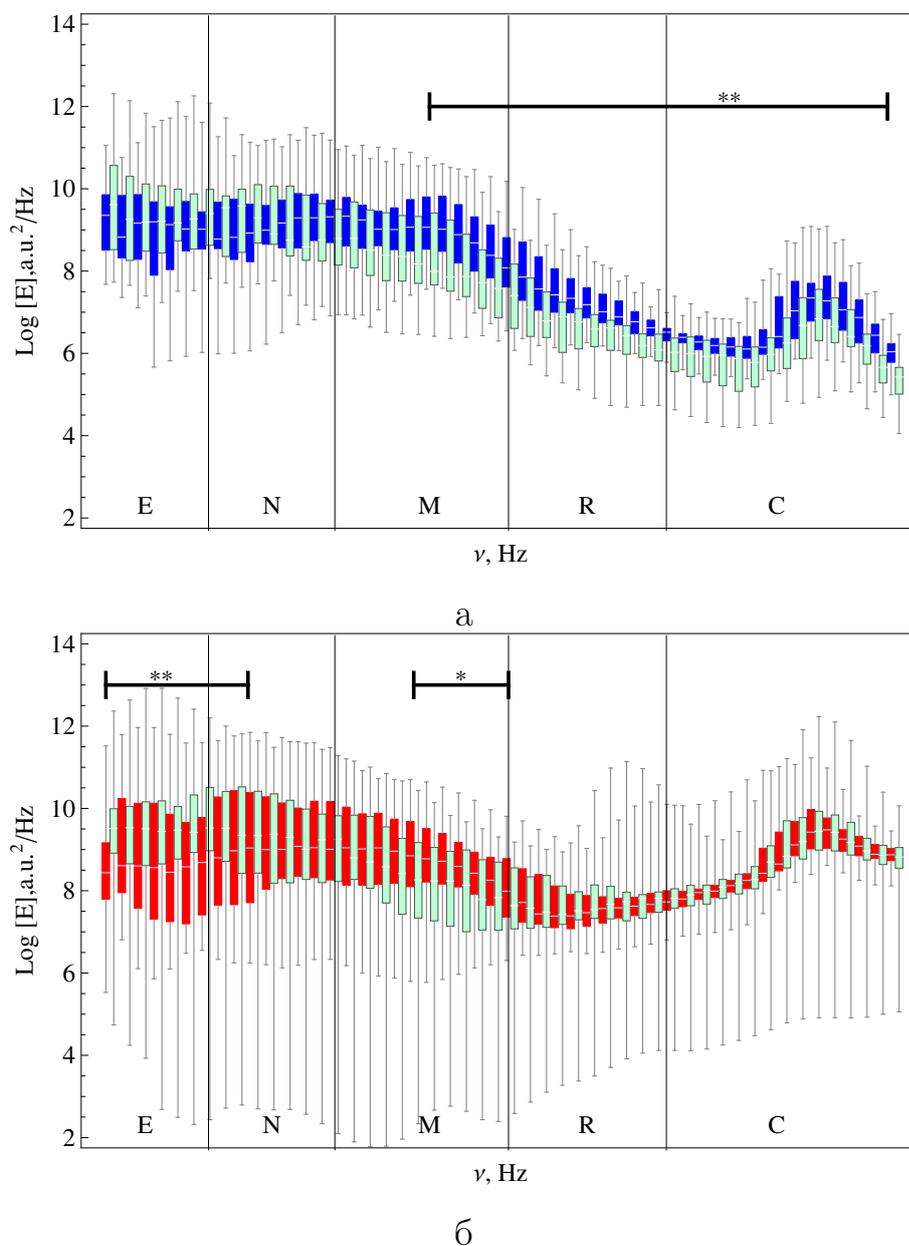


Рис. 3.18. Диаграммы размаха для спектральной плотности энергии колебаний кровотока в нативных условиях и после охлаждения верхних конечностей. (а) – в нативном состоянии (синий) сразу после охлаждения (зелёный) в группе контроля. (б) – в нативном состоянии (красный) и сразу после охлаждения (зелёный) в группе добровольцев с ревматическими заболеваниями.

сировании ревматической патологии.

3.4. Обсуждение результатов главы

В данной главе продемонстрирован ряд клинических применений исследования динамики кожного кровотока при проведении температурных тестов. Показано, что изменения средних показателей перфузии $\bar{P}_{LDF}(t)$ значительно различаются в контрольных группах и группах с патологией в ответ на проводимые тепловые тесты. Скорость изменения кровотока, максимальная вазодилатация или вазоконстрикция могут служить диагностическими критериями для выявления нарушения функции системы МЦР. Проведение таких тестов может быть достаточно быстрым и доступным в клинической практике.

Спектральный состав сигнала $P_{LDF}(t)$ имеет значимые различия в группах, что позволяет сделать вывод о функции различных механизмов регуляции сосудистого тонуса. Даже сравнение спектров $P_{LDF}(t)$ сигналов в покое у добровольцев с различными патологиями показывает принципиально различный спектральный состав (Рис.3.19).

Отметим, что вплоть до представления результатов части 3.2 в статье [39] в литературе в основном использовался подход, созданный в работах [12]. Согласно этому подходу вейвлет-спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ подвергаются дополнительной процедуре постобработки, такой как вычисление средней спектральной плотности энергии в полосе частот [413]. Тем не менее при анализе сигналов зачастую возникает ситуация, когда в заданном диапазоне функция $M(\nu)$ монотонна и не имеет выраженного максимума. В этом случае у исследователя возникает вопрос о том, какой характеристикой плотности спектральной энергии пользоваться. Зачастую программное обеспечение предлагает ручной выбор точки на графике $M(\nu)$. Такой подход приводит к появлению дополнительных ошибок в вычислении характеристики функционирования тонуса сосудов на выделенной частоте. Другой существенной проблемой является определение границ частотных диапазонов, соответствующих различным механизмам регуляции сосудистого тонуса. Как было показано в разделе 1.5 граничные частоты

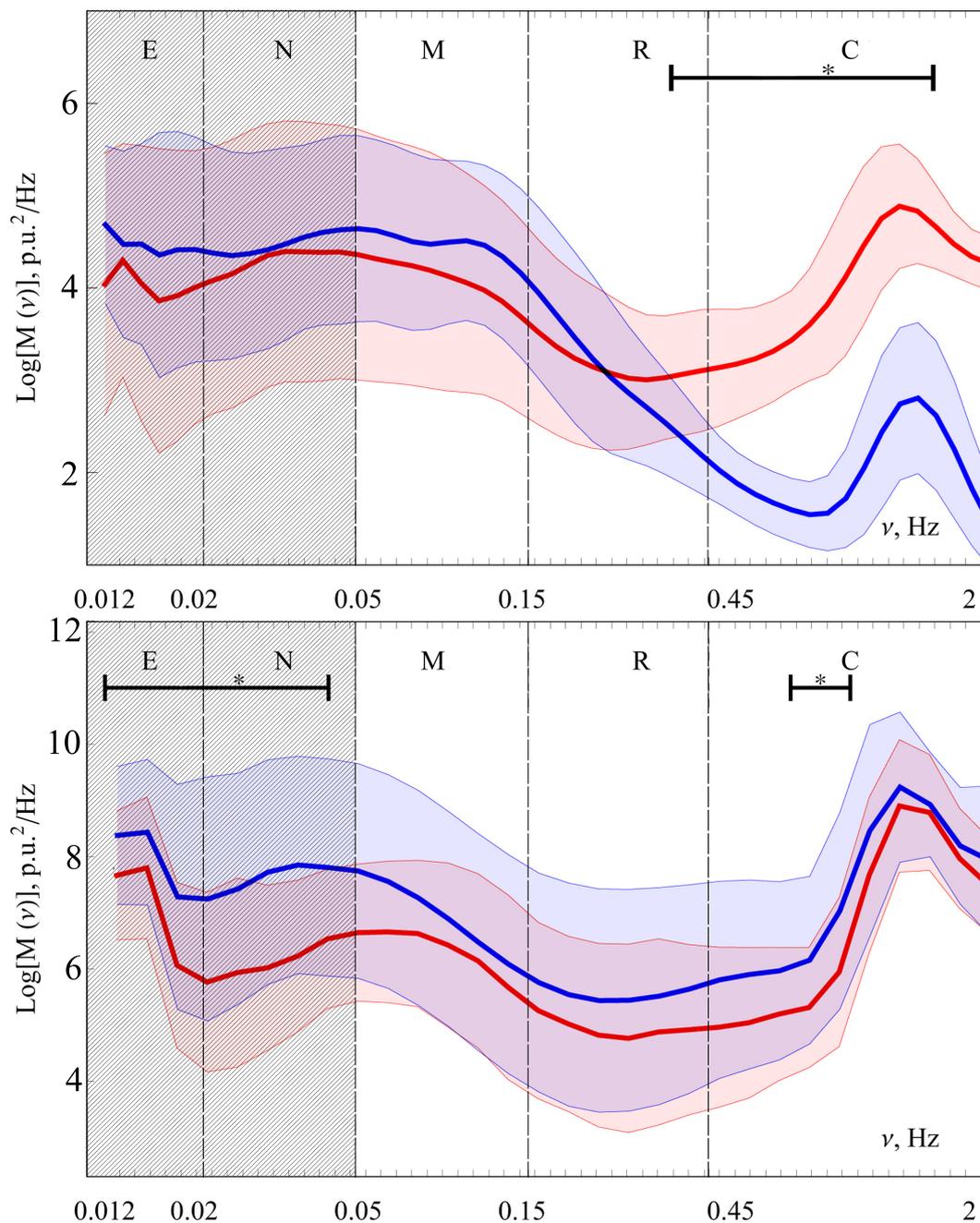


Рис. 3.19. Усредненные спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ для пациентов с ревматическими заболеваниями (вверху) и СД (внизу) по сравнению с группой контроля. Группы с патологией обозначены красной линией, контроля – синей. Жирной линией показаны медианы, тонкими – первый и третий квартили распределения, полупрозрачной штриховкой заштрихован интервал между первым и третьим квартилем.

диапазонов, указанные в различных работах – различаются, более того, в ряде работ выделяются диапазоны вновь открытых механизмов регуляции сосудистого тонуса [151, 414]. Таким образом, адаптивный подбор частотных диапазонов, основанный на анализе полного спектра вариаций спектральной плотности энергии колебаний кожного кровотока, при проведении тепловых тестов, позволяет детально изучать механизмы регуляции сосудистого тонуса и выявлять особенности микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом и ревматическими заболеваниями.

4. Исследование спектрального состава сигналов, характеризующих динамику периферического кровотока, полученных методами лазерной доплеровской флоуметрии, фотоплетизмографии и лазерной спекл-контрастной визуализации

В предыдущих главах показано, что оценка вклада колебательных компонент перфузии в общую вариабельность этого параметра является достаточно широко используемым методом в биофизических и клинических исследованиях в области изучения периферической и органной гемодинамики. Неинвазивное непрерывное мониторирование локального кровотока даёт возможность оценки функциональных и резервных свойств системы МЦР. Однако лазерные доплеровские флоуметры, разработанные для таких целей, до сих пор не нашли широкого применения в клинической практике. Актуальной задачей является поиск более доступного метода, позволяющего проводить запись характеристик кровотока в мелких сосудах. Данная глава посвящена обсуждению возможности регистрации колебаний кровотока другими оптическими методами, а именно, фотоплетизмографии (ФПГ) и лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСВ). ФПГ – один из наиболее старых методов изучения периферического кровотока (см., например, [16]), приборное решение доступно и включено в мониторы пациента. В последние годы активно развиваются методы визуализации кровотока при помощи ФПГ для исследования мозга [415], кожной микроциркуляции [416, 417] и др. Метод ЛСВ в настоящий момент динамично развивается, применяется в целом ряде биомедицинских задач, например, для визуализации микроциркуляции крови в тканях поджелудочной железы при лапароскопических вмешательствах [418], изучения кровообращения в коре головного мозга [419], органной микрогемодинамики [420].

Целью работ, представленных в данной главе, является изучить воз-

возможность исследования колебательной динамики периферического кровотока при помощи более простых в аппаратном исполнении, чем ЛДФ, оптических методов – ФПГ и ЛСВ.

4.1. Формирование сигнала фотоплетизмографии

Под плетизмографией понимают регистрацию изменений объёма органа или части тела, связанных с изменениями кровенаполнения их сосудов. Объём органа складывается из объёма всех его тканей и крови, заполняющей сосуды. Первая величина остаётся постоянной на небольшом отрезке времени, вторая — непрерывно меняется в связи с процессом кровообращения и может быть зарегистрирована плетизмографом. ФПГ основана на регистрации изменений интенсивности света после его прохождения сквозь биологическую ткань, обусловленных изменениями ее объёма [17, 182]. Изменения интенсивности света, наблюдаемые методом ФПГ, могут быть связаны с разными факторами в зависимости от схемы наблюдения и от выбранной длины волны света [182]. В классическом методе ФПГ используют ближнее инфракрасное излучение, которое меньше всего поглощается биологическими тканями. Наибольшее поглощение света с длиной волны 600-700 нм происходит в основном эритроцитами в артериальном звене [421] за счёт оксигенированного гемоглобина (HbO_2), который приносится артериальной кровью. Таким образом, сигнал пропорционален количеству эритроцитов, попадающих в область между источником и приёмником (Рис. 4.1) в случае просветной ФПГ. Поскольку изменение гематокрита (объёмного содержания эритроцитов в единице объёма крови) в течение одного измерения мало, интенсивность регистрируемого приёмником света обратно пропорциональна объёму крови, находящемуся в области просвета. Регистрируемый сигнал, называемый фотоплетизмограммой, далее будем обозначать $P_{PPG}(t)$, подчёркивая тем самым, что получаемые данные характеризуют эволюционирующую во времени перфузию, измеренную методом ФПГ. Эта простая, достаточно недорогая неинвазивная оптическая методика впервые описана почти сто лет назад [422].

В типичной зависимости $P_{PPG}(t)$ (Рис.4.2) можно выделить медлен-

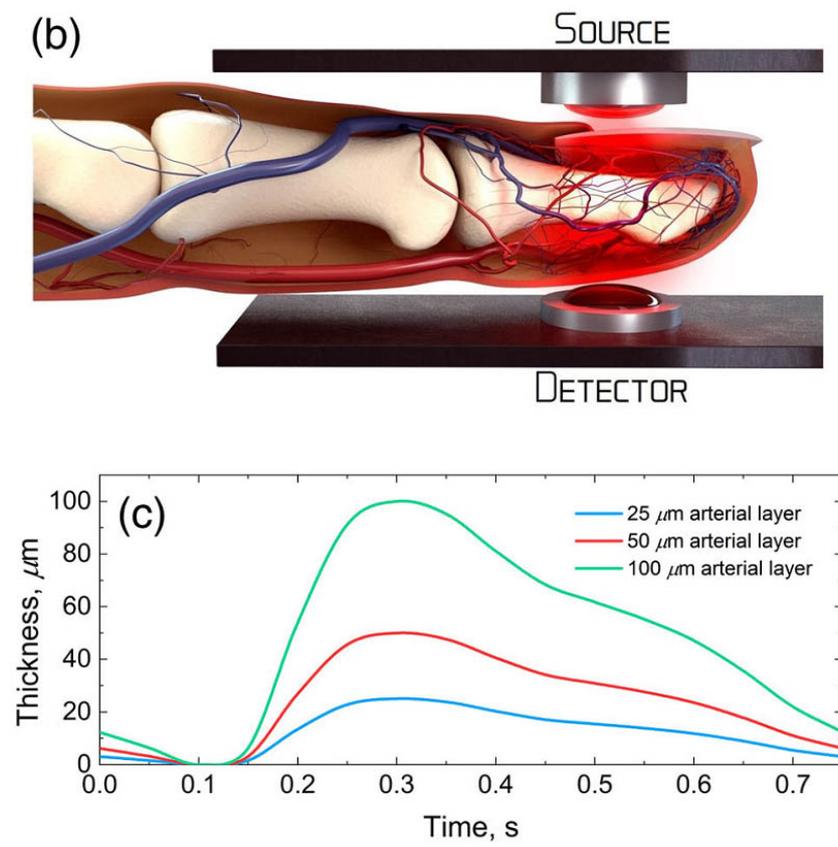


Рис. 4.1. Формирование сигнала ФПГ. Печатается по работе [423]

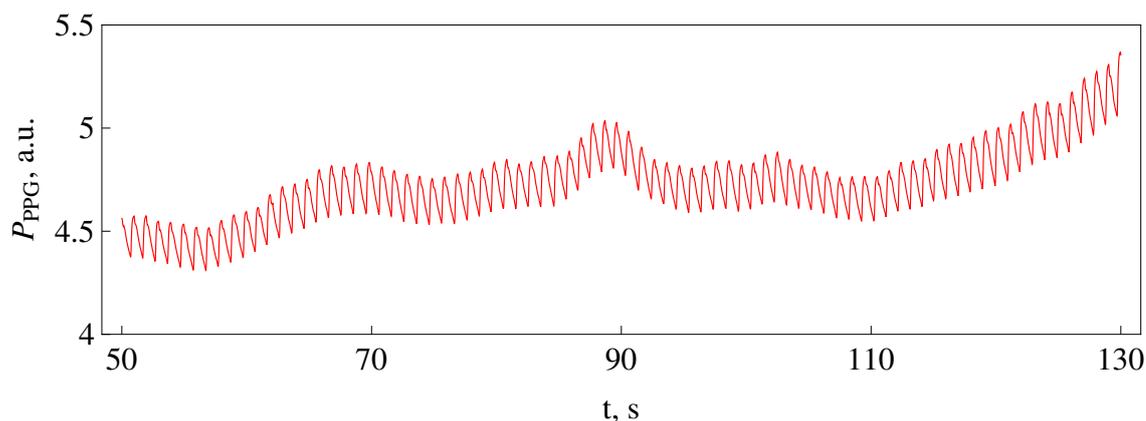


Рис. 4.2. Пример сигнала $P_{PPG}(t)$. Продемонстрировано наличие колебательной составляющей с частотой близкой к ЧСС и модуляции среднего значения $\bar{P}_{PPG}(t)$.

но $\bar{P}_{PPG}(t)$ и быстро меняющиеся $\tilde{P}_{PPG}(t)$ составляющие [182, 424–428]. Как правило, в широко распространённых приборах медленно меняющаяся составляющая отфильтровывается и анализируются свойства пульсовой волны. На основе полученного сигнала рассчитывается ЧСС, определяются нарушения сердечного ритма, помимо этого ФПГ используется для определения дыхательной волны, по которой определяется характеристики дыхания человека. Коммерческий прибор зачастую может сигнализировать об опасных нарушениях ритма сердца, подаются сигналы в случаях продолжительной остановки или опасных нарушений дыхания. В практической медицине интерес представляет не столько первичный, сырой сигнал $P_{PPG}(t)$, сколько результаты анализа этого сигнала и вытекающие из него жизненно важные выводы для практической деятельности.

Кроме фотоплетизмографов, которые работают в традиционной оптической схеме на пропускание, со временем были созданы приборы, работающие со световыми сигналами, обратно рассеянными от тела. Такой режим работы часто сокращённо называют ФПГ “на отражение”, хотя используется не прямо отражённый поверхностью кожи, а обратно рассеянный телом свет. Использование такого режима существенно расширило сферу возможных исследований практически на любую часть тела.

Результаты, полученные методами ФПГ и ЛДФ, сложно сравнивать не только из-за разного физического принципа регистрации этих сигналов,

фильтрации в большинстве коммерческих приборов, но и из-за отсутствия унифицированных методов предобработки данных. Несмотря на то, что в основном для регистрации колебаний используются сигналы, полученные методом ЛДФ, анализ сигналов $P_{PPG}(t)$ может быть так же полезен. Спектральные свойства сигналов $P_{PPG}(t)$ обсуждаются всего в нескольких работах, большинство из них посвящены высокочастотным колебаниями (выше 1 Гц) для описания формы пульсовой волны [429, 430]. Низкочастотные компоненты $P_{PPG}(t)$ исследуются с точки зрения выявления вариации ЧСС [431], для мониторинга дыхания [427]. Всего несколько работ посвящено анализу низкочастотных ритмов пульсационной оставляющей $\tilde{P}_{PPG}(t)$ [432]. Необходимо отметить монографию, вышедшую в 2021 году [417], в которой авторы отчасти закрыли существующий пробел.

В ограниченном количестве работ сравниваются сигналы $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$. Например, в работе [425], кровотоков в пальце человека измерялся комбинированным датчиком, включавшем в себя оба этих оптических метода для синхронной записи перфузии. Была выявлена высокая корреляция $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$. Также было показано, что после артериальной окклюзии $P_{LDF}(t)$ и осциллирующая часть $\tilde{P}_{PPG}(t)$ снижаются до нуля, при этом вначале изменяется $\bar{P}_{LDF}(t)$ и только потом в $\tilde{P}_{PPG}(t)$, что было подтверждено для различных физиологических проб [433]. Вазоконстрикторный ответ на ментальный стресс, глубокий вдох [424], электростимуляцию, зарегистрированный обоими методами имеет сходные черты. В некоторых случаях вазомоторный ответ более выражен в $P_{LDF}(t)$, в некоторых в $P_{PPG}(t)$. Детальное сравнение сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, измеренных датчиками различных конструкций, показало, что изменение свойств обоих сигналов в ответ на тепловое или холодное воздействие схоже [434]. Значительным преимуществом данной работы является использование одного и того же источника света, лазерного излучения, а различается только физический принцип регистрации сигнала. Было показано, что метод ЛДФ более чувствителен, чем ФПГ для регистрации вариации кожной перфузии. Помимо этого показано, что даже различные конструктивные особенности датчика ФПГ влияют на результаты измерений. В работе [310] изучался отклик системы микроциркуляции на глубокий вдох, регистрируемый двумя рас-

смаатриваемыми оптическими методами. В группе здоровых добровольцев была продемонстрирована временная задержка между минимумами сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, соответствующими максимальной вазоконстрикции. В качестве одной из возможных причин полученной разницы авторы отмечают то, что эти методы регистрируют кровотоки на различной глубине, что было использовано в [435]. В работе [18] показано, что фурье-спектры, полученные для сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ при длительном мониторинге качественно похожи, они повторяют друг друга особенно в низкочастотной области. На основании полученного результата автор сделал вывод о принципиальной возможности пересчёта одного спектра в другой и построения единого комбинированного прибора.

4.2. Экспериментальное исследование взаимосвязи сигналов, полученных методами лазерной доплеровской флоуметрии и фотоплетизмографии

Для изучения связи спектральных характеристик кожного кровотока, полученного путём измерения перфузии методами ФПГ и ЛДФ, были проведены билатеральные записи обоих сигналов у 12 некурящих здоровых мужчин (возраст 35 ± 3 лет). Исследование проводилось при контролируемых условиях окружающей среды (температура и влажность). Испытуемые находились в положении лежа на спине в расслабленном состоянии, было исключено потребление кофе как минимум за два часа до проведения исследования. Все добровольцы, принимавшие участие в исследовании, были ознакомлены с методами и целями исследования и подписали информированное согласие. Набор экспериментальных данных осуществлялся в Фримен Хоспитал, (г.Ньюкасл, Великобритания).

Перфузия ткани измерялась при помощи ЛДФ монитора (Moor Instruments FloLAB Server, UK), использовался лазер с длиной волны (780 нм). Датчик крепился при помощи двухстороннего липкого диска (Moor Instruments FloLAB Server, UK), что минимизировало попадание света извне, на подушечки указательных пальцев. Сигнал $P_{PPG}(t)$ записывался при помощи метода ФПГ в режиме отражения. Датчик (type 75333-5,

Artema, Дания) был присоединён при помощи ленты велкро (Artema black Velcro cuff) к подушечке безымянного пальца. Датчик крепился достаточно плотно, при этом было минимизировано сдавливание тканей [310]. Используемая лента велкро дополнительно защищала область исследования от внешних источников света. Специально сконструированный усилитель ФПГ сигнала с полосой пропускания 0.05–30 Нз усиливал сигнал пульсовой волны до уровня динамического диапазона записывающей системы. Данная система сбора экспериментальных данных была сконструирована ранее и подробно описана в работе [17]. Все данные записывались в течение 15 минут с частотой дискретизации 2 кГц.

4.2.1. Методика обработки экспериментальных данных

На Рис.4.3 представлены примеры записей перфузии $P_{LDF}(t)$ (Рис.4.3, а и в) и $P_{PPG}(t)$ (Рис.4.3, б и г) различной длительности. Видно, что оба метода надёжно регистрируют пульсовую волну, на обоих фрагментах записей 4.3 (а и б) отчётливо выделяются пульсации с частотой около 1 Гц, связанные с активностью сердца.

Рассмотрим результаты линейного корреляционного анализа $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$. Результаты расчёта корреляции Пирсона по каждому измерению для билатеральных пар сигналов $P_{LDF}(t)$ (LDF_{r-l}) $P_{PPG}(t)$ (PPG_{r-l}) и сигналов измеренных на одной конечности ($LDF_r - PPG_r$ и $LDF_l - PPG_l$) представлены в Таблице 4.1. Билатеральные сигналы демонстрируют значительную корреляцию: для измерений полученных методом ЛДФ она составляет 0.85 ± 0.03 , а ФПГ – 0.93 ± 0.01 . Корреляции сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ на одной конечности достаточно слабые (0.28 ± 0.02 и 0.25 ± 0.03 для правой и левой руки соответственно). Одной из возможных причин слабой корреляции двух оптических сигналов является наличие высокочастотного шума в сигнале $P_{LDF}(t)$, который значительно ослабляет коэффициент корреляции. Кроме того, при наличии временной задержки между $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$, коэффициент корреляции может значительно снижаться.

На рис. 4.4 показаны спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, усреднённые по 12 измерениям. Спектры сигналов, полученных с правой и левой

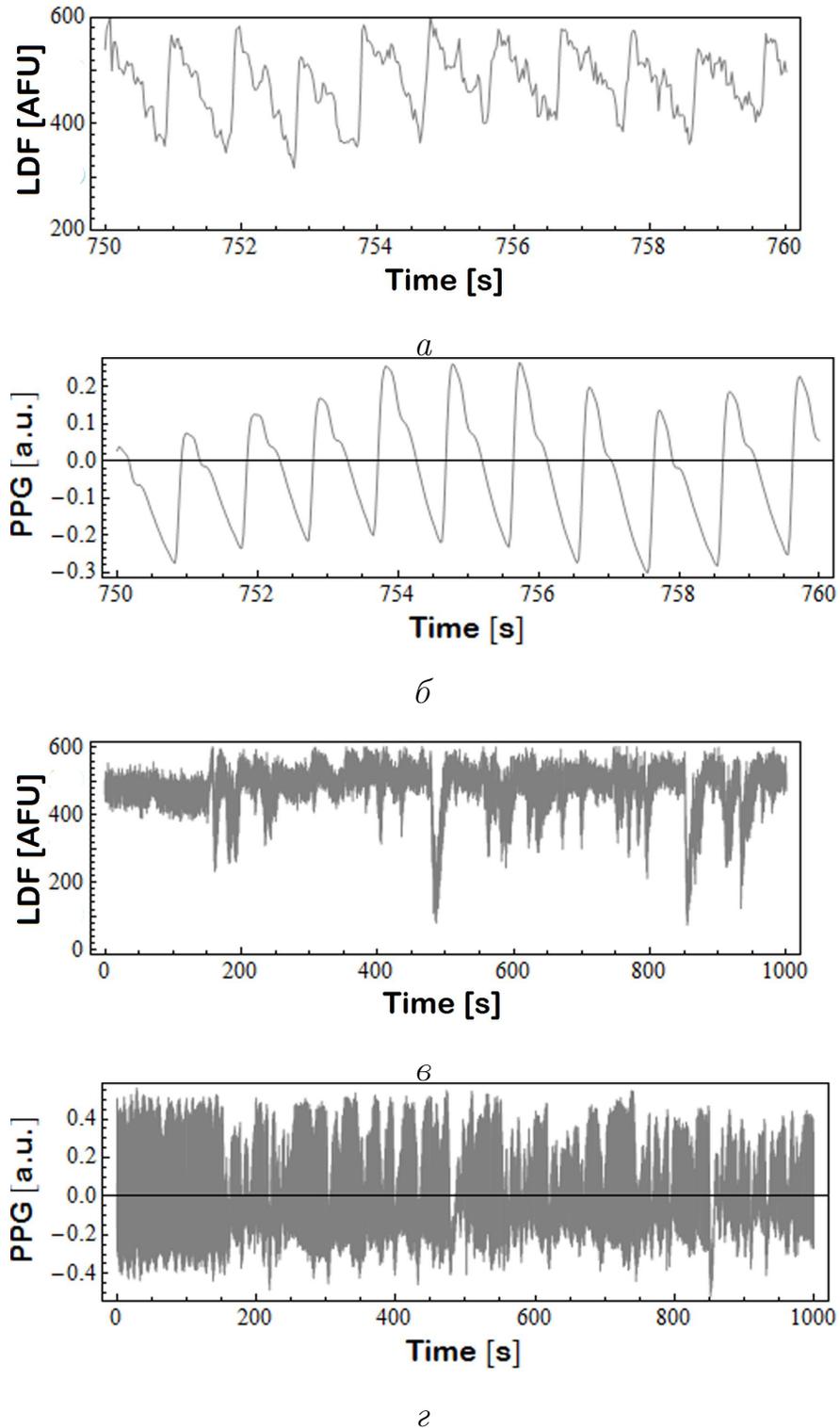


Рис. 4.3. Примеры синхронных записей $P_{LDF}(t)$ (а и в) и $P_{PPG}(t)$ (б и г). Сигналы на панелях а и б являются фрагментами сигналов, представленных на панелях в и г соответственно.

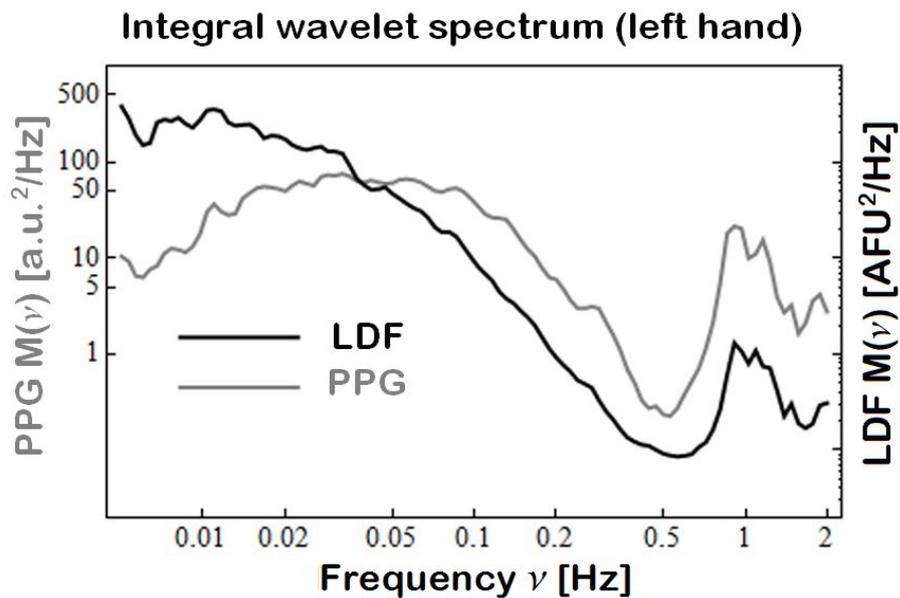
Таблица 4.1. Значение корреляций Пирсона для каждого испытуемого для билатеральных сигналов ЛДФ и ФПГ ($LDF_{(r-l)}$ и $PPG_{(r-l)}$) пар сигналов ($LDF_r - PPG_r$ и $LDF_l - PPG_l$), полученных на одной конечности.

Испытуемый	Возраст (лет)	$LDF_{(r-l)}$	$PPG_{(r-l)}$	LDF_r $-PPG_r$	LDF_l $-PPG_l$
1	28	0.91	0.81	0.38	0.47
2	50	0.94	0.96	0.41	0.34
3	27	0.74	0.95	0.26	0.10
4	44	0.78	0.97	0.25	0.19
5	43	0.85	0.94	0.25	0.19
6	47	0.89	0.94	0.32	0.31
7	37	0.97	0.87	0.18	0.18
8	32	0.82	0.91	0.34	0.26
9	40	0.95	0.94	0.27	0.22
10	28	0.79	0.94	0.25	0.27
11	30	0.7	0.95	0.27	0.18
12	18	0.88	0.93	0.14	0.29
Среднее	35	0.85	0.93	0.28	0.25
СКО	3	0.03	0.01	0.02	0.03

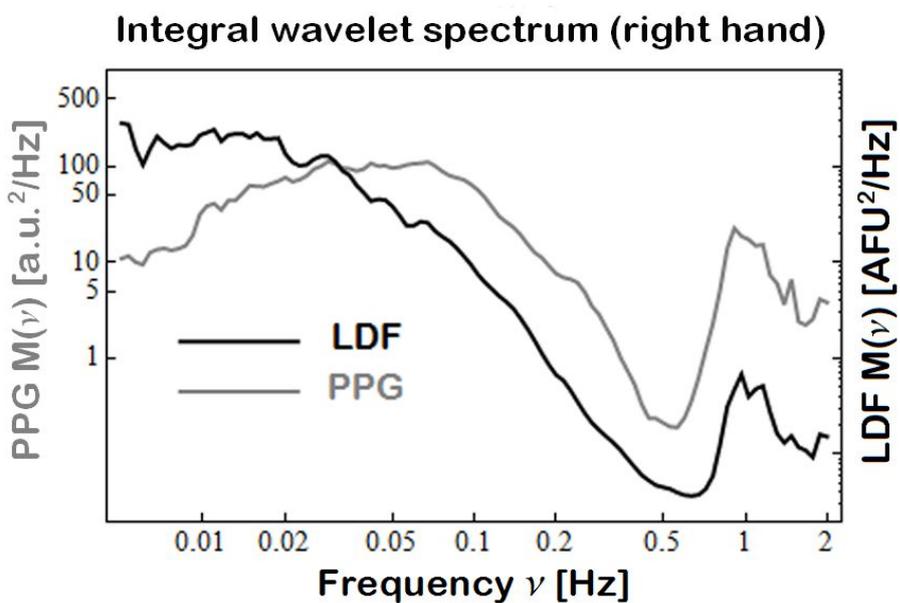
рук одинаковыми методами, полностью совпадают. Ниже частоты 0.1 Гц спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ схожи, однако, видно, что на низких частотах спектр $P_{PPG}(t)$ лежит значительно ниже. Скорее всего, такое расхождение вызвано наличием встроенных фильтров, поскольку, как было сказано в разделе 4.1, в изготавливаемых коммерчески фотоплетизмографах основное внимание уделяется визуализации и определению параметров пульсовой волны (форме, ЧСС и т.д.), соответственно, низкочастотный сигнал, как и высокочастотный шум подавляются измерительной схемой.

Почастотная вейвлет-корреляция сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ показана на Рис. 4.5. Билатеральные $P_{PPG}(t)$ сигналы (Рис. 4.5) имеют высокое значение вейвлет-корреляции на всем частотном диапазоне. Уменьшение до значения 0.75 наблюдается только на частотах порядка 0.5 Гц. Отметим, что в этом диапазоне частот на спектрах $P_{PPG}(t)$ сигналов наблюдается глобальный минимум, то есть в этом диапазоне частот отсутствуют собственные колебания и источник энергии в спектре связан с влиянием общего фона шумов. Билатеральные сигналы $P_{LDF}(t)$ менее коррелированы, чем $P_{PPG}(t)$. По всей видимости это вызвано наличием более высокого уровня шума в $P_{LDF}(t)$ сигналах чем в $P_{PPG}(t)$, который разрушает корреляции. Более того, в $P_{LDF}(t)$ сигнал больший вклад вносят локальные факторы регуляции кровотока, чем в сигнал $P_{PPG}(t)$. Для сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, полученных на одной конечности, (Рис. 4.6) было установлено, что высокочастотные шумы в $P_{LDF}(t)$ ослабляют корреляцию, однако в интересующей полосе частот ($\nu \in (0.1 - 0.01)$ Гц) сигналы $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ коррелированы $C(\nu) > 0.7$.

На Рис. 4.7 представлен сдвиг фаз между теми же парами сигналов. В билатеральных парах подобных сигналов сдвиг фаз на всех частотах близок к нулю Рис. 4.7а. Осцилляции $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ находятся в фазе на частоте ЧСС, при уменьшении частоты обнаруживается устойчивый сдвиг фаз между сигналами, при этом величина сдвига зависит от частоты (чем ниже частота, тем больше сдвиг фаз) Рис. 4.7б. Сигнал $P_{PPG}(t)$ отстаёт от сигнала $P_{LDF}(t)$, и он обратно пропорционален частоте в диапазоне частот 0.05-0.3 Гц. Верхний предел (0.3 Гц) близок к частоте дыхания, нижний же скорее всего связан с аппаратной фильтрацией метода ФПГ. Полученные

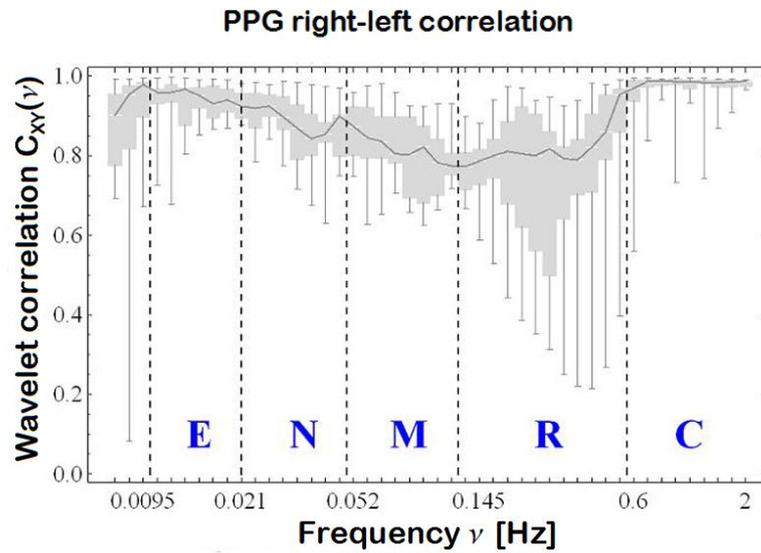


a

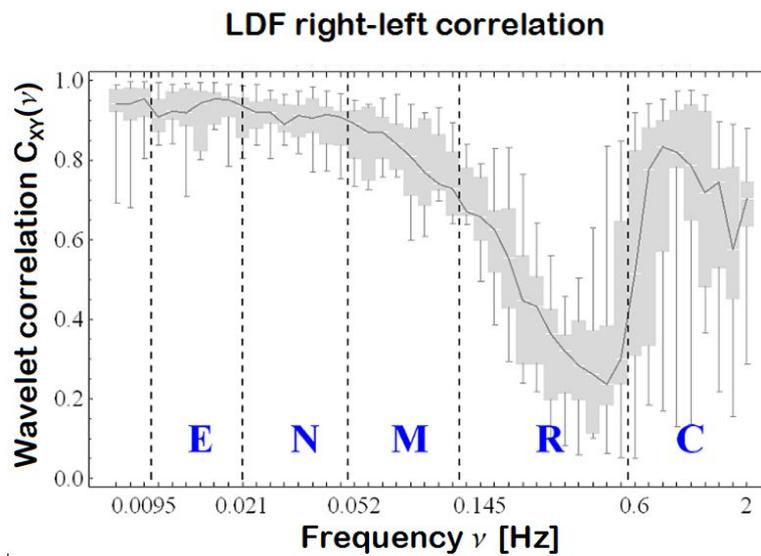


б

Рис. 4.4. Усредненный по всей группе вейвлет-спектр сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, полученных на левой (а) и правой (б) конечности.

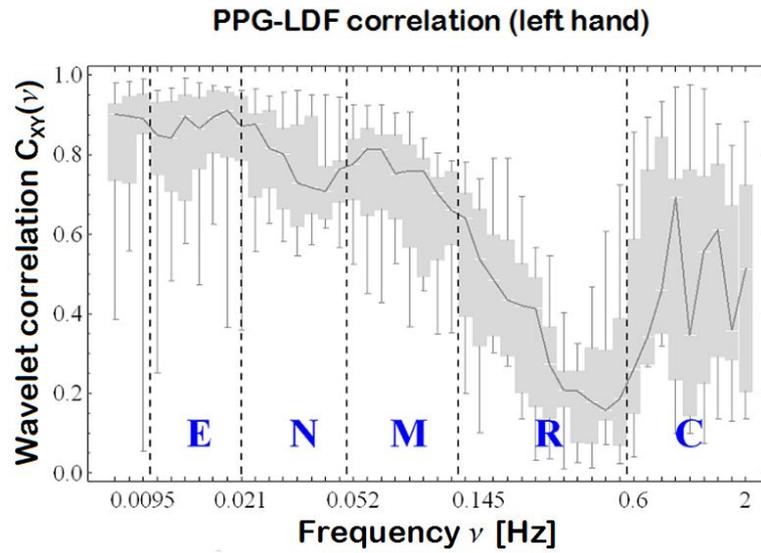


a

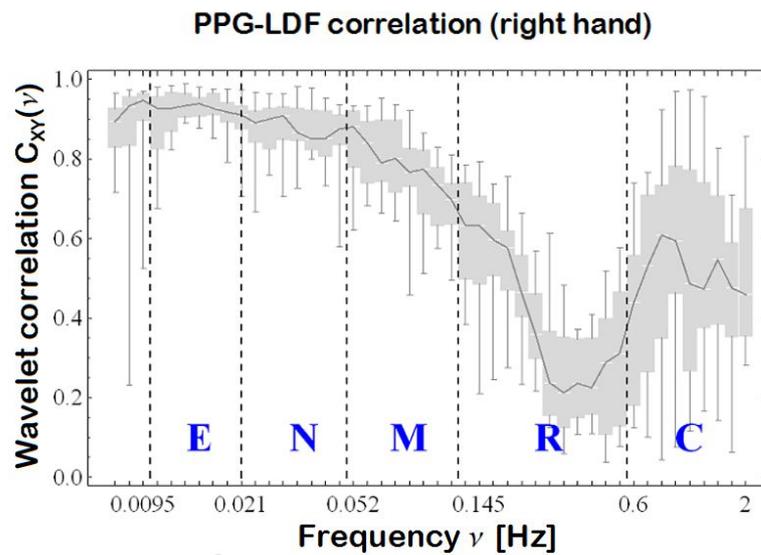


б

Рис. 4.5. Диаграмма размаха для вейвлет-корреляций билатеральных сигналов $P_{PPG}(t)$ (а) и $P_{LDF}(t)$ (б). Серая штриховка показывает интервал между 1 и 3 квартилем.

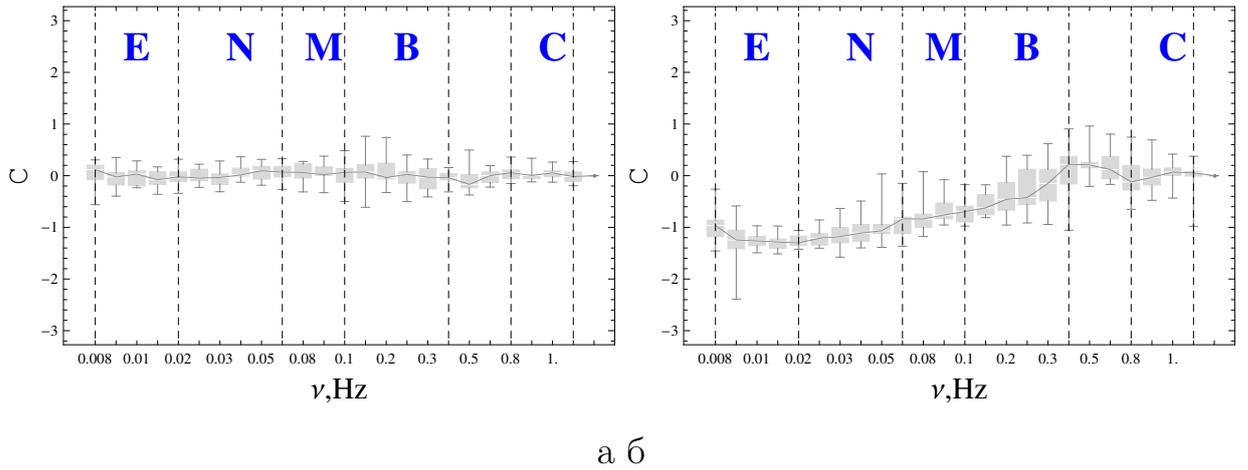


a



б

Рис. 4.6. Диаграмма размаха для вейвлет-корреляций сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ на левой *a*) и правой (*б*) руках. Серая штриховка показывает интервал между 1 и 3 квартилем.



а б

Рис. 4.7. Диаграмма размаха для фазового сдвига $\Delta\phi(\text{rad})$, рассчитанного по формуле (1.10). Серым заштрихована разница между 1 и 3 квартилем. Представлены фазовые сдвиги между билатеральными сигналами ($LDF_r - LDF_l$) (а), и сигналами записанными на одной конечности ($PPG_l - LDF_l$) (б). Аналогичные характеристики для пар сигналов $PPG_r - PPG_l$, $PPG_l - LDF_l$ полностью повторяют структуру представленных графиков.

соотношения можно пересчитать в зависимость времени (δT) задержки от периода пульсаций (T) (Рис. 4.8). Полученный в полулогарифмах ($\phi(\nu)$) линейный закон близок к параболической зависимости ($\delta t \sim T^2$). При исследовании фазового сдвига можно сформулировать вывод о том, что низкочастотные пульсации $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ смещены во времени. Волна $P_{PPG}(t)$ находится позади волны $P_{LDF}(t)$, и задержка увеличивается с увеличением периода пульсации.

Для физиологов, проводящих исследования в области регуляции сосудистого тонуса по данным спектрального анализа результатов мониторинга пульсаций кровотока большую ценность представляет связь спектральной энергии в различных частотных диапазонах, характеризующая механизмы регуляции сосудистого тонуса. Такие результаты приведены в Таблице 4.2. Показано, что во всех частотных диапазонах корреляция билатеральных сигналов $P_{PPG}(t)$ достаточно высока (>0.7), в то время как билатеральные сигналы $P_{LDF}(t)$ в диапазоне частот, связанных с дыханием, показывают умеренную корреляцию. Пары сигналов $P_{PPG}(t)-P_{LDF}(t)$ имеют высокую корреляцию в области низких частот, которые соответствуют миогенному, нейрогенному и эндотелиальному механизмам регуляции сосудистого то-

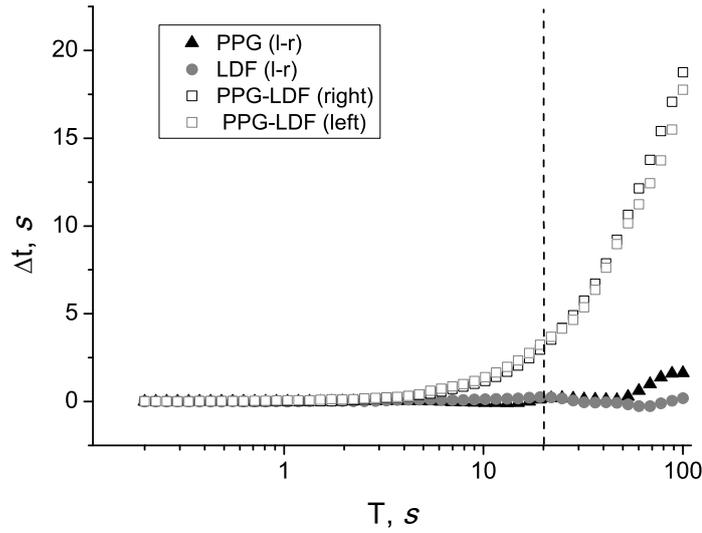


Рис. 4.8. Зависимость сдвига фаз $\Delta\phi(\text{rad})$ сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ от периода колебаний.

нуса. Величины средних сдвигов фаз представлены в Таблице 4.3.

В данном разделе показано, что колебательные компоненты сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ имеют достаточно высокую корреляцию. Обнаруженный результат создаёт предпосылки для перенесения методики почастотного анализа перфузии, полученной методом ЛДФ, на аналогичные записи, полученные методом ФПГ. Такая возможность впервые была предсказана в работе [436], в целом результаты согласуются с полученными другими исследователями [16, 18, 437]. В обзоре Свейна 1989 года [438] подчёркивается: “каждый метод исследования кожной микроциркуляции действи-

Таблица 4.2. Вейвлет-корреляция пульсаций кровотока $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ в различных частотных диапазонах. Результаты представлены в виде $\text{среднее} \pm \text{стандартное отклонение}$.

частота	$LDF_{(r-l)}$	$PPG_{(r-l)}$	$PPG_r - LDF_r$	$PPG_l - LDF_l$
Кардио	0.49 ± 0.30	0.88 ± 0.18	0.40 ± 0.24	0.37 ± 0.27
Дыхание	0.56 ± 0.20	0.77 ± 0.14	0.52 ± 0.18	0.46 ± 0.20
Миогенный	0.85 ± 0.09	0.84 ± 0.09	0.81 ± 0.09	0.73 ± 0.14
Нейрогенный	0.92 ± 0.05	0.91 ± 0.07	0.89 ± 0.07	0.81 ± 0.14
Эндотелиальный	0.93 ± 0.06	0.93 ± 0.10	0.91 ± 0.10	0.84 ± 0.16

Таблица 4.3. Средний сдвиг фаз $\Delta\phi(\text{rad})$ сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$.

частота	$LDF_{(r-l)}$	$PPG_{(r-l)}$	$PPG_r - LDF_r$	$PPG_l - LDF_l$
Кардио	-0.01 ± 0.24	0.09 ± 0.22	-1.12 ± 0.25	-0.94 ± 0.38
Дыхание	0.0 ± 0.18	0.03 ± 0.22	-0.95 ± 0.26	-0.86 ± 0.37
Миогенный	0.09 ± 0.21	-0.02 ± 0.23	-0.58 ± 0.28	-0.60 ± 0.28
Нейрогенный	0.05 ± 0.22	0.06 ± 0.16	-0.24 ± 0.26	-0.17 ± 0.23
Эндотелиальный	0.04 ± 0.19	0.00 ± 0.10	-0.05 ± 0.20	-0.04 ± 0.20

тельно имеет некоторые преимущества, и при использовании комбинации методов будет достигнуто лучшее понимание и оценка кровотока в коже”. Характеристики связи между результатами, полученными двумя оптическими методами ЛДФ и ФПГ, могут дать дополнительную информацию о свойствах сосудов, при этом интерес представляют исследования не только в базальных условиях, но и при проведении функциональных проб.

