

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

На правах рукописи



Сурков Юрий Игоревич

**Развитие методов лазерной спекл-визуализации и оптической когерентной  
томографии для исследования кровотока и тканевой диффузии**

1.5.2 – Биофизика

ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:  
д. ф.-м.н., профессор Генина Элина Алексеевна

Саратов 2026

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>6</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>7</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ .....</b>	<b>18</b>
1.1.    Лазерная спекл-визуализация: физические основы.....	18
1.1.1.    Размер спеклов и аппаратные факторы.....	19
1.1.2.    Корреляционная интерпретация .....	19
1.2.    Спекл-контраст в ЛСКВ: определения и режимы вычисления .....	20
1.2.1.    Временной спекл-контраст.....	20
1.2.2.    Пространственный спекл-контраст .....	20
1.2.3.    Пространственно-временной спекл-контраст .....	21
1.2.4.    Теоретическая связь спекл-контраста с временем декорреляции .....	21
1.2.5.    Учет статической компоненты и доли динамического рассеяния .....	21
1.2.6.    Индексы кровотока и ограничения одноэкспозиционного режима .....	22
1.3.    Спекл-энтропийная визуализация и ее преимущества.....	23
1.4.    Смещения факторов в ЛСКВ: глубина, рассеяние и скорость .....	24
1.4.1.    Физическая природа глубинной зависимости.....	24
1.4.2.    Влияние коэффициента рассеяния/ослабления.....	25
1.5.    Современные подходы к визуализации кровотока через рассеивающие слои тканей	25
1.5.1.    Методы на основе хирургических окон.....	25
1.5.2.    Геометрия регистрации и поляризационная фильтрация .....	25
1.5.3.    Оптическое просветление: физическое снижение рассеяния .....	26
1.6.    Алгоритмические подходы к анализу исходного спекл-сигнала .....	27
1.7.    Оптическая когерентная томография: инструмент оценки коэффициента рассеяния	27
1.8.    Выводы.....	30
<b>ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ АНАЛИЗА ИСХОДНОГО СПЕКЛ-СИГНАЛА: АГК- ФИЛЬТРАЦИЯ И АГК-ЛСКВ .....</b>	<b>31</b>

2.1.	Исходные спекл-изображения как объект анализа .....	31
2.2.	Представление спекл-сигнала в матричной форме.....	31
2.3.	АГК-фильтрация: выделение статической и динамической компонент .....	32
2.4.	Разделение на статическое и динамическое подпространства .....	33
2.5.	Реконструкция статической и динамической компонент .....	34
2.6.	Построение метрик: АГК-ЛСКВ .....	34
2.7.	Ограничения АГК-фильтрации и практические замечания.....	35
2.8.	Выводы.....	35
<b>ГЛАВА 3. АГК-ПОДХОД ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ГЛУБИННОЙ НЕЗАВИСИМОСТИ</b>		
<b>ОЦЕНКИ СКОРОСТИ КРОВОТОКА С ПОМОЩЬЮ ЛСКВ.....</b>		<b>37</b>
3.1.	Постановка задачи и научная мотивация.....	37
3.2.	Материалы и методы.....	38
3.2.1.	Оптический рассеивающий фантом с модельным сосудом с варьируемой глубиной залегания .....	38
3.2.2.	Оптическая схема и геометрии регистрации.....	39
3.2.3.	Фильтрация на основе анализа главных компонент.....	40
3.2.4.	Параметры для расчета спекл-контраста и спекл-энтропии.....	40
3.2.5.	Анализ чувствительности АГК-ЛСКВ метрик.....	41
3.2.6.	Исследование <i>in vivo</i> .....	42
3.3.	Результаты.....	42
3.3.1.	Сравнение методов ЛСВ с/без АГК-фильтрации.....	42
3.3.2.	Сравнение методов ЛСВ в ТД- и РД-режимах регистрации .....	46
3.3.3.	Влияние глубины залегания сосуда на результаты ЛСВ .....	50
3.3.4.	Влияние скорости потока на результаты ЛСВ .....	51
3.3.5.	Демонстрация работы ЛСВ в сочетании с АГК-фильтрацией <i>in vivo</i> .....	52
3.4.	Выводы.....	55
<b>ГЛАВА 4. ЛАЗЕРНАЯ СПЕКЛ-КОНТРАСТНАЯ ТОМОГРАФИЯ: ПЕРЕХОД К</b>		
<b>ГЛУБИННО-РАЗРЕШАЮЩЕЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОСУДОВ.....</b>		<b>57</b>
4.1.	Постановка задачи.....	57

4.2.	Методологическая основа АГК-ЛСКТ.....	58
4.3.	Материалы и методы: .....	59
4.3.1.	Оптическая установка ЛСКВ .....	59
4.3.2.	Оптический фантом .....	60
4.3.3.	Алгоритм обработки данных .....	62
4.3.4.	Ультразвуковая томография.....	65
4.3.5.	Нормализация и статистический анализ.....	66
4.3.6.	Демонстрация <i>in vivo</i> .....	66
4.4.	Результаты.....	66
4.5.	Выводы.....	77
<b>ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДА МОНИТОРИНГА ИЗМЕНЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА РАССЕЯНИЯ С ГЛУБИННЫМ И ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ НА ОСНОВЕ ОКТ.....</b>		<b>78</b>
5.1.	Материалы и методы.....	78
5.2.	Результаты.....	82
5.3.	Выводы.....	90
<b>ГЛАВА 6. ОПТИЧЕСКОЕ ПРОСВЕТЛЕНИЕ В СОЧЕТАНИИ С АГК-ФИЛЬТРАЦИЕЙ.....</b>		<b>92</b>
6.1.	Материалы и методы.....	93
6.2.	Результаты.....	95
6.3.	Выводы.....	102
<b>ГЛАВА 7. МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКОГО СПЕКЛ-СИГНАЛА ДЛЯ ЛСКВ .....</b>		<b>104</b>
7.1.	Материалы и методы.....	104
7.1.1.	Моделирование динамического спекл-сигнала.....	104
7.1.2.	Метрики АГК-ЛСКВ.....	108
7.2.	Оценка чувствительности метрик АГК-ЛСКВ к $V$ , $z$ и $\mu_t$ .....	108
7.2.1.	Оценка чувствительности по доле объясненной вариации.....	109
7.2.2.	Оценка чувствительности через размер отклика .....	109

7.2.3. Оценка линейности метрик АГК-ЛСКВ .....	110
7.3. Результаты.....	110
7.3.1. Оценка метрик АГК-ЛСКВ .....	116
7.4. Выводы .....	120
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>121</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>124</b>

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- АГК — анализ главных компонент;
- АДФ — анизотропная диффузионная фильтрация;
- АФРТ — аксиальная функция рассеяния точки;
- ДВМ — динамическая волновая модель;
- ЛСВ — лазерная спекл-визуализация;
- ЛСЭВ — лазерная спекл-энтропийная визуализация;
- ЛСКВ — лазерная спекл-контрастная визуализация;
- ЛСКТ — лазерная спекл-контрастная томография;
- ОКТ — оптическая когерентная томография;
- ОП — оптическое просветление;
- ОПА — оптический просветляющий агент;
- РД — рефлективное детектирование, регистрация отраженного излучения;
- ТД — трансмиссионное детектирование, регистрация прошедшего излучения;
- УЗ — ультразвук;
- УЗВ — ультразвуковое воздействие;
- УЗИ — ультразвуковое исследование;
- УЗТ — ультразвуковая томография;
- BD — бетаметазона дипропионат;
- CNR — contrast-to-noise ratio, отношение контраст/шум;
- DAC — Dynamic Activity Coefficient, коэффициент динамической активности;
- EtOH — этанол;
- FSC — Full Speckle Contrast, полный спекл-контраст;
- rBFI — relative Blood Flow Index, относительный индекс кровотока;
- SC — speckle contrast, спекл-контраст;
- SCt — временной спекл-контраст;
- SCs — пространственный спекл-контраст;
- SCst — пространственно-временной спекл-контраст;
- SFI — speckle flow index, индекс спекл-потока
- SSC — Static Speckle Contrast, статичный спекл-контраст

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Кровоток в микрососудистом русле и перераспределение/диффузия воды и растворенных веществ в биологических тканях являются фундаментальными процессами [1, 2], определяющими метаболизм [3], терморегуляцию [4], репарацию [5], воспалительную реакцию и функциональное состояние органов и биотканей [6, 7]. В прикладном аспекте мониторинг перфузии и динамики тканевых свойств востребован в задачах нейрофизиологии и нейроваскулярной связи [8], дерматологии [9], косметологии [10] и диагностики [1], исследования заживления ран [11], оценки эффективности фармакологических воздействий, а также в экспериментальной биомедицинской визуализации, где требуется неинвазивная, быстрая и пространственно-разрешающая оценка физиологических изменений [1, 2, 12].

В биомедицинских приложениях оптические методы визуализации занимают особое место благодаря высокой чувствительности к изменениям в поверхностных и срединных слоях биотканей, компактности аппаратуры и возможности проведения длительного мониторинга. Среди них лазерная спекл-контрастная визуализация кровотока (Laser Speckle Contrast Imaging, LSCI, далее – ЛСКВ) получила широкое распространение как метод, сочетающий простоту и низкую стоимость оптической схемы, большое поле зрения и высокое пространственно-временное разрешение, позволяющее регистрировать динамику кровотока практически в реальном времени [9, 13–15]. В то же время, классическая ЛСКВ, опирающаяся на вычисление спекл-контраста при регистрации с одним временем экспозиции камеры (одноэкспозиционный режим), сталкивается с рядом фундаментальных ограничений при работе в реальных тканях:

- измеряемая метрика (спекл-контраст) зависит не только от скорости движения рассеивающих частиц (кровотока), но и от глубины залегания сосудов, коэффициента рассеяния/ослабления тканей, доли статически рассеивающего фона, а также от геометрии регистрации и аппаратных факторов (числовая апертура, дефокус, шум детектора, паразитные отражения) [9, 14–16];
- в задачах визуализации подповерхностных сосудов наблюдается эффект «смешения факторов»: при увеличении глубины сосудов сигнал кровотока маскируется статическим рассеянием, а значения классического спекл-контраста меняются даже при неизменной скорости потока, что затрудняет корректную интерпретацию карт перфузии [15–19];
- при изменении оптических свойств ткани во времени (например, при дегидратации/регидратации в том числе в результате физиологических реакций или при оптическом просветлении) возникает дополнительная неопределенность: вариации

рассеяния и поглощения изменяют вклад различных глубин в регистрируемый спекл-сигнал и, следовательно, искажают оценку кровотока, если эти изменения не учтены [18–21].

Одновременно с развитием ЛСКВ активно развивается оптическая когерентная томография (ОКТ), обеспечивающая микрометровое разрешение по глубине и позволяющая получать структурные изображения и глубинные профили оптических параметров (в первую очередь – коэффициента ослабления/рассеяния) [22–24]. Для задач, связанных с тканевой диффузией и оптическим просветлением, ОКТ используется как инструмент контроля динамики оптических свойств во времени и по глубине: изменения рассеяния, вызванные перераспределением воды в визуализируемом объеме или диффузией оптических просветляющих агентов (ОПА), непосредственно отражаются в ОКТ-сигнале и могут быть реконструированы количественно при корректном учете инструментальных факторов [23–27].

Таким образом, актуальной является задача развития методов ЛСКВ и кросс-модальная интеграция ЛСКВ с ОКТ для повышения достоверности интерпретации карт кровотока в условиях многослойной и неоднородной рассеивающей среды [28], а также для количественного исследования динамики тканевых оптических свойств и процессов диффузии.

### **Степень разработанности проблемы**

Классическая ЛСКВ опирается на вычисление контраста спекл-паттерна и связывает его с временем декорреляции спеклов, обусловленным движением рассеивателей [17, 29]. Для повышения точности предложены мультиэкспозиционные подходы [30–32], модели учета статической компоненты и доли динамического рассеяния [33, 34], а также альтернативные метрики (например, энтропийные) [35, 36]. Для увеличения глубины визуализации применяются инвазивные методики (хирургические окна), изменения геометрии регистрации (в т.ч. просвечивание), подавление паразитного рассеяния с помощью поляризации и другие аппаратные подходы [19, 37–39]. В параллельном направлении развиваются томографические схемы и корреляционные методы, требующие множественных пар «источник–детектор» и усложняющие эксперимент [40, 41]. Несмотря на заметный прогресс, сохраняется методологический пробел между: (1) простой, дешевой и высокоскоростной ЛСКВ с ограниченной интерпретируемостью при мониторинге подповерхностных сосудов и (2) аппаратно-сложными томографическими методами [17, 40, 41].

Одним из перспективных путей является переход от использования одной агрегированной метрики – спекл-контраста, к анализу исходного спекл-сигнала как объекта обработки, где массив исходных спекл-изображений рассматриваются как многомерные данные, позволяющие выделять квазистатические и динамические компоненты сигнала [42–44] и строить новые

карты/метрики, менее подверженные смещению факторов – скорости, глубины и оптических свойств. Такой подход способен повысить глубинную устойчивость оценки кровотока и приблизить ЛСКВ к квазитомографическому режиму без усложнения оптики.

В последние годы в ОКТ активно развивается направление количественной ОКТ [45], ориентированное не только на получение структурных изображений, но и на восстановление параметров, связанных с оптическими свойствами ткани. Одним из наиболее востребованных параметров является коэффициент оптического ослабления, который рассматривается как информативный биомаркер для дифференциации тканей и мониторинга их состояния [45].

Методы оценки коэффициента ослабления по данным ОКТ эволюционировали от простых подходов [46], основанных на аппроксимации наклона логарифма А-скана, к алгоритмам глубинно-разрешённой реконструкции [47], с высоким пространственным разрешением и устойчивостью на слоистых объектах. Отдельной важной ветвью являются исследования, показывающие, что точность количественных оценок по ОКТ принципиально ограничивается конфокальными и системными эффектами (положение фокальной плоскости и конфокальная функция, форма аксиальной функции рассеяния точки, спектральный roll-off, чувствительность по глубине) [48]. В связи с этим предложены подходы, в которых конфокальная составляющая явно учитывается в модели сигнала и/или параметры конфокальной функции оцениваются автоматически, что позволяет уменьшать систематические ошибки реконструкции и повышать воспроизводимость при сравнении измерений [24, 45, 48].

Параллельно развивается применение количественной ОКТ для задач мониторинга динамических процессов в биотканях, включая перераспределение воды в объеме и диффузии оптических просветляющих агентов [49–52]. Показано, что временная динамика коэффициента ослабления, измеряемого по ОКТ, может служить индикатором кинетики оптического просветления и диффузии, а также использоваться для сравнения эффективности транс/интрадермальной доставки различных фармакологических составов.

Таким образом, на современном этапе сформирована научно-методическая база для глубинно-разрешенной реконструкции коэффициента ослабления по ОКТ, включая модели с компенсацией конфокальных и других инструментальных факторов. Одновременно сохраняется актуальность переноса этих подходов для количественного мониторинга диффузии в биологических тканях с высокой глубинной детализацией и сопоставимостью во времени, что позволяет наблюдать неоднородность процессов по слоям и корректнее интерпретировать изменения оптических и функциональных характеристик ткани.

### **Цели и задачи диссертации**

Целью работы является развитие методов лазерной спекл-визуализации и оптической когерентной томографии для исследования кровотока и тканевой диффузии, включая разработку алгоритмов анализа исходного спекл-сигнала, повышение глубинной устойчивости оценки скорости кровотока и создание методик мониторинга изменений коэффициента рассеяния ткани с глубинным и временным разрешением.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

1. Сформулировать и реализовать методологию обработки массива исходных спекл-изображений как объекта анализа с разделением квазистатического и динамического вкладов и определением набора количественных метрик по выделенным компонентам.
2. Экспериментально оценить глубинную устойчивость и информативность предложенных метрик при контролируемом потоке жидкости в моделях биотканей; количественно оценить влияние геометрии регистрации и различных режимов вычисления.
3. Разработать подход к квазитомографической визуализации сосудов, позволяющий реконструировать относительную глубину залегания сосудистых структур и оценивать относительную скорость/перфузию без аппаратной модификации классической ЛСКВ.
4. Разработать методику реконструкции глубинно- и временно-разрешенных профилей коэффициента рассеяния/ослабления ткани по данным ОКТ для оценки биофизических параметров: эффективной глубины дегидратации, характеристического времени регидратации.
5. Исследовать комбинированный подход «оптическое просветление + цифровая обработка» для повышения качества визуализации сосудов в рассеивающих тканях и оценить его влияние на контрастность и устойчивость метрик кровотока.
6. Разработать метод численного моделирования динамического спекл-сигнала для тестирования алгоритмов ЛСКВ и анализа чувствительности метрик к скорости, глубине и оптическому ослаблению.

### **Объект и предмет исследования**

Объект исследования – динамическое рассеяние когерентного излучения в биологических тканях и рассеивающих фантомах, а также формирование и регистрация спекл-паттернов при наличии квазистатических и динамических рассеивающих компонент.

Предмет исследования – методы и алгоритмы обработки исходных спекл-изображений для количественной оценки параметров кровотока, методы квазитомографической интерпретации результатов ЛСКВ, а также методы ОКТ-мониторинга динамики коэффициента рассеяния/ослабления ткани как функции глубины и времени.

## Методы исследования

В работе использовались методы лазерной спекл-контрастной и спекл-энтропийной визуализации, статистическая обработка изображений, методы линейной алгебры и методы понижения размерности данных, методы фильтрации и подавления шума, экспериментальные исследования на рассеивающих фантомах и биологических объектах *in vivo* и *ex vivo*, а также методы обработки сигналов ОКТ для реконструкции оптических характеристик тканей. Для валидации глубинных оценок использовалась кросс-модальная сопоставимость. Статистический анализ включал расчет коэффициента корреляции Пирсона, средних абсолютных процентных ошибок, анализ Бланда–Альтмана, а также оценку доли объясненной вариации и нормированного размаха отклика в численном моделировании.

## Научная новизна

Научная новизна работы заключается в следующем:

1. Разработан подход к обработке исходного массива спекл-изображений как первичного объекта анализа, позволяющий разделять зарегистрированный сигнал на квазистатическую и динамическую компоненты без изменения оптической схемы ЛСКВ.
2. Предложена и исследована фильтрация спекл-массива на основе анализа главных компонент (АГК-фильтрация) с реконструкцией отдельных спекл-массивов и расчетом взаимодополняющих карт: полного спекл-контраста (*FSC*), статичного спекл-контраста (*SSC*) и коэффициента динамической активности (*DAC*).
3. Показано, что использование коэффициента динамической активности уменьшает глубинную зависимость оценки относительной скорости потока по сравнению с классическим полным спекл-контрастом, выполнено сравнение различных ЛСКВ-метрик и геометрий регистрации.
4. Разработан программно реализуемый квазитомографический подход АГК-ЛСКТ, в котором *SSC* используется как индикатор относительной глубины залегания сосуда, а *DAC* – как показатель относительной перфузии.
5. Разработана методика ОКТ-реконструкции глубинно- и временно-разрешенных профилей коэффициента рассеяния ткани, примененная для анализа локальной дегидратации и регидратации кожи.
6. Показано, что местное нанесение 70% водного раствора этанола приводит к локальной дегидратации на глубине порядка 160 мкм, а ультразвуковое воздействие с частотой 1 МГц и плотностью мощности 0.5 Вт/см<sup>2</sup> в течение 2 мин более чем в 1.5 раза увеличивает глубину дегидратации и приблизительно в 1.5 раза ускоряет регидратацию.

7. Разработан и апробирован комбинированный подход оптического просветления и цифровой АГК-фильтрации, обеспечивающий улучшение качества визуализации сосудов и устойчивости оценки перфузии в рассеивающих тканях.
8. Создан метод численного моделирования динамического спекл-сигнала биоткани, позволяющий генерировать последовательности спекл-изображений при контролируемых параметрах среды и регистрации и использовать их для тестирования алгоритмов ЛСКВ.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическая и практическая значимость работы определяется тем, что предложенные методы:

1. повышают качество визуализации сосудов и устойчивость оценок перфузии в условиях сильного статического рассеяния (кожа, кость и др.);
2. обеспечивают возможность квазитомографической интерпретации данных ЛСКВ без усложнения аппаратуры, отдельные статическая и динамическая компоненты используются как каналы для оценки относительной глубины залегания сосудов и относительной скорости кровотока;
3. позволяют количественно отслеживать изменения оптических свойств ткани по данным ОКТ с глубинным и временным разрешением, что важно при исследовании перераспределения и диффузии воды и оптических просветляющих агентов в биологических тканях, а также при интерпретации результатов ЛСКВ в динамически меняющейся среде;
4. могут быть реализованы как программные модули для обработки экспериментальных данных ЛСКВ/ОКТ.
5. позволяют оценить силу влияния факторов – скорость кровотока, коэффициент рассеяния и глубина залегания сосуда на измеряемый спекл-контраст.

### **Достоверность результатов**

Достоверность результатов обеспечивается физически обоснованными моделями формирования спекл-контраста, спекл- и ОКТ-сигналов, воспроизводимой методикой экспериментов на рассеивающих фантомах с контролируемыми параметрами, сопоставлением нескольких метрик и геометрий регистрации, а также кросс-модальной проверкой независимыми методами оценки глубины и/или оптических свойств.

### **Апробация**

Результаты работы представлены на всероссийских и международных конференциях, поддержаны грантами и опубликованы в рецензируемых научных журналах рекомендованных ВАК, и зарубежных изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science.

Результаты, изложенные в диссертации, получены при выполнении научно-исследовательских работ, поддерживаемых грантами: РФФИ №20-52-56005, РФФИ №23-14-00287, РФФИ №24-44-00082, РФФИ №22-73-10194, РФФИ №22-65-00096.

Основные результаты и положения диссертации были представлены на международных и всероссийских конференциях:

1. International Annual Conference «Saratov Fall Meeting», Saratov, Russia, 2020-2025;
2. Всероссийская научная школа-семинар «Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами», Саратов, Россия, 2023-2025;
3. International Conference Laser Optics, Санкт-Петербург, 2024;
4. Международной конференции по голографии и прикладным оптическим технологиям «Холоэксโป», Уфа, 2025.

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ в изданиях, рекомендованных ВАК, и зарубежных изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science:

1. **Surkov Y.** et al. Laser speckle contrast imaging with principal component and entropy analysis: a novel approach for depth-independent blood flow assessment //Frontiers of Optoelectronics. – 2025. – V. 18. – No. 1. – P. 1. <https://doi.org/10.1007/s12200-024-00143-1>
2. **Surkov Y.** et al. Computer-guided optical clearing for transcranial laser speckle imaging of cortical blood flow through synergistic tartrazine-induced cranial bone transparency //Journal of innovative optical health sciences. – 2025. – P. 2540002. <https://doi.org/10.1142/S1793545825400024>
3. **Surkov Y. I.** et al. PCA-LSCT: Software-Implemented Laser Speckle Contrast Tomography for Depth-Resolved Blood-Flow Mapping //IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. – 2025. – V. 32. – No. 4: Adv. Biophoton. in Emerg. Biomed. Tech. and Dev. – P. 1-9. <https://doi.org/10.1109/JSTQE.2025.3647224>
4. **Surkov Y. I.** et al. Optical Coherence Tomography Mapping of the Scattering Coefficient to Study the Skin Hydration Process under Optical Clearing // Skin Pharmacology and Physiology. – 2026. <https://doi.org/10.1159/000551016>
5. Timoshina P. A., **Surkov, Y. I.** et al. Transmission laser speckle contrast imaging combined with optical clearing using magnetic resonance contrast agents //Lasers in Surgery and Medicine. – 2025. – V. 57. – No. 7. – P. 625-636. <https://doi.org/10.1002/lsm.70051>

6. Moldon, P. A., Ermolinskiy, P. B., Lugovtsov, A. E., Timoshina, P. A., Lazareva, E. N., **Surkov, Y. I.** et al. Influence of optical clearing agents on the scattering properties of human nail bed and blood microrheological properties: in vivo and in vitro study // *Journal of Biophotonics*. – 2025. – V. 18. – No. 12. – P. e202300524. <https://doi.org/10.1002/jbio.202300524>

По теме диссертации опубликовано 15 тезисов докладов на научных и международных конференциях:

T1. **Ю. И. Сурков**, И. А. Серебрякова, А. Фащевский, П. А. Тимошина, Э. А. Генина, В. В. Тучин. Лазерная спекл-контрастная визуализация с анализом главных компонент: новый подход к оценке кровотока, не зависящей от глубины // *ХОЛОЭКСПО 2025 : материалы конференции, Уфа, 08–12 сентября 2025 г.*

T2. I. A. Serebryakova, **Yu. I. Surkov**, E. A. Genina, V. V. Tuchin. OCT monitoring of scattering kinetics in tissue phantoms at optical clearing with depth resolution / I. A. Serebryakova, Yu. I. Surkov, E. A. Genina, V. V. Tuchin // *2024 International Conference Laser Optics (ICLO): Proceedings*. — IEEE, 2024. — P. 523.

T3. Р. В. Шептицкий, В. М. Коваленко, И. А. Серебрякова, **Ю. И. Сурков**, Э. А. Генина. ОКТ-мониторинг показателя преломления кожи и мышечной ткани при оптическом просветлении 70% водным раствором глицерина *ex vivo* // *Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами : сборник статей одиннадцатой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 22 мая 2024 г.* — С. 213–217.

T4. В. М. Коваленко, Р. В. Шептицкий, **Ю. И. Сурков**, И. А. Серебрякова, Э. А. Генина. Применение текстурного анализа изображений оптической когерентной томографии для количественной оценки структурных изменений в мышечной ткани при оптическом просветлении *ex vivo* // *Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами : сборник статей одиннадцатой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 22 мая 2024 г.* — С. 218–222.

T5. И. С. Увакин, **Ю. И. Сурков**, П. А. Тимошина и др. Оценка применимости фильтрации на основе анализа главных компонент для методов лазерной спекл-визуализации // *Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: сборник статей одиннадцатой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 22 мая 2024 г.* — С. 223–229.

T6. И. А. Серебрякова, Д. Д. Санников, **Ю. И. Сурков**, Э. А. Генина. Разработка метода мониторинга коэффициента рассеяния фантомов здоровой и патологической кожи при оптическом просветлении с помощью оптической когерентной томографии // *Взаимодействие*

сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами : сборник статей одиннадцатой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 22 мая 2024 г. — С. 230–236.

T7. P. Timoshina, A. Danilov, **Yu. Surkov** et al. Pilot study of the small intestinal vascular system in the context of peritonitis development using optical imaging // Chinese-Russian Workshop on Biophotonics and Biomedical Optics-2024: Proceedings of Chinese-Russian Workshop, Saratov, September 25–26, 2024. — P. 41–44.

T8. **Ю. И. Сурков**, И. А. Серебрякова, Э. А. Генина, В. В. Тучин. Пилотное исследование низкоинвазивного метода оптического просветления кожи *ex vivo* с помощью безыгольной инъекции оптических просветляющих агентов // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: сборник статей десятой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 25 мая, 2023. — С. 276–282.

T9. **Yu. I. Surkov**, I. A. Serebryakova, E. A. Genina, V. V. Tuchin. Pilot study of a low-invasive *ex vivo* method of optical clearing skin using needle-free injection of optical clearing agents // Chinese-Russian Workshop on Biophotonics and Biomedical Optics-2023: Proceedings of Chinese-Russian Workshop, Saratov, September 25–26, 2023. — P. 43–46.

T10. **Ю. И. Сурков**, И. А. Серебрякова, Э. А. Генина. Метод измерения показателя преломления и индекса гидратации биоткани с помощью комбинации оптической когерентной томографии и высокочастотного ультразвукового исследования // XX Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, посвященный 100-летию со дня рождения Н. Г. Басова : сборник трудов конференции, Самара, 08–12 ноября 2022 г. — С. 191–198.

T11. **Ю. И. Сурков**, И. А. Серебрякова, Э. А. Генина. Разработка метода измерения объемной доли воды с помощью комбинирования оптической когерентной томографии и высокочастотного ультразвукового исследования // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами : сборник статей девятой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 2022. — С. 240–244.

T12. **Yu. I. Surkov**, I. A. Serebryakova, E. A. Genina. OCT monitoring of the volume fraction of water and optical clearing agents in the skin with optical clearing *ex vivo* // Chinese-Russian Workshop on Biophotonics and Biomedical Optics-2022: сборник тезисов докладов, Саратов, 2022. — P. 35–39.

T13. **Ю. И. Сурков**, И. А. Серебрякова, А. Н. Башкатов, Э. А. Генина. ОКТ-мониторинг показателя преломления кожи при оптическом просветлении *ex vivo* // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро-

и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: сборник статей восьмой Всероссийской научной школы-семинара, Саратов, 2021. — С. 178–183.

T14. Ю. И. Сурков, И. А. Серебрякова, А. Н. Башкатов, Э. А. Генина. ОКТ-мониторинг объемной доли воды и ПЭГ-300 в коже при ее оптическом просветлении *ex vivo* // XIX Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике : сборник трудов конференции, Самара, 2021. — С. 250–257.

T15. Ю. И. Сурков, И. А. Серебрякова, А. Н. Башкатов, Э. А. Генина. Влияние ультразвука на теплофизические и оптические свойства кожи // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: сборник статей седьмой Всероссийской научной школы-семинара, 2020. — С. 115–120.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Разделение исходного спекл-массива на статическую и динамическую компоненты методом анализа главных компонент уменьшает смещение вкладов скорости потока и глубины залегания сосуда в лазерной спекл-контрастной визуализации и позволяет выделить динамическую метрику, более чувствительную к относительной скорости потока, чем классический полный спекл-контраст.
2. Совместное использование статической и динамической компонент, получаемых из одного исходного спекл-массива, позволяет реализовать квазитомографический режим ЛСКВ, обеспечивающий оценку как относительной скорости кровотока, так и относительной глубины залегания сосудов, сопоставимую с результатами ультразвуковой томографии ( $r^2 \approx 0.9$ ).
3. Комбинированный метод оптического просветления черепа мыши *in vivo* и цифровой обработки, включающий нанесение на поверхность раствора тартразина и фильтрацию спекл-сигнала на основе анализа главных компонент, позволяет двукратно увеличить отношение контраст/шум и визуализировать сосуды, невидимые при стандартной транскраниальной ЛСКВ.
4. ОКТ-методика реконструкции глубинно- и временно-разрешенных профилей коэффициента рассеяния кожи позволяет провести мониторинг локальной дегидратации кожи при местном воздействии физико-химических факторов и оценить эффективную глубину дегидратации и характеристическое время регидратации.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора заключается в постановке и решении задач диссертационной работы, разработке методов обработки исходных спекл-изображений и алгоритмов расчета спекл-метрик, создании программной реализации, проведении экспериментальных исследований на фантомах и биологических объектах, обработке и анализе данных, интерпретации результатов, а также подготовке публикаций по теме диссертации. Постановка задач и обсуждение результатов выполнялись совместно с научным руководителем.

