

На правах рукописи



Мизева Ирина Андреевна

**ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ АНАЛИЗ КОЛЕБАНИЙ
КРОВОТОКА В СИСТЕМЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ
ЧЕЛОВЕКА ПО ДАННЫМ ОПТИЧЕСКИХ И ТЕПЛОВЫХ
ИЗМЕРЕНИЙ**

1.5.2. – Биофизика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора физико-математических наук

Пермь – 2021

Работа выполнена в Институте механики сплошных сред Уральского отделения Российской академии наук – филиале Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник Института автоматики и проблем управления Дальневосточного отделения РАН **Камшилин Алексей Александрович**
доктор физико-математических наук, профессор кафедры физики и нанотехнологий, заведующий отделом теоретической физики научно-исследовательского центра физики конденсированного состояния
Постников Евгений Борисович
доктор медицинских наук, доцент, руководитель центра координации фундаментальной научной деятельности, ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России (ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России), **Киселев Антон Робертович**

Ведущая организация: ФГБУН Саратовский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН

Защита состоится « **25** » **апреля 2022 г.** в 15:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.392.06 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук при Саратовском национальном исследовательском государственном университете имени Н.Г.Чернышевского по адресу 410012, г.Саратов, ул. Астраханская, 83, X корпус СГУ, ауд.511

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. В.А.Артисевич СГУ и на сайте <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-06/doktorskaya-dissertaciya-mizyovoy-iriny-andreevny>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор физико-математических наук,
доцент



Генина Элина Алексеевна

Общая характеристика работы

Актуальность. 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 сосудам¹. Основные функции микроциркуляции: транспортная, терморегулятивная, контроль кровотока и поддержание тургора тканей². 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 сердечно-сосудистых 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 диабетом³. Основными причинами 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

¹ Чернух, А.М. Микроциркуляция [Текст] / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.В. Алексеев; под ред. А.М. Чернуха. – М.: Медицина, 1975. – 456 с

² Roustit M., Cracowski J. L. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation //Trends in pharmacological sciences. – 2013. – Т. 34. – №. 7. – С. 373-384.

³ Cho N. H. et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 //Diabetes research and clinical practice. – 2018. – Т. 138. – С. 271-281.

раньше и протекает злокачественнее, 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 заболеваний⁴. 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 колебания⁷, 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 тонуса⁸. Параметры

⁴ Власов Т. Д., Нестерович И. И., Шиманьски Д. А. Эндотелиальная дисфункция: от частного к общему. Возврат к «старой парадигме»? //Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2019. – Т. 18. – №. 2. – С. 19-27.

⁵ Aalkjær C., Boedtkjer D., Matchkov V. Vasomotion–what is currently thought? //Acta Physiologica. – 2011. – Т. 202. – №. 3. – С. 253-269.

⁶ Rossi M. et al. Skin vasomotion investigation: a useful tool for clinical evaluation of microvascular endothelial function? //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2008. – Т. 62. – №. 8. – С. 541-545.

⁷ Krupatkin A. I. Cardiac and respiratory oscillations of the blood flow in microvessels of the human skin //Human physiology. – 2008. – Т. 34. – №. 3. – С. 323-329.

⁸ Hodges G. J., Del Pozzi A. T. Noninvasive examination of endothelial, sympathetic, and myogenic contributions to regional differences in the human cutaneous microcirculation //Microvascular research. – 2014. – Т. 93. – С. 87-91.

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 методов⁹.

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 определенных диапазонах частот. Большинство таких исследований связано с методом лазерной доплеровской флоуметрии^{12, 13}. Сведения об изменении параметров отдельных ритмов колебаний кровотока при различных физиологических и патологических состояниях систематизированы с целью клинического использования¹⁴. Несмотря на богатую историю и значительный объем результатов, требует уточнения ряд методологических аспектов, связанных с построением исследовательских протоколов и анализа данных, и обоснование применимости метода лазерной доплеровской флоуметрии. Этот метод до сих пор не нашел 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 сигнала¹⁵.

По этой причине актуальной задачей является поиск более доступных интегральных методов, позволяющих проводить запись характеристик кровотока в мелких сосудах. Изменения параметров микрокровотока мож-

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. – Т. 9. – №. 1. – С. 49-60.

¹⁰ Holowatz L. A., Thompson-Torgerson C. S., Kenney W. L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function // Journal of applied physiology. – 2008. – Т. 105. – №. 1. – С. 370-372.

¹¹ Rossi M. et al. The investigation of skin blood flow motion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2006. – Т. 60. – №. 8. – С. 437-442.

¹² Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system // Contemporary Physics. – 1999. – Т. 40. – №. 1. – С. 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. – Т. 53. – №. 21. – С. 5967.

¹⁴ «Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови» под редакцией А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова; Руководство для врачей, ОАО «Издательство «Медицина», 2005г. – 256 с.

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. – Т. 83. – №. 2. – С. 97-97.

но обнаружить различными неинвазивными методами (оптическими, импедансометрическими или термометрическими) при проведении физиологических тестов. Одним из самых доступных и распространенных оптических методов для регистрации периферического кровотока, позволяющим проводить мониторинг объема 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, качественное сопоставление спектров сигналов, полученных этими двумя методами, выполнено в работе 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 проведен анализ синхронных записей сигналов фотоплетизмографии и кожной тер-

¹⁶ A. V. Challoner, "Photoelectric plethysmography for estimating cutaneous blood flow," *Non-Invasive Physiological Measurements*, 1, ed P Rolfe (London: Academic), 125-151 (1979)

¹⁷ Allen J., Murray A. Photoplethysmography—a tool for assessing the microcirculation // *Thermology International: Physiological Measurement of Raynaud's Phenomenon and Peripheral Microvascular Disorders*. – 2002.

¹⁸ Рогаткин Д. А. Аппаратное, программное и методическое обеспечение неинвазивной спектрофотометрической диагностики. – 2004.

¹⁹ Sunil S. et al. Guidelines for obtaining an absolute blood flow index with laser speckle contrast imaging // *bioRxiv*. – 2021.

²⁰ Binzoni T. et al. Blood perfusion values of laser speckle contrast imaging and laser Doppler flowmetry: is a direct comparison possible? // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2012. – Т. 60. – №. 5. – С. 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. – Т. 21. – №. 12. – С. 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. – Т. 273. – №. 3. – С. R1173-R1181.

²³ Mabuchi K., Chinzei T., Nasu Y., Yonezawa T., Fujimasa I., Atsumi K. /Frequency analysis of skin temperature and its application for clinical diagnosis // *Biomed Thermol*. 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. – Т. 8. – №. 3. – С. 185-189.

²⁵ Sheppard L. W., Stefanovska A., McClintock P. V. E. Testing for time-localized coherence in bivariate data // *Physical Review E*. – 2012. – Т. 85. – №. 4. – С. 046205.

²⁶ Sagaidachnyi A. et al. Real-time technique for conversion of skin temperature into skin blood flow: human skin as a low-pass filter for thermal waves // *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*. – 2019. – Т. 22. – №. 12. – С. 1009-1019.

мометрии и предложен алгоритм восстановления периферического кровотока по температурным данным²⁷.

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, построение математических моделей генерации и распространения волн в кровеносной системе человека.

Целью настоящей 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**:

1. Изучить имеющийся к настоящему времени материал по исследованию колебаний в системе микроциркуляции в норме и при патологии.
2. Построить и протестировать на модельных сигналах алгоритмы анализа данных для выявления вклада колебаний различной частоты, анализа корреляции, фазовой синхронизации, проверки значимости полученных результатов.
3. 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.
4. Исследовать колебания кровотока при тепловых тестах в норме и при патологических изменениях и при развитии различных патологических процессов методом лазерной доплеровской флоуметрии.

²⁷ Sagaidachnyi A. et al. Real-time technique for conversion of skin temperature into skin blood flow: human skin as a low-pass filter for thermal waves //Computer methods in biomechanics and biomedical engineering. – 2019. – Т. 22. – №. 12. – С. 1009-1019.

5. 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.
6. Для верификации метода термометрии высокого разрешения провести численное моделирование процесса теплопереноса в ткани человека.
7. Изучить возможность применения метода термометрии высокого разрешения и фотоплетизмографии в клинических исследованиях.

Научная новизна:

1. Предложен алгоритм анализа вариации спектральной плотности энергии колебаний течения крови в микрососудах, вызванной функциональными пробами, без предварительного выделения частотных диапазонов.
2. 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.
3. Определено влияние локализации датчика и оказываемого им давления на измеряемые характеристики микрокровотока.
5. 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.
6. 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.

7. 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.

8. Предложен метод скрининговой диагностики хронической артериальной недостаточности нижних конечностей, основанный на анализе спектрального состава фотоплетизмограмм.

9. 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.

