

пени изометричности (рис. 8). В группе пациентов с диабетической нейропатией значение коэффициента $K_{\Delta L}$ составило $2,33 \pm 0,92$. Нервные волокна условно здоровых лиц продемонстрировали существенно большую анизотропию направленности $K_{\Delta L} = 3,71 \pm 1,40$, что достоверно отличается (по Стьюденту, $R^2 = 0,84$; $p < 0,05$) от патологических значений. Значение коэффициента K_{sym} составило $0,82 \pm 0,12$ для группы пациентов с СД и $0,9 \pm 0,15$ для группы здоровых добровольцев ($R^2 = 0,74$; $p = 0,005$).

Предлагаемый для распознавания конфокальных изображений принцип вероятностного картирования прохождения нервов, в отличие от существующих «ручных» (субъективных) методов трассировки нервных волокон, дает возможность объективного выявления в конкретной точке изображения отрезка нерва заданной длины и заданного направления. При этом с одинаковой вероятностью может быть распознано нервное волокно в различных ситуациях: при нормальной экспозиции, недоэкспонированное, «пересвеченное», наблюдаемое через рассеивающие среды, в диапазоне глубины фокуса оптической системы и ввне его.

В исследовании мы не стали опираться на многочисленные алгоритмы собственно «трассировки» линейных биологических объектов [10]. Общее представление о направленности нервов в пределах оцениваемого изображения было получено с использованием упрощенного оригинального алгоритма и программного обеспечения на его основе.

Выводы

1. Доказано, что морфометрическое описание нервов роговицы может быть дополнено объективной характеристикой их статической извитости – коэффициентами анизотропии и симметричности направленности.

2. Для вычисления коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервов роговицы предложен метод автоматизированного распознавания нервных волокон на конфокальных цифровых изображениях роговицы и создано опытное программное обеспечение на его основе.

3. Доказана работоспособность предлагаемого метода автоматизированного вычисления коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервов роговицы на контрастных клинических группах.

4. Предлагаемая морфометрическая оценка может быть рекомендована производителям биомикроскопов различных типов для реализации в программном обеспечении.

Список литературы:

1. Штейн Г.И. Руководство по конфокальной микроскопии. – СПб.: ИНЦ РАН, 2007. С. 6-10.

2. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscope // Scanning. 1998. Vol. 10. PP. 128-138.
3. Tavakoli M., Hossain P., Malik R. Clinical applications of corneal confocal microscopy // Clinical Ophth. 2008. № 2. PP. 435-445.
4. Аветисов С.Э., Егорова Г.Б., Федоров А.А. и др. Конфокальная микроскопия роговицы. Сообщение 1. Особенности нормальной морфологической картины // Вестник офтальмологии. 2008. № 3. С. 3-5.
5. Ткаченко Н.В., Астахов Ю.С. Диагностические возможности конфокальной микроскопии при исследовании поверхностных структур глазного яблока // Офтальмологические ведомости. 2009. Т. 2. № 1. С. 82-89.
6. Jalbert I., Stapleton F., Papas E. et al. In vivo confocal microscopy of human cornea // Br. J. Ophthalm. 2003. Vol. 87. № 2. PP. 225-236.
7. Malik R., Kallinikos P., Abbott C. et al. Corneal confocal microscopy: A noninvasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients // Diabetologia. 2003. Vol. 46. PP. 683-688.
8. Oliveira-Soto L., Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy // Cornea. 2010. № 20. PP. 374-384.
9. Edwards K., Pritchard N., Vagenas D., Russell A., Malik R.A., Efron N. Standardizing corneal nerve fibre length for nerve tortuosity increases its association with measures of diabetic neuropathy // Diabetic Medicine. 2014. Vol. 31. № 10. PP. 1205-1209.
10. Ильясова Н.Ю. Методы цифрового анализа сосудистой системы человека. Обзор литературы // Компьютерная оптика. 2013. Т. 37. № 4. С. 511-535.