### **Соответствие паспорту специальности**

Тематика и результаты диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 1.5.2 «Биофизика».

Работа относится к следующим направлениям исследований паспорта 1.5.2:

- Теоретическая и математическая биофизика, вычислительная биофизика: разработка и анализ методов обработки исходных спекл-данных, построение метрик и алгоритмов декомпозиции сигнала, оценка влияния параметров регистрации на информативность показателей.
- Биофизика органов и тканей, гемодинамические процессы: исследование кровотока и микроциркуляции методом лазерной спекл-контрастной визуализации, интерпретация динамических компонент сигнала как показателей перфузии.
- Биофотоника, взаимодействие фотона с биологическими молекулами, рассеяние света: учёт многократного рассеяния и оптического ослабления в ткани при анализе спекл-изображений и при восстановлении оптических параметров по данным ОКТ.
- Биофизические методы исследования: развитие и совместное применение оптических методов (ЛСКВ и ОКТ) для количественной оценки кровотока и мониторинга тканевой диффузии/изменений оптических свойств, включая экспериментальную валидацию на фантомах и биологических объектах.

### **Структура диссертации**

Диссертация состоит из списка сокращений, введения, семи глав, заключения и списка литературы. Материал изложен на 138 страницах печатного текста, содержит 3 таблицы, 44 рисунка. Список литературы содержит 162 источника.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

### 1.1. Лазерная спекл-визуализация: физические основы

Лазерная спекл-визуализация (ЛСВ) представляет собой совокупность оптических методов, основанных на анализе спекл-паттернов, позволяющих визуализировать поток рассеивающей жидкости в сосудах на различных глубинах [53–57], сверхмалые перемещения [58], а также выявлять степень гидратации кожи [59]. Системы ЛСВ, как правило, отличаются простой конструкцией и сравнительно доступной элементной базой, что делает их пригодными для самостоятельной сборки либо доступными в виде готовых коммерческих устройств для лабораторных и клинических исследований [56, 60, 61]. Возможность широкопольной визуализации и простота построения измерительной схемы обусловили широкое применение ЛСВ в доклинической и клинической практике для оценки сосудистой сети и тканевой перфузии, в частности в коже, сетчатке, головном мозге и различных опухолях [14, 53, 54, 62–67].

Среди методов ЛСВ наиболее распространенной является ЛСКВ. Данный подход основан на оценке спекл-контраста как количественной меры вариабельности спекл-паттерна [19, 39, 56]. Одним из ключевых медицинских применений ЛСКВ является хирургия, где визуализация микроциркуляции играет критическую роль при оценке жизнеспособности тканей. Так, при трансплантации органов или тканевых лоскутов визуализация кровотока в реальном времени позволяет хирургу своевременно выявлять возможные нарушения перфузии и предпринимать корректирующие действия, например изменять положение лоскута или пересматривать хирургическую тактику [68]. В нейрохирургии ЛСВ является особенно ценным диагностическим инструментом, поскольку обеспечивает интраоперационную визуализацию микроциркуляции в головном мозге [53]. Перфузия мозга – один из ключевых параметров, определяющих его функциональное состояние, нарушения микроциркуляции могут приводить к необратимым последствиям, таким как инсульт или некроз ткани. Традиционные методы мониторинга кровотока мозга, например флуоресцентная ангиография, требуют введения контрастных веществ и имеют ряд ограничений: непереносимость препарата, его быстрое выведение из кровотока, невозможность точной оценки динамики кровотока и др. [67].

Лазерная спекл-визуализация основана на регистрации интерференционной картины (спекл-паттерна), возникающей при рассеянии когерентного света на множестве микроскопических неоднородностей среды. Если освещаемый объект является рассеивающим, то в плоскости детектора формируется сложение большого числа волн, прошедших различные оптические пути и имеющих различные фазы. При выполнении условий «полностью развитых спеклов» [69] интенсивность в каждой точке детектора является случайной величиной со

статистикой, зависящей от когерентности, поляризации и параметров оптической системы [33, 38, 70].

Ключевое обстоятельство для задач мониторинга кровотока состоит в том, что движение рассеивателей (например, эритроцитов) приводит к изменению фазовых набегов и, следовательно, к временной декорреляции спекл-паттерна. Характерное время декорреляции  $\tau_c$  определяется движением рассеивателей и условиями регистрации и, в первом приближении, уменьшается при увеличении скорости движения [33, 56, 58, 61]. Камера с конечным временем экспозиции  $T_{\text{exp}}$  усредняет интенсивность по времени: если в течение экспозиции спекл-паттер существенно изменяется, то изображение «размывается», а контраст спеклов уменьшается. На этом эффекте основана ЛСКВ: измеряя степень размытия спеклов, можно получать карту, связанную с локальной динамикой рассеивателей [33, 53, 57, 62, 66].

### 1.1.1. Размер спеклов и аппаратные факторы

Величина измеряемого спекл-контраста зависит не только от свойств объекта, но и от характеристик формирования изображения [39, 71]. В частности, важны:

- соотношение размера спекла и размера пикселя: если размер пикселя превышает характерный размер спекла, в одном пикселе усредняется несколько спеклов, что снижает наблюдаемый спекл-контраст [39, 71];
- числовая апертура и параметры объектива, влияющие на пространственную частоту спеклов [17];
- поляризация: деполяризация и выделение поляризационных компонент [39, 70];
- шумы камеры (шум считывания, темный ток, квантовый шум), ограничивающие точность оценки дисперсии [33, 71];
- засветка и насыщение, нарушающие статистику распределения интенсивности [71].

Эти факторы обычно агрегируются в инструментальный коэффициент  $\beta$ , который определяет максимальный наблюдаемый спекл-контраст для полностью статической сцены (при отсутствии динамики) [33, 72]. В эксперименте  $\beta$  часто оценивают по однородной статической области или по калибровочному фантомному измерению [72].

### 1.1.2. Корреляционная интерпретация

Связь между измеряемым спекл-контрастом ( $SC$ ) и динамикой рассеивателей удобно описывать через корреляционные функции [29, 73]. Например, нормированная автокорреляционная функция интенсивности имеет вид [29, 73]:

$$g_2 = \frac{\langle I(t)I(t + \Delta t) \rangle}{\langle I \rangle^2} \quad (1.1)$$

Для стационарного эргодического процесса и при выполнении условий когерентной регистрации используется соотношение Зигерта [29, 33, 73]:

$$g_2 = 1 + \beta |g_1(\tau)|^2 \quad (1.2)$$

где  $g_1(\tau)$  – нормированная автокорреляционная функция комплексного поля. Динамика рассеивающих частиц определяет форму  $g_1(\tau)$  и характерное время ее спада  $\tau_c$  – время декорреляции [17, 73]. В простейшем приближении часто используют экспоненциальную модель [17]:

$$g_1 = e^{\left(\frac{-\tau}{\tau_c}\right)} \quad (1.3)$$

## 1.2. Спекл-контраст в ЛСКВ: определения и режимы вычисления

В классической ЛСКВ основной измеряемой величиной является спекл-контраст -  $SC$ , определяемый как отношение стандартного отклонения интенсивности к ее среднему [13, 16]:

$$SC = \frac{\sigma}{\langle I \rangle} \quad (1.4)$$

Практически  $\sigma$  и  $\langle I \rangle$  вычисляются в некотором пространственно-временном окне. В зависимости от того, как устроено это окно, различают несколько режимов ЛСКВ [13, 16, 74].

### 1.2.1. Временной спекл-контраст

Временной спекл-контраст ( $SC_t$ ) по временному ряду спекл-изображений в каждом пикселе [13, 16, 75]:

$$SC_t(x, y) = \frac{\sigma_t(x, y)}{\langle I \rangle_t(x, y)} \quad (1.5)$$

где  $\sigma_t$  и  $\langle I \rangle_t$  – оцениваются по  $T$ -кадровому окну. Такой режим обеспечивает хорошую устойчивость к пространственной неоднородности спекл-структуры и высокое пространственное разрешение, но чувствителен к глобальным движениям объекта и для построения требует регистрации последовательности спекл-кадров [74–76].

### 1.2.2. Пространственный спекл-контраст

Пространственный спекл-контраст ( $SC_s$ ) вычисляется в окрестности  $S \times S$  (часто  $7 \times 7$  или  $9 \times 9$  пикселей) на одном спекл-изображении [13, 16, 74]:

$$SC_s(x, y) = \frac{\sigma_s(x, y)}{\langle I \rangle_s(x, y)} \quad (1.6)$$

Этот режим не требует временного массива изображений и обеспечивает высокое временное разрешение (одна карта  $SC_s$  на кадр), но чувствителен к шуму и выбору размера окна.  $SC_s$  характеризуется низким пространственным разрешением и относительной высокой дисперсией оценки спекл-контраста (из-за ограниченной выборки пикселей в окне) [16, 74]. На

практике часто применяют усреднение  $SC_s$  по нескольким кадрам ( $SC_{s-avg}$ ), чтобы уменьшить шум [13, 16].

### 1.2.3. Пространственно-временной спекл-контраст

В пространственно-временном режиме спекл-контраст ( $SC_{st}$ ) оцениваются по кубическому окну  $S \times S \times T$  [16, 77]:

$$SC_{st}(x, y) = \frac{\sigma_{st}(x, y)}{\langle I \rangle_{st}(x, y)} \quad (1.7)$$

Такой подход уменьшает дисперсию оценки спекл-контраста, но снижает эффективное пространственно-временное разрешение.

### 1.2.4. Теоретическая связь спекл-контраста с временем декорреляции

Для камеры с экспозицией  $T_{exp}$  измеряемая величина  $SC(T_{exp})$  связана с  $g_1$  интегральным выражением [13, 16, 17, 34]:

$$SC^2(T_{exp}) = \beta \cdot \left( \frac{2}{T_{exp}} \right) \cdot \int_0^{T_{exp}} \left( 1 - \frac{\tau}{T_{exp}} \right) \cdot |g_1(\tau)|^2 d\tau \quad (1.8)$$

При экспоненциальной модели  $g_1$  можно получить аналитическую формулу вида [13, 16, 17]:

$$SC^2(T_{exp}) = \beta \cdot \frac{\exp(-2x) - 1 + 2x}{2x^2} \quad (1.9)$$

где  $x = T_{exp}/\tau_c$ .

Эта зависимость демонстрирует два предельных режима [13, 16, 17, 34]:

При  $x \ll 1$  (быстрая камера и/или медленная динамика)  $SC^2 \approx \beta$ , т.е. спеклы практически не размываются;

При  $x \gg 1$  (медленная камера и/или быстрая динамика)  $SC^2$  уменьшается, переходя к режиму малого контраста.

### 1.2.5. Учет статической компоненты и доли динамического рассеяния

В реальных биотканях регистрируемый спекл-сигнал формируется суммой вкладов от неподвижных и движущихся рассеивающих структур [17, 78, 79]. К неподвижным (квазистатическим) относятся, например, коллагеновые структуры дермы, костная ткань, поверхностные слои, а также паразитные отражения и блики [17, 79]. К динамическим – рассеяние на движущихся частицах крови (прежде всего эритроцитах), вызывающее декорреляцию спекл-паттерна во времени [17, 78]. Если обозначить среднюю интенсивность, связанную со статическим и динамическим рассеянием, как  $I_s$  и  $I_d$ , то можно ввести параметр доли динамически рассеянного света –  $\rho$  [30, 78]:

$$\rho = \frac{I_d}{I_d + I_s} \quad (1.10)$$

Параметр  $\rho$  не является характеристикой скорости потока, он описывает смешение статического и динамического вкладов в зарегистрированном спекл-сигнале и зависит от глубины залегания сосудов, оптических свойств ткани и геометрии регистрации [17, 30, 78, 79].

Пусть  $g_{1,d}(\tau)$  – полевая корреляционная функция динамического вклада. Статический вклад не меняется во времени и имеет корреляцию равную 1. При стандартных предположениях о некоррелированности статической и динамической компонент полевая корреляция суммарного сигнала ( $g_{1,total}$ ) может быть записана как [30, 78]:

$$g_{1,total}(\tau) = \rho \cdot g_{1,d}(\tau) + (1 - \rho) \quad (1.11)$$

Тогда квадрат спекл-контраста при времени экспозиции  $T_{exp}$  имеет вид:

$$SC^2(T_{exp}) = \beta \frac{2}{T_{exp}} \int_0^{T_{exp}} \left(1 - \frac{\tau}{T_{exp}}\right) |g_{1,total}(\tau)|^2 d\tau \quad (1.12)$$

Для простейшей экспоненциальной модели  $g_{1,d}(\tau) = \exp(-\tau/\tau_c)$ , при обозначении  $x = T/\tau_c$  получаем явную зависимость [17, 30, 78]:

$$SC^2 = \beta \left[ \begin{array}{c} \rho^2 \frac{e^{-2x} - 1 + 2x}{2x^2} + \\ + 4\rho(1 - \rho) \frac{e^{-x} - 1 + 2x}{x^2} + (1 - \rho)^2 \end{array} \right] \quad (1.13)$$

Данное выражение показывает, что спекл-контраст зависит одновременно от времени декорреляции (связанного со скоростью потока) и от доли динамического рассеяния света  $\rho$  (связанной с глубиной залегания сосуда и статическим фоном).

Следовательно, при наличии выраженного статического рассеяния (малое  $\rho$ ) контраст может оставаться высоким даже при быстром потоке, что является одной из причин смешения факторов глубины и скорости в традиционной ЛСКВ при фиксированной экспозиции [17, 30, 78–80].

### 1.2.6. Индексы кровотока и ограничения одноэкспозиционного режима

На практике для оперативной визуализации перфузии часто используют эмпирические индексы кровотока, вычисляемые на основе спекл-контраста  $SC$ . Наиболее распространенный пример – относительный индекс спекл-потока  $SFI$  (speckle flow index), который в упрощенных моделях связывают с обратным временем декорреляции  $\tau_c$  и выражают как величину, обратно пропорциональную  $SC^2$ , либо как функцию вида  $(1/(SC^2-1))/T_{exp}$  [81, 82]. Такие индексы удобны для мониторинга относительных изменений кровотока в рамках одного и того же режима регистрации, однако их количественная интерпретация ограничена. Во-первых, при изменении доли динамически рассеянного света  $\rho$  (например, вследствие вариации глубины залегания

сосудов, изменения статического фона или оптических свойств ткани) индекс может заметно меняться даже при постоянной скорости, поскольку  $SC$  определяется смешением статического и динамического вкладов [78, 79, 83]. Во-вторых, при больших скоростях наблюдается снижение чувствительности: изменение  $\tau_c$  все слабее отражается в  $SC$ , что приводит к эффекту «насыщения» индекса и сужению линейного диапазона измерений при фиксированной экспозиции [17, 82].

Таким образом, однокадровая (single-exposure) ЛСКВ является быстрым и технологически простым методом получения карт перфузии, однако для задач сопоставления кровотока на разных глубинах и/или при изменяющихся оптических свойствах образца требуется либо переход к регистрации на нескольких экспозициях (multi-exposure / MESI) для отдельного учета  $\tau_c$ ,  $\rho$  и инструментальных факторов, либо применение дополнительных алгоритмических процедур калибровки и компенсации статического рассеяния/фона при анализе исходного спекл-сигнала [17, 30, 78, 79, 83].

### 1.3. Спекл-энтропийная визуализация и ее преимущества

В качестве альтернативы ЛСКВ-метрики — спекл-контраста, были предложены энтропийные метрики, в которых степень вариабельности спекл-сигнала оценивается не через отношение  $\sigma/\mu$ , а через меру неопределенности распределения интенсивности в заданном окне [35]. Один из распространенных вариантов — энтропия Шеннона:

$$H = - \sum_{i=0}^{2^b-1} [p_i \log p_i] \quad (1.14)$$

где  $H$  — значение энтропии,  $b$  — количество бит, кодирующих значения интенсивности пикселя, определяемое параметрами камеры, а  $p_i$  — вероятность появления  $i$ -го уровня серого в выбранной последовательности кадров для отдельного пикселя в матрице.  $p_i$  вычисляется как отношение числа пикселей с интенсивностью  $i$  ( $n_i$ ), к общему размеру набора данных  $N$ .

Так при квазистатическом спекле распределение интенсивности близко к отрицательно экспоненциальному, а при увеличении динамики и усредненные по времени экспозиции распределение сжимается, уменьшается контраст и меняется форма распределения. Энтропия способна улавливать эти изменения и в ряде случаев демонстрирует более монотонную и линейную зависимость от параметров потока при фиксированных условиях регистрации.

Для более точной оценки энтропии Шеннона с использованием относительно небольших наборов данных был предложен «сбалансированный оценщик» [35, 84, 85], который характеризуется меньшими статистическими ошибками:

$$H \approx \frac{1}{N+2} \sum_{i=0}^{2^b-1} \left( (n_i + 1) \sum_{j=n_i+2}^{N+2} \frac{1}{j} \right) \quad (1.15)$$

При применении анализа энтропии к лазерной спекл-визуализации ограниченный набор спекл-изображений может привести к значительным ошибкам оценки и статистическим неточностям. Поэтому для устойчивой оценки необходимо использовать не менее 80 последовательных спекл-изображений [35].

В условиях, рассмотренных [35], параметр энтропии имеет приблизительно линейную зависимость от скорости жидкости в исследованном диапазоне параметров регистрации:

$$H(v) = -b \cdot v + c, \quad (1.16)$$

где  $b$  и  $c$  – параметры нормализации, определяемые эмпирически. Таким образом, безразмерный аналог  $SFI$  для ЛСЭВ можно определить следующим образом:

$$SFI(v) \sim -H(v). \quad (1.17)$$

#### 1.4. Смещения факторов в ЛСКВ: глубина, рассеяние и скорость

##### 1.4.1. Физическая природа глубинной зависимости

В многослойной рассеивающей ткани регистрируемый спекл-сигнал формируется суперпозицией вкладов фотонов с различными траекториями (путями) и числом актов рассеяния, поэтому измеряемая величина отражает некоторый эффективный объем зондирования [18, 19, 61]. Для подповерхностного сосуда динамический вклад в спекл-сигнал определяется вероятностью того, что фотон взаимодействовал с движущимися рассеивателями в сосудистом русле и затем был зарегистрирован детектором, на фоне фотонов, рассеянных в квазистатических слоях ткани [18, 79, 86].

При увеличении глубины залегания сосуда наблюдаются следующие эффекты:

- уменьшается доля фотонов, несущих информацию о кровотоке (снижение чувствительности к глубоким слоям) [18, 19];
- возрастает вклад многократно рассеянного излучения от окружающих квазистатических структур [18, 79, 87];
- снижается эффективное отношение полезного динамического сигнала к статическому фону, что ухудшает интерпретируемость карты перфузии при фиксированных параметрах регистрации [19].

В терминах модели (1.13) это соответствует уменьшению  $\rho$ . Тогда даже при постоянной  $\tau_c$  (то есть при постоянной скорости) измеряемый  $SC$  меняется, и традиционная карта перфузии становится глубинно-зависимой [18, 79, 86, 87].

### 1.4.2. Влияние коэффициента рассеяния/ослабления

Оптические свойства ткани (коэффициент рассеяния, поглощения и  $g$  фактор) определяют распределение длин путей фотонов и вес различных глубин в формировании спекл-сигнала [18–20]. Изменение  $\mu_s$  приводит к изменению доли многократного рассеяния и к перераспределению фотонов между поверхностными и более глубокими слоями [18]. Поэтому измеряемая метрика ЛСКВ в общем случае является функцией:

$$SC = F\left(\frac{T_{exp}}{\tau_c}, \rho(depth, \mu_s, geometry), \beta\right) \quad (1.18)$$

Здесь скорость потока характеризуется  $\tau_c$ , а глубина и оптические свойства –  $\rho$ . В задачах, где  $\mu_s$  изменяется во времени [88, 89] (например, при дегидратации/регидратации или оптическом просветлении), без дополнительной информации невозможно однозначно отнести  $SC$  к изменению относительной скорости кровотока.

### 1.5. Современные подходы к визуализации кровотока через рассеивающие слои тканей

Для увеличения эффективной глубины визуализации ЛСКВ и увеличения доли динамического рассеяния в регистрируемом спекл-сигнале предложены несколько эффективных подходов. Основанных на хирургических вмешательствах [90–92], изменении геометрии освещения и регистрации, модернизации оптической схемы ЛСКВ, физическом уменьшении рассеяния и оптимизации алгоритмов обработки спекл-сигнала.

#### 1.5.1. Методы на основе хирургических окон

Инвазивные методики (краниотомия, истончение черепа, имплантация прозрачных оптических окон) направлены на удаление источника рассеяния – статичных рассеивающих тканей [90–93]. Данные методы повышения отношения динамического сигнала к статическому широко применяются в экспериментах на животных для долгосрочной визуализации кортикальной микроциркуляции и функциональных исследований. Их достоинства – высокая контрастность и воспроизводимость, ограничения – инвазивность, риск воспаления и изменения физиологии, а также ограниченная переносимость на клинические сценарии [90, 93, 94].

#### 1.5.2. Геометрия регистрации и поляризационная фильтрация

Классическая ЛСКВ чаще всего реализуется в режиме рефлективного детектирования зондирующего излучения (РД-режим), то есть используется отражательная геометрия регистрации, когда детектор и источник расположены со стороны поверхности объекта [18, 19]. Такая конфигурация удобна для доступа к поверхностным тканям, однако в мутных средах сигнал в значительной степени формируется за счет поверхностных слоев и обратного многократного рассеяния, что ограничивает эффективную глубину зондирования и приводит к доминированию

поверхностного (в том числе квазистатического) вклада. Моделирование и численные исследования [18, 19] показывают выраженное поверхностное доминирование в измеряемом сигнале при РД-режиме.

В качестве альтернативы была предложена просвечивающая/трансмиссионная геометрия (режим трансмиссионного детектирования (ТД)) [18, 19]. Данный метод использует излучения, прошедшее через образец. В ряде случаев (тонкие ткани, ушная раковина, специальные оптические фантомы и отдельные *in vivo* сценарии) ТД может повышать долю информативных фотонов, связанных с глубинными структурами, поскольку регистрируются преимущественно рассеяние вперед и изменяется вклад траекторий фотонов. Это может приводить к лучшей визуализации глубинных сосудов в пределах толщины объекта [18, 19].

Поляризационные методы (например кросс-поляризация) позволяют подавлять зеркальное отражение и часть поверхностного рассеяния, повышая контраст сосудов и уменьшая артефакты на картах перфузии [38, 39, 70]. Дополнительно применяются геометрические приемы (освещение под углом, апертурное ограничение) направленные на уменьшение паразитного вклада поверхностного квазистатического слоя.

### 1.5.3. Оптическое просветление: физическое снижение рассеяния

Оптическое просветление (ОП) представляет собой метод снижения светорассеяния в биотканях за счет уменьшения неоднородностей показателя преломления между компонентами ткани (интерстициальная жидкость, коллагеновые волокна, минеральная матрица и т.п.) и/или изменения микроструктуры ткани, что приводит к снижению коэффициента рассеяния  $\mu_s$  (и, в общем случае, эффективного ослабления  $\mu_t$ ) [95, 96]. Практически ОП реализуется аппликацией оптических просветляющих агентов (ОПА), действие которых обычно описывают совокупностью механизмов [95–97]: (i) гиперосмотическим (дегидратация и перераспределение воды в объеме ткани), (ii) иммерсионным (частичное согласование показателя преломления за счет замещения воды/межклеточной жидкости на ОПА), а также (iii) структурными эффектами, включая обратимые изменения коллагеновой матрицы (например, частичная обратимая диссоциация/реорганизация коллагеновых структур [97, 98]).

Снижение рассеяния при ОП позволяет увеличить глубину визуализации и повысить контраст сосудов, в частности в задачах транскраниальной [93] и дермальной визуализации [99, 100]. Однако ОП является динамическим процессом: по мере диффузии ОПА и дегидратации изменяются  $\mu_s$  и  $\mu_a$  во времени и по глубине [25, 88, 89, 98], что приводит к изменению доли динамически рассеянного света  $\rho$  в модели смешанного (статического и динамического) рассеяния. Следовательно, при интерпретации классических ЛСКВ-метрик (основанных на  $SC$ )

в условиях ОП возможно дополнительное искажение оценок гемодинамических параметров из-за одновременного изменения оптических свойств и параметров кровотока [101–103].

В этой связи возникает задача совместного мониторинга кровотока и оптических свойств ткани. В качестве независимого канала оценки динамики рассеяния могут использоваться ОКТ-подходы, позволяющие количественно отслеживать изменение коэффициента рассеяния/затухания в процессе ОП и тем самым разделять вклад оптических изменений и гемодинамики [100].

### 1.6. Алгоритмические подходы к анализу исходного спекл-сигнала

Алгоритмические методы развития ЛСКВ можно условно разделить на две группы:

1. Модельно-ориентированные подходы, где расширяют измерение (например, мультиэкспозиционные методы) и затем оценивают  $\tau_c$  и  $\rho$  по подгонке модели  $SC(T)$  [30, 31, 78];
2. Данно-ориентированные подходы, где исходный спекл-массив рассматривают как многомерные данные и извлекают компоненты, соответствующие квазистатике и динамике. К данному классу относятся подходы на основе АГК/подпространственных методов, а также методы разделения компонент в пространственно-временном частотном представлении (3D-FFT-фильтрация и т.п.) [42–44, 104, 105].

Второй путь принципиально привлекателен тем, что сохраняет аппаратную простоту классической ЛСКВ и переносит усложнение в вычислительную часть. При этом появляется возможность строить отдельные карты, каждая из которых преимущественно несет информацию либо о статическом фоне/структуре, либо о динамике потока. Что потенциально снижает смешение факторов глубины и скорости в традиционных метриках на основе спекл-контраста [42–44, 104]. Данная идея декомпозиции спекл-сигнала служит методологической основой последующих глав данной диссертации.

### 1.7. Оптическая когерентная томография: инструмент оценки коэффициента рассеяния

Оптическая когерентная томография (ОКТ) – это высокоразрешающая неинвазивная медицинская методика визуализации, широко используемая для изучения биологических тканей. ОКТ активно применяется для исследования кожи как *in vivo*, так и *ex vivo*, поскольку позволяет отслеживать динамические изменения в тканях, вызванные физиологическими процессами [106–108] и внешними воздействиями [98, 99]. Недавние достижения привели к разработке методов расчета коэффициентов затухания из сигналов ОКТ для идентификации различных типов тканей и получения информации об их патологическом состоянии [45, 109]. Особое внимание уделяется разработке методов количественной оценки динамических изменений оптических свойств кожи

в микромасштабе. Коэффициент рассеяния содержит информацию о микро- и наноструктуре тканей. Таким образом, изучение изменений коэффициента рассеяния во времени позволяет глубже понять биофизические процессы, происходящие в тканях. К ним относятся дегидратация, регидратация, отек или изменения, вызванные фармакологическими или химическими агентами, а также физическими факторами, такими как сонофорез [98, 99, 110, 111].

Согласно литературным данным [112], местное применение на кожу гиперосмотических растворов, таких как глицерин, этанол, глюкоза и др., первоначально вызывает обратимое обезвоживание биологических тканей, включающее замещение свободной и слабо связанной воды гиперосмотическим раствором. Этот процесс сопровождается изменениями оптических свойств кожи. В частности, коэффициент рассеяния биологических тканей уменьшается из-за лучшего соответствия показателей преломления между структурными элементами кожи, такими как молекулы коллагена и эластина, ядра клеток, митохондрии и окружающая их вода [98, 112, 113]. Таким образом, количественные измерения коэффициентов ослабления или рассеяния позволяют охарактеризовать дегидратацию, регидратацию и диффузию воды и оптических просветляющих агентов в биологических тканях. Этот подход может служить ценным инструментом для мониторинга динамических изменений кожи при изучении процесса ее регенерации при лечении ожогов и ран, а также при оценке терапевтической эффективности топических составов для лечения различных дерматозов или исследовании дермальной токсичности различных фармацевтических и косметических продуктов.

Оценка структурных изменений, глубины проникновения и объемного распределения ОПА или фармацевтических соединений в коже *in vivo*, особенно при низких концентрациях, требует точных количественных или полуколичественных методов. Хотя традиционные методы, такие как флуоресцентная и рамановская микроскопия, доказали свою эффективность, анализ коэффициента рассеяния на основе ОКТ предлагает ряд уникальных преимуществ [114]. К ним относятся возможность трехмерной визуализации, увеличенная глубина зондирования и относительно низкие вычислительные затраты на анализ данных. Эти особенности делают ОКТ особенно привлекательной для оценки динамических изменений в коже, таких как обезвоживание, регидратация и диффузия различных агентов.

ОКТ основана на низкокогерентной интерферометрии и обеспечивает получение распределения обратного рассеяния вдоль глубины (А-скан) с микрометровым разрешением [106–108]. В спектральной и перестраиваемой (swept-source) ОКТ регистрируется интерференционный спектр, по которому восстанавливается профиль отраженного/рассеянного сигнала по глубине.

В простейшей модели однократного рассеяния (и при пренебрежении сложными конфокальными и системными эффектами) интенсивность/амплитуда ОКТ-сигнала убывает с глубиной экспоненциально [45, 110]:

$$I(z) = I_0 \cdot h(z) \cdot \exp(-2\mu_t z) \quad (1.19)$$

где  $\mu_t$  – эффективный коэффициент ослабления (включающий рассеяние и поглощение), а  $h(z)$  – функция чувствительности системы (конфокальная функция или аксиальная функция рассеяния точки).

Методы измерения коэффициента рассеяния на основе ОКТ предоставляют дополнительную количественную информацию в двух- или трехмерном пространстве, расширяя потенциал ОКТ для изучения диффузии воды, ОПА и фармацевтических препаратов при их местном применении [99, 110].

Коэффициент рассеяния обычно рассчитывается по сигналам ОКТ путем аппроксимации экспоненциальной кривой к профилям глубины ОКТ (А-сканы) [45]. Однако этот метод требует однородности исследуемого слоя ткани и страдает от крайне низкой глубинной разрешающей способности, поскольку для точной аппроксимации требуется большое количество точек данных.

Недавно Вермеер и др. предложили новый подход к оценке коэффициента рассеяния с разрешением по глубине, где каждый пиксель изображения ОКТ был преобразован в соответствующее значение коэффициента рассеяния [47]. Лю и др. представили оптимизированный метод реконструкции коэффициента рассеяния [115], который учитывал неполное ослабление зондирующего света в пределах глубины изображения ОКТ и принимал во внимание конфокальные свойства ОКТ, в частности, аксиальную функцию рассеяния точки. Поскольку интенсивность сигнала ОКТ зависит от положения фокальной плоскости ОКТ-системы, при количественном определении коэффициента рассеяния необходимо учитывать конфокальные свойства.