4.3. Измерение времени распространения пульсовой волны.

Цепочка физиологических реакций, происходящих при глубоком вдохе, описана в разделе 1.7.4. Известно, что дыхание вызывает ярко выраженные и воспроизводимые изменения формы волны, регистрируемые методом ФПГ [439–442]. В частности, после глубокой задержки дыхания значительно уменьшается амплитуда пульсовых волн в сигнале $P_{PPG}(t)$, и вследствие последовательных вазоконстрикторных и вазодилатационных эффектов отмечаются низкочастотные колебания кровотока [310]. Такие изменения значительно осложняют автоматическую идентификацию волн в сигнале $P_{PPG}(t)$ и определения их геометрических характеристик, которые используются для диагностики различных патологических состояний [443].

Одной из задач, которая часто решается при использовании метода ФПГ – это определение времени распространения пульсовой волны (в англоязычной литературе используется термин *pulse arrival time* - *PAT*) от сердца до периферии. Как правило, время *PAT* вычисляется как задержка между R-пиком на электрокардиограмме и до начала диастолической

фазы на $P_{PPG}(t)$ [444]. PAT обратно пропорционально скорости распространения пульсовой волны [445], оценка этих величин предлагается как неинвазивный метод оценки жёсткости артерий [446, 447]. Время распространения пульсовой волны имеет перспективы использования в целом ряде клинических приложений, а именно, изучения дыхания во время сна, функции сердца, гипертензии [448]. Определение времени PAT значительно осложнено при проведении функциональных проб, в том числе в пробе с дыханием. Дыхание вызывает вазоконстрикцию мелких сосудов, что, как следствие, приводит к появлению крупномасштабного тренда в периферических сигналах, и, как следствие, к значительной ошибке определения начала диастолической фазы пульсовой волны на периферии. Одним из наиболее точных методов определения начала диастолической фазы признан метод секущих (intersecting tangent method) [449]. Основная цель этого пилотного исследования состояла в том, чтобы оценить целесообразность использования вейвлет-анализа для характеристики изменений формы сигнала ЭКГ и $P_{PPG}(t)$ в ответ на задержку дыхания и количественно оценить эти изменения в терминах PAT . Проводимый дыхательный тест вслед за англоязычными работами будем обозначать как *DIG* - deep inspiratory gasp.

4.3.1. Методика эксперимента

В исследовании приняли участие 15 здоровых молодых мужчин возраста 34 ± 10 лет. Все испытуемые не курили и не имели историю курения, не принимали никакие медикаменты. Каждый испытуемый дал письменное информированное согласие о цели и задачах исследований [310]. Измерительная система позволяла синхронно записывать ЭКГ, $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$. Сигналы $P_{PPG}(t)$ были получены с ладонной поверхности дистальной фаланги правого безымянного пальца при помощи датчика ФПГ, работающего в режиме отражения (модель 75333-5, Artema, Дания). Датчик надёжно, без сдавливания тканей, крепился манжетой Artema black Velcro (Allenet al2002), которая также уменьшала свет от внешних источников света. Встроенный усилитель (полоса пропускания 0.05-30 Гц) изменял амплитуду сигнала ФПГ так, чтобы максимально использовать динамический

диапазон записывающей системы. Сигнал $P_{PPG}(t)$ был записан в память компьютера с частотой дискретизации 1 кГц. Одновременно записывался сигнал ЭКГ. Запись $P_{LDF}(t)$ проводилась при помощи ЛДФ монитора Moor-VMS по методике, описанной в разделе 4.1.

Всех испытуемых просили воздержаться от физических упражнений, обильного приёма пищи и кофеина в течение 2 часов до начала исследования, чтобы свести к минимуму любое возможное влияние на микроциркуляцию крови. Все измерения были проведены при контролируемых условиях в лаборатории при температуре $26.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Более того, для того, чтобы стабилизировать периферическую температуру и предотвратить возникновение спонтанных сосудосуживающих явлений контралатеральная конечность помещалась в ванночку с тёплой водой с температурой $(40-42)^\circ\text{C}$ [310]. Такое не прямое нагревание тела вызывает центральные рефлекс вазодилатации запускаемые, когда тёплая кровь, возвращающаяся с периферии, достигает гипоталамуса, тем самым повышая температуру ядра. Все участники эксперимента удобно сидели на протяжении всего процесса измерений, их правая рука, на которой проводились измерения, была расслаблена и поддерживалась на подушке, расположенной на высоте, близкой к уровню сердца. Датчик ФПГ был прикреплен к безымянному пальцу этой руки. Затем участники эксперимента помещали контралатеральную конечность в водяную ванночку, в течение 10 минут проходила акклиматизация и далее записывали сигналы $P_{PPG}(t)$ и ЭКГ. Тест с глубокой задержкой дыхания состоял из быстрого глубокого вдоха, на вершине вдоха испытуемые удерживали воздух в течение 2 с, и далее возвращались к нормальному спокойному дыханию. Всех участников эксперимента просили расслабиться и держать обе руки неподвижно на протяжении всей записи. Каждое измерение длилось в общей сложности 350 с, при этом тест с глубоким вдохом выполнялся на 90, 180 и 270 с секундах.

На Рис. 4.9 показаны характерные записи сигналов ЭКГ и $P_{PPG}(t)$, дыхательный тест начинается на 90-й секунде. Видно, что через некоторое время после начала теста происходит изменение ЧСС (уменьшение RR интервалов на ЭКГ), уменьшается периферический кровоток и амплитуда пульсовой волны на периферии. После нормализации дыхания постепенно

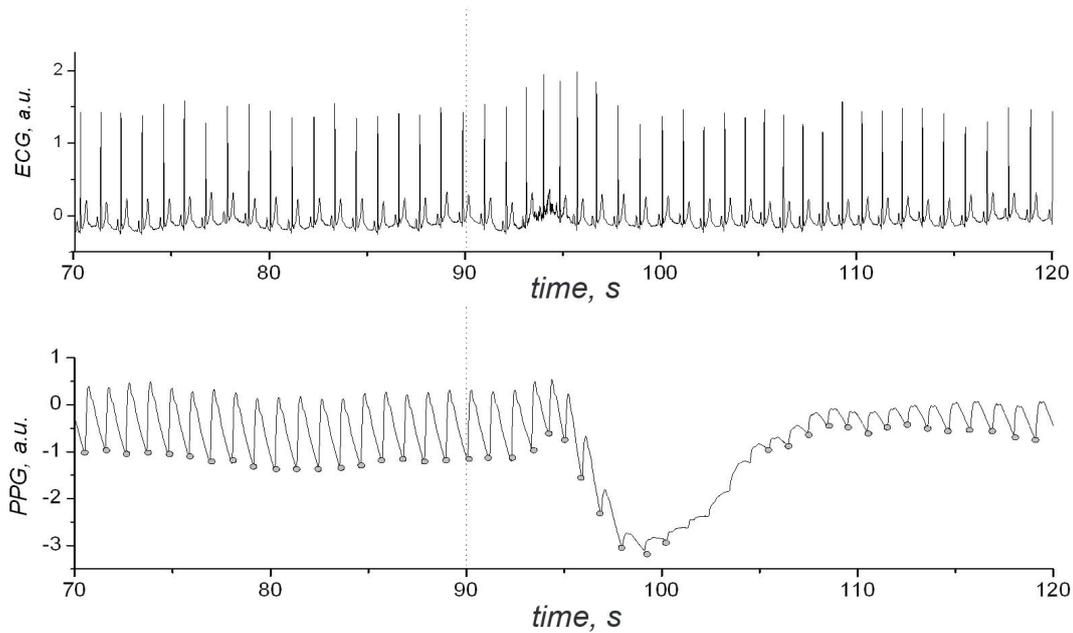


Рис. 4.9. Пример записи сигналов ЭКГ (а) и $P_{PPG}(t)$ (б), во время теста с задержкой дыхания, которая начинается с 90 секунды (начало отмечено вертикальной пунктирной линией). Начала систолической фазы на $P_{PPG}(t)$, обведены кружком только там, где они могли бы быть надёжно вычислены с помощью метода пересекающихся касательных; для большинства пульсовых волны во время DIG этот алгоритм не смог надёжно вычислить начало систолического импульса из-за его низкой амплитуды.

параметры микрокровотока возвращаются в норму. Этот процесс достаточно хорошо описан в работе [17]. Изменения частоты в ответ на подобный физиологический тест может быть продемонстрировано при помощи вейвлет-спектрограммы Рис. 4.10.

Для расчёта времени распространения пульсовой волны используются различные алгоритмы определения начала диастолической фазы периферической пульсовой волны, в данной работе реализован метод секущих (intersecting tangents). Кружками на Рис.4.9 б показаны точки, для которых можно определить начало диастолической фазы. Видно, что в районе сотой секунды есть кардиоволны, для которых такой алгоритм не работает.

Для определения доминирующей частоты можно воспользоваться двумя методами, один из них определение максимумов вейвлет-коэффициентов в каждый момент времени, однако, в случае $P_{PPG}(t)$ после вдоха максимум достаточно сложно определяется. Фаза вейвлет-коэффициентов (Рис. 4.10) позволяет точнее определить доминирующую частоту (Рис. 4.11). Важно отметить, что частота, определённая по вейвлет-коэффициентам, имеет высокий коэффициент корреляции с аналогичной характеристикой, определённой по RR интервалам (коэффициент линейной корреляции Пирсона, осредненный по 15 измерениям составляет 0.98, IQR – 0.89-0.99).

Механизмы, отвечающие за изменение ЧСС при дыхании, связаны с барорефлекторной системой управления. Дыхательная проба, связанная с глубокой задержкой дыхания, может вызвать заметные кратковременные изменения в кровообращении кожи наряду с изменениями ЧСС и параметров центральной гемодинамики. В целом, полученный результат, связанный с обнаруженным заметным увеличением ЧСС, согласуется с ранее полученным результатом [450]. Уменьшение средних значений $\bar{P}_{PPG}(t)$ связано с вазоконстрикторным рефлексом, впервые описанным в работе [311], где было показано, что кожная вазоконстрикция происходит в пальцах с интактной периферической симпатической иннервацией, в то время как она отсутствует после денервации и десимпатизации. В работе [310] было продемонстрировано значительное снижение кожного кровотока во время глубокой задержки дыхания, кровотока, измеренный при помощи метода ЛДФ, уменьшился на 93%. Также в этой работе было отмечено уменьшение амплитуды пульсовой волны, измеренной методом ФПГ, и температуры кожи. Капиллярскопия ногтевого ложа также показала быстрое снижение скорости кровотока во время данного теста [451–453]. Необходимо отметить, что до конца последовательность рефлексов возникающих при глубоком вдохе не изучена.

Рассмотрение фазового сдвига имеет корректное физическое определение только на локально-доминирующей частоте [348]. Физиологическое значение локальной доминирующей частоты ν_d определено и имеет непосредственное отношения к величине PAT . PAT может быть рассчитан из

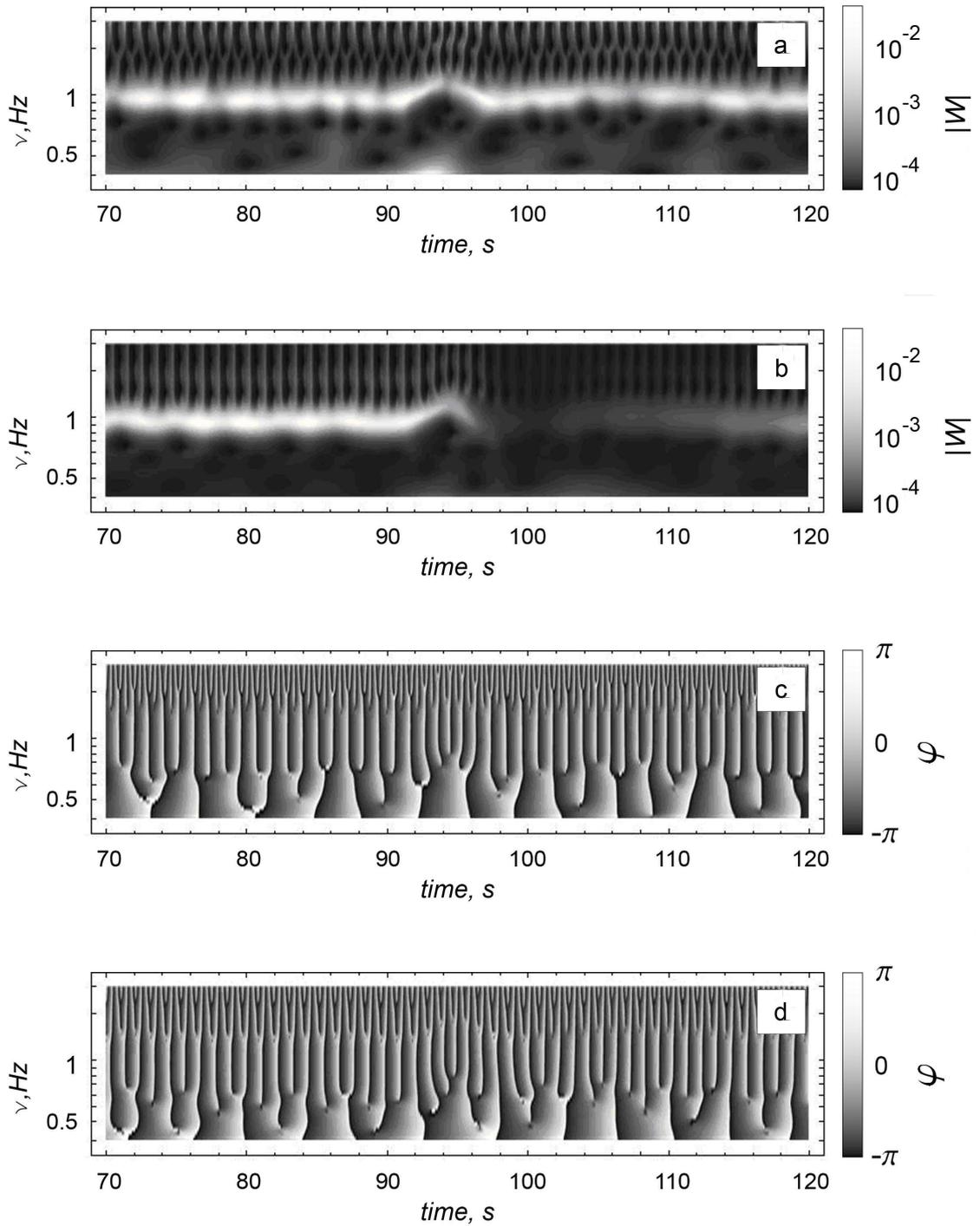


Рис. 4.10. Вейвлет-спектрограммы (*a* и *b*) и фазы (*c* и *d*) вейвлет-коэффициентов для сигналов ЭКГ (*a* и *c*) и ФПГ (*b* и *d*)

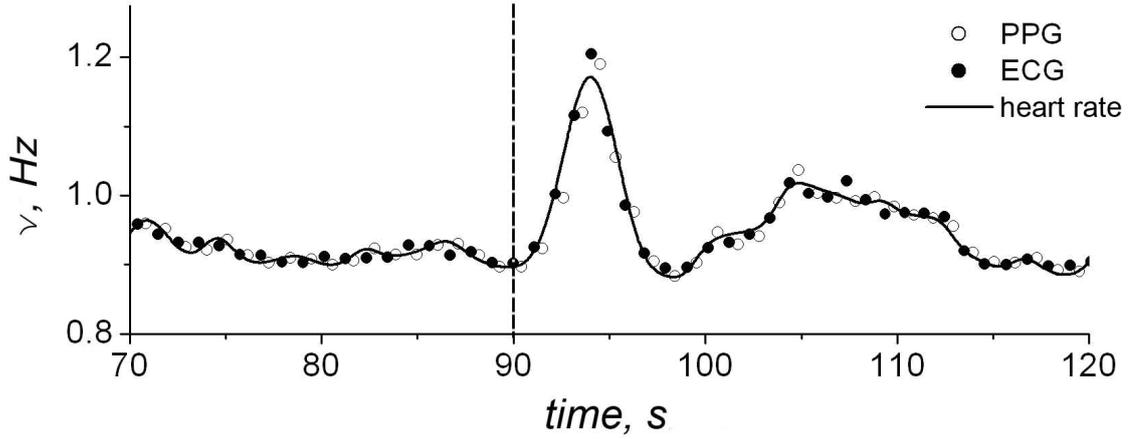


Рис. 4.11. Изменение доминирующей частоты со временем, полученное из вейвлет-коэффициентов сигналов ЭКГ и ФПГ. Отметим, что ЧСС, определённая из максимума модулей вейвлет-коэффициентов сигнала ЭКГ (закрашенные круги) и $P_{PPG}(t)$ (незакрашенные круги), коррелирует с ЧСС, полученных из RR интервалов (сплошная линия). Начало дыхательного теста происходит на 90-й секунде и отмечено вертикальной штриховой линией.

сдвига фаз между сигналами ЭКГ и $P_{PPG}(t)$ на доминирующей частоте, которая соответствует ЧСС, следующим образом:

$$PAT(\tau) = \frac{\Delta\phi(\nu_d, \tau)}{2\pi\nu_d} \quad (4.1)$$

На Рис. 4.12 показана эволюция $PAT(t)$ во время проведения дыхательного теста для данных представленных на Рис.4.9, рассчитанная двумя методами. Результаты согласуются, систематическое превышение времени, посчитанное при помощи вейвлет-разложения вызвано тем, что рассчитываются разные величины. Помимо представленного результата на графике присутствует интересная особенность величины $PAT(t)$ – ее дыхательная модуляция.

Поскольку для каждого индивида время PAT различно, то для получения статистики в группе можно ввести безразмерную величину, описывающее относительное изменение PAT :

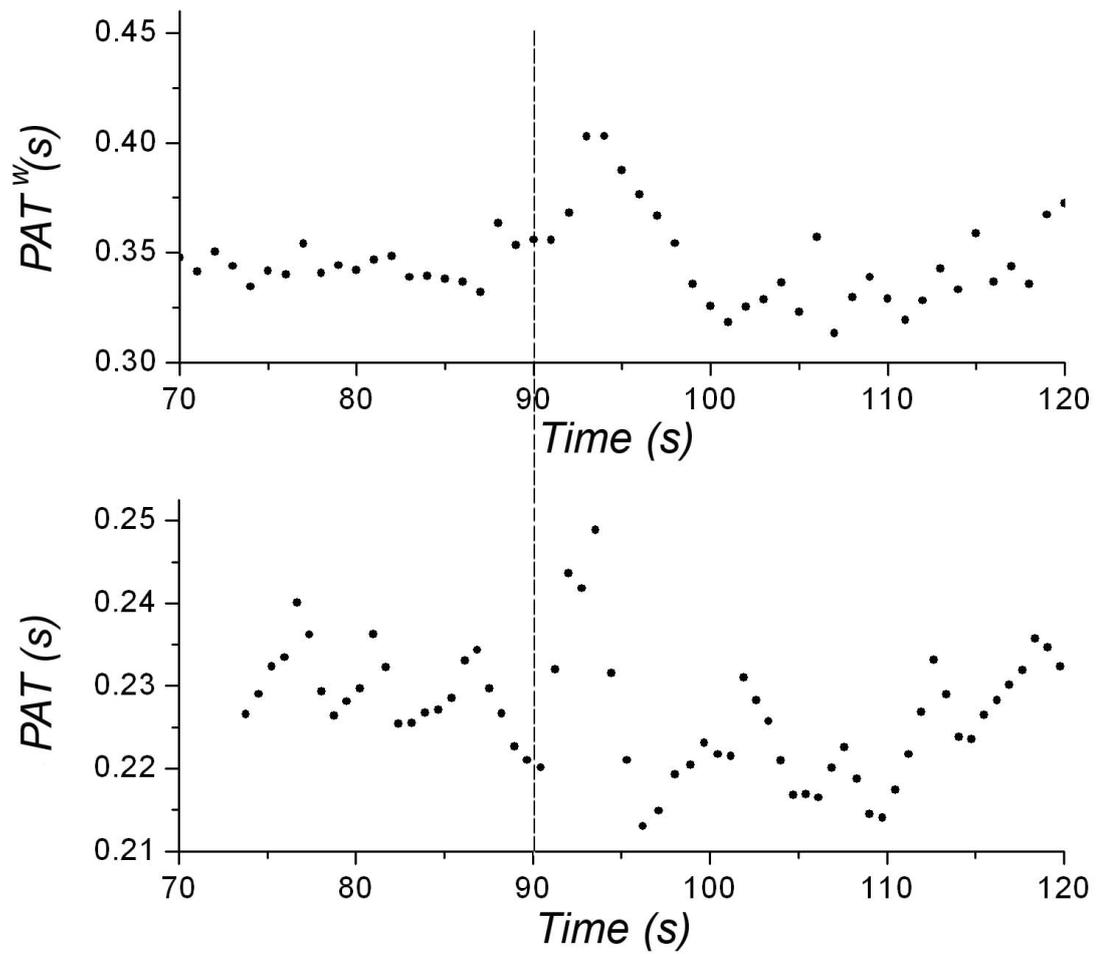


Рис. 4.12. Время распространения пульсовой волны определенное двумя методами: методом секущих (а) и при помощи вейвлет анализа (б)

Таблица 4.4. Статистические характеристики вариации PAT при тесте с задержкой дыхания. PAT_{mean} , PAT_{max} , PAT_{min} - среднее, максимальное и минимальное значения величины PAT в двух интервалах времени: 60 с до начала дыхательного теста (QB) и в течение 10 с во время максимального изменения величины PAT . Среднее \pm СКО - получено усреднением по 3 дыхательным тестам и 15 наблюдаемым, Δ - разница соответствующих величин во время спокойного дыхания и дыхательного теста.

	PAT_{mean}		PAT_{max}		PAT_{min}	
	QB	DIG	QB	DIG	QB	DIG
Среднее \pm СКО (мс)	359 \pm 83	367 \pm 81	401 \pm 82	460 \pm 106	324 \pm 89	286 \pm 98
Δ =DIG-QB(мс)	8 \pm 13		59 \pm 59		-38 \pm 55	
$n(\Delta > 0)$	11		15		3	
P-value	<0.05		0.001		<0.01	

$$Q(\tau) = \frac{PAT(\tau) - \langle PAT(\tau) \rangle}{\langle PAT(\tau) \rangle}, \quad (4.2)$$

где $\langle PAT(\tau) \rangle$ среднее значение величины $PAT(t)$ до проведения дыхательного теста, усредненное по интервалам (А)30–90 с (В) 120–180 с и (С) 210–270 с. На Рис. 4.13 представлена усредненная по группе зависимость $Q(\tau)$.

Изменение величины $Q(\tau)$, вызванное глубокой задержкой дыхания, имеет две выраженных фазы. Вначале $Q(\tau)$ увеличивается, далее значение становилось меньше среднего времени PAT в базальных условиях, и по истечении порядка 20 с PAT возвращалось к начальным условиям (Рис. 4.13). Положительный пик $Q(\tau)$ определяется более надёжно, чем последующий отрицательный.

Результаты изменений PAT приведены в Таблице 4.4. Для сравнения были использованы средние значения во время спокойного дыхания и через 10 с после начала дыхательного теста (время максимального отклика). Было выявлено достоверное ($p < 0.05$, определённое по критерию Вилкоксона для парных данных) увеличение PAT на 8 ± 13 мс во время дыхательного теста, результат воспроизводился во время трёх последовательных тестов.

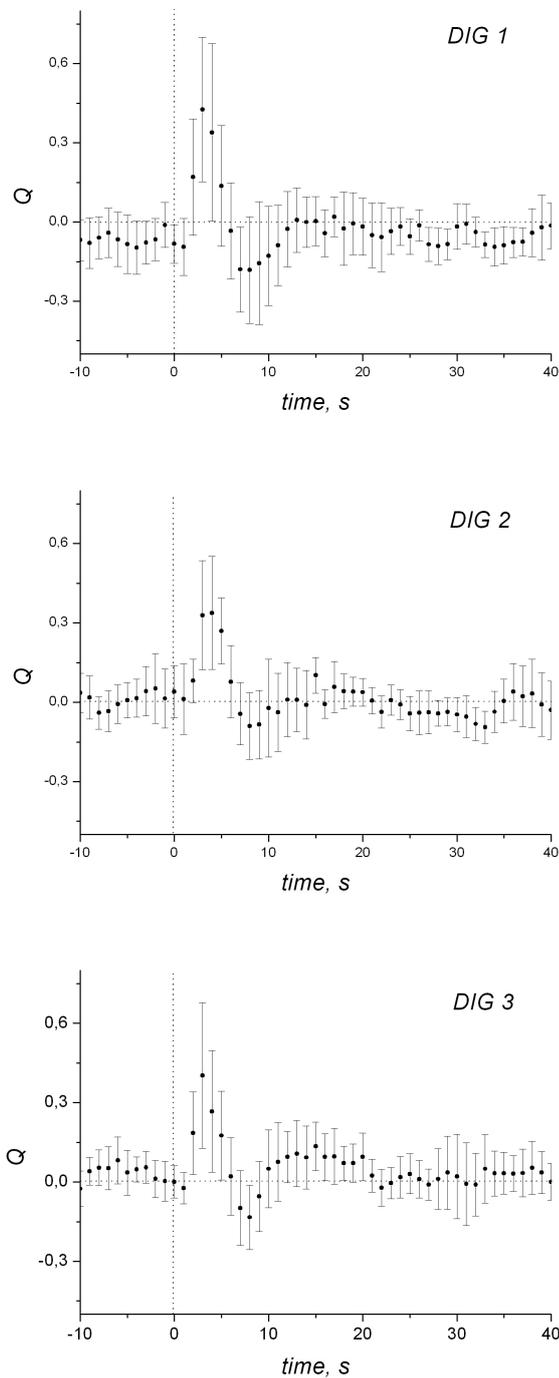


Рис. 4.13. Эволюция $Q(\tau)$ для трёх последовательных дыхательных тестов (1, 2 и 3). Показано общее среднее значение (круг) и стандартная ошибка среднего значения для $Q(\tau)$. Вертикальными пунктирными линиями отмечено начало каждого дыхательного теста ($\tau = 0$).

Отметим, что максимальное изменение величины $PAT(t)$ обнаружено примерно через 3 с после начала вдоха, что скорее всего связано с временной задержкой изменения RR интервала и изменением времени прохождения пульсовой волны при медленном темпе дыхания (~ 0.1 Гц) равное порядка 3.2 ± 0.8 RR интервала [454]. Минимум величины $PAT(t)$ совпадает с минимумом сигнала $P_{PPG}(t)$ (7-8 с после начала вдоха). Изменение времени $PAT(t)$, по всей видимости, связано с непродолжительным изменением жёсткости крупных артериальных сосудов. Известно, что время PAT зависит от артериального давления, повышение тонуса крупных сосудов приводит к уменьшению PAT , и наоборот, его ослабление к увеличению PAT [446].

4.4. Связь кровотока, регистрируемого методами ЛДФ и ФПГ во время теста с глубокой задержкой дыхания

В разделе 4.2 было показано, что сигналы $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ имеют высокую корреляцию колебательных компонент на частотах 0.01-01 Гц и на частоте кардиоритма. Целью данного раздела является изучения связи пульсовых волн, регистрируемых методами ЛДФ и ФПГ, при задержке дыхания (тест *DIG*). Методика проведения теста и группа обследованных описаны в Разделе 4.3.1, примеры сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ приведены на Рис. 4.14. Для изучения взаимосвязи пульсовых волн применён алгоритм, описанный Разделе 4.3.1. Характерная зависимость сдвига фаз от времени на частоте близкой к ЧСС для эксперимента (Рис. 4.9) представлена на Рис. 4.15. Можно отметить, что в нативных условиях сигналы находятся в фазе, с небольшой вариацией разности фаз $\Delta\phi$, при проведении дыхательного теста с глубокой задержкой дыхания сдвиг фаз увеличивается. Оценим среднее значение $\Delta\phi$ во время спокойного дыхания и теста *DIG* для данного примера (Рис. 4.16, а). Усреднив по всей выборке измерений (Рис. 4.16, б) получаем, что при глубоком вдохе обнаруживается устойчивое, воспроизводимое, статистически значимое изменение сдвига фаз.

При интерпретации этого результата необходимо принять во внимание, что в сигнал, измеряемый методом ЛДФ, значительный вклад вно-

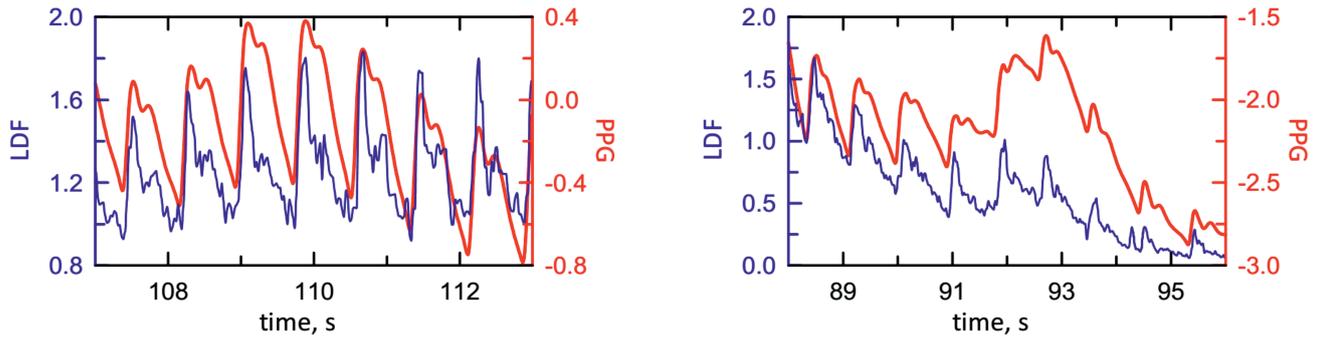


Рис. 4.14. Характерные примеры сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ в нативных условиях (слева) и во время задержки дыхания (справа)

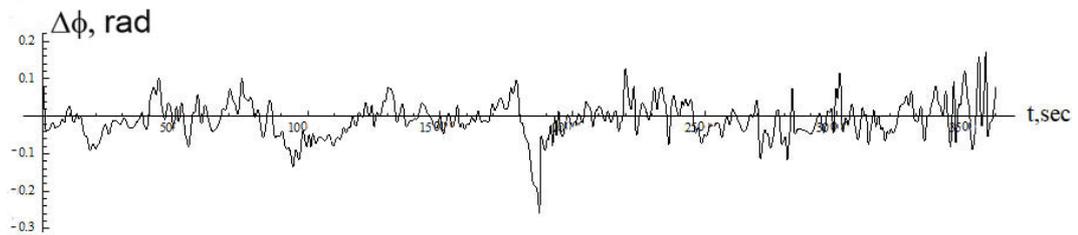


Рис. 4.15. Эволюция сдвига фаз сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ (Рис. 4.9) во времени на частоте сердечных сокращений

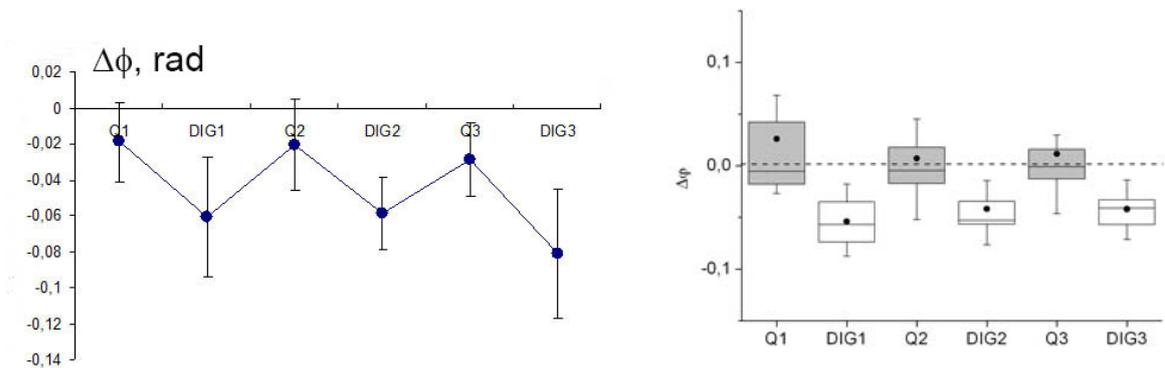


Рис. 4.16. Слева характерный сдвиг фаз на частоте близкой к ЧСС $\Delta\phi$ между сигналами $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ во время спокойного дыхания (Q1, Q2, Q3) и трёх последовательных дыхательных тестов $DIG1$, $DIG2$, $DIG3$. Справа диаграмма размаха для сдвига фаз во время спокойного дыхания и дыхательных тестов построенная по всей выборке.

сит скорость кровотока, а метод ФПГ – количество эритроцитов в диагностическом объёме. Таким образом, зарегистрирован сдвиг фаз между линейной и объёмной скоростью кровотока. Полученный экспериментальный результат лёг в основу теоретического исследования [455], в которой была построена редуцированная модель и развито аналитическое описание гемодинамики в кровеносных сосудах. В приведённой работе сделан вывод о том, что важной особенностью кровеносной системы как волновода является то, что ее параметры изменяются на порядки на масштабах, сравнимых с длиной волны скорости течения, запускаемой сердцем. Для произвольного волновода в такой ситуации следовало бы ожидать существенное отражение волны, в него поступающей, и невысокую эффективность проникновения волны в периферийную систему. Хотя в поведении системы достоверно отслеживается наличие отражений волны от зоны бифуркации аорты, это отражение не так велико, как могло бы быть, и, по-видимому, свойства системы близки к таким, которые обеспечивают минимальное отражение. На этом основании естественно предположить приблизительную безотражательность кровеносной системы как волновода. Безотражательность волновода с распределёнными параметрами требует согласованного изменения этих параметров, что существенно снижает неопределённости в параметрах математической модели системы. В рамках безотражательного приближения для кровеносной системы получены соотношения между профилями волн объёма и скорости в случае сосудов с произвольными свойствами упругости стенок и неоднородными вдоль сосуда суммарной площадью сечения сосудов и параметрами упругости.

4.5. Исследование сигналов, зарегистрированных методами ФПГ и ЛДФ, при контролируемом дыхании.

Как было показано ранее, дыхание оказывает существенное влияние на колебания периферического кровотока. Задачей, рассматриваемой в данном разделе, является исследование взаимосвязи сигналов $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ при контролируемом дыхании. ЧСС отражает интегративное влияние различных регуляторных механизмов сердечно-сосудистой системы,

что приводит к вариабельности сердечного ритма (ВСР). С одной стороны, дыхание является одним из важнейших факторов, влияющих на ВСР, с другой, тонус периферических сосудов регулируется набором локальных и гуморальных физиологических факторов, которые также могут навязывать колебания физических параметров, описывающих сердечно-сосудистую систему, что проявляется, в том числе, в ВСР. Дыхание сопровождается респираторной модуляцией центрального артериального и венозного давления, что обусловлено действием дыхательного насоса – одного из механизмов венозного возврата крови от периферии к сердцу [144, 456]. Влияние дыхания на кровоток в МЦР выражается в амплитудной модуляции пульсовой волны посредством пассивной передачи респираторных модуляций центрального кровяного давления. Кроме того, пульсовая волна может модулироваться респираторно-зависимой активностью симпатической нервной системы через вазомоторные механизмы контроля тонуса сосудов, что актуально в случае глубокого медленного дыхания [457]. Ранее было показано, что контролируемое дыхание с частотой ниже частоты спонтанного дыхания приводит к увеличению амплитуды колебаний ВСР, артериального и венозного давления и усиливает симпатическую активность. Отмечается, что амплитуда респираторно-зависимых колебаний ВСР и периферического кровотока увеличивается при глубоком контролируемом дыхании, и эффект частотно-зависим [458].

В исследовании приняли участие 13 здоровых нормотензивных некурящих добровольцев (3 мужчины и 10 женщин) возраста 20-21 год, вес составил 58 ± 11 кг, рост 168 ± 4 см, ЧСС 72 ± 9 уд/мин. У участников исследования не было выявлено патологий сердечно-сосудистой системы, дыхательных путей и кожных покровов. Из рациона добровольцев был исключен алкоголь, кофеин, вазоактивные медикаменты как минимум за 4 часа до проведения исследования. Измерения проводились при контролируемой температуре 20-24°C после адаптации человека к условиям лаборатории. Во время исследования для каждого участника последовательно регистрировали 4 серии пятиминутных записей: первая при спонтанном дыхании, три последующих – при дыхании, контролируемом по глубине и частоте. В сериях с контролируемым дыханием глубина была фикси-

рованной и составляла 40% от максимальной жизненной емкости легких, измеряемой методом спирометрии, а частота дыхания составляла 0.04, 0.1 и 0.25 Гц. Для контроля дыхания на грудь испытуемого закреплялся датчик, регистрирующий экскурсии грудной клетки. Кривая с датчика через аналогово-цифровой преобразователь выводилась на монитор, и участник исследования старался дышать так, чтобы кривая с грудного датчика воспроизводила референтную кривую, представляющую собой гармонический сигнал с заданной частотой. Отметим, что частота спонтанного дыхания обычно составляет ~ 0.25 Гц. Во время каждой фазы эксперимента регистрировались сигналы движения грудной клетки (пневмограмма), электрокардиограмма, из которой извлекался сигнал ВСР, $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, все добровольцы подписали письменное информированное согласие. Исследование проводилось в Тульском государственном педагогическом университете им. Льва Толстого.

Для анализа пульсаций полученных сигналов применяется вейвлет-анализ, для количественного анализа изменения мощности пульсаций рассчитывается коэффициент усиления как отношение мощности пульсаций сигналов ВСР, $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ на частоте контролируемого дыхания к аналогичным показателям во время спонтанного дыхания. На Рис. 4.17 представлен коэффициент усиления энергии колебаний в сигналах ВСР, $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ при различных частотах контролируемого дыхания. Анализируя представленные диаграммы, можно отметить, что контролируемое дыхание сопровождается увеличением энергии респираторно-связанных колебаний во всех исследуемых сигналах. При этом в сигналах ВСР и $P_{PPG}(t)$ (Рис.4.17 (a,b)) эффект имеет частотно-зависимый характер: дыхание с частотой 0.04 и 0.1 Гц вызывает достоверное большее увеличение энергии пульсации на соответствующей частоте дыхания, по сравнению с частотой дыхания 0.25 Гц. В сигнале $P_{LDF}(t)$, напротив, увеличение энергии колебаний не зависит от частоты дыхания (Рис.4.17 (c)).

Для оценки взаимосвязи колебаний на различных частотах был использован вейвлет кросс-корреляционный анализ. На рис. 4.18 и 4.19 показаны усредненные по группе вейвлет кросс-корреляции пар анализируемых

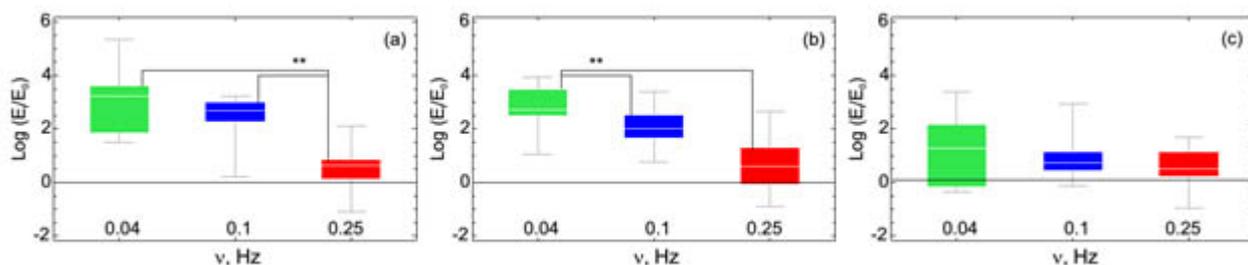


Рис. 4.17. Увеличение энергии колебаний ВСП и периферического кровотока при разных частотах контролируемого дыхания по сравнению со спонтанным дыханием. ВСП (a), $P_{PPG}(t)$ (b), $P_{LDF}(t)$ (c). Разными цветами обозначены различные фазы эксперимента: зелёный – дыхание с частотой 0.04 Гц, синий – 0.1 Гц, красный – 0.25 Гц.

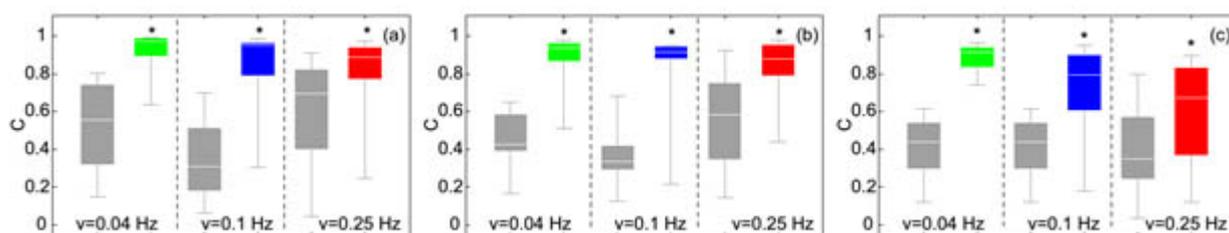


Рис. 4.18. Вейвлет-корреляция сигналов дыхания с ВСП (a), $P_{PPG}(t)$ (b), $P_{LDF}(t)$ (c) во время различных фаз эксперимента: зеленый с контролируемой частотой 0.04 Гц, синий – с частотой 0.1 Гц, красный – 0.25 Гц. Серым цветом обозначены корреляции на данной частоте при спонтанном дыхании.

сигналов при спонтанном и контролируемом дыхании. Для всех режимов контролируемого дыхания наблюдается значимое увеличение корреляции колебаний в парах дыхание-ВСП, дыхание- $P_{PPG}(t)$ и дыхание- $P_{LDF}(t)$ на частоте дыхания (Рис.4.19). Обнаружено, что при дыхании с частотой 0.4 и 0.1 Гц корреляции в парах ВСП- $P_{PPG}(t)$ и ВСП- $P_{LDF}(t)$ значимо нарастают (Рис. 4.19). В паре $P_{LDF}(t)$ - $P_{PPG}(t)$ корреляции достаточно высокие и при спонтанном дыхании, и контролируемое дыхание не приводит к значимому увеличению корреляции (Рис. 4.18).

В рамках работы над данной задачей создан уникальный экспериментальный протокол дыхательного теста, который позволил контролировать как частоту, так и глубину дыхания, опираясь на данные торакального

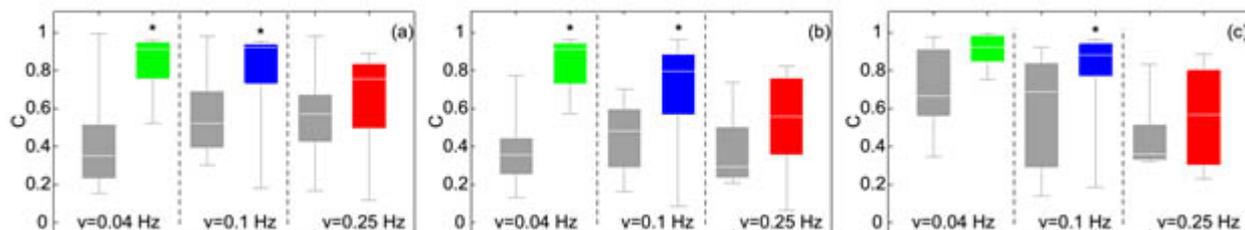


Рис. 4.19. Вейвлет-корреляция сигналов $VCP-P_{PPG}(t)$ (a), $VCP-P_{LDF}(t)$ (b), $P_{PPG}(t)-P_{LDF}(t)$ (c) во время различных фаз эксперимента: зеленый с контролируемой частотой 0.04 Гц, синий – с частотой 0.1 Гц, красный – 0.25 Гц.

пневмографического датчика, показания которого выводились на монитор компьютера и сравнивались с опорным сигналом в режиме реального времени. Глубина дыхания во всех тестах была одинаковой и изменялась только частота.

Установлено, что сигналы, полученные в различных отделах сердечно-сосудистой системы, коррелируют с дыханием, кроме того, существует высокая корреляция в парах $VCP-P_{PPG}(t)$, $VCP-P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)-P_{LDF}(t)$ при контролируемом дыхании с 0.04 и 0.1 Гц. Эта корреляция значительно выше, чем значение, полученное при спонтанном дыхании. В тесте с контролируемым дыханием с частотой 0.25 Гц, близкой к частоте спонтанного дыхания, не обнаружено существенного увеличения корреляции в исследуемых парах сигналов на заданных частотах, поэтому выявленные особенности обусловлены, в первую очередь, физиологическими особенностями формирования сигналов $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$, в частности, влиянием симпатической нервной системы на тонус мелких сосудов.

4.6. Соотношение характеристик микроциркуляции, полученных методами ЛДФ и ЛСВ

При освещении неподвижной кожи лазером независимо от структуры поверхности кожи, наблюдается случайная интерференционная картина, или спекл. Спекл-контраст можно рассчитать как отношение стандартного отклонения к средней интенсивности. Когда лазерный луч рассеивает-

ся движущимися эритроцитами, спекл-узор декоррелируется. Из-за движения эритроцитов интенсивность каждого отдельного спекла варьируется, вариация тем выше, чем выше скорость движения рассеивателей. При регистрации данного изображения интегрированный во времени контраст спекла будет уменьшаться. ЛСВ основана на двумерной количественной оценке вариаций этого спекл-контраста [459]. Метод ЛСВ позволяет изучить временную динамику изображения поверхности ткани, совмещая тем самым преимущества метода ЛДФ и лазерной доплеровской визуализации и обеспечивая хорошее временное и пространственное разрешение. Поскольку ЛСВ использует расширенный луч для получения изображений в полном поле, он позволяет измерять быстрые изменения кожного кровотока на довольно больших участках кожи [460] с очень хорошей межсуточной воспроизводимостью [461–463].

Глубина зондируемого объёма для метода ЛСВ составляет порядка 300 мкм [464]. Таким образом, в зависимости от толщины кожи в области измерения сигнал, регистрируемый методом ЛСВ формируется на рассеивателях, находящихся в верхнем сосудистом сплетении, тогда как сигнал, регистрируемый методом ЛДФ формируется на более глубоких слоях элементах МЦР, включая АВА и подводящие артериолы. Несмотря на указанные различия, кровотока, измеренный методом ЛДФ и ЛСВ, линейно связан в достаточно широком диапазоне значения перфузии [465].

Метод ЛСВ первоначально был представлен как простой и эффективный подход к визуализации кровотока, позволяющий получать информацию о структурах, участвующих в формировании сигнала. ЛСВ может отображать изменение исследуемой величины на частоте нескольких десятков Гц. Таким образом, можно получать информацию одновременно со всех пикселей с достаточным пространственным разрешением. ЛСВ является эффективным методом полномасштабного мониторинга динамики частиц в гетерогенных средах [323, 460, 466]. В ЛСВ изображение динамических неоднородностей получается путём анализа локального спекл-контраста в плоскости изображения [467, 468]. Если рассеивающий объект освещается когерентным светом, то появляется случайно изменяющаяся картина интенсивности света, создаваемая случайной интерференцией внутри среды

и на ее поверхности. Эта зернистая структура интенсивности света широко известна как спекл-узор. Движение частиц внутри освещенной среды вызывает колебания положения пятен и приводит к размытости изображения из-за усреднения во время экспозиции детектора. Кроме того, временная и пространственная статистика спекл-картины может быть использована для получения информации о движении рассеивающих частиц.

Методы ЛСВ и ЛДФ основаны на одних и тех же физических явлениях оптического доплеровского сдвига и динамического рассеяния света [469] и эти значения могут быть преобразованы из одного в другое для неоднородной рассеивающей среды [21]. Величины относительных изменений перфузии, измеренные ЛДФ и ЛСВ, показывают значимую корреляцию [470]. Таким образом, перфузия крови может быть оценена как с помощью ЛДФ, так и с помощью ЛСВ [469, 471, 472]. Предполагая только единичные рассеяния на эритроцитах и основываясь на многослойной модели кожной ткани с определёнными геометрическими и оптическими свойствами, концентрацией крови и распределением скорости, приведёнными во в теоретическом обзоре [21], было показано, что спектр мощности ЛДФ и контраст ЛСВ могут быть рассчитаны по оптическому доплеровскому спектру, содержащему различные степени доплеровского смещения света. Авторы представили численные доказательства того, что оптический доплеровский спектр может быть вычислен аналитически для заданного распределения скорости и фазовой функции рассеяния. В [20, 473, 474] был проведен сравнительный анализ методов ЛДФ и ЛСВ для оценки кожного и мозгового кровотока.

Несмотря на очевидные преимущества, лишь немногие исследования микроциркуляции кожи человека, проведённые с помощью метода ЛСВ, выявили клиническую значимость. Большинство работ по изучению изображений ЛСВ посвящено теоретическим вопросам обработки спекл-изображений [459, 475] или церебральным приложениям [476, 477], тогда как линейный и нелинейный анализ основных микрососудистых регуляторных механизмов, разработанных для метода ЛДФ, также может быть применен для исследования сигналов ЛСВ. Это было подтверждено в [478] с использованием эмпирического анализа декомпозиции мод изменчивости

сигналов ЛСВ и ЛДФ.

Применимость спектрального анализа временных зависимостей ЛСВ для определения влияния различных физиологических механизмов на сегодняшний день не обоснована [479]. Однако такой подход может предоставить клиницистам новый инструмент визуализации для извлечения ценной физиологической информации о колебаниях кожного кровотока и его интерпретации, основанной на опыте использования измерений ЛДФ [480]. Целью работ, представленных в данном разделе является изучить взаимосвязь спектральных характеристик сигналов $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ для того, чтобы установить применимость метода ЛСВ для анализа поведения осциллирующих компонентов кожного кровотока. Результаты, полученные методом ЛДФ, используются в данной работе как эталонные.