*Сергей Эдуардович Аветисов,
академик РАН, профессор,
директор ФГБНУ «НИИГБ»,
зав. кафедрой глазных болезней,
ПМГМУ им. И.М. Сеченова,
Иван Александрович Новиков,
ст. научный сотрудник,
Сергей Сергеевич Махотин,
ведущий программист,
ФГБНУ «НИИГБ»,
Зоя Васильевна Сурнина,
аспирант,
ФГБНУ «НИИГБ»,
ст. врач-лаборант кафедры глазных болезней,
ПМГМУ им. И.М. Сеченова,
г. Москва,
e-mail: s.avetisov@niigb.ru*

С.А. Останин, А.М. Шайдук

Прибор для неинвазивного измерения частоты следования потенциалов действия отдельных двигательных единиц

Аннотация

Описан прибор для неинвазивного измерения частоты следования потенциалов действия отдельных двигательных единиц мышц. Прибор построен с использованием виртуальных приборов LabVIEW. Изложены математические основы метода измерения и результаты измерения.

Введение

Сокращение мышц сопровождается электрической активностью клеток мышечных волокон (двигательных единиц). Двигательные единицы, иннервируемые одним мотонейроном, генерируют квазипериодические электрические импульсы потенциалов действия отдельных двигательных единиц (single-

motor-unit action potential, SMUAP) [1], [2]. Последовательность электрических импульсов регистрируют инвазивно, с помощью введенных в мышцу игольчатых электродов. Частота следования импульсов определяется величиной усилия мышцы, совершающей механическую работу. Среднее значение частоты следования является важной характеристикой состояния нервной и мышечной систем [3].

Гораздо удобнее было бы регистрировать частоту следования импульсов неинвазивными методами. Однако электрические потенциалы, снимаемые с электродов на поверхности кожи, являются результатом сложения большого количества электрических потенциалов, генерируемых разными двигательными единицами [4]. Прямое измерение частоты следования импульсов в этом интерференционном сигнале невозможно.

Теоретические исследования показали, что получить оценку средней частоты следования импульсов в определенных условиях все-таки можно на основе анализа спектра поверхностной электромиограммы [4]-[9]. В данной статье описан прибор для оценки средней частоты следования импульсов на основе анализа спектра поверхностной электромиограммы, усредненной по реализациям спектра.

Материалы и методы

В соответствии с общепринятой моделью формирования электромиограммы электрическое напряжение, регистрируемое на поверхности кожи, пропорционально

$$U(t) = \sum_{k=1}^K \sum_{n=1}^N f(t - \tau_n - \Delta t_k),$$

где $f(t - \tau_n - \Delta t_k)$ – потенциал, создаваемый одним мотонейроном; τ_n – момент запуска n -го импульса; Δt_k – сдвиг фаз между различными двигательными единицами.

Спектр мощности такой электромиограммы может быть представлен [5] как

$$S(\omega) = |A_0(\omega)|^2 \cdot |A_1(\omega)|^2 \cdot |A_2(\omega)|^2, \quad (1)$$

где $|A_0(\omega)|^2$ – спектр мощности одиночного импульса одной двигательной единицы; $|A_1(\omega)|^2$ – спектральная функция, определяемая параметрами последовательности импульсов, генерируемой одной двигательной единицей; $|A_2(\omega)|^2$ – спектральная функция, определяемая фазовыми соотношениями между последовательностями импульсов, генерируемых различными двигательными единицами.

Спектральная компонента $|A_0(\omega)|^2$ представляет собой медленно изменяющуюся с частотой функцию с единственным максимумом.

Функция $|A_1(\omega)|^2$ имеет вид [6]

$$|A_1(\omega)|^2 = N + 2 \cdot \sum_{m=1}^{N-1} (N-m) \cos(\omega T_{cp} m) \cdot \exp\left(-\frac{\omega^2 \sigma^2 m}{2}\right), \quad (2)$$

где N – полное число отдельных импульсов, генерируемых за время регистрации электромиограммы; T_{cp} – среднее значение

интервала следования импульсов; σ – стандартное отклонение интервала следования от среднего значения. Из выражения (2) видно, что функция представляет собой набор эквидистантных спектральных линий на частотах

$$\omega_m = \frac{2\pi}{T_{cp}} \cdot m; \quad m = 1, 2, 3, \dots, \quad (3)$$

интенсивность которых быстро уменьшается с ростом частоты ω . Центр первой спектральной линии имеет максимальную интенсивность и определяется средним значением интервала следования импульсов T_{cp} :

$$\omega_1 = 2\pi / T_{cp}. \quad (4)$$

В спектре мощности электромиосигнала $S(\omega)$ первая линия не является максимальной, поскольку низкочастотная часть функции (2) умножается на возрастающую в низкочастотной части функцию $|A_0(\omega)|^2$, влияние которой необходимо компенсировать.