10. 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. При интерпретации экспериментальных данных получены значимые теоретические результаты, расширяющие фундаментальные представления о функционировании исследуемых биофизических систем. В частности: установлена немонотонная связь вариации среднего значения и амплитуд пульсаций перфузии, измеренных методом лазерной доплеровской флоуметрии; продемонстрирован локальный эндотелий-зависимый вазодилатационный ответ на локальную компрессию тканей; обнаружен двухфазный отклик скорости распространения пульсовой волны на глубокий вдох; создана методика

восстановления пульсаций кровотока в микрососудах по данным термометрии высокого разрешения поверхности кожи; модифицированы индексы, характеризующие вазомоторные свойства микрососудов, для них определены границы норма-патология. Значимым теоретическим результатом является созданный комплекс методов регистрации, анализа и интерпретации сигналов, описывающих колебательные процессы в микроциркуляторном русле человека при разработанных протоколах нагрузочных проб.

Практическая значимость работы состоит в апробации разработанных подходов в клинических исследованиях и заключается в установленных статистически значимых отличиях функциональных маркеров нарушения вазомоторных характеристик 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 исследования. Все основные результаты, представленные в диссертационном исследовании, получены с помощью различных экспериментальных методик, как традиционно применяемых в задачах регистрации периферического кровотока, так и разработанных при участии автора работы. Для регистрации кожного кровотока в основном использован метод лазерной доплеровской флоуметрии, при этом было проведено сравнение лазерных доплеровских флоуметров различных производителей. В арсенале методов были коммерчески доступные фотоплетизмографы с адаптированным программным обеспечением и приборы для проведения кожной термометрии. Схема для метода лазерной спекл-контрастной визуализации была разработана и создана в условиях лаборатории. Все клинические исследования проводились в условиях медицинских учреждений, исследование пациентов осуществлялось в рамках утвержденных протоколов с применением сертифицированного медицинского оборудования. Анализ данных проводился при помощи алгоритмов, основанных на фурье- и вейвлет-разложении, статистического анализа. Все алгоритмы были протестированы на модельных сигналах, там, где это возможно, результаты сравнивались с результатами других авторов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Немонотонная связь вариации среднего и колебательного компонентов перфузии, измеренной методом лазерной доплеровской флоуметрии, обусловлена различным вкладом тонуса гладких мышц на колебания кровотока в случае низкой перфузии, когда основной кровоток осуществляется через артериолы и аорто-веноулярные 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 оценки 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 стан-

дартная 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, согласованностью результатов численного моделирования и натуральных экспериментов, наличием достаточного для статистической обработки объема экспериментальных данных.

Апробация результатов. По теме диссертации опубликовано 82 печатных работы, 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 и 45 публикаций 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, 22-я 2021 г. Пермь); Пермский городской гидродинамический семинар им. Г.З. Гершуни и Е.М. Жуховицкого 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; The 10-th European Fluid Mechanics Conference, Copenhagen, Denmark 2014, World congress medical physics and biomedical engineering 2012, Пекин, Китай, China; 17 Всероссийские научные школы «Нелинейные волны — 2010, 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; Научно-технологические биомедицинские технологии: от фундаментальных исследований 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, 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); 5th Eurosummer school on biorheology and symposium on micro and nano mechanics and mechanobiology cells, tissues and systems, 2015, Варна, Болгария

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).

Личный вклад. Автор принимал непосредственное участие в постановке задач исследований, 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 [1, 2, 3, 5] автором выполнена постановка задачи, эксперименты проведены в ОГУ им Тургенева (Орел) И.Козловым, доц. к.т.н. Потаповой Е.В., схема экспериментальной установки разработана к.т.н. Дреминым В.В, под общим руководством доц. д.т.н. Дунаева А.В. В работе [4] соавторами к.б.н. А.Танканаг (Пушино) и к.б.н. Г.Красниковым (Тула) осуществлялась разработка протокола исследования и набор экспериментальных данных. В работах [13,15-17,20,26,27] автором проведена обработка данных и интерпретация результатов, постановка задачи сделана совместно с соавторами к.ф.-м.н. С.Ю.Подтаевым (Пермь, ИМСС УрО РАН), Дж.Алленом (Ньюкасл) [16, 20, 26,27], проф. д.ф.-м.н. П.Г.Фриком (Пермь, ИМСС УрО РАН) [13,16,20], эксперимент проведен К.Ди Мария (Ньюкасл) [16, 20], экспериментальные данные в работах [10, 13, 15, 17] получены лично соискателем. В работе [11] автором совместно с Л.Бокки (Флоренция) выполнена постановка задачи, разработан протокол исследования, анализ данных проведен соискателем совместно с М.Сорелли (Флоренция), набор экспериментальных данных, интерпретация результатов, подготовка публикаций выполнены всеми соавторами статьи.

Клинические исследования осуществлялись под руководством врачей. В работах [6,7,9] 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. и Дунаевым А.В. (Орел). Консультации и организации экспериментальных исследований в условиях клиники предоставляли Е.А. Алимичева, Г.И. Масалыгина (Орел). В клиническом исследовании [19,23,28] автором выполнена постановка задачи, адаптирована экспериментальная установка, создан па-

кет программ анализа фотоплетизмограмм. Формирование дизайна клинического исследования в работах [19,23,28] проведено доцентом к.м.н. Думлером А.А. (Пермь, ПГМУ). Экспериментальные данные в группе контроля были набраны автором, в клинике Муравьевым Н.Г. (Пермь, ПГМУ). Работы [21,24,30] осуществлялись под руководством профессора, д.м.н. Смирновой Е.Н. (Пермь, ПГМУ), набор данных проведен к.м.н Лоран Е.А. (Пермь, ПГМУ). Соискателем был создан пакет программ для обработки результатов эксперимента, проведена обработка полученных данных.

Численные исследования [12,14,22,30] 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.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, списка сокращений, списка литературы (357 наименований). Работа содержит 110 рисунков и 24 таблицы. Общий объем диссертации составляет 328 страниц.

Основное содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность темы исследования, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методы диссертационного исследования, представлены положения, выносимые на защиту, описана апробация результатов и данные о структуре и объеме работы.

В **первой главе** выполнен обзор научной литературы, посвященной анатомии микроциркуляторного русла (МЦР) (пункт **1.1**), ее особенностям в коже человека (пункт **1.2**), функциям (пункт **1.3**). При изучении колебаний периферического кровотока важнейшим вопросам является вопрос о сосудистой авторегуляции (пункт **1.4**) и источниках модуляции кровотока в микрососудах (**1.5**). Приводящие к нарушению морфологии и функции системы микроциркуляции патологии (дисфункция эндотелия, сахарный диабет (СД), атеросклероз, ревматические заболевания) рассмотрены в разделе **1.6**. Исследование регуляторных механизмов и функционального состояния эндотелия проводится на основе физиологических проб (тепло-

вой, холодовой, локальной компрессионной, дыхательных) (раздел 1.7). Далее дан обзор основных принципов биофизических методов регистрации периферического кровотока (пункт 1.8), методов анализа сигналов (пункт 1.9). Основные результаты работы объединяет единый методический подход к анализу сигналов, для определения вклада колебаний в общую спектральную энергию используется вейвлет-анализ, преимущества которого, а именно возможность исследования динамически изменяющихся данных, что особенно актуально при решении задач биомедицинской природы, продемонстрированы в разделе 1.9. Спецификой изучаемых живых систем является их высокая вариабельность и наличие шумов различной природы. Время наблюдения сигнала зачастую ограничено и сравнимо с характерными временами протекающих в системе процессов, что накладывает дополнительные ограничения на применяемые методы анализа. В разделе 1.9 рассмотрены принципиальные для данной работы аспекты вейвлет-анализа, а именно возможность изучения динамики спектрального состава сигнала, оценки корреляции и фазовой когерентности пары сигналов, восстановления колебаний в заданном диапазоне частот и определение их динамических характеристик.

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

$$W_x(\nu, \tau) = \sqrt{\nu} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi^*(\nu(t-\tau)) dt, \quad (1)$$

где символ * означает комплексное сопряжение, t – время, τ – сдвиг по времени, ν – частота, и $\psi(t)$ – функция, называемая анализирующим вейвлетом. В данной работе в качестве функции $\psi(t)$ использован комплексный вейвлет Морле:

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

Параметр σ устанавливает длину анализирующей функции (количество осцилляций в ней), т.е. пространственно-временное разрешение. При $\sigma \rightarrow \infty$ функция $\psi(t)$ стремится к гармонической, и вейвлет-преобразование переходит в преобразование Фурье. Вейвлет-преобразование одномерного сигнала дает двумерное отображение на частотно-временной плоскости, называемое вейвлетной спектрограммой. Такое представление позволяет отследить динамику изменения несущей частоты и определить ее энергию в каждый момент времени. Пример вейвлетной спектрограммы для сигнала

ла $x(t)$, представляющего собой фотоплетизмограмму (ФПГ) (Рис.1 вверху) во время теста с задержкой дыхания показан на Рис.1 внизу. На представленных вейвлетных спектрограммах прослеживается как изменение основной частоты сигнала, так и его амплитуды.