4.6.1. Методика исследования

Схема экспериментальной установки представлена на рис. 4.20. Исследуемый объект освещался лазерным источником мощностью 10 мВт, работающим на длине волны 635 нм (Edmund Optics Inc., США). Для записи необработанных спекл-изображений использовалась КМОП-камера DCC 3260M (Thorlabs, Inc., США) с разрешением 1936×1216 пикселей и размером пикселя 5,86 мкм, объектив камеры MVL25M23 (Thorlabs, Inc., США) и поляризационный фильтр с плоскостью поляризации, перпендикулярной плоскости поляризации падающего лазерного излучения. Использование фильтра позволяло вырезать из оптического сигнала неинформативную часть излучения, обусловленную отражением света от поверхности кожи. Поляризатор отклонял зеркальные отражения от поверхности кожи. Расстояние между объективом камеры и областью интереса составляло 25 см. Типичная необработанная спекл-карта представлена на Рис. 4.21. Необходимый размер спекла, превышающий, по крайней мере, в 2 раза размер пикселя, достигался путем варьирования апертуры объектива и оценивался [481]:

$$S = 2.44\lambda(1 + M)f/\#$$

где λ – длина волны освещения, M – увеличение системы визуализации, а $f/\#$ – апертура объектива камеры. Одновременно с записью ЛСВ, перфузию регистрировали при помощи Лазерного доплеровского флоуметра “ЛАКК-02” (ООО НПП “Лазма”, Россия). Характеристики прибора указаны в таблице ??.

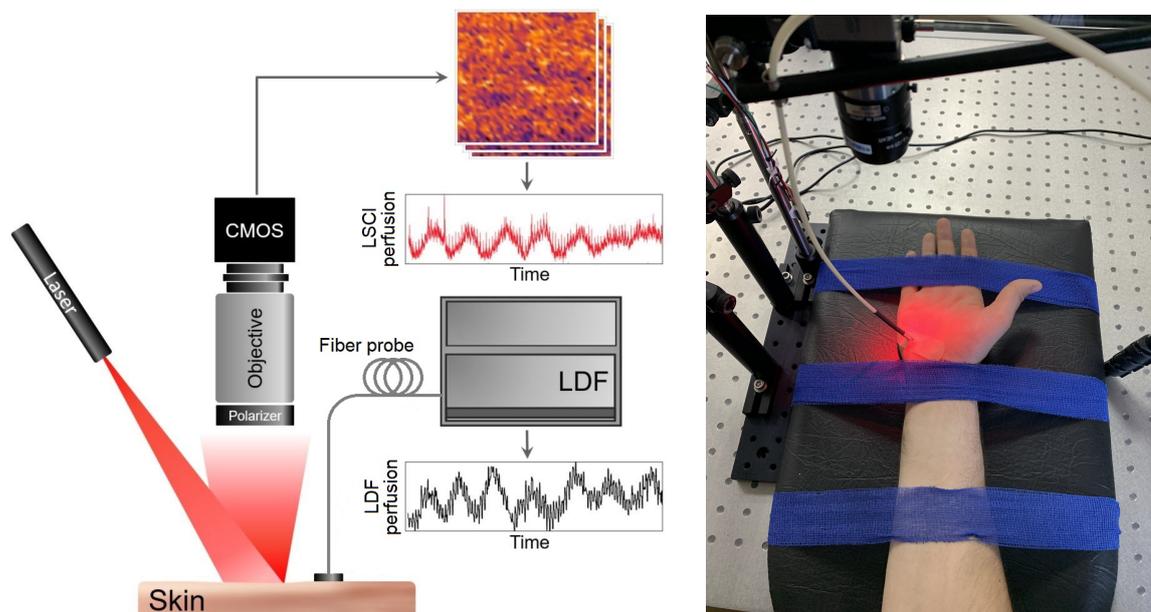


Рис. 4.20. Схема экспериментальной установки (слева) и ее внешний вид (справа). Сигнал $P_{LSCI}(t)$, представленный на рисунке, был получен после усреднения по всему изображению.

Полученные изображения обработаны с помощью специально разработанного алгоритма с использованием Matlab R2018b. Рассчитан средний спекл-контраст изображения (4.3) [482]:

$$K = \frac{\sigma_N}{\langle I_0 \rangle_N}, \quad (4.3)$$

где $\langle \rangle$ символ усреднения, N размер окна усреднения $N \times N$, а σ_N – СКО в окне размером $N \times N$. По результатам ЛСВ рассчитана перфузия $P_{LSCI}(t)$ как $1/K^2$, примеры полученных карт перфузии представлены на Рис. 4.21(b,c) для $N = 3$ и $N = 7$, соответственно.

Исходные данные, получаемые методом ЛСВ, представляют собой временную последовательность 2D-спекл-изображений. Предполагалось, что проявление колебаний $P_{LSCI}(t)$ может зависеть от области усреднения. На первом этапе рассчитан спекл-контраст (4.3) для каждого спекл-

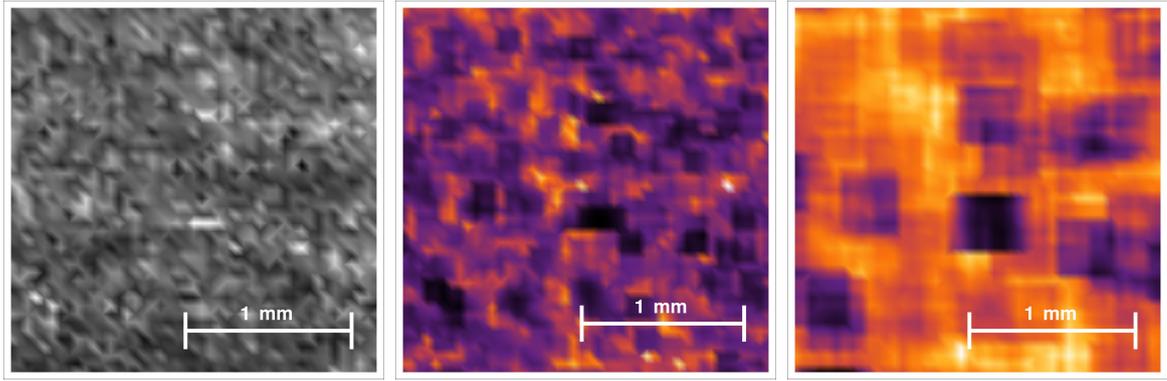


Рис. 4.21. Слева мгновенное спекл-изображение, и изображения спекл-контраста $1/\sigma_N$ для $N = 3$ (посередине) $N = 7$ (справа). Тёмные пятна соответствуют минимальным значениям кровотока, светлые - максимальным.

изображения в окне скользящего усреднения 7×7 пикселей. Созданный набор изображений позволил восстановить временную динамику параметра как в каждой точке изображения, так и в пределах области усреднения. При этом использованы различные области усреднения, а именно область интереса (ROI) была разделена на A_1 -25 квадратов по 5×5 и A_2 -100 квадратов по 10×10 матричных элементов (см. рис. 4.22). В каждой из выбранных областей рассчитывалось среднее значение перфузии $P_{LSCI}(t)$, в результате получено 25 сигналов $P_{LSCI}(t)$ в A_1 и 100 – в A_2 случаях. Далее выполнено вейвлет-разложение каждого сигнала $P_{LSCI}(t)$ в случае A_1 и A_2 для того, чтобы оценить эффекты усреднения и пространственного изменения спектров. При оценке вейвлет-кросс-корреляции, рассмотрено 20 пар временных рядов, случайно выбранных из областей A_1 и A_2 , измеренных у одного добровольца. После этого была рассчитана вейвлет-корреляция для каждой пары и оценены медиана, первый и третий квартили определяемого распределения. Полученные результаты достоверно повторялись в различных сериях экспериментов с различными добровольцами.

На следующем этапе была изучена связь между сигналами $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$. В этом случае рассматривался только усредненный спекл-контраст по всему ROI (без деления на подобласти). Для сравнения средних значений двух сигналов была использована корреляция Спирмена. Далее был проведён спектральный анализ двух сигналов, нормированных

на СКО. Также проводилось сравнение с вейвлет-кросс-корреляционным анализом.

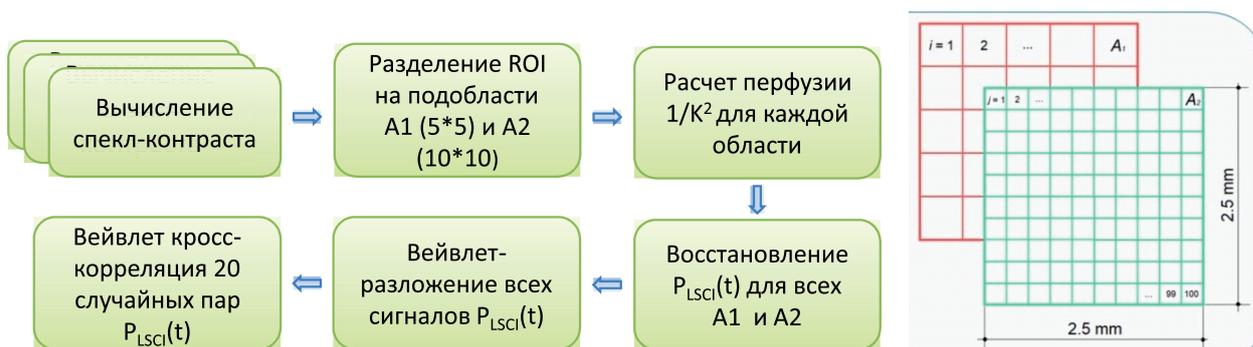


Рис. 4.22. Схема алгоритма анализа данных для изучения эффекта пространственного усреднения на спектральные характеристики временных сигналов $P_{LSCI}(t)$

Измерения проводили в помещении при температуре 20-24°C после предварительной адаптации к комнатным условиям. Исключалось воздействие внешних источников освещения. Во время экспериментов испытуемые находились в положении сидя. Для каждого испытуемого проведены измерения $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$. Сигналы $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ записывались на внутренней стороне ладони, схема расположения представлена на Рис. 4.20 справа. Зонд ЛДФ фиксировался на поверхности кожи пластырем с минимальным сжатием тканей. Для измерений выбраны зоны не содержащие крупных сосудов, ROI для ЛСВ располагался на расстоянии 2-3 мм от ЛДФ. Источник лазерного излучения и камера для регистрации $P_{LSCI}(t)$ располагались на расстоянии 25 см ([483, 484]) от поверхности кожи. Рука испытуемого дополнительно фиксировалась мягкими эластичными бинтами "Reha-haft" (Hartmann, Германия) для предотвращения произвольных движений (Рис. 4.20(б)). Продолжительность каждого измерения составляла 10 минут. Данные $P_{LSCI}(t)$ получены при частоте дискретизации 80 Гц и времени экспозиции 9 мс, для ЛДФ частота дискретизации составила и 20 Гц, таким образом выходные данные, полученные в каждой реализации содержали временной ряд из 12000 измерений $P_{LDF}(t)$ и 48000 спекл-изображений.

В исследовании приняли участие четырнадцать здоровых добровольцев (8 мужчин и 6 женщин). Их средний возраст составлял 27 лет и на-

ходилась в диапазоне от 20 до 42 лет. Участвующие в исследовании добровольцы не употребляли кофеиносодержащие продукты и лекарственные препараты как минимум за 4 часа до исследования. Критерием исключения являлись заболевания бронхолегочной, сердечно-сосудистой или нейроэндокринной систем, а также с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови и любые другие серьёзные хронические заболевания, которые могли бы повлиять на результаты исследования. Все участники подписали информированное согласие. Исследование было одобрено Комитетом по этике Орловского государственного университета (г. Орел, Россия).

4.6.2. Результаты

Пример временной эволюции сигнала $1/K^2$ вдоль вертикального поперечного сечения в ROI представлен на Рис. 4.23. Сигнал неоднороден по пространственному измерению, и хорошо видны волны $1/K^2$ с характерным временем, близким к 10 с, связанные по всей видимости с миогенной микрососудистой активностью.

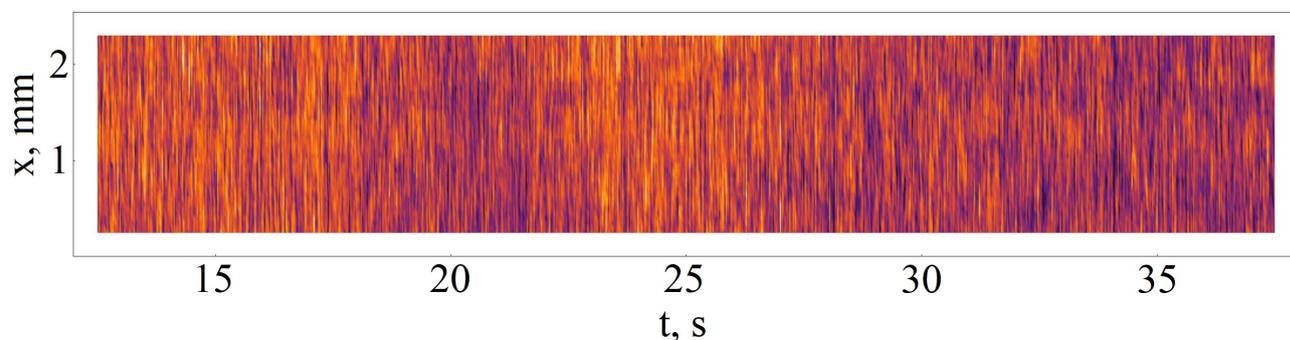


Рис. 4.23. Эволюция $P_{LSCI} 1/K^2$ (а.у.) получена в виде вертикального (вдоль оси y в ROI) поперечного сечения пространственно-временных данных спекл-контраста.

На Рис. 4.24 представлены типичные примеры сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{LSCI}(t)$. Сигнал $P_{LDF}(t)$ (рис. 4.24 (а)) демонстрирует выраженные колебания. В $P_{LSCI}(t)$ наблюдается почти такая же эволюция во времени с квазипериодическим поведением. Вместе с крупномасштабными колебаниями, период которых близок к 10 с, сигнал может иметь высокочастотную

периодичность (период близок к 1 с). Важно отметить, что характеристики сигнала зависят от области усреднения, а именно, влияние шума значительно возрастает с уменьшением площади усреднения (рис. 4.24 (б, в)).

Вид сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{LSCI}(t)$ может зависеть от площади усреднения. В ряде работ авторы указывают на гетерогенность МЦР, наличие локальных факторов регуляции, поэтому увеличение площади усреднения может привести к сглаживаю структур, наблюдаемых методом ЛСВ. Для оценки пространственной изменчивости спектральных характеристик исследовано влияние параметров усреднения. На Рис. 4.25(а) среднее значение спектральной энергии для каждой частоты показано толстой сплошной линией, а первый и третий квартили – пунктирной линией. Зелёные линии соответствуют усреднению 5×5 пикселей, красный – 10×10 .

Анализируя полученные вейвлет-спектры (Рис. 4.25), можно отметить, что структуры спектров, рассчитанных по различным областям интегрирования A_1 и A_2 сходны. Все спектры имеют максимумы на частотах, близких к 0.1, 0.3 и 1.3 Гц в рассматриваемом примере. Интересным является тот факт, что на большинстве частот вариации для энергий невелики, в частности, пульсации на частотах 0.1 и 1.3 Гц имеют ярко выраженные максимумы с небольшой вариацией энергии от точки к точке пространства. В то же время вариация энергии колебания с частой 0.3 Гц значительно выше. Для того, чтобы проиллюстрировать выявленное свойство, на тот же график нанесены значения энергии на выбранных частотах в различных точках пространства (точки на Рис. 4.25 а). Видно, что разброс спектральной энергии на частоте 0.3 Гц для A_1 выше, чем для A_2 и для энергий на частоте 0.1 Гц, что было подвержено при помощи F -теста, а именно, установлено, что дисперсия спектральной энергии одинакова при 0.1 и 1.3 Гц и достоверно отличается на частоте 0.3 Гц ($P=0.0002$).

Для оценки пространственной корреляции временных рядов из всей выборки случайных пар рядов, полученных при усреднении 5×5 и 10×10 пикселей), выбраны 20 случайных пар. Для выбранных 20 пар оценены статистические свойства кросс-корреляционных характеристик (Рис. 4.25 б). Из рисунка видно, что колебания с частотой 0.1 Гц и 1.3 Гц коррелируют, в то же время колебания 0.3 Гц имеют очень слабую пространственную

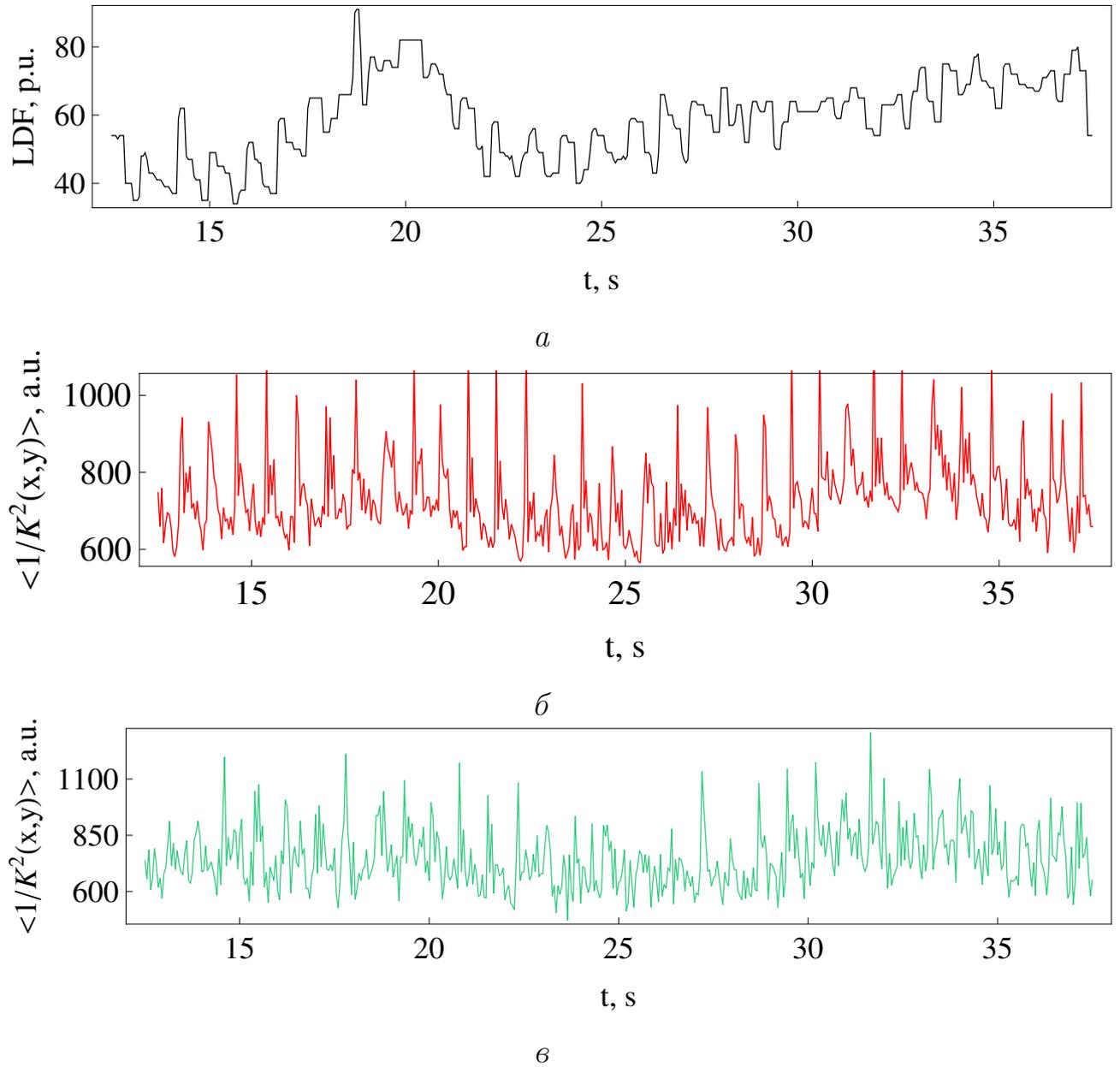
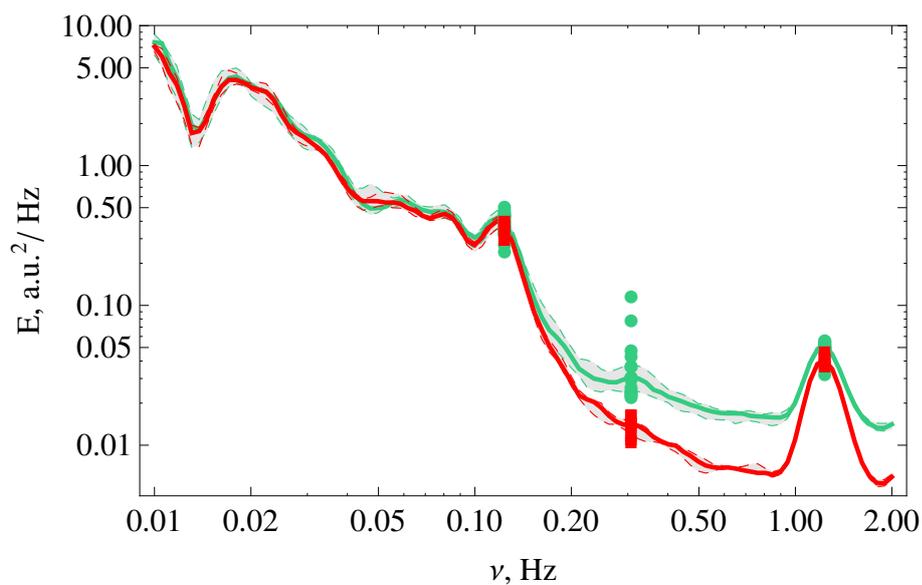
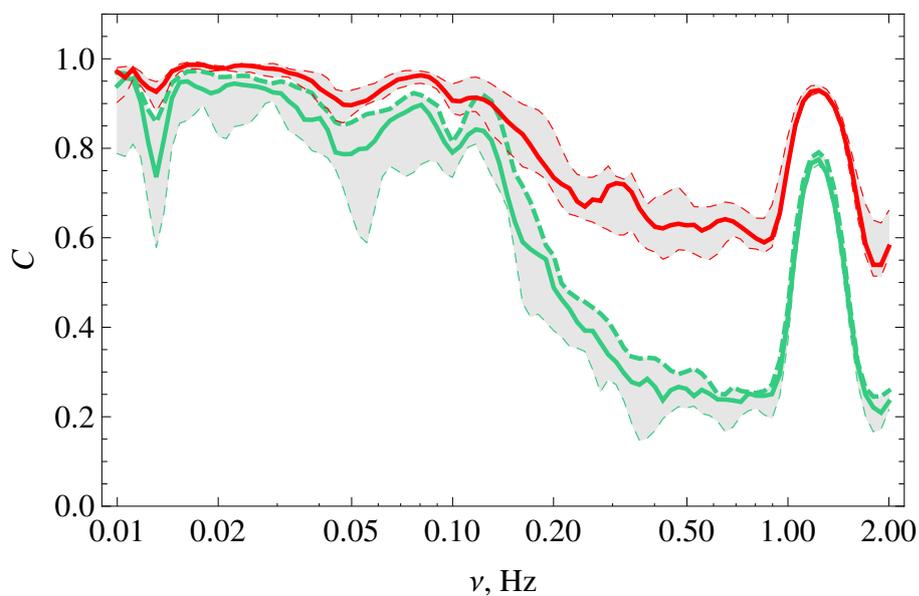


Рис. 4.24. Пример эволюции синхронных записей перфузии $P_{LDF}(t)$ (a) и $P_{LSCI}(t)$, полученной при усреднении по окну 5×5 пикселей (б) и 10×10 (в) пикселей.



a



б

Рис. 4.25. (а) Пример усредненных вейвлет-спектров временных сигналов $P_{LSCI}(t)$. (сплошная линия – среднее значение, пунктирные линии – 1 и 3 квантили). Точками на графике обозначены энергии пульсаций в каждой области усреднения на частоте порядка 0.3 Гц. Цветовая индикация соответствует различным областям интегрирования при расчёте временной эволюции, а именно зелёный – A_1 , красный A_2 . (б) Вейвлет кросс-корреляция для 20 случайно выбранных пар перфузии измеренной методом ЛСВ рассчитанной в различных областях интегрирования. Цветовая индикация та же, что и для *a*. Для обеих частей Рисунка *a* и *б* цвета соответствуют цветовой индикации Рис. 4.24 *б* и *в*.

корреляцию. Полученные результаты свидетельствует в пользу большей пространственной неоднородности колебаний 0.3 Гц по сравнению с колебаниями 0.1 и 1.3 Гц.

На Рис. 4.26 представлено соотношение перфузии измеренной двумя методами. Видно, что сигналы взаимосвязаны, что численно подтверждается при помощи оценки корреляции Спирмена, которая составила 0.60 ($p=0.02$). Несмотря на то, что полученный коэффициент является умеренным, опираясь на результаты теста надёжности, можно сделать вывод, что он значимый. Рисунок 4.26 показывает сильный разброс данных. Вероятно, это связано с большой неоднородностью значений перфузии между испытуемыми и областями ладони, где регистрировались $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$. Во время измерения зонд ЛДФ и фокус установки ЛСВ были размещены максимально близко. Важно отметить, что значение корреляции Спирмена для полученных данных близки к результатам, опубликованным в [479].

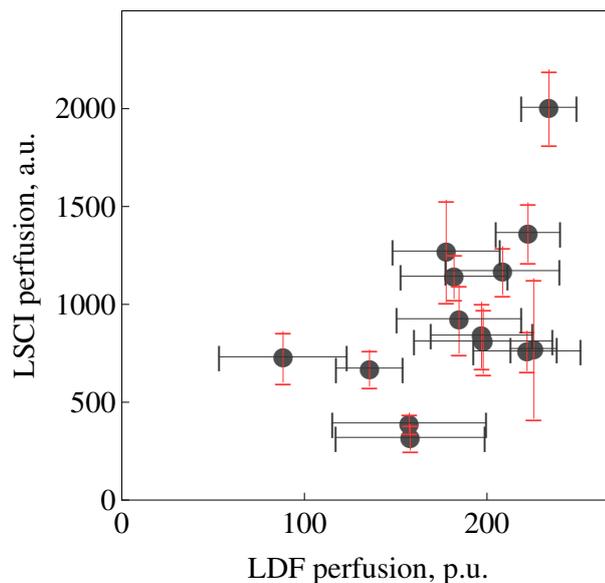


Рис. 4.26. Соотношения средних значений перфузии, полученных методом ЛДФ и методом ЛСВ, для всей обследованной группы из 14 добровольцев.

Далее рассматривается только осредненный ЛСВ по всей области наблюдения (без деления на подобласти). Абсолютные значения спектральной плотности энергии нельзя сравнивать из-за особенностей измерения перфузии различными методами, поскольку оба метода дают перфузию в относительных единицах. Для сравнения спектров колебаний $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ сравним спектральную энергию, нормированную на

СКО. Такое представление даёт очень близкие спектры, различия которых можно объяснить скорее характеристиками электронных фильтров, чем физиологическими факторами. Значения спектральной плотности энергии сигналов $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$, осредненные по группе, представлены на Рис. 4.27. Прежде всего следует отметить, что оба спектра имеют общую структуру: вблизи 1 Гц наблюдается пик, связанный с активностью сердца, спектры в низкочастотной области имеют сходную структуру. Почастотный корреляционный вейвлет-анализ показал высокую корреляцию низкочастотных колебаний (Рис. 4.28). В полосе частот 0.01-0.1 Гц среднее значение кросс-корреляции колеблется около 0.7-0.8, и эта корреляция оказывается значимой.

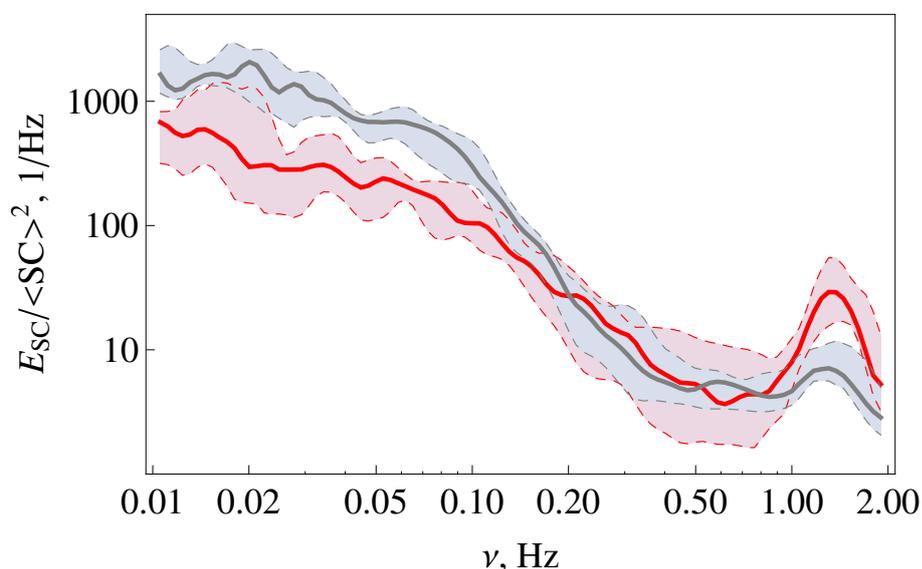


Рис. 4.27. Спектр колебаний, усредненный по во всей выборке. Серая линия соответствует $P_{LDF}(t)$, красная – $P_{LSCI}(t)$. Сплошные линии соответствуют медианным значениям, пунктирные - первому и третьему квартилям.

Интересно, что наиболее близкие спектры сигналов $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ получаются с помощью интегрирования по самой большой доступной области. Возможной причиной этого является процедура усреднения, которая снижает уровень шума. В [485] это явление было продемонстрировано для временных рядов значений перфузии, полученных методом ЛСВ при усреднении по достаточно большим областям. Фазовый сдвиг между сигналами $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ на частотах около 0.4-2 Гц близок к нулю. Полоса частот в окрестности 1 Гц связана с сердечной деятельностью, таким

образом, фазовый сдвиг пульсовой волны, регистрируемой двумя методами, равен нулю. Колебания с частотами 0.4-0.8 Гц имеют очень низкую энергию и слабую корреляцию, что приводит к высокой вариабельности фазового сдвига, поэтому среднее значение также близко к нулю. В полосе частот 0.02-0.1 Hz обнаружен устойчивый сдвиг фаз от -0.4 до -0.6 рад. Такой сдвиг фаз соответствует временной задержке от ≈ 4 с для колебаний с частотой 0.02 Гц, и ≈ 0.6 с на частоте 0.1 Гц, при этом колебания в $P_{LSCI}(t)$ отстают от аналогичных колебаний в $P_{LDF}(t)$.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что источники формирующие колебания перфузии, регистрируемые методами ЛДФ и ЛСВ, являются общими. Пульсовая волна, измеренная обоими методами, находится в фазе, в то же время колебания, оцениваемые ЛСВ в низкочастотном диапазоне 0.02-0.1 Гц, отстают от колебаний $P_{LDF}(t)$ со сдвигом фазы, близким к 0.5 рад. По всей видимости, эта задержка обусловлена различной глубиной формирования сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{LSCI}(t)$. Метод ЛСВ имеет меньшую диагностическую глубину, чем ЛДФ [464]. В работе [482] показано, что оценённые глубины для ЛДФ могут быть в три раза выше, чем для ЛСВ. Аналогичные результаты для метода ЛДФ были получены и в работе [403]. Таким образом, при регистрации перфузии методом ЛСВ сигнал формируется на уровне папиллярной дермы и небольшой части верхнего сплетения. Зонд ЛДФ очень чувствителен к изменениям кровотока в папиллярной дерме и верхнем сплетении кровеносной сети и способен покрывать верхнюю часть ретикулярной дермы. Следует также отметить, что диагностический объем и эффективная глубина зондирования существенно зависят от динамического диапазона детектора и конкретной конфигурации источник-детектор.

4.7. Заключение по главе

В данной главе приведены результаты исследований связи статистических и спектральных характеристик сигналов, характеризующих кровоток в системе МЦР, полученных различными оптическими методами, а именно методом ФПГ, ЛСВ и ЛДФ в покое и при дыхательных пробах. К

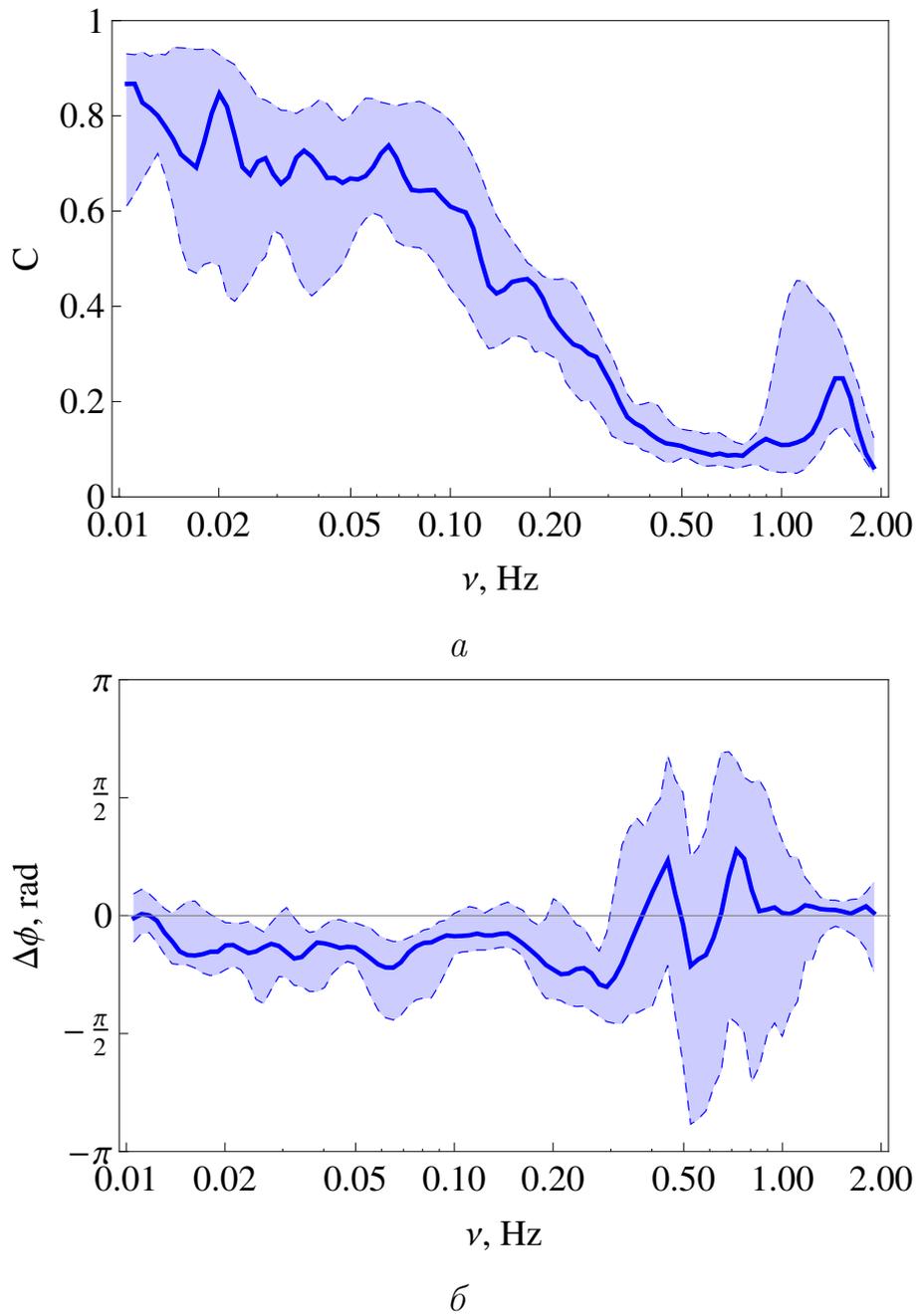


Рис. 4.28. Модуль (а) разность фаз (б) вейвлет кросс-корреляции сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{LSCI}(t)$ (усредненных по всему полю наблюдения) для всей исследуемой выборки. Сплошные линии соответствуют медианным значениям, пунктирные - первому и третьему квартилям.

настоящему моменту золотым стандартом считается метод ЛДФ, и именно для него развиты описанные в разделе 1.5 методы исследования колебаний различных частот. Обнаруженная высокая вейвлет-корреляция в парах сигналов $P_{LDF}(t)$ - $P_{PPG}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ - $P_{LSCI}(t)$ позволяет сделать вывод о возможности использования более дешёвых и доступных методов ФПГ и ЛСВ для анализа физиологических механизмов регуляции сосудистого тонуса. Отметим, что такой подход был предсказан в [486], осуществлён ранее в работах [417, 487]. В работе [324] ФПГ использован как метод измерения микрокровотока. Позднее значимость полученного нами результата была подтверждена в исследовании [488], авторы которого отмечают, что "Данный факт позволяет использовать ФПГ в качестве альтернативного более простого в воспроизведении, но не уступающего ЛДФ, метода исследования физиологических процессов, характеризуемых колебаниями в дистальном сосудистом русле". Предложенный в разделе 4.2 подход был развит в работе [489] при проведении функциональных тестов и использовался в клинических исследованиях [490].

При помощи предложенного метода основанного анализе фазового сдвига вейвлет коэффициентов впервые проведены оценка временной задержки колебаний различных частот в рассматриваемых сигналах. Такой подход позволил получить следующие важные результаты:

- Оценить время распространения пульсовой волны от центра до периферии (PAT), в том числе, впервые при проведении динамических физиологических тестов. Важно отметить, что не было обнаружено существенных различий поведения PAT между тремя повторами проводимого физиологического теста, что даёт уверенность в повторяемости этого подхода.
- Определить сдвиг фаз между волнами объёма и скорости в дистальных сосудах, в том числе при изменении несущей частоты.

Применение разработанных методов не ограничивается только расчётом PAT . Благодаря своей надёжности он пригоден, например, для вычисления вариабельности сердечного ритма [491] и других параметров, связанных с временем прохождения импульса, например, плечево-бедренного

и каротидно-бедренного времени распространения. Предложенный метод хорошо справляется с зашумленными данными, так как не требует вычисления производных и для его реализации нет необходимости выделять особые точки на форме импульса.

Показано, что спектральные энергии колебаний в диапазоне частот 0.01-2 Гц временных записей $P_{LSCI}(t)$ и $P_{LDF}(t)$ достаточно близки, и по всей видимости, обусловлены одними и теми же физиологическими механизмами регуляции сосудистого тонуса. При решении данной задачи показано, что для построения временной эволюции $P_{LSCI}(t)$ первостепенное значение имеет выбор оптимальной области для усреднения. Когда площадь интегрирования увеличивается соотношение сигнал/шум в сигнале $P_{LSCI}(t)$ уменьшается и спектр $P_{LSCI}(t)$ становится близок к спектру $P_{LDF}(t)$. Полученные результаты о пространственной неоднородности колебаний связанных с дыханием легли в основу работ [27, 28] в которой для проверки данной гипотезы был использован набор дыхательных тестов.

Полученные результаты поддерживают утверждение о том, что подходы к оценке пространственной и временной динамики должны применяться в соответствии с их масштабом, сильными и слабыми сторонами. Временная эволюция полезна для мониторинга кровотока. Пространственная структура характеризует поток по отношению к плотности и однородности микрососудистой сети и позволяет избежать близости более крупных артериол и мелких артерий.

5. Исследование спектральных характеристик фотоплетизмограмм пациентов с хронической артериальной недостаточностью

В главе 4 показано, что основными достоинствами ФПГ являются доступность приборной базы и относительная дешевизна аппаратных решений. В последнее время активно развиваются методы визуализации кровотока при помощи метода ФПГ для различных физиологических приложений [415, 416].

В данной главе рассматриваются клинические приложения метода ФПГ на примере пациентов с хронической артериальной недостаточностью. Данное патологическое состояние характеризуется стенозом магистральных артерий. Известно, что нарушение кровотока в крупных сосудах вызывают качественные изменения в форме периферической пульсовой волны. Периферическая пульсовая волна может быть зарегистрирована при помощи различных исследовательских методик, а именно, сфигмограмм [492], импедансной реовазографии [430, 493], и доплеровской сонографии. При этом именно метод ФПГ в основном используется для регистрации пульсовых волн [494–496]. Пульсовая волна здорового человека характеризуется достаточно крутым подъёмом, узким импульсом и наличием вторичной (отражённой) волны, при этом свойства волн в обеих нижних конечностях одинаковы [494, 495, 497]. Отражённая пульсовая волна возникает в каждой области ветвления сосудов и изменения их формы, но наиболее выражена волна, отражённая от точки бифуркации аорты.

При атеросклеротическом поражении жёсткость сосудов возрастает [498]. Это приводит к увеличению скорости распространения волны по крупным сосудам. При этом наблюдается так называемое “раннее отражение”, когда пики основной и отражённой волн практически совпадают, что воспринимается, как отсутствие видимой диакротической волны [495, 499]. Показано [500], что увеличение времени начальной фазы пульсовой волны

(pulse rise time) выше 240 мс указывает на наличие атеросклероза нижних конечностей. ХАН, связанная со значительным стенозом артерий, является проявлением генерализованного атеросклероза. При развитии критической ишемии в одной из конечностей возникает несимметричность пульсовых волн в конечностях [494, 497]. В ряде работ [494], вводятся параметры форм пульсовой волны, их количественный анализ используется для установления диагностических критериев, в том числе и ХАН.

Применение метода ФПГ при синдроме ХАН позволяет предварительно выявить стеноз магистральной артерии в 81% случаев [182], поэтому исследование формы пульсовой волны обсуждается в связи с возможностью создания скрининговой диагностики ХАН, тяжёлой стадии развития атеросклероза. Результаты работы [429] показали эффективность применения фурье-анализа для изучения формы пульсовых волн у здоровых добровольцев. Таким образом, анализ формы пульсовой волны достаточно адекватно описывает функциональное состояние, структурные изменения и может быть использован для анализа свойств периферической артериальной сосудистой сети.

Целью данной главы является исследование спектральных характеристик сигналов ФПГ в дистальных отделах нижних конечностей при ХАН атеросклеротического генеза.

5.1. Исследование спектров фотоплетизмограмм в окрестности частоты сердечных сокращений

5.1.1. Методика исследования

В исследовании приняли участие 59 мужчин, среди которых 25 здоровых (средний возраст составил 55 ± 9 лет) и 34 пациента с атеросклерозом нижних конечностей (средний возраст 60 ± 11 лет, $p > 0.05$), осложненным ХАН IIБ – IIIБ стадий по классификации Фонтейна–Покровского, проходивших лечение в отделении сердечно-сосудистой хирургии Городской клинической больницы N4 г.Перми. Критерием исключения были – СД, аутоиммунные сосудистые заболевания. Диагноз ХАН нижних конечностей устанавливался согласно рекомендациям TASC II [220] при наличии

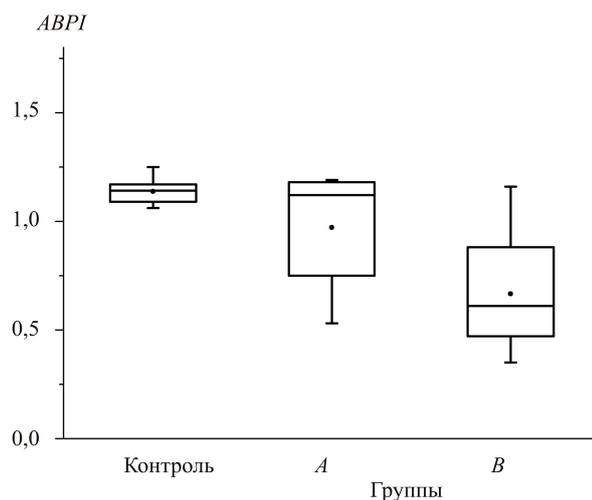


Рис. 5.1. Распределение индекса ЛПИ в исследуемых группах

типичных клинических симптомов в течение как минимум двух недель. Для постановки диагноза использовалось клиническое обследование, измерение ЛПИ, для уточнения – радионуклидная аортоартериография. В группе контроля среднее значение ЛПИ составило 1.2 ± 0.6 (Рис.5.1).

В большинстве случаев ХАН развивалась несимметрично на нижних конечностях. В группу *B* были включены 34 записи с конечностями сильно подверженных заболеванию, инвазивные методы исследования показали необходимость хирургической реваскуляризации, ЛПИ составил 0.7 ± 0.2 . Контралатеральная конечность была менее подвержена заболеванию и эти записи были включены в группу *A* со средним значением ЛПИ $= 1.0 \pm 0.2$. Для группы *A* инструментальными методами было установлено, что в большинстве случаев хирургическое вмешательство не требовалось, кровоток был компенсирован. Таким образом, записи, полученные в группе *A*, соответствовали генерализированному атеросклерозу, *B* – критической ишемии.

При исследовании формы пульсовой волны на дистальную фалангу второго пальца нижней конечности пациента фиксировался датчик ФПГ, испытуемый находился в положении лежа на спине. Далее испытуемый в течение 5 минут адаптировался к условиям измерения, и после этого проводилась десятиминутная запись $P_{PPG}(t)$. После чего датчик ФПГ перемещали на вторую конечность, и измерения повторялись. Регистрация $P_{PPG}(t)$ производилась при контролируемой температуре внешней среды

$(24 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Для регистрации использовался стандартный монитор пациента Микролюкс (г. Челябинск, Россия), ФПГ регистрировался в просветном режиме. Пальцевой ФПГ датчик Nellcor (Nellcor, США) размещался комфортно, без сдавливания ткани пальца, попадание внешнего света на фотоприемник было исключено. Программное обеспечение адаптировано для целей исследования и позволяло помимо измерения низкочастотных трендов, которые широко применяется в клинической практике, производить запись сигналов с частотой опроса 50 Гц. При измерениях были отключены все функции предобработки сигналов, которыми снабжён прибор. Из исследования исключены сигналы $P_{PPG}(t)$, непригодные для обработки из-за слабой перфузии или значительно выраженных артефактах движения вследствие тремора конечностей. Необходимо отметить, что использование данного метода регистрации осложнено низким качеством сигнала при критической ишемии.

После каждой записи сигнала $P_{PPG}(t)$ производилось измерение артериального давления и ЛПИ. Для измерения ЛПИ на голень обследуемого накладывалась манжетка механического тонометра, в проекции голеностопного сустава при помощи двунаправленного доплер-анализатора лоцировался пульсирующий кровоток в передней и задней большеберцовых артериях. Датчик устанавливался в месте наилучшей слышимости пульса на одной из артерий. В манжетку нагнетался воздух до исчезновения пульса. При стравливании его по появлению первого пульсового удара регистрировалось САД в лоцируемой артерии. Аналогичным образом измерялось САД на второй артерии. ЛПИ вычислялось как отношение большего из САД на голени к большему из САД на плечевой артерии.

5.1.2. Результаты

На рис. 5.2 представлены характерные сигналы $P_{PPG}(t)$ дистального отдела нижней конечности здорового человека (вверху), пациента с ХАН (в середине и внизу). При этом средняя запись соответствует менее поражённой конечности и характеризует проявления генерализованного атеросклероза. Нижняя запись $P_{PPG}(t)$ получена на конечности с критической

ишемией, для которой планируется проведение хирургического восстановления просвета артерии. Для сведения на Рис. 5.2 указано значение индекса ЛПИ. Представленные формы пульсовых волн качественно согласуются с результатами [492, 494, 495, 497, 501]. На всех сигналах $P_{PPG}(t)$ можно выделить периодический сигнал с частотой около 1 Гц, который связан с пульсовой волной. Форма отражённой волны зависит от степени стеноза (Рис. 5.2).

Для анализа формы сигналов $P_{PPG}(t)$ из каждой записи были выбраны пятиминутные стационарные фрагменты, не содержащие артефактов. Для исследуемых в работе параметров с характерными частотами, сравнимыми с ЧСС (порядка 1 Гц), такая выборка репрезентативна. При проведении спектрального анализа сигнала не включены спектры на которых невозможно аккуратно оценить первую гармонику из-за значительной аритмии или слабой перфузии. Таким образом, 5 измерений было исключено из группы В и 8 из А.

На вейвлет-спектре сигнала $P_{PPG}(t)$ для здорового человека устойчиво регистрируется первый максимум на частоте порядка 1 Гц, соответствующий ЧСС и второй – в диапазоне частот 2-3 Гц, (рис 5.3). У больных ХАН амплитуда второй гармоники значительно ослабевает. На вейвлет-спектрах это проявляется как понижение энергии в соответствующем диапазоне частот. Вследствие увеличения жёсткости сосудов возрастает и сосудистое сопротивление, пульсовые волны сглаживаются, пики соответствующие прямой и отражённой волне становятся близки и слабо различимо их влияние в спектре (Рис. 5.3 б).

Для того, чтобы сравнить энергию первой и второй гармоники рассматривалась энергия в окрестности частоты $2\nu_{HR}$ (ν_{HR} соответствует ЧСС и определяется как главная энергонесущая частота в диапазоне 0.3-2 Гц). Определим безразмерную частоту $\tilde{\nu}$ как ν/ν_{HR} , спектральную энергию отнормируем на энергию при $\tilde{\nu} = 1$ и получим $\tilde{E}(\tilde{\nu})$, по определению $\tilde{E}(1) = 1$. Нормированные спектры $\tilde{E}(\tilde{\nu})$ приведены на Рис. 5.4. В спектрах сигналов, полученных в группе контроля (Рис. 5.4 а), вторичный пик наблюдается в диапазоне частот 1.7-2.2 Гц. У пациентов с атеросклерозом (Рис. 5.4 (б и в)) энергия колебаний в данном диапазоне частот снижена.