Функция $|A_2(\omega)|^2$ при малых вариациях сдвига фаз между последовательностями импульсов двигательных единиц быстро падает с ростом частоты, асимптотически вырождаясь в константу. Используя этот факт, информацию о функции $|A_1(\omega)|^2$, которая содержит в качестве параметра частоту следования импульсов, можно получить как

$$\beta \cdot |A_1(\omega)|^2 = \frac{S(\omega)}{|A_0(\omega)|^2}, \quad (5)$$

где β – константа, зависящая только от количества двигательных единиц и длительности регистрации электромиограммы. Первый максимум функции $\beta|A_1(\omega)|^2$ будет соответствовать искомой частоте следования импульсов отдельных двигательных единиц.

Вид функции $|A_0(\omega)|^2$ неизвестен, однако известно, что она изменяется существенно медленнее, чем осциллирующая функция $|A_1(\omega)|^2$ (2), следовательно, задача оценки вида функции $|A_0(\omega)|^2$ сводится к нахождению такого способа сглаживания экспериментально полученной функции $S(\omega)$, при котором устраняются локальные максимумы, обусловленные функцией $|A_1(\omega)|^2$. Результат сглаживания функции $S(\omega)$ представлял собой оценку функции $|A_0(\omega)|^2$ с точностью до константы. Оценка вида функции $|A_1(\omega)|^2$ осуществлялась в соответствии с выражением (5).

Прибор для неинвазивного измерения частоты следования импульсов состоит из последовательно соединенных электродов, усилителя, аналого-цифрового преобразователя и компьютера. Программное обеспечение выполнено с использованием LabVIEW.