Учитывая важность количественной оценки динамических изменений оптических свойств тканей, реконструкция коэффициентов рассеяния с разрешением по глубине представляет собой мощный инструмент для изучения таких процессов, как ОП в различных анатомических слоях [110]. Построение карт  $\mu_s(z, t)$ , т.е. коэффициента ослабления/рассеяния как функции глубины и времени, может позволить:

- отслеживать динамику дегидратации/регидратации и проникновения ОПА,
- оценивать эффективную глубину воздействия,
- сравнивать кинетику процессов между условиями (например, с/без физического/химического усиления проницаемости).

## 1.8. Выводы

ЛСКВ является высокоскоростным и аппаратно простым методом картирования кровотока, основанным на оценке степени размытия спекл-паттерна при конечной экспозиции камеры. Вместе с тем в реальных биологических тканях измеряемый спекл-контраст определяется не только временем декорреляции, связанным со скоростью движения рассеивающих частиц, но и долей динамического вклада  $\rho$ , которая зависит от глубины залегания сосудов, оптических свойств ткани и геометрии регистрации. Такое смешение факторов ограничивает количественную интерпретацию классических ЛСКВ-метрик, особенно при сравнении данных в условиях изменяющейся оптической среды.

Оптическое просветление способно повысить качество визуализации сосудов, однако одновременно вносит дополнительную временную динамику оптических свойств ткани, усложняя разделение оптических и гемодинамических вкладов в сигнал. В этом контексте ОКТ выступает как метод глубинно-разрешённого контроля структуры и оптических параметров, позволяющий дополнять ЛСКВ независимой информацией о состоянии среды. Методологически перспективным является переход к анализу исходного спекл-массива как объекта цифровой обработки с выделением квазистатической и динамической компонент спекл-сигнала, что и определяет постановку задач и выбор алгоритмов, представленных в главе 2.

## ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ АНАЛИЗА ИСХОДНОГО СПЕКЛ-СИГНАЛА: АГК-ФИЛЬТРАЦИЯ И АГК-ЛСКВ

В главе представлена методология анализа массива исходных спекл-изображений как объекта обработки, ориентированная на разделение квазистатического и динамического вкладов в зарегистрированном спекл-сигнале. Предлагается АГК-фильтрация последовательности спекл-изображений на основе сингулярного разложения/анализа главных компонент с реконструкцией статической и динамической компонент и последующим вычислением метрик  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ . В главе изложена единая методика обработки исходных спекл-изображений, применяемая в последующих главах диссертации.

Цель главы – сформулировать суть алгоритма обработки, позволяющего разделить зарегистрированный сигнал на квазистатический вклад (фоновые/неподвижные рассеивающие структуры) и динамический вклад (изменение спекл-паттернов, обусловленное движущимися рассеивателями, в первую очередь кровотоком), а также определить набор карт/метрик, которые далее используются как основные каналы количественного анализа.

### 2.1. Исходные спекл-изображения как объект анализа

Под исходными данными ЛСКВ в настоящей работе понимается последовательность из  $N$  зарегистрированных спекл-изображений, полученных камерой при когерентном освещении рассеивающего объекта и формирующих трехмерный массив интенсивности:

$$I(x, y, t_k), \quad k = 1, \dots, N$$

где каждый кадр  $I_k(x, y)$  – двумерная матрица интенсивности размера  $P \times Q$ .

Качество последующей обработки  $I_k$  существенно зависит от выполнения базовых условий регистрации:

- отсутствие/минимизация насыщения пикселей детектора,
- достаточный для регистрации уровень сигнала,
- стабильность освещения в пределах временного окна из  $N$  кадров,
- минимизация глобальных микродвижений объекта и камеры.

### 2.2. Представление спекл-сигнала в матричной форме

Ключевой шаг АГК-фильтрации – переход от трехмерного массива  $I(x, y, t)$ , содержащего  $N$  спекл-изображений -  $I_k(x, y)$  размером  $P \times Q$ , к матричному представлению. Каждое спекл-изображение  $I_k(x, y)$  векторизуется в столбец  $x_k$  - одномерный вектор-столбец длиной  $M=(P \times Q)$ .

А последовательность из  $N$  кадров образует матрицу данных:

$$X = [x_1, x_2, \dots, x_N] \in R^{M \times N}. \quad (2.1)$$

Спекл-сигнал состоит из сигнала ткани с низкой пространственной частотой, сигнала перфузии крови с высокой частотой колебаний и случайного белого шума. Математически ансамблевый сигнал можно записать в следующей матричной форме [42–44]:

$$X = X_s + X_d + X_w, \quad (2.2)$$

где  $X_s$  – вклад, обусловленный квазистатическими рассеивателями,  $X_d$  – вклад, обусловленный динамическими рассеивателями,  $X_w$  – шум и остаточные неконтролируемые эффекты. То есть при просмотре вдоль временной оси записанный последовательный спекл-сигнал состоит из сигнала от статической ткани, характерное время которых превышает время экспозиции камеры и поэтому в пределах одного кадра они практически не усредняются и сохраняют высокий локальный контраст, и сильно флуктуирующего сигнала от движущихся рассеивателей, для которых за время экспозиции происходит заметное временное усреднение, приводящее к снижению контраста. В таком представлении все временные точки для одного пикселя в двумерном спекл - изображении располагаются в одной строке матрицы  $X$ .

В большинстве биомедицинских задач большая часть сцены глобально квазистатична, а динамический вклад пространственно локализован (например, в сосудистой фракции). Что приводит к межкадровой корреляции и потенциальной возможности выделения компонент в низкоранговом представлении.

### 2.3. АГК-фильтрация: выделение статической и динамической компонент

Для выполнения АГК в предлагаемой реализации каждый кадр рассматривается как наблюдение, а интенсивности всех пикселей – как признаки. Поэтому далее для удобства рассматривается транспонированная матрица:

$$Y = X^T \in R^{N \times M} \quad (2.3)$$

где строка  $y_k$  соответствует  $k$ -ому кадру, а столбец соответствует временному ряду конкретного пикселя.

Перед применением АГК выполняется центрирование матрицы по признакам, то есть для каждого пикселя вычитается его среднее по времени:

$$\tilde{Y} = Y - \mathbf{1}\mu^T, \quad \mu = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N y_k \in R^M \quad (2.4)$$

$\tilde{Y}$  – центрированная матрица  $Y$ ,  $\mathbf{1} \in R^N$  – вектор из единиц.

Центрирование по времени устраняет постоянную составляющую интенсивности в каждом пикселе, поэтому АГК далее анализирует только флуктуации сигнала –  $\tilde{Y}$ , и исключает неоднородность средней засветки.

АГК реализуется через сингулярное разложение центрированной матрицы  $\tilde{Y}$ :

$$\tilde{Y} = U\Sigma V^T = \sum_{i=1}^N u_i \sigma_i v_i^T \quad (2.5)$$

где  $U \in R^{N \times N}$  – ортонормированные временные моды,  $\Sigma = \text{diag}(\sigma_1, \dots, \sigma_N)$  – сингулярные значения,  $V \in R^{M \times N}$  – матрица главных направлений в пространстве пикселей (или матрица пространственных паттернов). Столбец  $u_i$  – это  $i$ -ая временная мода, которая характеризует как соответствующий ей пространственный паттерн  $v_i$  меняется от кадра к кадру.

Поскольку  $N \ll M$  (например,  $N=100$  кадров, а  $M$  – миллионы пикселей), ранг разложения не превосходит  $N$ , и вычисление не требует построения ковариационной матрицы размера  $M \times M$  – что является вычислительно затратным, если вообще возможным. Эквивалентно, АГК можно трактовать как собственное разложение временной ковариации размера  $N \times N$ :

$$C_t = \frac{1}{N-1} \tilde{Y} \tilde{Y}^T = U \left( \frac{\Sigma^2}{N-1} \right) U^T \quad (2.6)$$

Оценки главных компонент (проекции кадров на главные направления) вычисляются как:

$$Z = \tilde{Y} V \in R^{N \times N} \quad (2.7)$$

В терминах программной реализации это соответствует операции `transform`:

$$Z = \text{transform}(Y) = (Y - \mathbf{1}\mu^T)V \quad (2.8)$$

Как и любое другое преобразование, обратное преобразование главных компонент в исходные данные соответствует `inverse_transform` (восстановление данных из оценок главных компонент):

$$\hat{Y} = \text{inverse\_transform}(Z) = ZV^T + \mathbf{1}\mu^T \quad (2.9)$$

При использовании всех  $N$  главных компонент  $\hat{Y} = Y$  (с учетом численной погрешности). С другой стороны, если в обратном преобразовании используются только некоторые главные компоненты (а остальные приравнены нулю), то можно построить новый набор данных (аппроксимацию), в котором можно выделить или наоборот удалить некоторые нежелательные характеристики из исходных данных – что и используется для АГК-фильтрации. Наиболее энергоемкие главные компоненты соответствуют квазистатическому фону, поскольку он занимает большую часть поля зрения и характеризуется большей дисперсией спекл-сигнала. Динамический вклад сосудистого русла, напротив, пространственно локализован и, как правило, распределяется по главным компонентам объясняющих меньшую долю общей дисперсии.

#### 2.4. Разделение на статическое и динамическое подпространства

Пусть дисперсия вдоль главных компонент равна  $\lambda_i = \frac{\sigma_i^2}{(N-1)}$ . Для автоматического выбора числа квазистатических главных компонент используется критерий Гутмана-Кайзера:

- главная компонента относится к группе статических компонент ( $\Gamma_{static}$ ), если компонента  $i \in \Gamma_{static} \Leftrightarrow \lambda_i \geq \bar{\lambda}$ ,  $\bar{\lambda} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \lambda_j$ .

Число статических главных компонент определяется как:  $r = |\Gamma_{static}|$ ,  $r \geq 1$ .

- остальные главные компоненты формируют группу динамических компонент ( $\Gamma_{dynamic}$ ).

Таким образом, доминирующие по дисперсии компоненты, входящие в  $\Gamma_{static}$ , отражают глобальные вклады (дрейф/фон/статическая структура), тогда как локальная динамика распределена по меньшим собственным значениям, входящим в  $\Gamma_{dynamic}$ .

Такое правило классификации главных компонент по собственным значениям является простым, воспроизводимым и не требует обучающих данных, но не является физически точным критерием для установления границы между квазистатическими и динамическими процессами.

## 2.5. Реконструкция статической и динамической компонент

После разбиения индексов главных компонент на  $\Gamma_{static}$  и  $\Gamma_{dynamic}$  выполняется обратное преобразование с получением двух дополнительных массивов данных. Далее выполняется реконструкция статической части спекл-сигнала путем зануления коэффициентов, соответствующих  $\Gamma_{dynamic}$ :

$$Z_{static} = [z_i, \dots, z_r, 0 \dots, 0] \in R^{N \times N} \quad (2.10)$$

После чего

$$Y_{static} = Z_{static} V^T + \mathbf{1} \mu^T \quad (2.11)$$

Динамическую часть спекл-сигнала можно определить как остаток:

$$Y_{dynamic} = Y - Y_{static} \quad (2.12)$$

Переход обратно к форме массива изображений осуществляется обратной векторизацией строк  $Y_{static}$  и  $Y_{dynamic}$  в спекл-изображения размера  $P \times Q$ , что дает  $I_{static}(x, y, t)$  и  $I_{dynamic}(x, y, t)$ . Поскольку АГК применяется к центрированным по времени данным, реконструированный динамический массив представляет собой остаток относительно квазистатической реконструкции и характеризуется ~нулевым средним значением по времени. Поэтому  $I_{dynamic}$  трактуется как карта флуктуаций интенсивности, а не как физическая интенсивность.

В рамках АГК-фильтрации  $I_{static}$  и  $I_{dynamic}$ , реконструированные из непересекающихся наборов главных компонент, принадлежат ортогональным подпространствам и поэтому некоррелированы. Однако это не означает их взаимную независимость.

## 2.6. Построение метрик: АГК-ЛСКВ

По каждому из массивов спекл-изображений ( $I_{full}$ ,  $I_{static}$  и  $I_{dynamic}$ ) вычисляются карты локального среднего  $\langle I(x, y) \rangle$  и стандартного отклонения  $\sigma(x, y)$  с помощью скользящего окна  $S \times T$

(например, пространственное окно  $S=7 \times 7$  пикселей, временное окно  $T=N$  кадров). На их основе можно определить три ключевых параметра:

- Полный-спекл-контраст ( $FSC$ ):

$$FSC = \frac{\sigma_{full}}{\langle I_{full} \rangle} \quad (2.13)$$

- Статичный спекл-контраст ( $SSC$ ):

$$SSC = \frac{\sigma_{static}}{\langle I_{static} \rangle} \quad (2.14)$$

где статистические метрики вычислены по  $I_{static}$ .

- Коэффициент динамической активности ( $DAC$ ):

$$DAC = \frac{\sigma_{dynamic}}{\langle I_{full} \rangle} \quad (2.15)$$

Использование  $\langle I_{full} \rangle$  в знаменателе обусловлено тем, что после центрирования и АГК-фильтрации динамический массив имеет  $\langle I_{dynamic} \rangle \approx 0$  (Свойство АГК) и не может служить устойчивой нормировкой.

В последующих главах  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  оценивались по пространственно-временному окну  $7 \times 7 \times 100$  пикселей, если не оговорено иное.

## 2.7. Ограничения АГК-фильтрации и практические замечания

Используемый критерий Гутмана Кайзера является простым и устойчивым, однако при очень низких скоростях потока (медленная динамика) возможна ситуация частичного смешения: медленно меняющиеся компоненты могут ошибочно классифицироваться в статическое подпространство, что приводит к завышению  $SSC$  и занижению  $DAC$ . На практике это проявляется сильнее при низком соотношении сигнал/шум, при большом вкладе многократного рассеяния и при недостаточном  $N$  (при малом наборе спекл-изображений), когда спектр собственных значений нестабилен.

Возможные способы уменьшения наблюдаемого ограничения включают:

- Подбор альтернативных критериев выбора числа статичных компонент;
- Переход к мультиэкспозиционным измерениям ЛСКВ

## 2.8. Выводы

В данной главе сформулирована воспроизводимая методика обработки исходного набора спекл-изображений, позволяющая выделять три взаимодополняющих канала:

- $FSC$  – интегральная метрика, чувствительная одновременно к вкладу спекл-сигнала от квазистатических рассеивателей и от динамических рассеивателей. Данная метрика соответствует классической ЛСКВ.

- *SSC* – новая метрика, преимущественно характеризующая вклад от квазистатических рассеивающих структур.
- *DAC* – новая метрика, преимущественно отражающая динамическую активность (кровоток) при подавленном статическом фоне.

Такое представление призвано снизить смешение факторов, характерное для классической ЛСКВ, и служит для глубинно-устойчивой оценки перфузии, квазитомографической реконструкции сосудов и анализа влияния оптического просветления на детектируемый спекл-контраст.

### ГЛАВА 3. АГК-ПОДХОД ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ГЛУБИННОЙ НЕЗАВИСИМОСТИ ОЦЕНКИ СКОРОСТИ КРОВОТОКА С ПОМОЩЬЮ ЛСКВ

В главе исследуется, может ли АГК-фильтрация набора исходных спекл-изображений уменьшить зависимость метрик ЛСКВ от глубины залегания сосуда при сохранении чувствительности к скорости потока. Для фантома с варьируемой глубиной залегания сосуда 0.6–2.0 мм и скоростями потока 0.98–19.66 мм/с сравниваются временной, пространственный и пространственно-временной спекл-контрасты, а также спекл-энтропия, в геометриях РД и ТД с и без АГК-фильтрации. Вводятся критерии оценки: чувствительности к глубине залегания сосуда и чувствительности к скорости потока. Показано, что выделение динамической компоненты и использование коэффициента динамической активности – *DAC*, снижает глубинную зависимость оценки относительной скорости кровотока для методов ЛСКВ.

#### 3.1. Постановка задачи и научная мотивация

ЛСКВ и родственные методы оценки вариабельности спекл-сигнала чувствительны к движению рассеивающих частиц (например, эритроцитов), однако при визуализации подповерхностных кровеносных сосудов возникает фундаментальная проблема: измеряемая метрика (спекл-контраст/энтропия) начинает существенно зависеть не только от скорости потока крови, но и от толщины и оптических характеристик квазистатического слоя над сосудом (например, кожи или костей черепа). На практике это проявляется как рост значений спекл-контраста в области сосуда при увеличении его глубины залегания и ухудшение контрастности сосудистого рисунка.

В литературе описаны два перспективных направления повышения информативности при анализе необработанного спекл-сигнала: 1. замена классического спекл-контраста на энтропийную меру, для которой показана более простая (более линейная) связь со скоростью потока и временем экспозиции камеры (лазерная спекл-энтропийная визуализация); 2. разделение спекл-сигнала на вклад от квазистатических и динамических рассеивателей с помощью АГК-фильтрации. При этом оставались недостаточно исследованы: 1. сравнение нескольких ЛСКВ-метрик (временной спекл-контраст, пространственный спекл-контраст с усреднением по времени, пространственно-временной спекл-контраст и энтропия) в сочетании с АГК-фильтрацией; 2. сопоставление двух геометрий регистрации зондирующего лазерного излучения – отражательной (РД) и просвечивающей/трансмиссионной (ТД); 3. количественная оценка чувствительности ЛСКВ-метрик к глубине залегания сосуда и чувствительности к скорости потока рассеивающей жидкости для каждой комбинации: ЛСКВ-метрика × геометрия регистрации × с/без АГК-фильтрацией.

Цель главы – показать, что выделение динамической компоненты спекл-сигнала методом АГК-фильтрации может служить практическим приемом для глубинезависимой оценки относительной скорости кровотока, т.е. повысить воспроизводимость метрик кровотока при изменении глубины залегания сосуда и одновременно повысить (или хотя бы сохранить) чувствительность к скорости потока в различных геометриях регистрации спекл-изображений.

## **3.2. Материалы и методы**

### **3.2.1. Оптический рассеивающий фантом с модельным сосудом с варьируемой глубиной залегания**

В качестве основы для оптического фантома использовалась эпоксидная смола, содержащая микрочастицы диоксида титана ( $\text{TiO}_2$ ) в качестве рассеивателей со средним диаметром частиц 387 нм в концентрации 0.75 мг/мл. Для имитации кровеносного сосуда стеклянный капилляр, с внутренним и внешним диаметрами 600 и 1000 мкм соответственно, был встроен в фантом под углом  $20^\circ$  к плоскости основания фантома. Располагая стеклянную трубку под углом, можно эффективно моделировать различную глубину залегания сосуда с постепенно изменяющейся толщиной статического слоя над и под сосудом. Для изготовления фантома была разработана и напечатана на 3D-принтере специальная форма высотой 4 мм, шириной и длиной 10 мм со специальными пазами для размещения стеклянного капилляра. Разработанная форма с встроенным стеклянным капилляром помещалась на покровное стекло для предотвращения утечки эпоксидной смолы. В подготовленную форму заливался предварительно приготовленный раствор эпоксидной смолы с отвердителем и равномерно распределенным порошком диоксида титана. После полного затвердевания эпоксидной смолы оптические фантомы проверялись на отсутствие пузырьков, неравномерного распределения рассеивателей и других дефектов. При обнаружении видимых невооруженным глазом дефектов процедура изготовления фантома повторялась. После изготовления оптического фантома покровное стекло с его нижней стороны аккуратно удалялось.

Для моделирования рассеивающих свойств крови использовался 3% водный раствор интралипида (Фрезениус Каби Дойчланд ГмбХ, Германия) [42], подача раствора в капилляр осуществлялась со скоростью от 1 до 20 мл/ч с шагом 1 мл/ч с помощью шприцевого насоса SN-50F6 (KRANZ, Китай). По мере увеличения скорости потока жидкости между измерениями вводилась 90-секундная пауза, чтобы минимизировать турбулентные эффекты в потоке жидкости, вызванные резким увеличением скорости инфузии. Средняя линейная скорость жидкости в капилляре рассчитывалась из условия неразрывности потока как отношение объемной скорости потока к площади поперечного сечения.

### 3.2.2. Оптическая схема и геометрии регистрации

Для освещения образца использовался когерентный источник света: гелий-неоновый лазер HNL210L (Thorlabs, США) с длиной волны 632.8 нм и мощностью 20 мВт. Для равномерного освещения области диаметром  $\sim 1.5$  см использовался расширитель лазерного луча. Для регистрации последовательности спекл-изображений использовалась CMOS-камера (Thorlabs CS235MU Kiralux series, США, с матрицей  $1920 \times 1200$  пикселей (2.3 МП), размером пикселя  $5.86 \times 5.86$  мкм; 8 бит/пиксель), оснащенной микрообъективом LOMO с 3.7-кратным увеличением и с числовой апертурой 0.11. Время экспозиции камеры было установлено на 1 мс, а частота записи составляла 39 кадров в секунду. Для каждой скорости потока жидкости было записано  $\sim 150$  последовательных спекл-изображений

Для режима регистрации отраженного зондирующего излучения (РД-режим – режим рефлективной детекции (RD – reflective-detected)) лазер с расширителем луча располагался таким образом, чтобы освещать поверхность оптического фантома. В режиме регистрации прошедшего лазерного излучения (ТД-режим – режим трансмиссивной детекции (TrD – transmissive-detected)) лазерный луч направлялся через оптическое зеркало на дно оптического фантома. Схематическое изображение установки в конфигурации ТД и оптического фантома со стеклянным капилляром представлено на рисунке 3.1. Измерения в ТД- и РД-режимах проводились последовательно. Сначала были выполнены измерения в режиме ТД для всего диапазона исследуемых скоростей, затем измерения в режиме РД.

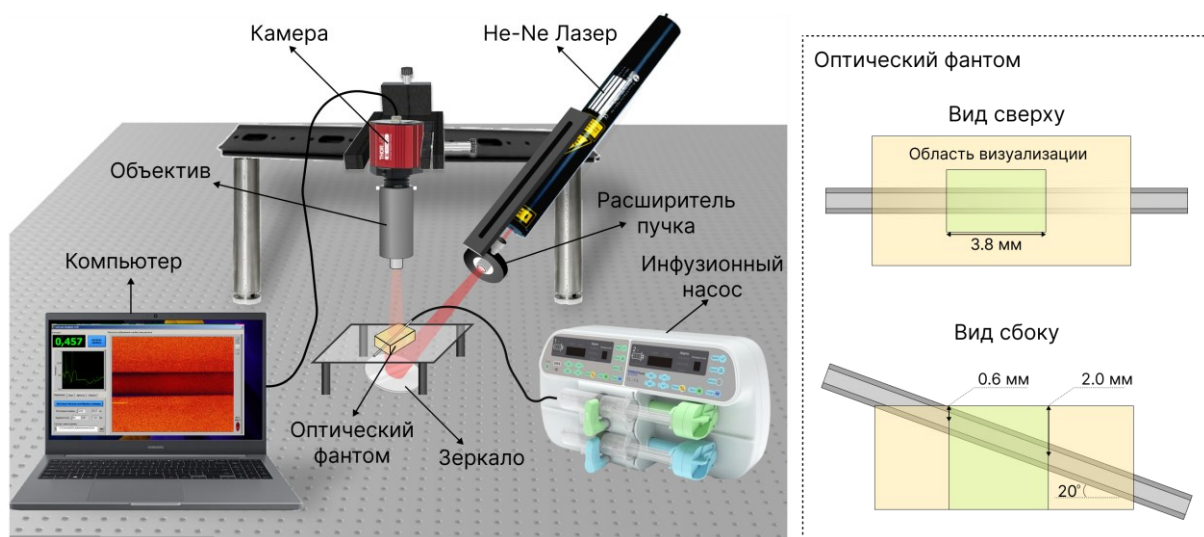


Рисунок 3.1. Схема типичной установки ТД-ЛСКВ – слева, схема оптического фантома с установленным под углом капилляром – справа.

### 3.2.3. Фильтрация на основе анализа главных компонент

Следуя процедуре, описанной в главе 2, и рекомендациям, изложенным в [42–44] Каждое необработанное спекл-изображение было преобразовано в вектор-столбец. Набор последовательных спекл-изображений образовал матрицу размером  $M \times N$ , где  $M=2304000$  – общее количество пикселей в матрице камеры ( $1200 \times 1920$ ), а  $N=100$  – количество последовательных спекл-изображений. После извлечения главных компонент они были разделены на две группы: статические и динамические главные компоненты в соответствии с критерием Гуттмана-Кайзера [42, 116]. В группу статических компонент вошли все главные компоненты, собственные значения которых удовлетворяли условию  $\lambda_i \geq \bar{\lambda}$ , где  $\bar{\lambda}$  - среднее значение всех собственных значений.

После формирования группы статических и динамических компонент, соответствующие им спекл-изображения были реконструированы с использованием уравнений (2.11) и (2.12). Кроме того, для сравнительного анализа была сформирована группа исходных данных – оригинальный сигнал, представляющая собой набор необработанных спекл-изображений.

### 3.2.4. Параметры для расчета спекл-контраста и спекл-энтропии

Временной спекл-контраст  $SC_t$  и энтропия ( $H$ ) рассчитывались с использованием временного окна в 100 кадров, а пространственный спекл-контраст ( $SC_s$ ) - с использованием скользящего пространственного окна размером 7 на 7 пикселей. Полученные изображения  $SC_s$  усреднялись по 100 кадрам ( $SC_{s-avg}$ ) – пространственная лазерная спекл-контрастная визуализация с усреднением по времени ( $s_{avg}$ -ЛСКВ) А пространственно-временной спекл-контраст ( $SC_{st}$ ) рассчитывался с использованием пространственного окна размером 7 на 7 пикселей и временного окна в 100 кадров.

Для всего рассматриваемого диапазона скоростей были рассчитаны карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  и спекл-энтропии для  $I_{full}$ ,  $I_{static}$  и  $I_{dynamic}$ , полученные как для режимов ТД, так и для РД. На рисунке 3.2 показана последовательность обработки от исходного набора спекл-изображений до получения метрик ЛСВ.

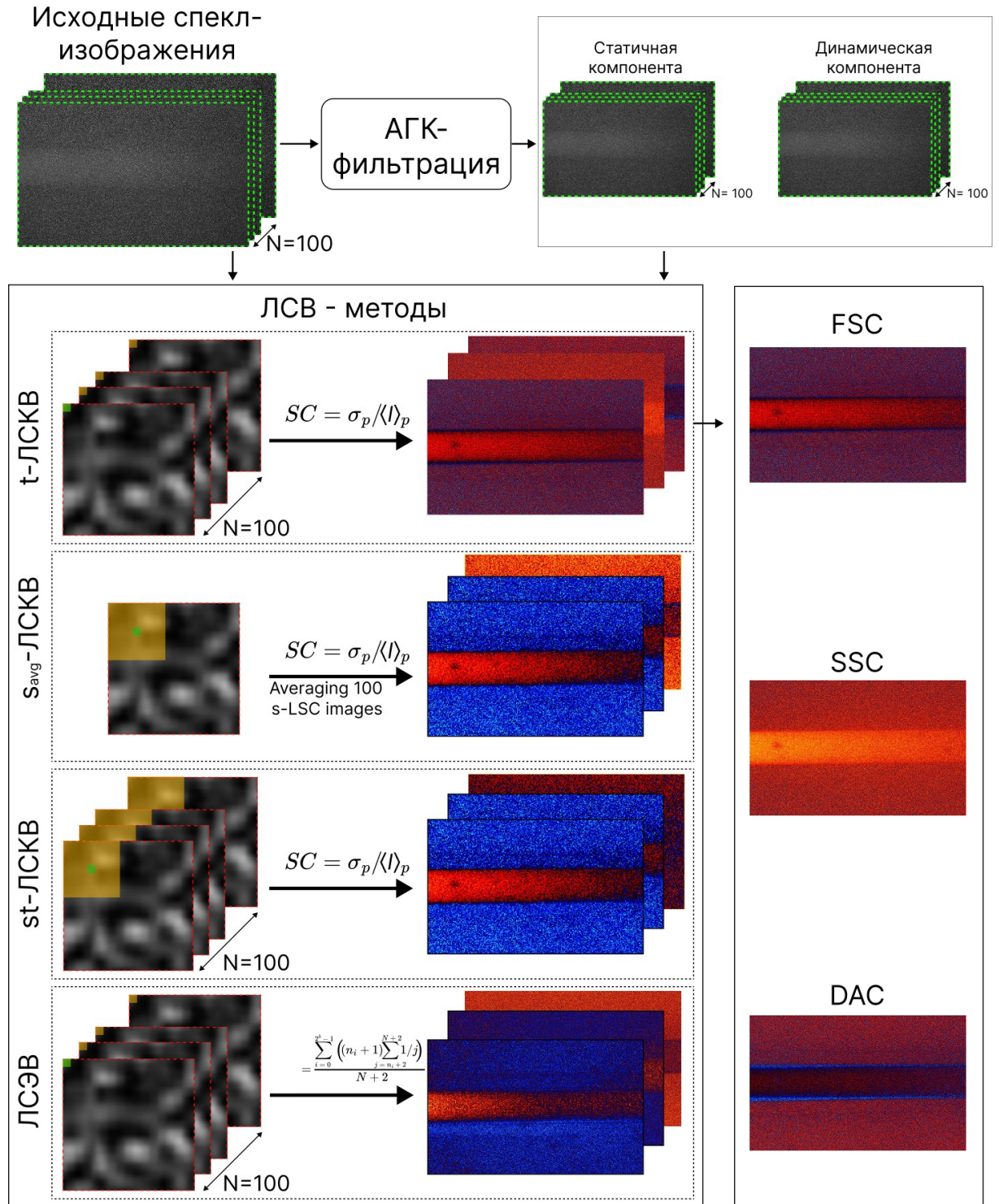


Рисунок 3.2. Схема анализа последовательности спекл-изображений и преобразование исходных спекл-изображений в 3 группы: исходный сигнал, статическая и динамическая компоненты. В блоке методов ЛСВ на фрагменте исходного спекл-изображения оранжевые пиксели используются для вычисления спекл-контраста или энтропии для зеленого пикселя.

### 3.2.5. Анализ чувствительности АГК-ЛСКВ метрик

Для анализа чувствительности методов ЛСВ с и без АГК-фильтрации к глубине залегания сосуда были рассчитаны средние значения  $SFI$  в пяти равноудаленных сегментах сосуда по

области  $100 \times 100$  мкм для групп исходного сигнала и динамической компоненты для всего диапазона исследуемых скоростей потока. Полученный набор значений  $SFI(v)$  для пяти глубин и каждого метода ЛСВ был аппроксимирован линейной функцией. Затем отклонение коэффициента наклона  $SFI(v)$  для каждой глубины от среднего наклона (усредненного по всем глубинам) было рассчитано в процентах. Полученные значения были представлены в матричной форме для визуальной оценки чувствительности ЛСВ к глубине залегания сосуда. Строки этой матрицы соответствовали методам ЛСВ, а столбцы - глубине залегания стеклянного капилляра.