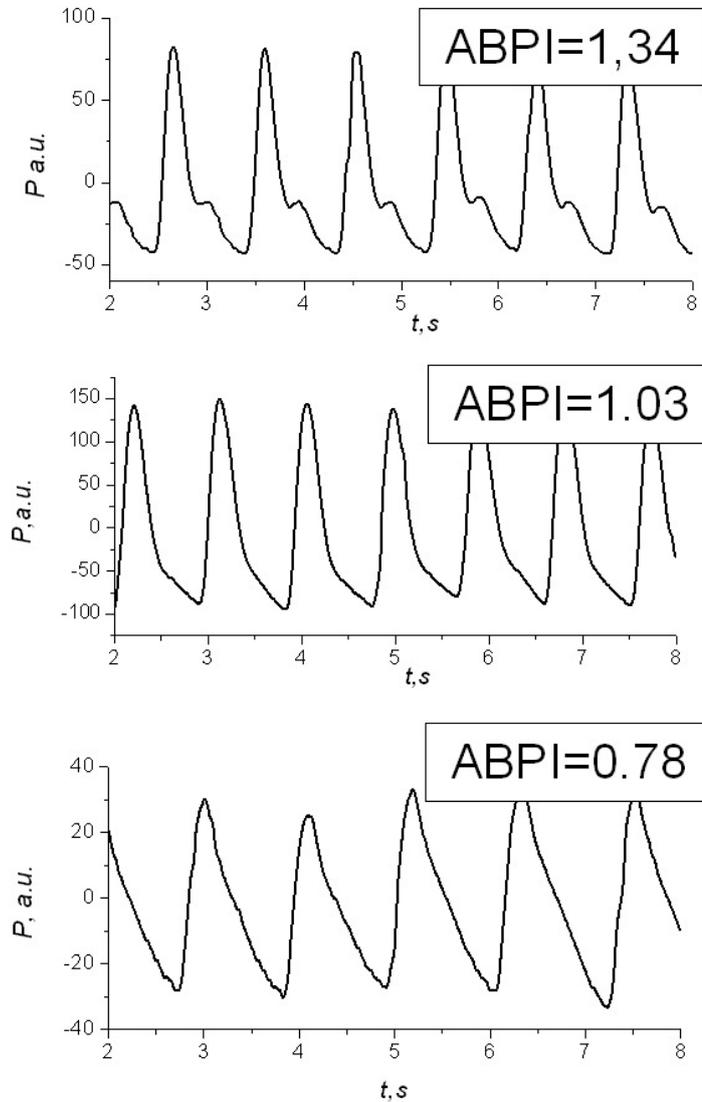


Рис. 5.2. Характерный вид формы пульсовых волн в дистальных отделах нижних конечностей у здоровых добровольцев (вверху), пациентов с ХАН (в середине и внизу). В середине – данные получены на конечности, на которой не требуется хирургическое вмешательство, таким образом, запись характеризует модель генерализированного артериосклероза. Внизу – записи с конечностей с некоменсированным кровотоком для которых требуется хирургическое вмешательство с целью восстановления кровоснабжения.

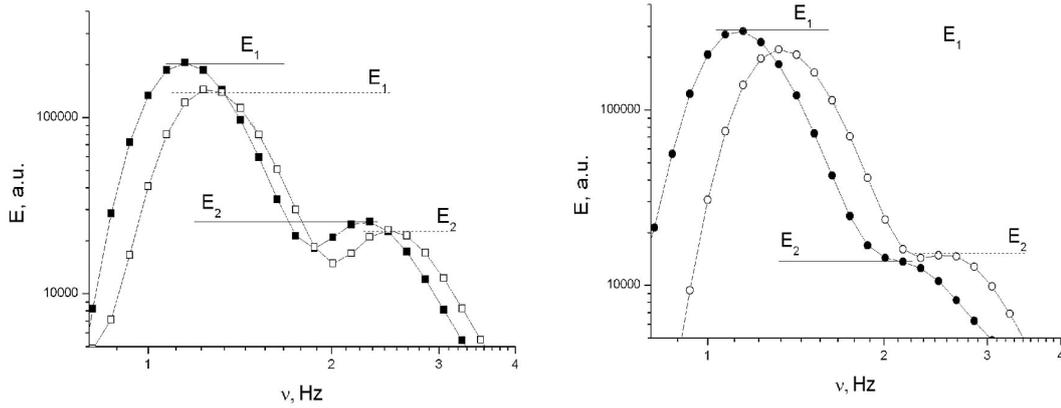


Рис. 5.3. Характерные вейвлет-спектры сигналов $P_{PPG}(t)$ в группе контроля слева и в группе с ХАН справа. Закрашенными символами обозначены спектры сигналов, полученные на правой конечности, незакрашенными – на левой.

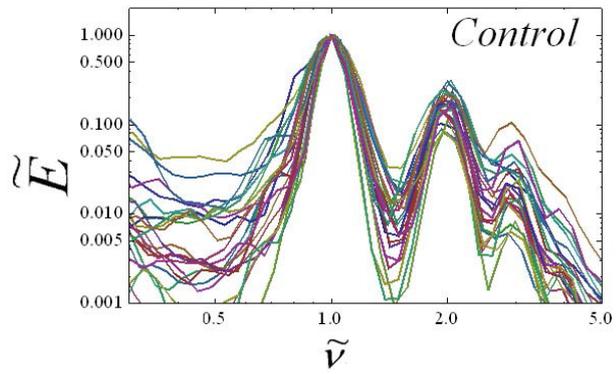
Для того, чтобы численно охарактеризовать энергию колебаний в заданном частотном диапазоне введён индекс I , определённый как:

$$I = \log \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \tilde{M}(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu}, \quad (5.1)$$

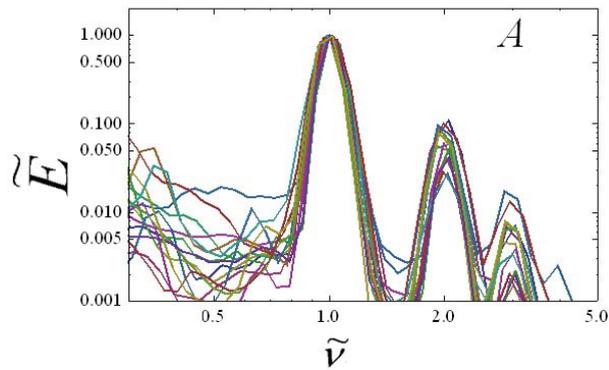
где $\tilde{\nu}_1$ и $\tilde{\nu}_2$ – границы диапазона частот выбранного интервала. Для того, чтобы сравнить энергию отражённой волны в разных группах, был взят интеграл от спектра в пределах, лежащих в окрестности $\tilde{\nu} = 2$. На Рис. 5.5 проиллюстрировано распределение I для различных диапазонов выбранных частот $\tilde{\nu}_1$ и $\tilde{\nu}_2$. Вариация $\tilde{\nu}_1$ и $\tilde{\nu}_2$ в определённых пределах не вызывает значительных изменений в статистических свойствах полученных распределений, а именно, различия между группами остаются значимыми.

В таблице 5.1 приведены средние значения индексов I и ЛПИ в обследованных группах. Полученные результаты представлены в виде среднее \pm СКО. Значимость различий выборок была оценена при помощи непараметрического теста Манна-Уитни, различия менее $p < 0.05$ считаются статистически значимыми. Из представленных результатов следует, что в изученных группах значения I значимо различаются и достоверность для I выше, чем для ЛПИ.

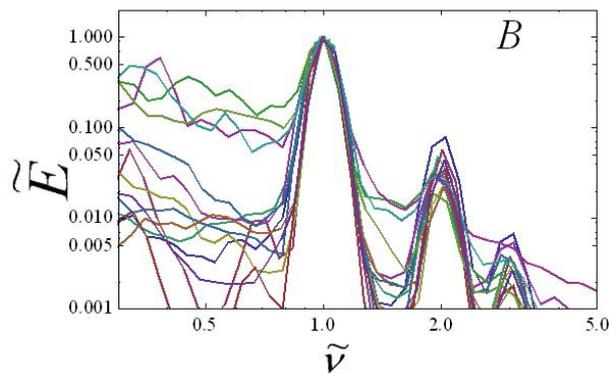
Важно отметить, что после проведения восстановительной операции, направленной на увеличение просвета сосуда энергия отражённой волны



(a)



(б)



(в)

Рис. 5.4. Нормированные вейвлет-спектры (а) - для группы контроля, для группы с генерализованным атеросклерозом (б) и группе с критической ишемией (в)

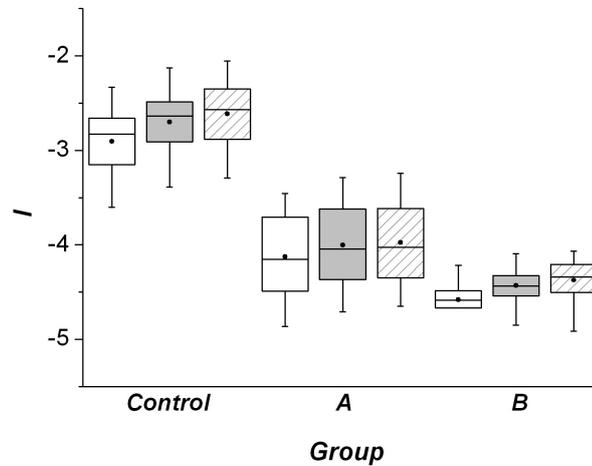


Рис. 5.5. Распределения индекса I в различных группах – точки соответствуют средним значениям, горизонтальные линии – медианы, верхняя и нижняя граница прямоугольников соответствует перцентилям распределения (25% - нижний, 75% - верхний). Штриховкой обозначены различные пределы интегрирования (незаштрихованные – $\tilde{\nu}_1 = 1.8$, $\tilde{\nu}_2 = 2.2$; серые прямоугольники $\tilde{\nu}_1 = 1.7$, $\tilde{\nu}_2 = 2.3$; заштрихованные $\tilde{\nu}_1 = 1.6$, $\tilde{\nu}_2 = 2.4$).

Таблица 5.1. Сравнение индексов ЛПИ и I (5.1) в группах здоровых и пациентов с ХАН

Группы	A	B	Control
ЛПИ	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.2 ± 0.6
		$p_{AB}=0.005$	$p_{AC} = 0.04$
			$p_{BC} = 0.04$
I	-4.1 ± 0.5	-4.6 ± 0.4	-2.9 ± 0.4
		$p_{AB}=0.02$	$p_{AC} < 0.001$
			$p_{BC} < 0.001$

увеличивается, тем не менее остаётся ниже чем в группе контроля.

5.2. Исследование спектральных свойств фотоплетизмограмм при проведении реконструктивной операции

Для того, чтобы исследовать влияние хирургического вмешательства на низкочастотные пульсации был проведён анализ длительных (порядка 10 минут) сигналов $P_{PPG}(t)$. В этом пилотном исследовании участвовали всего 5 здоровых добровольцев, 5 человек с ХАН поступившие в клинику до проведения хирургического вмешательства (группа В1) и через 3 дня после проведения оперативного вмешательства (группа В2). Важно отметить, что операция проводится под анестезией, влияние которой на местную регуляцию кровотока существенно и может продолжаться несколько дней. Было предположено, что по истечению 3 дней последствия действия анестетиков полностью прекращаются.

На Рис. 5.6 представлены осредненные спектры 10-ти минутных записей $P_{PPG}(t)$. Структура спектров сигналов $P_{PPG}(t)$, полученных с нижних конечностей пациентов с ХАН, похожи на аналогичные сигналы, полученные у здоровых добровольцев, но при этом энергия низкочастотных колебаний в группе с патологией выше, чем в группе здоровых. Такое увеличение вклада низкочастотных колебаний в случае пациентов с ХАН можно связать с тем, что локальные механизмы регуляции кровотока стремятся компенсировать кровоснабжение конечности. После проведения операции, направленной на восстановление магистрального кровотока, симпатическая нервная регуляция подавлена. Поскольку запись изучаемых сигналов производилась по прошествии трёх дней после операции эффектом влияния анестезии можно пренебречь.

Полученный результат даёт новое, достаточно интересное направление исследований, связанное с функциональными особенностями микроциркуляции при ХАН. Показано что при ХАН энергия низкочастотных колебаний кровотока, связанная с активными факторами регуляции, выше, чем в группе контроля. Это связано с активацией локальных факторов при сниженном магистральном кровотоке. После реконструктивной опера-

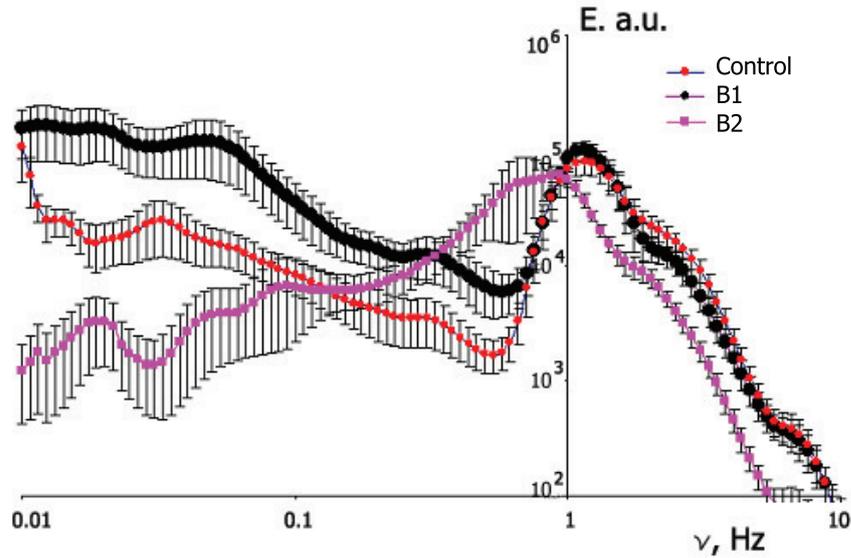


Рис. 5.6. Усредненный спектр десяти-минутных сигналов $P_{PPG}(t)$, полученных в группе контроля, пациентов с ХАН (группа В1) и у тех же пациентов по прошествии трёх дней после хирургического вмешательства (группа В2).

ции спектральный состав $P_{PPG}(t)$ качественно снижается.

5.3. Выводы по главе

В данной главе предложен простой и надёжный метод для скрининговой диагностики ХАН основанный на спектральном анализе сравнительно коротких сигналов $P_{PPG}(t)$. В этом случае вейвлет-разложение выступает в роли достаточно простого и быстрого временного усреднения свойств пульсовой волны. Предложенный индекс I , характеризующий отношение энергий колебаний кровотока в периферической кровеносной системе на частоте близкой к ЧСС ν_{HR} и удвоенной $2\nu_{HR}$, полученный интегрированием нормализованного по частоте спектра, значительно отличается в группах здоровых, пациентов с атеросклерозом и ХАН. Более того, показано, что предложенный метод имеет более высокую чувствительность нежели определение традиционного индекса ЛПИ.

Определённые ограничения использования фотоплетизмографов вызваны с невысоким SNR, артефактами движения или сниженным перифе-

рическим кровотоком [429]. Важно отметить, что предложенный аппарат может быть применён к пульсовым волнам, зарегистрированным другими исследовательскими методами. Предложенный метод частично использован в работе [502] для создания неинвазивного метода регистрации изменения внутрибрюшного давления.

Представлены результаты, полученные при изучении низкочастотных колебаний, связанных с симпатической нервной системой. Спектральный анализ сигнала полученного методом ФПГ показывает, что энергия низкочастотных пульсаций кровотока у испытуемых с ХАН выше, чем у здоровых. Причиной этого может быть адаптация системы МЦР к сниженному кровотоку в конечности. После проведения реконструктивной операции амплитуда высокочастотных колебаний значительно уменьшается. Это можно объяснить подавлением активных механизмов регуляции сосудистого тонуса, вызванных в том числе травмой периферических нервных волокон.

Полученные пилотные результаты могут быть использованы в дальнейшем для развития исследований в этой области. Основным достоинством предложенного метода является его безболезненность, доступность и простота. Увеличение числа использования фотоплетизмографов в клинической практике создаёт условия для повсеместного внедрения предложенных методов для скрининговой диагностики ХАН.

6. Развитие методологических основ контактной кожной термометрии для изучения колебаний кожного кровотока

Одной из важных функций крови в организме является роль теплоносителя, поэтому патологические изменения периферического кровотока приводят к нарушению теплоснабжения поверхности тела. Интенсивность кровотока и эффективность кровоснабжения в МЦР можно косвенно оценивать с помощью термометрии и термографии. Применение данных методов зачастую не требует дорогостоящего оборудования, при этом обеспечивается высокая чувствительность и помехозащищенность получаемых данных.

Измерение температуры кожи может осуществляться либо бесконтактно при помощи инфракрасной (ИК) термографии [443, 503], либо контактными методами [24, 504]. Подробный обзор современного состояния исследований в области тепловизионной биомедицинской диагностики представлен в учебном пособии [285]. Для мониторинга температуры кожи удобнее пользоваться контактными методами. В этом случае объем регистрируемых данных намного меньше, нет необходимости исключать смещения и артефакты движения, в целом прибор для регистрации температуры значительно дешевле и может быть использован в скрининговой диагностике.

В последнее время в качестве альтернативного показателя функционального состояния МЦР применяется кожная термометрия высокого разрешения (ТВР). Эта привлекательная методика дешева и проста в эксплуатации, хотя использование температурного мониторинга для исследования вазомоции неочевидно. Была показана фазовая синхронизация [505] и по частотная корреляция [24] сигналов $T(t)$ и $P_{LDF}(t)$ и предложено использование контактной термометрии для исследования регуляции тонуса микрососудов. Взаимосвязь между кровотоком и температурой кожи при вазо-

констрикции и вазодилатации, спровоцированной локальным охлаждением или нагреванием кожи, изучена в работе [130] и проанализирована в терминах временной локализованной фазовой когерентности на основе вейвлетов [25]. Измерения, проведённые на тыльной стороне предплечья [130, 505] или на ладонной поверхности дистальной фаланги пальца [24, 347] и, независимо от определённых анатомических особенностей (высокое содержание АВА в дистальных отделах конечностей), дали близкие результаты. В работе [506] использована ИК визуализация для выявления низкочастотных колебаний температуры на поверхности кожи. Обнаружено, что крупные вены имеют более сильную сократительную способность в диапазоне 0.005–0.006 Гц по сравнению с МЦР и участками кожи без ИК-детектируемых сосудов. В работе [507] рассчитаны колебания объёмного кровотока по измеренным сигналам температуры кожи с использованием уравнения Пеннеса. Было установлено, что принимая во внимания временную задержку 10-20 с для низкочастотных волн, результаты расчёта волны кровотока хорошо согласуются с измеренными сигналами $P_{PPG}(t)$.

Задача о восстановлении параметров микрогемодинамики по данным температурных измерений неоднократно решалась численно [508–510] и экспериментально [509, 511, 512]. В частности, была разработана модель для установления взаимосвязи между температурой пальца и реактивностью кровотока после процедуры окклюзии и реперфузии плечевой артерии [513–515]. Задача решается как при помощи моделей с сосредоточенными параметрами, которая пренебрегает составом ткани, так и в полной постановке. В работах [256] было проведено исследование в котором авторы сопоставили температуру дистальных фаланг пальцев и кровотоков у 12 здоровых добровольцев. Согласно проведённому анализу величина сигнала $P_{LDF}(t)$ коррелировала с локальной температурой ткани, было выявлено, что начальная и минимальная температуры оказывают значительное влияние на тепловую реакцию во время постокклюзии.

Использование физиологических проб для исследования функциональных особенностей МЦР обосновано для тепловых методов, также как и для оптических. По температуре кожи можно определить не только скорость периферического кровотока, но и вазодилатирующую функцию. Так,

например, цифровой температурный мониторинг дистальных фаланг пальцев во время окклюзионной реактивной гиперемии – неинвазивный метод оценки сосудистой функции, основанный на том, что изменения температуры во время и после ишемического стимула отражают функцию эндотелия.

Данная глава посвящена системному исследованию связи колебаний кожной температуры и кровотока. В разделе 6.1 приведены результаты экспериментального исследования, оценена глубина залегания источника тепловых волн и продемонстрирована возможность реконструкции колебаний кровотока в МЦР по температурным колебаниям поверхности кожи. Совместное использование оптических и термометрических методов позволило оценить изменения теплопроводности кожи при контралатеральной холодной пробе (раздел 6.2). Разделы 6.3 и 6.4 посвящены численному моделированию процесса тепломассопереноса в ткани кисти руки человека. Новизна построенных моделей заключается в том, что внимание уделяется не стационарным решениям, а пульсациям поля скорости и температур. Раздел 6.5 посвящён демонстрации клинических приложений метода термометрии высокого разрешения на примере пациентов с СД и НТГ.

6.1. Сравнение низкочастотных колебаний кожной температуры и кровотока

Целью исследования, представленного в данном разделе, является определение возможности применения ТВР для оценки тонуса мелких сосудов на основе изучения спектрального состава записей $T(t)$. Основным источником температурных колебаний на поверхности кожи является пульсация крови в артериальном звене (подробнее в разделе 1.3), соответственно логично предположить, что существует связь между пульсациями кровотока и температурой кожи. Для изучения этой задачи было проведено детальное сравнение параметров микрокровотока, регистрируемого методами ЛДФ и ТВР. В этом случае ЛДФ используется как опорный метод.

6.1.1. Методика исследования

В исследовании приняли участие 17 (7 мужчин и 10 женщин) здоровых добровольцев. Температура окружающей среды контролировалась и составляла 24°C . Средний возраст испытуемых составил 35 ± 5 лет. Измерения проводились у людей, находящихся в расслабленном состоянии в положении сидя. Исследуемые лица не употребляли кофе как минимум в течение двух часов, все добровольцы некурящие и не имеющие историю курения.

В работе для измерения перфузии $P_{LDF}(t)$ использовался лазерный доплеровский флоуметр (Moore Instruments FloLAB Server, UK, VP-1 probe). Частота дискретизации составила 40 Гц. Измерения температуры $T(t)$ проводились при помощи прибора Микротест (ФМ Диагностика, Пермь, Россия). Для диапазона температур $20\text{-}40^{\circ}\text{C}$, разрешение по температуре составило 0.001°C . Частота опроса составляет 20 Гц. В основе этого приборного решения лежит измерение сопротивления терморезистора, включённого в плечо мостика Уинстона, выведенного на поверхность термоизолированного корпуса, который представляет собой пластиковый чехол $20 \times 30 \times 10\text{мм}^3$, заполненный теплоизолятором (коэффициент теплопроводности $\lambda < 0.02\text{Вт м}^{-1}\text{ К}^{-1}$), для уменьшения влияния температуры окружающей среды. Дополнительный независимый датчик температуры использовался для контроля внешних условий. Оба датчика (ЛДФ и температуры) присоединены к дистальным фалангам указательного (ЛДФ) и среднего (температуры) пальцев тыльной стороны ладони при помощи двухсторонних адгезионных дисков. Такое крепление позволяло избежать смещения зондов и нарушений кожного кровотока за счёт компрессии тканей, обсуждавшуюся в разделе 2.4.

Все добровольцы, принимавшие участие в исследовании, проходили десяти-минутную адаптацию в лаборатории, длительность записи сигналов составляла 20 минут. Для последующего анализа из записанных данных выбирались точки с частотой 10 Гц (брались точки в соответствующие моменты времени, никакого осреднения не проводилось). Из сигналов $T(t)$ удаляли линейный тренд, который возникал в некоторых измерениях

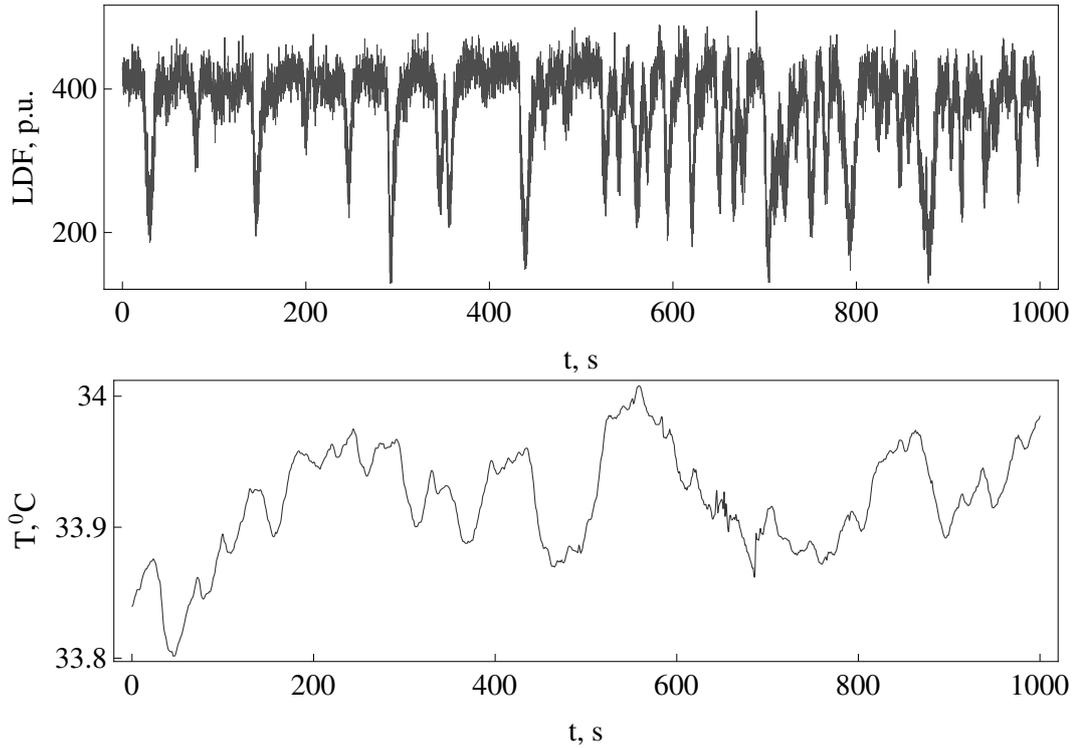


Рис. 6.1. Характерный вид сигналов $P_{LDF}(t)$ (вверху) и $T(t)$ (внизу)

несмотря на сравнительно долгий период адаптации.

6.1.2. Результаты

Характерные записи сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ показаны на Рис. 6.1. Видно, что оба сигнала демонстрируют выраженный колебательный режим. На рис.6.2 показаны фурье- и вейвлет-спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ приведённых на Рис. 6.1. В целом свойства низкочастотной области спектров $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ имеют схожую структуру. На Рис. 6.3 представлено поведение модуля корреляционной функции (1.9), рассчитанной при помощи вейлвета Морле (1.4) с различным коэффициентом затухания $\sigma = 0.7, 1, 2, 10, 100$ и ∞ . Для $\sigma \sim 1$ кросс-корреляционная функция сглажена и показывает высокую корреляцию сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ в области низких частот ($\nu < 0.1$ Гц). На высоких частотах ($\nu > 0.1$ Гц) корреляция довольно слабая. При увеличении параметра σ кривая $|C_{xy}(\nu)|$ становится более изрезанной и возрастает, приближаясь к значению фурье кросс-корреляции $\Gamma_{xy} = 1$, что соответствует $\sigma = \infty$.

Для проведения корреляционного анализа предпочтительно исполь-

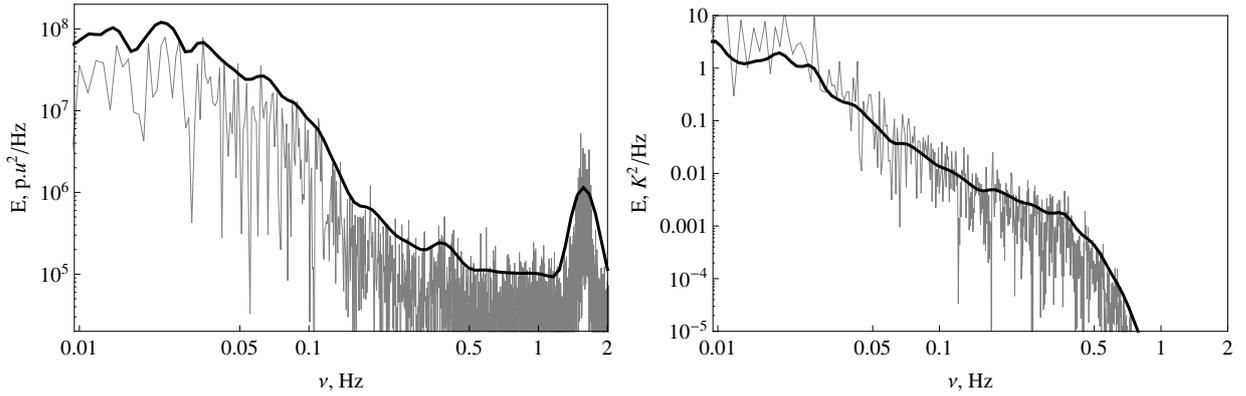


Рис. 6.2. Фурье-(тонкая серая линия) и вейвлет-спектры (толстая чёрная линия) сигналов $P_{LDF}(t)$ (слева) и $T(t)$ (справа), приведённых на Рис. 6.1

зование вейвлетов с низким спектральным разрешением и высоким пространственным. В случае вейвлета Морле, это соответствует малым значениям параметра σ . Необходимо отметить, что при малых значениях $\sigma < 1$ нарушается требование нуля среднего значения анализирующей функции. Далее для кросс-корреляционного анализа использован вейвлет Морле для $\sigma = 1$, который даёт оптимальное пространственно-частотное разрешение, приемлемое для задачи исследования.

Значимость корреляции проверяется путём построения суррогатных данных $x'(t)$ из исходного сигнала $x(t)$ согласно алгоритму, описанному в [516]. Сначала для исходного сигнала $x(t)$ находятся комплексные коэффициенты Фурье $F(\nu)$, где ν – частота. Значение модулей коэффициентов Фурье сохраняется, а фазы случайным образом перемешиваются. Чтобы получить действительную функцию $x'(t)$, фазы симметризируются так, что $\arg(f) = -\arg(-f)$. Процедура рандомизации фаз выполняется независимо в каждом сигнале $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$. Пример суррогатных данных $P'_{LDF}(t)$ и $T'(t)$ показан на Рис. 6.4. Для оценки значимости для каждой пары сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ строится 70 пар суррогатных данных и вычисляется усреднённый коэффициент вейвлет-корреляции по всему набору суррогатов. Вейвлет-корреляция, рассчитанная по описанному алгоритму, показана на Рис. 6.3 красным цветом. Видно, что порог значимости, оценённый по суррогатам как 3-й квартиль от полученного распределения для сигналов заданной длины (20 минут), составляет порядка 0.5 на частоте 0.01 Гц и уменьшается с частотой.

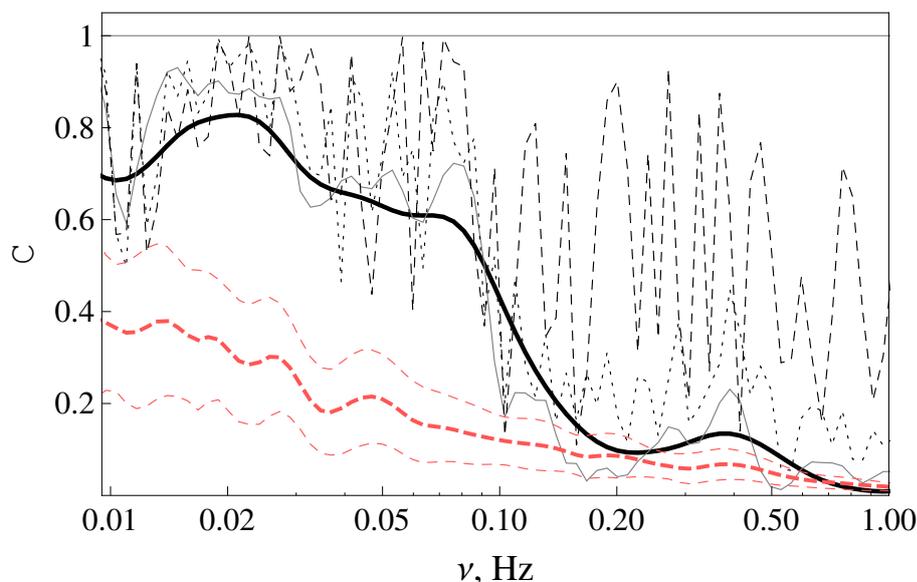


Рис. 6.3. Модуль вейвлет-кросс корреляции (1.9) сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ представленных на Рис. 6.1 для $\sigma = 1$ (толстая чёрная линия), $\sigma = 2$ (тонкая серая линия), $\sigma = 10$ (точечная), $\sigma = 100$ (штриховая) и $\sigma = \infty$ (горизонтальная тонкая серая линия). Красная толстая штриховая линия показывает вейвлет кросс-корреляции для суррогатов, осредненных по 70 реализациям, тонкие штриховые линии показывают 1 и 3 квартиль.

На Рис. 6.5 приведены примеры абсолютных значений функций вейвлет-корреляций для 5 обследованных испытуемых. Представленные графики, несмотря на значительное разнообразие в их поведении, имеют общие черты. На низких частотах значимая корреляция (0.5 и более) видна почти для всех испытуемых. На высоких частотах корреляция уменьшается, хотя заметный спад происходит на разных частотах: испытуемый 1 имеет наибольший диапазон корреляции (примерно до 0.3 Гц), в то время в измерениях 5 не обнаружена корреляция выше 0.05 Гц, и на низких частотах корреляция незначительна. Одна из причин общего снижения корреляции на высоких частотах связана со свойствами кожи, которая действует как низкочастотный фильтр [24]. Это приводит к быстрому затуханию спектра сигнала $T(t)$: колебания на частотах выше 0.5 Гц настолько слабы, что даже ЧСС не прослеживается в спектрах.

Относительно высокая корреляция без выраженных максимумов наблюдается, в основном, в низкочастотном диапазоне. Важно подчеркнуть, что механизмы регуляции микроциркуляции не характеризуются отчётли-

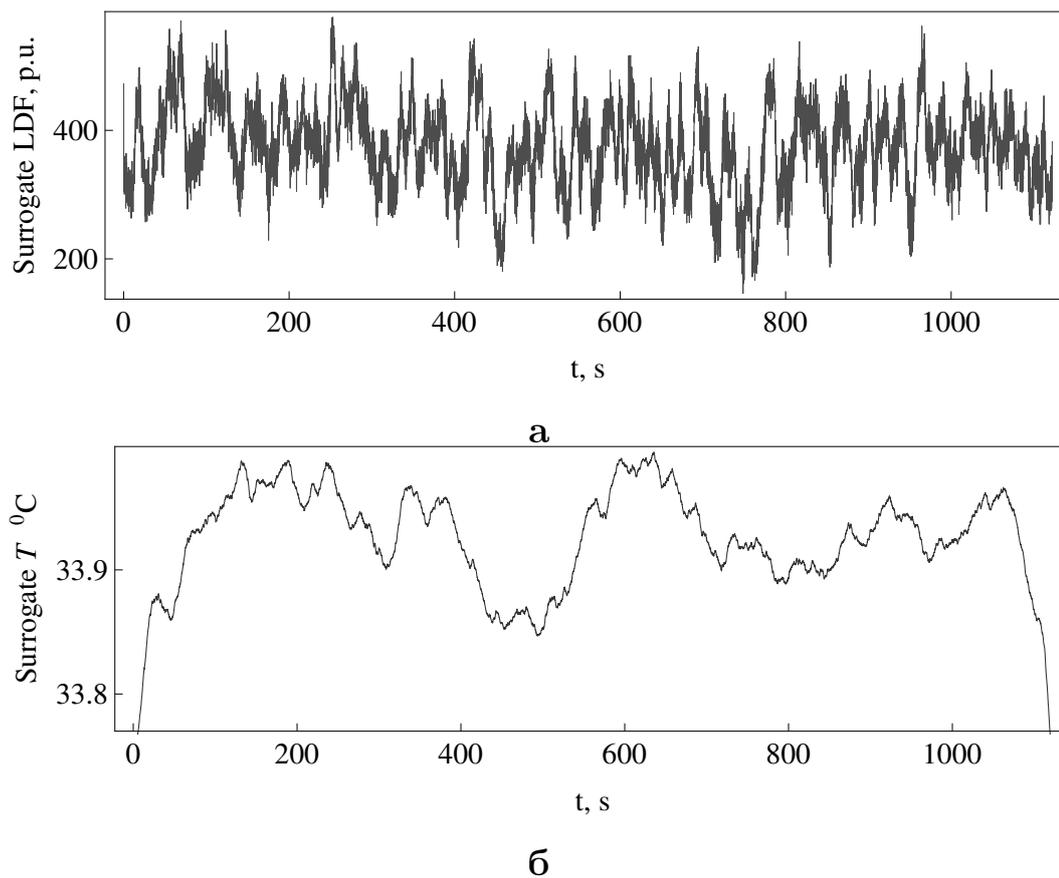


Рис. 6.4. Пример рядов суррогатных данных **а** - $P'_{LDF}(t)$ и **б** - $T'(t)$.

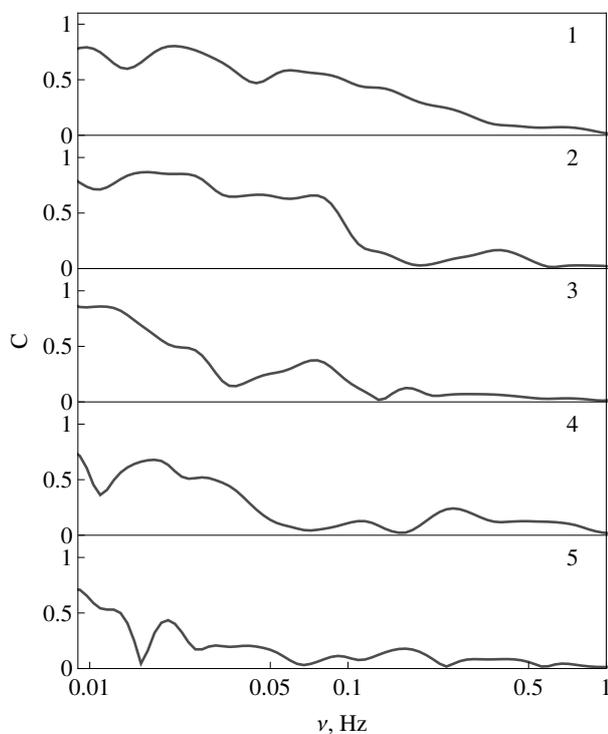


Рис. 6.5. Несколько характерных примеров поведения вейвлет кросс-корреляции сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$

выми колебаниями с фиксированной частотой (в отличие от пульсовой волны, которая связана с сердечным ритмом). Таким образом, при обсуждении частот, связанных с определенным механизмом регулирования, следует учитывать типичное время отклика, а не регулярные колебания. Относительно устойчивая высокая корреляция наблюдается для частот, соответствующих эндотелиальному механизму.

Несмотря на эти общие закономерности, корреляционная функция в каждом случае имеет свои особенности. Некоторые испытуемые имеют высокую корреляцию в частотном диапазоне, связанном с миогенным механизмом (примеры 1, 2 и 3). Примеры с локальными максимумами, соответствующими нескольким регуляторным механизмам, встречаются довольно редко (пример 4). Заметим, что наша выборка включает случаи с обычно низкими (пример 5) и относительно высокими (примеры 1 и 2) абсолютными значениями корреляционной функции. Такая дисперсия результатов обусловлена зависимостью интенсивности кровотока от большого числа физиологических факторов, которые довольно трудно поддерживать постоянными. В частности, дисперсия обусловлена морфологической неоднородностью микрососудов кожи и вариабельностью местных, нейрогенных и эндотелиальных факторов регуляции кровотока. Несмотря на различие вейвлет корреляции от субъекта к субъекту, воспроизводятся основные свойства, а именно пульсации записей $T(t)$ и $P_{LDF}(t)$ имеют высокую корреляцию в полосе частот 0.01-0.05 Гц и близки к нулю для частот выше 0.2 Гц.

Значение медианы и ошибки ее определения для вейвлет кросс-корреляции $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ по всей выборке показаны на Рис. 6.6 (слева). Для сравнения на том же рисунке представлено медианное значение корреляции, рассчитанное для суррогатных данных. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что медианные значения корреляции $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ статистически больше, чем аналогичные значения для суррогатных данных в диапазоне частот 0.01-0.1 Гц (значительное превышение видно в диапазоне 0.01-0.05 Гц).

Сдвиг фаз, усреднённый по 17 наблюдениям, показан на Рис. 6.6 справа. В области низких частот существует устойчивый сдвиг фаз ϕ , который

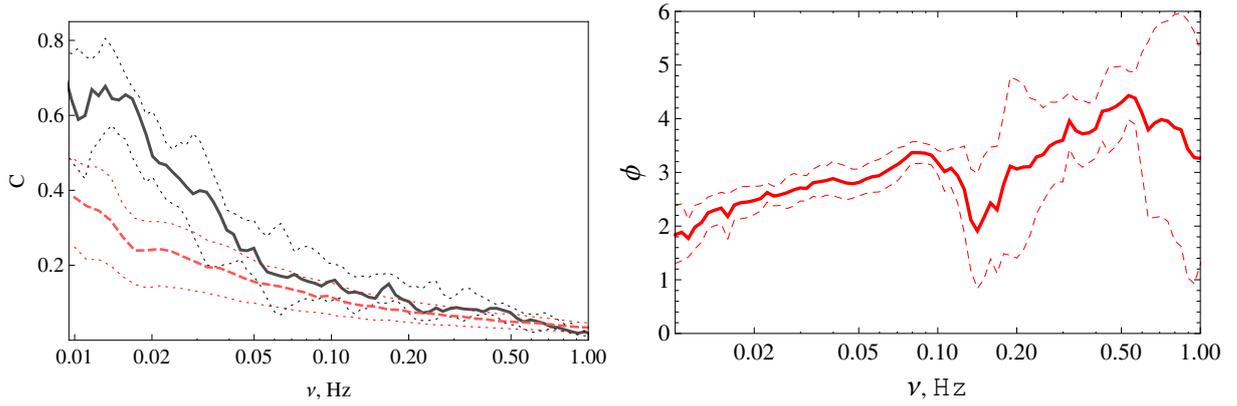


Рис. 6.6. Модуль (слева) и разность фаз (справа) вейвлет кросс-корреляции сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ усреднённые по всей выборке, (сплошная линия - медианное значение, точки - 1 и 3 квартили). Штриховые линии показывают медианные значения для суррогатных данных.

возрастает с частотой. При этом пульсации температуры отстают от пульсаций кровотока. В высокочастотном диапазоне ($\nu > 0.1$ Гц) дисперсия сдвига фаз становится достаточно большой, что связано с очень слабыми пульсациям КТ, и, как следствие, незначимой корреляцией. Таким образом, нельзя сделать никаких выводов относительно сдвига фаз на частотах выше $\nu = 0.05$ Гц.

Полученные экспериментальные результаты позволяют оценить эффективную глубину залегания источников температурных волн. Для этого рассмотрим хорошо известное решение одномерного уравнения теплопроводности в случае когда источник температурной волны – гармонический осциллятор. В рассматриваемой ситуации решение описывается затухающей волной:

$$T(x, t) = T_0 e^{-\alpha x} \cos(2\pi\nu t - \alpha x), \quad (6.1)$$

здесь $\alpha = \sqrt{\pi\nu/\chi}$, ν – частота колебаний температуры в источнике, t – время, χ – температуропроводность кожи. Амплитуда осцилляций уменьшается экспоненциально, фазовый сдвиг нарастает с расстоянием и частотой как $x\sqrt{\nu}$. При интерполяции низкочастотной области часть ($0.01 < \nu < 0.05$) кривой $\phi(\nu)$, представленной на Рис. 6.6 б при помощи функции корня квадратного и используя для теплопроводность кожи $\chi = (7 \pm 2) \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/\text{с}$

[517], получаем, что глубина залегания источника тепловых колебания составляет порядка 1.5–1.9 мм. Эта оценка совпадает с глубиной, на которой расположены сосуды.

По полученным экспериментальным данным возможно оценить амплитуду колебаний температуры внутри ткани. Для $\nu \approx 0.01$ Hz (эндотелиальный диапазон) эта амплитуда составляет порядка $3\delta T_e$, где δT_e – амплитуда колебаний $T(t)$ в данном частотном диапазоне. Для $\nu \approx 0.1$ Гц соответствующая амплитуда составляет около $35\delta T_m$ (δT_m – амплитуда колебаний в миогенном частотном диапазоне). Предполагая, что тепло, выделяемое в периферических тканях за счёт метаболических процессов, пренебрежимо мало, получаем, что колебания температуры на поверхности кожи в основном вызваны изменениями сосудистого тонуса в поверхностной артериальной сети, которые отражают функциональное состояние системы микроциркуляции. Эта оценка согласуется с физиологическими данными [518] и сведениями представленными в Разделе 1.2. Пульсации температуры, наблюдаемые на поверхности кожи, вызваны изменениями теплопередачи, обеспечиваемой перфузией крови, которая имеет более высокую температуру, чем ткань, и вариации $T(t)$ и $P_{LDF}(t)$ в данном частотном диапазоне должны быть связаны формулой (6.1). Чтобы проверить это предположение, была проведена вейвлет-фильтрация $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ в полосе частот ($0.01 < \nu < 0.1$).

В качестве примера рассмотрим сигналы $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$, представленные на Рис. 2.4. Необработанные записи $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ не коррелируют между собой (см. Таблицу 6.1). Полученные после вейвлет-фильтрации сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ в полосе частот 0.01–0.1 Гц данные (Рис. 6.7а,б) имеют слабую антикорреляцию. Принимая во внимание скорость затухания и фазовый сдвиг для каждой частоты (6.1) и используя обратное вейвлет-преобразование, можно восстановить температурные колебания из сигнала $P_{LDF}(t)$ (Рис. 6.7, с). Соответствующие пары рядов данных демонстрируют высокую корреляцию (0.73 и 0.79, Таблица 6.1)

На Рис. 6.8 представлена диаграмма размаха для коэффициента линейной корреляции различных комбинаций исходных, фильтрованных и восстановленных сигналов $P_{LDF}(t)$, $P_T(t)$. Исходные сигналы, как и сигнала-

Таблица 6.1. Коэффициент корреляции Пирсона $R_{m,n}$ для фильтрованного и восстановленного сигналов для примера показанного на Рис. 6.1)

Данные	$R_{m,n}$
Измеренные $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$	0.05
Фильтрованные $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$	-0.32
Фильтрованный $P_{LDF}(t)$ и восстановленный $T(t)$	0.79
Восстановленный $P_{LDF}(t)$ и фильтрованный $T(t)$	0.73

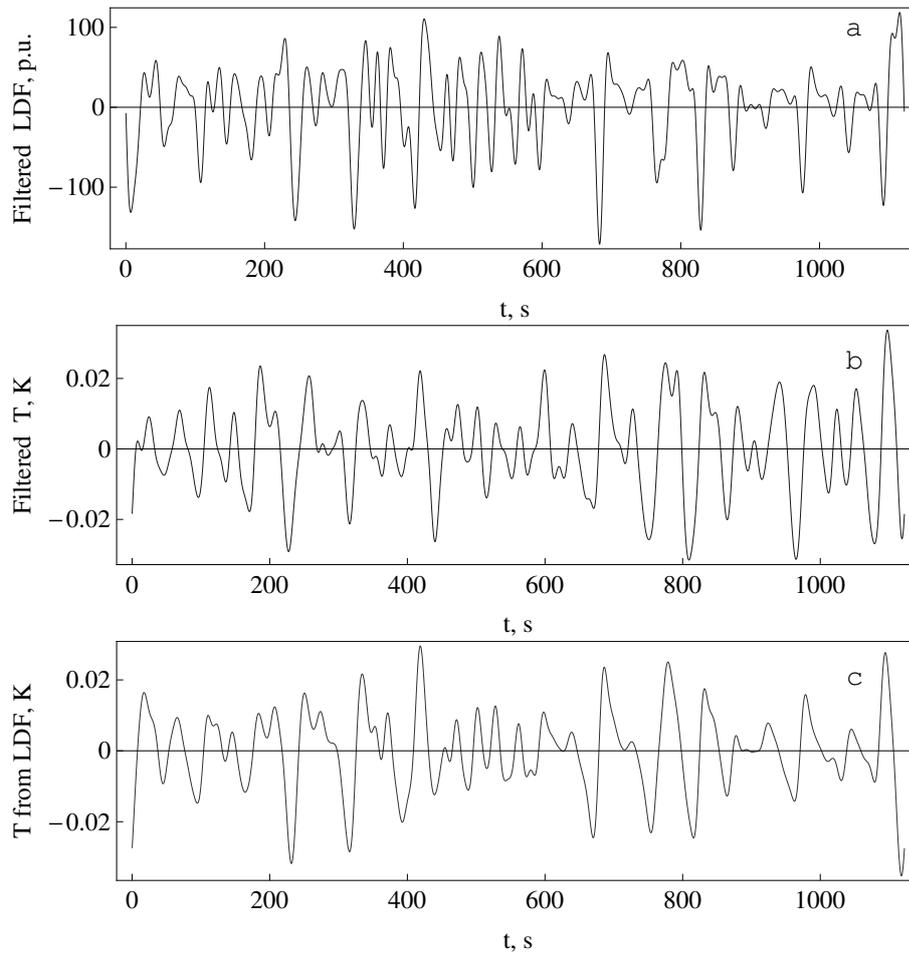


Рис. 6.7. Отфильтрованные $P_{LDF}(t)$ (a) и $T(t)$ (b) сигналы, полоса пропускания 0.01-0.07 Гц. Восстановленный сигнал $T(t)$ из $P_{LDF}(t)$ (c).

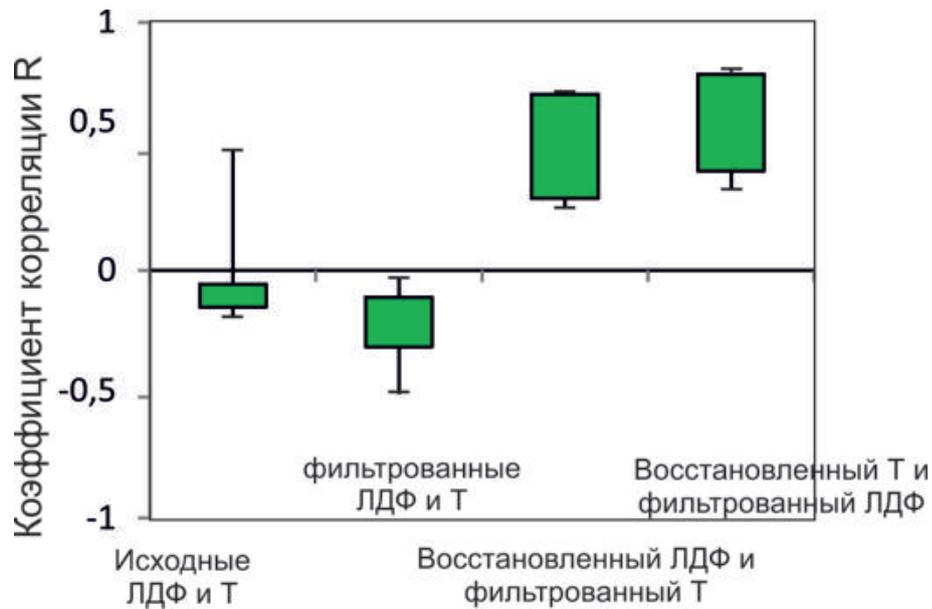


Рис. 6.8. Диаграмма размаха для коэффициента линейной корреляции исходных, фильтрованных и восстановленных сигналов $P_{LDF}(t)$, $P_T(t)$.

лы с отфильтрованным высокочастотным шумом, не коррелируют между собой. При этом восстановленный $P_{LDF}(t)$ обнаруживает умеренную корреляцию с отфильтрованным $T(t)$, как и восстановленный температурный сигнал с отфильтрованным $P_{LDF}(t)$. Полученные результаты подтверждают возможность восстановления колебаний сигнала P_{LDF} в низкочастотной области.