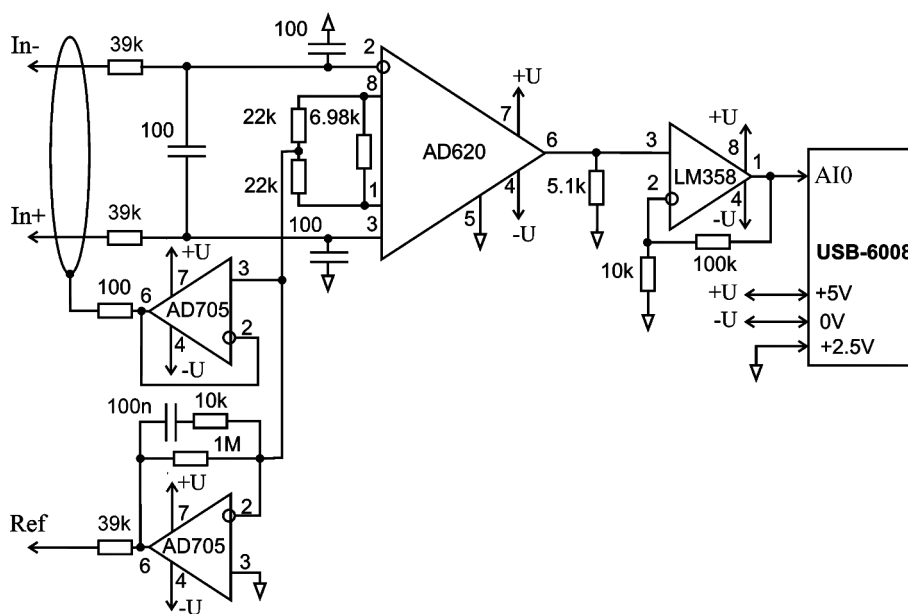


Рис. 1. Схема усилителя сигнала

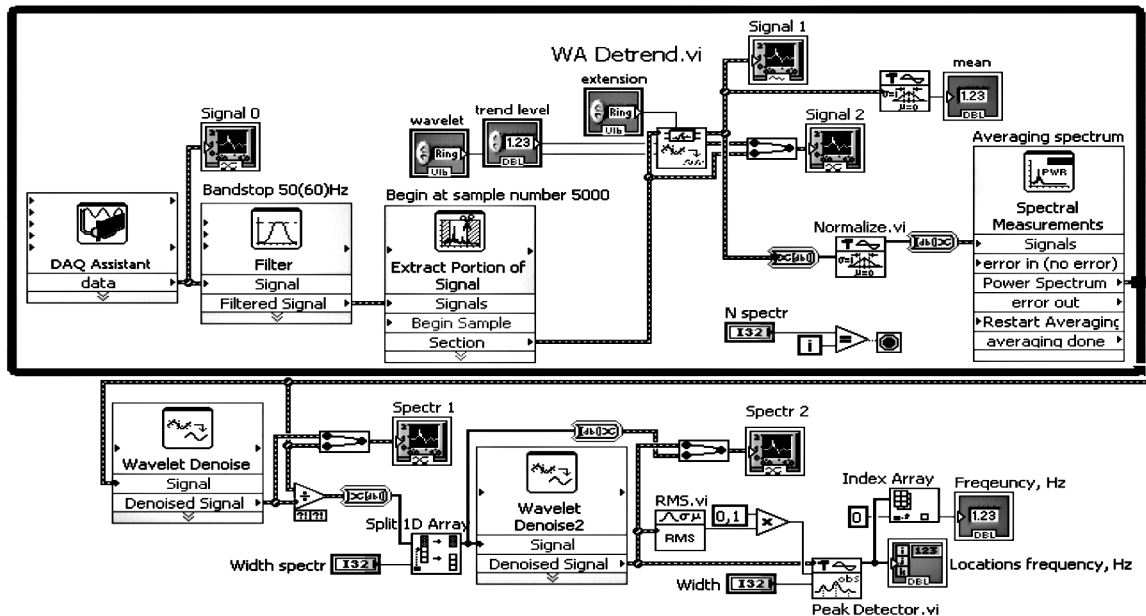


Рис. 2. Блок-диаграмма программы прибора для неинвазивного измерения частоты следования импульсов

Электроды выполнены в виде трех медных проводников (покрытых оловом) диаметром 1 мм, длиной 30 мм и размещены на изолирующей стеклотекстолитовой пластине. Расстояние между электродами равно 10 мм. Референтный электрод расположен между измерительными электродами. Перед размещением электродов поверхность кожи и электроды очищаются спиртом, поверхность электродов покрывается тонким слоем электропроводящего геля. Электроды фиксируются эластичной повязкой.

Усилитель электромиографического сигнала выполнен на базе интегрального инструментального усилителя AD620 (рис. 1).

Измерительные электроды соединены с усилителем экранированными проводниками. Выход усилителя соединен с аналоговым входом (AI0) аналого-цифрового преобразователя NI USB-6008. Напряжение питания усилитель получает от NI USB-6008. Аналого-цифровой преобразователь передает данные в компьютер через USB-порт со скоростью 10^4 выборки сигнала в секунду. Динамический диапазон преобразователя составляет 12 двоичных разрядов.

Блок-диаграмма программы прибора показана на рис. 2. Сигнал, поступающий от USB-6008 (DAQ Assistant), проходит через режекторный фильтр (Bandstop 50/60Hz) для ослабления помехи электрической сети.

Переходные процессы исключаются из анализа временным окном «Extract Portion of Signal». Низкочастотный тренд сигнала устраняется с помощью подприбора «WA Detrend.vi». Параметры подприбора: вейвлет «db06», уровень тренда – 1, расширение «symmetric». Качество компенсации тренда контролируется по величине среднего значения сигнала на индикаторе «mean». После нормализации сигнала (Normalize.vi) выполняется вычисление спектральной плотности мощности, усредненной по реализациям спектра (Spectral Measurement). Количество реализаций устанавливается элементом управления «N spectr».

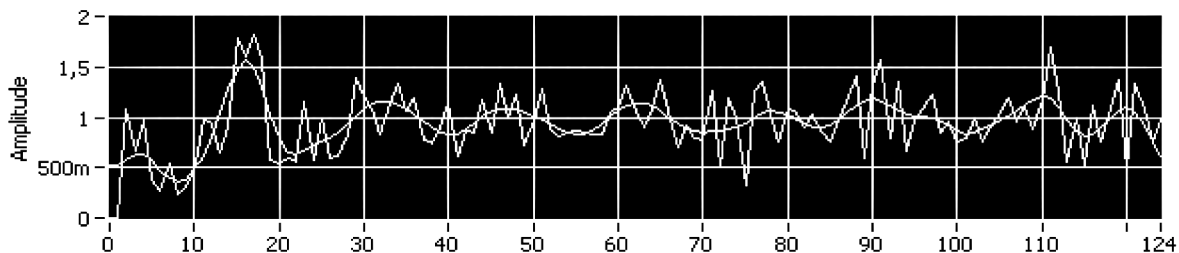


Рис. 4. Оценка спектральной функции $|A_1(\omega)|^2$ (ломаная линия) и результат ее сглаживания $|A_1^*(\omega)|^2$ (гладкая линия). Частота указана в герцах