Для анализа чувствительности методов ЛСВ к изменениям скорости кровотока был рассчитан линейный коэффициент корреляции Пирсона между  $SFI(v)$  и линейной скоростью кровотока ( $v$ ). Полученные значения также представлены в матричной форме для наглядности.

Для обработки и анализа исходных наборов последовательных спекл-изображений был разработан специализированный программный пакет, написанный на языке Python.

### **3.2.6. Исследование *in vivo***

В данном исследовании для демонстрации *in vivo* работы методов ЛСКВ и ЛСЭВ в сочетании с АГК-фильтрацией для визуализации кровотока использовалось ухо мыши BALB/c весом 25 г. Использование только одного образца было обусловлено целью исследования, которая заключалась в демонстрации работоспособности предлагаемого метода. Измерения повторялись несколько раз ( $n=20$ ) на одном и том же образце для обеспечения стабильности и повторяемости результатов. В данном исследовании эксперименты на животных проводились в соответствии с этическими стандартами. Эксперименты с использованием уха мыши были одобрены Комитетом по этике Саратовского государственного медицинского университета (Протокол № 11 от 7 августа 2022 г.).

## **3.3. Результаты**

### **3.3.1. Сравнение методов ЛСВ с/без АГК-фильтрации**

На рисунке 3.3 показаны цветные карты, полученные в результате обработки последовательности спекл-изображений с использованием различных методов ЛСВ в режимах регистрации ТД и РД при линейной скорости рассеивающей жидкости 15.72 мм/с, что соответствует потоку в артериолах и венолах [42, 117, 118]. В первом столбце (Оригинальный сигнал) представлены результаты обработки исходного набора спекл-изображений, где присутствуют как статическая, так и динамическая составляющие спекл-сигнала, соответствующие традиционным методам ЛСВ.

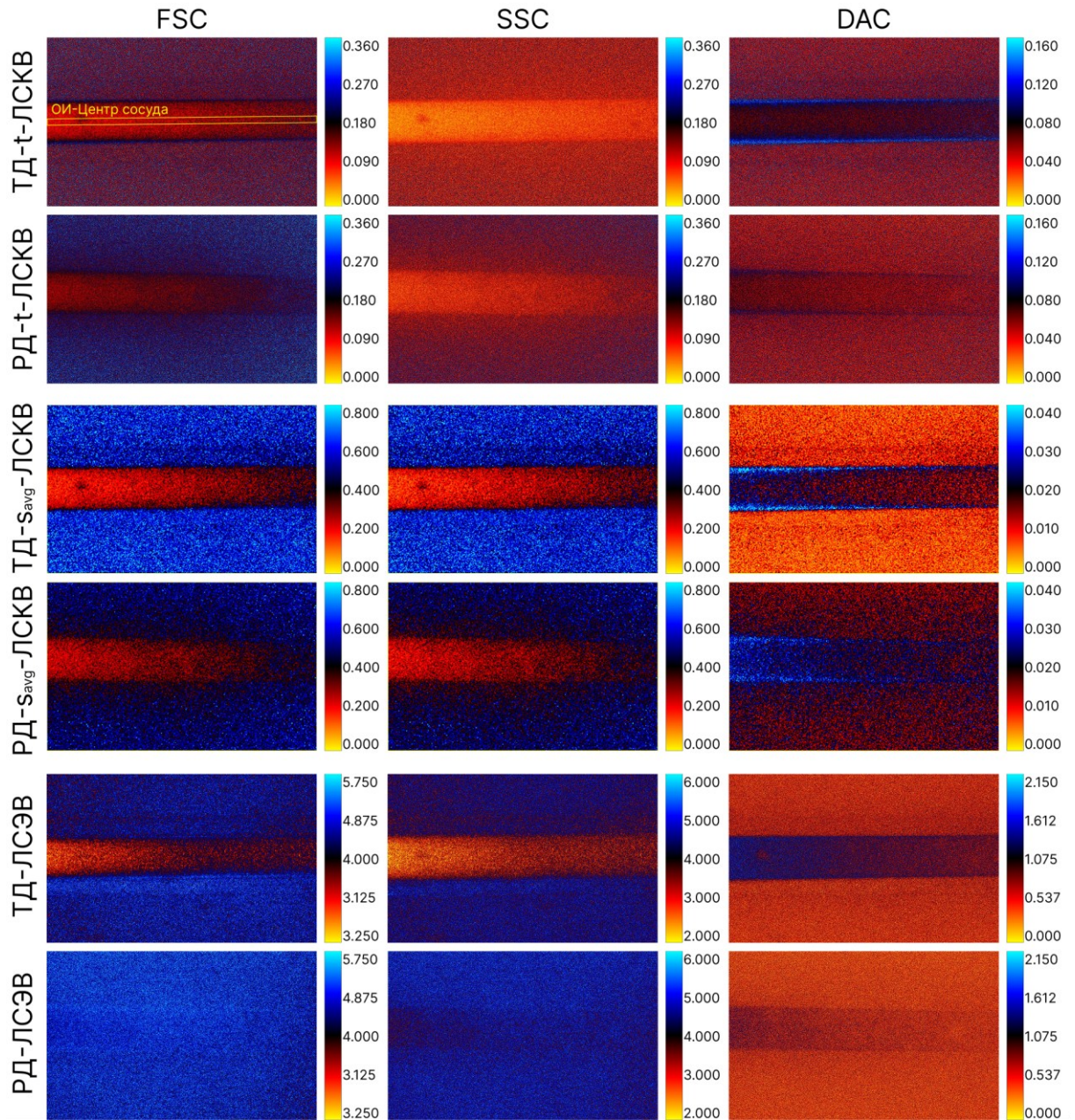


Рисунок 3.3. Цветные карты спекл-контрастов и энтропии, полученные с использованием различных методов лазерной спекл-визуализации в режимах ТД и РД при линейной скорости рассеивающей жидкости 15.72 мм/с. Первый столбец (Исходный сигнал) представляет результаты обработки исходного набора спекл-изображений (*FSC*), содержащие как статическую, так и динамическую составляющие спекл-сигнала. Второй столбец (Статическая компонента) соответствует результатам обработки статической составляющей спекл-сигнала (*SSC*). Третий столбец (Динамическая компонента) отражает динамическую составляющую, связанную с движением рассеивающих частиц (*DAC*). Цветовая палитра была выбрана для оптимального представления динамического диапазона для каждого метода ЛСВ в режимах ТД и РД. Область интереса, отмеченная желтым прямоугольником, имеет ширину 100 мкм и длину 4000 мкм, что соответствует центральной части стеклянного капилляра.

Во втором столбце (Статическая компонента) показаны результаты после извлечения статической составляющей спекл-сигнала и расчета метрик ЛСВ. Здесь флуктуации спекл-сигнала, вызванные движущимися частицами, были удалены с помощью АГК-фильтрации. В третьем столбце (Динамическая компонента) представлены ЛСВ-метрики после выделения динамической компоненты сигнала, отражающие изменения, вызванные движущимися рассеивателями. Цветовая палитра была выбрана для эффективного отображения динамического диапазона для каждого метода ЛСВ в режимах регистрации ТД и РД. На изображениях для групп «Оригинальный сигнал» и «Статическая компонента» легко заметить, что по мере увеличения толщины рассеивающего слоя над сосудом (от 0.6 до 2.0 мм) спекл-контраст и значения энтропии в области стеклянного капилляра также увеличиваются, однако скорость потока постоянна по всей длине сосуда. При сравнении геометрий регистрации спекл-изображений (ТД- и РД-режим) можно отметить, что для РД-режима значения спекл-контрастов в области сосуда увеличиваются быстрее с ростом глубины залегания. При этом на глубине около 1.8–2 мм изображения сосуда, полученные методом ЛСКВ, размываются и сливаются с фоном. Однако при детектировании прошедшего излучения (ТД-режим) изображения сосуда, полученные методом ЛСКВ, остаются различимыми на всем изображении. Этот эффект может быть обусловлен тем, что ТД-ЛСКВ в основном формируется за счет рассеянного вперед света, в то время как традиционный РД-ЛСКВ основан на рассеянном назад свете [19]. Таким образом, можно заключить, что методы ТД-ЛСКВ более эффективны для глубокой визуализации по сравнению с РД-ЛСКВ, хотя это может быть справедливо только для определенной толщины образца.

Примечательно, что значения спекл-контраста для динамической компоненты в области стеклянного капилляра выше, чем окружающий фон. Это нетипично для ЛСВ, поскольку фон статического рассеяния обычно демонстрирует более высокий спекл-контраст или значения энтропии [19, 42, 100]. Этот эффект обусловлен тем, что в группе динамических компонент спекл-сигнал от статического рассеяния вокруг сосуда либо отсутствует, либо минимизирован [42–44]. С одной стороны, это приводит к снижению контрастности спекл-контрастного изображения сосуда при высоких скоростях потока. Однако, с другой стороны, это минимизирует чувствительность ЛСКВ к глубине залегания сосуда и позволяет более уверенно оценить относительную скорость потока рассеивающей жидкости. Может показаться, что при полном удалении квазистатического спекл-сигнала фоновые значения для группы динамических компонент должны стремиться к нулю. Однако при рассеянии лазерного света как динамическими, так и статическими рассеивателями существует доля многократно рассеянных фотонов, которые в результате последовательных актов рассеяния также достигают матрицы камеры и несут интегральную информацию о рассеивателях (включая скорость их движения/ время декорреляции).

Кроме того, как показано на рисунке 3.3, значения спекл-контраста и энтропии при обработке оригинального сигнала увеличиваются в капиллярной области по мере увеличения глубины сосуда. Однако в группе динамической компоненты значения спекл-контраста практически не зависят от толщины рассеивающего слоя над сосудом. Это поведение более отчетливо видно на рисунке 3.4.

На рисунке 3.4 представлены усредненные профили значений спекл-контраста в центральной области сосуда (ОИ на рисунке 3.3), полученные для различных методов ЛСВ в ТД- и РД-геометрии детектирования зондирующего излучения. Профили построены в зависимости от ширины окна визуализации (нижняя ось) и глубины залегания сосуда (верхняя ось). На графиках представлены результаты обработки исходного сигнала, статической и динамической компоненты. Полученные данные были аппроксимированы линейной функцией, уравнения этих аппроксимаций показаны на графиках. Результаты для метода st-ЛСКВ в этом примере не показаны, поскольку они практически идентичны результатам для метода  $S_{avg}$ -ЛСКВ.

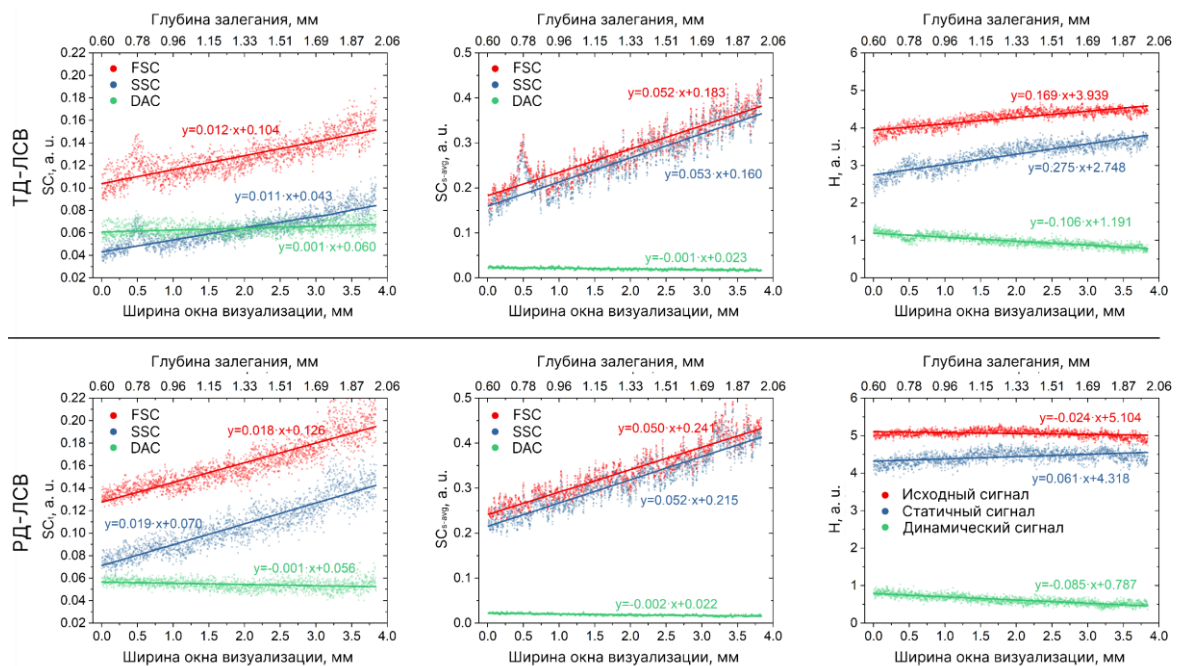


Рисунок 3.4. Усредненные профили значений спекл-контраста и энтропии в центральной области сосуда (ОИ на рис. 3.3), полученные с использованием различных методов ЛСВ в режимах ТД и РД лазерного детектирования. Профили представлены для исходного сигнала, статической компоненты (статический сигнал) и динамической компоненты (динамический сигнал). Нижняя ось соответствует ширине окна визуализации, а верхняя ось – глубине залегания сосуда. На графиках сплошной прямой показаны результаты линейной аппроксимации данных с соответствующими уравнениями.

Главный вывод, который можно сделать из графиков на рисунке 3.4, заключается в том, что после выделения динамической компоненты значения DAC становятся практически независимыми от глубины залегания сосуда, что подтверждается практически горизонтальными линиями аппроксимации. Кроме того, до применения АГК-фильтрации значения спекл-контраста в области сосуда значительно различались между ТД- и РД-режимом для одного и того же метода ЛСКВ. Однако после выделения динамической компоненты они становятся практически идентичными. В то же время сохраняются различия между временным и пространственным значениями спекл-контраста. Также стоит отметить, что фильтрация на основе АГК не улучшила результаты визуализации для ЛСЭВ, что может указывать на меньшую чувствительность этого метода к разделению статических и динамических компонент спекл-сигнала. Полученные результаты хорошо согласуются с выводами [42], особенно в части увеличения чувствительности АГК-ЛСКВ для глубоких сосуда.

### **3.3.2. Сравнение методов ЛСВ в ТД- и РД-режимах регистрации**

На рисунке 3.5 представлены цветные карты, полученные с использованием различных методов ЛСВ в ТД-режиме при различных линейных скоростях рассеивающей жидкости в сосуде, указанных над изображениями. Левые столбцы представляют результаты традиционных методов ЛСВ – исходный сигнал, а правые столбцы показывают результаты после извлечения динамической компоненты. Строки сверху вниз соответствуют различным методам ЛСВ: временная лазерная спекл-контрастная визуализация (t-ЛСКВ), пространственная лазерная спекл-контрастная визуализация с усреднением по времени ( $s_{avg}$ -ЛСКВ), пространственно-временная лазерная спекл-контрастная визуализация (st-ЛСКВ) и лазерная спекл-энтропийная визуализация (ЛСЭВ). Цветовая палитра была выбрана для эффективного отображения динамического диапазона значений для каждого метода ЛСВ при различных скоростях потока жидкости. Сравнивая изображения до и после извлечения динамической компоненты и оценивая влияние скорости жидкости на результаты визуализации можно отметить улучшение качества визуализации после применения АГК-фильтрации за счет минимизации влияния толщины рассеивающего слоя над стеклянным капилляром – значения спекл-контраста в области сосуда становятся более однородными по всей длине капилляра по сравнению с результатами традиционных методов ЛСКВ.

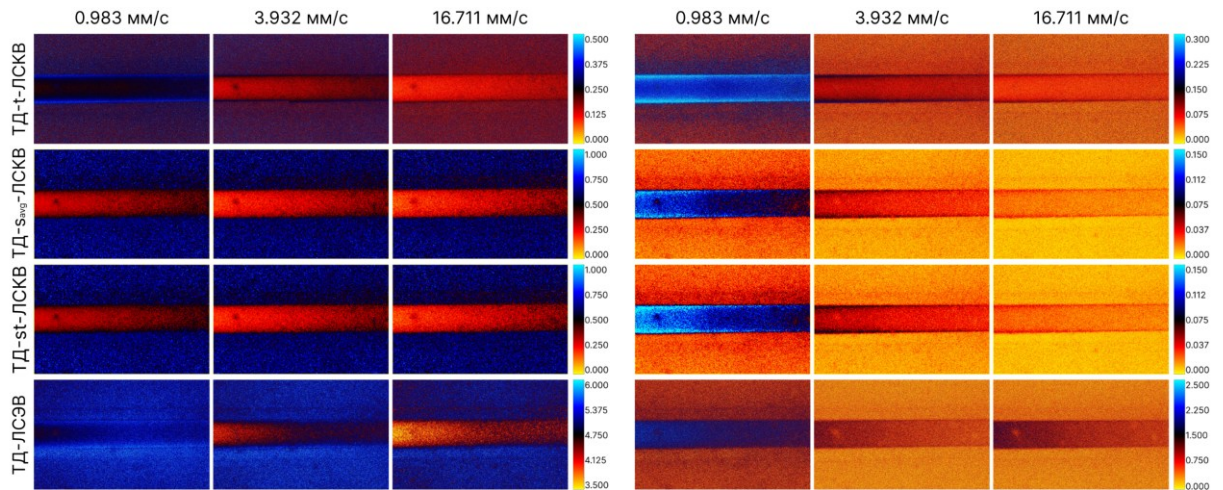


Рисунок 3.5. Цветные карты спекл- контраста и энтропии, полученные с использованием различных методов ЛСВ в режиме трансмиссионного детектирования (ТД) при различных линейных скоростях жидкости в сосуде (указаны над изображениями). В левых столбцах показаны результаты традиционных методов ЛСВ ( $FSC$ ), а в правых – результаты после выделения динамической компоненты спекл-сигнала ( $DAC$ ).

Аналогично рисунку 3.5, на рисунке 3.6 представлены цветные карты, полученные с использованием различных методов ЛСВ для РД-режима при различных линейных скоростях жидкости в сосуде.

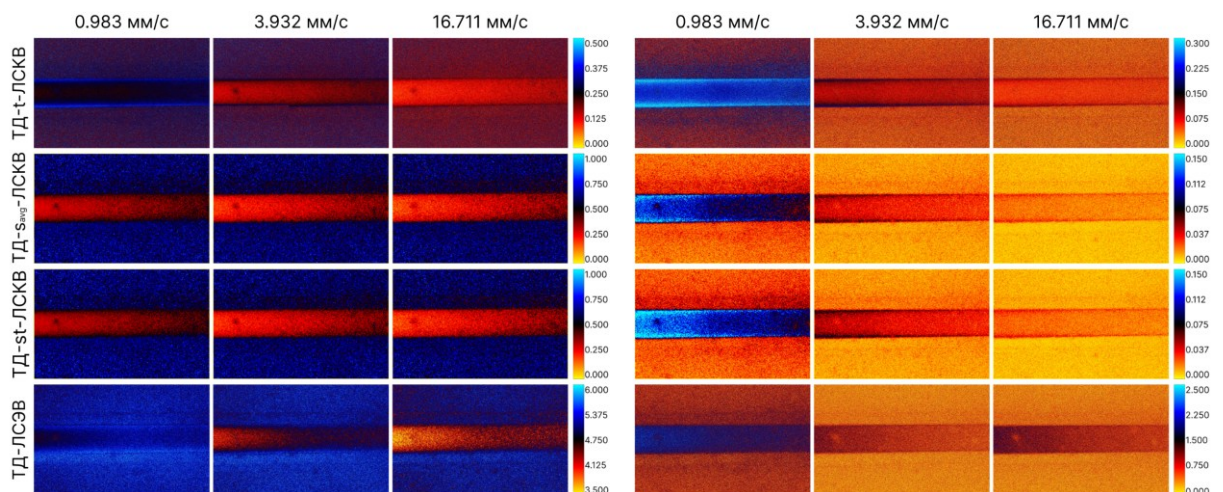


Рисунок 3.6. Цветные карты спекл- контраста и энтропии, полученные с использованием различных методов ЛСВ в режиме рефлективного детектирования (РД) при различных линейных скоростях жидкости в сосуде (указаны над изображениями). В левых столбцах показаны результаты традиционных методов ЛСВ, а в правых – результаты после выделения динамической компоненты спекл-сигнала.

Для всех методов ЛСКВ наблюдается снижение значений спекл-контраста в фоновой области по мере увеличения скорости потока, особенно после АГК-фильтрации. Это наблюдение

требует дальнейшего анализа и объяснения, поскольку оно не соответствует классическим ожиданиям для статических областей. Снижение значений спекл-контраста в квазистатичной фоновой области с увеличением скорости потока может быть связано с многократным рассеянием: часть зондирующего излучения рассеивается вбок после взаимодействия с движущимися частицами в сосуде и достигает матрицы детектора выходя из квазистатичной фоновой области (вне области сосуда). При этом изменения фазы лазерного излучения зависят от скорости частиц в сосуде. Таким образом, при низких скоростях потока изменения фазы незначительны, и влияние на фон минимально, тогда как при высоких скоростях изменения фазы становятся более выраженными, что приводит к снижению спекл-контраста в фоновой области. Важно отметить, что изменения коэффициента рассеяния как статической, так и динамической областей могут значительно изменить эту картину. Кроме того, индикатрисы рассеяния эритроцитов и капель интралипида могут различаться.

На рисунках 3.7 и 3.8 представлены наборы графиков, иллюстрирующих зависимость значений спекл-контраста и энтропии от линейной скорости жидкости в сосуде, усредненных для пяти равноудаленных областей интереса, соответствующим различным глубинам залегания сосуда. Области интереса представляли собой прямоугольные участки размером  $100 \times 100$  мкм, расположенные в центральной части сосуда. Графики разделены на две группы: для ТД- и РД-режима. Каждая группа включает результаты для исходного сигнала и для сигнала после выделения динамической компоненты. В обеих группах (ТД и РД) наблюдается значительная разница в зависимости значений спекл-контраста и энтропии от скорости жидкости между исходным сигналом и сигналом после выделения динамической компоненты. Однако различия между ТД- и РД-режимами более выражены до применения АГК-фильтрации. После выделения динамической компоненты различия между ТД и РД становятся менее заметными, особенно при скоростях жидкости более 5.6 мм/с, что указывает на то, что АГК-фильтрация минимизирует влияние рассеивающего слоя на измерения. Для исходного сигнала значения спекл-контраста и энтропии уменьшаются с увеличением скорости жидкости, как и ожидалось, поскольку более высокая скорость приводит к более короткому времени декорреляции и пространственно-временному размытию спекл-паттернов, вызванного движущимися частицами [18, 74, 81, 83, 105]. Кроме того, графики показывают, что для исходного сигнала значения спекл-контраста и энтропии зависят от глубины залегания сосуда, при этом более глубокие участки сосуда демонстрируют более высокие значения спекл-контраста. Однако после выделения динамической компоненты эта зависимость становится менее выраженной для обоих режимов: ТД и РД. То есть при АГК-ЛСКВ разброс данные при различных глубинах залегания сосуда уменьшается, визуально на рисунках 7 и 8 это наблюдается как образование более узкого распределение точек в зависимости от скорости потока.

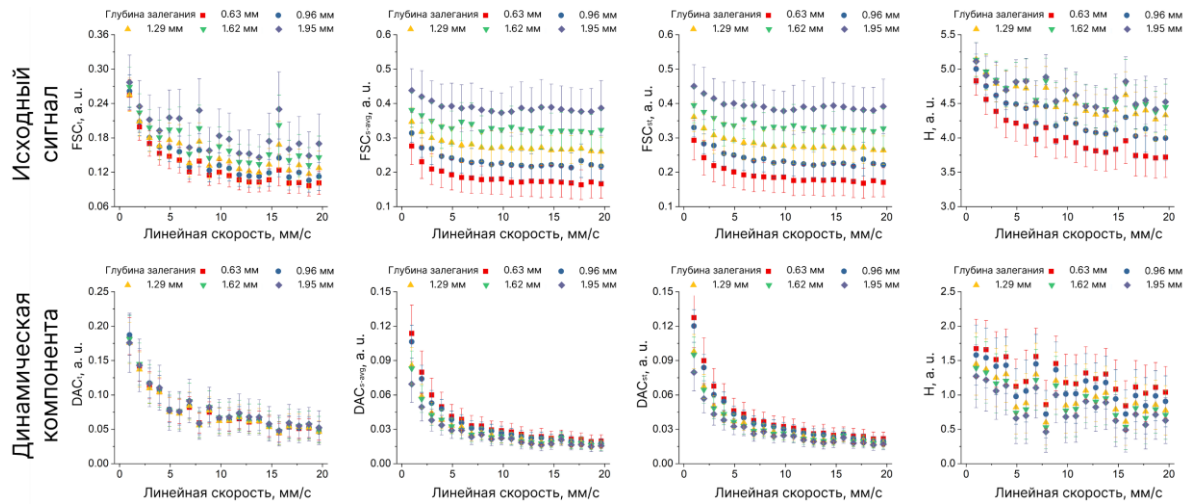


Рисунок 3.7. Зависимость спекл- контраста и значений энтропии от линейной скорости жидкости в сосуде для пяти областей интереса (ОИ) на различной глубине залегания сосуда, полученная в режиме трансмиссионного детектирования (ТД). Графики представлены как для исходного спекл- сигнала ( $FSC$ ), так и для сигнала после выделения динамической компоненты ( $DAC$ ).

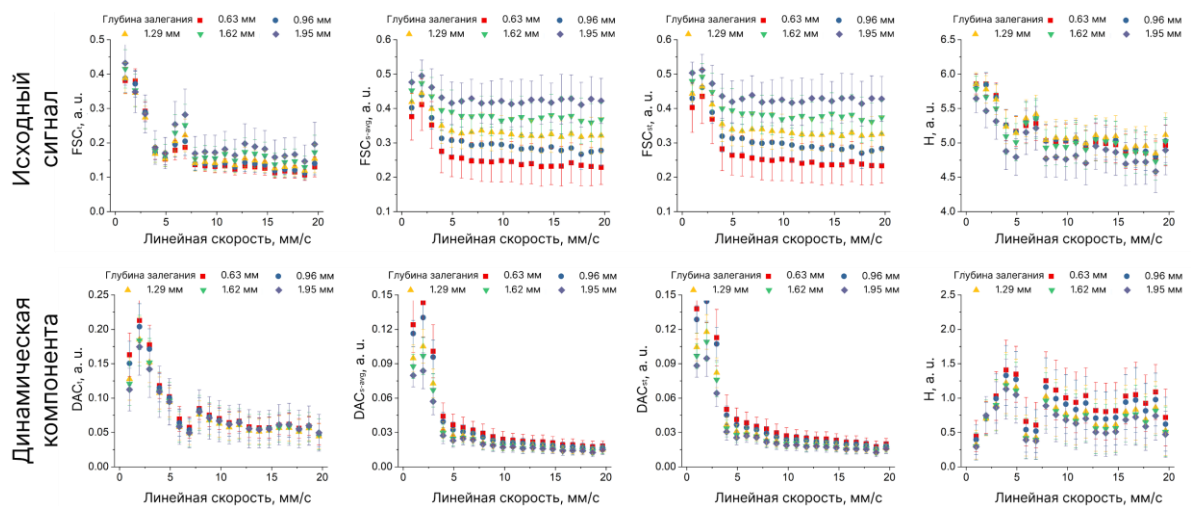


Рисунок 3.8. Зависимость спекл- контраста и значений энтропии от линейной скорости жидкости в сосуде для пяти областей интереса (ОИ) на различной глубине залегания сосуда, полученная в режиме рефлективного детектирования (РД). Графики представлены как для исходного спекл- сигнала ( $FSC$ ), так и для сигнала после выделения динамической компоненты ( $DAC$ ).

Сравнивая методы ЛСКВ с ЛСЭВ, можно заметить, что зависимость энтропии от линейной скорости жидкости демонстрирует более линейное поведение во всем диапазоне исследованных скоростей. Это хорошо согласуется с основными выводами исследований [35, 36, 119]. Анализ литературы показал, что метод ЛСЭВ в режиме ТД ранее не изучался. В контексте данной работы можно отметить большую чувствительность метода ЛСЭВ к изменениям скорости рассеивающей жидкости в ТД-конфигурации по сравнению с РД-режимом. Однако применение АГК-фильтрации не показало улучшений для ЛСЭВ, в отличие от группы методов ЛСКВ.

В РД-режиме (рисунок 3.8) для динамической компоненты наблюдается отклонение от теоретического представления в распределении спекл-контраста при низких скоростях потока жидкости. Можно предположить, что это отклонение возникает из-за небольших/малозначительных изменений в спекл-паттернах при низких скоростях потока, которые приближаются к уровню шума. В результате алгоритм АГК-фильтрации может ошибочно определять эти незначительные изменения к группе статических главных компонент, что приводит к наблюдаемым расхождениям. Такое поведение не наблюдается для ТД-режима, что предполагает, что механизмы формирования спекл-сигнала могут различаться между двумя режимами. Моделирование методом Монте-Карло, выполненное в [19], подтверждает это предположение, показывая, что интенсивность рассеянного излучения, связанная с полезным сигналом, выше в режиме ТД, когда глубина залегания сосуда превышает 200 мкм. В контексте данного исследования можно предположить, что при низких скоростях потока изменения в исходных спекл-изображениях минимальны. Учитывая относительно низкую интенсивность лазерного излучения, обратно рассеянного сосудом на глубине более 600 мкм, можно ожидать отклонение в распределении значений спекл-контраста от теоретических ожиданий при использовании РД-ЛСКВ с АГК-фильтрацией.

### 3.3.3. Влияние глубины залегания сосуда на результаты ЛСВ

На рисунке 3.9 показаны матрицы, иллюстрирующие процентное отклонение коэффициента наклона  $SFI(v)$  от среднего значения (усредненного по всем глубинам) для каждого метода ЛСВ в зависимости от глубины залегания сосуда. На левом изображении показаны результаты для исходного - оригинального сигнала, а на правом – результаты после выделения динамической компоненты с помощью АГК-фильтрации. Для исходного сигнала заметно, что все методы ЛСВ демонстрируют значимую чувствительность к глубине залегания стеклянного капилляра. Однако методы ТД-ЛСЭВ и РД-ЛСЭВ демонстрируют более стабильные результаты с меньшими отклонениями от среднего наклона  $SFI(v)$ , что указывает на их большую стабильность на всех глубинах. После применения АГК-фильтрации очевидно, что отклонения от среднего значительно уменьшились для всех методов ЛСКВ. Например, метод t-ЛСКВ с АГК-фильтрацией как в ТД-режиме, так и в РД-режиме показывает наименьшую чувствительность к глубине залегания сосуда. Что указывает на повышение надежности этих методов после выделения динамической составляющей спекл-сигнала для задач глубиннезависимой оценки относительной скорости кровотока.