На основании полученных результатов можно заключить, что колебания температуры кожи отражают функциональное состояние системы микроциркуляции в полосе частот 0.01 – 0.1 Гц и мониторинг $T(t)$ может быть использован для оценки тонуса микрососудов. Важно отметить, что исследование проводилось только для состояния покоя. Полученная взаимосвязь может быть более сложной при значительных изменениях кровотока и требует дополнительных исследований. В следующем разделе рассмотрим аналогичную связь при проведении холодной пробы.

6.2. Связь кожной температуры и периферического кровотока при проведении холодной пробы

По сравнению с обнаружением колебаний кровотока в нормальных тепловых условиях исследование аналогичных колебаний после теста на

охлаждение может более точно выявить функции эндотелия.

6.2.1. Методика исследования

Исследование проводилось в группе добровольцев состоящих из 8 человек (3 мужчин и 5 женщин), здоровых, некурящих, все подписали информированное согласие. На дистальных фалангах верхней правой конечности были прикреплены датчики ЛДФ и температуры. Измерения кровотока проводилось при помощи ЛДФ монитора (Moor Instruments FloLAB Server, UK), а кожной температуры при помощи прибора Микротест (ФМ Диагностика, Россия). Подробнее методика измерения описана в разделе 6.1. Длительность исследовательского протокола составляла 23 минуты, в течение которых непрерывно записывались сигналы $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$. Первые 10 минут запись проходила в нативных условиях, далее на три минуты левая (контралатеральная) рука погружалась в ванночку с водно-ледовой смесью (0°), далее рука сушилась полотенцем и ещё в течении 10 минут проводилась запись процесса восстановления. Схема проведения холодового прессорного теста показана на Рис. 6.9. Подушечки пальцев были выбраны, поскольку амплитуда колебаний температуры кожи на этом участке в несколько раз выше, чем в анатомически тонкой коже за счёт большей плотности микрососудов.

6.2.2. Результаты исследования

На Рис.6.10 представлены характерных записи сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$, полученные при проведении описанного выше теста. Время охлаждения контралатеральной конечности помечено вертикальными штриховыми линиями. Отметим, что во время контралатерального охлаждения $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ уменьшаются, при этом перфузия наблюдаемого участка ткани изменяется ступенчатым образом, в то время как температура – плавно и за время охлаждения (3 минуты) не достигает стационарных значений. После окончания контралатерального охлаждения $P_{LDF}(t)$ скачком восстанавливается, а температура нарастает медленно и выходит на стационар, этот процесс продолжается 3-5 минут.



Рис. 6.9. Схема проведения холодной прессорной пробы (ХПП). Во время первых 10-ти минут записываются сигналы в нативных условиях, с 650 по 730 с контралатеральная верхняя конечность погружается в ванночку с водно-ледовой смесью, начиная с 730 с контралатеральную конечность достают и идёт восстановительный период. На схеме обозначены интервалы в которых рассчитываются спектральные характеристики 0 – нативные условия, 1– контралатеральная холодовая проба, 2 и 3 интервалы восстановительного периода.

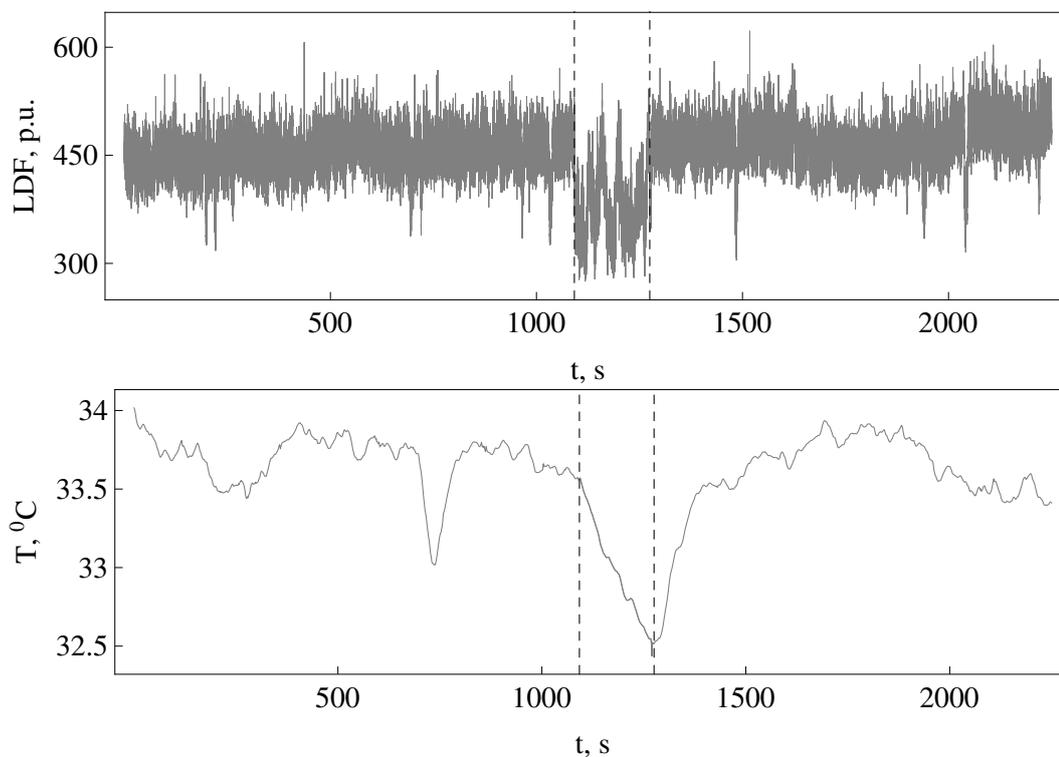


Рис. 6.10. Пример сигналов $P_{LDF}(t)$ (вверху) и $T(t)$ (внизу). Вертикальными штриховыми линиями обозначены временные границы контралатерального охлаждения.

Таблица 6.2. Изменения $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ вызванные контралатеральным охлаждением

Величина	Медианное значение	Среднее значение
$\delta P_{LDF}^{1,2}$	0.55 ± 0.11	0.45 ± 0.22
$\delta P_{LDF}^{3,2}$	0.46 ± 0.14	0.45 ± 0.19
$\delta P_{LDF}^{1,3}$	0.07 ± 0.08	0.08 ± 0.09
$\langle T_1 \rangle - \langle T_2 \rangle, ^\circ\text{C}$	0.96 ± 0.33	0.95 ± 0.44
$\langle T_3 \rangle - \langle T_2 \rangle, ^\circ\text{C}$	0.45 ± 0.18	0.56 ± 0.30
$\langle T_1 \rangle - \langle T_3 \rangle, ^\circ\text{C}$	0.27 ± 0.19	0.55 ± 0.11

Поскольку $P_{LDF}(t)$ измеряется в относительных единицах, то сравнивать значения этой величины в разных измерениях достаточно сложно. По этой причине для оценки отклика системы микроциркуляции на холодовое воздействие использовалось относительное изменение величины $P_{LDF}(t)$, определённое следующим образом:

$$\delta P^{i,j} = \frac{\langle P_{LDF}^i(t) \rangle - \langle P_{LDF}^j(t) \rangle}{\langle P_{LDF}^i(t) \rangle}. \quad (6.2)$$

Здесь индексами i и j обозначены номера интервалов в соответствии со схемой на Рис. 6.9.

Температура во время холодового теста уменьшается монотонно, поэтому для оценки максимального изменения $T(t)$ усреднение проводится по последним 10 секундам во время охлаждения. В Таблице 6.2 приведены усреднённые по группам значения $\delta P_{LDF}^{i,j}(t)$ и $\delta T^{i,j}(t)$. Анализируя данную таблицу можно сделать вывод о том, что перфузия уменьшается во всех 8 измерениях, медианное значение от относительных изменений составляет $P_{LDF}^{1,2} = 0.55 \pm 0.11$, температура в среднем уменьшается на 1 К.

На Рис.6.11 представлены вейвлет-спектрограммы сигналов, показанных на Рис. 6.10. Видно, что на спектрограмме сигнала $P_{LDF}(t)$ во время холодового теста отмечается увеличение пульсаций, в то время как на спектрограмме $P_T(t)$ – уменьшение. На первый взгляд этот результат выглядит противоречивым. Однако, принимая во внимание связь динамики среднего значения и амплитуды пульсаций сигнала $P_{LDF}(t)$, показанного в разделе

2.1.2, можно сделать вывод о том, что он обусловлен немонотонной связью этих величин.

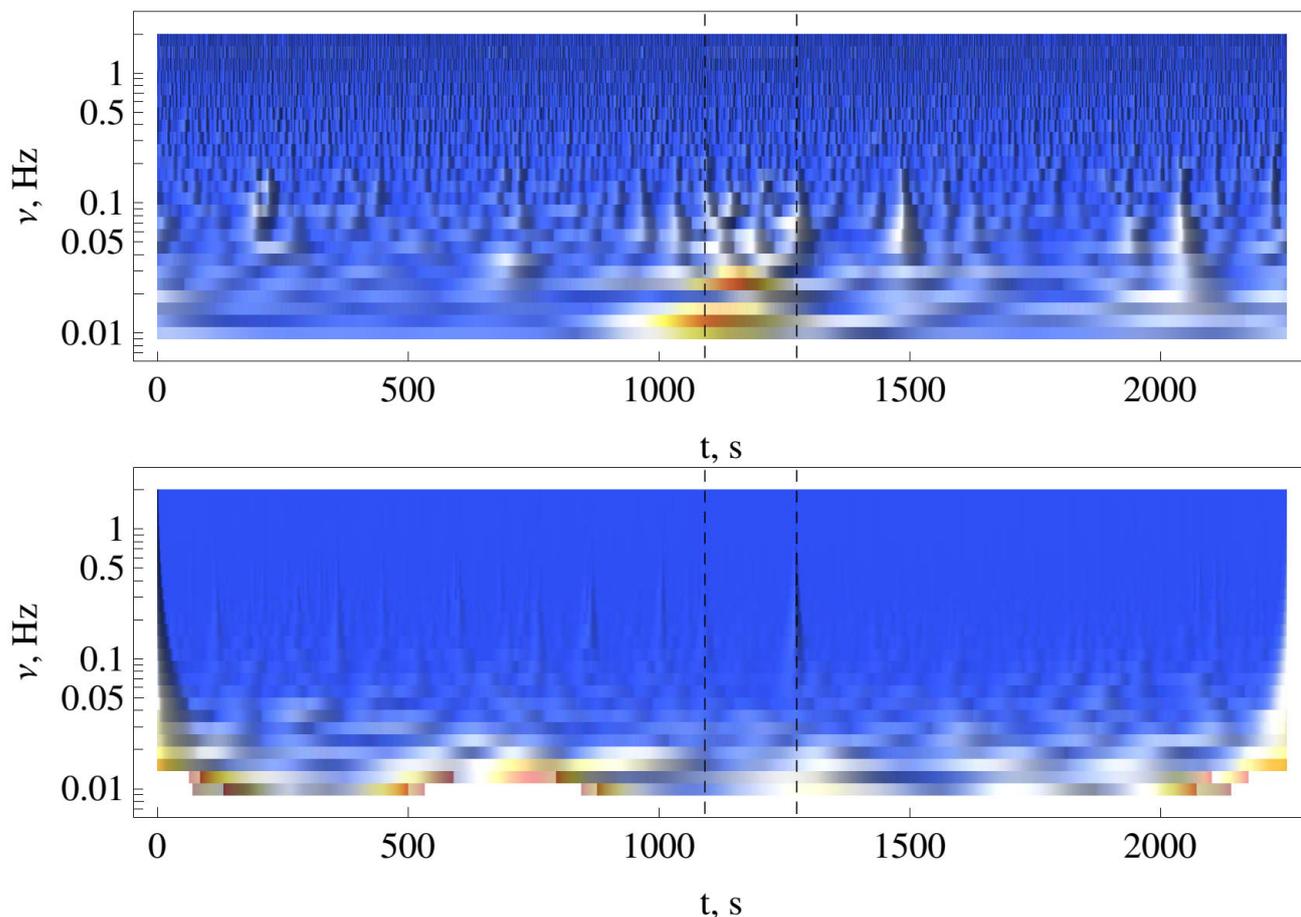


Рис. 6.11. Вейвлет-спектрограммы $P_{LDF}(t)$ (вверху) и $T(t)$ (внизу), представленных на Рис. 6.10. Вертикальными штриховыми линиями обозначены временные границы контралатерального охлаждения.

6.2.3. Выводы по разделу

В данном параграфе показано, что прессорный холодовой тест вызывает вазоконстрикцию в контралатеральной конечности. Такая реакция приводит к быстрому ступенчатому снижению перфузии крови и плавному уменьшению температуры, которое составляет порядка 1 К. Такое поведение можно объяснить двумя механизмами. Первый связан с быстрым изменением теплопроводности кожи из-за уменьшения количества вовлечённых капилляров за счёт закрытия прекапиллярных сфинктеров. Вторая причина изменения температуры на поверхности – уменьшение мощности

источника температурных колебаний, связанных с сужением артериол и перенаправлением кровотока через АВА.

6.3. Численное моделирование процесса распространения тепла от уединённого кровеносного сосуда

Для того, чтобы определить основные физиологические факторы, влияющие на характеристики колебаний кожной температуры, рассмотрим процесс теплопереноса в ткани в одномерной постановке. Пусть на глубине $l = 2.0$ мм под поверхностью кожи залегает кровеносный сосуд, который является источником тепловых колебаний (Рис. 6.12). В сосуде с частотой ω пульсирует кровоток:

$$w_b = w_0(1 + k \sin(\omega t)), \quad (6.3)$$

где w_0 – перфузия, равная отношению протекающего объёма крови через объем ткани, k – амплитуда пульсаций. Теплопередача вдоль оси x , направленной по нормали к поверхности кожи, в ткани (T – температура ткани) описывается уравнением биотепла Пеннеса [519]

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + Q_m + \omega_b \rho_b c_b (T_b - T), \quad (6.4)$$

где ρ и ρ_b – плотности ткани и крови (символ b используется для параметров крови), соответственно, c и c_b – удельные теплоёмкости ткани и крови, λ – коэффициент теплопроводности. В данной постановке не учитывается процесс метаболизма ($Q_m = 0$), поэтому единственным источником тепла в этой системе является течение крови температуры T_b в сосуде. Предполагается, что потока крови через стенку сосуда нет:

$$w_b(x \neq 0) = 0. \quad (6.5)$$

Теплообмен с окружающей средой описывается

$$\lambda \frac{\partial T}{\partial x} \Big|_{x=l} = h(T - T_\infty), \quad (6.6)$$

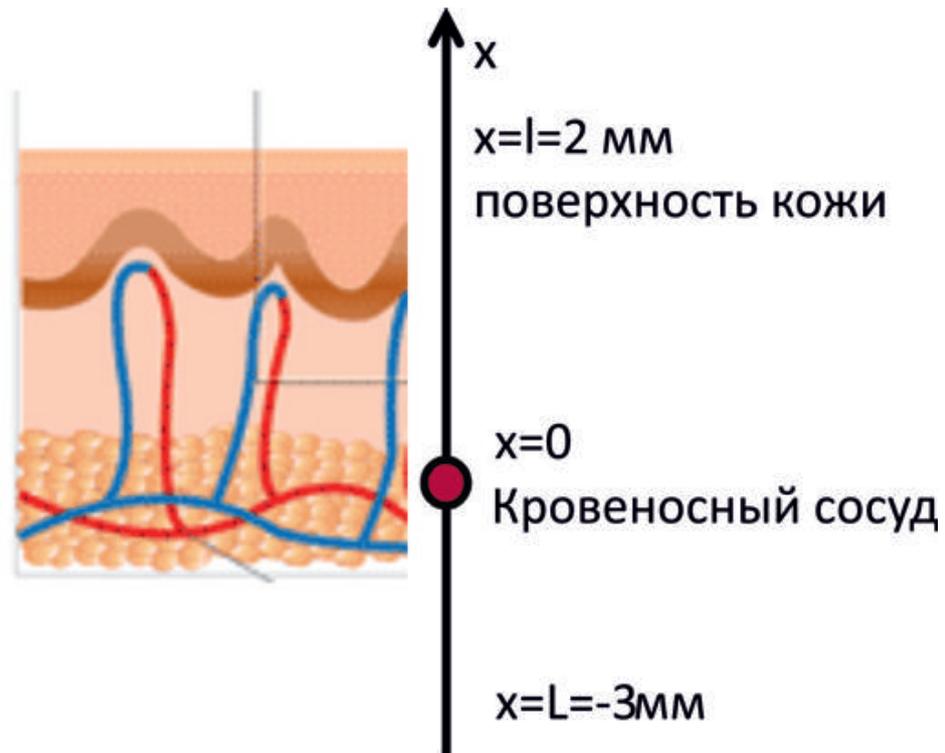


Рис. 6.12. Геометрия одномерной задачи распространения тепла от уединённого кровеносного сосуда.

где h - коэффициент теплообмена. Предполагаем, что в глубине ткани ($L = -3.0$ мм) тепловой поток от кровеносного сосуда исчезающе мал, поэтому

$$\lambda \frac{\partial T}{\partial x} \Big|_{x=L} = 0. \quad (6.7)$$

Уравнения (6.3-6.4) вместе с граничными условиями (6.5-6.7) образуют систему уравнений, которая решается методом конечных разностей на сетке из 250 узлов. Численные значения, использованные в модели, приведены в Таблице 6.4. Скорость перфузии ω_0 составляет 8.0 мл в секунду на 1 мл ткани, что соответствует скорости крови 0.9 см/с, которая находится в физиологическом диапазоне скорости крови в артериолах (0.1-10 см/с) [520].

6.3.1. Результаты

На Рис. 6.13 показано распределение температуры в коже и ткани для частоты колебаний кровотока 0.01 Гц и амплитуды $k = 1/2$. Максимальная температура и амплитуда колебаний наблюдается вокруг кровеносного

Таблица 6.3. Физические характеристики МЦР [49, 521]

Название	Обозначение	Ед. измерения	Значение	
			Ткань	Кровь
Плотность	ρ	кг/м ³	1200	1100
Удельная теплоёмкость	c	Дж/(кг К)	3391	3300
Теплопроводность	λ	Вт/(м К)	0.37	
Температура	T_b	°С		37

Таблица 6.4. Числовые параметры модели [49, 521]

Название	Обозначение	Ед. измерения	Значение
Температура окружающей среды	T_{inf}	°С	22
Коэффициент теплоотдачи	h	W/m ²	8.7
Количество узлов			250
Перфузия крови [520]	w_0	мл/(мл _{tissue} с)	8.0
шаг по времени	dt	с	1
шаг по пространству	dx	м	$2 * 10^{-5}$

сосуда (в окрестности $x = 0$), $T(t)$ снижается по мере удаления от сосуда (с ростом $|x|$). Температура в окружающих тканях колеблется за счёт изменения кровотока в сосуде, и, как следствие, осцилляции $T(t)$ значительно меньшей амплитуды могут быть обнаружены на поверхности кожи.

Рассмотрим колебания кровотока с частотой 0.02 Гц и 0.01 Гц. Динамика ω_b и T на поверхности кожи ($x = 2.0$ мм) после выхода средних характеристик системы на стационар (порядка 300 с) представлена на Рис. 6.14. Температурная волна затухает в ткани по мере распространения (чем выше частота, тем больше затухание), и отстаёт от волны кровотока, величина задержки составляет 16 и 25 с для частот 0.02 и 0.01 Гц соответственно.

В Таблице 6.5 приведены характерные значения амплитуд пульсаций температуры кожи для различных частот и их сравнение с экспериментом [44, 45]. Амплитуда колебаний кожной температуры уменьшается с ростом частоты, что отражает свойства кожи как низкочастотного тепло-

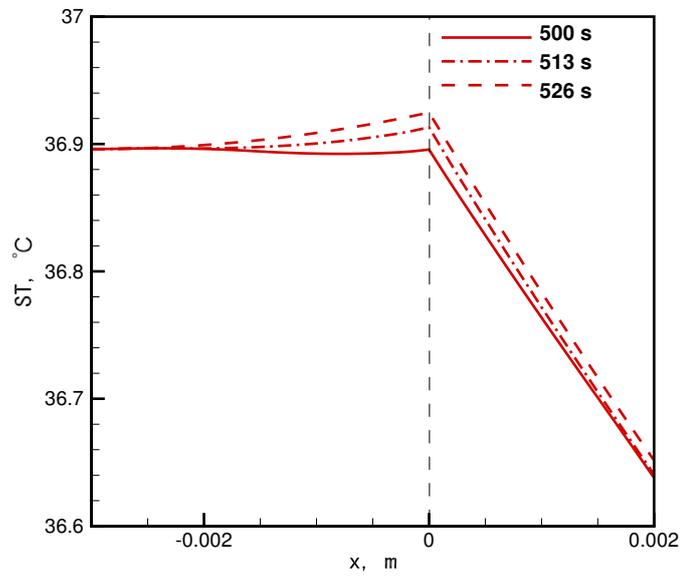


Рис. 6.13. Распределение температуры в ткани для колебаний кровотока в сосуде с частотой 0.01 Гц и $k = 1/2$.

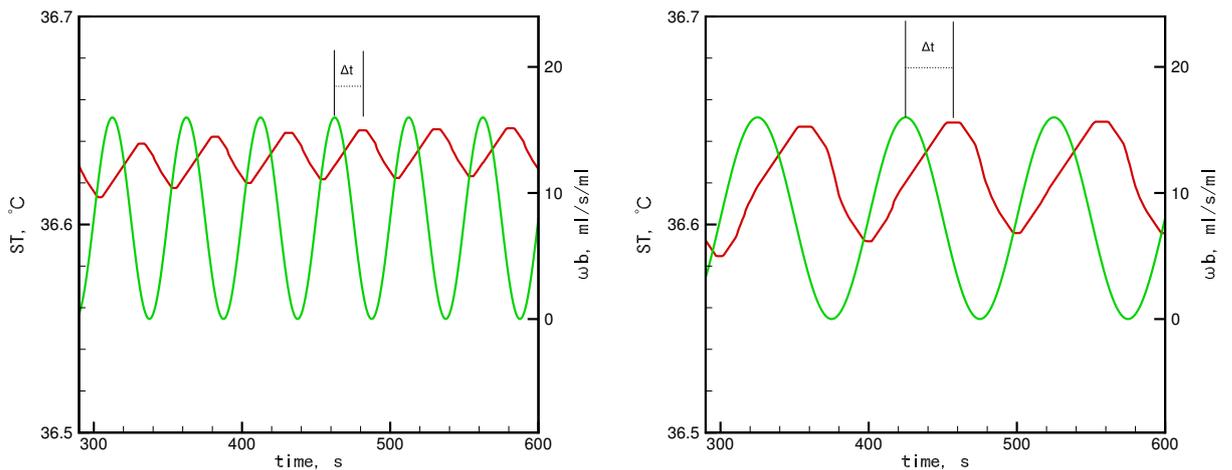


Рис. 6.14. Динамика кровотока в сосуде (зелёный) и температуры кожи (красный) для колебаний кровотока с частотой 0.02 Гц (слева) и 0.01 Гц (справа).

вого фильтра. На частотах 0.01 и 0.02 Гц, результаты вычислений близки к экспериментальным данным при $k = 1/2$, тогда как на частоте 0.1 Гц совпадение достигается при $k = 1.0$. Важно отметить, что предполагалось равенство амплитуд пульсаций кровотока различных частот, однако, учитывая различные физиологические механизмы генерации осцилляций кровотока, они не обязаны совпадать.

Таблица 6.5. Сравнение амплитуды пульсаций кожной температуры δT , полученной в результате моделирования, с экспериментальными данными.

ω	$10^3 \delta T, K$					
	Экспериментальные данные			Расчеты		
	[522]	[44]	[45]	k=1	k=1/2	k=2/5
0.1	-		2-4	3.8	1.0	0.5
0.02	9 ± 1	9 ± 1		22	6.1	3.1
0.01	17 ± 2	21 ± 4		53	17.4	8.9

Существует две причины изменения амплитуды колебаний температуры кожи: изменение амплитуды колебаний кровотока в артериоле и эффективная модуляция теплопроводности за счёт открытия и закрытия активных капилляров. Последняя может осуществляться из-за спонтанных колебаний в МЦР и внешних стимулов, таких как тепловое воздействие, окклюзия и другие, и происходит благодаря активности прекапиллярных сфинктеров.

Рассмотрим оба этих механизма. Слева на Рис. 6.15 представлена динамика кожной температуры при колебаниях потока крови с частотой 0.01 Гц с двумя различными амплитудами ($k = 1$ и $k = 0.5$). Отметим, что величина задержки колебаний температуры на поверхности кожи не зависит от амплитуды пульсаций кровотока, форма температурной волны искажена и имеет отклонения от гармонической, несмотря на то, что кровотоки задавался колеблющимся по гармоническому закону.

Второй механизм изменения амплитуды температуры кожи можно промоделировать изменением эффективной теплопроводности λ . На правой панели представлены зависимости амплитуды пульсаций δT от k для различных λ . Видно, что при малых λ зависимость линейна ($\delta T \sim k$), тогда

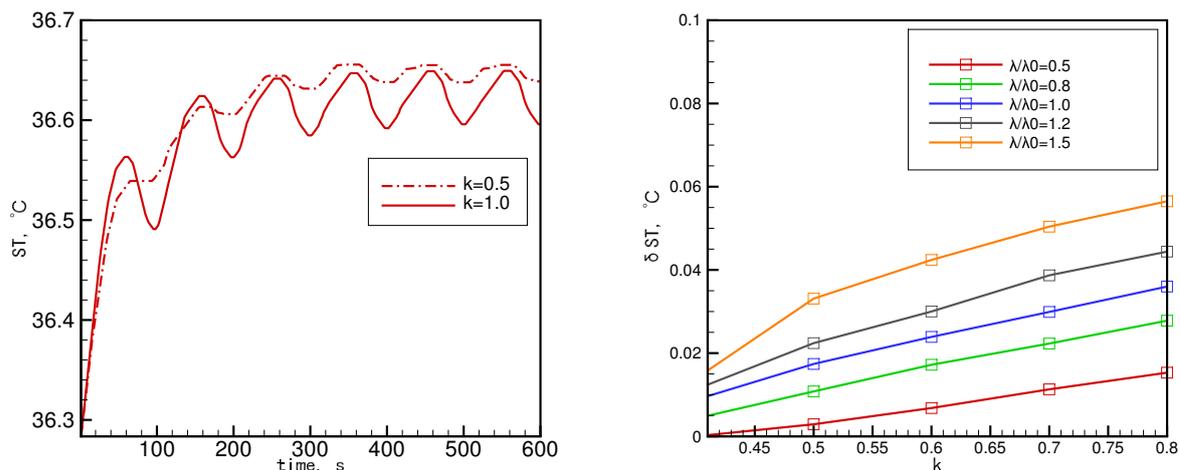


Рис. 6.15. Слева: эволюция температуры кожи, вызванная пульсирующим кровотоком для двух различных амплитуд пульсаций ($k = 1$ - сплошная красная линия и $k = 0.5$ - штрихпунктирная красная линия). Справа: зависимости температуры колебаний кожи от амплитуды пульсаций кровотока для различных значений теплопроводности λ .

как в тканях с высоким коэффициентом теплопроводности (высокой перфузией), которая может быть обеспечена большим количеством активных капилляров, зависимость сложнее.

В случае постоянной k амплитуда пульсаций δT зависит от λ линейно, во всем рассматриваемом интервале k (Рис. 6.16, слева). Увеличение λ вызывает рост амплитуды колебаний $T(t)$ и появлению временной задержки между волнами скорости кровотока и температуры. На Рис. 6.16 справа показана временная задержка тепловой волны при различной теплопроводности. Когда $\lambda/\lambda_0 = 1$, задержка составляет 25 с, что хорошо согласуется с результатами эксперимента, описанном в разделе 6.1.

Основным источником тепловых возмущений на поверхности кожи при постоянных внешних условиях, является движение крови. В данном разделе не изучается движения крови в капиллярах (конвективный перенос) а считается, что изменение перфузии приводит к изменению эффективной теплопроводности. Из полученных результатов видно, что если структура МЦР нарушена (например, разрежение капиллярной сети, как это имеет место при СД) перфузия снижается, или же есть механизм изме-

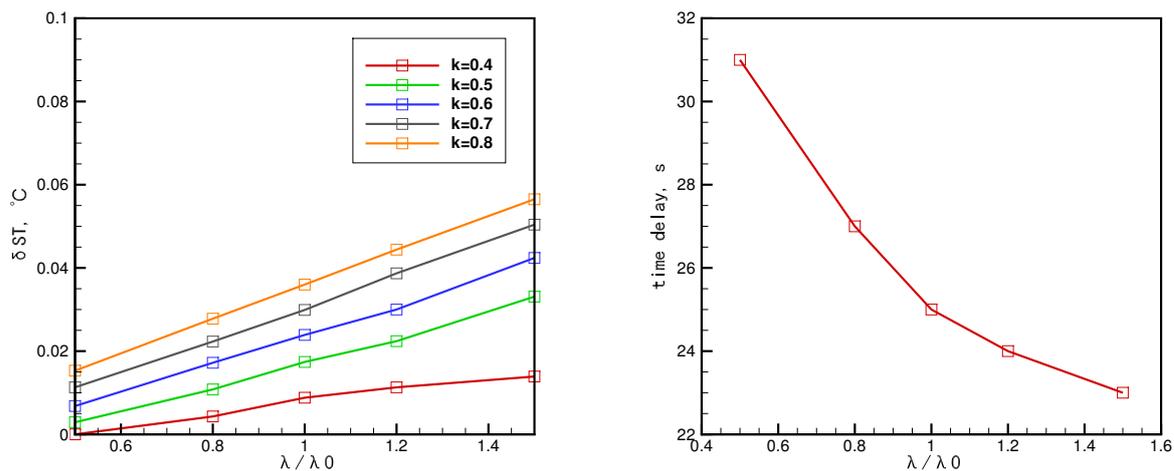


Рис. 6.16. Зависимость амплитуды колебаний δT для различных амплитуд k от эффективной теплопроводности λ (справа) и временного запаздывания между волнами кровотока и $T(t)$ (слева).

няющий количество активных капилляров, то это приведёт к ослаблению колебаний кожной температуры.

На основе одномерной модели показано, что скорость распространения волн различной частоты разная, при этом низкочастотные тепловые волны распространяются медленнее, чем высокочастотные. Амплитуда пульсаций $T(t)$ определяется глубиной залегания тепловых источников, интенсивностью кровотока и плотностью активного капиллярного русла.

Полученный результат имеет важное прикладное значение, а именно показывается, что регистрация высокочастотных колебаний температуры находится на пределе разрешающей способности прибора Микротест. В то же время, низкочастотные колебания регистрируются достаточно надёжно. На основании приведённых оценок можно сделать вывод о том, что пульсации КТ отражают процесс колебаний кровотока в объёме ткани. Это даёт возможность извлекать сведения о колебаниях кровотока в МЦР из измерений КТ как минимум в диапазоне частот 0.01-0.1 Гц, при наличии температурного датчика с разрешающей способностью 0.001 К. Изучать колебания с частотой выше 0.1 Гц датчиками такого типа невозможно.

6.4. Численное исследование колебаний кожной температуры при контралатеральном охлаждении

Задачей данного раздела является изучение процесса теплопереноса в кисти руки человека, которая имеет сложное анатомическое строение. Различные ткани кисти руки человека по-разному влияют на процесс теплопередачи. Ладонная поверхность кисти, и особенно дистальные фаланги пальцев содержат множество капилляров, АВА и вносят существенный вклад в теплообмен. Решение полной задачи для всех сосудов кисти руки человека крайне трудоёмкая и сложно реализуемая задача. По этой причине для расчёта перфузии используется упрощённая модель пористой среды, основанная на представлении ткани, пронизанной мелкими кровеносными сосудами. Пористость тканей определена как плотность микрососудов, которая равна объёмному отношению сосудов МЦР к ткани кисти. Перфузию крови можно представить как фильтрацию жидкости в пористом твёрдом теле. Упругими свойствами тканей в данной постановке пренебрегали.

Для микрососудов число Рейнольдса,

$$Re = \frac{\rho u D}{\mu}, \quad (6.8)$$

составляет порядка $Re \sim 10^{-2}$. Здесь где ρ , μ – плотность и динамическая вязкость крови соответственно, u – характерная скорость течения крови в микрососудах диаметром D . Таким образом, для описания фильтрации в пористой среде применим закон Дарси:

$$V_{Darcy} = -\frac{K}{\mu} \nabla P, \quad (6.9)$$

где K – проницаемость пористой среды, P – перфузионное давление, V_{Darcy} скорость фильтрации. Для расчёта проницаемости K было использовано эмпирическое выражение, связывающее проницаемость с пористостью ψ :

$$K = \frac{D^2 \psi^3}{180(1 - \psi)^2}. \quad (6.10)$$

Подставляя 6.9 в уравнение несжимаемости, получим для давления:

$$\nabla^2 P = 0. \quad (6.11)$$

Теплопередача в ткани руки описывается при помощи уравнения Пеннеса 6.4. Скорость перфузии крови ω_b можно определить как V_{Darcy}/L_c , где L_c длина микрососуда.

Течение в крупных сосудах (артериях и венах) даёт граничные условия кровяного давления и температуры для рассматриваемой пористой среды. Давление крови в артериях и венах было задано как 7.9 кПа и 1.3 кПа соответственно. Температура крови в артериях принималась равной 37°C. В модели Пеннеса предполагается, что в МЦР происходит полный обмен теплом между кровью и тканью, поэтому температура крови в венах задавалась такой же как окружающих тканей. Теплообмен с окружающей средой может происходить за счёт конвекции, испарения и теплового излучения.

$$-\lambda \frac{\delta T}{\delta n} = h_c(T - T_{ambi}) + h_{ra}(T - T_{ambi}) + E_{sk}, \quad (6.12)$$

где λ – теплопроводность кожи, T_{ambi} – температура окружающей среды, h_c и h_{ra} коэффициенты теплопроводности за счёт конвекции и излучения, E_{sk} – теплотеря за счёт испарения.

В Таблице 6.6 приведены физические параметры системы, использованные в расчётах: плотность (ρ), теплоёмкость (c) и теплопроводность (λ) для четырёх сред (кости, мышц, крови и кожи).

Кисть руки человека имеет сложное анатомическое строение (Рис. 6.17 слева). Для исследования процесса тепломассопереноса была построена 3D-модель. Для этого на основе серии магнитно-резонансных изображений была реконструирована структура путём выделения контуров, идентификации тканевого материала и генерации сетки. Эта часть работы была выполнена Х.Шао и описана в работах [523, 524]. Расчётная сетка показана на Рис.6.17 справа и включает в себя 17 184 узла и 13 769 элементов, что обеспечивает сходимость расчётов на имеющейся вычислительной технике.

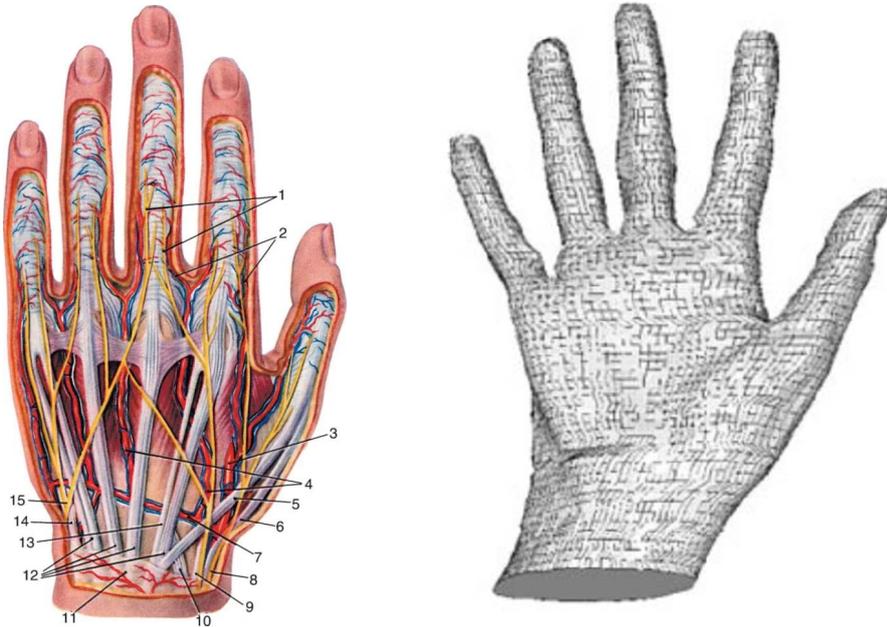


Рис. 6.17. Слева строение кисти руки человека, справа – расчётная сетка для моделирования процесса теплопереноса в кисти.

Таблица 6.6. Физические свойства исследуемых сред

Материал	кость (b)	мышца (m)	кровь	кожа
ρ , кг м ⁻³	1418	1270	1100	1200
c , Дж кг ⁻¹ К ⁻¹	2049	3768	3300	3391
λ , Вт м ⁻¹ К ⁻¹	2.21	0.35	0.50	0.37

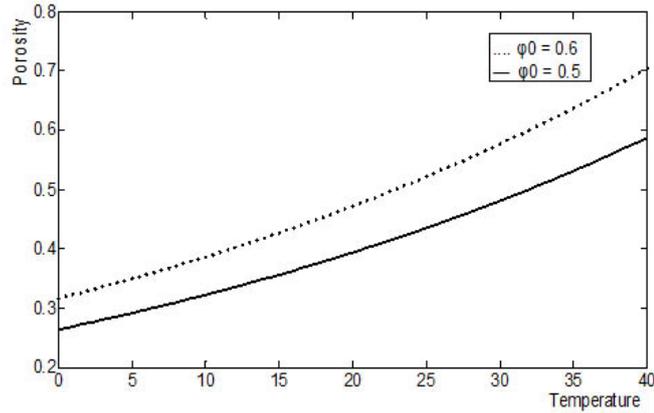


Рис. 6.18. Изменение $\psi_0(T)$ в зависимости от температуры ткани без учёта вазомоций.

Предположим, что вазомоции в МЦР (изменение диаметра артериол, функционирование прекапиллярных сфинктеров и АВА) можно записать как изменение пористости ткани и кожи. Поскольку вазомоторная функция в основном осуществляется в поверхностных тканях, пористость кости была выбрана константой. Учитывая внутреннюю терморегулятивную деятельность и чувствительность к температуре, предположим, что пористость – периодически изменяющаяся функция, амплитуда которой зависит от температуры кожи:

$$\psi(t, T) = \psi_0 \left(1 + \sum_{i=1}^n A_i \sin(2\pi f_i t) \exp((T - 32)/50) \right), \quad (6.13)$$

где ψ_0 – значение пористости в термически нейтральном состоянии, f_i – частота внутренней активности, которая вызывает вазомоции, A_i – амплитуда колебаний пористости для заданной частоты f_i , а n – количество рассматриваемых частот вазомоций. Термически нейтральной принимается КТ равная 32°C .

Оценим вариации $\psi(t, T)$, связанные с изменения температуры, при отсутствии колебаний. В этом случае $\psi(T)$ – экспоненциальная функция переменной T (Рис.6.18). Если значение пористости в термически нейтральных условиях составляет $\psi_0 = 0.5$, а вариация $\psi - 0.03$, это приводит к изменению температуры на 3 К.

Согласно распределению плотности микрососудов в руке человека,

средние значения пористости при температуре 32°C ψ_0 кости, подушечки пальцев и других тканей при температуре (32°C) были заданы соответственно как 0.2, 0.6, 0.5. В качестве сенсорного сигнала рассматривалась температура кожи (T_{sk}), f_i – частота терморегулятивной активности, основное внимание уделяется эндотелиальным колебаниям с частотой 0.01 Гц.

Целью проводимого исследования является сравнение поведения температуры кожи кисти руки человека при нормальной функции системы МЦР, дисфункции эндотелия, связанной со снижением вазодилатации, которая характерна для ряда патологических состояний, например, СД.

На Рис. 6.19 показано распределение температуры поверхности кисти руки человека до, во время и после окончания охлаждения при нормальной функции МЦР. Отметим, что наблюдается снижение КТ при охлаждении и увеличение после охлаждения. Интересно сравнить полученные распределения с термографическим изображением кисти руки (Рис.6.20) при контралатеральном охлаждении (протокол описан в разделе 6.2). Для получения пространственного распределения температуры использована ИК камера Flir FC5000 (Flir Systems, США, Швеция) с разрешающей способностью по температуре 0.02°C . Как в результатах наблюдений, так и в математической модели поле температур неоднородно, при изучении временной эволюции отмечаются пульсации температуры. При контралатеральном охлаждении и при восстановлении в первую очередь температура изменяется на дистальных фалангах (Рис.6.19 б и 6.20 б, в), изменение температуры составляет порядка 1К. На стадии восстановления КТ пальцев заметно выше, чем ладони, что согласуется с физиологическими данными [525]. Это связано с более плотной, имеющей больший вазомоторный резерв, системой микроциркуляции в подушечках пальцев. Полученный результат свидетельствует об адекватности предложенной математической модели.

Изменение температуры в двух областях кисти руки, подушечки пальца и ладони, полученные при моделировании, показаны на Рис.6.21, а при анализе термографической записи, фрагменты которой представлены на Рис.6.20, на Рис. 6.22. Видно, что в целом эволюция КТ в различных участках кисти руки близка. На подушечке пальца изменение КТ во время охлаждения и уменьшение колебательных компонент выражены сильнее,

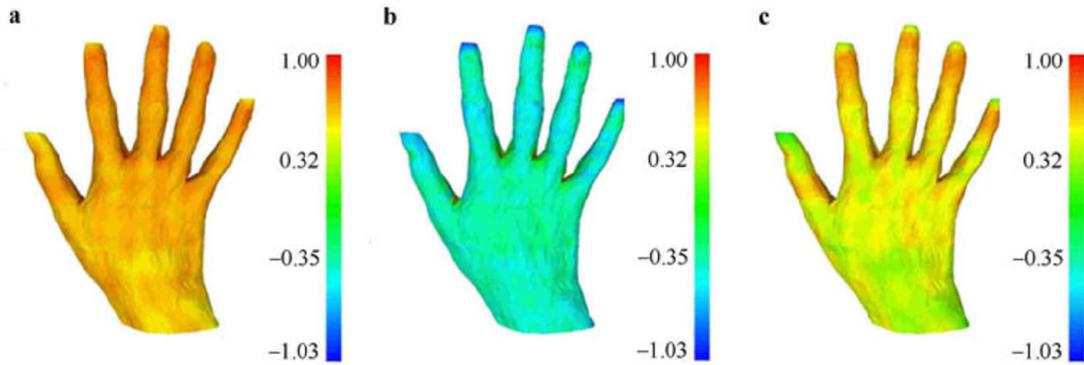


Рис. 6.19. Распределение температуры кожи кисти руки человека а – в нативных условиях (600 с), б – в конце фазы контралатерального охлаждения (780 с), с – восстановительный период через 4 минуты после окончания охлаждения (1000 с).

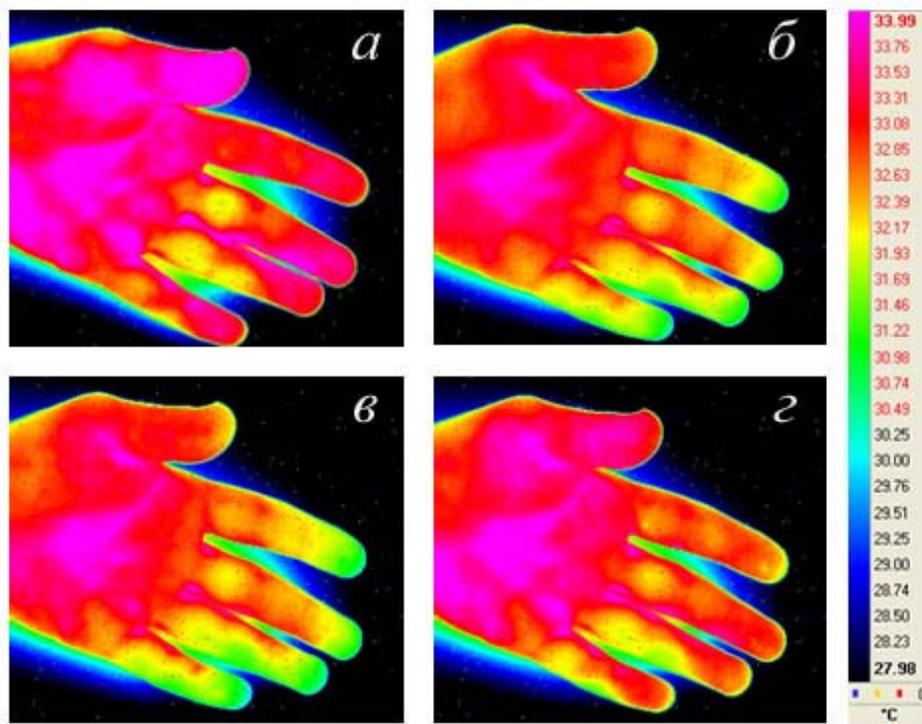


Рис. 6.20. Поле температур, зарегистрированное ИК-камерой во время проведения контралатерального холодного теста у здорового добровольца: а - до начала охлаждения, б - через 2 минуты после начала охлаждения, в – через 3 минуты после начала охлаждения (максимальное охлаждение), г – через 3 минуты после окончания холодного теста.

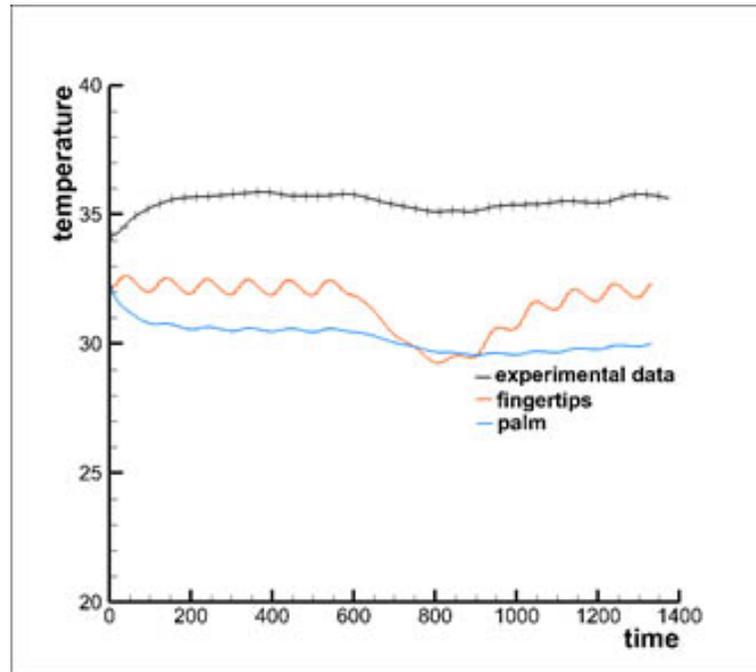


Рис. 6.21. Эволюция КТ на подушечке пальца и ладонной части кисти руки человека, полученная на основе численного исследования.

чем на ладонной поверхности. Это подтверждается проведённым вейвлет-анализом полученных в расчётах данных (Рис.6.23). Амплитуды колебаний температуры как в кончике пальца, так и в ладони во время теста на охлаждение (601с-680с) значительно уменьшились, что хорошо согласуется с экспериментальными данными приведёнными в разделе 6.3.1. Видно, что амплитуда колебаний КТ на ладонной поверхности достаточно мала и разрешающей способности большинства приборов недостаточно для регистрации колебаний. Поэтому в дальнейших рассуждениях будет использована температура ладонной поверхности дистальной фаланги одного из пальцев.

Сравним поведение пульсаций КТ при нормальной функции МЦР и ЭД. Нормальную функцию системы микроциркуляции представим в виде адекватного восстановления количества функционирующих микрососудов и их поперечного диаметра (в случае артериол), что можно описать как восстановление пористости $\psi(t, T)$ согласно уравнению 6.13, а ЭД – как отсутствие вазодилатации. В этом случае пористость останется такой же, как и во время контралатерального холодого теста.

На Рис. 6.24 слева показано изменение пористости ткани подушечки дистальной фаланги пальца, рассчитанное для нормальной и патологиче-

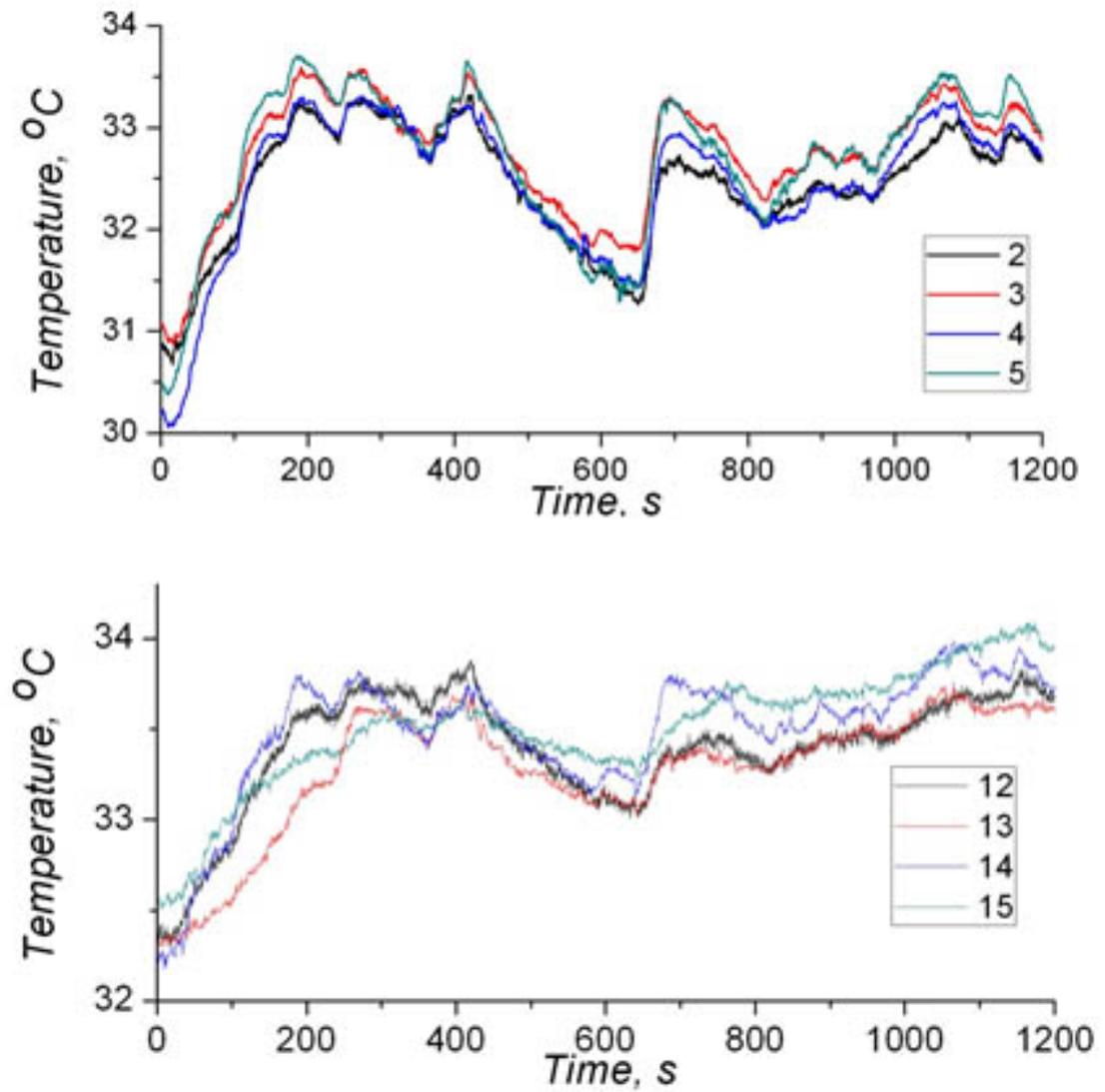


Рис. 6.22. Эволюция КТ подушечек пальцев (верхний график) (2,3,4,5) и ладонной поверхности (нижний график) (12,13,14,15).