Интегрирование по времени $W(\nu, \tau)$ дает аналог спектральной плотности энергии сигнала

$$M(\nu) = \frac{1}{T} \int_0^T |W(\nu, \tau)|^2 d\tau, \quad (3)$$

при этом нормировка $\sqrt{\nu}$ позволяет сопоставить $M(\nu)$ со спектром Фурье. Величина $M(\nu)$ называется вейвлет-спектром и является сглаженной версией спектра Фурье (степень сглаживания зависит от σ) (Рис.2)

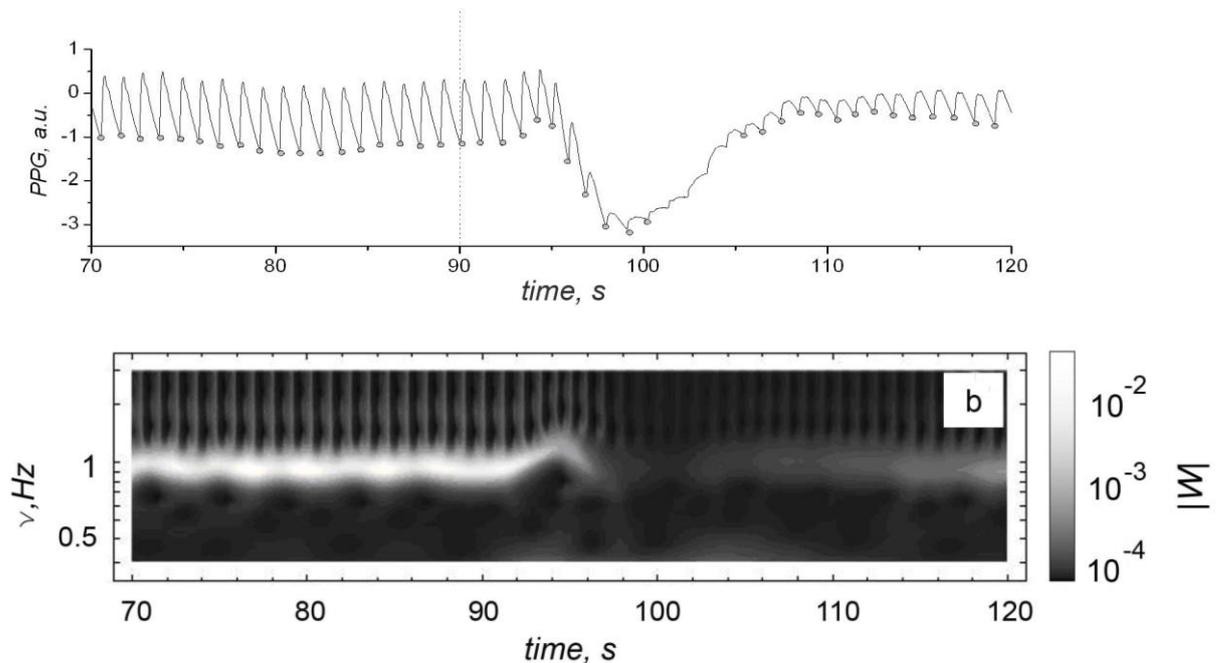


Рис.1. Фотоплетизмограмма, полученная на дистальной фаланге указательного пальца руки у здорового добровольца при задержке дыхания (вверху) и соответствующая ей вейвлетная спектрограмма (внизу). Дыхательный тест выполняется на 90й секунде, начало теста отмечено вертикальной штриховой линией.

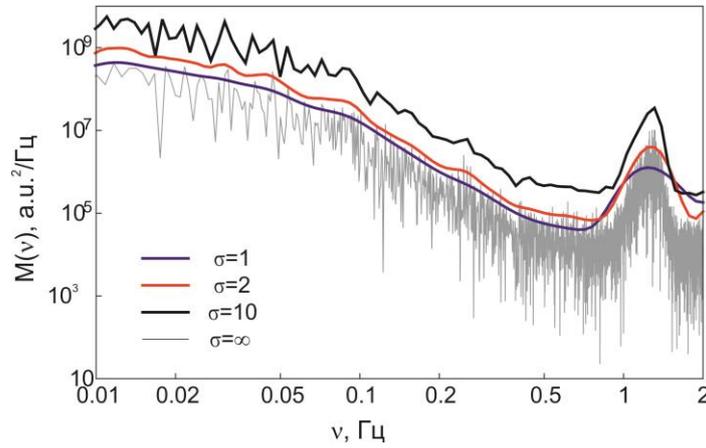


Рис.2. Вейвлет-спектр фотоплетизмограммы, рассчитанный при помощи вейвлета Морле с различным значением параметра σ .

Для совместного анализа двух сигналов служит кросс-спектр Фурье, по аналогии с которым вводится вейвлетный кросс-спектр. Нормированный вейвлетный кросс-спектр, определённый как

$$C_{xy}(\nu) = \int_0^T W_x(\nu, t) W_y(\nu, t) dt / \left(\int_0^T |W_x(\nu, t)|^2 dt \int_0^T |W_y(\nu, t)|^2 dt \right)^{-1/2}, \quad (3)$$

называют вейвлетной кросс-корреляцией. Модуль этой функции принимает значения $[0, 1]$ и характеризует степень корреляции колебаний сигналов на частоте ν . Фаза кросс-спектра, определенная как

$$\varphi(\nu) = \tan^{-1}(\text{Im}(C_{xy}(\nu)) / \text{Re}(C_{xy}(\nu))), \quad (4)$$

служит для измерения сдвига фаз между колебаниями с частотой ν в паре сигналов. В диссертации аппарат вычисления вейвлет кросс-корреляции использован как для установления взаимосвязи колебаний различной частоты в сигналах, описывающих микроциркуляцию и полученных оптическими и тепловыми методами, так и для исследования динамики фазовой задержки колебаний выделенной частоты.

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

$$f(t) = \frac{1}{C_\psi} \int_{\nu_1}^{\nu_2} \int_{-\infty}^{\infty} W(\nu, \tau) \psi(\nu, t - \tau) \sqrt{\nu} d\nu d\tau, \quad \text{где} \quad C_\psi = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{|\hat{\psi}(\nu)|}{|\nu|} d\nu, \quad (5)$$

($\hat{\psi}(\nu)$ – Фурье образ анализирующего вейвлета). Мерой интенсивности пульсаций является среднее квадратичное отклонение (СКО) фильтрованного сигнала $f(t)$. Для исследования динамики изменения амплитуд сигнала

в заданном частотном диапазоне используется огибающая вейвлет-коэффициентов²⁸

$$A(\tau) = \frac{1}{C_{\psi}} \int_{\nu_1}^{\nu_2} |W(\nu, \tau)| \nu d\nu. \quad (6)$$

Показатель фазовой когерентности рассчитывается следующим образом:

$$\Psi(\nu) = \sqrt{\langle \cos \Delta\varphi(\nu, t) \rangle^2 + \langle \sin \Delta\varphi(\nu, t) \rangle^2}. \quad (7)$$

При исследовании достоверности связи двух и более сигналов использован 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.

В пункте **1.10** кратко описаны результаты современных работ по численному моделированию процессов, связанных с колебанием кровотока в системе микроциркуляции кожи. В заключении первой главы подчеркнута актуальность вопроса изучения колебаний периферического кровотока, определены основные направления развития данной методики. Развитию методов анализа сигналов, в частности для задач, связанных с регистрацией периферического кровотока, посвящены работы [5,6,14,18].

Вторая глава посвящена исследованию методических вопросов применения лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). В экспериментальном исследовании с привлечением условно здоровых добровольцев (пункт **2.1**) установлена немонотонная связь средней и колебательных компонент перфузии $P_{LDF}(t)$ (Рис.3), измеренных при помощи ЛДФ [14]. Наличие такой связи обусловлено 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. Полученные результаты объясняют разнонаправлен

²⁸ Podtaev S. et al. Wavelet-analysis of skin temperature oscillations during local heating for revealing endothelial dysfunction //Microvascular research. – 2015. – Т. 97. – С. 109-114.

ную реакцию колебательных компонент сигнала $P_{LDF}(t)$ на контралатеральное прессорное холодное воздействие [24].