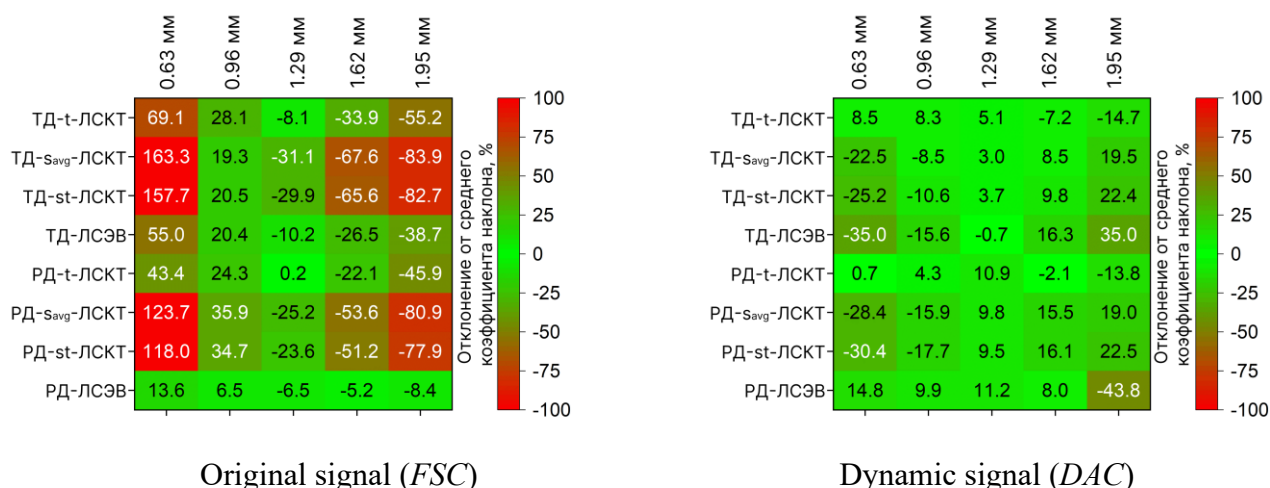


Рисунок 3.9. Матрицы процентного отклонения коэффициента наклона  $SFI(v)$  от среднего значения для каждого метода ЛСВ в зависимости от глубины залегания сосуда. На левом изображении показаны результаты для исходного спекл-сигнала, а на правом – результаты после выделения динамической компоненты. Значительное отклонение коэффициента наклона указывает на высокую зависимость метода от глубины сосуда и, следовательно, на его более низкую надежность.

### 3.3.4. Влияние скорости потока на результаты ЛСВ

На рисунке 3.10 представлены матрицы линейных коэффициентов корреляции Пирсона между параметром  $SFI$  и фактической скоростью жидкости для различных методов ЛСВ и различных глубин залегания сосуда. На левом изображении показаны коэффициенты корреляции для исходного - оригинального сигнала, а на правом – после выделения динамической компоненты. Для исходного сигнала методы ЛСВ, как правило, показывают высокие коэффициенты корреляции Пирсона ( $>0.8$ ), особенно для неглубоких сосудов (0.63 мм и 0.96 мм), что указывает на хорошую чувствительность к изменению скорости потока жидкости на малых глубинах. Однако с увеличением глубины залегания сосуда коэффициенты корреляции уменьшаются, что указывает на снижение чувствительности методов. Например, метод ТД-t-ЛСКВ показывает высокий коэффициент корреляции (0.92) на глубине 0.63 мм, но это значение падает до 0.64 на глубине 1.95 мм. Наименьшее снижение чувствительности ЛСВ наблюдается у метода РД-ЛСЭВ, где корреляция снижается с 0.87 до 0.72 при увеличении глубины залегания с 0.6 до 1.9 мм. После применения АГК-фильтрации наблюдается улучшение корреляции для некоторых методов, особенно для методов  $S_{avg}$ -ЛСКВ и st-ЛСКВ как в ТД-режиме, так и в РД-режиме, которые демонстрируют высокую корреляцию на всех рассматриваемых глубинах, что указывает на повышение чувствительности к скорости потока жидкости. Например, метод ТД-st-ЛСКВ с АГК-фильтрацией показывает корреляцию, близкую к 1.0 на всех глубинах, что указывает на высокую надежность и чувствительность метода после выделения динамической

компоненты. С другой стороны, методы ТД- и РД-ЛСЭВ показывают снижение корреляции после АГК-фильтрации, особенно на больших глубинах, что может указывать на снижение их эффективности после фильтрации методом главных компонент.

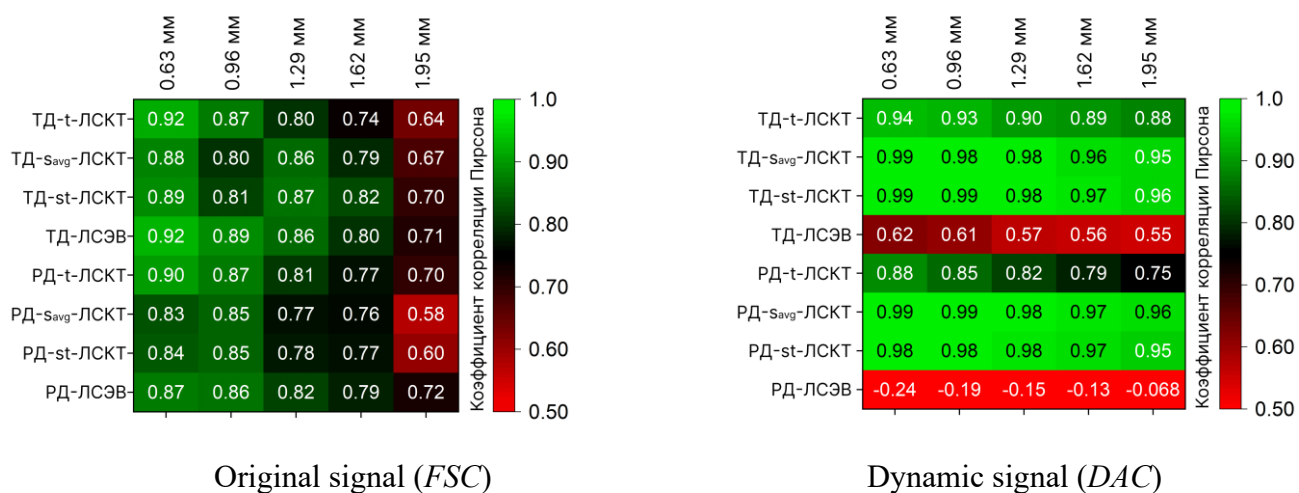


Рисунок 3.10. Матрицы линейных коэффициентов корреляции Пирсона между параметром SFI(v) и фактической скоростью жидкости для различных методов ЛСВ и различной глубины залегания сосуда. На левом изображении показаны коэффициенты корреляции для исходного спекл-сигнала, а на правом – коэффициенты после выделения динамической компоненты. Высокие значения корреляции указывают на высокую чувствительность метода к изменениям скорости жидкости, а низкие значения корреляции – на снижение чувствительности.

### 3.3.5. Демонстрация работы ЛСВ в сочетании с АГК-фильтрацией *in vivo*

На рисунке 3.11 представлены результаты *in vivo* визуализации уха лабораторной мыши с использованием различных методов ЛСВ в ТД-режиме. В левой колонке показаны изображения, полученные при обработке исходного спекл-сигнала, а в правой – изображения, полученные после выделения динамической компоненты. Параметры системы ЛСВ соответствовали параметрам, использованным в исследованиях на фантомах. На изображениях классических методов ЛСВ (левая колонка) сосуды видны, но также присутствуют артефакты и шум, особенно в областях без сосудов. После выделения динамической компоненты спекл-сигнала изображения становятся четче, а сосуды выделяются на более однородном фоне. При этом сосуды становятся более различимыми (контрастными), а фоновый шум и артефакты значительно уменьшаются. Цветные стрелки указывают на некоторые сосуды, которые едва различимы при традиционной обработке ЛСВ. Таким образом, АГК-фильтрация позволила качественно улучшить визуализацию кровеносных сосудов для всех рассматриваемых методов.

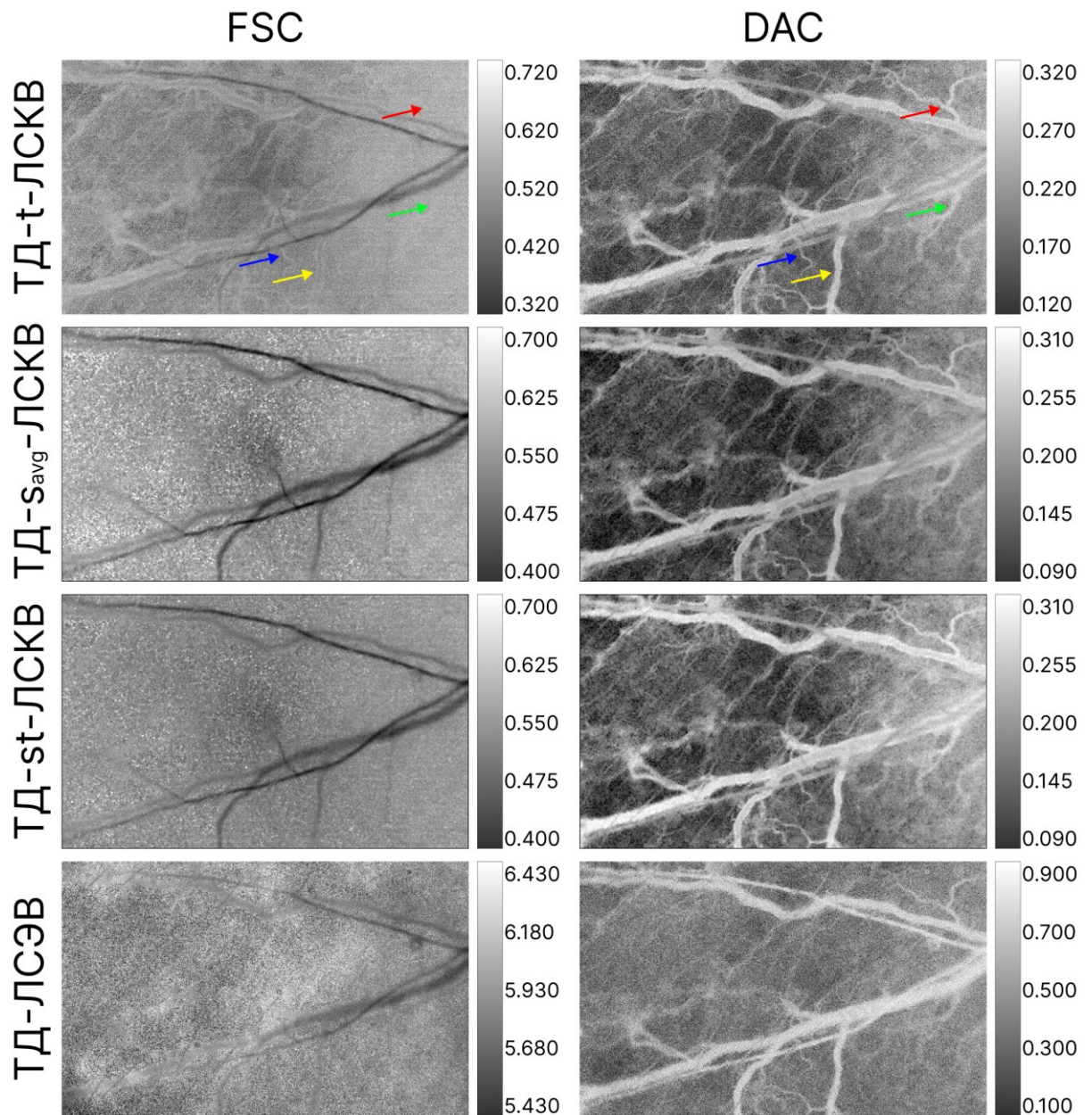


Рисунок 3.11. Изображения спекл-контраста и энтропии уха лабораторной мыши до (исходный сигнал) и после АГК-фильтрации (динамическая составляющая) в режиме ТД. Методы лазерной спекл-последовательности указаны слева. Цветные стрелки указывают на определенные сосуды, изображения которых значительно отличаются до и после фильтрации методом главных компонент.

Аналогично рисунку 3.11, на рисунке 3.12 представлены результаты обработки ЛСВ с АГК-фильтрацией и без нее для РД-режима регистрации. Область визуализации была такой же, как и для ТД-режима. При сравнении РД- и ТД- режима АГК-фильтрация также улучшила визуализацию сосудов для всех рассматриваемых методов ЛСВ. Однако изображения в ТД-режиме выглядят более четкими и контрастными.

Аналогично исследованиям на оптических фантомах, на изображениях ЛСВ 3.11 и 3.12 для динамической компоненты наблюдаются низкие значения спекл-контраста и энтропии в областях между сосудами (внесосудистая область), связанных со статической тканью. Этот эффект обусловлен тем, что в группе динамической компоненты сигнал от статических рассеивателей в окружающей ткани либо отсутствует, либо минимизирован.

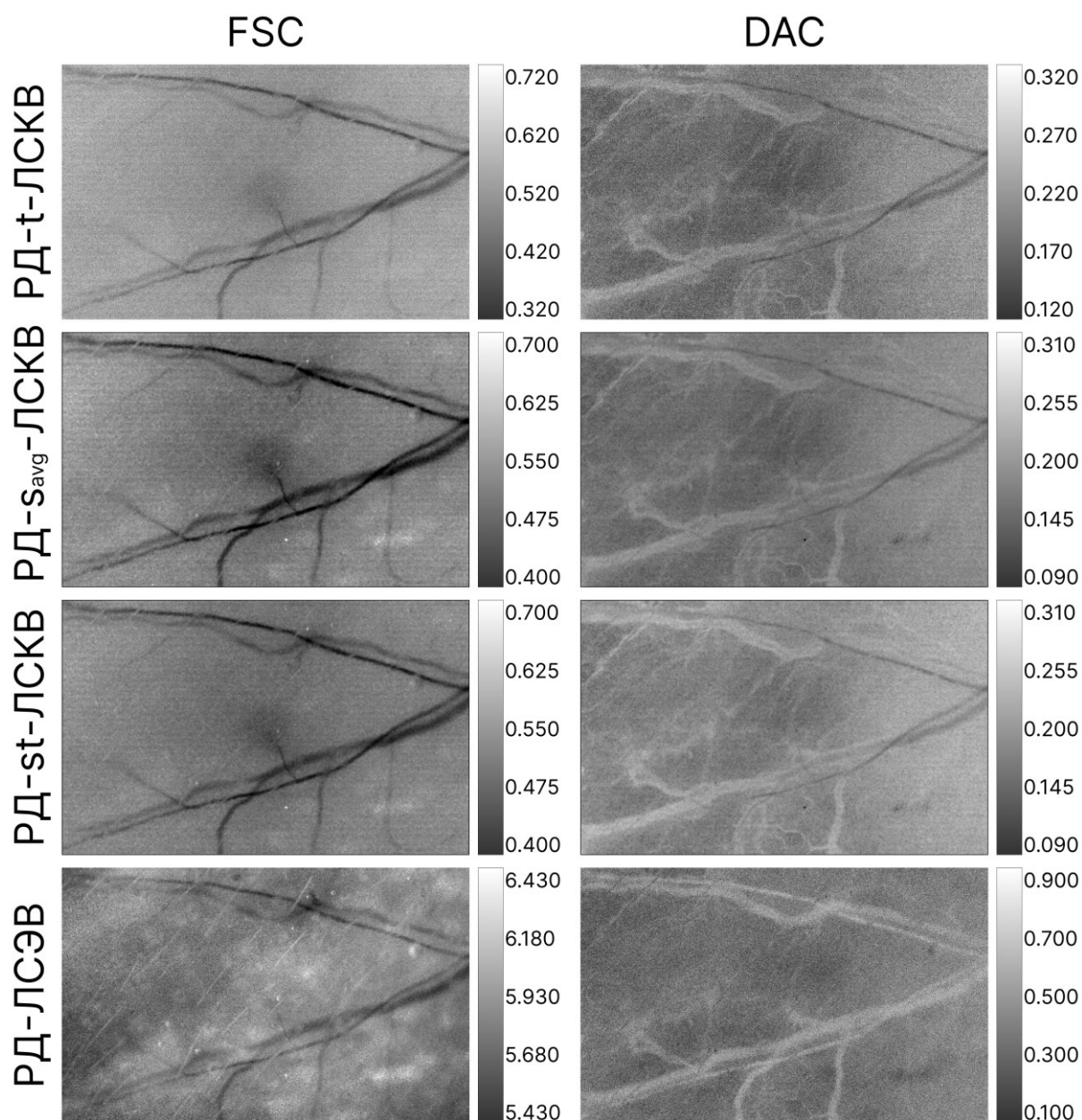


Рисунок 3.12. Изображения спекл-контраста и энтропии уха лабораторной мыши до (исходный сигнал) и после АГК-фильтрации (динамическая составляющая) в режиме РД. Методы лазерной спекл-последовательности указаны слева.

Результаты обработки изображений уха мыши демонстрируют потенциал применения АГК-фильтрации в сочетании с различными методами ЛСВ для улучшения визуализации сосудистых структур *in vivo*. Исследования на фантомах с различной глубиной залегания сосудов

показали повышение чувствительности методов ЛСКВ к изменениям скорости потока жидкости и минимизацию чувствительности к глубине залегания сосудов. Полученные результаты подтверждают и дополняют выводы [42], в частности, в отношении улучшения визуализации сосудов путем разделения статических и динамических компонентов спекл-сигнала посредством АГК-фильтрации. Эти методы могут быть полезны для диагностики и исследований в биомедицине, где требуется высокая точность, надежность и контрастность изображений.

### 3.4. Выводы

В данной главе был предложен и исследован метод улучшения качества визуализации сосудов с использованием лазерной спекл-контрастной и спекл-энтропийной визуализаций в сочетании с фильтрацией на основе метода АГК. Результаты показали, что применение АГК для предобработки исходных последовательностей спекл-изображений значительно повышает контрастность и четкость изображений сосудов за счет минимизации влияния спекл-сигнала от квазистатических рассеивателей, таких как поверхностные ткани. Исследования на оптических фантомах подтвердили, что метод эффективно разделяет статические и динамические компоненты спекл-сигнала, а также повышает чувствительность методов ЛСКВ к скорости кровотока и снижает их зависимость от глубины залегания сосуда. Для методов ЛСКВ с АГК-фильтрацией коэффициент корреляции Пирсона между параметром  $SFI(v)$  и линейной скоростью жидкости увеличился во всем диапазоне глубин сосудов (от 0.63 до 1.95 мм). В среднем, для ТД-ЛСКВ с АГК-фильтрацией средний коэффициент корреляции увеличился с 0.80 до 0.95, а для РД-ЛСКВ – с 0.78 до 0.92, что соответствует увеличению на 18.7% и 17.9% соответственно. Наибольший коэффициент корреляции наблюдался для ТД-st-ЛСКВ в сочетании с АГК – 0.99 на глубине 0.63 мм, снижаясь до 0.96 на глубине 1.95 мм. Между тем, ЛСЭВ в сочетании с АГК-фильтрацией не показал качественных улучшений при исследовании на оптических фантомах. Однако метод ЛСЭВ без АГК-фильтрации продемонстрировал более высокую корреляцию с линейной скоростью по сравнению с методами ЛСКВ без АГК: 0.83 против 0.80 для ТД-режима и 0.81 против 0.78 для РД-режима, соответственно.

Исследования *in vivo* на ухе лабораторной мыши подтвердили эффективность предложенного подхода, обеспечив получение значительно более подробных и контрастных изображений сосудистой сети.

Эти результаты подчеркивают способность метода оценивать относительную скорость кровотока практически независимо от глубины залегания сосудов, преодолевая одно из ключевых ограничений традиционных методов ЛСКВ.

Предложенный подход обладает большим потенциалом для неинвазивной биомедицинской визуализации, обеспечивая улучшенный диагностический потенциал,

надежность и контрастность при визуализации кровеносных сосудов. Эти результаты могут быть особенно ценными для развития использования ЛСКВ в клинической диагностике и биомедицинских исследованиях, где высокая точность и надежность мониторинга кровотока имеет важное значение.

## ГЛАВА 4. ЛАЗЕРНАЯ СПЕКЛ-КОНТРАСТНАЯ ТОМОГРАФИЯ: ПЕРЕХОД К ГЛУБИННО-РАЗРЕШАЮЩЕЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОСУДОВ

В данной главе разрабатывается подход к глубинно-разрешающей визуализации сосудистых структур на основе лазерной спекл-контрастной томографии, рассматриваемой как развитие ЛСКВ. Предлагаемый метод лазерной спекл-контрастной томографии (АГК-ЛСКТ), основанный на анализе главных компонент, позволяет одновременно и независимо картировать глубину залегания сосудов и относительную скорость кровотока без каких-либо изменений в оптической схеме классической ЛСКВ. Эксперименты на оптическом фантоме, содержащем модель сосуда и различными скоростями потока от 1 до 50 мм/с, демонстрируют высокую воспроизводимость глубинных профилей и сильную корреляцию между полученными картами глубины с помощью АГК-ЛСКТ и ультразвуковой томографии ( $r^2 = 0.90$  для ТД-режима,  $r^2 = 0.88$  для РД-режима). Предложенный подход был протестирован *in vivo* на безымянном пальце человека для проведения неинвазивной, бесконтактной, трехмерной ангиографии с разрешением по глубине.

### 4.1. Постановка задачи

Результаты главы 3 показывают, что АГК-декомпозиция исходного спекл-сигнала на статическую и динамическую компоненты позволяет минимизировать зависимость динамической метрики от толщины рассеивающего слоя над сосудом и повысить устойчивость и надежность оценки относительной скорости кровотока при изменении глубины сосуда.

Однако даже при глубиннонезависимой оценке относительной скорости в 2D-режиме остается принципиальная неоднозначность: две области с разной глубиной залегания сосудов могут давать близкие значения  $DAC$ , а интерпретация пространственной картины кровотока без информации о глубине залегания становится ограниченной. Для практических задач (например, сравнение сосудов в одной области интереса, контроль локальных изменений перфузии) часто полезна не только оценка изменения потока, но и оценка глубины, на которой располагается сосудистая структура.

Цель данной главы – разработать и обосновать метод АГК-ЛСКТ – подход, который использует АГК-фильтрацию и интерпретирует статическую и динамическую компоненты как отдельные каналы для: оценки относительной глубины залегания сосуда и оценки относительной скорости/перфузии с последующей реконструкцией глубинного профиля и квазитомографического представления сосудистой сети.

## 4.2. Методологическая основа АГК-ЛСКТ

### *АГК-фильтрация*

В главах 2 и 3 принято представление исходного спекл-сигнала в виде матрицы, где последовательность из  $N$  кадров (исходных спекл-изображений) разворачивается в матрицу  $X$  размера  $M \times N$  ( $M = P \times Q$  – число пикселей камеры), а сам сигнал трактуется как сумма статического и динамического вкладов и шума. Именно коррелированность исходных спекл-изображений во времени (объект глобально статичен, а динамический вклад локален) делает АГК логичным инструментом для выделения компонент.

АГК-фильтрация выполнялась по алгоритму, описанному в главе 2, аналогично главе 3. АГК-ЛСКТ- и АГК-ЛСКВ являются идентичными методами, которые используют АГК-декомпозицию исходного спекл-сигнала на статическую и динамическую компоненты с последующей реконструкцией двух наборов спекл-изображений. Различие между этими подходами появляется на стадии интерпретации и последующей реконструкции.

### *Разделение вклада глубины и скорости*

В классической ЛСКВ полный спекл-контраст формируется из смешанного сигнала, где присутствуют:

- Рассеяние на квазистатических рассеивателях (фон, поверхностные слои) – статическое рассеяние
- Рассеяние на динамических или движущихся рассеивателях (клетки крови) – динамическое рассеяние.

В главе 3 показано, что динамическая компонента после АГК-фильтрации –  $DAC$ , становится почти независимой от толщины рассеивающего слоя над сосудом (глубины залегания), тогда как исходный спекл-сигнал выражено зависит от глубины залегания сосуда в рассеивающем фантоме.

Для АГК-ЛСКТ ключевой шаг – это использование двух карт, получаемых при обработке одного массива последовательных спекл-изображений:

1. Статическая компонента: Значения статичного спекл-контраста, рассчитанного по последовательности спекл-изображений, реконструированного с использованием главных компонент из статичной группы, зависят от того сколько квазистатичного рассеяния «лежит над» сосудом и какова доля статического вклада в регистрации. Интуитивно: чем глубже сосуд, тем «тяжелее/больше» статическая компонента и тем сильнее маскируется динамическое рассеяние.
2. Динамическая компонента: коэффициент динамической активности преимущественно связан с движением рассеивающих частиц.

Таким образом АГК-ЛСКТ строится вокруг гипотезы: статическая компонента содержит информацию об относительной глубине залегания сосуда, динамическая компонента об относительной скорости потока. А их совместное использование позволяет восстановить относительную глубину залегания сосудистой структуры и одновременно оценить поток.

Под АГК-ЛСКТ понимается квазитомографический метод восстановления относительной глубины залегания сосудов из стандартного набора спекл-изображений без изменения оптической схемы и при допущении макро-однородности оптических свойств образца в пределах поля зрения, метод не решает полноценную обратную задачу переноса излучения и предназначен для подповерхностных слоев биотканей.

#### **4.3. Материалы и методы:**

##### **4.3.1. Оптическая установка ЛСКВ**

Последовательности спекл-изображений были получены при освещении образца с помощью диодного лазера (LaserLand, Китай;  $\lambda = 830$  нм, 200 мВт). Луч был расширен и пропущен через диффузор (LBTEK, Китай) для получения однородного распределения интенсивности, в поле зрения диаметром  $\sim 30$  мм. Исходные спекл-изображения были получены с помощью монохромной CMOS-камеры (TourTek, Китай;  $2048 \times 1536$  пикселей, 8 бит, размер пикселя 2.4 мкм), оснащенной объективом C-mount (Insein Li Fung, Китай). Визуализация проводилась с использованием скрещенных поляризаторов для подавления зеркальных отражений. Время экспозиции камеры было установлено на 3 мс, а изображения записывались со скоростью 110 кадров/с.

В ТД-режиме лазерный луч направлялся на зеркало и отражался по нормали на нижнюю плоскость оптического фантома. В РД-режиме лазер, оснащенный расширителем луча, освещал верхнюю плоскость фантома под углом  $45^\circ$ . Схема геометрий регистрации для ТД- и РД-режима показана на рисунке 4.1. Измерения в двух геометриях проводились последовательно без перемещения фантома: данные для ТД регистрировались во всем диапазоне скоростей потока, после чего данные для РД регистрировались только при одной скорости потока - 10 мм/с.

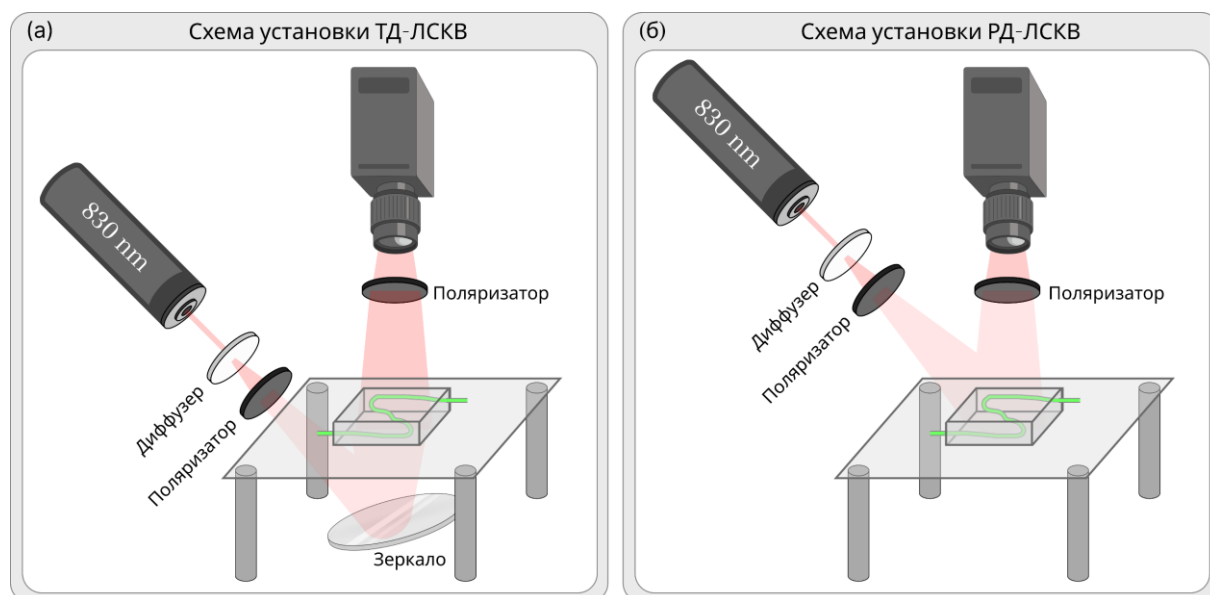


Рисунок 4.1. Схемы геометрий регистрации лазерной спекл-контрастной визуализации. (а) Установка с трансмиссионным детектированием (ТД-ЛСКВ): луч лазера с длиной волны 830 нм расширяется, проходит через матовый стеклянный рассеиватель и линейный поляризатор, перенаправляется зеркалом на нижнюю плоскость образца, а прошедшее спекл-поле регистрируется камерой через ортогональный анализатор. (б) Установка с рефлективным детектированием (РД-ЛСКВ): тот же лазерный луч, рассеиватель и входной поляризатор освещают образец сверху, а обратно отраженное спекл-поле регистрируется камерой через ортогональный анализатор.

#### 4.3.2. Оптический фантом

Основа оптического фантома была изготовлена из полидиметилсилоксана (ПДМС; Sylgard 184, Dow Corning, США), легированного наночастицами диоксида титана ( $\text{TiO}_2$ , средний диаметр частиц 387 нм) в концентрации 0.70 мг/мл. Смесь перемешивалась в течение 20 минут для обеспечения равномерного распределения рассеивающих частиц. Эластомерная капиллярная трубка (внутренний диаметр 500 мкм, внешний диаметр 1000 мкм) была согнута в S-образную форму и закреплена в пазах 3D-печатной формы из PLA пластика ( $25 \times 22 \times 5$  мм, толщина стенки 1 мм). Концы капилляра были выведены через боковые каналы для последующего подключения к инфузионному насосу (рис. 4.2). Затем смесь ПДМС заливалась в форму, заполняя объем вокруг капилляра, и отверждалась в течение 48 часов при 25 °С. Глубина залегания сосуда варьировалась от 0.4 до 4.5 мм по всей его длине. После отверждения образец извлекался из формы и промывался дистиллированной водой. Благодаря эластичности и механической упругости полидиметилсилоксана, оптический фантом также подходил для ультразвуковой томографии.