Результаты

С помощью виртуального экспресс-прибора «Wavelet Denoise» осуществлялось вейвлет-сглаживание среднего спектра мощности (использовался FBI-вейвлет из меню прибора), в результате чего получалась оценка функции $|A_0(\omega)|^2$ (рис. 3).

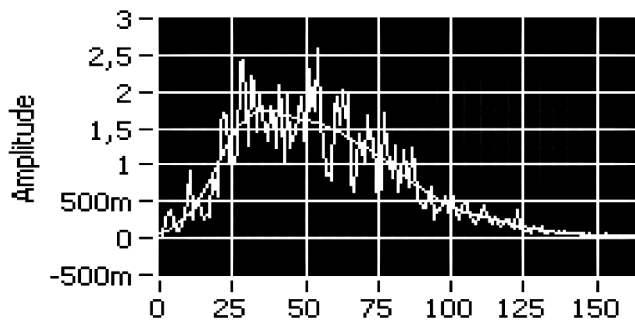


Рис. 3. Средний спектр мощности поверхностной электромиограммы (ломаная линия) и оценка спектральной функции отдельного импульса мышечной двигательной единицы $|A_0(\omega)|^2$ (гладкая линия). Частота указана в герцах

После выполнения преобразования (5) оценка функции $|A_1(\omega)|^2$ подвергалась сглаживанию с помощью виртуального экспресс-прибора «Wavelet Denoise 2» (использовался FBI-вейвлет). Результат сглаживания $|A_1^*(\omega)|^2$ показан на рис. 4 (гладкая линия).

Поиск максимумов осуществлялся виртуальным прибором «Peak Detector.vi». На выходе прибора «Peak Detector.vi» формировался одномерный массив «Locations frequency», индексами которого являлись значения частот всех детектированных локальных максимумов. Значение частоты первого локаль-

ного максимума отображалось на индикаторе «Frequency»; оно извлекалось из массива с помощью прибора «Index Array», на входе которого было установлено начальное (нулевое) значение индекса массива.

Заключение

Испытания прибора показали возможность неинвазивной оценки средней частоты следования потенциалов действия отдельных двигательных единиц мышц [10]. Продолжительность процедуры измерения – около 1 с. Это позволяет неинвазивно контролировать изменение частоты следования импульсов в динамике, например в процессе выполнения физических упражнений и нагрузочных тестов.

Список литературы:

1. Webster J.G. (ed.) Medical Instrumentation: Application and Design. 3rd ed. – New York, NY: Wiley, 1998.
2. Forbes H.N. Jr., Edgar L. Gasteiger action potentials of single motor units in normal muscle // *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1955. Vol. 7. Iss. 1. PP. 115-126.
3. DeLisa J.A., Mackenzie K., Baran E.M. Manual of Nerve Conduction Velocity and Somatosensory Evoked Potentials. – New York: Raven Press, 1987.
4. Agarwal G.C., Gottlieb G.L. An analysis of the electromyogram by Fourier simulation and experimental techniques // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1975. Vol. 22. № 3. PP. 225-229.
5. Rangayyan R.M. Biomedical Signal Analysis: A Case-Study Approach. – New York, NY: Wiley-IEEE Press, 2002.
6. Шайдук А.М., Останин С.А. Структура спектра электромиосигнала при хаотическом следовании отдельных импульсов // *Известия Алтайского государственного университета*. 2011. Ч. 2 (69). С. 181-185.