Исследование гетерогенности и когерентности колебаний кожного кровотока, измеренного методом ЛДФ (пункт 2.4) при локальном нагреве (раздел 2.2) [12], показало уменьшение показателя фазовой когерентности пульсаций с частотой 0.1 Гц (пункт 2.3) во время нагрева и позволило выявить особенности вазодилатационного ответа на локальный нагрев при различной локализации датчика [13]. Пункт 2.5. посвящен экспериментальному исследованию локальной компрессии ткани на регистрируемые параметры микрокровотока. Разработанная методика исследования включает экспериментальную установку и протокол ступенчато увеличивающегося приложенного давления. Регистрация $P_{LDF}(t)$ осуществляется при помощи монитора ЛДФ ЛАКК-02 (НПО «Лазма», Россия), анализ сигналов основан на вейвлет-разложении (пункт 2.4.). В результате установлена последовательность вазодилатационных и вазоконстрикторных откликов на приложенное давление, изучено изменение спектральных характеристик колебаний кожного кровотока. Показано, что при незначительной компрессии возрастает измеряемый кровоток, а при дальнейшем повышении давления перфузия снижается, и после снятия нагрузки возникает вазодилатационный ответ [8]. Обнаруженное статистически значимое изменение энергии колебаний, связанных с активностью эндотелия, служит основанием для построения методики локальной оценки эндотелиальной дисфункции (ЭД) на основе теста с локальным давлением. (Рис.4).

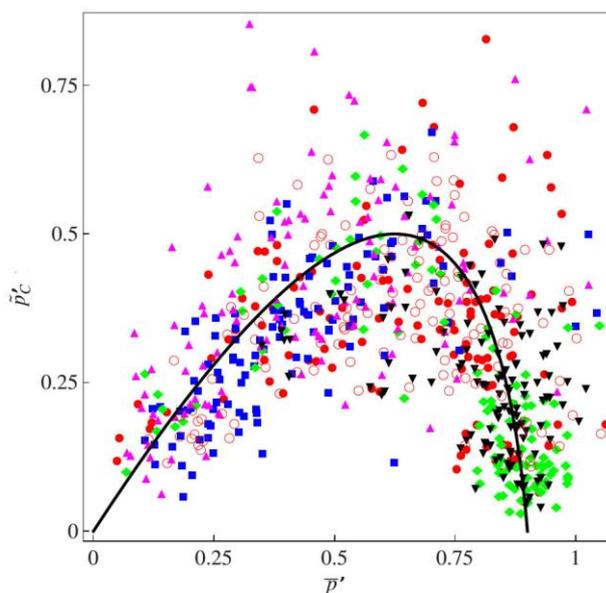


Рис. 3. Зависимость среднего значения перфузии \bar{p} и колебательной компоненты \tilde{p}_c на частоте сердечных сокращений. Различные символы соответствуют различным измерениям, черная линия – результат аппроксимации всех полученных данных.

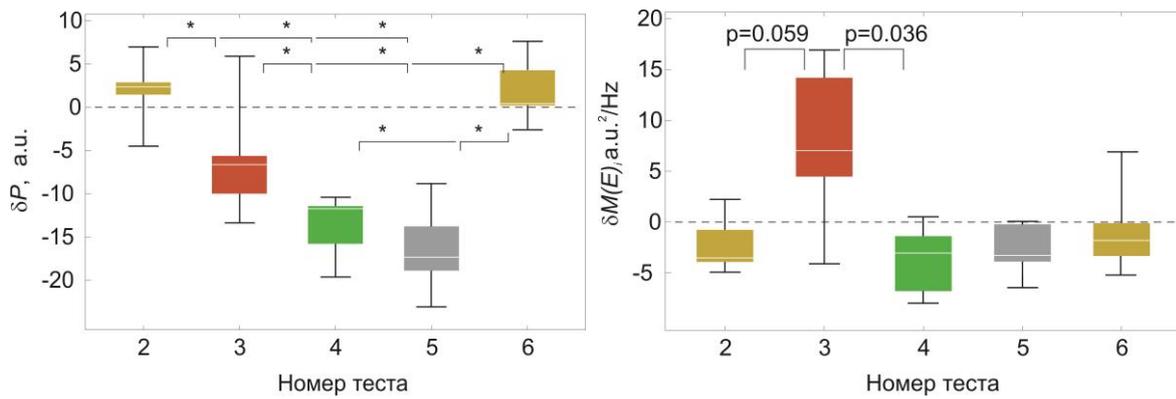


Рис. 4. Диаграмма размаха относительного изменения средней перфузии δP_{LDF} (слева) и средних значений пульсаций кровотока, связанных с активностью эндотелия (справа) вызванной локальной компрессией тканей. Цветовая схема характеризует изменение степени компрессии: 30 мм рт.ст. (желтый), 90 мм рт.ст. (красный), 140 мм рт.ст. (зеленый), 200 мм рт.ст. (серый), и 30 мм рт.ст. после частичного снятия нагрузки (желтый – 6 тест)

В третьей главе проведено исследование изменений энергии колебаний $P_{LDF}(t)$ в диапазоне частот от 0.01 до 2 Гц, вызванное развитием сахарного диабета (СД) (Пункт 3.1 и 3.2) и ревматических заболеваний (пункт 3.3). Разработаны методы анализа данных и исследовательские протоколы, в том числе, со ступенчатым нагревом.

Клинические исследования включают данные 17 пациентов с СД 1 типа, 23 – СД 2 типа, группа контроля составила 40 человек; в случае ревматических заболеваний группа с патологией составила 60, а группа контроля – 32 добровольца. Группы были однородны по полу и возрасту, подтверждение клинического диагноза осуществлялось на основании рекомендаций ВОЗ. Установлены статистически значимые вазомоторные реакции на температурные тесты в рассматриваемых клинических ситуациях (Рис.5). Исследование колебательных характеристик показало принципиальные различия плотности спектральной энергии при рассматриваемых патологиях даже в нативных условиях (Рис.6) [21]. Проводимые функциональные тесты вызывают значимые вариации спектральной энергии [9,11].

Вплоть до представления результатов части третьей главы [11] в литературе в основном использовался подход, при котором вейвлет-спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ подвергаются дополнительной процедуре обработки, связанной с вычислением средней плотности энергии в полосе частот.

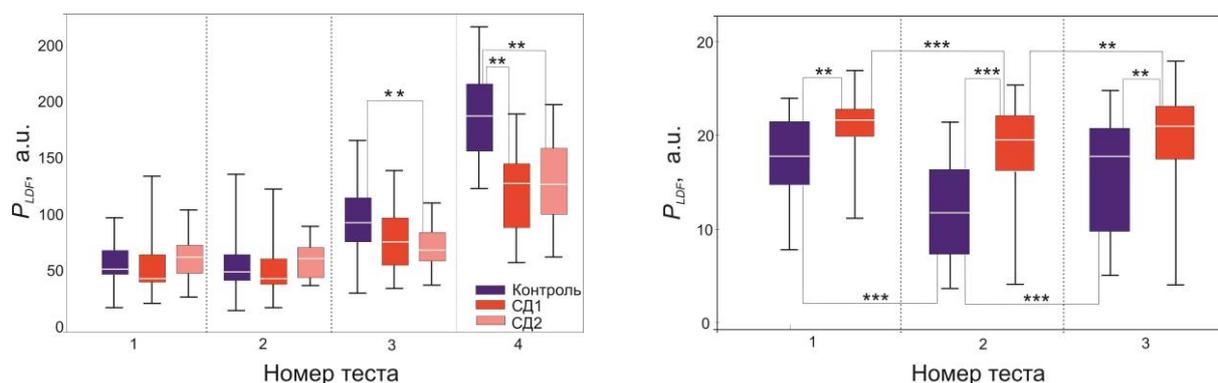


Рис. 5. Диаграммы размаха средних значений перфузии. Слева для группы добровольцев с сахарным диабетом 1 – нативные условия, 2 – охлаждение, 3 – нагрев до 35 С, 4 – нагрев до 42С. Справа – для ревматических заболеваний 1 – нативные условия, 2 – сразу после окончания холодного воздействия, 3 – через 20 минут после окончания холодного воздействия. Тёмные прямоугольники соответствуют группе контроля, светлые патологическим группам. Звездочками обозначен уровень значимости, оцененный с помощью критерия Манна-Уитни $**p < 0.01$, $***p < 0.005$.