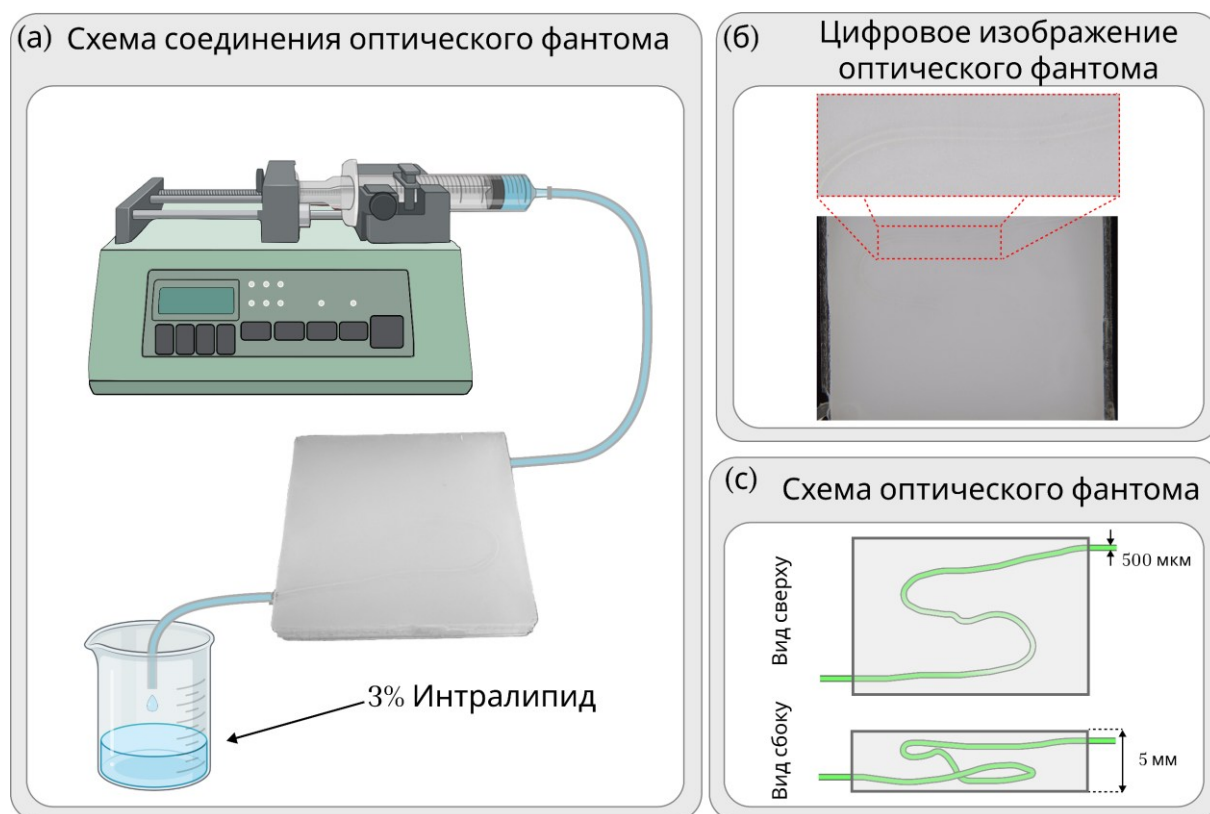


Рисунок 4.2. Оптический фантом и установка для подачи потока, используемые для валидации АГК-ЛСКТ. (а) Схема подключения: рассеивающий фантом ПДМС–TiO<sub>2</sub> соединен с инфузионным насосом через полиэтиленовую трубку; отток собирается в стакан. (б) Цифровое изображение рассеивающего оптического фантома с заполненным микроканалом; красный прямоугольник указывает на увеличенную область. (в) Схема оптического фантома: S-образный сосуд с переменной глубиной залегания.

После подготовки оптический фантом помещали на прозрачную стеклянную подставку в систему ЛСКВ и подключался к инфузионному насосу (SN-50F6, KranZ, Китай). В качестве оптического аналога крови использовался 3% водный раствор интралипида [42]. Раствор интралипида подавался через встроенный капилляр с объемной скоростью потока 0.7–34.1 мл/ч, что соответствовало линейным скоростям в капилляре 1, 5, 10, 20 и 50 мм/с. После каждого изменения скорости потока выдерживалась пауза в течение  $\approx 90$  с для обеспечения устойчивого ламинарного потока.

Подготовленный фантом из ПДМС–TiO<sub>2</sub>, обладающий заданными оптическими свойствами и контролируемым потоком через капилляр, обеспечивал воспроизводимую платформу для проверки АГК-ЛСКТ и сравнения получаемых карт глубины залегания сосуда с данными ультразвуковой томографии.

### 4.3.3. Алгоритм обработки данных

Для каждой рассматриваемой скорости потока раствора интралипида была записана последовательность из  $N = 75$  спекл-изображений. Каждый кадр был преобразован в одномерный вектор длиной  $M = H \times W$ , где  $H$  и  $W$  – высота и ширина кадра (в пикселях). Таким образом последовательность спекл-изображений представлялась в виде матрицы  $X$  (размером  $M \times N$ ). К  $X$  применялась АГК-фильтрация, как описано в главе 2. Полученные главные компоненты были разделены на статические и динамические группы с использованием критерия Кайзера-Гуттмана. Наконец, два массива спекл-изображений были реконструированы путем обратного проецирования статичного и динамического набора главных компонент. Для данных массивов были рассчитаны карты статического спекл-контраста ( $SSC$ ) и коэффициента динамической активности ( $DAC$ ), соответственно. Краткая схема процесса АГК-декомпозиции и реконструкции представлена на рисунке 4.3.

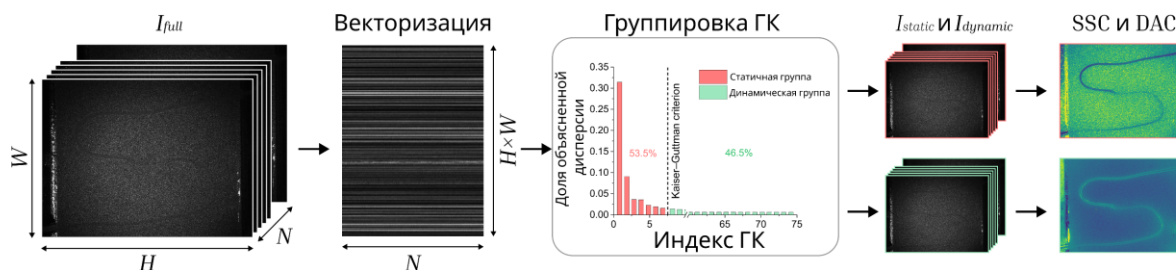


Рисунок 4.3. Упрощенная схема конвейера обработки данных АГК-ЛСКТ. Исходные кадры спеклов ( $I_{full}$ ) преобразуются в двумерную матрицу ( $H \times W \times N$ ) и разлагаются методом АГК. Главные компоненты сортируются по их собственным значениям, а критерий Кайзера-Гуттмана используется для разделения на статичные (красные) и динамические (зеленые) группы. Соответствующие подмножества компонентов проецируются обратно для формирования статических ( $I_{static}$ ) и динамических ( $I_{dynamic}$ ) последовательностей спекл-изображений, из которых рассчитываются карты  $SSC$  и  $DAC$ .

Из исходной последовательности спекл-изображений ( $I_{full}$ ) были получены два дополнительных массива – массив статичного спекл-сигнала ( $I_{static}$ ) и массив динамического спекл-сигнала ( $I_{dynamic}$ ). Для каждого стека были рассчитаны карты локального среднего значения ( $\mu$ ) и стандартного отклонения ( $\sigma$ ) с использованием скользящего окна размером  $7 \times 7 \times N$  пикселей ( $7 \times 7$  пикселей в пространственной плоскости,  $N$  кадров во времени). Полный спекл-контраст ( $FSC$ ), который отражает как статические, так и динамические флуктуации интенсивности, был определен согласно (2.13).

Коэффициент  $SSC$  количественно определяет изменчивость интенсивности, создаваемую квазистатическими рассеивателями, и определяется согласно (2.14).

*DAC* отражает относительный вклад движущихся рассеивателей в каждом пикселе и рассчитывался с помощью (2.15).

Для уменьшения высокочастотного шума к картам *FSC*, *SSC* и *DAC* применялся фильтр анизотропной диффузии [120] ( $\lambda = 0.2$ ; 200 итераций). Анизотропная диффузионная фильтрация (АДФ) – это нелинейный метод пространственного сглаживания, при котором сглаживание выполняется преимущественно внутри однородных областей изображения и подавляется вблизи резких границ. Поэтому фильтр уменьшает мелкомасштабный шум на картах *FSC*, *SSC* и *DAC*, но в меньшей степени размывает границы сосудистых структур, чем обычное гауссово или среднее сглаживание.

Теоретическая связь между спекл-контрастом и параметрами потока описывает как, например [17]:

$$FSC^2 \equiv SC^2 = \beta \left[ \begin{array}{l} \rho^2 \frac{e^{-2x^2} + \sqrt{2\pi} \operatorname{erf}(\sqrt{2}x)x - 1}{2x^2} + \\ + 2\rho(1 - \rho) \frac{e^{-x^2} + \sqrt{\pi} \operatorname{erf}(x)x - 1}{x^2} + (1 - \rho)^2 \end{array} \right], \quad (4.1)$$

где  $x = T/\tau_c$ , (где  $T$  – время экспозиции камеры, а  $\tau_c$  – время декорреляции спеклов),  $\beta$  – инструментальный коэффициент,  $\operatorname{erf}(x)$  – функция ошибок, определяемая как:  $\operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-t^2} dt$ ,  $\rho$  – доля динамически рассеянного света:

$$\rho = \frac{\langle I_d \rangle}{\langle I_d \rangle + \langle I_s \rangle}, \quad (4.2)$$

где  $I_d$  – интенсивность света, рассеянного динамическими рассеивателями, а  $I_s$  – интенсивность света, рассеянного статическими рассеивателями.

Уравнение (4.1) учитывает вклад статического рассеяния в дополнение к динамическому члену  $\rho$ , поэтому полный контраст спекла можно рассматривать как:

$$FSC = F(V, \mu_s, \text{depth}), \quad (4.3)$$

где  $V$  (через время декорреляции  $\tau_c$ ) – скорость потока,  $\mu_s$  – коэффициент рассеяния, а *depth* – толщина статического слоя ткани над сосудом. После АГК-фильтрации можно ожидать:

$$SSC = G(\mu_s, \text{depth}), \quad (4.4)$$

$$DAC = H(V). \quad (4.5)$$

Таким образом, *FSC* представляет собой общий («полный») спекл-контраст; *SSC* выделяет спекл-контраст, заданный квазистатической морфологией ткани. *DAC* затем обеспечивает прямое количественное измерение динамического сигнала крови в той же области интереса. Поскольку *SSC* и *DAC* в значительной степени независимы (свойство АГК), их можно объединить физически прозрачным способом для извлечения информации о перфузии с разрешением по глубине. В частности, если предположить, что коэффициент рассеяния  $\mu_s$  является однородным, *SSC*

становится показателем относительной глубины залегания сосуда, инвариантным относительно скорости кровотока.

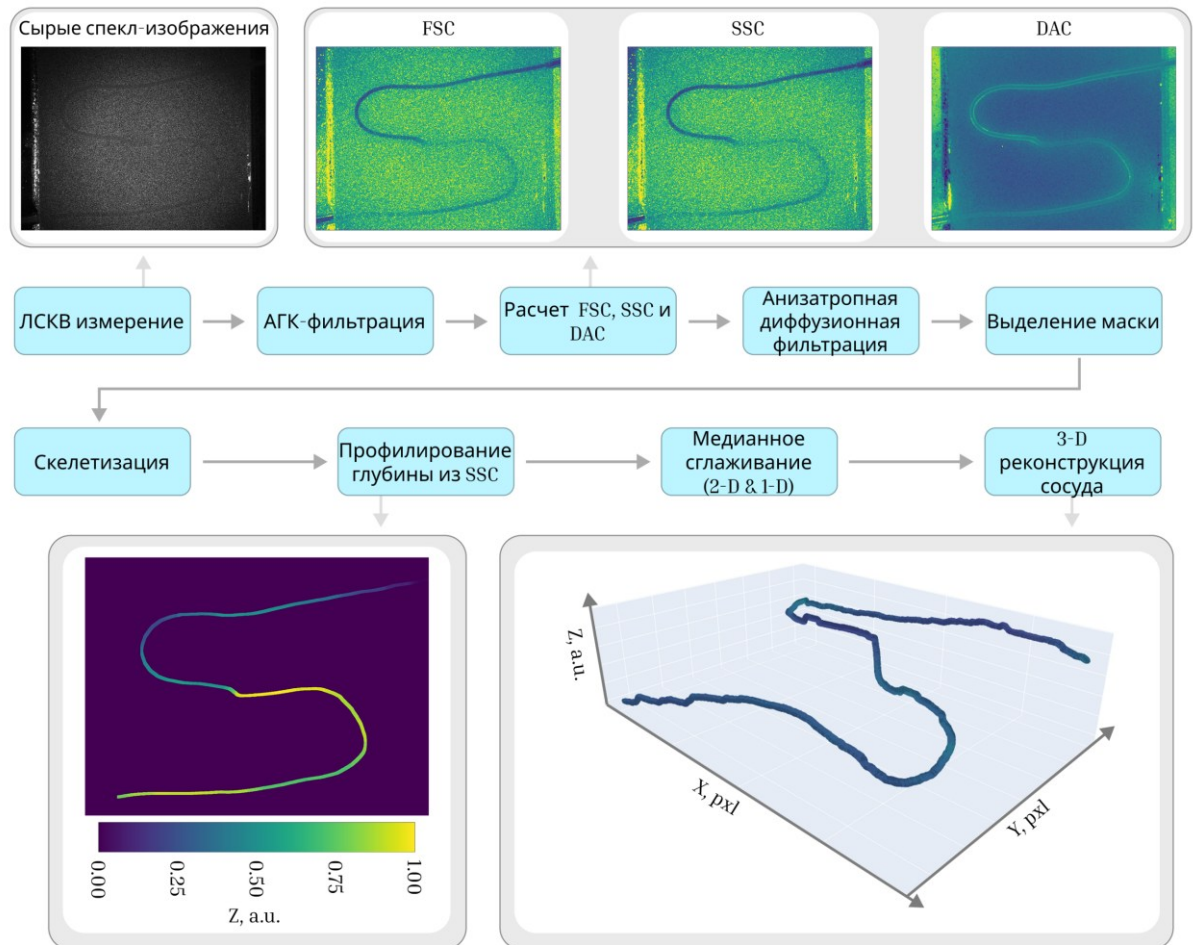


Рисунок 4.4. Блок-схема полного алгоритма трехмерной реконструкции сосудов методом АГК-ЛСКТ. Исходный набор спекл-кадров сначала подвергается АГК-фильтрации, после чего вычисляются карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ . Затем применяется анизотропная диффузионная фильтрация, за которой следует сегментация сосудов для получения бинарной маски. Профиль глубины, извлеченный из карты  $SSC$ , вместе со скелетизацией маски и последующим двумерным и одномерным медианным сглаживанием, используется для построения трехмерного изображения сосудистой сети. Цветовая шкала кодирует локальное значение  $DAC$  вдоль центральной линии сосуда.

По картам  $DAC$  выделялись бинарные маски сосудов с помощью разработанного интерактивного редактора, а затем по бинарным маскам выполнялась операция скелетизации для извлечения центральной линии сосуда. В каждой точке скелета локальный диаметр  $D(x,y)$  рассчитывался как  $D(x,y)=2R$ , где  $R$  – минимальное евклидово расстояние от точки на скелете до границы маски. Карта  $SSC$  внутри маски служила параметром относительной глубины залегания сосуда. Для уменьшения шума значения  $SSC$  сначала подвергались двукратной медианной

фильтрации, сначала в круговой окрестности радиуса  $R$  с центром в каждой точке скелета, а затем сглаживались вдоль скелета с помощью одномерного медианного окна длиной 50 пикселей. Для трехмерной реконструкции глубина, присвоенная каждой точке скелета, представляла собой сглаженное значение  $SSC$ ; предполагая круглое поперечное сечение сосуда, диски диаметром  $D$  выдавливались вдоль центральной линии для формирования цилиндрической модели сосуда. Полученная поверхность сосуда окрашивалась согласно локальным значениям  $DAC$  в заданной цветовой палитре. Для облегчения локализации сосудистой сети и сравнения с результатами ультразвуковой томографии были построены проекции сосудов: вид сверху ( $X, Y$ ) и сбоку ( $X, Z$ ). Профили  $DAC$  и  $SSC$  вдоль центральной линии сосуда были проанализированы для оценки чувствительности и стабильности метрик в диапазоне скоростей 1–50 мм/с для ТД-ЛСКТ. Блок-схема процесса трехмерной реконструкции показана на рисунке 4.4.

#### 4.3.4. Ультразвуковая томография

Для независимой проверки карт глубины залегания сосуда, полученных с помощью АГК-ЛСКТ, была проведена кросс-модальная верификация с помощью ультразвуковой томографии (УЗТ) оптического фантома. Линейный ультразвуковой датчик (В-режим; центральная частота 18 МГц; ширина окна визуализации 30 мм; глубина зондирования 20 мм, осевое разрешение  $\approx 110$  мкм) был установлен вертикально на лабораторном штативе. Датчик выполнял поперечное 2D-сканирование, получая один аксиальный срез (плоскость  $XZ$ ) толщиной  $\approx 0.2$  мм. Фантом, содержащий изогнутый сосуд, был закреплен на микрометровом трансляционном столике, который перемещался вдоль оси  $Y$  с шагом 120 мкм; после каждого шага записывался УЗИ-скан. В общей сложности было получено около 180 кадров, охватывающих  $\approx 30 \times 22$  мм<sup>2</sup>.

Для каждого кадра ультразвукового исследования оператор с помощью интерактивного редактора ImageJ вручную выделял на каждом изображении область интереса (ОИ), соответствующую внутреннему просвету сосуда. Полученные ОИ формировали трехмерный бинарный набор масок  $M_{US}(x, y, z)$ . Центральная линия сосуда была получена путем морфологической скелетизации этого набора, а продольный профиль глубины  $z(s)$  был оценен и принят в качестве эталонного стандарта для сравнения с АГК-ЛСКТ. Таким образом, ультразвуковая томография предоставляла набор эталонных срезов с интервалом 120 мкм, на основе которых были сгенерированы проекции вида сверху и сбоку, а также профиль глубины сосуда для количественной оценки корреляции с предлагаемым оптическим методом.

### 4.3.5. Нормализация и статистический анализ

Для объективного сравнения АГК-ЛСКТ с ультразвуковой томографией профили глубины залегания вдоль центральной линии сосуда были преобразованы в безразмерные, нормированные шкалы:

$$d_{US}(s) = \frac{z_{US}(s) - \min(z_{US})}{\max(z_{US}) - \min(z_{US})}, \quad (4.6)$$

$$d_{LSC}(s) = \frac{SSC(s) - \min(SSC)}{\max(SSC) - \min(SSC)}. \quad (4.7)$$

Эта нормализация позволила устранить зависимость от абсолютных оптических свойств фантома и соответствует предполагаемому применению АГК-ЛСКТ в качестве метода оценки относительной (функциональной) глубины залегания сосуда.

Согласованность между методами оценивалась с помощью анализа Бланда-Альтмана [121, 122]. Для этого были рассчитаны различия между  $d_{LSC}$  и  $d_{US}$ , среднее смещение и 95%-ные пределы согласия (LoA) (доверительные интервалы).

### 4.3.6. Демонстрация *in vivo*

Для демонстрации работы метода *in vivo* была проведена визуализация кожи безымянного пальца между дистальной и средней фалангами у здорового 27-летнего мужчины добровольца, имеющего II фототип кожи по шкале Фицпатрика [123], при комнатной температуре (22–24 °C) после ~20-минутной акклиматизации. На момент проведения исследования доброволец не сообщил о каких-либо сердечно-сосудистых или дерматологических заболеваниях. Получение данных ЛСКВ проводилось в ТД-режиме, лазер освещал участок кожи диаметром  $\approx 1$  см. Данные обрабатывались с использованием того же алгоритма анализа, что и в эксперименте с оптическим фантомом. В пределах небольшого поля зрения измерения проводились, исходя из предположения, что оптические свойства ткани практически однородны и что изменения  $SSC$  в основном обусловлены различной глубиной залегания сосудов. Измерение *in vivo* на безымянном пальце здорового взрослого добровольца проводилось в соответствии с Декларацией Хельсинки и было одобрено местным этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 11 от 07.06.2022).

## 4.4. Результаты

На рисунке 4.5 представлены карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ , полученные с помощью ТД-ЛСКВ для S-образного модельного сосуда, сегменты которого расположены на различной глубине в рассеивающем фантоме. Пять столбцов соответствуют заданным скоростям перфузии 1, 5, 10, 20 и 50 мм/с. По мере увеличения скорости потока среднее значение  $FSC$  внутри сосуда монотонно

уменьшается, отражая постепенное размытие спекл-картины, создаваемой более быстро движущимися рассеивателями. В то же время  $FSC$  растет с глубиной: более глубокий горизонтальный сегмент канала демонстрирует более высокие значения  $FSC$ , чем поверхностный сегмент, что указывает на дополнительный вклад многократного рассеяния и меньшую долю света, рассеиваемого непосредственно сосудом. После удаления динамической компоненты карты  $SSC$  практически идентичны для всех пяти скоростей потока. Таким образом,  $SSC$  представляет собой в основном вклад статических рассеивателей в оптическом фантоме и, как и ожидалось, выступает в качестве индикатора глубины залегания сосуда. В то время как, показатель  $DAC$  снижается с увеличением скорости перфузии (от яркого, насыщенного зеленого при 1 мм/с до приглушенного синего при 50 мм/с), но при этом остается лишь слабо зависящим от глубины залегания сосуда вдоль извилистого пути.

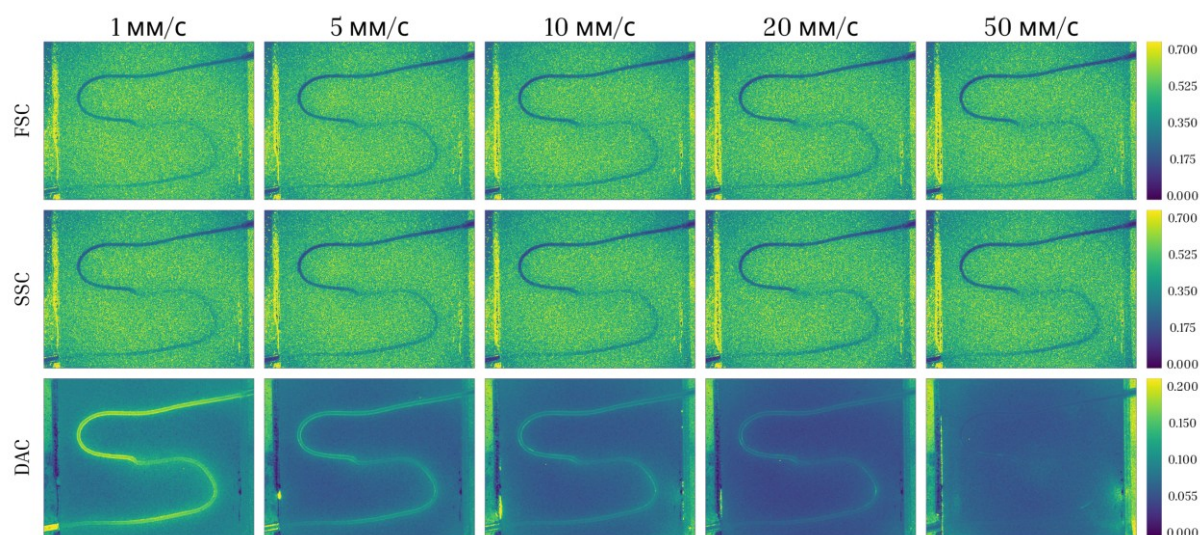


Рисунок 4.5. Лазерная спекл-контрастная визуализация в режиме пропускания (ТД-ЛСКВ). Карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  для S-образного сосуда, встроенного на разную глубину в рассеивающий фантом, показаны для пяти скоростей перфузии (1, 5, 10, 20 и 50 мм/с).

На рисунке 4.6 сравниваются значения  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ , полученные с помощью ТД-ЛСКВ при скорости потока 10 мм/с до анизотропной диффузионной фильтрации (без АДФ) и после фильтрации (с АДФ). На картах  $FSC$  и  $SSC$  без фильтрации заметен мелкозернистый шум; АДФ позволяет эффективно подавить этот шум, делает границы сосудов более четкими и обеспечивает более однородный фон. Средние значения  $FSC$  и  $SSC$  изменяются лишь незначительно, что указывает на то, что фильтр сохраняет фотометрическую точность, обеспечивая при этом пространственное сглаживание. По сравнению с  $FSC$ , карта  $DAC$  уже демонстрирует гораздо более высокий контраст между сосудами и фоном. Применение АДФ дополнительно удаляет локальные артефакты, возникающие из-за неоднородностей рассеяния в фантоме, сохраняя при

этом отмеченную ранее инвариантность по глубине. Одномерные вертикальные профили под изображениями отображают исходные данные в виде точек (до АДФ), а данные, обработанные с помощью АДФ, – в виде сплошных линий. Заметное различие между поверхностным и глубоким сегментами сохраняется в профиле  $FSC$ , но в значительной степени исчезает в профиле  $DAC$ . Вдоль вертикального профиля  $FSC$  и  $DAC$  монотонно уменьшаются с увеличением потока, тогда как  $SSC$  остается практически неизменным при изменении скорости потока, что согласуется с его происхождением от статического рассеяния. В самом глубоко залегаемом сегменте сосуда распределения значений  $DAC$  становится шире и немного ниже, что указывает на остаточную слабую зависимость от глубины из-за большего многократного рассеяния и ограниченной глубины резкости объектива, когда объектив сфокусирован на поверхность фантома. За пределами границ сосуда  $DAC$  демонстрирует небольшое, но ожидаемое динамическое «галло», поскольку многократно рассеянные фотоны, взаимодействовавшие с потоком, регистрируются за пределами геометрического поперечного сечения сосуда; ненулевой инструментальный уровень сигнала также вносит вклад в фоновый шум. При максимальной скорости (50 мм/с) и фиксированной экспозиции  $T$  система приближается к режиму  $T/\tau_c \gg 1$  [16, 17, 74], смещая динамические показатели к их нижнему плато и приближая внутрисосудистый  $DAC$  к фоновому уровню.

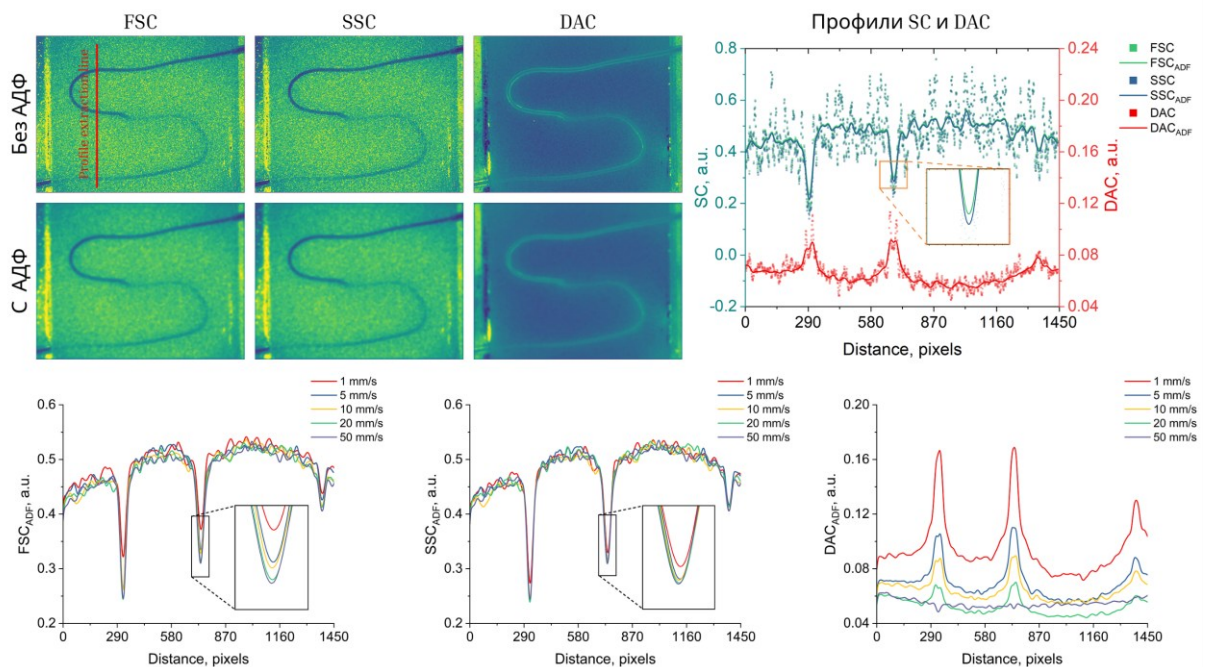


Рисунок 4.6. Карты и вертикальные профили ЛСКВ-метрик при пяти скоростях потока (1, 5, 10, 20, 50 мм/с). Вверху: карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  без и с анизотропной диффузионной фильтрацией (АДФ) при скорости потока 10 мм/с; красная линия указывает линию, по которой извлекался вертикальный профиля. Справа: совместный график профилей, показывающий  $FSC/SSC/DAC$

вдоль одной и той же вертикальной линии, точками указаны данные без АДФ, сплошной линией после АДФ. Внизу: вертикальные профили для всех пяти скоростей, построенные вместе для *FSC*, *SSC* и *DAC*.

На рисунке 4.7 (Вверху слева) показан одномерный профиль *SSC*, построенный вдоль центральной линии сосуда для пяти скоростей потока (1, 5, 10, 20 и 50 мм/с), полученных с помощью ТД-ЛСКВ. Кривые практически накладываются друг на друга: наибольшее расхождение между любыми двумя скоростями составляет  $\leq 6\%$  от среднего значения. На правых панелях представлены трехмерные реконструкции сосуда, раскрашенные согласно локальным значениям *DAC*; геометрия была сгенерирована с помощью алгоритма ТД-АГК-ЛСКТ. Хотя скорость потока изменяется в диапазоне от 1 до 55 мм/с, распределение *SSC* остается инвариантным по форме: характерные минимумы на поверхностных участках и максимумы на более глубоких участках практически не изменяются.