7. Шайдук А.М., Останин С.А. Метод измерения частоты импульсов двигательных единиц по поверхностной электромиограмме // Интернет-ресурс (электронный журнал). Журнал радиоэлектроники. 2011. № 7 / <http://jre.cplire.ru/jre/jul11/1/text.html>.
8. Шайдук А.М., Останин С.А. Влияние фазового сдвига импульсов двигательных единиц на структуру спектра электромиосигнала // Интернет-ресурс (электронный журнал). Журнал радиоэлектроники. 2011. № 6. / <http://jre.cplire.ru/jre/jun11/2/text.html>.
9. Шайдук А.М., Останин С.А. Анализ спектра квазипериодических импульсов электромиограммы // Интернет-ресурс (электронный журнал). Журнал радиоэлектроники. 2011. № 8. / <http://jre.cplire.ru/jre/aug11/5/text.html>.
10. Шайдук А.М., Останин С.А., Юсупов Е.Р. Экспериментальное обнаружение средней частоты следования миоимпульсов по поверхностной электромиограмме // Интернет-ресурс (электронный журнал). Журнал радиоэлектроники. 2011. № 9 / <http://jre.cplire.ru/jre/sep11/6/text.html>.

Сергей Александрович Останин,
канд. физ.-мат. наук, доцент,
кафедра прикладной информатики в экономике,
государственном и муниципальном управлении,
Алтайский государственный университет,
Александр Михайлович Шайдук,
д-р физ.-мат. наук, профессор,
зав. кафедрой физики и информатики,
Алтайский государственный медицинский университет,
г. Барнаул,
e-mail: ostanin1963@mail.ru

Н.П. Бакулева, Н.М. Анучина, М.В. Зеливянская, В.Т. Костава, Ж.Е. Кондратенко,
И.Г. Лютова, Д.А. Попов, И.А. Терещенкова

Доклинические испытания диоксида в качестве стерилизующего агента для биопротезов клапанов сердца

Аннотация

Способ стерилизации и консервации биопротезов из аллогенной и ксеногенной ткани в 1%-ном растворе диоксида не изменяет структуру и прочностные характеристики биологической ткани, а также не провоцирует возникновение цитотоксичности биологического материала. Консервация в диоксиде биопротезов из ксеногенной ткани обеспечивает их стерильность в течение гарантийного срока хранения. Экспозиция биопротезов в 1%-ном растворе диоксида для достижения уровня обеспечения стерильности составляет 24 ч. Результаты проведенных доклинических испытаний показали, что 1%-ный раствор диоксида может быть рекомендован в качестве нового универсального стерилизующего и консервирующего средства для биологических протезов клапанов сердца.

Проблема стерилизации биопротезов возникла в 60-е годы прошлого столетия при первом их применении в клинической практике для замещения клапанов сердца. В результате полувекторного поиска универсальных средств и методов для стерилизации биологических протезов клапанов сердца были предложены различные лучевые и химические методы, большинство из которых оказались несостоятельными по разным причинам: деструктивные изменения биологической ткани, дисфункция клапанов, кальцификация биопротезов, сохранение иммуногенности ксеноткани [1].

Современные методы стерилизации и консервации биопротезов из ксеногенной ткани обеспечивают их стерильность, однако большинство стерилизующих средств требуют длительной предимплантационной подготовки ксенопротезов. Обработка биопротезов из аллогенной ткани классическим методом в смеси антибиотиков не может полностью обеспечить стерильность аллогraftов, поскольку антибиотики неэффективны в отношении вирусов, спорообразующих и резистентных форм микроорганизмов.

На сегодняшний день в качестве универсального средства для стерилизации и консервации биологических протезов клапанов сердца может рассматриваться антимикробный препарат диоксидин, совместимый со всеми видами биологической ткани, нетоксичный и соответственно не требующий длительной предимплантационной подготовки биопротезов [2]. Для решения поставленных задач, а именно изучения антимикробной активности и консервирующих свойств 1%-ного раствора диоксида, его влияния на свойства биоткани при стерилизации и хранении, были проведены доклинические испытания [3].

В рассматриваемой работе мы использовали биологические протезы клапанов сердца из аллогенной и ксеногенной ткани. Аллогенные биопротезы девитализировали в соответствии с технологическим регламентом ЛПБ-ТРП-БиоЛАБ-КриоК-11, принятым в НЦССХ им. А.Н. Бакулева, и помещали для стерилизации в 1%-ный раствор диоксида на 24 ч при температуре 22 °С. После экспозиции в стерилизующем средстве аллопротезы промывали в 0,9%-ном растворе хлорида натрия, помещали в криосохраняющую смесь и хранили в криогенных условиях.