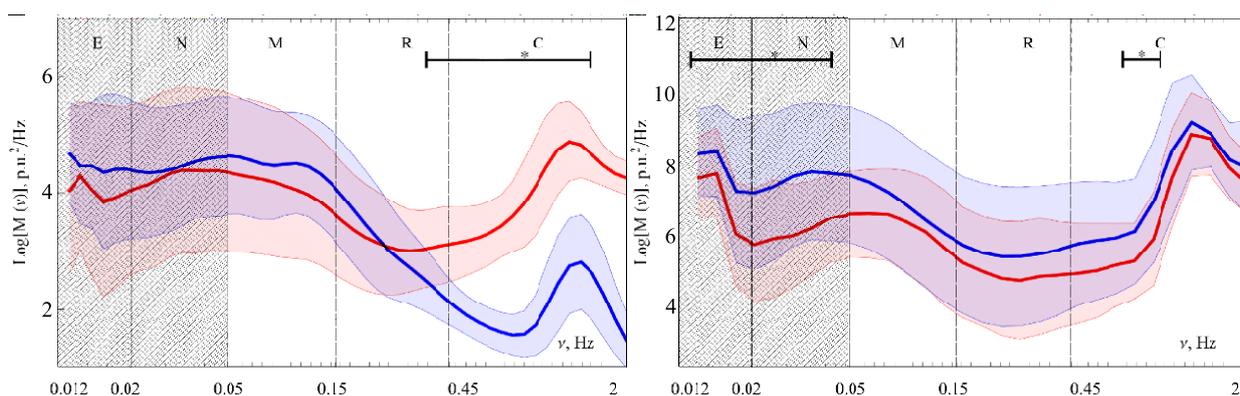


Рис. 6. Осредненные вейвлет-спектры сигналов $P_{LDF}(t)$ для условно здоровых добровольцев и пациентов с ревматическими заболеваниями (слева) и сахарным диабетом (справа). Синей жирной линией показаны спектры для группы контроля, красной – для группы с патологией. Заштрихованная область в окрестности спектров соответствует значениям между 1 и 3 квартилями распределений. В силу ограниченности сигналов во времени результаты в области частот ниже 0.05 Гц нельзя считать достоверными, соответствующая область на спектрах выделена серым прямоугольником

Однако при анализе сигналов зачастую возникает ситуация, когда в заданном диапазоне функция спектральной плотности монотонна и не имеет выраженного максимума. В этом случае возникает вопрос, какой характеристикой плотности спектральной энергии пользоваться, и, зачастую, исследователи выбирают частоту произвольно. Такой подход приводит к появлению дополнительных ошибок в вычислении характеристик тонуса

микрососудов, связанных с колебаниями кровотока в выделенном диапазоне частот. С другой стороны, определение границ частотных диапазонов, соответствующих различным механизмам регуляции сосудистого тонуса, разнится от работы к работе, более того современные исследования выделяют дополнительные диапазоны. Таким образом, при проведении исследований колебаний сосудистого тонуса предпочтительнее представление детального спектра колебаний и его почастотный анализ согласно методам, предложенным в третьей главе.

Четвертая глава посвящена исследованию возможности использования относительно простых и дешевых оптических методов ФПГ и лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСВ) для регистрации колебаний кожного кровотока. В пункте **4.1** описаны принципы формирования фотоплетизмограмм $P_{PPG}(t)$, и дан обзор работ, сравнивающих сигналы $P_{PPG}(t)$ и

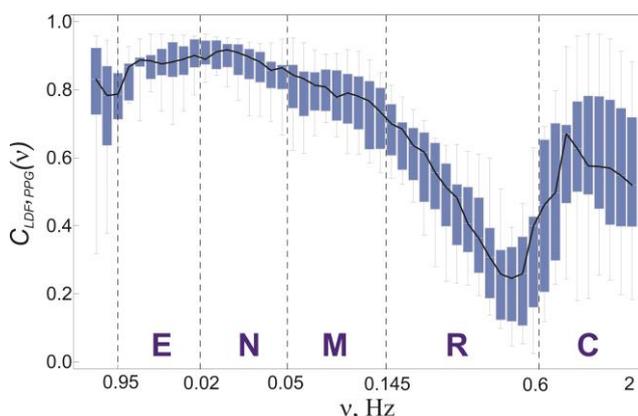


Рис. 7. Диаграмма размаха для вейвлет-корреляций сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ на одной конечности. Серая штриховка показывает интервал между 1 и 3 квантилями.

$P_{LDF}(t)$. Методика экспериментальных исследований взаимосвязи характеристик спектральной энергии $P_{PPG}(t)$, измеренных при помощи датчика ФПГ (Artema, Дания), и сигналов $P_{LDF}(t)$, измеренных ЛДФ монитором (LDF Monitor, Moor Instrumentts), описана в разделе **4.2**. Были проанализированы пятнадцатиминутные наборы данных, включающих в себя записи $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ на обеих верхних конечностях 12 здоровых добровольцев. Показано, что полученные записи перфузии обнаруживают достоверную корреляцию в области низких частот, связанных с миогенным, нейрогенным и эндотелиальным факторами регуляции тонуса микрососудов (Рис.7). Обнаруженный результат создаёт предпосылки для перенесения методики почастотного анализа перфузии, полученной методом ЛДФ, на аналогичные записи, полученные методом ФПГ [17].

Для исследования фазовых соотношений взаимосвязи колебаний кровотока, регистрируемых предложенными методами при дыхательных тестах, был адаптирован метод расчета сдвига фаз на выделенной частоте

(пункт 4.3). Созданный алгоритм применен к задаче о времени распространения пульсовых волн (PAT). Показано, что применение указанной методики позволяет повысить точность по сравнению с ранее применявшимися методами и измерить относительную вариацию времени распространения пульсовой волны ($Q(\tau) = (PAT(\tau) - \langle PAT(\tau) \rangle) / \langle PAT(\tau) \rangle$) при глубокой задержке дыхания [18] (Рис.8 слева).

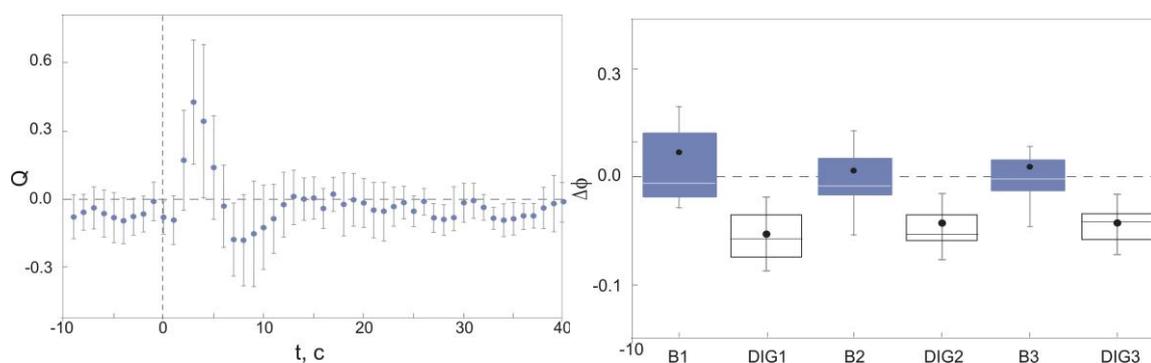


Рис. 8. Относительная вариация времени распространения пульсовой волны при задержке дыхания (слева), начало дыхательного теста $t=0$, выделено штриховой чертой.

Диаграмма размаха сдвига фаз $\Delta\phi$ между сигналами $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ на частоте сердечных сокращений во время спокойного дыхания (B1, B2, B3) и трех последовательных дыхательных тестов (DIG1, DIG2, DIG3). Оба графика усреднены по 15 измерениям

ям

Также при задержке дыхания обнаружена задержка пульсовой волны, измеренной методом ФПГ по сравнению с волной измеренной методом ЛДФ (Рис. 8 справа) (пункт 4.4), что позволило построить модель распространения пульсовых волн по крупным кровеносным сосудам с учетом безотражательности [10].

Развитые методы были успешно применены для исследования связи сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$ при контролируемом дыхании (пункт 4.5). Создан уникальный экспериментальный протокол дыхательного теста, который позволяет контролировать как частоту, так и глубину дыхания, опираясь на данные торакального пневмографического датчика. Показания датчика выводились на монитор компьютера и сравнивались с опорным сигналом в режиме реального времени. Во время каждой фазы эксперимента регистрировалось движение грудной клетки, электрокардиограмма, из которой извлекался сигнал вариации сердечного ритма (ВСР), ФПГ и ЛДФ. Установлено, что все сигналы коррелируют с дыханием, кроме того, суще-

ствует высокая корреляция в парах ВСР-ФПГ, ВСР-ЛДФ и ФПГ-ЛДФ 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 было обнаружено существенного увеличения корреляции в исследуемых парах сигналов на заданных частотах. Выявленные особенности обусловлены, в первую очередь, физиологическими особенностями формирования сигналов $P_{LDF}(t)$ и $P_{PPG}(t)$, в частности, влиянием симпатической нервной системы на тонус мелких сосудов [7].