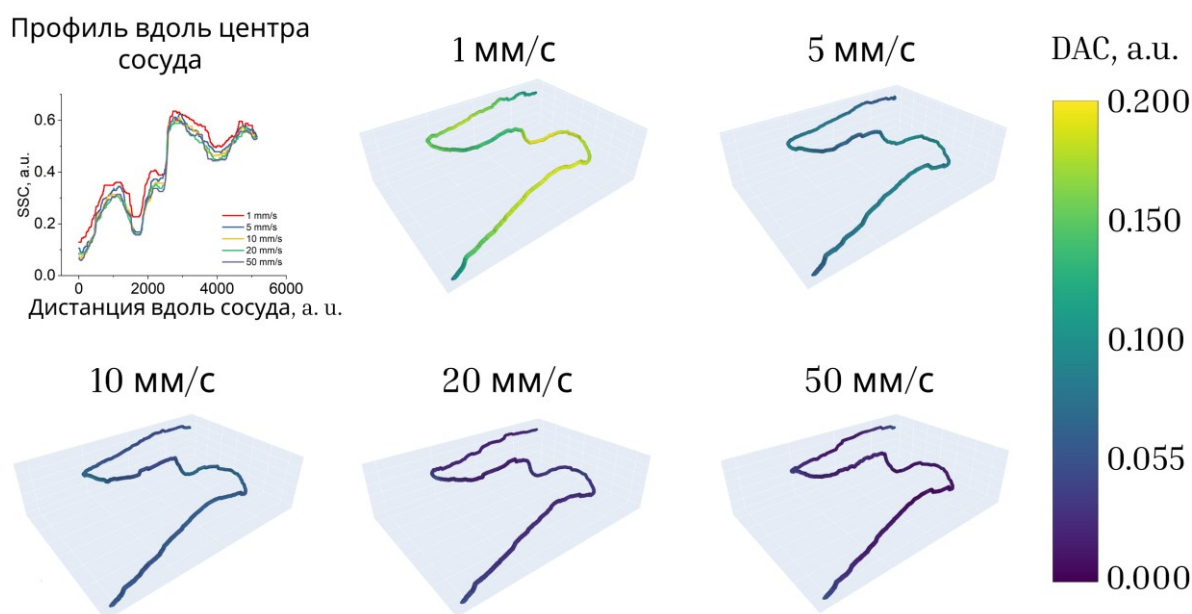


Рисунок 4.7. Одномерные профили *SSC*, построенные вдоль центральной линии сосуда (верхняя левая панель), и трехмерные реконструкции сосуда, раскрашенные по *DAC*, для пяти скоростей перфузии – 1, 5, 10, 20 и 50 мм/с – полученные с помощью ТД-АГК-ЛСКТ.

На рисунке 4.8 сравниваются траектории сосудов, реконструированные с помощью АГК-ЛСКТ в ТД- и РД-режимах, с эталонным контуром, полученным с помощью ультразвуковой томографии. На рисунке 4.8 отображаются проекции вида сверху (*XY*) и вида сбоку (*XZ*); цветная шкала кодирует расстояние от соответствующей плоскости взгляда до центральной линии сосуда. Обе оптические реконструкции точно воспроизводят характерный S-образный контур сосуда, фиксируя его изгибы и вариации глубины залегания без макроскопических разрывов, хотя

локально видны слабые артефакты, напоминающие ступенчатую структуру. Качественно траектория ТД-АГК-ЛСКТ наиболее точно совпадает с эталонным контуром, полученным с помощью УЗТ.

На рисунке 4.9 представлены одномерные профили глубины залегания, полученные вдоль центральной линии сосуда. Сплошная красная кривая представляет собой средний профиль, полученный с помощью ТД-АГК-ЛСКТ, а полупрозрачная красная огибающая показывает его стандартное отклонение, рассчитанное для пяти скоростей потока (1–50 мм/с). Синяя кривая показывает профиль РД-АГК-ЛСКТ, измеренный при 10 мм/с, а зеленая кривая представляет собой эталонный профиль ультразвуковой томографии. Результаты ТД-АГК-ЛСКТ сильно коррелирует с УЗТ с коэффициентом детерминации  $r^2 = 0.90$ , а его стандартное отклонение остается ниже 0.06–0.08 отн.ед., что подтверждает воспроизводимость оценки относительной глубины залегания во всем диапазоне рассматриваемых скоростей потока жидкости. Коэффициенты детерминации составляют  $r^2 = 0.88$  между РД-АГК-ЛСКТ и УЗТ и  $r^2 = 0.96$  между ТД- и РД-режимами регистрации АГК-ЛСКТ. Средняя абсолютная процентная ошибка (МАРЕ) составляет 15.1% для ТД-АГК-ЛСКТ и 15.9% для РД-АГК-ЛСКТ.

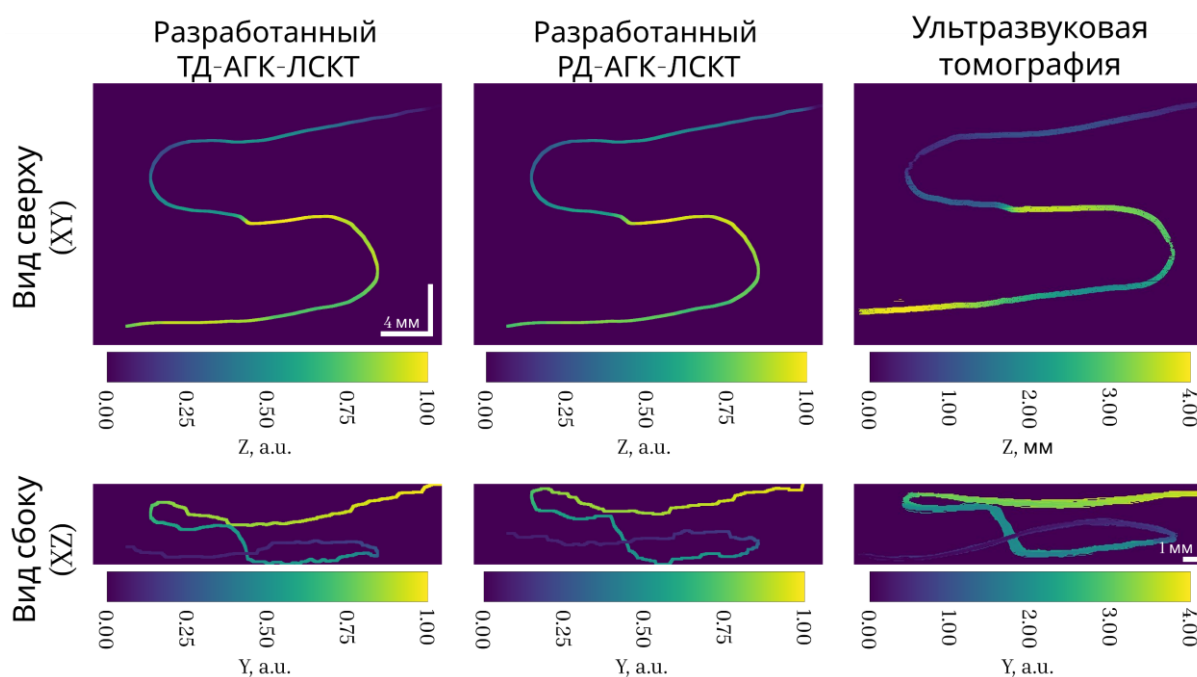


Рисунок 4.8. Пространственная реконструкция модели сосуда, полученная с помощью лазерной спекл-контрастной томографии с анализом главных компонент (АГК-ЛСКВ) в режимах ТД и РД, в сравнении с эталонным контуром, полученным с помощью ультразвуковой томографии (УЗТ). На левых панелях показаны проекции вида сверху ( $XY$ ) и вида сбоку ( $XZ$ ); цветовая шкала кодирует расстояние до сосуда от плоскости проекции.

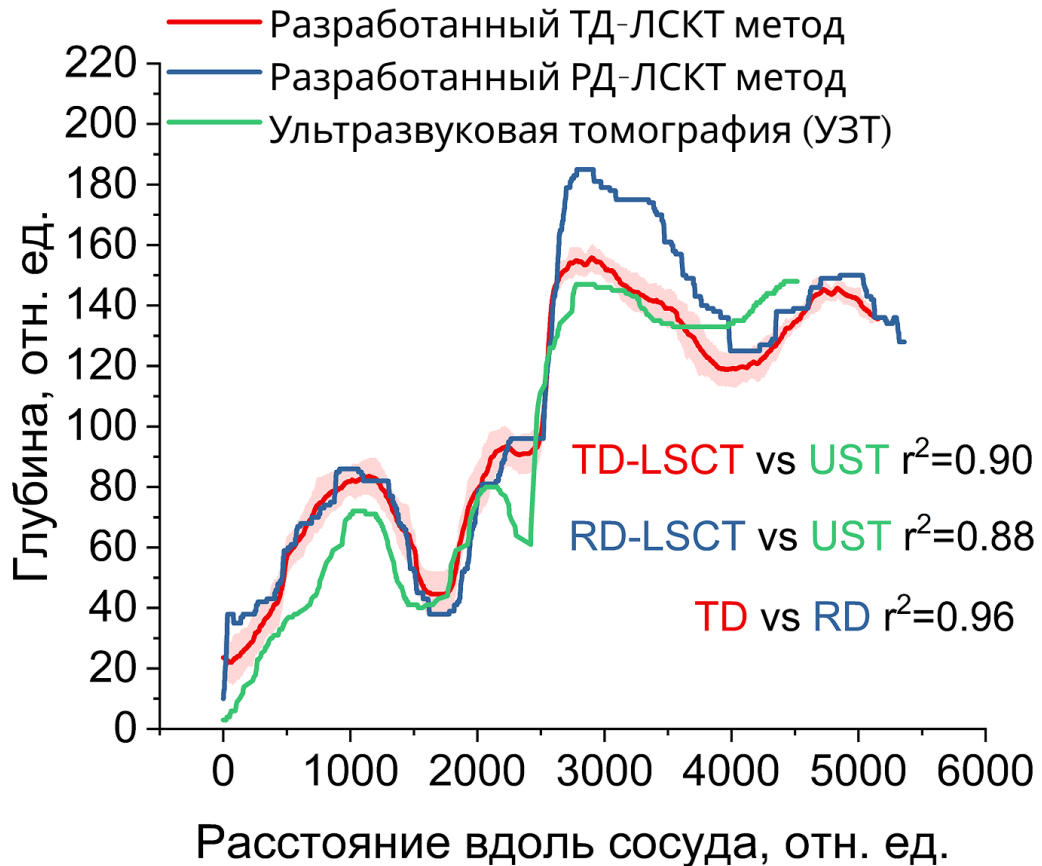


Рисунок 4.9. Продольный профиль относительной глубины залегания сосуда, построенный вдоль центральной линии сосуда. Красная кривая – ТД-АГК-ЛСКТ, усредненный по пяти скоростям перфузии (1, 5, 10, 20 и 50 мм/с); синяя кривая – РД-АГК-ЛСКТ при 10 мм/с; зеленая кривая – эталонный профиль, полученный с помощью ультразвуковой томографии.

В дополнение к корреляционным метрикам был проведен анализ Бланда-Альтмана между нормализованными глубинами, оцененными с помощью АГК-ЛСКТ и УЗТ (рисунок 4.10). Для ТД-АГК-ЛСКТ смещение составило -0.052 отн.ед. с 95% пределами согласия [-0.214; 0.109] отн.ед.; для РД-АГК-ЛСКТ смещение составило -0.060 отн.ед. и пределы согласия [-0.276; 0.155] отн.ед. Хотя среднее смещение невелико, разброс разностей немного увеличивается с глубиной: абсолютные ошибки минимальны в неглубоких сегментах и умеренно возрастают по направлению к самым глубоким частям, особенно в РД-АГК-ЛСКТ. Такое поведение согласуется с уменьшением отношения сигнал/шум и усилением доли многократного рассеяния на больших глубинах в режиме отражения. Для данного фантома, где диапазон глубины ультразвукового исследования составляет приблизительно 4 мм, эти пределы согласия соответствуют приблизительно  $\pm 0.64$  мм (ТД) и приблизительно  $\pm 0.88$  мм (РД).

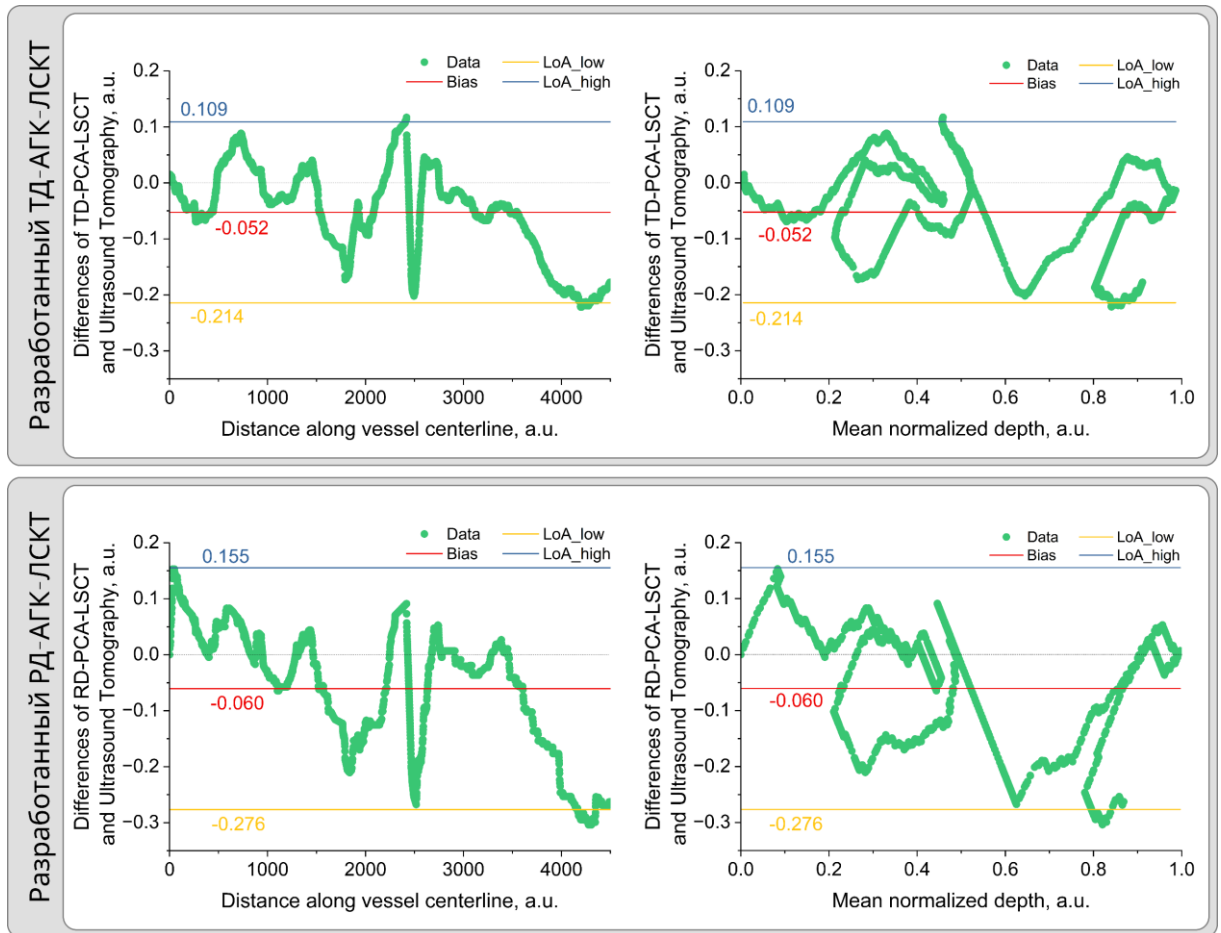


Рисунок 4.10. Согласование Бланда-Альтмана между АГК-ЛСКТ и ультразвуковой томографией для нормализованной глубины залегания сосудов. Верхний ряд: ТД-АГК-ЛСКТ; нижний ряд: РД-АГК-ЛСКТ. Левая часть: разница  $d_{LSCCT}$  и  $d_{US}$  вдоль центральной линии; правая часть: классические графики разницы в зависимости от среднего значения.

На рисунке 4.11 показаны продольные профили  $FSC$  и  $DAC$ , построенные вдоль центральной линии сосуда (верхний ряд), вместе с соответствующими распределениями значений (нижний ряд) для пяти скоростей перфузии – 1, 5, 10, 20 и 50 мм/с – зарегистрированных с помощью ТД-ЛСКВ. Кривые  $FSC$  лишь умеренно реагируют на увеличение скорости потока: их амплитуда возрастает не более чем на  $\approx 15\%$ , а соседние кривые частично перекрываются. Локальные максимумы и минимумы совпадают с изменениями глубины, представленные на рисунке 4.6–4.8. В отличие от этого, кривые  $DAC$  демонстрируют монотонную зависимость от скорости потока: увеличение скорости с 1 до 50 мм/с приводит к  $\approx$  шестикратному снижению среднего значения ( $0.18 \rightarrow 0.02$  отн.ед.). Общая форма каждого профиля остается практически неизменной вдоль канала; небольшие острые пики отражают остаточные артефакты изображения. Значения  $FSC$  образуют широкие, сильно перекрывающиеся колоколообразные распределения, тогда как значения  $DAC$  группируются в более узкие, хорошо разделенные группы, что позволяет легко дифференцировать скорость потока. Самая низкая скорость (1 мм/с)

демонстрирует наибольший разброс, скорее всего, потому что очень медленные спекл-паттерны не полностью отделяются от статического подпространства во время АГК-фильтрации, что приводит к недооценке  $DAC$  и повышению уровня шума.

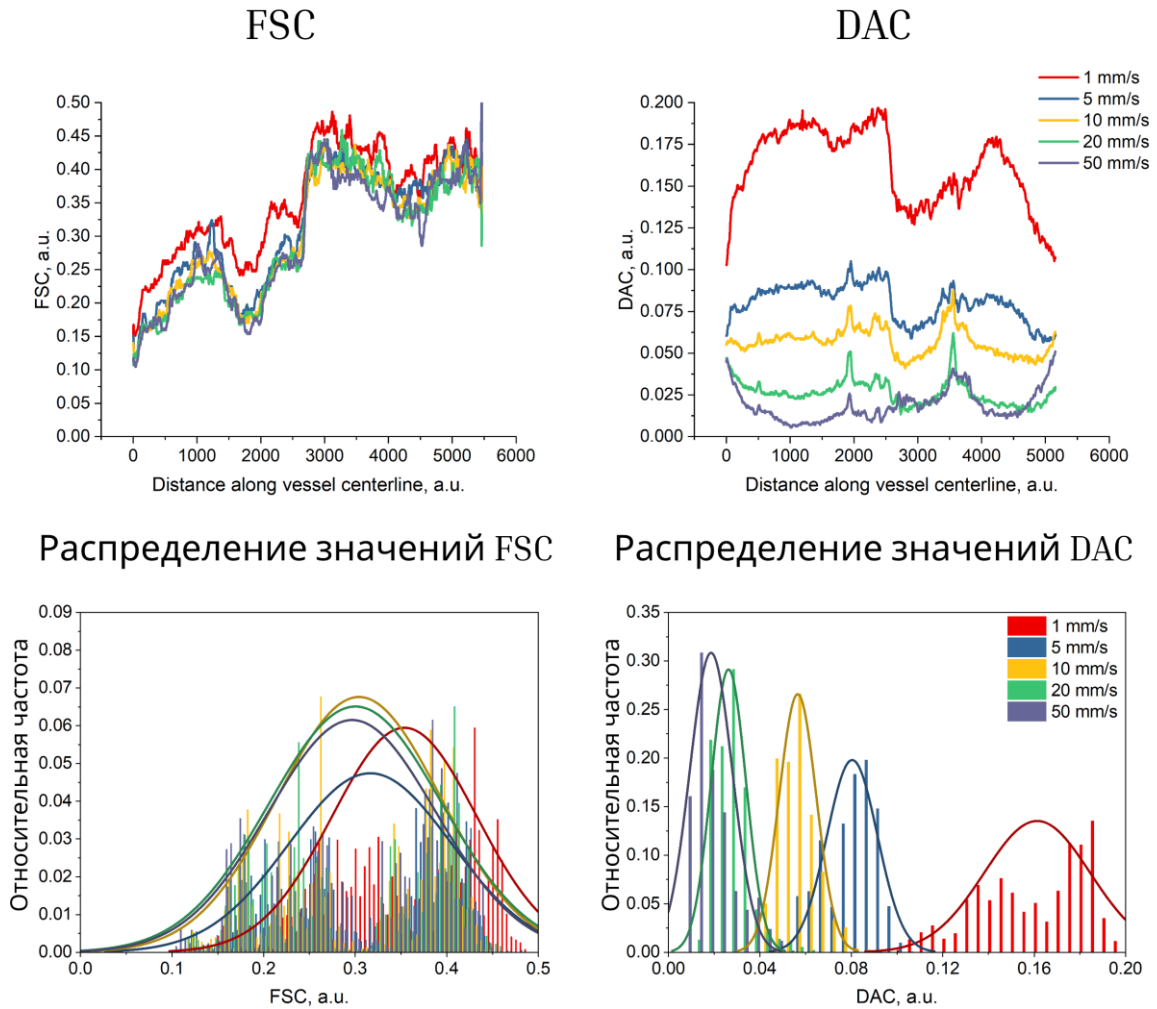


Рисунок 4.11. Верхний ряд: продольные профили  $FSC$  (слева) и  $DAC$  (справа), построенные вдоль центральной линии сосуда для пяти скоростей перфузии (1, 5, 10, 20 и 50 мм/с). Нижний ряд: нормированные гистограммы соответствующих значений  $FSC$  и  $DAC$  вместе с гауссовыми аппроксимациями.

Для оценки практической применимости ЛСКТ была проведена визуализация кожи безымянного пальца со стороны ладони – между дистальной и средней фалангами – здорового добровольца. Верхний ряд рисунка 4.12 показывает карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ , рассчитанных на основе записанной последовательности спекл-изображений. Карта  $DAC$  избирательно выделяет перфузированные области и подавляет статические структуры, такие как дерматоглифы и небольшие пузырьки воздуха в контактном геле, что позволяет получить очищенную карту потока. На нижнем левом рисунке представлены цифровые фотографии области интереса: (i) при

белом неполяризованном освещении и (ii) при кросс-поляризованном освещении, с контактным гелем и покровным стеклом, устраняющими артефакты зеркального отражения и улучшающими оптическое согласование показателей преломления. Красный прямоугольник указывает поле зрения ЛСКТ. Из полученной с помощью *DAC* маски сосудов была скелетизирована сосудистая сеть, каждой точке скелета были присвоены значения глубины из карты *SSC*, и сеть была визуализирована в 3D (нижний центральный и нижний правый рисунки). Полученные данные охватывают глубину  $\approx 0-1.00$  отн.ед., что  $\sim$  соответствует слою дермы, а геометрия ветвления соответствует анатомической структуре поверхностного сосудистого сплетения. Эти результаты демонстрируют, что ЛСКТ обеспечивает бесконтактную трехмерную ангиографию с разрешением по глубине *in vivo* без использования экзогенных контрастных веществ. Использование кросс-поляризации вместе с контактным гелем минимизирует поверхностные артефакты и улучшает отношение сигнал/шум при визуализации кожи.

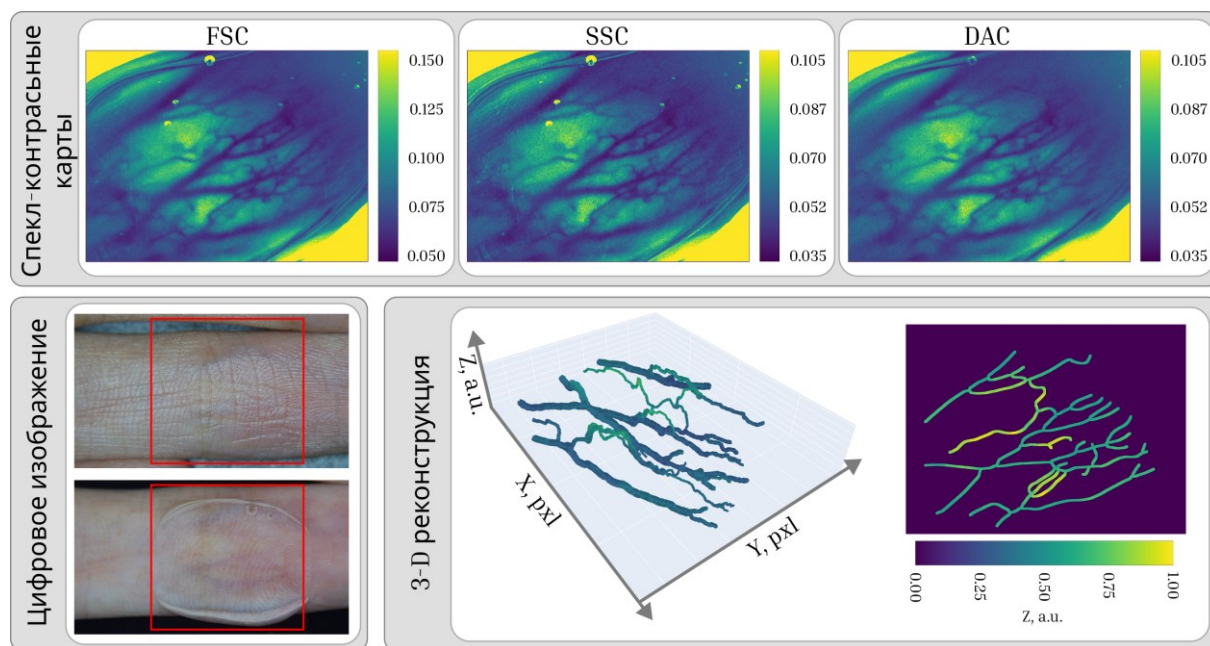


Рисунок 4.12. Демонстрация применения АГК-ЛСКТ *in vivo* на коже безымянного пальца, между дистальной и средней фалангами. Верхний ряд – карты *FSC*, *SSC* и *DAC*. Нижний левый столбец – цифровое изображение интересующей области при (i) неполяризованном освещении и (ii) кросс-поляризованном освещении и использованием контактного геля и покровного стекла; красный прямоугольник обозначает поле зрения ЛСКТ. Панели в центре внизу – трехмерная реконструкция сосудистой сети с кодированием относительной глубины залегания, окрашенная по *DAC*. Правая панель – проекция сверху той же сети с цветным кодированием глубины.

Предложенный метод АГК-ЛСКТ является первым, сочетающим аппаратную простоту классической ЛСКВ с квазитомографическими возможностями определения относительной глубины залегания сосудов, реализованными полностью только с помощью программного

обеспечения. Разделяя спекл-контраст на его статическую (*SSC*) и динамическую (*DAC*) компоненты, метод позволяет получать независимые оценки глубины залегания сосуда (из *SSC*) и скорости кровотока (из *DAC*), тем самым устраняя смешение факторов глубины и скорости, которая ограничивает традиционную метрику ЛСКВ – полного спекл-контраста. Эксперименты с рассеивающим фантомом толщиной 5 мм показали хорошее соответствие с ультразвуковой томографией: ТД-АГК-ЛСКТ достиг  $r^2 = 0.90$ , а РД-АГК-ЛСКТ –  $r^2 = 0.88$ . Диаграммы Бланда-Альтмана показывают небольшое отрицательное смещение ( $\approx 5\text{--}6\%$  шкалы) и симметричный LoA. Более широкий LoA для РД-режима ожидаем из-за большего вклада многократного рассеяния.

АГК-ЛСКТ дополняет классический ЛСКВ программно-реализованной квазитомографической возможностью, которая независимо отображает относительную глубину залегания и поток без модификации оптического оборудования. АГК-фильтрация выполняется на центрированном массиве последовательных спекл-изображений и разделяет весь набор главных компонент на статическое и динамическое подпространства, на основе критерия Кайзера-Гуттмана; затем статичные и динамические спекл-сигнала реконструируются методом групповой обратной проекции. Эта прозрачная формулировка дает два связанных и физически интерпретируемых спекл-контрастов: *SSC* выступает в качестве индикатора кумулятивного статического многократного рассеяния и толщины квазистатического слоя над сосудом (следовательно, относительной глубины залегания), тогда как *DAC* отражает декорреляцию, вызванную потоком, и в значительной степени независим от глубины залегания в первом приближении. По сравнению с более ранними методами обработки на основе АГК в ЛСКВ [42–44], которые в основном использовали АГК в качестве фильтра шумоподавления/подавления глубины с небольшим количеством сохраненных главных компонент, предлагаемый подход обеспечивает отдельные карты глубины и потока на стандартном оборудовании и интегрирует простую 3D-реконструкцию и кросс-модальную валидацию по отношению к УЗТ. В отличие от DL-LSCT [124], АГК-ЛСКТ не требует обучающего набора данных, является малопараметрическим и поддерживает четкую физическую связь между наблюдаемыми величинами (*SSC/DAC*) и свойствами ткани (глубина/перфузия). По сравнению с SCOT, scDCT и SpeckleCam [40, 125, 126], которые требуют получения данных с десятков тысяч пар источник-детектор, АГК-ЛСКТ обеспечивает точные профили глубины на немодифицированной однокамерной системе ЛСКВ, ценой уменьшения глубины зондирования: до  $\approx 5$  мм против  $\approx 10$  мм, указанных для SpeckleCam [40]. Этот компромисс подчеркивает взаимодополняющую роль: АГК-ЛСКТ нацелена на поверхностные и средние слои дермальной сосудистой сети с минимальной аппаратной нагрузкой, в то время как многоисточниковые системы обеспечивают

большую глубину зондирования, но при этом значительно усложняют процесс сбора данных, реконструкции и калибровки.

Стандартное отклонение  $SSC$  для всех пяти скоростей потока в TD-ЛСКВ не превышало  $\approx 6\%$  от его среднего значения, тогда как  $DAC$  существенно изменялся со скоростью потока, оставаясь при этом почти однородным вдоль профиля сосуда. Следовательно,  $SSC$  фактически инвариантен относительно скорости потока, тогда как  $DAC$  практически инвариантен к глубине залегания. Единственное исключение возникло при скорости потока 1 мм/с, где  $DAC$  стал нестабильным, поскольку очень медленные спекл-паттерны частично классифицировались как статические; это ограничение АГК-фильтрации при длительном времени декорреляции. В АГК-ЛСКТ  $SSC$  и  $DAC$  имеют разные физические зависимости.  $SSC$  преимущественно отражает статический фон многократного рассеяния: по мере увеличения локального приведенного коэффициента рассеяния  $\mu_s'$  и/или эффективной длины пути фотона количество событий рассеяния растет, а контраст статических спеклов уменьшается. Таким образом,  $SSC$  может служить качественным параметром  $\mu_s'$ , хотя и с некоторой неоднозначностью, поскольку глубина и мутность могут изменяться совместно [19, 100, 127]. В этом исследовании использовалось предположение, что оптические свойства фантома ПДМС–TiO<sub>2</sub> и кожи безымянного пальца макроскопически близки к однородным в пределах анализируемого поля зрения. В этих условиях изменения  $SSC$  в основном отражают изменения длины оптического пути (т.е. глубины залегания сосуда), а не пространственную неоднородность  $\mu_s'$ . Однако глубина и мутность могут изменяться совместно, внося неоднозначность в абсолютное определение глубины. В будущих главах диссертации предположение об однородности будет ослаблено для учета пространственно изменяющегося  $\mu_s'$ . В главе 7 показано влияние изменения коэффициента рассеяния на значения  $SSC$  при фиксированной глубине залегания сосуда.  $DAC$  количественно оценивает степень пространственно-временного размывания спекл-паттернов, вызванное движущимися рассеивателями, и при фиксированном времени экспозиции  $T$  монотонно изменяется с  $\tau_c/T$ : более короткое  $\tau_c$  (более быстрый поток) дает более низкий  $DAC$ , подобно  $FSC$  с одной экспозицией, из которой удалена статическая составляющая. На практике  $DAC$  менее подвержен влиянию статического рассеяния и может дополнять или использоваться вместо физических методов подавления статического рассеяния (например, оптического просветления). Данное приложение описывается и развивается в главе 6.