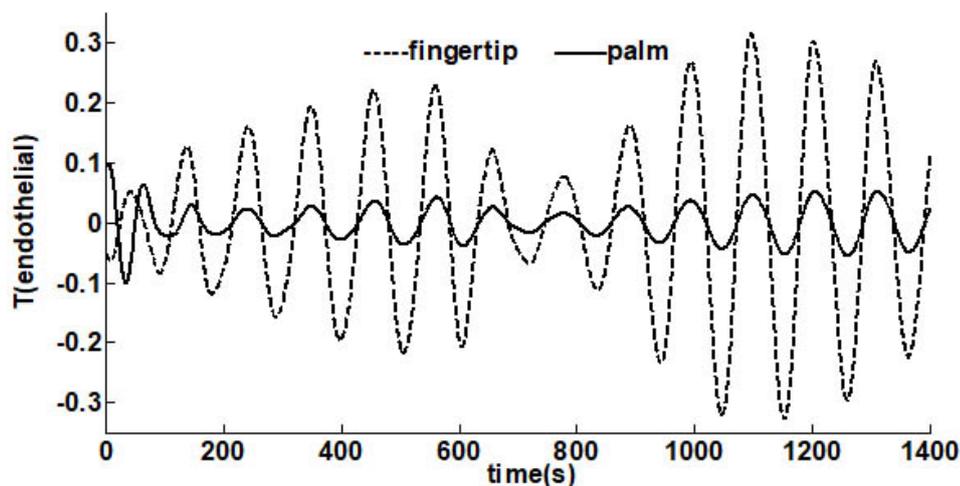


Рис. 6.23. Результат вейвлет-фильтрации температурной зависимости от времени, полученное в численном эксперименте, для подушечки пальца и поверхности ладони в диапазоне частот 0.0095-0.015 Гц

ской функции эндотелия. Справа на этой же картинке показана динамика $T(t)$, полученная при расчёте. Видно, что при нормальной функции МЦР в базальных условиях КТ стабилизировалась на уровне около $32 - 33^{\circ}\text{C}$. Во время охлаждения $T(t)$ значительно снижается и после окончания холодого воздействия постепенно восстанавливается. Наблюдаемые флуктуации $T(t)$ вызваны изменением пористости, при помощи которого была промоделирована эндотелиальная регуляция кровотока. При дисфункции эндотелия $T(t)$ продолжает снижаться и после окончания охлаждения, что сопровождается ослаблением осциллирующей компоненты $T(t)$ Рис. 6.24 справа.

Таким образом показано, что КТ реагирует на изменение температуры окружающей среды в частности при помощи эндотелиального механизма регуляции сосудистого тонуса. Предложенная модель, основанная на механизме терморегуляции, который вызывает изменение эффективной пористости ткани и, как следствие изменение динамики фильтрации крови через ткани, описывает не только общую динамику кожной температуры, но и колебания $T(t)$. Показано, что при нормальном вазодилататорном эндотелиальном механизме восстанавливается число и диаметр функционирующих микрососудов, и, как следствие, пористость. В случае ЭД после окончания охлаждения пористость ткани и кожи не восстанавливается, что

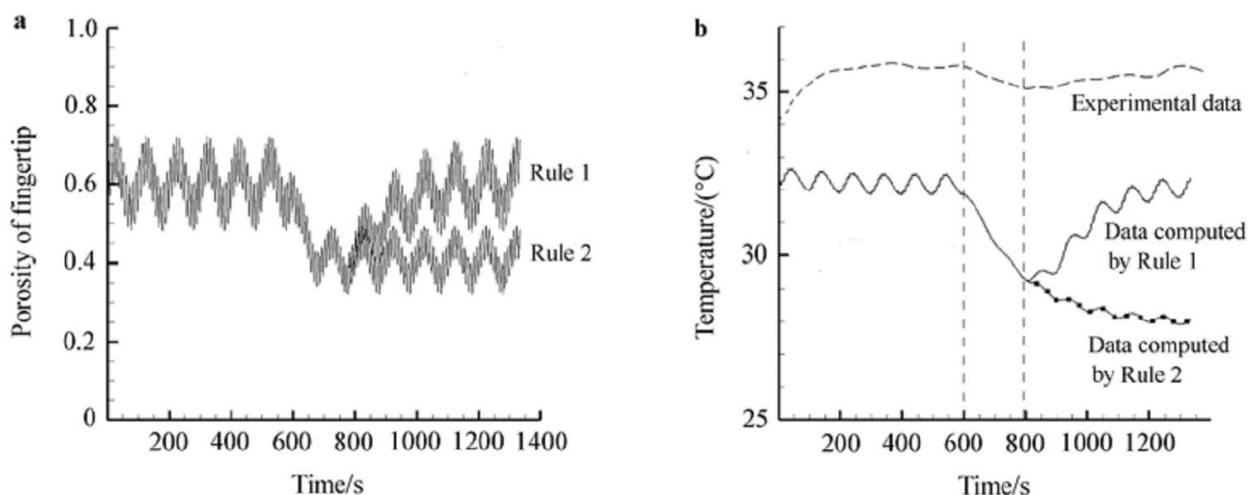


Рис. 6.24. Эволюция пористости и температуры поверхности кожи подушечки пальца при контралатеральном охлаждении при нормальной функции МЦР и при ее нарушении.

приводит к тому, что средние и колебательные характеристики $T(t)$ остаются на уровне достигнутом во время контралатерального охлаждения. В целом такая динамика КТ характерна для пациентов с СД. Качественно и количественно полученные результаты совпадают с экспериментальными данными полученными при помощи ИК и контактной термометрии. Таким образом конечно-элементное моделирование позволяет глубже изучить вопросы формирования температурного сигнала на поверхности кожи и возможности их анализа для выявления нарушений МЦР и дисфункции эндотелия.

6.5. Исследование функциональных нарушений системы микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом при помощи термометрии высокого разрешения

Выше показано, что наряду с оптическими методами мониторинг кожной микроциркуляции возможно проводить при помощи тепловых методов как контактных, так и бесконтактных. Неоспоримым преимуществом контактных методов является то, что они сравнительно дешёвы, позволяют проводить запись температуры с достаточным временным разрешением на длинных временах. Кроме того, при использовании контактной термомет-

рии объем получаемых данных сравнительно небольшой, обработка полученных кривых занимает незначительное время, и результат может быть получен непосредственно на месте. Разработке и применению диагностических методов на основе колебаний КТ посвящён значительный пласт работы начиная с публикации патента [526].

В данном разделе продемонстрированы клинические приложения термометрии высокого разрешения на примере СД2 и пациентов с НТГ. В исследовании приняли участие 43 добровольца, среди них группа условно здоровых (контрольная) составила 12 человек возраста 39–60 лет. Пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями и микроциркуляторными нарушениями были исключены из исследования. Группа пациентов с НТГ (вторая группа) включала в себя 18 добровольцев возраста 31–60 лет. Диагностическим критерием для включения в эту группу составило обнаружение глюкозы в плазме крови в концентрации 7.8–11.0 ммоль/л через 2 часа после принятия глюкозы орально. Третья группа включала 13 пациентов с СД2 возраста 40–67 лет (среднее время течения СД составило 10.6 ± 1.3 лет). У всех пациентов третьей группы обнаружена дистальная диабетическая полинейропатия. Протокол исследования утверждён локальным этическим комитетом Пермской медицинской академии, все участники дали письменное согласие в проведении исследования, набор пациентов проводился в Пермской клинике эндокринологии и диабета к.м.н. Лоран Е.А. под руководством проф., д.м.н. Смирновой Е.Н. Клинические и лабораторные показатели групп приведены в Таблице 6.7.

Протокол исследования включал в себя непрерывную запись КТ на ладонной поверхности дистальной фаланги указательного пальца правой руки при помощи прибора Микротест. Регистрация температуры началась после установления стационарного температурного режима примерно в течение 10 минут после адаптации к условиям лаборатории. Значимый эффект на холодовой тест отмечался только в тех случаях, когда были достаточные условия для вазодилатации, что соответствовало примерно 30°C температуры кожи. Протокол холодового теста повторяет описанный в разделе 6.2.

Измерения проводились как минимум через 4 часа после последнего

Таблица 6.7. Биометрические, антропологические и клинические данные обследованных добровольцев.

	Контроль	НТГ	диабет	p_{1-2}	p_{13}	p_{23}
Количество	12	18	13			
Возраст	47±11	52±8	53±7	NS	NS	NS
Пол (% мужчин)	36	28	15	NS	NS	NS
ИМТ (кг/м ²)	28±4	33±5	33±5	0.01	NS	0.006
САД мм Рт. ст.	128±9	127±12	132±6	NS	0.06	NS
ДАД мм Рт. ст.	73±8	75±8	81±7	0.3	0.04	0.05
НbA1c %	5.1±0.4	6.3±0.5	9.1±1.7	<0.001	<0.001	<0.001
Глюкоза натощак	4.9±0.3	5.9±0.8	7.4±2.9	0.001	0.03	0.35
Постпрандиальная глюкоза	6.2±0.4	8.8±1.5	9.1±2.7	0.0006	0.04	NS
Общий холестерол	4.0±0.3	0	0.9±0.5			
С-пептид	1.2±0.4	0	0.9±0.5			
LDL холестерин	3.2±0.3	3.4±0.6	3.5±0.3	0.28	0.56	NS
HDL холестерин	1.6±0.1	1.2±0.2	1.3±0.3	0.009	0.02	NS
Триглицериды	1.2±0.1	1.8±0.8	2.1±1.3	0.008	0.01	NS

*НbA1c – уровень гликированного гемоглобина, LDL – липопротеин низкой плотности, HDL – липопротеин высокой плотности. Результаты представлены в виде среднее±СКО. Все биохимические показатели (глюкоза натощак, постпрандиальная глюкоза, Общий холестерол, С-пептид, LDL и HDL холестерин, триглицериды) измеряются в ммоль/л. Достоверность отличий определена при помощи теста Манна-Уитни.

курения. Пациенты не принимали влияющие на тонус сосудов медикаменты. Во время контралатерального холодого теста участники эксперимента находились в положении лежа на спине. Охлаждение контралатеральной конечности (левой руки) позволило избежать влияние артефактов движения сенсора и снижало эффект прямого охлаждения датчика во время процедуры регистрации. Температура помещения контролировалась и составила $22.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Пример сигнала $T(t)$ для здорового добровольца при непрямом холодогом тесте показан на Рис. 6.25 а. Во время фоновой записи до проведения холодогой пробы на зависимости температуры от времени наблюдаются выраженные флуктуации. Во время контралатерального охлаждения КТ на измеряемой конечности и амплитуда колебаний уменьшаются. После прекращения холодогого воздействия примерно в течении трёх минут идёт восстановительный период, увеличивается как абсолютное значение температуры, так и энергия колебаний Рис. 6.25.

Согласно разделам 1.5 и 6.1 колебания кровотока в диапазоне частот 0.01-0.1 Гц связаны с факторами регуляции сосудистого тонуса, а результаты полученные в разделах 6.4 позволяют соотнести колебания температуры и кровотока в микрососудах. Опираясь на эти два факта выделим из сигнала $T(t)$ колебания, отражающие активность миогенного, нейрогенного и эндотелиального механизмов регуляции тонуса сосудов, при помощи вейвлет-фильтрации. Характерные виды таких сигналов представлены на Рис. 6.25.

Для исследования было выделено 4 временных интервала 300–500 с – запись в базальных условиях в стационарном тепловом режиме. Реакция на холодогой тест оценивалась в интервале 1 (650–730 с). После окончания холодогого воздействия система микроциркуляции восстанавливается и были выбраны два интервала, 2 - (830–960 с) и 3 (960–1100 с). В качестве количественной меры характеризующей активность каждого механизма были модифицированы вазомоторные индексы, предложенные в [527].

Реакция каждого из механизмов регуляции сосудистого тонуса оценивалась в терминах относительных изменений СКО флуктуации $T(t)$ по сравнению с аналогичными значениями в базальных условия (до проведе-

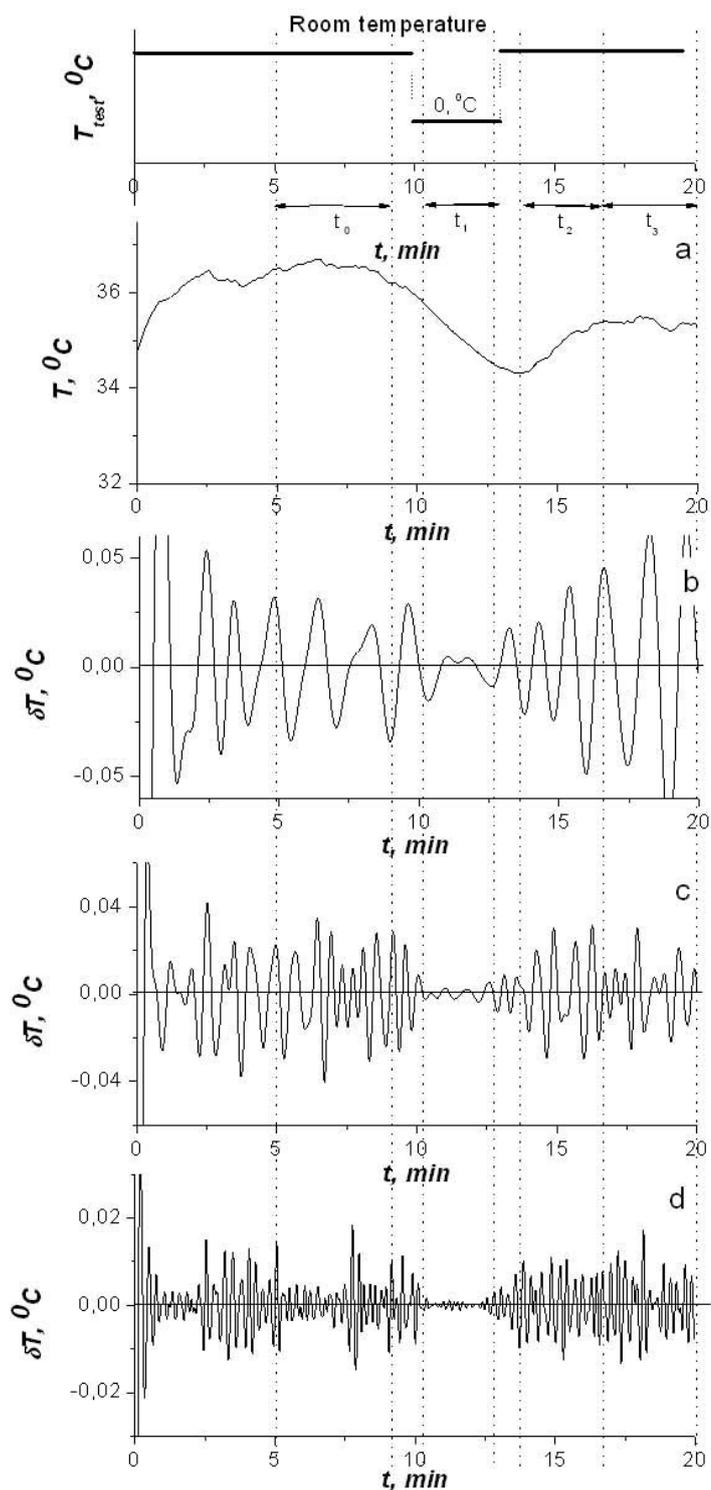


Рис. 6.25. а - характерная эволюция температуры поверхности кожи дистальной фаланги пальца контралатеральной верхней конечности человека при холодного теста. Схема теста показана сверху изображения, контралатеральная конечность находится при комнатной температуре, с 10 по 13 минуту погружается в ванночку с водно-ледовой смесью. б, с, д - результат вейвлет-фильтрации в трёх частотных диапазонах, связанных с регуляцией сосудистого тонуса, эндотелиальном, нейрогенном и миогенном соответственно.

Таблица 6.8. Средние значения температуры $\langle T(t) \rangle$ °C в различные интервалы времени для трёх исследуемых групп.

	0	1	2	3
Контроль	35.9±2.7	35.7±1.9	35.4±1.7	35.7±1.8
НТГ	35.8±1.6	35.6±1.3	36.0±1.5	36.2±1.7
Диабет	34.8±2.2	34.9±2.2	35.0±2.2	35.2±2.1

ния холодого теста, интервал 0):

$$\kappa_i = \frac{\delta T_i - \delta T_0}{\delta T_i}, \quad (6.14)$$

где ($i = 1, 2, 3$). Параметр $\kappa_i^{E,N,M}$ определялся для каждого частотного диапазона. Переменная δT_i характеризует СКО фильтрованного в заданном диапазоне частот сигнала $T(t)$. К примеру, значение $\kappa_1^E = -0.5$ означает, что во время прессорного ходового воздействия среднееквадратичное значение амплитуды эндотелиальных колебаний уменьшается на 50% по отношению к значению этой величины в нативных условиях.

Сравнение в подгруппах проводилось при использовании непараметрического теста Манна-Уитни. Для сравнения в парных выборках использовался критерий Вилкоксона. Значение $p < 0.05$ принималось как статистически значимое.

6.5.1. Результаты

Во время холодого теста во всех группах значения средней КТ $\langle T(t) \rangle$ варьируются незначительно (Таблица 6.8), имеют схожую динамику и абсолютные величины изменения $\langle T(t) \rangle$ малоинформативны.

Частотно-временной анализ колебаний $T(t)$ позволяет извлечь дополнительную информацию. В контрольной группе во время холодого теста амплитуда пульсаций КТ во всех частотных диапазонах уменьшается и затем восстанавливается до исходных значений через 3 минуты (Таблица 6.9, Рис. 6.26).

Отклик на холодого тест в группе с СД2 (группа 3) отличается от реакции здоровых людей. После снижения амплитуд пульсаций $T(t)$, колеба-

Таблица 6.9. Относительные изменения амплитуд пульсаций КТ в трёх частотных диапазонах и в три временных интервала для различных групп пациентов.

	1	2	3	p_{12}	p_{13}	p_{23}
	Контроль					
Эндотелиальный	-0.63 ± 0.3	0.1 ± 0.8	0.2 ± 0.8	0.02	0.005	NS
Нейрогенный	-0.7 ± 0.2	-0.2 ± 0.5	0.0 ± 1.0	0.004	0.003	NS
Миогенный	-0.5 ± 0.3	-0.3 ± 0.5	0.0 ± 0.84	0.05	0.04	NS
	НТГ					
Эндотелиальный	-0.2 ± 0.9	0.1 ± 0.6	0.1 ± 0.8	NS	NS	NS
Нейрогенный	-0.4 ± 0.6	0.0 ± 0.6	0.0 ± 0.5	0.01	0.009	NS
Миогенный	-0.04 ± 0.4	-0.3 ± 0.3	0.3 ± 0.3	NS	NS	NS
	Диабет					
Эндотелиальный	-0.4 ± 0.5	-0.2 ± 0.4	-0.4 ± 0.3	NS	NS	NS
Нейрогенный	-0.4 ± 0.4	-0.1 ± 0.5	0.0 ± 0.7	0.006	0.009	NS
Миогенный	-0.1 ± 0.3	0 ± 0.3	0.2 ± 0.3	NS	NS	NS

ния не восстанавливаются во всех диапазонах, исключая нейрогенный диапазон (Рис.6.26). В эндотелиальном и миогенных диапазонах частот возрастание амплитуд пульсаций после холодной пробы было несущественным. В течение последующих 10 минут амплитуда пульсаций не достигла начального уровня. В нейрогенном диапазоне частот после завершения холодного теста амплитуды пульсаций достигали начального уровня.

Результаты в группе для пациентов с НТГ (группа 2) имеют схожие черты с группой СД2 (группа 3) (Таблица 6.9). Наблюдаются значимые различия между амплитудами пульсаций во время контралатерального холодного воздействия и в последующие 3 минуты в нейрогенном диапазоне частот. Через 10 минут после окончания холодного воздействия амплитуды пульсаций полностью восстанавливались. В эндотелиальном и миогенном диапазонах частот амплитуды колебаний уменьшались и их последующее увеличение носит недостоверный характер. Отсутствие статистически значимой разницы амплитуд пульсаций КТ в эндотелиальном и миогенном диапазонах частот во время и после холодного прессорного воздействия

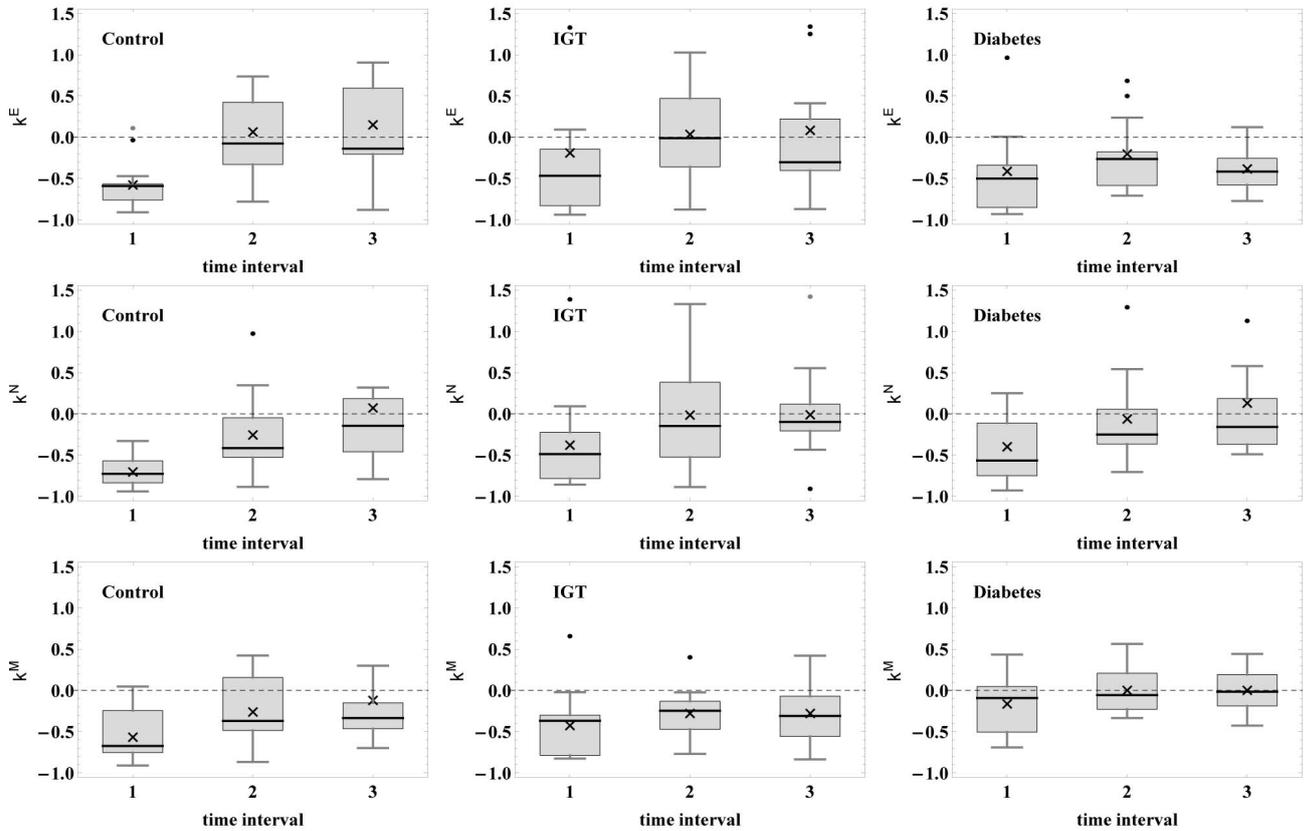


Рис. 6.26. Диаграммы размаха относительных изменений энергии колебаний кровотока k_n в трёх частотных диапазонах, где E соответствует эндотелиальному (верхний ряд), N - нейрогенному (средний ряд), M - миогенному (нижний ряд) механизмам регуляции сосудистого тонуса, вызванным ХПП. По оси абсцисс отмечены временные интервалы. В левой колонке приведены k_n полученные в группе здоровых добровольцев, средней - пациенты с НТГ, правая - с СД. Крестами на рисунках обозначены средние значения, горизонтальные линии - медианные. Верхняя и нижняя граница 1 и 3 квантили распределения. Горизонтальная пунктирная линия соответствует $k=0$.

позволяет предположить то, что изменение вазодилаторных механизмов у пациентов с СД2 и НТГ происходит по схожему сценарию. Таким образом, группа пациентов с СД2 характеризуется сниженной реакцией в эндотелиальном и миогенном частотных диапазонах. В нейрогенном диапазоне частот энергия колебаний уменьшаются но в меньшей степени по сравнению с группой контроля. По всей видимости эти изменения связаны со снижением вазодилаторного механизма у пациентов с дисфункцией эндотелия.

Проводились дополнительные исследования влияния индекса массы тела, давления и уровня липидов на статистические свойства модифицированных вазомоторных индексов, однако корреляции этих параметров и реакции эндотелия на ХПП установлено не было. По всей видимости это связано с маленькой и неоднородной выборкой для корректного корреляционного анализа.

У пациентов с НТГ наблюдаются типичные для СД изменения амплитуд колебаний $\delta T(t)_E$. Эти данные свидетельствуют о том, что ЭД развивается в доклинической стадии СД, прогрессирование нарушений метаболизма глюкозы усугубляет патологический процесс, что вызывает нарушение эндотелиального и миогенного эффектов вазодилатации.

Спектральный анализ $T(t)$, полученных в группе контроля, показал сдвиг характерной частоты миогенных колебаний под воздействием холода. Так среднее значение несущей частоты во время фоновой записи было 0.097 ± 0.007 Hz, а при контралатеральном охлаждении составило 0.090 ± 0.009 Hz, достоверность различий проверена по критерию Вилкоксона ($p < 0.05$). Во время восстановительного периода (2) частота миогенных пульсаций возросла до 0.094 ± 0.008 Hz полученные отличия в парах $t_0 - t_2$ и $t_2 - t_1$ незначительны, во время интервала времени t_3 частота колебаний в миогенном диапазоне составила 0.090 ± 0.010 Гц (отличия также не значимы).

Важно отметить, что в некоторых данных в рассматриваемом диапазоне частот локального максимума в энергетическом спектре не наблюдалось, таким образом, были исследованы только 9 записей в группе контроля, 4 в группе с НТГ и 6 – с СД2. Получено, что межгрупповые различия не существенны. Результаты носят предварительный характер, и могут быть

основой для дальнейших исследований.

Результаты данного исследования качественно согласуются с наблюдениями, приведёнными в работе [130], в которой обсуждаются причины уменьшения частоты пульсаций связанной с миогенной активностью при охлаждении [130]. По-видимому, существует несколько причин немедленного снижения частоты миогенных колебаний кожного кровотока вследствие охлаждения. Во-первых, пониженная перфузия замедляет метаболическую активность в гладкомышечных волокнах и, тем самым, вызывает снижение скорости их спонтанных колебаний; во-вторых, пониженная частота колебаний является гомеостатической реакцией на охлаждение, что имеет тенденцию к повышению эффективного сосудистого сопротивления и уменьшению кровотока. Другая возможная причина этого эффекта заключается в том, что, несмотря на то, что циклические миогенные вариации кровотока связаны со спонтанными изменениями тонуса артериол, они могут модулироваться симпатической нервной активностью [528]. Таким образом, центральная нервная система может оказывать определенное воздействие на частоту вазомоции в условиях *in-vivo*. Этот факт имеет патофизиологическое значение, поскольку сосудистая дисфункция при СД коррелирует с развитием диабетической невропатии, а вазомоция исчезает одновременно с появлением невропатии [529]. Различия в изменении частоты миогенных изменений, полученные для контрольной группы, пациентов с НТГ и СД, могут служить дополнительными диагностическими критериями и требуют более детального исследования.

6.6. Выводы по главе

В данной главе экспериментально и численно исследована связь колебаний пульсаций кровотока и КТ с частотами в диапазоне 0.1-0.01 Гц. Колебания температуры затухают в объёме ткани находящейся между источником колебаний (микрососудами) и точкой наблюдения (поверхность кожи), затухание тем сильнее, чем выше частота колебаний. Показано, что колебания КТ отстают от соответствующих пульсаций кровотока, а величина фазового сдвига зависит от частоты. Используя измеренные экспери-

ментальные зависимости и оценки, полученные при решении 1D уравнения теплопередачи, выполнена реконструкция низкочастотных пульсаций КТ из данных периферического кровотока, измеренного методом ЛДФ, и обратная операция – восстановление сигналов $P_{LDF}(t)$ из КТ. По полученным данным вычислена глубина, на которой генерируются тепловые пульсации, и она составила порядка 2 мм, анатомически такая глубина связана с глубиной залегания артериол. Аналогичная задача рассматривалась в работе [324], где измеренный при помощи метода ФПГ кровотока сравнивался с полем температуры, полученным с помощью ИК камеры.

На основе расчёта трёхмерной модели кисти руки человека исследованы процессы формирования сигнала КТ в покое и при проведении контралатерального холодого теста. Доказано, что пористость, представляющая собой объёмное соотношение сосудов МЦР к объёму ткани, оказывает значительное влияние на изменение температуры кожи.

Таким образом, вариации кожной температуры отражают функциональное состояние МЦР и их мониторинг может быть использован для контроля тонуса микрососудов в частотных диапазонах, соответствующих эндотелиальной, нейрогенной и миогенной активности. Близкие результаты позже были получены в [26].

В данной главе представлены результаты иллюстрация вейвлет-анализа сигналов термометрии высокого разрешения на основе клинических исследований проведённых в группах с СД и НТГ. Модифицирован способ расчёта вазомоторных индексов, который продемонстрировал свою эффективность в клинических исследованиях.

Полученные результаты создают фундамент для использования тепловых измерений при диагностике системы микроциркуляции в том числе при кровопотере [530], панкреатите [531], ХАН [532–535], СД [347, 536], метаболическом синдроме [537] и других.

Заключение

В результате проведённого диссертационного исследования решена крупная научная проблема, связанная с разработкой единого биофизического подхода для решения группы задач исследования нарушения функции системы микроциркуляции. В основе всех проведенных исследований лежит анализ колебаний кровотока в микрососудах, регистрируемых различными оптическими (лазерная доплеровская флоуметрия, фотоплетизмография, лазерная спекл-контрастная визуализация) и термометрическими методами.

В заключении сформулируем основные результаты и выводы диссертационной работы:

- Предложена модификация существующего метода анализа спектральных свойств сигналов лазерной доплеровской флоуметрии, заключающаяся в исследовании вариации вейвлет-спектров измеряемых сигналов. Этот подход позволяет избежать неопределённости вычисления спектральной плотности энергии при отсутствии максимумов в выделенном частотном диапазоне, и изменении границ частотных диапазонов.
- Показана немонотонная связь средней и колебательной компонент сигнала лазерной доплеровской флоуметрии, обусловленная различным вкладом тонуса гладких мышц в колебания кровотока в случае низкой перфузии, когда основной кровоток осуществляется через артериолы и арто-венулярные анастомозы, и при высокой перфузии, когда кровоток, в значительной степени, обеспечивается капиллярным руслом.
- Продемонстрировано, что скорость и амплитуда изменения средней перфузии в ответ на локальный нагрев в толстой и тонкой коже различны, при этом значимых отличий колебательных характеристик,

связанных с миогенным, нейрогенным и эндотелиальным механизмами регуляции сосудисто-го тонуса не выявлено.

- Показано, что локальная компрессия кожи с давлением порядка 30 мм.рт.ст приводит к увеличению средней перфузии и росту колебаний кровотока, связанных с эндотелиальным механизмом регуляции сосудистого тонуса. Предложена оригинальная методика пробы с локальным давлением для исследований функционального состояния системы микроциркуляции и эндотелия в микрососудах.
- Установлено, что коэффициент фазовой синхронизации колебаний кожного кровотока с частотой около 0.1 Гц, измеренных на расстоянии 3 см, снижается при нагреве одного из исследуемых участков.
- Продемонстрирован ряд клинических применений исследования динамики кожного кровотока при проведении температурных тестов. Показано значимое отличие динамики среднего значения перфузии и спектрального состава колебательной компоненты сигнала в контрольных группах и группах с ревматическими заболеваниями и сахарным диабетом при проведении тепловых тестов.
- Предложен метод оценки временной задержки колебаний выделенной частоты на основе анализа фазового сдвига вейвлет-коэффициентов. Обнаружен характерный двухфазный ответ изменения скорости пульсовой волны на задержку дыхания. Выявлена специфическая реакция сдвига фаз пульсовых волн в сигналах фотоплетизмографии и лазерной доплеровской флоуметрии на глубокий вдох.
- Установлена высокая корреляция колебаний периферического кровотока с частотами в диапазоне 0.01-2 Гц, измеряемых методами ЛДФ, ФПГ и ЛСВ в покое и при дыхательных пробах, что является обоснованием использования указанных оптических методов для анализа колебаний кожного кровотока при исследованиях физиологических механизмов регуляции сосудистого тонуса.
- На основе анализа спектрального состава фотоплетизмограмм предложены индексы, которые легли в основу построения скрининговой

методики хронической артериальной недостаточности.

- На основе анализа величины фазового сдвига пульсаций сигналов лазерной доплеровской флоуметрии и температуры показано, что глубина генерации тепловых пульсаций составляет порядка 1.5-1.9 мм, что соответствует глубине залегания артериол. Показана возможность восстановления низкочастотных колебаний динамики кровотока в микрососудах, определенных методом лазерной доплеровской флоуметрии, с использованием результатов измерений температуры кожи.
- Продемонстрировано влияние амплитуды пульсаций крови в уединенном сосуде и эффективной теплопроводности ткани на характеристики колебаний кожной температуры.
- Модифицирована численная модель кисти руки человека для исследований колебаний кожной температуры. Показано, что динамика кожной температуры во время холодной пробы при дисфункции эндотелия, описанной как снижение вазодилатации микрососудов, совпадает с экспериментальными данными.
- Модифицирован способ расчёта вазомоторных индексов, который продемонстрировал свою эффективность в клинических исследованиях на примере определения функции эндотелия у пациентов с сахарным диабетом и нарушением толерантности к глюкозе.

Список сокращений

PIV – вазодилатация, вызванная давлением (pressure-induced vasodilation);

АД – артериальное давление (САД – систолическое АД, ДАД – диастолическое АД);

ВА – вейвлет-анализ;

ВКС – видеокапилляроскопия;

ВСР – вариабельность сердечного ритма;

ИК – инфракрасный;

КТ – кожная термометрия;

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия;

ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс;

ЛСКВ – лазерная спекл-контрастная визуализация

МЦР – микроциркуляция крови;

НТГ – нарушение толерантности к глюкозе;

СД – сахарный диабет (СД1 – СД первого типа, СД2 – СД второго типа);

ТВР – термометрия высокого разрешения;

ФПГ – фотоплетизмография;

ХАН – хроническая артериальная недостаточность;

ХПП – холодовая прессорная проба;

ЧСС – частота сердечных сокращений;

ЭД – эндотелиальная дисфункция;

ЭКГ – электрокардиограмма.

Список литературы

1. Чернух А. М. Микроциркуляция. — Медицина, 1984.
2. Roustit M., Cracowski J.-L. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation // Trends in pharmacological sciences. — 2013. — Vol. 34, no. 7. — P. 373–384.
3. Idf diabetes atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 / NH Cho, JE Shaw, Suvi Karuranga et al. // Diabetes research and clinical practice. — 2018. — Vol. 138. — P. 271–281.
4. Власов Т., Нестерович И., Шиманьски Д. Эндотелиальная дисфункция: от частного к общему. Возврат к старой парадигме? // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2019. — Vol. 18, no. 2. — P. 19–27.
5. Aalkjer C., Boedtkjer D., Matchkov V. Vasomotion – what is currently thought? // Acta Physiologica. — 2011. — Vol. 202, no. 3. — P. 253–269.
6. Skin vasomotion investigation: A useful tool for clinical evaluation of microvascular endothelial function? / M. Rossi, A. Carpi, F. Galetta et al. // Biomedicine and Pharmacotherapy. — 2008. — Vol. 62, no. 8. — P. 541–545.
7. Крупаткин А. Пульсовые и дыхательные осцилляции кровотока в микроциркуляторном русле кожи человека // Физиология человека. — 2008. — Vol. 34, no. 3. — P. 70–76.
8. Hodges G., Pozzi A. T. D. Noninvasive examination of endothelial, sympathetic, and myogenic contributions to regional differences in the human cutaneous microcirculation // Microvascular Research. — 2014. — Vol. 93. — P. 87–91.

9. Федорович А. А. Функциональное состояние регуляторных механизмов микроциркуляторного кровотока в норме и при артериальной гипертензии по данным лазерной доплеровской флоуметрии // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2010. — Vol. 9, no. 1(33). — P. 49–60.
10. Holowatz L., Thompson-Torgerson C., Kenney W. L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function // Journal of applied physiology. — 2008. — Vol. 105, no. 1. — P. 370–372.
11. The investigation of skin blood flowmotion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? / M. Rossi, A. Carpi, F. Galetta et al. // Biomedicine & Pharmacotherapy. — 2006. — Vol. 60, no. 8. — P. 437–442.
12. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system // Contemporary Physics. — 1999. — Vol. 40, no. 1. — P. 31–55.
13. Tankanag A., Chemeris N. Application of the adaptive wavelet transform for analysis of blood flow oscillations in the human skin // Physics in Medicine & Biology. — 2008. — Vol. 53, no. 21. — P. 5967.
14. Крупаткин А. Клиническая нейроангиофизиология конечностей (периваскулярная иннервация и нервная трофика). — М.: Научный мир, 2003.
15. Cracowski J.-L., Roustit M. Reproducibility of ldf blood flow measurements: dynamical characterization versus averaging. a response to the letter from stefanovska. // Microvascular research. — 2012. — Vol. 83, no. 2. — P. 97–97.
16. Challoner A., Ramsay C. Photoelectric plethysmography for estimating cutaneous blood flow. — 1974.
17. Allen J., Frame J., Murray A. Microvascular blood flow and skin temperature changes in the fingers following a deep inspiratory gasp // Physiological Measurement. — 2002. — Vol. 23, no. 2. — P. 365.

18. Рогаткин Д. А. Аппаратное, программное и методическое обеспечение неинвазивной спектрофотометрической диагностики // Диссертация на соискание степени доктора технических наук. — 2004.
19. Guidelines for obtaining an absolute blood flow index with laser speckle contrast imaging / S Sunil, Sh Zilpelwar, D A Boas, D D Postnov // bioRxiv. — 2021.
20. Blood perfusion values of laser speckle contrast imaging and laser doppler flowmetry: is a direct comparison possible? / T. Binzoni, A. Humeau-Heurtier, P. Abraham, G. Mahé // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. — 2012. — Vol. 60, no. 5. — P. 1259–1265.
21. Fredriksson I., Larsson M. On the equivalence and differences between laser doppler flowmetry and laser speckle contrast analysis // Journal of Biomedical Optics. — 2016. — Vol. 21, no. 12. — P. 126018.
22. Shusterman V., Anderson K. P., Barnea O. Spontaneous skin temperature oscillations in normal human subjects // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. — 1997. — Vol. 273, no. 3. — P. R1173–R1181.
23. Mabuchi K. Frequency analysis of skin temperature and its application for clinical diagnosis // Biomedical Thermology. — 1989. — Vol. 9. — P. 30–33.
24. Podtaev S., Morozov M., Frick P. Wavelet-based correlations of skin temperature and blood flow oscillations // Cardiovascular Engineering. — 2008. — Vol. 8, no. 3. — P. 185–189.
25. Sheppard L. W., Stefanovska A., McClintock P. V. E. Testing for time-localized coherence in bivariate data // Phys. Rev. E. — 2012. — Vol. 85. — P. 046205.
26. Real-time technique for conversion of skin temperature into skin blood flow: human skin as a low-pass filter for thermal waves / A. Sagaidachnyi, A. Fomin, D. Usanov, A. Skripal // Computer methods in biomechanics and biomedical engineering. — 2019. — Vol. 22, no. 12. — P. 1009–1019.

27. Spatial heterogeneity of cutaneous blood flow respiratory-related oscillations quantified via laser speckle contrast imaging / I Mizeva, E Potapova, V Dremin et al. // Plos one. — 2021. — Vol. 16, no. 5. — P. e0252296.
28. Heterogeneity of cutaneous blood flow respiratory-related oscillations quantified via lsci wavelet decomposition / I. Mizeva, E. Potapova, I. Kozlov et al. // 2020 11th Conference of the European Study Group on Cardiovascular Oscillations (ESGCO) / IEEE. — 2020. — P. 1–2.
29. Tankanag A., Krasnikov G., Mizeva I. A pilot study: Wavelet cross-correlation of cardiovascular oscillations under controlled respiration in humans // Microvascular Research. — 2020. — P. 103993.
30. Mizeva I., Frick P., Podtaev S. Relationship of oscillating and average components of laser doppler flowmetry signal // Journal of Biomedical Optics. — 2016. — Vol. 21, no. 8. — P. 85002.
31. Frick P., Mizeva I., Podtaev S. Skin temperature variations as a tracer of microvessel tone // Biomedical Signal Processing and Control. — 2015. — Vol. 21. — P. 1–7.
32. Quantifying the correlation between photoplethysmography and laser doppler flowmetry microvascular low-frequency oscillations / I. Mizeva, C. Di Maria, P. Frick et al. // Journal of Biomedical Optics. — 2015. — Vol. 20. — P. 20 – 20 – 7.
33. Finger microvascular responses to deep inspiratory gasp assessed and quantified using wavelet analysis / J. Allen, C. Di Maria, I. Mizeva, S. Podtaev // Physiological Measurement. — 2013. — Vol. 34, no. 7. — P. 769–779.
34. Mizeva I., Frick P., Podtaev S. Skin blood flow and temperature oscillations during cold pressor test // Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2015 37th Annual International Conference of the IEEE. — 2015. — P. 7382–7385.

35. Podtaev S., Alan J., Mizeva I. Phase relationships between the ldf and ppg waveforms during deep inspiratory gasp // *Journal of vascular research*. — Vol. 48. — 2011. — P. 129–129.
36. Mizeva I., Podtaev S., Allen J. Quantification of cardiovascular responses with deep inspiratory gasp using wavelet analysis // *Journal of vascular research*. — Vol. 48. — 2011. — P. 80–80.
37. Spatial heterogeneity in the time and frequency properties of skin perfusion / M. Sorelli, Z. Stoyneva, I. Mizeva, L. Bocchi // *Physiological Measurement*. — 2017. — Vol. 38, no. 5. — P. 860–876.
38. Spectral analysis of the blood flow in the foot microvascular bed during thermal testing in patients with diabetes mellitus / I. Mizeva, E. Zharkikh, V. Dremin et al. // *Microvascular Research*. — 2018. — Vol. 120. — P. 13–20.
39. Analysis of skin blood microflow oscillations in patients with rheumatic diseases / I Mizeva, I Makovik, A Dunaev et al. // *Journal of Biomedical Optics*. — 2017. — Vol. 22, no. 7. — P. 070501.
40. Blood flow oscillations as a signature of microvascular abnormalities / E.V. Zharkikh, I.A. Mizeva, I.I. Makovik et al. // *Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care VI / International Society for Optics and Photonics*. — Vol. 10685. — SPIE, 2018. — P. 682 – 686.
41. Мизева И. А., Думлер А. А., Муравьев Н. Г. Особенности пульсовой волны при хронической артериальной недостаточности нижних конечностей // *Российский журнал биомеханики*. — 2012. — no. 2 (56). — P. 83–94.
42. Mizeva I., Dumler A., Muraviev N. Changes in the spectral characteristics of plethysmographic waveforms due to paod. // *BIOSIGNALS*. — 2014. — P. 149–154.
43. Photoplethysmography investigation of lower limb paod / A Dumler, I Mizeva, S Podtaev, N Muraviev // *Journal of vascular research*. — Vol. 48. — 2011. — P. 96–96.

44. Нарушение механизмов вазодилатации у больных сахарным диабетом 2 типа при проведении контралатеральной холодной пробы. / ЕН Смирнова, СЮ Подтаев, ИА Мизева, ЕА Жукова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2012. — Vol. 11, no. 1. — P. 30–34.
45. Assessment of endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance during a cold pressor test / E. Smirnova, S. Podtaev, I. Mizeva, E. Loran // Diabetes and Vascular Disease Research. — 2013. — Vol. 10, no. 6. — P. 489–497.
46. Skin temperature oscillation model for assessing vasomotion of microcirculation / Y.-L. Tang, Y. He, H.-W. Shao, I. Mizeva // Acta Mechanica Sinica. — 2015. — Vol. 31, no. 1. — P. 132–138.
47. Tang Y., Mizeva I., He Y. A modeling study on the influence of blood flow regulation on skin temperature pulsations // Saratov Fall Meeting 2016: Laser Physics and Photonics XVII; and Computational Biophysics and Analysis of Biomedical Data III / International Society for Optics and Photonics. — Vol. 10337. — 2017. — P. 1033716.
48. A porous media model of human hand to study the relationship between endothelial function and fingertip temperature oscillation / Y. Tang, Y. He, H. Shao, I. Mizeva // 2013 10th IEEE International Conference on Control and Automation (ICCA). — 2013. — P. 1246–1249.
49. Fingertip model for blood flow and temperature / Y. He, H. Shao, Y. Tang et al. // Computational Biomechanics of the Musculoskeletal System / Ed. by Ming Zhang, Yubo Fan. — CRC Press : Oxford University Press, 2014. — P. 299–319.
50. Мизева И., Голдобин Д., Айрих Д. Комплекс неинвазивных экспериментальных методик для мониторинга системы микрогемодициркуляции // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. — 2017. — no. 3.

51. Подтаев С., Мизева И., Смирнова Е. Диагностика функционального состояния микроциркуляции на основе термометрии высокого разрешения // Вестник Пермского научного центра. — 2012. — no. 3-4. — P. 11–20.
52. Tuma R., Duran W., Ley K. Microcirculation. Handbook of physiology (Bethesda, Md.): Cardiovascular system. — Elsevier Science, 2011.
53. Поленов С. Основы микроциркуляции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2008. — Vol. 7, no. 1. — P. 5–19.
54. Comparison of skin microvascular reactivity with hemostatic markers of endothelial dysfunction and damage in type 2 diabetes / S. Beer, F. Feihl, J. Ruiz et al. // Vascular Health and Risk Management. — 2008. — Vol. 4, no. 6. — P. 1449–1458.
55. Renkin E. Control of microcirculation and blood-tissue exchange // Handbook of physiology. The cardiovascular system, microcirculation. — 1984. — P. 627–687.
56. Oaklander A. L., Siegel S. M. Cutaneous innervation: form and function // Journal of the American Academy of Dermatology. — 2005. — Vol. 53, no. 6. — P. 1027–1037.
57. Souza E., Kayser C. Nailfold capillaroscopy: relevance to the practice of rheumatology // Revista Brasileira de Reumatologia. — 2015. — Vol. 55, no. 3. — P. 264–271.
58. Flavahan N. A. A vascular mechanistic approach to understanding raynaud phenomenon // Nature Reviews Rheumatology. — 2015. — Vol. 11, no. 3. — P. 146–158.
59. Федорович А. Микрососудистое русло кожи человека как объект исследования // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2017. — Vol. 16, no. 4. — P. 11–26.
60. Cutaneous vasodilation to acetylcholine in patients with essential hypertension / M Rossi, S Taddei, A Fabbri et al. // Journal of cardiovascular pharmacology. — 1997. — Vol. 29, no. 3. — P. 406–411.

61. Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure / J. Stewart, A. Kohen, D. Brouder et al. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. — 2004. — Vol. 287, no. 6. — P. H2687–H2696.
62. Stirban A. Microvascular dysfunction in the context of diabetic neuropathy // *Current Diabetes Reports*. — 2014. — Vol. 14, no. 11. — P. 1–9.
63. Hellmann M., Roustit M., Cracowski J.-L. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases? // *Pharmacological Reports*. — 2015. — Vol. 67, no. 4. — P. 803–810.
64. Oscillations of skin microvascular blood flow in patients with asthma / I.V. Tikhonova, N.I. Kosyakova, A.V. Tankanag, N.K. Chemeris // *Microcirculation*. — 2016. — Vol. 23, no. 1. — P. 33–43.
65. Obstructive sleep apnea and diabetic neuropathy: a novel association in patients with type 2 diabetes / Abd A Tahrani, Asad Ali, Neil T Raymond et al. // *American journal of respiratory and critical care medicine*. — 2012. — Vol. 186, no. 5. — P. 434–441.
66. Forearm haemodynamics, arterial stiffness and microcirculatory reactivity in rheumatoid arthritis / E. Arosio, S. De Marchi, A. Rigoni et al. // *Journal of hypertension*. — 2007. — Vol. 25, no. 6. — P. 1273–1278.
67. Endothelial injury in rheumatoid arthritis: a crosstalk between dimethylarginines and systemic inflammation / T. Dimitroulas, J. Hodson, A. Sandoo et al. // *Arthritis Research & Therapy*. — 2017. — Vol. 19, no. 1. — P. 32.
68. Local heating test for detection of microcirculation abnormalities in patients with diabetes-related foot complications / A. Parshakov, N. Zubareva, S. Podtaev, P. Frick // *Advances in Skin and Wound Care*. — 2017. — Vol. 30, no. 4. — P. 158–166.
69. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the european society

- of intensive care medicine / C. Ince, E.C. Boerma, M. Cecconi et al. // Intensive care medicine. — 2018. — Vol. 44, no. 3. — P. 281–299.
70. Подойницына М., Цепелев В., Степанов А. Изменение микроциркуляции при дермальных ожогах // Фундаментальные исследования. — 2015. — no. 1-9. — P. 1893–1896.
71. Cracowski J.-L., Roustit M. Human Skin Microcirculation // Comprehensive Physiology. — American Cancer Society, 2020. — P. 1105–1154.
72. Regional differences of vasodilatation and vasomotion response to local heating in human cutaneous microcirculation / D. Balaz, A. Komornikova, P. Kruzliak et al. // Vasa. — 2015. — Vol. 44, no. 6. — P. 458–65.
73. Johnson J., Minson C., Kellogg D. Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation // Comprehensive Physiology. — 2014. — Vol. 4, no. 1. — P. 33–89.
74. Braverman I. The cutaneous microcirculation // Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings. — 2000. — Vol. 5, no. 1. — P. 3–9.
75. Yen A., Braverman I. M. Ultrastructure of the human dermal microcirculation: the horizontal plexus of the papillary dermis. // Journal of Investigative Dermatology. — 1976. — Vol. 66, no. 3.
76. Braverman I. M. Ultrastructure and organization of the cutaneous microvasculature in normal and pathologic states. // Journal of Investigative Dermatology. — 1989. — Vol. 93.
77. Hossler F., Douglas J. Vascular corrosion casting: review of advantages and limitations in the application of some simple quantitative methods // Microscopy and microanalysis. — 2001. — Vol. 7, no. 3. — P. 253–264.
78. Microvascularization of the human digit as studied by corrosion casting / S Sangiorgi, A Manelli, Terenzio Congiu et al. // Journal of Anatomy. — 2004. — Vol. 204, no. 2. — P. 123–131.

79. Fronek K., Zweifach B. W. Microvascular pressure distribution in skeletal muscle and the effect of vasodilation // *American Journal of Physiology-Legacy Content.* — 1975. — Vol. 228, no. 3. — P. 791–796.
80. Near-wall μ -piv reveals a hydrodynamically relevant endothelial surface layer in venules in vivo / M.L Smith, D.S Long, E.R. Damiano, K. Ley // *Biophysical journal.* — 2003. — Vol. 85, no. 1. — P. 637–645.
81. Pittman R. N. Oxygen transport in the microcirculation and its regulation // *Microcirculation.* — 2013. — Vol. 20, no. 2. — P. 117–137.
82. Secomb T. W., Hsu R., Pries A. Effect of the endothelial surface layer on transmission of fluid shear stress to endothelial cells // *Biorheology.* — 2001. — Vol. 38, no. 2, 3. — P. 143–150.
83. Secomb T. W., Hsu R., Pries A. Motion of red blood cells in a capillary with an endothelial surface layer: effect of flow velocity // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* — 2001. — Vol. 281, no. 2. — P. H629–H636.
84. Expression of hyaluronan synthase in intraocular proliferative diseases: regulation of expression in human vascular endothelial cells by transforming growth factor- β / Kiyoka Suzuki, Teiko Yamamoto, Tomohiko Usui et al. // *Japanese journal of ophthalmology.* — 2003. — Vol. 47, no. 6. — P. 557–564.
85. Scallan J., Huxley V. H., Korthuis R. J. Capillary fluid exchange: regulation, functions, and pathology // *Colloquium Lectures on Integrated Systems Physiology From Molecules to Function.* — Vol. 2(1). — 2010. — P. 1–94.
86. Hands and feet: physiological insulators, radiators and evaporators / N AS Taylor, C A Machado-Moreira, A MJ van den Heuvel, J N Caldwell // *European journal of applied physiology.* — 2014. — Vol. 114, no. 10. — P. 2037–2060.
87. Walløe L. Arterio-venous anastomoses in the human skin and their role in temperature control // *Temperature.* — 2016. — Vol. 3, no. 1. — P. 92–103.

88. Davis M. J., Hill M. A., Kuo L. Local regulation of microvascular perfusion // *Microcirculation*. — 2008. — P. 161–284.
89. Davis M., Gore R. Pressure distribution in the microvascular network of the hamster cheek pouch1 // *Microvascular Networks: Experimental and Theoretical Studies*. — 1986. — P. 142–154.
90. Регирер С., Шадрина Н. Элементарная модель сосуда со стенкой, чувствительной к механическим стимулам // *Биофизика*. — 2002. — Vol. 47, no. 5. — P. 908–913.
91. Bayliss W. M. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure // *The Journal of physiology*. — 1902. — Vol. 28, no. 3. — P. 220.
92. Voets T., Nilius B. Trpcs, gpcrs and the bayliss effect // *The EMBO journal*. — 2009. — Vol. 28, no. 1. — P. 4–5.
93. Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx / S. Weinbaum, X. Zhang, Y. Han et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2003. — Vol. 100, no. 13. — P. 7988–7995.
94. Forconi S., Gori T. Endothelium and hemorheology // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. — 2013. — Vol. 53, no. 1-2. — P. 3–10.
95. Ultrastructure of endothelial cells under flow alteration / H. Masuda, K. Kawamura, H. Nanjo et al. // *Microscopy research and technique*. — 2003. — Vol. 60, no. 1. — P. 2–12.
96. Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition // *Biochemical journal*. — 2001. — Vol. 357, no. 3. — P. 593–615.
97. Celermajer D. Endothelial dysfunction: does it matter? is it reversible? // *Journal of the American College of Cardiology*. — 1997. — Vol. 30, no. 2. — P. 325–333.
98. Platelet adhesion to human vascular endothelium is modulated by constitutive and cytokine induced nitric oxide / M.W Radomski,

- P. Vallance, G. Whitley et al. // Cardiovascular research. — 1993. — Vol. 27, no. 7. — P. 1380–1382.
99. Naseem K. M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases // Molecular aspects of medicine. — 2005. — Vol. 26, no. 1-2. — P. 33–65.
100. Evidence for endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine / R.F Furchgott, M.H. Carvalho, M.T. Khan, K. Matsunaga // Journal of Vascular Research. — 1987. — Vol. 24, no. 3. — P. 145–149.
101. Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mrna expression by shear stress / M Uematsu, Y Ohara, J P Navas et al. // American Journal of Physiology-Cell Physiology. — 1995. — Vol. 269, no. 6. — P. C1371–C1378.
102. Davies P. F. Flow-mediated endothelial mechanotransduction // Physiological Reviews. — 1995. — Vol. 75, no. 3. — P. 519–560.
103. Griffith T. M. Endothelial control of vascular tone by nitric oxide and gap junctions: a haemodynamic perspective // Biorheology. — 2002. — Vol. 39, no. 3, 4. — P. 307–318.
104. A quantitative study of the response to acetylcholine and histamine of the blood vessels of the human hand and forearm / FAJI Duff, ADM Greenfield, JT Shepherd, ID Thompson // The Journal of physiology. — 1953. — Vol. 120, no. 1-2. — P. 160.
105. Furchgott R., Zawadzki J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // Nature. — 1980. — Vol. 288, no. 5789. — P. 373–376.
106. Exogenous nitric oxide inhibits sympathetically mediated vasoconstriction in human skin / S. Durand, SL Davis, J. Cui, CG Crandall // The Journal of physiology. — 2005. — Vol. 562, no. 2. — P. 629–634.
107. Wilson T. E., Cui J., Crandall C. G. Effect of whole-body and local heating on cutaneous vasoconstrictor responses in humans // Autonomic Neuroscience. — 2002. — Vol. 97, no. 2. — P. 122–128.

108. Neuronal control of skin function: the skin as a neuroimmunoendocrine organ / D. Roosterman, T. Goerge, S. W Schneider et al. // *Physiological reviews*. — 2006. — Vol. 86, no. 4. — P. 1309–1379.
109. Hodges G., Johnson J. Adrenergic control of the human cutaneous circulation // *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. — 2009. — Vol. 34, no. 5. — P. 829–839.
110. Blood pressure and blood flow variation during postural change from sitting to standing: model development and validation / M.S Olufsen, J.T Ottesen, H.T Tran et al. // *Journal of applied physiology*. — 2005. — Vol. 99, no. 4. — P. 1523–1537.
111. Kastrup J., Bulow J., Lassen N. Vasomotion in human skin before and after local heating recorded with laser doppler flowmetry. a method for induction of vasomotion // *Int J Microcirc Clin Exp*. — 1989. — Vol. 8, no. 2. — P. 205–15.
112. Oscillations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators. / H D Kvernmo, A Stefanovska, K A Kirkeboen, K Kvernebo // *Microvascular Research*. — 1999. — Vol. 57, no. 3. — P. 298–309.
113. Recent advances in physiological oscillations / T. Penzel, A. Porta, A. Stefanovska, N. Wessel // *Physiological measurement*. — 2017. — Vol. 38, no. 5. — P. E1.
114. Glass L., Mackey M. C. *From clocks to chaos: The rhythms of life*. — Princeton University Press, 1988.
115. Buzsáki G., Draguhn A. Neuronal oscillations in cortical networks // *science*. — 2004. — Vol. 304, no. 5679. — P. 1926–1929.
116. Eckberg D. L. Point:counterpoint: Respiratory sinus arrhythmia is due to a central mechanism vs. respiratory sinus arrhythmia is due to the baroreflex mechanism // *Journal of Applied Physiology*. — 2009. — Vol. 106, no. 5. — P. 1740–1742.

117. Basis for the cardiac-related rhythm in muscle sympathetic nerve activity of humans / S.M. Barman, P.J. Fadel, W. Vongpatanasin et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 2003. — Vol. 284, no. 2. — P. H584–H597.
118. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. task force of the european society of cardiology and the north american society of pacing and electrophysiology / A J. Camm, M. Malik, J T. Bigger et al. — 1996.
119. Mayer S. Studien zur physiologie des herzens und der blutgefäße. 6. abhandlung. ueber die erscheinungen im kreislaufsapparate nach zeitweiliger verschliessung der aorta // Sitzber. d. kais. Akad. d. Wissenschaften. Wien. Math.-naturw. Cl. — 1879. — Vol. 79. — P. 87.
120. Ghali M., Ghali G. Mechanisms contributing to the generation of mayer waves // Frontiers in Neuroscience. — 2020. — Vol. 14.
121. Stefanovska A., Hožič M. Spatial synchronization in the human cardiovascular system // Progress of Theoretical Physics Supplement. — 2000. — Vol. 139. — P. 270–282.
122. Billman G. Heart rate variability—a historical perspective // Frontiers in physiology. — 2011. — Vol. 2. — P. 86.
123. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis / S. Akselrod, D. Gordon, J.B Madwed et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 1985. — Vol. 249, no. 4. — P. H867–H875.
124. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control / S. Akselrod, D. Gordon, F A. Ubel et al. // science. — 1981. — Vol. 213, no. 4504. — P. 220–222.
125. Colantuoni A., Bertuglia S., Intaglietta M. Quantitation of rhythmic diameter changes in arterial microcirculation // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 1984. — Vol. 246, no. 4. — P. H508–H517.

126. Heterogeneity and weak coupling may explain the synchronization characteristics of cells in the arterial wall / J. C. B. Jacobsen, C. Aalkjaer, V. V Matchkov et al. // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. — 2008. — Vol. 366, no. 1880. — P. 3483–3502.
127. Shiogai Y., Stefanovska A., McClintock P. Nonlinear dynamics of cardiovascular ageing. // *Physics Reports*. — 2010. — 3. — Vol. 488, no. 2-3. — P. 51–110.
128. Synchronized whole cell oscillations in mitochondrial metabolism triggered by a local release of reactive oxygen species in cardiac myocytes / M.A Aon, S. Cortassa, E. Marbán, B. O'Rourke // *Journal of Biological Chemistry*. — 2003. — Vol. 278, no. 45. — P. 44735–44744.
129. Sustained glycolytic oscillations in individual isolated yeast cells / A.-K. Gustavsson, D.D. van Niekerk, C.B. Adiels et al. // *The FEBS journal*. — 2012. — Vol. 279, no. 16. — P. 2837–2847.
130. Oscillatory dynamics of vasoconstriction and vasodilation identified by time-localized phase coherence / L W Sheppard, V Vuksanovic, P V E McClintock, A Stefanovska // *Physics in Medicine and Biology*. — 2011. — Vol. 56, no. 12. — P. 3583–3601.
131. Krupatkin A. Dynamic oscillatory circuit of regulation of capillary hemodynamics // *Human Physiology*. — 2007. — Vol. 33, no. 5. — P. 595–602.
132. Wavelet phase coherence analysis of the skin blood flow oscillations in human / A. V. Tankanag, A. A. Grinevich, T. V. Kirilina et al. // *Microvascular research*. — 2014. — Vol. 95, no. 1. — P. 53–59.
133. Rhythmical variations in human skin blood flow / E. Salerud, T. Tenland, G. Nilsson, P. Oberg // *International Journal of Microcirculation*. — 1983. — Vol. 2, no. 2. — P. 91–102.
134. Interaction of thermal and baroreceptor reflexes in man. / D.D Heistad,

- F.M Abboud, A.L Mark, P. G Schmid // Journal of applied physiology. — 1973. — Vol. 35, no. 5. — P. 581–586.
135. Reproducibility of ldf blood flow measurements: dynamical characterization versus averaging / A Stefanovska, L. Sheppard, T. Stankovski, PVE McClintock // Microvascular research. — 2011. — Vol. 82, no. 3. — P. 274–276.
136. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser doppler flowmetry / M Roustit, S Blaise, C Millet, JL Cracowski // Microvascular research. — 2010. — Vol. 79, no. 2. — P. 102–108.
137. Roustit M., Cracowski J.-L. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods // Microcirculation. — 2012. — Vol. 19, no. 1. — P. 47–64.
138. Induced periodic hemodynamics in skeletal muscle of anesthetized rabbits, studied with multiple laser doppler flow probes / J A Schmidt, G A Breit, P Borgström, M Intaglietta // International Journal of Microcirculation. — 1995. — Vol. 15, no. 1. — P. 28–36.
139. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin / P. Kvandal, S.A. Landsverk, A. Bernjak et al. // Microvascular Research. — 2006. — Vol. 72, no. 3. — P. 120–127.
140. Spectral analysis of the laser doppler perfusion signal in human skin before and after exercise / H.D. Kvernmo, A. Stefanovska, M. Bracic et al. // Microvascular research. — 1998. — Vol. 56, no. 3. — P. 173–182.
141. Крупаткин А. Значение колебательных процессов в диагностике состояния микроциркуляторно-тканевых систем // Физиология человека. — 2018. — Vol. 44, no. 5. — P. 103–114.
142. Т. П. Гидродинамика крупных кровеносных сосудов. — Москва, Мир, 1983.

143. O'Rourke M. F., Kelly R. P. Wave reflection in the systemic circulation and its implications in ventricular function // *Journal of hypertension*. — 1993. — Vol. 11, no. 4. — P. 327–337.
144. Is high-frequency flux motion due to respiration or to vasomotion activity? / A. Bollinger, A. Yanar, U. Hoffmann, U. K. Franzeck // *Vasomotion and Flow Motion* / Ed. by C. Allegra, M. Intaglietta, K. Messmer. — Vol. 20. — 1993. — P. 52–58.
145. Респираторнозависимые колебания кровотока в системе микроциркуляции кожи человека / ТВ Кирилина, ГВ Красников, АВ Танканаг et al. // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. — 2009. — Vol. 8, no. 2. — P. 58–62.
146. Крупаткин А. et al. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. — 2005.
147. Взаимосвязь функции веноулярного отдела сосудистого русла с суточным ритмом артериального давления в норме и при артериальной гипертонии / А. А. Федорович, А. Н. Рогоза, Ш. Б. Гориева, Т. С. Павлова // *Кардиологический вестник*. — 2008. — Vol. 3(15), no. 2. — P. 21–30.
148. Aalkjær C., Nilsson H. Vasomotion: cellular background for the oscillator and for the synchronization of smooth muscle cells // *British journal of pharmacology*. — 2005. — Vol. 144, no. 5. — P. 605–616.
149. Investigation of statistical characteristics of interaction between the low-frequency oscillations in heart rate variability and photoplethysmographic waveform variability in healthy subjects and myocardial infarction patients / V.A. Shvartz, A.S. Karavaev, E.I. Borovkova et al. // *Russian Open Medical Journal*. — 2016. — Vol. 5, no. 2. — P. 203–203.
150. Liao F., Jan Y.-K. Enhanced phase synchronization of blood flow oscillations between heated and adjacent nonheated sacral skin // *Medical, biological engineering and computing*. — 2012. — Vol. 50, no. 10. — P. 1059–1070.

151. Крупаткин А. Колебания кровотока частотой около 0.1 Гц в микрососудах кожи не отражают симпатическую регуляцию их тонуса // Физиология человека. — 2009. — Vol. 35, no. 2. — P. 60–69.
152. Superposition of arteriolar vasomotion waves and regulation of blood flow in skeletal muscle microcirculation / A. Colantuoni, S. Bertuglia, G. Coppini, L Donato // Oxygen Transport to Tissue XII. — Springer, 1990. — P. 549–558.
153. Human skin microcirculation after brachial plexus block evaluated by wavelet transform of the laser doppler flowmetry signal / S.A. Landsverk, P. Kvandal, T. Kjelstrup et al. // Anesthesiology. — 2006. — Vol. 105, no. 3. — P. 478.
154. Effect of age on cutaneous vasomotor responses during local skin heating / G.J. Hodges, M.M. Mallette, G.A. Tew et al. // Microvascular Research. — 2017. — Vol. 112. — P. 47–52.
155. Bernjak A., Stefanovska A. Importance of wavelet analysis in laser doppler flowmetry time series // 2007 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. — 2007. — P. 4064–4067.
156. Fedorovich A. A. Non-invasive evaluation of vasomotor and metabolic functions of microvascular endothelium in human skin // Microvascular research. — 2012. — Vol. 84, no. 1. — P. 86–93.
157. An association between vasomotion and oxygen extraction / C E Thorn, H Kyte, D W Slaff, A C Shore // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 2011. — Vol. 301, no. 2. — P. H442–H449.
158. Spectral components of heart rate variability determined by wavelet analysis / M. B. Lotric, A. Stefanovska, D. Stajer, Vilma U.-R. // Physiological measurement. — 2000. — Vol. 21, no. 4. — P. 441.
159. Jacob M., Chappell D., Becker B. Regulation of blood flow and volume exchange across the microcirculation // Critical Care. — 2016. — Vol. 20, no. 1. — P. 319.

160. A.I. K. Handbook of Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation (in Russian). — Medicina, Moscow, 2005.
161. Using wavelet analysis to characterize the thermoregulatory mechanisms of sacral skin blood flow / M.J. Geyer, Y.-K. Jan, D.M. Brienza, M.L. Boninger // Journal of Rehabilitation Research and Development. — 2004. — Vol. 41, no. 6 A. — P. 797–805.
162. Martini R., Bagno A. The wavelet analysis for the assessment of microvascular function with the laser doppler fluxmetry over the last 20 years. looking for hidden informations // Clinical hemorheology and microcirculation. — 2018. — Vol. 70, no. 2. — P. 213–229.
163. Dynamic markers based on blood perfusion fluctuations for selecting skin melanocytic lesions for biopsy / G. Lancaster, A. Stefanovska, M. Pesce et al. // Scientific Reports. — 2015. — Vol. 5. — P. 12825.
164. Astashev M., Serov D., Tankanag A. A study of the oscillatory components of the skin microhemodynamics in mice by laser doppler flowmetry // Biophysics. — 2018. — Vol. 63, no. 1. — P. 122–125.
165. Decreased microvascular vasomotion and myogenic response in rat skeletal muscle in association with acute insulin resistance / J.MB Newman, R.M Dwyer, P. St-Pierre et al. // The Journal of physiology. — 2009. — Vol. 587, no. 11. — P. 2579–2588.
166. Kenney W. L. Edward f. adolph distinguished lecture: Skin-deep insights into vascular aging // Journal of applied physiology. — 2017. — Vol. 123, no. 5. — P. 1024–1038.
167. Charkoudian N., Stachenfeld N. Sex hormone effects on autonomic mechanisms of thermoregulation in humans // Autonomic Neuroscience. — 2016. — Vol. 196. — P. 75–80.
168. Cutaneous vasoconstrictor response to whole body skin cooling is altered by time of day / K. Aoki, D.P Stephens, A.R Saad, J.M Johnson // Journal of applied physiology. — 2003. — Vol. 94, no. 3. — P. 930–934.

169. Lüscher T., Barton M. Biology of the endothelium // Clinical cardiology. — 1997. — Vol. 20. — P. II–3.
170. Selected endothelial hemostatic markers in patients with peripheral arterial disease after endovascular revascularization and restenosis formation. / D. Kotschy, M. Kotschy, P. Socha et al. // Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej. — 2015. — Vol. 69.
171. Serum and tissue endothelin-1 are independent from intima-media thickness of peripheral arteries in patients with chronic kidney disease / N. Nezami, N Sepehrvand, M. Mirchi et al. // Vascular. — 2015. — Vol. 23, no. 4. — P. 382–390.
172. Park S., Kim H., Park J. Comparison of clinical and hematologic factors associated with stenosis and aneurysm development in patients with atherosclerotic arterial disease // Annals of vascular surgery. — 2019. — Vol. 60. — P. 165–170.
173. Васина Л. В., Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2017. — Vol. 16, no. 1. — P. 4–15.
174. Марков Х. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия // Кардиология. — 2005. — Vol. 45, no. 12. — P. 62–72.
175. Endothelial dysfunction of vessels at lung cancer / Yu V Dumanskiy, O Yu Stoliarova, OV Syniachenko, ED Iegudina // Experimental oncology. — 2015. — no. 37, 4. — P. 277–280.
176. Современные методы оценки эндотелиальной дисфункции и возможности их применения в практической медицине / А.В. Шабров, А.Г. Апресян, А.Л. Добкес et al. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. — 2016. — Vol. 12, no. 6.
177. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции / АН Иванов, АА Гречихин, ИА Норкин, ДМ Пучиньян // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2014. — Vol. 13, no. 4. — P. 4–11.

178. Theodorakopoulou M. P., Schoina M., Sarafidis P. Assessment of endothelial and microvascular function in ckd: Older and newer techniques, associated risk factors, and relations with outcomes // *American Journal of Nephrology*. — 2020. — P. 1–19.
179. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice / A.J. Flammer, T. Anderson, D.S. Celermajer et al. // *Circulation*. — 2012. — Vol. 126, no. 6. — P. 753–767.
180. Patel S., Celermajer D. S. Assessment of vascular disease using arterial flow mediated dilatation // *Pharmacological Reports*. — 2006. — Vol. 58. — P. 3.
181. Comprehensive assessment of vascular health in patients; towards endothelium-guided therapy / M. Frolow, A. Drozd, A. Kowalewska et al. // *Pharmacological Reports*. — 2015. — Vol. 67, no. 4. — P. 786–792.
182. Allen J. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement // *Physiological Measurement*. — 2007. — Vol. 28, no. 3. — P. R1.
183. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (ukpds 35): prospective observational study / I.M Stratton, A.I Adler, H A. W Neil et al. // *Bmj*. — 2000. — Vol. 321, no. 7258. — P. 405–412.
184. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus / E. Selvin, S. Marinopoulos, G. Berkenblit et al. // *Annals of internal medicine*. — 2004. — Vol. 141, no. 6. — P. 421–431.
185. Rask-Madsen C., King G. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors // *Cell metabolism*. — 2013. — Vol. 17, no. 1. — P. 20–33.
186. Rendell M., Bamisedun O. Diabetic cutaneous microangiopathy // *The American journal of medicine*. — 1992. — Vol. 93, no. 6. — P. 611–618.

187. Diabetic microvascular disease: an endocrine society scientific statement / E.J Barrett, Z. Liu, M. Khamaisi et al. // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. — 2017. — Vol. 102, no. 12. — P. 4343–4410.
188. Дедов И. И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений // Сахарный диабет. — 2013. — no. 3 (60).
189. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. / A.E. Caballero, S. Arora, R. Saouaf et al. // Diabetes. — 1999. — Vol. 48, no. 9. — P. 1856–1862.
190. Endothelial dysfunction in diabetes / A. De Vriese, T. Verbeuren, J. Van de Voorde et al. // British journal of pharmacology. — 2000. — Vol. 130, no. 5. — P. 963–974.
191. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications / C E Tabit, W B Chung, N M Hamburg, J A Vita // Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders. — 2010. — Vol. 11, no. 1. — P. 61–74.
192. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance / B.M Balletshofer, K. Rittig, M.D Enderle et al. // Circulation. — 2000. — Vol. 101, no. 15. — P. 1780–1784.
193. Kolluru G. K., Bir S. C., Kevil C. G. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing // International journal of vascular medicine. — 2012. — Vol. 2012.
194. Cho Y. I., Mooney M. P., Cho D. J. Hemorheological disorders in diabetes mellitus // Journal of diabetes science and technology. — 2008. — Vol. 2, no. 6. — P. 1130–1138.
195. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser doppler with local thermal hyperemia: A systematic review with meta-analysis / D. Fuchs, P.P. Dupon,

- L.A. Schaap, R. Draijer // *Cardiovascular Diabetology*. — 2017. — Vol. 16, no. 1.
196. Schramm J., Dinh T., Veves A. Microvascular changes in the diabetic foot // *International Journal of Lower Extremity Wounds*. — 2006. — Vol. 5, no. 3. — P. 149–159.
197. Aagenaes Ö., Moe H. Light-and electron-microscopic study of skin capillaries of diabetics // *Diabetes*. — 1961. — Vol. 10, no. 4. — P. 253–259.
198. Braverman I. M., Sibley J., Keh A. Ultrastructural analysis of the endothelial-pericyte relationship in diabetic cutaneous vessels // *Journal of investigative dermatology*. — 1990. — Vol. 95, no. 2. — P. 147–153.
199. Impaired autoregulation of blood flow in subcutaneous tissue of long-term type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with microangiopathy: an index of arteriolar dysfunction / J Kastrup, T Nørgaard, H-H Parving et al. // *Diabetologia*. — 1985. — Vol. 28, no. 10. — P. 711–717.
200. Shore A. C. The microvasculature in type 1 diabetes // *Seminars in vascular medicine*. — Vol. 2(1). — 2002. — P. 009–020.
201. Prediabetes and type 2 diabetes are associated with generalized microvascular dysfunction: the maastricht study / B.M Sørensen, A. Houben, T. Berendschot et al. // *Circulation*. — 2016. — Vol. 134, no. 18. — P. 1339–1352.
202. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus / Bernard I Levy, Ernesto L Schiffrin, Jean-Jacques Mourad et al. // *Circulation*. — 2008. — Vol. 118, no. 9. — P. 968–976.
203. Houben A. J., Martens R. J., Stehouwer C. D. Assessing microvascular function in humans from a chronic disease perspective // *Journal of the American Society of Nephrology*. — 2017. — Vol. 28, no. 12. — P. 3461–3472.

204. Endothelial dysfunction as a link between cardiovascular risk factors and peripheral neuropathy in diabetes / M. Roustit, J. Loader, C. Deusenbery et al. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. — 2016. — Vol. 101, no. 9. — P. 3401–3408.
205. Metabolic syndrome individuals with and without type 2 diabetes mellitus present generalized vascular dysfunction: Cross-sectional study / G. Walther, P. Obert, F. Dutheil et al. // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. — 2015. — Vol. 35, no. 4. — P. 1022–1029.
206. Skin blood flow in the upper and lower extremities of diabetic patients with and without autonomic neuropathy / V. Urbancic-Rovan, A. Stefanovska, A. Bernjak et al. // *Journal of Vascular Research*. — 2004. — Vol. 41, no. 6. — P. 535–545.
207. Combining laser-doppler flowmetry measurements with spectral analysis to study different microcirculatory effects in human prediabetic and diabetic subjects / H.-F. Hu, H. Hsiu, C.-J. Sung, C.-H. Lee // *Lasers in medical science*. — 2017. — Vol. 32, no. 2. — P. 327–334.
208. Changes in vasomotion—effect of hyperbaric oxygen in patients with diabetes type 2. / D. Balaz, A. Komornikova, P. Sabaka et al. // *Undersea & Hyperbaric Medicine: Journal of the Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc.* — 2016. — Vol. 43, no. 2. — P. 123–134.
209. Vasomotion becomes less random as diabetes progresses in monkeys / X T Tigno, B C Hansen, S Nawang et al. // *Microcirculation*. — 2011. — Vol. 18, no. 6. — P. 429–439.
210. Marathe P. H., Gao H. X., Close K. L. American diabetes association standards of medical care in diabetes 2017 // *Journal of diabetes*. — 2017. — Vol. 9, no. 4. — P. 320–324.
211. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery / H. Kawano, T. Motoyama, O. Hirashima et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. — 1999. — Vol. 34, no. 1. — P. 146–154.

212. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus / U. Hink, H. Li, H. Mollnau et al. // *Circulation research*. — 2001. — Vol. 88, no. 2. — P. e14–e22.
213. Schmoelzer I., Wascher T. C. Effect of repaglinide on endothelial dysfunction during a glucose tolerance test in subjects with impaired glucose tolerance // *Cardiovascular diabetology*. — 2006. — Vol. 5, no. 1. — P. 9.
214. Kellogg J., Dean L. In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges // *Journal of applied physiology*. — 2006. — Vol. 100, no. 5. — P. 1709–1718.
215. Impaired distal thermoregulation in diabetes and diabetic polyneuropathy / S.B Rutkove, A. Veves, T. Mitsa et al. // *Diabetes care*. — 2009. — Vol. 32, no. 4. — P. 671–676.
216. The continuums of impairment in vascular reactivity across the spectrum of cardiometabolic health: A systematic review and network meta-analysis / J. Loader, C. Khouri, F. Taylor et al. // *Obesity Reviews*. — 2019. — Vol. 20, no. 6. — P. 906–920.
217. Савельев В.С. К. В. Критическая ишемия нижних конечностей. — М.: Медицина, 1997.
218. Trends in peripheral arterial disease incidence and mortality in eu15+ countries 1990–2017 / R. Goodall, J. D Saliccioli, A. H. Davies et al. // *European Journal of Preventive Cardiology*. — 2020. — P. 2047487319899626.
219. ред.Покровского П. Клиническая нейроангиофизиология конечностей (периваскулярная иннервация и нервная трофика). — М.: Медицина, 2004.
220. Norgren L. Hiatt W.R. F. F. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (tasc ii) // *Journal of vascular surgery*. — 2007. — Vol. 45, no. 1(Suppl.S.). — P. S5–S67.

221. Рогоза А.Н. Б. Т. Современные методы оценки состояния сосудов у больных артериальной гипертонией. Handbook of physiology (Bethesda, Md.): Cardiovascular system. — М: Издательский дом «Атмосфера», 2008.
222. Endothelial function as a marker of pre-clinical atherosclerosis: assessment techniques and clinical implications / D. Ruggiero, S. Paolillo, G. Della Ratta et al. // *Monaldi Archives for Chest Disease*. — 2015. — Vol. 80, no. 3.
223. Impaired flow-mediated endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation of the brachial artery in patients with atherosclerotic peripheral vascular disease / H. Komai, Y. Higami, H. Tanaka et al. // *Angiology*. — 2008. — Vol. 59, no. 1. — P. 52–56.
224. Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis / B. Sreckovic, V.D. Sreckovic, I. Soldatovic et al. // *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. — 2017. — Vol. 11, no. 3. — P. 179–182.
225. Rossi M., Carpi A. Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. — 2004. — Vol. 58, no. 8. — P. 427 – 431.
226. Марков А. В. Состояние тканевого кровотока при IV стадии хронической артериальной недостаточности нижних конечностей атеросклеротической этиологии на фоне хирургического лечения : phdthesis / А. В. Марков.
227. Periodic hemodynamics (flow motion) in peripheral arterial occlusive disease / J A. Schmidt, P. Borgström, G.P. Firestone et al. // *Journal of vascular surgery*. — 1993. — Vol. 18, no. 2. — P. 207–215.
228. Hoffmann U., Franzeck U., Bollinger A. Low frequency oscillations of skin blood flux in peripheral arterial occlusive disease. // *VASA. Zeitschrift für Gefasskrankheiten*. — 1994. — Vol. 23, no. 2. — P. 120–124.

229. Фоломеева О., Галушко Е., ШФ Э. Г. Распространенность ревматических заболеваний в популяциях взрослого населения России и США // Научно-практическая ревматология. — 2008. — no. 4.
230. Capillaroscopic scleroderma-like pattern in patients without connective tissue disorders / M. Gutierrez, R. De Angelis, C. Bertolazzi, W. Grassi // Rheumatology. — 2010. — Vol. 49, no. 10. — P. 1994–1996.
231. Maximum blood flow and microvascular regulatory responses in systemic sclerosis / H. Gunawardena, ND Harris, C Carmichael, N. J McHugh // Rheumatology (Oxford). — 2007. — Vol. 46(7). — P. 1079–82.
232. The role of endothelial cells in the vasculopathy of systemic sclerosis: a systematic review / Y Mostmans, M Cutolo, C Giddelo et al. // Autoimmunity reviews. — 2017. — Vol. 16, no. 8. — P. 774–786.
233. Measurement of cold challenge responses in primary raynaud's phenomenon and raynaud's phenomenon associated with systemic sclerosis. / D O'Reilly, L Taylor, K El-Hadidy, MI Jayson // Annals of the rheumatic diseases. — 1992. — Vol. 51, no. 11. — P. 1193–1196.
234. Blunted increase of digital skin vasomotion following acetylcholine and sodium nitroprusside iontophoresis in systemic sclerosis patients / L Rossi, M. and Bazzichi, C Di Maria, Ferdinando Franzoni et al. // Rheumatology. — 2008. — Vol. 47, no. 7. — P. 1012–1017.
235. Spectral components of laser doppler flowmetry signals recorded in healthy and type 1 diabetic subjects at rest and during a local and progressive cutaneous pressure application: Scalogram analyses / A. Humeau, A. Kořtka, P. Abraham et al. // Physics in Medicine and Biology. — 2004. — Vol. 49, no. 17. — P. 3957–3970.
236. Станкевич А., Ахапкина А., Тихомирова И. Функциональные пробы в оценке резервных возможностей кровотока у спортсменов // Ярославский педагогический вестник. — 2013. — Vol. 3, no. 4.
237. Johnson J., Kellogg D. Local thermal control of the human cutaneous

- circulation // *Journal of Applied Physiology*. — 2010. — Vol. 109, no. 4. — P. 1229–1238.
238. Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why // *Mayo clinic proceedings*. — Vol. 78(5). — 2003. — P. 603–612.
239. Ice-water hand immersion causes a reflex decrease in skin temperature in the contralateral hand / Y. Isii, K. Matsukawa, H. Tsuchimochi, T. Nakamoto // *Journal of Physiological Sciences*. — 2007. — Vol. 57, no. 4. — P. 241–248.
240. Mayrovitz H. N., Groseclose E. E. Inspiration-induced vascular responses in finger dorsum skin // *Microvascular research*. — 2002. — Vol. 63, no. 2. — P. 227–232.
241. Wilson S., Jennings P. E., Belch J. Detection of microvascular impairment in type i diabetics by laser doppler flowmetry // *Clinical Physiology*. — 1992. — Vol. 12, no. 2. — P. 195–208.
242. Vasomotor reflexes in the fingertip skin of patients with type 1 diabetes mellitus and leprosy / N. C. Abbot, J. S. Beck, S. B. Wilson, F. Khan // *Clinical Autonomic Research*. — 1993. — Vol. 3, no. 3. — P. 189–193.
243. Laser doppler evaluation of skin vasomotor reflexes during sympathetic stimulation in normals and in patients with primary raynaud's phenomenon / H Wollersheim, H Droste, J Reyenga, TH Thien // *International journal of microcirculation, clinical and experimental*. — 1991. — Vol. 10, no. 1. — P. 33–42.
244. Littleford R., Faisal K., Belch J. J. Impaired skin vasomotor reflexes in patients with erythromelalgia // *Clinical Science*. — 1999. — Vol. 96, no. 5. — P. 507–512.
245. Charkoudian N. Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans // *Journal of Applied Physiology*. — 2010. — Vol. 109, no. 4. — P. 1221–1228.

246. Скедина М., Ковалева А., Дегтеренкова Н. Исследование церебральной гемодинамики и периферической микроциркуляции при проведении пассивной постуральной ортостатической пробы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2018. — Vol. 17, no. 3. — P. 115–119.
247. Forehead skin microcirculation during tilt table testing and lower body negative pressure. / J. Drescher, A. Diedrich, AN Lebedev et al. // Journal of Gravitational Physiology: a Journal of the International Society for Gravitational Physiology. — 1995. — Vol. 2, no. 1. — P. P11–2.
248. Effect of orthostasis on the regulation of skin blood flow in upper and lower extremities in human / I.V. Tikhonova, A.A. Grinevich, I.E. Guseva, A.V. Tankanag // Microcirculation. — 2020. — P. e12655.
249. Сагайдачный А. Окклюзионная проба: методы анализа, механизмы реакции, перспективы применения // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2018. — Т. 17, № 3. — С. 5–22.
250. Lemne C., De Faire U., Fagrell B. Mental stress induces different reactions in nutritional and thermoregulatory human skin microcirculation: a study in borderline hypertensives and normotensives. // Journal of human hypertension. — 1994. — Vol. 8, no. 8. — P. 559–563.
251. Endothelial dysfunction: comparative evaluation of ultrasound dopplerography, laser dopplerflowmetry and direct monitoring of arterial pressure for conducting pharmacological tests in rats / V.O Soldatov, T.N. Malorodova, T.I. Balamutova et al. // Research Results in Pharmacology. — 2018. — Vol. 4, no. 1.
252. Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and to sodium nitroprusside in chronic uremic patients / A. Cupisti, M. Rossi, S Placidi et al. // International Journal of Clinical and Laboratory Research. — 2000. — Vol. 30, no. 3. — P. 157.
253. Endothelium-dependent vasodilation of the skin microcirculation in heart

- transplant recipients. / AK Andreassen, L. Gullestad, T. Holm et al. // *Clinical transplantation*. — 1998. — Vol. 12, no. 4. — P. 324–332.
254. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines / P. Kvandal, A. Stefanovska, M. Veber et al. // *Microvascular research*. — 2003. — Vol. 65, no. 3. — P. 160–171.
255. Reproducibility of four frequently used local heating protocols to assess cutaneous microvascular function / K.A. Roberts, T. van Gent, N.D. Hopkins et al. // *Microvascular Research*. — 2017. — Vol. 112. — P. 65–71.
256. Use of temperature alterations to characterize vascular reactivity / Obdulia Ley, Mandeep Dhindsa, Shawn M Sommerlad et al. // *Clinical physiology and functional imaging*. — 2011. — Vol. 31, no. 1. — P. 66–72.
257. The influence of topical capsaicin on the local thermal control of skin blood flow in humans / D.P. Stephens, J.M. Charkoudian, N. and Benevento, J. M. Johnson, J.L. Saumet // *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. — 2001. — Vol. 281, no. 3. — P. R894–R901.
258. Role of sympathetic nerves in the vascular effects of local temperature in human forearm skin / P. E. Pergola, D. L. Kellogg, J. M. Johnson et al. // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. — 1993. — Vol. 265, no. 3. — P. H785–H792.
259. Acetylcholine-induced vasodilation is mediated by nitric oxide and prostaglandins in human skin / DL Kellogg Jr, JL Zhao, U Coey, JV Green // *Journal of applied physiology*. — 2005. — Vol. 98, no. 2. — P. 629–632.
260. Remote photoplethysmography for skin perfusion monitoring using narrowband illumination / Z Marcinkevics, U Rubins, A Aglinska et al. // *Clinical and Preclinical Optical Diagnostics II / International Society for Optics and Photonics*. — Vol. 11073. — 2019. — P. 110730D.

261. The vasodilatory response of skin microcirculation to local heating is subject to desensitization / M. Ciplak, A. Pasche, A.l Heim et al. // *Microcirculation*. — 2009. — Vol. 16, no. 3. — P. 265–275.
262. Del Pozzi A. T., Miller J. T., Hodges G. J. The effect of heating rate on the cutaneous vasomotion responses of forearm and leg skin in humans // *Microvascular Research*. — 2016. — Vol. 105. — P. 77–84.
263. Huang C.-S., Wang S.-F., Tsai Y.-F. Axon reflex-related hyperemia induced by short local heating is reproducible // *Microvascular research*. — 2012. — Vol. 84, no. 3. — P. 351–355.
264. The involvement of heating rate and vasoconstrictor nerves in the cutaneous vasodilator response to skin warming / G.J. Hodges, W.A. Kosiba, K. Zhao, J.M. Johnson // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. — 2009. — Vol. 296, no. 1. — P. H51–H56.
265. Neurovascular microcirculatory vasodilation mediated by c-fibers and transient receptor potential vanilloid-type-1 channels (trpv 1) is impaired in type 1 diabetes / P. Marche, S. Dubois, P. Abraham et al. // *Scientific reports*. — 2017. — Vol. 7. — P. 44322.
266. Aging is associated with a diminished axon reflex response to local heating on the gaiter skin area / C. Millet, M. Roustit, S. Blaise, J.-L. Cracowski // *Microvascular research*. — 2012. — Vol. 84, no. 3. — P. 356–361.
267. Maximum skin hyperaemia induced by local heating: possible mechanisms / K.M Gooding, M.M. Hannemann, J.E Tooke et al. // *Journal of vascular research*. — 2006. — Vol. 43, no. 3. — P. 270–277.
268. Imaging photoplethysmography for assessment of chronic pain patients / U Rubins, Z Marcinkevics, I Logina et al. // *Optical Diagnostics and Sensing XIX: Toward Point-of-Care Diagnostics / International Society for Optics and Photonics*. — Vol. 10885. — 2019. — P. 1088508.
269. Skin blood flow response to locally applied mechanical and thermal

- stresses in the diabetic foot / Y.-K. Jan, S. Shen, R.D. Foreman, W.J. Ennis // *Microvascular Research*. — 2013. — Vol. 89. — P. 40–46.
270. Human cutaneous c fibres activated by cooling, heating and menthol / M. Campero, T.K. Baumann, H. Bostock, J.L. Ochoa // *Journal of Physiology*. — 2009. — Vol. 587, no. 23. — P. 5633–5652.
271. Modelling of thermal hyperemia in the skin of type 2 diabetic patients / Andrea Bandini, Silvia Orlandi, Claudia Manfredi et al. // *Journal of healthcare engineering*. — 2013. — Vol. 4, no. 4. — P. 541–554.
272. Effect of local blood flow in thermal regulation in diabetic patient / A Bandini, S Orlandi, C Manfredi et al. // *Microvascular Research*. — 2013. — Vol. 88. — P. 42–47.
273. Reduced arteriovenous shunting capacity after local heating and redistribution of baseline skin blood flow in type 2 diabetes assessed with velocity-resolved quantitative laser doppler flowmetry / I. Fredriksson, M. Larsson, F.H. Nyström et al. // *Diabetes*. — 2010. — Vol. 59, no. 7. — P. 1578–1584.
274. Differences in foot and forearm skin microcirculation in diabetic patients with and without neuropathy / S. Arora, P. Smakowski, R. G Frykberg et al. // *Diabetes Care*. — 1998. — Vol. 21, no. 8. — P. 1339–1344.
275. Spectral analysis of reflex cutaneous vasodilatation during passive heat stress / M.M Mallette, G. J Hodges, G. W McGarr et al. // *Microvascular research*. — 2017. — Vol. 111. — P. 42–48.
276. Daanen H. Finger cold-induced vasodilation: a review // *European journal of applied physiology*. — 2003. — Vol. 89, no. 5. — P. 411–426.
277. Effect of local cold provocation on systolic blood pressure and skin blood flow in the finger / S Bornmyr, J Castenfors, Eva Evander et al. // *Clinical physiology*. — 2001. — Vol. 21, no. 5. — P. 570–575.
278. Lovallo W. The cold pressor test and autonomic function: A review and integration // *Psychophysiology*. — 1975. — Vol. 12, no. 3. — P. 268–282.

279. Effects of the cold pressor test on muscle sympathetic nerve activity in humans. / R G Victor, W N Leimbach Jr, D R Seals et al. // Hypertension. — 1987. — Vol. 9, no. 5. — P. 429–436.
280. Lewis T. Observations upon the reactions of the vessels of the human skin to cold // Heart. — 1930. — Vol. 15. — P. 177–208.
281. Sympathetic stimulation induced by hand cooling alters cold-induced vasodilatation in humans / I. Sendowski, G. Savourey, J.-C. Launay et al. // European journal of applied physiology. — 2000. — Vol. 81, no. 4. — P. 303–309.
282. Kistler A., Mariauzouls C., Von Berlepsch K. Fingertip temperature as an indicator for sympathetic responses // International Journal of Psychophysiology. — 1998. — Vol. 29, no. 1. — P. 35–41.
283. Obesity impairs vascular relaxation in human subjects: hyperglycemia exaggerates adrenergic vasoconstriction. arterial dysfunction in obesity and diabetes / W.I. Sivitz, S.M. Wayson, M.L. Bayless et al. // Journal of Diabetes and its Complications. — 2007. — Vol. 21, no. 3. — P. 149–157.
284. The cold pressor test: pharmacological and therapeutic aspects. / M Velasco, J Gómez, M Blanco, I Rodriguez // American journal of therapeutics. — 1997. — Vol. 4, no. 1. — P. 34–38.
285. Сагайдачный А., Скрипаль А., Усанов Д. Тепловизионная биомедицинская диагностика. — Издательство "Саратовский источник 2019.
286. Relationship between flow-mediated vasodilation and cardiovascular risk factors in a large community-based study / Tatsuya Maruhashi, Junko Soga, Noritaka Fujimura et al. // Heart. — 2013. — Vol. 99, no. 24. — P. 1837–1842.
287. Aging-associated sensory neuropathy alters pressure-induced vasodilation in humans / B. Fromy, D. Sigauco-Roussel, M.-L. Gaubert-Dahan et al. // Journal of Investigative Dermatology. — 2010. — Vol. 130, no. 3. — P. 849–855.

288. Early decrease of skin blood flow in response to locally applied pressure in diabetic subjects / B. Fromy, P. Abraham, C. Bouvet et al. // *Diabetes*. — 2002. — Vol. 51, no. 4. — P. 1214–1217.
289. Impaired pressure-induced vasodilation at the foot in young adults with type 1 diabetes / A. Koi?tka, P. Abraham, B. Bouhanick et al. // *Diabetes*. — 2004. — Vol. 53, no. 3. — P. 721–725.
290. Liao F., Jan Y. Nonlinear dynamics of skin blood flow response to mechanical and thermal stresses in the plantar foot of diabetics with peripheral neuropathy // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. — 2017. — Vol. 66, no. 3. — P. 197–210.
291. Early endothelial dysfunction severely impairs skin blood flow response to local pressure application in streptozotocin-induced diabetic mice / D. Sigaudou-Roussel, C. Demiot, B. Fromy et al. // *Diabetes*. — 2004. — Vol. 53, no. 6. — P. 1564–1569.
292. Schubert V., Fagrell B. Local skin pressure and its effects on skin microcirculation as evaluated by laser-doppler fluxmetry // *Clinical Physiology*. — 1989. — Vol. 9, no. 6. — P. 535–545.
293. Agrawal K., Chauhan N. Pressure ulcers: Back to the basics // *Indian Journal of Plastic Surgery*. — 2012. — Vol. 45, no. 2. — P. 244–254.
294. Mills J. L. Lower limb ischaemia in patients with diabetic foot ulcers and gangrene: recognition, anatomic patterns and revascularization strategies // *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. — 2016. — Vol. 32, no. S1. — P. 239–245.
295. Probe pressure effects on human skin diffuse reflectance and fluorescence spectroscopy measurements / L. Lim, B.S. Nichols, Rajaram N., J.W. Tunnell // *Journal of Biomedical Optics*. — 2011. — Vol. 16, no. 1. — P. 011012.
296. Popov A., Bykov A., Meglinski I. Influence of probe pressure on diffuse reflectance spectra of human skin measured in vivo // *Journal of Biomedical Optics*. — 2017. — Vol. 22, no. 11. — P. 110504.

297. Fibre optic probe for fluorescence diagnostics with blood influence compensation / E. Zherebtsov, V. Dremin, E. Zharkikh et al. // Proc. SPIE. — 2018. — Vol. 10493. — P. 104931L.
298. Meglinski I., Greenhalgh D. Skin blood microcirculation probing: Experiments and theoretical remarks // Proc. SPIE. — 2002. — Vol. 4707. — P. 194–199.
299. The influence of local pressure on evaluation parameters of skin blood perfusion and fluorescence / E. Zherebtsov, K. Kandurova, E. Seryogina et al. // Proc. SPIE. — 2017. — Vol. 10336. — P. 1033608.
300. Difficulties in laser doppler measurement of skin blood flow under applied external pressure / A.H. Sacks, G. Ksander, H. O'Neill, I. Perakash // Journal of Rehabilitation Research and Development. — 1988. — Vol. 25, no. 3. — P. 19–24.
301. Dynamics of local pressure-induced cutaneous vasodilation in the human hand / P. Abraham, B. Fromy, S. Merzeau et al. // Microvascular Research. — 2001. — Vol. 61, no. 1. — P. 122–129.
302. Local cooling reduces skin ischemia under surface pressure in rats: an assessment by wavelet analysis of laser doppler blood flow oscillations / Y.-K. Jan, B. Lee, F. Liao, R.D. Foreman // Physiological Measurement. — 2012. — Vol. 33, no. 10. — P. 1733.
303. Wavelet-based spectrum analysis of sacral skin blood flow response to alternating pressure / Y.-K. Jan, D.M. Brienza, M. J. Geyer, P. Karg // Archives of Physical Medicine and Rehabilitation. — 2008. — Vol. 89, no. 1. — P. 137–145.
304. Sim J. K., Youn S., Cho Y.-H. A thermal peripheral blood flowmeter with contact force compensation // Journal of Micromechanics and Microengineering. — 2012. — Vol. 22, no. 12. — P. 125014.
305. Effect of deep breathing test on finger blood pressure / K. Jagomägi, R. Raamat, J. Talts et al. // Blood pressure monitoring. — 2003. — Vol. 8, no. 5. — P. 211–214.