Схема экспериментальной установки для изучения корреляции $P_{LDF}(t)$ и перфузии, записанной методом ЛСВ $P_{LSCI}(t)$, представлена на Рис.9. Корреляционный вейвлет-анализ эволюции $P_{LDF}(t)$ и спекл-контрастной визуализации $P_{LSCI}(t)$ показал, что спектральная энергия колебаний в диапазоне частот 0.01-2 Гц $P_{LSCI}(t)$ коррелирует с аналогичной характеристикой для $P_{LDF}(t)$, и, по всей видимости, связана с теми же физиологическими механизмами регуляции сосудистого тонуса (раздел 4.7). При решении данной задачи показано, что для построения временной эволюции $P_{LSCI}(t)$ перво-степенное значение имеет выбор оптимальной области усреднения (Рис.8). Когда площадь интегрирования увеличивается соотношение сигнал/шум в сигнале $P_{LSCI}(t)$ уменьшается и спектр $P_{LSCI}(t)$ становится близок к спектру $P_{LDF}(t)$ [6,20]. В разделе 4.8 представлены результаты пилотного исследования гетерогенности пульсаций кожного кровотока по результатам ЛСВ при спонтанном дыхании, контролируемом дыхании, задержке дыхания и венозной окклюзии. Для расчета меры фазовой синхронизации колебаний перфузии, измеренной методом ЛСВ, поле (400 на 400 пикселей, масштабный коэффициент составляет 25 мкм на пиксель) разбивается на одинаковые квадраты размером (5 на 5 пикселей), из полученного набора временных рядов случайным образом формируется набор из 100 пар, для каждой из которой вычисляется величина $\Psi(\nu)$. Далее для каждой пары вычисляется 100 пар суррогатов, рассчитываются показатели фазовой когерентности и вычисляется 0.95 квантиль распределения $\Psi^s(\nu)$. При $\Psi(\nu) > \Psi^s(\nu)$ полученное значение $\Psi(\nu)$ считается статистически значимым. Показано, что во время предложенных функциональных тестов коэффициент фазовой когерентности колебаний микрокровотока в диапазоне частот 0.14-0.6 Гц

повышается, при этом наиболее перспективным тестом является тест с задержкой дыхания [5]. Во время этого теста количество пар временных сигналов ЛСВ, в которых установлена значимая когерентность, приближается к 80%, тогда как при спонтанном дыхании составляет порядка 20%.

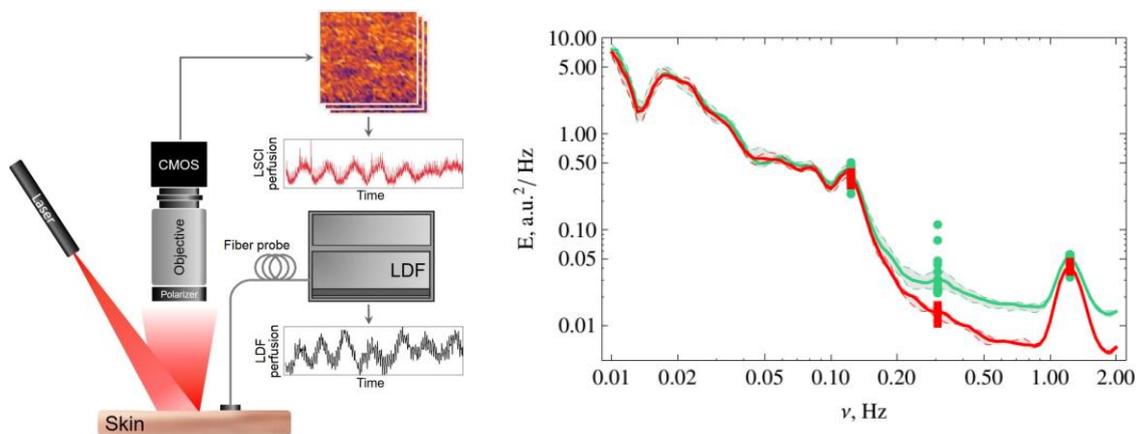


Рис.9. Схема экспериментальной установки (слева). В качестве источника света использован лазер, длина волны 1064 нм. Сигнал $P_{LSCI}(t)$, представленный на рисунке, был получен после усреднения по всему изображению. Справа – спектральная плотность энергии $P_{LSCI}(t)$ в зависимости от площади усреднения (зеленый 5×5 , красный 10×10 пикселей (размер пикселя составляет 5.86 мкм)). Жирными линиями показаны средние, штрихами 1 и 3 квантили распределения энергии в различных точках измерения. Круги и квадраты соответствуют значениям спектральной энергии в кардио, дыхательном и миогенном частотных диапазонах.

В пятой главе продемонстрированы возможности применения спектрального анализа $P_{PPG}(t)$ в клинических исследованиях на примере атеросклероза и хронической артериальной недостаточности (ХАН). Предложен простой и надежный метод для скрининговой диагностики ХАН, основанный на спектральном анализе сравнительно коротких сигналов $P_{PPG}(t)$.

В этом случае вейвлет-разложение выступает в роли простого и быстрого временного усреднения свойств пульсовой волны. Предложенный индекс I характеризует отношение энергий колебаний прямой и отраженной пульсовых волн. Метод верифицирован в пилотном исследовании на группах состоящих из 25 здоровых добровольцах и 34 пациентов с атеросклерозом и проявлениями ХАН [4, 28, 31] (Таблица 1). Экспериментально показано, что метод имеет более высокую чувствительность, нежели традиционный лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ) (пункт 5.1) [2, 28].

Таблица 1. Значение ЛПИ и индекса I в группах с атеросклерозом, проявлениями ХАН и контроля.

Группы	Контроль (1)	Атеросклероз(2)	ХАН(3)
ЛПИ	1.2±0.6	1.0±0.2 p ₁₂ =0.04	0.7±0.2 p ₁₃ =0.04, p ₂₃ =0.005
I	-2.9±0.4	-4.1±0.5 p ₁₂ <0.001	-4.6±0.4 p ₁₃ <0.001, p ₁₂ <0.02

В рамках пилотного исследования влияния реконструктивной операции на спектральный состав $P_{PPG}(t)$ (пункт 5.2) было выявлено, что 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 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, что выражается в значительном снижении низкочастотных колебаний $P_{PPG}(t)$ [25].

Экспериментальному и численному исследованию возможности применения термометрии высокого разрешения для регистрации колебаний кровотока в МЦР посвящена глава 6. Выбор этого метода обоснован как с точки зрения простоты и стоимости методики, так устойчивости к артефактам движения. В экспериментальном исследовании (пункт 6.1) с привлечением 17 здоровых добровольцев были проведены синхронные записи сигналов $P_{LDF}(t)$ (Moor Instruments, Великобритания) и $T(t)$ (Микротест, ФМ Диагностика, Россия). На основе корреляционного вейвлет-анализа и сопоставления результата с суррогатными данными установлена высокая достоверная корреляция пульсаций $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$ в области частот 0.01–0.05 Гц (Рис.10, слева).

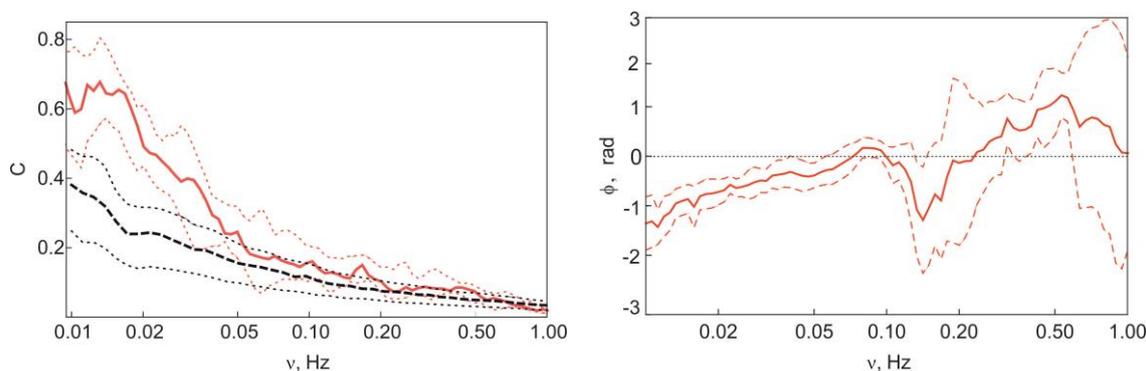


Рис.10. Красные линии соответствуют усреднённым по всей выборке модулю (слева) и разности фаз (справа) вейвлетной кросс-корреляции сигналов $P_{LDF}(t)$ и $T(t)$, сплошная линия – медианное значение, штриховые линии – 1 и 3 квартили). Черные линии показывают статистические характеристики спектров для суррогатных данных.

Установлено, что колебания температуры кожи отражают функциональное состояние МЦР, связанное с миогенным, нейрогенным и эндотелиальным механизмами регуляции сосудистого тонуса, и мониторинг $T(t)$ может быть использован для оценки тонуса микрососудов. Обнаруженный устойчивый сдвиг фаз (Рис.10, справа) позволил провести оценку глубины залегания температурных источников (порядка 2 мм), которая совпала с глубиной расположения артериол [16]. На основании полученных экспериментальных результатов и численных оценок создана методика реконструкции низкочастотных пульсаций периферического кровотока по температурным измерениям. Данная методика построена на обратном вейвлет-преобразовании со скорректированным сдвигом фаз. В пункте 6.2 представлены результаты экспериментального исследования связи $T(t)$ и $P_{LDF}(T)$ во время контралатеральной холодной пробы. При решении одномерного уравнения теплопередачи было оценено изменение теплопроводности ткани во время контралатерального холодного теста. Получено, что при уменьшении теплопроводности примерно в два раза модель дает изменения кожной температуры, близкие к тем, что получены в эксперименте.

Разделы 6.3 – 6.6 посвящены численному моделированию процессов распространения тепла в МЦР. Для этого в разделе 6.3. решается одномерное уравнение Пеннеса

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + Q_m + \omega_b \rho_b c_b (T_b - T), \quad (8)$$

где T – температура, t – время, ρ и ρ_b – плотности ткани и крови соответственно, c и c_b – удельные теплоемкости крови и ткани, λ – коэффициент теплопроводности. Предполагается, что потока крови через стенку сосуда нет, теплообмен с окружающей средой описывается как

$$\lambda \left. \frac{\partial T}{\partial x} \right|_{x=l} = h(T - T_\infty) \quad (9)$$

(l – глубина залегания сосуда, h – коэффициент теплообмена). В глубине ткани тепловой поток исчезающе мал

$$\lambda \left. \frac{\partial T}{\partial x} \right|_{x=L} = 0. \quad (10)$$

В качестве источника тепловых возмущений рассмотрен уединенный сосуд с пульсирующим кровотоком. Показано, что колебания температуры затухают в объеме ткани, находящейся между источником колебаний (микрососудами) и точкой наблюдения (поверхность кожи), затухание тем сильнее, чем выше частота колебаний, также установлено, что колебания кожной температуры отстают от соответствующих пульсаций кровотока, а величина фазового сдвига зависит от частоты [22]. В разделе 6.5 представлены результаты моделирования течения крови и распространения тепла в кисти руки человека в трехмерной постановке при контралатеральной холодной пробе (Рис.11). Особенностью предложенного подхода является использование модели пористой среды для моделирования микроциркуляторного русла. Показано, что пористость, представляющая собой объемную долю крови в исследуемом объеме ткани, оказывает значительное влияние на изменение температуры кожи [15, 23]. Полученные в шестой главе результаты обобщены в обзоре [31].

Демонстрация использования термометрии высокого разрешения в клинических исследованиях приводится в разделе 6.7. На основании данных 43 добровольцев, 12 из которых были условно здоровы, у 18 было выявлено нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), а у 13 – СД второго типа, были исследованы колебания кожной температуры при прессорном холодном тесте (пункт 6.6).

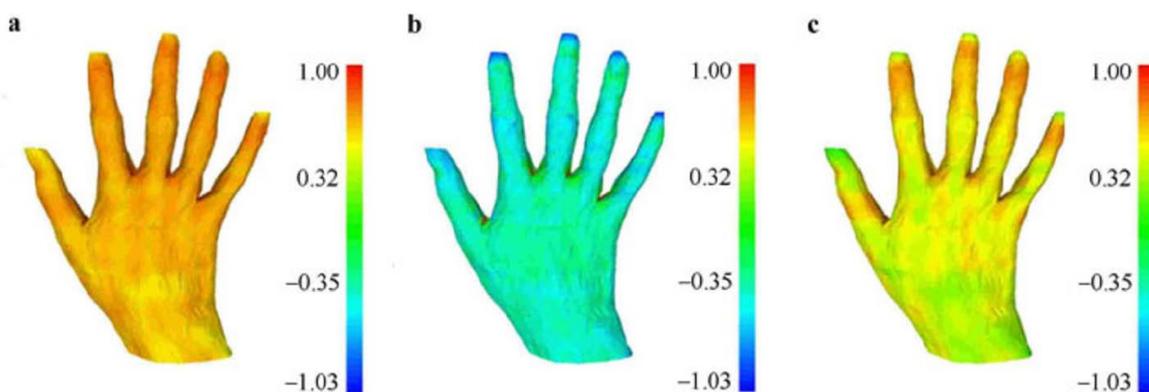


Рис. 11 Распределение температуры на поверхности кисти руки человека в исходном состоянии (а), после трехминутного контралатерального холодого воздействия (б), процесс восстановления через 2 минуты после окончания охлаждения (в), полученные в результате численного моделирования.

Непрерывная запись сигнала $T(t)$ осуществлялась в течение 23 минут при помощи прибора Микротест на левой конечности испытуемого. При этом на 3 минуты (с 10 по 13 минуты) правая конечность испытуемого погружалась в ванночку с водно-ледовой смесью ($T=0^{\circ}\text{C}$). Полученные сигналы были отфильтрованы в трех частотных диапазонах (Е, N, М), средне-квадратичное отклонение фильтрованного сигнала в заданном частотном диапазоне n и заданный интервал времени i обозначено как δT_i^n . В качестве меры изменения амплитуды колебаний кожной температуры, был модифицирован вазомоторный индекс²⁹:

$$\kappa_i^n = \frac{\delta T_i^n - \delta T_0^n}{\delta T_i^n} \quad (11)$$

для каждого n -го частотного диапазона (Е – эндотелиального, N – нейрогенного, М – миогенного) и временного интервала i . Диаграммы размаха κ_i^n в исследуемых группах представлены на Рис. 12.

Отклик на холодовой тест, в группе с СД (группа 3) отличается от реакции здоровых людей. Во время контралатерального охлаждения амплитуды пульсаций во всех трех частотных диапазонах значительно снижаются. Через десять минут после окончания охлаждения амплитуды восстанавливаются до исходного уровня только в нейрогенном диапазоне (Рис.12). В эндотелиальном и миогенном диапазонах частот возрастание амплитуд пульса-

²⁹ Подтаев С.Ю., Попов А.В., Ершова А.И., Морозов М.К., Жукова Е.А. Способ диагностики эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом // Патент РФ 2405418

ций после холодной пробы было несущественным. В дальнейшем в течение последующих 10 минут амплитуда пульсаций в данных частотных диапазонах не достигала начального уровня. В нейрогенном диапазоне частот после завершения холодного теста амплитуды пульсаций достигали начального уровня.

Результаты в группе для пациентов с НТГ имеют схожие черты с группой с СД, что позволило сделать вывод о том, что изменение вазодилатационных механизмов у пациентов с диабетом и с НТГ происходит похожим образом [3,19].

В результате проведенного диссертационного исследования решена круп-

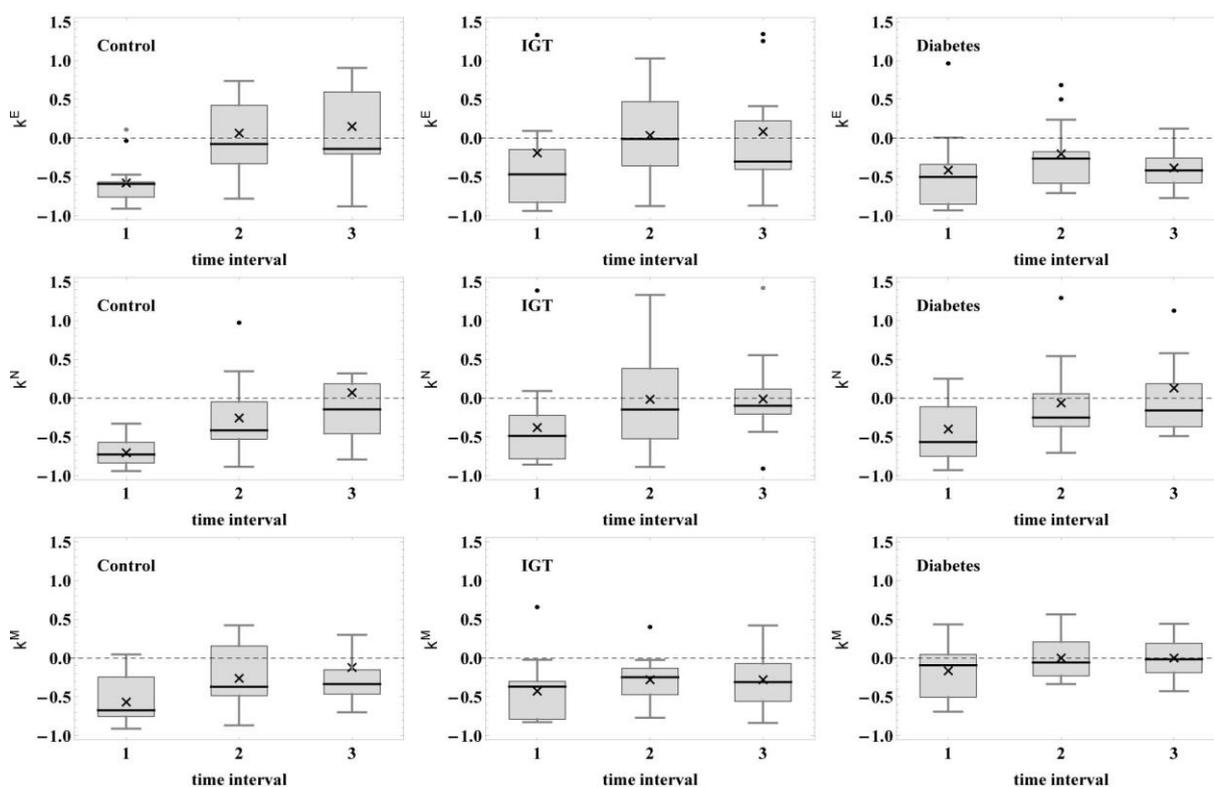


Рис.12 Диаграммы размаха относительных изменений энергии колебаний кровотока k_n в трех частотных диапазонах, где E соответствует эндотелиальному (верхний ряд), N - нейрогенному (средний ряд), M - миогенному (нижний ряд) механизмам регуляции сосудистого тонуса, вызванные холодным прессорным тестом. По 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 значения. Верхняя и нижняя граница соответствует 1 и 3 квартилям распределения. Горизонтальная пунктирная линия соответствует $k_n=0$.