306. Effect of breathing pattern on blood pressure and heart rate oscillations in humans / Dominique Laude, Michael Goldman, Pierre Escourrou, Jean-Luc Elghozi // *Clinical and experimental pharmacology and physiology*. — 1993. — Vol. 20, no. 10. — P. 619–626.
307. How does deep breathing affect office blood pressure and pulse rate? / H. Mori, H. Yamamoto, M. Kuwashima et al. // *Hypertension research*. — 2005. — Vol. 28, no. 6. — P. 499.
308. Effects of slow, controlled breathing on baroreceptor control of heart rate and blood pressure in healthy men / A. Radaelli, R. Raco, P. Perfetti et al. // *Journal of hypertension*. — 2004. — Vol. 22, no. 7. — P. 1361–1370.
309. Zheng D., Giovannini R., Murray A. Effect of respiration, talking and small body movements on blood pressure measurement // *Journal of human Hypertension*. — 2012. — Vol. 26, no. 7. — P. 458.
310. Allen J., Frame J. R., Murray A. Microvascular blood flow and skin temperature changes in the fingers following a deep inspiratory gasp // *Physiological Measurement*. — 2002. — Vol. 23, no. 2. — P. 365–373.
311. Bolton B., Carmichael E. A., Strup G. Vasoconstriction following deep inspiration // *The Journal of physiology*. — 1936. — Vol. 86, no. 1. — P. 83–94.
312. Noninvasive measure of microvascular nitric oxide function in humans using very low-frequency cutaneous laser doppler flow spectra / J. M. Stewart, I. Taneja, M. S Goligorsky, M. S Medow // *Microcirculation*. — 2007. — Vol. 14, no. 3. — P. 169–180.
313. Historical reviews of the assessment of human cardiovascular function: interrogation and understanding of the control of skin blood flow / D. A. Low, H. Jones, N. T. Cable et al. // *European Journal of Applied Physiology*. — 2019.
314. Hardy J., Soderstrom G. Heat loss from the nude body and peripheral

- blood flow at temperatures of 22° c. to 35° c. two figures // The journal of Nutrition. — 1938. — Vol. 16, no. 5. — P. 493–510.
315. Behnke A., Willmon T. Cutaneous diffusion of helium in relation to peripheral blood flow and the absorption of atmospheric nitrogen through the skin // American Journal of Physiology-Legacy Content. — 1940. — Vol. 131, no. 3. — P. 627–632.
316. Hertzman A. B., Roth L. W. The vasomotor components in the vascular reactions in the finger to cold // American Journal of Physiology-Legacy Content. — 1942. — Vol. 136, no. 4. — P. 669–679.
317. Tuchin V. V. et al. Optical biomedical diagnostics // Moscow: Izdatelstvo Fizikomatematicheskoy literaturi. — 2007. — Vol. 1. — P. 560.
318. Daly S., Leahy M. 'go with the flow': A review of methods and advancements in blood flow imaging // Journal of Biophotonics. — 2013. — Vol. 6, no. 3. — P. 217–255.
319. Allen J., Howell K. Microvascular imaging: techniques and opportunities for clinical physiological measurements // Physiological Measurement. — 2014. — Vol. 35, no. 7. — P. R91.
320. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. / J.-L. Cracowski, C.T. Minson, M. Salvat-Melis, J.R. Halliwill // Trends in Pharmacological Sciences. — 2006. — Vol. 27, no. 9.
321. Principles and practice of the laser-doppler perfusion technique / MJ Leahy, FFM De Mul, GE Nilsson, R Maniewski // Technology and health care. — 1999. — Vol. 7, no. 2-3. — P. 143–162.
322. Monitoring microvascular perfusion variations with laser speckle contrast imaging using a view-based temporal template method / M.Z. Ansari, E.-J. Kang, M.D. Manole et al. // Microvascular research. — 2017. — Vol. 111. — P. 49–59.

323. Ansari M., Nirala A. Monitoring capillary blood flow using laser speckle contrast analysis with spatial and temporal statistics // *Optik*. — 2015. — Vol. 126, no. 24. — P. 5224 – 5229.
324. Determination of the amplitude and phase relationships between oscillations in skin temperature and photoplethysmography-measured blood flow in fingertips / A.A. Sagaidachnyi, A.V. Skripal, A.V. Fomin, D.A. Usanov // *Physiological Measurement*. — 2014. — Vol. 35, no. 2. — P. 153.
325. Лакович Д., Козьменко М. В., Савицкий А. П. Основы флуоресцентной спектроскопии. — Мир, 1986.
326. Mycek M.-A., Pogue B. W. Handbook of biomedical fluorescence. — CRC Press, 2003.
327. Spontaneous low frequency oscillations of cerebral hemodynamics and metabolism in human adults / H. Obrig, M. Neufang, R. Wenzel et al. // *Neuroimage*. — 2000. — Vol. 12, no. 6. — P. 623–639.
328. Дунаев А. Методы и средства мультимодальной оптической диагностики микроциркуляторно-тканевых систем организма человека // Диссертация на соискание степени доктора технических наук. — 2021.
329. Stern M. D. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering // *Nature*. — 1975. — Vol. 254. — P. 56–58.
330. Review of methodological developments in laser doppler flowmetry / V. Rajan, B. Varghese, T.G. van Leeuwen, W. Steenbergen // *Lasers in Medical Science*. — 2009. — Vol. 24, no. 2. — P. 269–283.
331. Optical methods for blood perfusion measurement—theoretical comparison among four different modalities / Renzhe Bi, Jing Dong, Chueh Loo Poh, Kijoon Lee // *JOSA A*. — 2015. — Vol. 32, no. 5. — P. 860–866.
332. Eriksson S., Nilsson J., Sturesson C. Non-invasive imaging of microcirculation: a technology review // *Medical Devices: Evidence and Research*. — 2014. — Vol. 7. — P. 445–452.

333. Bollinger A., Fagrell B. Clinical capillaroscopy: a guide to its use in clinical research and practice. — Hogrefe & Huber Pub, 1990.
334. Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus / G Maldonado, R Guerrero, C Paredes, C Ríos // Microvascular Research. — 2017. — Vol. 112. — P. 41–46.
335. Chojnowski M., Felis-Giemza A., Olesińska M. Capillaroscopy—a role in modern rheumatology // Reumatologia. — 2016. — Vol. 54, no. 2. — P. 67.
336. Coupling functions in networks of oscillators / T Stankovski, V Ticcinelli, P VE McClintock, A Stefanovska // New Journal of Physics. — 2015. — Vol. 17, no. 3. — P. 035002.
337. Causality in physiological signals / A. Müller, J.F Kraemer, T. Penzel et al. // Physiological measurement. — 2016. — Vol. 37, no. 5. — P. R46.
338. Modulations of heart rate, ecg, and cardio-respiratory coupling observed in polysomnography / T. Penzel, J.W Kantelhardt, R.P. Bartsch et al. // Frontiers in physiology. — 2016. — Vol. 7. — P. 460.
339. Bracewell R. The Fourier Transform and its applications. — McGraw-Hill Electrical and Electronic Engineering Series, New York, 1965.
340. Mallat S. A Wavelet Tour of Signal Processing, Third Edition: The Sparse Way. — 3rd edition. — Academic Press, 2008.
341. Ricker D. Echo Signal Processing. Kluwer international series in engineering and computer science. — Kluwer Academic Publishers, 2003.
342. Фрик П. Г. Турбулентность: подходы и модели. — Институт комп, 2003.
343. Goupillaud P., Grossmann A., Morlet J. Cycle-octave and related transforms in seismic signal analysis // Geoexploration. — 1984. — Vol. 23, no. 1. — P. 85 – 102.
344. Bloomfield P. Fourier analysis of time series. — New York, Chichester, Brisbane : J. Wiley, 1976.

345. White L. B., Boashash B. Cross spectral analysis of nonstationary processes // *IEEE Transactions on Information Theory*. — 1990. — Vol. 36, no. 4. — P. 830–835.
346. Wavelet analysis of the maunder minimum as recorded in solar diameter data. / E. Nesme-Ribes, P. Frick, D. Sokoloff et al. // *Academie des Sciences Paris Comptes Rendus Serie B Sciences Physiques*. — 1995. — Vol. 321. — P. 525–532.
347. Wavelet-analysis of skin temperature oscillations during local heating for revealing endothelial dysfunction / S. Podtaev, R. Stepanov, E. Smirnova, E. Loran // *Microvascular Research*. — 2015. — Vol. 97, no. 0. — P. 109 – 114.
348. Wavelet analysis of solar activity recorded by sunspot groups / P. Frick, D. Galyagin, D.V. Hoyt et al. // *Astronomy and Astrophysics*. — 1997. — Vol. 328, no. 2. — P. 670–681.
349. Dynamics of a turbulent spin-down flow inside a torus / V. Noskov, R. Stepanov, S. Denisov et al. // *Physics of Fluids*. — 2009. — Vol. 21, no. 4. — P. 045108.
350. Addison P. S. Wavelet transforms and the ecg: A review // *Physiological Measurement*. — 2005. — Vol. 26, no. 5. — P. R155–R199.
351. Complexity analysis of the uterine electromyography / B Moslem, M Khalil, C Marque, MO Diab // *2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology / IEEE*. — 2010. — P. 2802–2805.
352. Using laser doppler flowmetry with wavelet analysis to study skin blood flow regulations after cupping therapy / X. Hou, X. He, X. Zhang et al. // *Skin Research and Technology*. — 2020.
353. Leondes C. Computational Methods in Biophysics, Biomaterials, Biotechnology and Medical Systems: Algorithm Development, Mathematical Analysis and Diagnostics Volume I: Algorithm

Techniques Volume II: Computational Methods Volume III: Mathematical Analysis Methods Volume IV: Diagnostic Methods. — Springer, 2002.

354. Bernjak A., Stefanovska A. Importance of wavelet analysis in laser doppler flowmetry time series. // Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference. — 2007. — Vol. 2007. — P. 4064–4067.
355. Conventional and wavelet coherence applied to sensory-evoked electrical brain activity / A. Klein, T. Sauer, A. Jedynek, W. Skrandies // IEEE transactions on biomedical engineering. — 2006. — Vol. 53, no. 2. — P. 266–272.
356. Detecting time-dependent coherence between non-stationary electrophysiological signals—a combined statistical and time–frequency approach / Y. Zhan, D. Halliday, P. Jiang et al. // Journal of neuroscience methods. — 2006. — Vol. 156, no. 1-2. — P. 322–332.
357. Griffith T. Temporal chaos in the microcirculation // Cardiovascular research. — 1996. — Vol. 31, no. 3. — P. 342–358.
358. Humeau-Heurtier A., Klonizakis M. Processing of laser doppler flowmetry signals from healthy subjects and patients with varicose veins: Information categorisation approach based on intrinsic mode functions and entropy computation // Medical engineering & physics. — 2015. — Vol. 37, no. 6. — P. 553–559.
359. Humeau-Heurtier A. Multiscale entropy approaches and their applications. — 2020.
360. Arciero J. C., Causin P., Malgaroli F. Mathematical methods for modeling the microcirculation // AIMS Biophysics. — 2017. — Vol. 4. — P. 362.
361. Кудряшов И., Чернявский И. Численное моделирование процесса ауторегуляции кровотока в артерии // Известия Российской академии наук. Механика жидкости и газа. — 2008. — no. 1. — P. 38–56.

362. Hypothesis for the initiation of vasomotion / H. Peng, V. Matchkov, A. Ivarsen et al. // *Circulation research*. — 2001. — Vol. 88, no. 8. — P. 810–815.
363. Neganova A. Dynamical characteristics of microvascular networks with a myogenic response gradient // *Journal for Modeling in Ophthalmology*. — 2017. — Vol. 1, no. 4. — P. 43–61.
364. Secomb T. W., Pries A. R. Information transfer in microvascular networks // *Microcirculation*. — 2002. — Vol. 9, no. 5. — P. 377–387.
365. Pradhan R., Chakravarthy V. Informational dynamics of vasomotion in microvascular networks: a review // *Acta physiologica*. — 2011. — Vol. 201, no. 2. — P. 193–218.
366. Stern M. D. Laser doppler velocimetry in blood and multiply scattering fluids: theory // *Applied Optics*. — 1985. — Jul. — Vol. 24, no. 13. — P. 1968–1986.
367. Obeid A. N. In vitro comparison of different signal processing algorithms used in laser doppler flowmetry // *Medical and Biological Engineering and Computing*. — 1993. — Vol. 31, no. 1. — P. 43–52.
368. Blood-flow measurements with a small number of scattering events / P. Starukhin, S. Ulyanov, E. Galanzha, V. Tuchin // *Applied Optics*. — 2000. — Vol. 39, no. 16. — P. 2823–2830.
369. Лалитан Д., Рогаткин Д. Переменное кровенаполнение биоткани как источник шума во входном оптическом сигнале медицинского лазерного доплеровского флоуметра // *Оптический журнал*. — 2016. — Vol. 83, no. 1. — P. 48–56.
370. Review of methodological developments in laser doppler flowmetry / Vinayakrishnan Rajan, Babu Varghese, Ton G van Leeuwen, Wiendelt Steenbergen // *Lasers Med Sci*. — 2009. — Vol. 24, no. 2. — P. 269–83.

371. Clark M., Clark A., Rattigan S. Failure of laser doppler signal to correlate with total flow in muscle: Is this a question of vessel architecture? // *Microvascular research*. — 2000. — Vol. 60, no. 3. — P. 294–301.
372. Braverman I., Keh A., Goldminz D. Correlation of laser doppler wave patterns with underlying microvascular anatomy // *Journal of investigative dermatology*. — 1990. — Vol. 95, no. 3. — P. 283–286.
373. Индивидуальная вариабельность параметров микроциркуляции крови и проблемы функциональной диагностики системы микроциркуляции / ДА Рогаткин, ДГ Лапитан, ЮЮ Колбас, ВИ Шумский // *Функциональная диагностика*. — 2012. — Vol. 4. — P. 24–9.
374. Reproducibility of cutaneous thermal hyperaemia assessed by laser doppler flowmetry in young and older adults / G.A Tew, M. Klonizakis, J. Moss et al. // *Microvascular research*. — 2011. — Vol. 81, no. 2. — P. 177–182.
375. Jakobsson A., Nilsson G. Prediction of sampling depth and photon pathlength in laser doppler flowmetry // *Medical and biological Engineering and Computing*. — 1993. — Vol. 31, no. 3. — P. 301–307.
376. Fredriksson I., Larsson M., Strömberg T. Optical microcirculatory skin model: assessed by monte carlo simulations paired with in vivo laser doppler flowmetry // *Journal of biomedical optics*. — 2008. — Vol. 13, no. 1. — P. 014015.
377. Fredriksson I., Larsson M., Strömberg T. Measurement depth and volume in laser doppler flowmetry // *Microvascular research*. — 2009. — Vol. 78, no. 1. — P. 4–13.
378. Laser doppler perfusion monitoring and imaging / G. Nilsson, G. Sallerud, T. Strömberg et al. — 2003.
379. New laser doppler scanner, a valuable adjunct in burn depth assessment / Z.B.M. Niazi, T.J.H. Essex, R. Papini et al. // *Burns*. — 1993. — Vol. 19, no. 6. — P. 485 – 489.

380. Wardell K., Jakobsson A., Nilsson G. E. Laser doppler perfusion imaging by dynamic light scattering // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. — 1993. — Vol. 40, no. 4. — P. 309–316.
381. Real-time full field laser Doppler imaging. / M. Leutenegger, E. Martin-Williams, P. Harbi et al. // Biomedical optics express. — 2011. — Vol. 2, no. 6. — P. 1470–7.
382. Serov A., Lasser T. High-speed laser Doppler perfusion imaging using an integrating CMOS image sensor. // Optics Express. — 2005. — Vol. 13, no. 17. — P. 6416–28.
383. Lenasi H. Assessment of human skin microcirculation and its endothelial function using laser doppler flowmetry // Medical Imaging / Ed. by Okechukwu Felix Erundu. — Rijeka : IntechOpen, 2011.
384. Dynamic evaluation of blood flow microcirculation by combined use of the laser doppler flowmetry and high-speed videocapillaroscopy methods / V. Dremin, I. Kozlov, M. Volkov et al. // Journal of biophotonics. — 2019. — Vol. 12, no. 6. — P. e201800317.
385. Крупаткин А., Сидоров В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей // М.: Либроком. — 2013. — Vol. 496.
386. Fredriksson I., Fors C., Johansson J. Laser doppler flowmetry—a theoretical framework // Department of Biomedical Engineering, Linköping University. — 2007. — P. 6–7.
387. Гайтон А., Холл Д. Э. Медицинская физиология. — Logobook. ru, 2008.
388. Sonksen J., Craggs J. Circulation of the skin // Current Anaesthesia and Critical Care. — 1999. — Vol. 10, no. 2. — P. 58–63.
389. Phase synchronization of skin blood flow oscillations in humans under asymmetric local heating / A. V. Tankanag, A. A. Grinevich,

- I. V. Tikhonova et al. // *Biophysics (Russian Federation)*. — 2017. — Vol. 62, no. 4. — P. 629–635.
390. Esen F., Aydın G. S., Esen H. Detrended fluctuation analysis of laser doppler flowmetry time series // *Microvascular research*. — 2009. — Vol. 78, no. 3. — P. 314–318.
391. Bergstrand S. Tissue blood flow responses to external pressure using LDF and PPG: testing a system developed for pressure ulcer research : Ph. D. thesis / Sara Bergstrand ; Linköping University Electronic Press. — 2009.
392. Fromy B., Abraham P., Saumet J.-L. Non-nociceptive capsaicin-sensitive nerve terminal stimulation allows for an original vasodilatory reflex in the human skin // *Brain research*. — 1998. — Vol. 811, no. 1-2. — P. 166–168.
393. Mechanisms of the cutaneous vasodilator response to local external pressure application in rats: involvement of cgrp, neurokinins, prostaglandins and no / B. Fromy, S. Merzeau, P. Abraham, Louis Saumet, Jean // *British Journal of Pharmacology*. — 2000. — Vol. 131, no. 6. — P. 1161–1171.
394. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology / J.-F. Arnal, A.-T. Dinh-Xuan, M. Pueyo et al. // *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. — 1999. — Jul. — Vol. 55, no. 8. — P. 1078–1087.
395. Carine M. Endothelial cell functions // *Journal of Cellular Physiology*. — 2003. — Vol. 196, no. 3. — P. 430–443.
396. Liasi F., Samatham R., Jacques S. Noninvasive in vivo optical characterization of blood flow and oxygen consumption in the superficial plexus of skin // *Journal of Biomedical Optics*. — 2017. — Vol. 22, no. 11. — P. 115002.
397. Влияние внешней компрессии на данные фотоплетизмографической визуализации гемодинамики в области пальца / ИЮ Волков, ДИ Майсков, АВ Фомин et al. // *Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине*. — 2020. — P. 89.

398. Leahy M. J., Nilsson G. E. Laser doppler flowmetry for assessment of tissue microcirculation: 30 years to clinical acceptance // Dynamics and Fluctuations in Biomedical Photonics VII / International Society for Optics and Photonics. — Vol. 7563. — 2010. — P. 75630E.
399. Endothelial dysfunction in diabetes: the role of reparatory mechanisms / Angelo Avogaro, Mattia Albiero, Lisa Menegazzo et al. // Diabetes care. — 2011. — Vol. 34, no. Supplement 2. — P. S285–S290.
400. The linked roles of nitric oxide, aldose reductase and, (na+k+)-atpase in the slowing of nerve conduction in the streptozotocin diabetic rat / M.J. Stevens, J. Dananberg, E.L. Feldman et al. // Journal of Clinical Investigation. — 1994. — 8. — Vol. 94, no. 2. — P. 853–859.
401. Stevens M., Feldman E., Greene D. The aetiology of diabetic neuropathy: the combined roles of metabolic and vascular defects // Diabetic Medicine. — 1995. — Vol. 12, no. 7. — P. 566–579.
402. Alberti K., Zimmet P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. provisional report of a who consultation // Diabetic Medicine. — 1998. — Vol. 15, no. 7. — P. 539–553.
403. Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus. / V.V. Dremin, E.Zherebtsov, V.V. Sidorov et al. // Journal of biomedical optics. — 2017. — Vol. 22 8. — P. 1–10.
404. Charan J., Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research? // Indian Journal of Psychological Medicine. — 2013. — Vol. 35, no. 2. — P. 121–126.
405. Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study / R.B Devereux, M.J Roman, M.J. Paranicas, M.and O'Grady et al. // Circulation. — 2000. — Vol. 101, no. 19. — P. 2271–2276.
406. Abnormal cardiac function in the streptozotocin-induced, non-insulin-dependent diabetic rat: Noninvasive assessment with doppler

- echocardiography and contribution of the nitric oxide pathway / I. Joffe, K.E Travers, C. L Perreault-Micale et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. — 1999. — Vol. 34, no. 7. — P. 2111–2119.
407. Zieman S., Melenovsky V., Kass D. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. — 2005. — Vol. 25, no. 5. — P. 932–943.
408. Lal C., Unni S. N. Correlation analysis of laser doppler flowmetry signals: a potential non-invasive tool to assess microcirculatory changes in diabetes mellitus // *Medical & Biological Engineering & Computing*. — 2015. — Jun. — Vol. 53, no. 6. — P. 557–566.
409. Shi Y., Vanhoutte P. M. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes // *Journal of Diabetes*. — 2017. — Vol. 9, no. 5. — P. 434–449.
410. Шилкина Н., Бутусова С., Дряженкова И. Система микроциркуляции, маркеры поражения сосудистой стенки и системность процесса при ревматических заболеваниях // *Ангиология и сосудистая хирургия*. — 2014. — Vol. 20, no. 1. — P. 27–34.
411. Assessment of skin microcirculation by laser doppler flowmetry in systemic sclerosis patients / A Waszczykowska, R Goś, E Waszczykowska et al. // *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*. — 2014. — Vol. 31, no. 1. — P. 6.
412. Roman M. J., Salmon J. E. Cardiovascular manifestations of rheumatologic diseases // *Circulation*. — 2007. — Vol. 116, no. 20. — P. 2346–2355.
413. Stefanovska A., Bracic M., Kvernmo H. D. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser doppler technique // *IEEE transactions on bio-medical engineering*. — 1999. — . — Vol. 46, no. 10. — P. 1230–1239.
414. Schmitt H. J. Low-frequency blood volume rhythms in the skin perfusion obtained by optical sensing // *Studies in Skin Perfusion Dynamics*. — 2021. — P. 105–112.

415. Animal model of assessing cerebrovascular functional reserve by imaging photoplethysmography / O.V Mamontov, A.Y Sokolov, M.A Volynsky et al. // *Scientific reports*. — 2020. — Vol. 10, no. 1. — P. 1–10.
416. Novel instrumental markers of proximal scleroderma provided by imaging photoplethysmography / O.V. Mamontov, T.V. Krasnikova, M.A. Volynsky et al. // *Physiological measurement*. — 2020. — Vol. 41, no. 4. — P. 044004.
417. Blazek V. Skin perfusion studies: Historical notes and modern measuring strategies using non-invasive photoplethysmographic sensor concepts // *Studies in Skin Perfusion Dynamics*. — 2021. — P. 1–32.
418. Лазерная спекл-контрастная визуализация микроциркуляции крови в тканях поджелудочной железы при лапароскопических вмешательствах / Е.В. Потапова, Е.С. Серёгина, В.В. Дрёмин et al. // *Квантовая электроника*. — 2020. — Vol. 50, no. 1. — P. 33–40.
419. Cardiac pulsatility mapping and vessel type identification using laser speckle contrast imaging / D.D Postnov, S.E. Erdener, K. Kilic, D.A. Boas // *Biomedical optics express*. — 2018. — Vol. 9, no. 12. — P. 6388–6397.
420. Laser speckle contrast imaging for measurement of hepatic microcirculation during the sepsis: a novel tool for early detection of microcirculation dysfunction / Y. Wu, J. Ren, B. Zhou et al. // *Microvascular research*. — 2015. — Vol. 97. — P. 137–146.
421. Gauss C. R. Plethysmography: safety, effectiveness, and clinical utility in diagnosis vascular disease. — Maryland: U.S. Department of health and human services, 1996.
422. Hertzman A. B. The blood supply of various skin areas as estimated by the photoelectric plethysmograph // *American Journal of Physiology-Legacy Content*. — 1938. — Vol. 124, no. 2. — P. 328–340.
423. Influence of blood pulsation on diagnostic volume in pulse oximetry and photoplethysmography measurements / V. Dremin, E. Zherebtsov,

- A. Bykov et al. // *Applied optics*. — 2019. — Vol. 58, no. 34. — P. 9398–9405.
424. Rauh R., Posfay A., Muck-Weymann M. Quantification of inspiratory-induced vasoconstrictive episodes: a comparison of laser doppler fluxmetry and photoplethysmography // *Clinical Physiology and Functional Imaging*. — 2003. — Vol. 23, no. 6. — P. 344–348.
425. Almond N. E., Cooke E. D. Observations on the photoplethysmograph pulse derived from a laser doppler flowmeter // *Clinical Physics and Physiological Measurement*. — 1989. — Vol. 10, no. 2. — P. 137.
426. A new method of screening for diabetic neuropathy using laser doppler and photoplethysmography. / S.W. Kim, S.C. Kim, K.C. Nam et al. // *Med Biol Eng Comput*. — 2008. — Vol. 46, no. 1. — P. 61–7.
427. Shelley K., Shelley S., Lake C. Pulse oximeter waveform: photoelectric plethysmography // *Clinical monitoring*. — 2001. — Vol. 2.
428. Spectral analysis of photoplethysmographic signals: The importance of preprocessing / Saime Akdemir Akar, Sad?k Kara, Fatma Latifoglu, Vedat Bilgic // *Biomedical Signal Processing and Control*. — 2013. — Vol. 8, no. 1. — P. 16 – 22.
429. Frequency spectrum analysis of finger photoplethysmographic waveform variability during haemodialysis / F. Javed, P. M Middleton, P. Malouf et al. // *Physiological Measurement*. — 2010. — Vol. 31, no. 9. — P. 1203.
430. Sherebrin M., Sherebrin R. Z. Frequency analysis of the peripheral pulse wave detected in the finger with a photoplethysmograph // *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*. — 1990. — Vol. 37, no. 3. — P. 313–317.
431. Can photoplethysmography variability serve as an alternative approach to obtain heart rate variability information? / Sheng Lu, He Zhao, Kihwan Ju et al. // *Journal of Clinical Monitoring and Computing*. — 2008. — Vol. 22, no. 1. — P. 23–29.

432. Peripheral photoplethysmography variability analysis of sepsis patients / P.M. Middleton, C. Tang, G. Chan et al. // *Med. Biol. Engineering and Computing*. — 2011. — Vol. 49, no. 3. — P. 337–347.
433. Temperature-dependent interaction between vasoconstrictor and vasodilator mechanisms in human skin / J Oberle, M Elam, T Karlsson, B Gunnar Wallin // *Acta physiologica scandinavica*. — 1988. — Vol. 132, no. 4. — P. 459–469.
434. Lindberg L. G., Tamura T., Oberg P. A. Photoplethysmography. part 1. comparison with laser doppler flowmetry. // *Med Biol Eng Comput*. — 1991. — Vol. 29, no. 1. — P. 40–7.
435. A technique based on laser doppler flowmetry and photoplethysmography for simultaneously monitoring blood flow at different tissue depths / Jimmie Hagblad, L-G Lindberg, A Kaisdotter Andersson et al. // *Medical & biological engineering & computing*. — 2010. — Vol. 48, no. 5. — P. 415–422.
436. Allen J., Murray A. Photoplethysmography—a tool for assessing the microcirculation // *Thermology International*. — 2002. — Vol. 12. — P. 69–70.
437. Autonomic control of skin microvessels: Assessment by power spectrum of photoplethysmographic waves / L. Bernardi, A. Radaelli, Pier L. Solda et al. // *Clinical Science*. — 1996. — Vol. 90, no. 5. — P. 345–355.
438. Swain I. D., Grant L. J. Methods of measuring skin blood flow // *Physics in Medicine and Biology*. — 1989. — Vol. 34, no. 2. — P. 151.
439. Johansson A., Öberg P. Estimation of respiratory volumes from the photoplethysmographic signal. part i: experimental results.
440. Johansson A., Öberg P. Estimation of respiratory volumes from the photoplethysmographic signal. part 2: a model study // *Medical & biological engineering & computing*. — 1999. — Vol. 37, no. 1. — P. 48–53.

441. Allen J., Murray A. Similarity in bilateral photoplethysmographic peripheral pulse wave characteristics at the ears, thumbs and toes // *Physiological measurement*. — 2000. — Vol. 21, no. 3. — P. 369.
442. Sympathetically induced spontaneous fluctuations of the photoplethysmographic signal. / B. Khanokh, Y. Slovik, D. Landau, M. Nitzan // *Med Biol Eng Comput*. — 2004. — Vol. 42, no. 1. — P. 80–5.
443. Оценка функционального состояния кровеносных сосудов по анализу температурной реакции на окклюзионную пробу / ДА Усанов, Анатолий Владимирович Скрипаль, АА Протопопов et al. // *Саратовский научно-медицинский журнал*. — 2009. — Vol. 5, no. 4.
444. Real-time monitoring of blood pressure using digitalized pulse arrival time calculation technology for prompt detection of sudden hypertensive episodes during laryngeal microsurgery: Retrospective observational study / Y.-S. Park, S.-H. Kim, Y.S. Lee et al. // *Journal of medical Internet research*. — 2020. — Vol. 22, no. 5. — P. e13156.
445. Gizdulich P. On a non-invasive evaluation of pulse wave velocity in human peripheral arteries // *Clinical Physics and Physiological Measurement*. — 1984. — Vol. 5, no. 1. — P. 33.
446. Assessment of pulse wave velocity / P. Boutouyrie, M. Briet, C. Collin et al. // *Artery Research*. — 2009. — Vol. 3, no. 1. — P. 3–8.
447. Nitzan M., Khanokh B., Slovik Y. The difference in pulse transit time to the toe and finger measured by photoplethysmography // *Physiological measurement*. — 2001. — Vol. 23, no. 1. — P. 85.
448. Foo J., Lim C. Pulse transit time as an indirect marker for variations in cardiovascular related reactivity // *Technology and Health Care*. — 2006. — Vol. 14, no. 2. — P. 97–108.
449. Determination of pulse wave velocities with computerized algorithms / Y. C. Chiu, P. W. Arand, S. G. Shroff et al. // *American Heart Journal*. — 1991. — Vol. 121, no. 5. — P. 1460–1470.

450. Di Marco L. Y., Zheng D., Murray A. Effects of deep breathing on blood pressure measurement in healthy subjects // *Computing in Cardiology*. — Vol. 39. — 2012. — P. 745–748.
451. Evidence of a myogenic response in vasomotor control of forearm and palm cutaneous microcirculations / Sylvain Durand, Rong Zhang, Jian Cui et al. // *Journal of Applied Physiology*. — 2004. — Vol. 97, no. 2. — P. 535–539.
452. Mulinos M., Shulman I. Vasoconstriction in the hand from a deep inspiration // *American Journal of Physiology-Legacy Content*. — 1939. — Vol. 125, no. 2. — P. 310–322.
453. Mayrovitz H. N., Groseclose E. E. Neurovascular responses to sequential deep inspirations assessed via laser-doppler perfusion changes in dorsal finger skin // *Clinical physiology and functional imaging*. — 2002. — Vol. 22, no. 1. — P. 49–54.
454. Drinnan M. J., Allen J., Murray A. Relation between heart rate and pulse transit time during paced respiration // *Physiological Measurement*. — 2001. — Vol. 22, no. 3. — P. 425–432.
455. Goldobin D. S., Mizeva I. A. Conjecture on reflectionlessness of blood-vascular system as a wave-conducting medium // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* / IOP Publishing. — Vol. 208 (1). — 2017. — P. 012015.
456. Photoplethysmographic derivation of respiratory rate: a review of relevant physiology / D..J Meredith, D Clifton, P Charlton et al. // *Journal of medical engineering & technology*. — 2012. — Vol. 36, no. 1. — P. 1–7.
457. Russo M., Santarelli D., O'Rourke D. The physiological effects of slow breathing in the healthy human // *Breathe*. — 2017. — Vol. 13, no. 4. — P. 298–309.
458. Analysis of heart rate variability and skin blood flow oscillations under deep controlled breathing / G.V. Krasnikov, M.Y. Tyurina,

- A.V. Tankanag et al. // *Respiratory physiology & neurobiology*. — 2013. — Vol. 185, no. 3. — P. 562–570.
459. Laser speckle contrast imaging: theoretical and practical limitations / D. Briers, D.D. Duncan, E. Hirst et al. // *Journal of Biomedical Optics*. — 2013. — Vol. 18, no. 6. — P. 066018.
460. Basak K., Manjunatha M., Dutta P. K. Review of laser speckle-based analysis in medical imaging // *Medical & Biological Engineering & Computing*. — 2012. — Vol. 50, no. 6. — P. 547–558.
461. Comparison of infrared thermography and laser speckle contrast imaging for the dynamic assessment of digital microvascular function / J.D Pauling, JA Shipley, S. Raper et al. // *Microvascular research*. — 2012. — Vol. 83, no. 2. — P. 162–167.
462. Increasing the “region of interest” and “time of interest”, both reduce the variability of blood flow measurements using laser speckle contrast imaging / P. Rousseau, G. Mahé, F. Haj-Yassin et al. // *Microvascular research*. — 2011. — Vol. 82, no. 1. — P. 88–91.
463. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity / M Roustit, C Millet, S Blaise et al. // *Microvascular research*. — 2010. — Vol. 80, no. 3. — P. 505–511.
464. Comparison of instruments for investigation of microcirculatory blood flow and red blood cell concentration. / Jim O’Doherty, Paul M. McNamara, Neil Clancy et al. // *Journal of biomedical optics*. — 2009. — Vol. 14 3. — P. 034025.
465. Comparison between laser speckle contrast imaging and laser doppler imaging to assess skin blood flow in humans / C Millet, M Roustit, S Blaise, JL Cracowski // *Microvascular research*. — 2011. — Vol. 82, no. 2. — P. 147–151.
466. Review of laser speckle contrast techniques for visualizing tissue perfusion / M. Draijer, E. Hondebrink, T. van Leeuwen,

- W. Steenbergen // *Lasers in Medical Science*. — 2008. — Vol. 24, no. 4. — P. 639.
467. Impact of velocity distribution assumption on simplified laser speckle imaging equation / J. Ramirez-San-Juan, R. Ramos-Garcia, I. Guizar-Iturbide et al. // *Optics Express*. — 2008. — Vol. 16, no. 5. — P. 3197–3203.
468. Dunn A. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow // *Annals of Biomedical Engineering*. — 2012. — Vol. 40, no. 2. — P. 367–377.
469. Thompson O., Andrews M. Tissue perfusion measurements: multiple-exposure laser speckle analysis generates laser doppler-like spectra // *Journal of Biomedical Optics*. — 2010. — Vol. 15, no. 2. — P. 027015.
470. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. / A.K. Dunn, H. Bolay, M.A. Moskowitz, D. A. Boas // *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. — 2001. — Vol. 21 3. — P. 195–201.
471. Relation between the contrast in time integrated dynamic speckle patterns and the power spectral density of their temporal intensity fluctuations / M. Draijer, E. Hondebrink, M. Larsson et al. // *Opt. Express*. — 2010. — Vol. 18, no. 21. — P. 21883–21891.
472. Furukawa H., Hirotsu S. Dynamic light scattering from static and dynamic fluctuations in inhomogeneous media // *Journal of the Physical Society of Japan*. — 2002. — Vol. 71, no. 12. — P. 2873–2880.
473. Functional imaging with laser speckle contrast analysis: Vascular compartment analysis and correlation with laser doppler flowmetry and somatosensory evoked potentials / G. Royl, C. Leithner, H. Sellien et al. // *Brain Research*. — 2006. — Vol. 1121. — P. 95–103.
474. Monitoring of partial and full venous outflow obstruction in a porcine flap model using laser speckle contrast imaging / J. Zötterman, M. Bergkvist, F. Iredahl et al. // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. — 2016. — Vol. 69, no. 7. — P. 936 – 943.

475. Speckle dynamics under ergodicity breaking / A. Sdobnov, A. Bykov, G. Molodij et al. // *Journal of Physics D: Applied Physics*. — 2018. — Vol. 51, no. 15. — P. 155401.
476. Transcranial optical vascular imaging (TOVI) of cortical hemodynamics in mouse brain / V. Kalchenko, D. Israeli, Y. Kuznetsov, A. Harmelin // *Scientific Reports*. — 2015. — Vol. 4, no. 1. — P. 5839.
477. Rat retinal vasomotion assessed by laser speckle imaging / A.Y. Neganova, D.D. Postnov, O. Sosnovtseva, J.C.B. Jacobsen // *PLOS ONE*. — 2017. — Vol. 12, no. 3. — P. 1–13.
478. Humeau-Heurtier A., Abraham P., Mahé G. Analysis of laser speckle contrast images variability using a novel empirical mode decomposition: Comparison of results with laser doppler flowmetry signals variability // *IEEE Transactions on Medical Imaging*. — 2015. — Vol. 34, no. 2. — P. 618–627.
479. Skin perfusion evaluation between laser speckle contrast imaging and laser doppler flowmetry / A. Humeau-Heurtier, G. Mahe, S. Durand, P. Abraham // *Optics Communications*. — 2013. — Vol. 291. — P. 482–487.
480. Laser speckle contrast imaging of the skin: interest in processing the perfusion data / A. Humeau-Heurtier, B. Buard, G. Mahe, P. Abraham // *Medical & Biological Engineering & Computing*. — 2012. — Vol. 50, no. 2. — P. 103–105.
481. Kirkpatrick S., Duncan D., Wells-Gray E. Detrimental effects of speckle-pixel size matching in laser speckle contrast imaging // *Opt. Lett.* — 2008. — Dec. — Vol. 33, no. 24. — P. 2886–2888.
482. Laser speckle imaging to monitor microvascular blood flow: A review / P. G. Vaz, A. Humeau-Heurtier, E. Figueiras et al. // *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*. — 2016. — Vol. 9. — P. 106–120.
483. Distance between laser head and skin does not influence skin blood flow values recorded by laser speckle imaging / G. MahP“B©, F. Haj-Yassin,

- P. Rousseau et al. // *Microvascular Research*. — 2011. — Vol. 82, no. 3. — P. 439 – 442.
484. Methodological concerns with laser speckle contrast imaging in clinical evaluation of microcirculation / J. Zötterman, R. Mirdell, S. Horsten et al. // *PLOS ONE*. — 2017. — Vol. 12, no. 3. — P. 1–11.
485. Laser speckle contrast imaging: Multifractal analysis of data recorded in healthy subjects / A. Humeau-Heurtier, G. MahP“B©, S. Durand et al. // *Medical Physics*. — 2012. — Vol. 39, no. 10. — P. 5849–5856.
486. Shelley K. H. Photoplethysmography: beyond the calculation of arterial oxygen saturation and heart rate // *Anesthesia & Analgesia*. — 2007. — Vol. 105, no. 6. — P. S31–S36.
487. Synchronization of low-frequency oscillations in the human cardiovascular system / A. S. Karavaev, M. D. Prokhorov, V. I. Ponomarenko et al. // *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*. — 2009. — Vol. 19, no. 3. — P. 033112.
488. Симонян М. А., Посненкова О. М., Киселев А. Р. Возможности фотоплетизмографии как метода скрининга патологии сердечно-сосудистой системы // *Кардио-ИТ*. — 2020. — Vol. 7, no. 1. — P. 102–102.
489. Comparing the spectral components of laser doppler flowmetry and photoplethysmography signals for the assessment of the vascular response to hyperoxia / H. Silva, M. Bento, H. Vieira, L M. Rodrigues // *Biomed Biopharm Res*. — 2017. — Vol. 14, no. 2. — P. 187–194.
490. Innovative multi-site photoplethysmography measurement and analysis demonstrating increased arterial stiffness in paediatric heart transplant recipients / E. J Sharkey, C. Di Maria, A. Klinge et al. // *Physiological measurement*. — 2018. — Vol. 39, no. 7. — P. 074007.
491. Shields R. W. et al. Heart rate variability with deep breathing as a clinical test of cardiovagal function // *Cleve Clin J Med*. — 2009. — Vol. 76, no. Suppl 2. — P. S37–40.

492. Carter S. A. Indirect systolic pressures and pulse waves in arterial occlusive disease of the lower extremities // *Circulation*. — 1968. — Vol. 37, no. 4. — P. 624–637.
493. Fourier analysis of impedance rheography for peripheral arterial occlusive disease / O. Schuhfried, G. Wiesinger, J. Kollmitzer et al. // *European Journal of Applied Physiology*. — 2003. — Vol. 89, no. 3. — P. 384–386.
494. Allen J. Overbeck K. N. A. A prospective comparison of bilateral photoplethysmography versus the ankle-brachial pressure index for detecting and quantifying lower limb peripheral arterial disease // *Journal of Vascular Surgery*. — 2008. — Vol. 47, no. 4. — P. 794–802.
495. Bilateral photoplethysmography studies of the leg arterial stenosis / R. Erts, J. Spigulis, I. Kukulis, M. Ozols // *Physiological Measurement*. — 2005. — Vol. 26, no. 5. — P. 865–874.
496. Lin C.-H. Assessment of bilateral photoplethysmography for lower limb peripheral vascular occlusive disease using color relation analysis classifier // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. — 2011. — Vol. 103, no. 3. — P. 121 – 131.
497. Lin C.-H. Assessment of bilateral photoplethysmography for lower limb peripheral vascular occlusive disease using color relation analysis classifier // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. — 2011. — Vol. 103, no. 3. — P. 121 – 131.
498. Photoplethysmography detection of lower limb peripheral arterial occlusive disease: a comparison of pulse timing, amplitude and shape characteristics / J. Allen, C.P Oates, T.A Lees, A. Murray // *Physiological measurement*. — 2005. — Vol. 26, no. 5. — P. 811.
499. Nichols W. W., O'Rourke M. F., Vlachopoulos C. McDonald's Blood Flow in Arteries, 6th ed: Theoretical, Experimental and Clinical Principles. — 6 edition. — Hodder Arnold Publishers, 2011.
500. Lower limb pulse rise time as a marker of peripheral arterial disease /

- M. Peltokangas, D. Vakhitov, V. Suominen et al. // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. — 2019.
501. Schuhfried O. Wiesinger G. K. J. Fourier analysis of impedance rheography for peripheral arterial occlusive disease // European journal of applied physiology. — 2003. — Vol. 89, no. 3-4. — P. 384–386.
502. Касумьян А., Соколовский С. Неинвазивный способ регистрации изменения внутрибрюшного давления // Смоленский медицинский альманах. — 2017. — no. 1.
503. Thermography-based blood flow imaging in human skin of the hands and feet: a spectral filtering approach / AA Sagaidachnyi, AV Fomin, DA Usanov, AV Skripal // Physiological measurement. — 2017. — Vol. 38, no. 2. — P. 272.
504. Epidermal devices for noninvasive, precise, and continuous mapping of macrovascular and microvascular blood flow / R.C. Webb, Y. Ma, S. Krishnan et al. // Science advances. — 2015. — Vol. 1, no. 9. — P. e1500701.
505. Wavelet phase coherence analysis: Application to skin temperature and blood flow / A. Bandrivskyy, A. Bernjak, P. McClintock, A. Stefanovska // Cardiovascular Engineering: An International Journal. — 2004. — Vol. 4, no. 1. — P. 89–93.
506. Observing temperature fluctuations in humans using infrared imaging / W.-M. Liu, J. Meyer, C. G. Scully et al. // Quantitative infrared thermography journal. — 2011. — Vol. 8, no. 1. — P. 21–36.
507. Correlation of skin temperature and blood flow oscillations / A.A. Sagaidachnyi, D.A. Usanov, A.V. Skripal, A.V. Fomin // Saratov Fall Meeting 2011: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIII / International Society for Optics and Photonics. — Vol. 8337. — 2012. — P. 83370A.
508. Development of methodology for the estimation of skin blood perfusion by applying inverse analysis of skin model / T Haga, A Ibe, Y Aso

- et al. // Transactions of Japanese Society for Medical and Biological Engineering. — 2012. — Vol. 50, no. 4. — P. 317–328.
509. Heat transfer analysis for peripheral blood flow measurement system / K. Nagata, H. Hattori, N. Sato et al. // Review of Scientific Instruments. — 2009. — Vol. 80, no. 6. — P. 064902.
510. Sensitivity of digital thermal monitoring parameters to reactive hyperemia / Mohammad W Akhtar, Stanley J Kleis, Ralph W Metcalfe, Morteza Naghavi // Journal of Biomechanical Engineering. — 2010. — Vol. 132, no. 5.
511. Yue K., Zhang X., Zuo Y. Y. Noninvasive method for simultaneously measuring the thermophysical properties and blood perfusion in cylindrically shaped living tissues // Cell biochemistry and biophysics. — 2008. — Vol. 50, no. 1. — P. 41–51.
512. Carrillo A., Cheung S., Flouris A. A novel model to predict cutaneous finger blood flow via finger and rectal temperatures // Microcirculation. — 2011. — Vol. 18, no. 8. — P. 670–676.
513. Digital thermal monitoring (dtm) of vascular reactivity closely correlates with doppler flow velocity / G.L McQuilkin, D. Panthagani, R. W Metcalfe et al. // 2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society / IEEE. — 2009. — P. 1100–1103.
514. Ley O., Deshpande C. V. Comparison of two mathematical models for the study of vascular reactivity // Computers in Biology and Medicine. — 2009. — Vol. 39, no. 7. — P. 579–589.
515. Lumped parameter thermal model for the study of vascular reactivity in the fingertip / O Ley, C Deshpande, B Prapamcham, M Naghavi // Journal of biomechanical engineering. — 2008. — Vol. 130, no. 3.
516. Testing for nonlinearity in time series: the method of surrogate data / James Theiler, Stephen Eubank, André Longtin et al. // Physica D: Nonlinear Phenomena. — 1992. — Vol. 58, no. 1-4. — P. 77–94.

517. It's database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues / PA Hasgall, F Di Gennaro, C Baumgartner et al. // Version 3.0. — 2015.
518. Rook's Textbook of Dermatology / T. Burns, S. Breathnach, N. Cox, C. Griffiths. — 7th edition. — Blackwell Publishers, Blackwell Publishers, 2004.
519. Wissler E. Pennes' 1948 paper revisited // Journal of Applied Physiology. — 1998. — Vol. 85, no. 1. — P. 35–41.
520. Berger S., Goldsmith E., Lewis E. Introduction to Bioengineering. — OUP Oxford, 2000.
521. Numerical analysis of an extremity in a cold environment including countercurrent arterio-venous heat exchange / A Shitzer, LA Stroschein, P Vital et al. // J Biomech Eng. — 1997. — Vol. 119, no. 2. — P. 179–86.
522. Оценка состояния микроциркуляторного русла с помощью прецизионной термометрии и вейвлет-анализа / А.В.Попов, П.Г.Фрик, С.Ю.Подтаев et al. — Пермь: ГОУ ВПО ПГМА им ак.Е.А.Вагнера Росздрава, 2010.
523. Shao H., He Y., Mu L. Numerical analysis of temperature distribution in a three-dimensional image-based hand model // International Heat Transfer Conference. — Vol. 49361. — 2010. — P. 41–47.
524. Shao H., He Y., Mu L. Numerical analysis of dynamic temperature in response to different levels of reactive hyperaemia in a three-dimensional image-based hand model // Computer methods in biomechanics and biomedical engineering. — 2014. — Vol. 17, no. 8. — P. 865–874.
525. Clark R., Edholm O. G. Man and his thermal environment. — E. Arnold London, 1985.
526. Способ регистрации микроциркуляции крови / С.Ю. Подтаев, А.В. Попов, М.К. Морозов et al. // Патент российской федерации. — 2010. — no. 2390306.

527. Способ диагностики эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом / С.Ю. Подтаев, А.В. Попов, А.И. Ершова et al. // Патент РФ. — 2009. — no. 2405418.
528. Nilsson H., Aalkjær C. Vasomotion: mechanisms and physiological importance // *Molecular interventions*. — 2003. — Vol. 3, no. 2. — P. 79.
529. Impaired peripheral vasomotion in diabetes / Kevin B Stansberry, Shane A Shapiro, Michael A Hill et al. // *Diabetes care*. — 1996. — Vol. 19, no. 7. — P. 715–721.
530. Инфракрасная термография пальцев рук человека как метод оценки адаптации регионарного кровообращения к кровопотере / АЛ Ураков, АА Касаткин, НА Уракова, ВБ Дементьев // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. — 2016. — Vol. 15, no. 3. — P. 24–29.
531. Оценка регуляции сосудистого тонуса у больных билиарнозависимым панкреатитом / А.И. Ершова, А.В. Попов, С.Ю. Подтаев et al. // *Пермский медицинский журнал*. — 2013. — Vol. 30, no. 5.
532. Detection of endothelial dysfunction using skin temperature oscillations analysis during local heating in patients with peripheral arterial disease / A. Parshakov, N. Zubareva, S. Podtaev, P. Frick // *Microcirculation*. — 2016. — Vol. 23, no. 6. — P. 406–415.
533. Recovery of endothelial function in microvessels in patients with peripheral artery disease (pad) after conservative and surgery treatment / N. Zubareva, A. Parshakov, S. Podtaev et al. // *Saratov Fall Meeting 2018: Computations and Data Analysis: from Nanoscale Tools to Brain Functions* / *International Society for Optics and Photonics*. — Vol. 11067. — 2019. — P. 110670Y.
534. Состояние микроциркуляции и биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции после медикаментозного лечения и хирургической коррекции кровотока у больных с атеросклерозом сосудов нижних конечностей / А.А. Паршаков, Н.А. Зубарева, И.А. Мизева, С.Ю. Под-

- таев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2020. — Vol. 19, no. 1. — P. 35–46.
535. Local heating test for microcirculation abnormalities detection in patients with diabetes-related foot complications / A. Parshakov, N. Zubareva, S. Podtaev, Frick P. // Advances in Skin and Wound Care. — 2017.
536. Thermography-based analysis of lower limb vascular response to thermal challenge in patients with diabetes mellitus / DA Usanov, AV Skripal, SN Potakhin et al. // Regional blood circulation and microcirculation. — 2016. — Vol. 15, no. 1. — P. 42–49.
537. Relationship between skin blood flow regulation mechanisms and vascular endothelial growth factor in patients with metabolic syndrome / E Smirnova, S Shulkina, E Loran et al. // Clinical hemorheology and microcirculation. — 2018. — Vol. 70, no. 2. — P. 129–142.