ная 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:

1. 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.

2. 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 аорто-венулярные анастомозы, и при высокой перфузии, когда кровоток, в значительной степени, обеспечивается капиллярным руслом.

3. 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 сосудистого тонуса не выявлено.

4. 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.

5. 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 груп-

пах с ревматическими заболеваниями и сахарным диабетом при проведении тепловых тестов.

6. 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.

7. 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.

8. На основе анализа спектрального состава фотоплетизмограмм предложены индексы, которые легли в основу построения скрининговой методики хронической артериальной недостаточности.

9. 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, определенным методом лазерной доплеровской флоуметрии, с использованием результатов измерений температуры кожи.

10. Продемонстрировано влияние амплитуды пульсаций крови в уединенном сосуде и эффективной теплопроводности ткани на характеристики колебаний кожной температуры.

11. 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.

12. 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.

Основные публикации по теме диссертации, включённые в список ВАК

1. Mizeva I.A., Potapova E.V., Dremin V.V., Kozlov I., Dunaev A. Spatial heterogeneity of cutaneous blood flow respiratory oscillations quantified via laser speckle contrast imaging // *PLOS ONE*. – 2021. – V.16. – №5. – p.e0252296

2. Mizeva I.A., Dremin V.V., Potapova E.V., Zherebtsov E., Kozlov I., Dunaev A. Wavelet analysis of the temporal dynamics of the laser speckle contrast in human skin // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2020. – V. 67 – №7. – p. 1882–1889.

3. Mizeva I.A., Potapova E.V., Kozlov I., Dremin V., Dunaev A., Krasnikov G Heterogeneity of cutaneous blood flow respiratory-related oscillations quantified via LSCI wavelet decomposition // 2020 11th Conference of the European Study Group on Cardiovascular Oscillations (ESGCO). – 2020. – P. 1–2.

4. Tankanag A., Krasnikov G., Mizeva I.A. A pilot study: Wavelet cross correlation of cardiovascular oscillations under controlled respiration in humans // *Microvascular Research*. – 2020. – P. 103993.

5. Mizeva I. A., Potapova E. V., Dremin V.V., Zherebtsov E., Mezentsev M.A., Shupletsev V., Dunaev A.V. Optical probe pressure effects on cutaneous blood flow// *Clinical hemorheology and microcirculation*. – 2019. – V.72. – №3. – P. 259–267.

6. Mizeva I.A., Zharkikh E.V., Dremin V.V., Zherebtsov E., Makovik I., Potapova E.V., Dunaev A.V. Spectral analysis of the blood flow in the foot microvascular bed during thermal testing in patients with diabetes mellitus // *Microvascular Research*. – 2018. – V. 120. – P. 13–20.

7. Zharkikh E.V., Mizeva I. A., Makovik I. I., Dremin V.V., Zherebtsov E., Potapova E.V., Dunaev A.V. Blood flow oscillations as a signature of microvascular abnormalities // *Proc. SPIE 10685, Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care VI, 106854C*. – V. 10685. – SPIE, 2018. – P. 682 –686

8. 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 V.208* – 2017. – 012015.

9. Mizeva I., Makovik I., Dunaev A., Krupakin A.I., Meglinski I.A. Analysis of skin blood microflow oscillations in patients with rheumatic diseases // *Journal of Biomedical Optics*. – 2017. – V. 22, №7. – P. 070501.

10. Mizeva I. Phase coherence of 0.1 Hz microvascular tone oscillations during the local heating // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. – V. 208. – 2017. – P. 012027.

11. Sorelli M., Stoyneva Z., Mizeva I., Bocchi L. Spatial heterogeneity in the time and frequency properties of skin perfusion // *Physiological Measurement*. – 2017. – V. 38, №5. – P. 860–876.

12. Tang Y.L., 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. – V.10337. – 2017. – P. 1033716.

13. *Mizeva I., Frick P., Podtaev S.* Relationship of oscillating and average components of laser doppler flowmetry signal // *Journal of Biomedical Optics*. – 2016. – V. 21, №8. – P. 85002.

14. *Tang Y-L, He Y., Shao H.-W., Mizeva I.* Skin temperature oscillation model for assessing vasomotion of microcirculation // *Acta Mechanica Sinica*. – 2015. – V. 31, №1. – P. 132–138.

15. *Frick P., Mizeva I., Podtaev S.* Skin temperature variations as a tracer of microvessel tone // *Biomedical Signal Processing and Control*. – 2015. – V.21. – P. 1–7.

16. *Mizeva, I.A., Di Maria C., Frick P., Podtaev S.Yu., Allen J.* Quantifying the correlation between photoplethysmography and laser doppler flowmetry microvascular low-frequency oscillations // *Journal of Biomedical Optics*. – 2015. – V. 20. – P. 20 – 20 – 7.

17. *Mizeva I., Frick P., Podtaev S.* Skin blood flow and temperature oscillations during cold pressor test // 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). – 2015. – P. 7382–7385.

18. *Мизева И., Ветрова Д.* Поведение пульсаций кожного кровотока при локальном нагреве поверхности кожи // *Российский журнал биомеханики*. – 2014. – Т.18 – №4 – стр. 513-521.

19. *Mizeva I., Dumler A., Muraviev N.* Changes in the spectral characteristics of photoplethysmographic waveforms due to paod. // *Proceedings of the International Conference on Bio-Inspired System and Signal Processing*. – 2014. – P. 149–154.

20. *Allen J., Di Maria C, Mizeva I., Podtaev S.* Finger microvascular responses to deep inspiratory gasp assessed and quantified using wavelet analysis // *Physiological Measurement*. – 2013. – V. 34 – №7. – P. 769–779.

21. *Smirnova E.N, Podtaev S.Yu, Mizeva I.A, Loran E.A* Assessment of endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance during a cold pressor test // *Diabetes and Vascular Disease Research*. – 2013. – V.10 – №6. – P. 489–497.

22. *Tang Y., He Y., Shao H., Mizeva I.* A porous media model of human hand to study the relationship between endothelial function and fingertip temperature oscillation // *Control and Automation (ICCA), 2013 10th IEEE International Conference on*. – 2013. – p. 1246–1249.

23. *Мизева И. А. Думлер А. А. Муравьев Н.Г.* Особенности пульсовой волны при хронической артериальной недостаточности нижних конечностей // *Российский журнал биомеханики*. – 2012. – Т.16 – №2 (56). – стр. 83-94.

24. *Смирнова Е.Н., Подтаев С.Ю., Мизева И.А., Жукова Е.А.* Нарушение механизмов вазодилатации у больных сахарным диабетом 2 типа при проведении контралатеральной холодовой пробы. // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2012. – Т.11 – №1. – стр. 30–34.

25. Мизева И.А., Степанов Р.А., Фрик П.Г. Вейвлетные кросскорреляции двумерных полей // Вычислительные методы и программирование. – 2006. – Т.7. – №1. – стр. 172-179.

Главы в коллективных монографиях

26. Подтаев С.Ю., Мизева И.А., Смирнова Е.Н. Диагностика функционального состояния системы микроциркуляции на основе термометрии высокого разрешения // Этюды о механике, под ред. В.П.Матвеевко, Екатеринбург, РИО УрО РАН, 2017

27. He Y., Shao H., Tang Y., Mizeva I., Zhang H. Finger model for blood flow and temperature // Computational Biomechanics of the Musculoskeletal System, CRC Press, Eds Zhang M., Fan Y, 2014

Подписано в печать 15.12.2021. Формат 60×84/16.
Тираж 100 экз. Усл. печ. л. 2. Заказ № 721/2018.

Отпечатано с готового оригинал-макета
В типографии издательства Пермского национального
исследовательского политехнического университета
614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29, к. 113.
Тел.: (342) 219-80-33