Вкратце, АГК-ЛСКТ – это программное дополнение к ЛСКВ, обеспечивающее одновременное отображение скорости кровотока и глубины залегания сосудов без потери временного разрешения. Эта методика заполняет пробел между высокоскоростной ЛСКВ и ресурсоемкими томографическими подходами, позволяя проводить функциональный мониторинг в реальном времени с разрешением по глубине.

#### 4.5. Выводы

В главе представлен метод АГК-ЛСКТ (лазерная спекл-контрастная томография с анализом главных компонент), который предлагает программно-реализованный квазитомографический режим, в котором в рамках принятых допущений  $SSC$  служит индикатором относительной глубины, а  $DAC$  индикатором перфузии. Примечательно, что это достигается без каких-либо аппаратных модификаций обычной системы ЛСКВ. Программное разложение спекл-сигнала на статическую и динамическую компоненты и оценка  $SSC$  и  $DAC$  устраняет внутреннюю взаимосвязь между глубиной и скоростью потока, которая является одной из ключевых проблем для классической метрики ЛСКВ -  $FSC$ .

Показано, что глубинные профили  $SSC$  коррелируют с данными ультразвуковой томографии (коэффициент детерминации  $r^2 = 0.90$  для оптического фантома толщиной 5 мм). Таким образом, АГК-ЛСКТ предлагает недорогой и быстрый инструмент для функционального мониторинга тканей с разрешением по глубине.

## ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДА МОНИТОРИНГА ИЗМЕНЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА РАССЕЯНИЯ С ГЛУБИННЫМ И ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ НА ОСНОВЕ ОКТ

В главе разрабатывается метод количественного мониторинга изменения коэффициента рассеяния ткани с глубинным и временным разрешением на основе оптической когерентной томографии. Метод проверяется в экспериментах, моделирующих изменение оптических свойств (диффузия ОПА и воды). Показано, что предложенный подход позволяет отслеживать динамику рассеяния по глубине и во времени, обеспечивая независимую информацию, необходимую для интерпретации результатов ЛСКВ в задачах оптического просветления и диффузии в главе 6.

### *Мотивация и цель*

Учитывая важность количественной оценки динамических изменений оптических свойств тканей, реконструкция коэффициентов рассеяния с разрешением по глубине представляет собой мощный инструмент для изучения процессов, таких как ОП на различных анатомических уровнях. Этот подход позволяет точно отслеживать изменения, индуцированные ОПА в коже, и подробно исследовать их эффекты и механизмы.

Целью данной главы является разработка методологии построения профилей коэффициента рассеяния как функций глубины и времени по данным ОКТ.

### **5.1. Материалы и методы**

Исследование проводилось на крысах *ex vivo*, чтобы исключить влияние дыхания и физиологических реакций, возникающих в живом организме [128]. Самцы белых крыс массой 350–400 г были получены из вивария Саратовского государственного медицинского университета (СГМУ, Саратов, Россия). Чтобы избежать специального умерщвления животных, крыс брали из контрольных групп других экспериментов сразу после эвтаназии передозировкой анестетика. Перед экспериментами нижняя часть спины каждой крысы аккуратно выбривалась с помощью триммера, избегая повреждения кожи. Протоколы работы с животными были одобрены этическим комитетом СГМУ (протокол № 7) 07.02.2023.

В качестве модельного препарата использовался бетаметазона дипропионат. Известно, что длительное применение местных глюкокортикоидов, таких как бетаметазон, приводит к структурным изменениям кожи, включая истончение эпидермиса и нарушение барьерной функции рогового слоя [129–131], что сопровождается существенным снижением уровня гидратации ткани. Однако краткосрочные эффекты влияния бетаметазона, в частности его влияние на динамические процессы дегидратации и регидратации кожи, остаются неизученными. Это делает его подходящим кандидатом для тестирования разрабатываемого метода.

Для исследования было сформировано две группы животных. В группе I на выбранные участки кожи наносилось 200 мкл 70% водного раствора этанола (EtOH). В группе II использовался раствор бетаметазона дипропионата (BD, Sigma-Aldrich, США) в 70% этаноле (BD-EtOH) с концентрацией 1 мг/мл. Обе группы дополнительно разделялись на две подгруппы. Крысам первой подгруппы каждой группы проводили ультразвуковое воздействие (УЗВ) с частотой 1 МГц и плотностью мощности 0.5 Вт/см<sup>2</sup> в непрерывном режиме в течение 2 мин. Нанесение растворов во время УЗВ разделялось на две порции по 100 мкл: первая наносилась до УЗВ, вторая – через 1 мин УЗВ. Животных второй подгруппы УЗВ не подвергали. Площадь нанесения растворов у всех крыс составляла приблизительно 2.0–2.5 см<sup>2</sup>. Каждая подгруппа состояла из 3 животных. Дополнительно одна крыса использовалась в качестве контроля без каких-либо вмешательств.

В качестве источника УЗ использовался коммерческий терапевтический ультразвуковой аппарат Dynatronics 125 (Dynatron, США) с диаметром излучателя 2 см. Во время УЗВ излучатель прикладывался к экспериментальным областям без избыточного давления и перемещался по поверхности медленными круговыми движениями.

Для ОКТ-мониторинга применялся спектральный томограф GAN930V2-BU (Thorlabs, США), работающий на центральной длине волны 930 нм с аксиальным разрешением 5.34 мкм (в воздухе). Фокус ОКТ-системы устанавливался на глубине 800 мкм.

ОКТ-сканирование выполнялось до нанесения растворов (интактный участок), сразу после нанесения и далее каждые 5 мин в течение 30 мин. Крысы размещались на специализированной платформе и позиционировались под ОКТ-системой так, чтобы все сканы регистрировались примерно в одной и той же плоскости визуализации. Перед нанесением растворов и перед УЗВ животное удалялось из-под ОКТ и затем вновь позиционировалось для продолжения мониторинга. Период наблюдения 30 мин был выбран на основе данных 60-минутного пилотного исследования, показавшего отсутствие значимых изменений коэффициента рассеяния после 30 мин наблюдения.

Для измерения спектров показателя преломления EtOH и BD-EtOH использовался многоволновой рефрактометр Аббе DR-M2/1550 (Atago, Япония). Показатель преломления измерялся на длинах волн 480, 486, 546, 589, 644, 656, 680, 800, 930, 1100, 1300 и 1550 нм. Инструментальная погрешность составляла  $\pm 0.0002$ .

Для анализа оптических изменений, индуцированных нанесенными растворами, коэффициент рассеяния кожи оценивался с разрешением по глубине и времени. Для анализа ОКТ-изображений и реконструкции коэффициента рассеяния было разработано пользовательское программное приложение, реализующее алгоритм, показанный на рисунке 5.1. Программа

основана на методе, описанном в [115]. Данный метод основан на предположении однократного рассеяния и пренебрежительно низкого коэффициента поглощения [47].

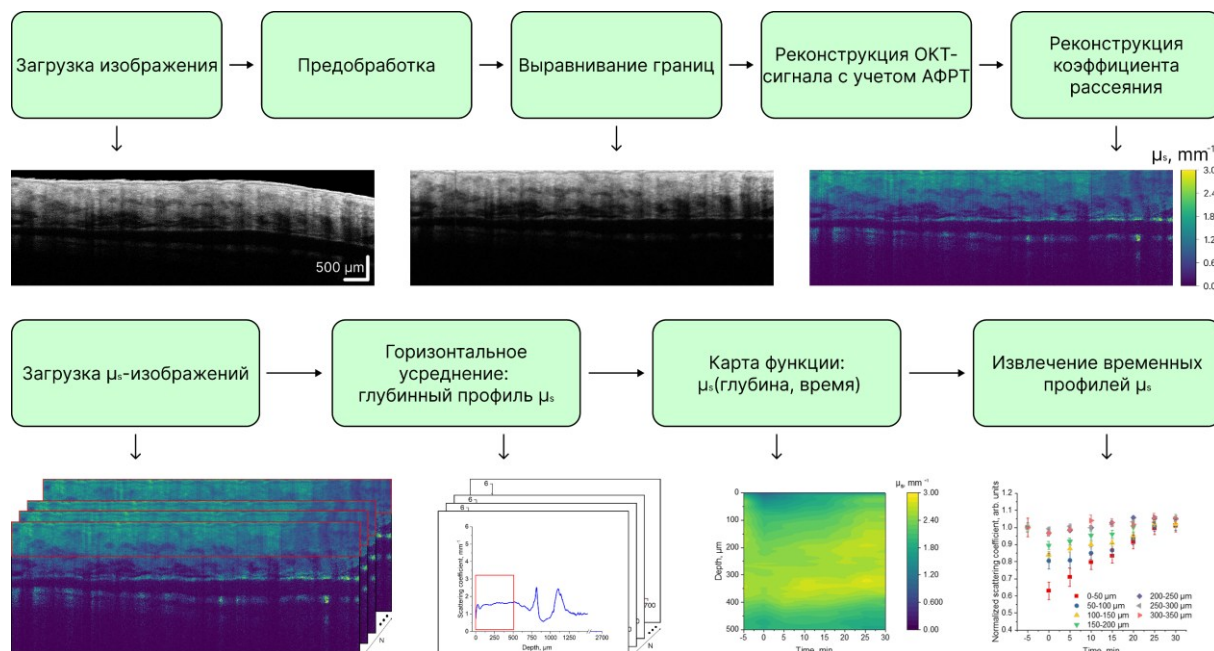


Рисунок 5.1. Блок-схема алгоритма для реконструкции коэффициента рассеяния по изображениям ОКТ и извлечения временных профилей. Область интереса (ОИ) глубиной 500 мкм выделенная красным прямоугольником.

Кратко, метод позволяет реконструировать коэффициент рассеяния ( $\mu_s$ ) с разрешением по глубине с учетом положения фокуса и аксиальной функции рассеяния точки (АФРТ) ОКТ-системы. Алгоритм включал следующие основные шаги. Предобработка: для минимизации влияния спекл-шума применялся сглаживающий фильтр с гауссовым ядром. Выравнивание границы кожи: плоскость образца выравнивалась по горизонтали. Коррекция положения фокуса: для каждого А-скана определялось положение фокуса ОКТ-системы и реконструировался А-скан с учетом АФРТ. Эта коррекция необходима для компенсации неравномерного смещения фокальной плоскости, вызванного геометрией и показателем преломления образца, что отрицательно влияет на сигнал ОКТ. Ключевым результатом этого шага было минимизирование конфокальных эффектов ОКТ-системы. Реконструкция коэффициента рассеяния: коэффициент рассеяния реконструировался с разрешением по глубине. Полученные изображения коэффициента рассеяния усреднялись по горизонтали и собирались в двумерный массив, описывающий коэффициент рассеяния как функцию глубины и времени. Эти функции визуализировались в виде тепловых карт. Далее из тепловых карт извлекались временные профили коэффициента рассеяния на различных глубинах, усреднялись по слоям толщиной 50 мкм и нормировались на соответствующие исходные интактные значения.

Для точной оценки оптических характеристик образцов с помощью ОКТ было крайне важно учесть влияние АФРТ ( $h(z)$ ), определяемого оптикой системы ОКТ. Зарегистрированный профиль глубины амплитуды сигнала ОКТ ( $i_s(z)$ ) можно описать с помощью следующего уравнения [115]:

$$i_s(z) \sim \sqrt{R_s(z)} = \sqrt{h(z) \cdot \exp(-2\mu_s z)}, \quad (5.1)$$

где  $R_s(z)$  – коэффициент отражения образца вдоль оптической оси как функция глубины  $z$ , а  $\mu_s(z)$  – коэффициент рассеяния как функция глубины  $z$ .

АФРТ в контексте ОКТ, предложенная и подтвержденная Лю и др. [115] описывается следующей функцией:

$$h(d) = \frac{1}{\left(\frac{d}{z_i}\right)^2 + 1}, \quad (5.2)$$

где  $d = z - z_f$  – расстояние отражающего объекта до фокальной плоскости  $z_f$ , а  $z_i$  – длина Рэлея в  $i$ -м слое образца.

Длина Рэлея описывается уравнением [115]:

$$z_i = \frac{\pi n \omega_i^2}{\lambda_0} \quad (5.3)$$

где  $n$  – групповой показатель преломления образца,  $\omega_i$  – радиус перетяжки в фокусе (латеральное разрешение ОКТ), а  $\lambda_0$  – центральная длина волны зондирующего излучения ОКТ.

Уравнения (5.1) – (5.3) были использованы для восстановления профиля коэффициента отражения образца по глубине в зависимости от глубины. Групповой показатель преломления образца был принят равным 1.41, как указано в [132].

Для восстановления коэффициента рассеяния  $\mu_s(z)$  зондирующего света с учетом дискретности сигнала, зависящего от глубины, использовалось следующее уравнение [47]:

$$\mu_s(i) = \frac{I(i)}{2\Delta \sum_{i+1}^N I(i)}, \quad (5.4)$$

где  $\Delta$  – размер пикселя в осевом направлении;  $I(i)$  – интенсивность сигнала ОКТ в  $i$ -м пикселе;  $N$  – общее количество пикселей в осевом направлении. В данной реализации член  $I(i)$  в уравнении (5.4) обозначает эффективную интенсивность ОКТ в линейных единицах после базовой предварительной обработки и компенсации конфокальной функции. Для каждого А-скана экспортированные значения пикселей ОКТ ( $I_{raw}$ ) обрабатывались в линейном масштабе. Зависимость АФРТ от глубины компенсировалась для минимизации эффектов конфокальности. Таким образом, для изображения ОКТ, основанного на интенсивности, скорректированный профиль, используемый в уравнении (5.4), рассчитывался следующим образом:

$$I(i) = \frac{I_{raw}(i)}{h(i)}, \quad (5.5)$$

Для оценки эффективной глубины дегидратации по цветным картам была определена глубина, на которой максимальное снижение коэффициента рассеяния уменьшилось в  $e$  раз ( $\sim 2.71$ ).

Для оценки характерного времени регидратации поверхностного слоя толщиной 50 мкм данные коэффициента рассеяния за период от 0 до 30 мин после местного применения EtOH или BD-EtOH были аппроксимированы с использованием следующего уравнения:

$$\mu_s(t) = \mu_s^{intact} - (\mu_s^{intact} - \mu_s^{min}) \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right), \quad (5.6)$$

где  $\mu_s^{intact}$  – коэффициент рассеяния слоя до нанесения экспериментального раствора;  $\mu_s^{min}$  – минимальный коэффициент рассеяния, связанный с максимальной степенью обезвоживания после его нанесения; и  $\tau$  – характерное время диффузии воды. Значения параметров подгонки определялись методом наименьших квадратов с нелинейным регрессионным анализом. Среднее время регидратации рассчитывалось на основе данных, полученных от всех животных в каждой экспериментальной группе. Параметр  $\tau$  определяется как время, необходимое для восстановления коэффициента рассеяния примерно на 63% от его первоначального снижения после нанесения растворов.

После местного нанесения гиперосмотического агента  $\mu_s(t)$  обычно демонстрирует немонотонное поведение: первоначальное уменьшение, связанное с обезвоживанием/оптическим просветлением, за которым следует восстановление (регидратация). Поэтому уравнение (5.6) используется для анализа только фазы регидратации. В уравнении (5.6) время  $t$  отсчитывается от момента времени  $t_{min}$ , соответствующего минимальному  $\mu_s$  (максимальному обезвоживанию) для анализируемого слоя, т.е.  $t = 0$  при  $t = t_{min}$ .

Предложенный подход позволил количественно описать динамику регидратации в поверхностном слое путем анализа восстановления коэффициента рассеяния во времени.

## 5.2. Результаты

На рисунке 5.2 представлены цветные карты коэффициента рассеяния кожи с разрешением по глубине и времени, полученные для контрольной крысы, а также соответствующие им временные профили. В течение всего периода наблюдения значения коэффициента рассеяния оставались стабильными на глубинах от 0 до 350 мкм. Отсутствие выраженных изменений  $\mu_s$  указывало на то, что в коже контрольного животного не происходило заметных процессов дегидратации или регидратации. Небольшое снижение коэффициента рассеяния на глубинах 50–300 мкм можно связать с естественной дегидратацией из-за испарения воды с поверхности кожи *ex vivo* [133, 134]. Однако амплитуда этих изменений была минимальной и оставалась в пределах погрешности измерений. Яркая полоса повышенных значений  $\mu_s$  на больших глубинах на рисунке

5.2a наблюдается вблизи нижней границы выбранной области визуализации (ОИ). На этих глубинах сигнал ОКТ приближается к уровню шума, и реконструированные значения  $\mu_s$  могут искажаться из-за ограниченного затухания сигнала и связанных с этим артефактов, известных для пиксельных оценок затухания/рассеяния [45, 115]. Поэтому в данной работе количественный анализ и интерпретация сфокусированы на глубинах, где сигнал ОКТ остается достаточно высоким относительно шумового порога (0–350 мкм), тогда как более глубокие области приведены для полноты, но трактуются с осторожностью. Следует отметить, что из-за индивидуальных различий толщины кожи у животных нижняя граница дермы, хорошо видимая на рисунке 2а, может выходить за пределы области визуализации (ОИ до 500 мкм) и потому не всегда наблюдается на других изображениях. Нормированные временные профили коэффициента рассеяния (рис. 5.2b) показали, что значения  $\mu_s$  на всех исследованных глубинах оставались практически неизменными. Эти результаты подтвердили стабильность структуры и оптических свойств кожи при отсутствии воздействия EtOH, BD-EtOH или УЗВ и обеспечили надежный контроль для последующих экспериментов.

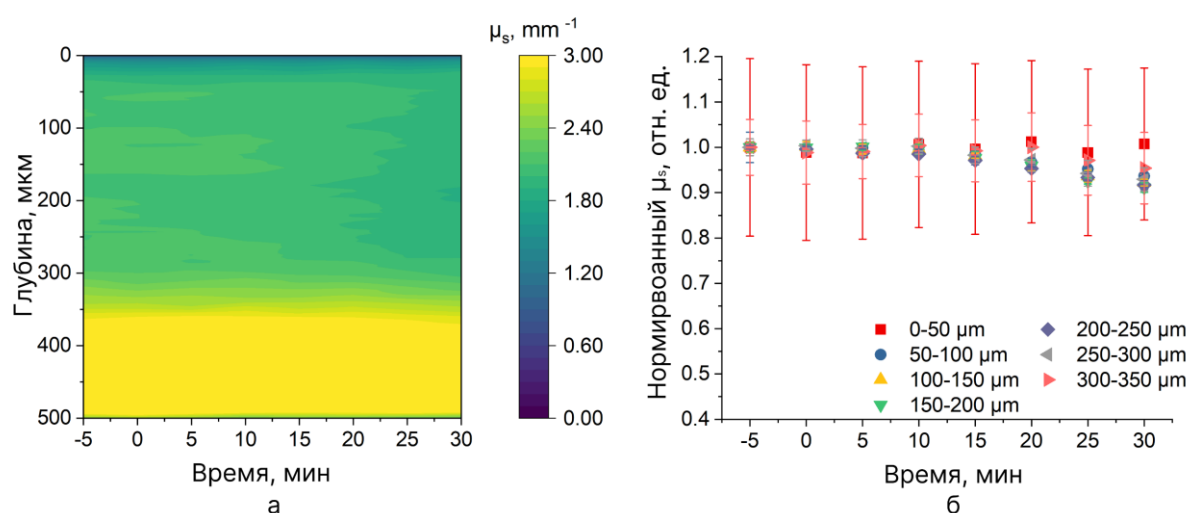


Рисунок 5.2. Тепловые карты коэффициента рассеяния кожи контрольной (необработанной) крысы *ex vivo* с разрешением по глубине и времени (а) и нормированные временные профили  $\mu_s$  (б), полученные при отсутствии экспериментальных воздействий.

На рисунке 5.3 показана измеренная зависимость показателя преломления EtOH и BD-EtOH от длины волны. Существенных различий между показателями преломления EtOH и BD-EtOH не выявлено.

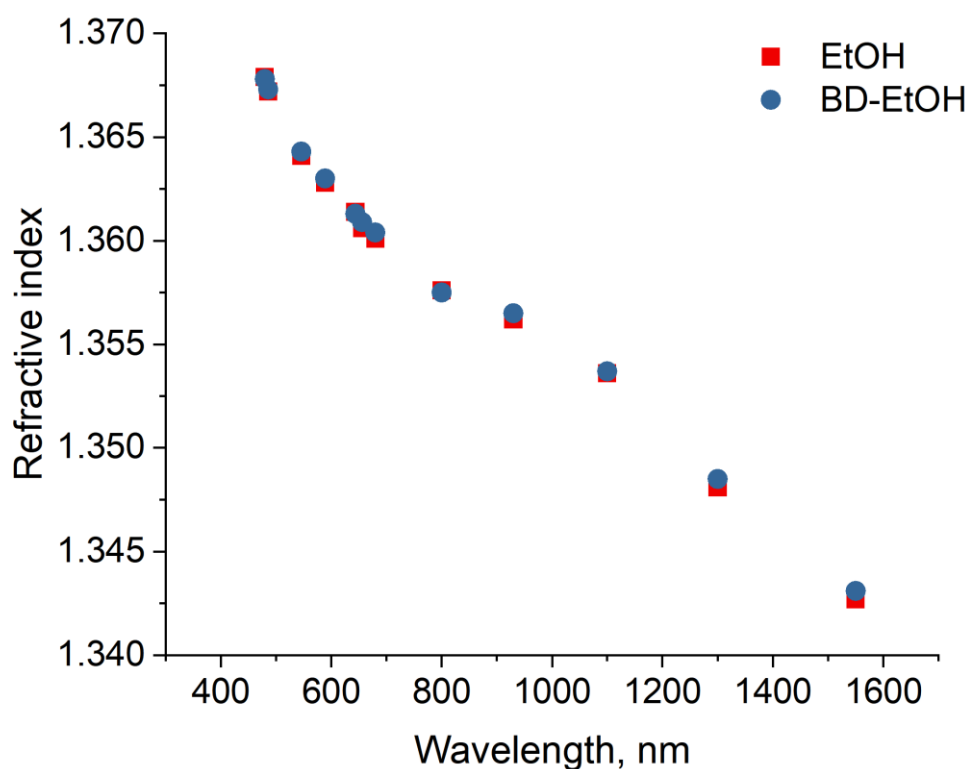


Рисунок 5.3. Спектральная зависимость показателя преломления этанола (EtOH) и раствора бетаметазона дипропионата в этаноле (BD-EtOH).

На рисунке 5.4 представлены цветные карты коэффициента рассеяния кожи крысы *ex vivo* с разрешением по глубине и времени, а также соответствующие нормированные временные профили коэффициента рассеяния после нанесения 70% EtOH без УЗВ и с УЗВ. На тепловых картах (рис. 5.4а,с) по вертикали отложена глубина (мкм), по горизонтали – время (мин), а цветная шкала соответствует значениям коэффициента рассеяния ( $\text{мм}^{-1}$ ). Временные профили  $\mu_s$ , усредненные и нормированные на различных глубинах кожи (0–50 мкм, 50–100 мкм, 100–150 мкм, 150–200 мкм, 200–250 мкм, 250–300 мкм и 300–350 мкм), приведены на рисунке 5.4b,d. На рисунке 5.4а,b видно выраженное снижение коэффициента рассеяния после нанесения EtOH на глубинах 0–50 и 50–100 мкм с последующим постепенным восстановлением до исходных значений в течение 30 мин. Это указывает на дегидратацию верхних слоев кожи под действием этанола с последующей регидратацией, обусловленной диффузией свободной воды из более глубоких слоев. Аналогично случаю без УЗВ, заметное снижение коэффициента рассеяния наблюдалось в верхних слоях кожи и после нанесения 70% EtOH при УЗВ (рис. 5.4с,d). Однако в этом случае восстановление происходило быстрее, и заметное снижение коэффициента рассеяния регистрировалось на больших глубинах (до 300 мкм). Это можно связать с

повышением проницаемости кожи для EtOH и воды под влиянием УЗ за счет как тепловых, так и нетепловых эффектов [98, 135, 136].

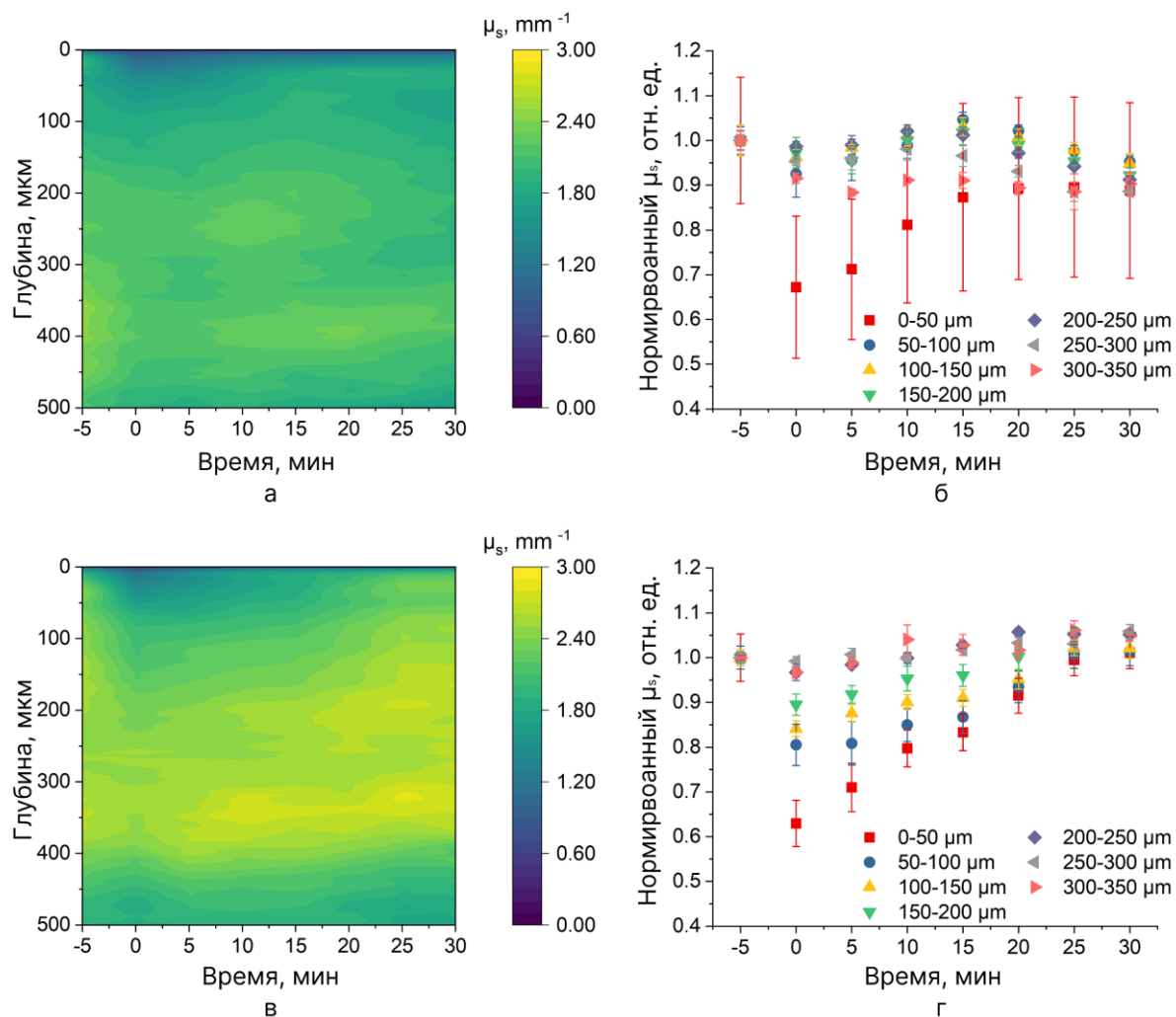


Рисунок 5.4. Тепловые карты коэффициента рассеяния кожи крысы *ex vivo* с разрешением по глубине и времени (а,с) и нормированные временные профили  $\mu_s$  (b,d), полученные после нанесения EtOH с УЗВ (с,d) и без УЗВ (а,b).

На рисунке 5.5 показаны результаты исследования изменений коэффициента рассеяния кожи крысы после нанесения BD-EtOH с УЗВ и без него. Подобно случаю с EtOH, нанесение BD-EtOH без УЗВ приводило к быстрому снижению коэффициента рассеяния в верхних слоях кожи (до глубины 200–250 мкм), за которым следовало постепенное восстановление в течение 30 мин (рис. 5.5a,b). Однако, в отличие от EtOH, коэффициент рассеяния не полностью возвращался к исходным значениям за этот период, что указывает на наличие эффектов в коже, связанных с действием самого BD. Частичное восстановление значений  $\mu_s$  свидетельствует о регидратации тканей, однако процесс остается незавершенным из-за остаточного воздействия BD. На глубине 300–350 мкм коэффициент рассеяния продолжал снижаться в течение первых 10–15 мин после

нанесения BD-EtOH, что указывает на более глубокое воздействие раствора и постепенные изменения гидратации ткани на этой глубине. При дополнительном УЗВ снижение коэффициента рассеяния распространялось на большие глубины – до 300–350 мкм (рис. 5.5с,d). Интересно, что в глубоких слоях (300–350 мкм) коэффициент рассеяния продолжал постепенно уменьшаться, замедляясь к 20-й минуте мониторинга. В то же время на глубинах 0–250 мкм коэффициент рассеяния продолжал снижаться, хотя и более медленно, вплоть до 30-й минуты ОКТ-наблюдения. Эти результаты указывают на более длительное действие BD-EtOH и остаточные структурные изменения в коже. Вероятно, сочетание BD-EtOH и УЗВ дополнительно повышало проницаемость кожи, облегчая более глубокое проникновение раствора и приводя к устойчивым изменениям гидратации кожи.

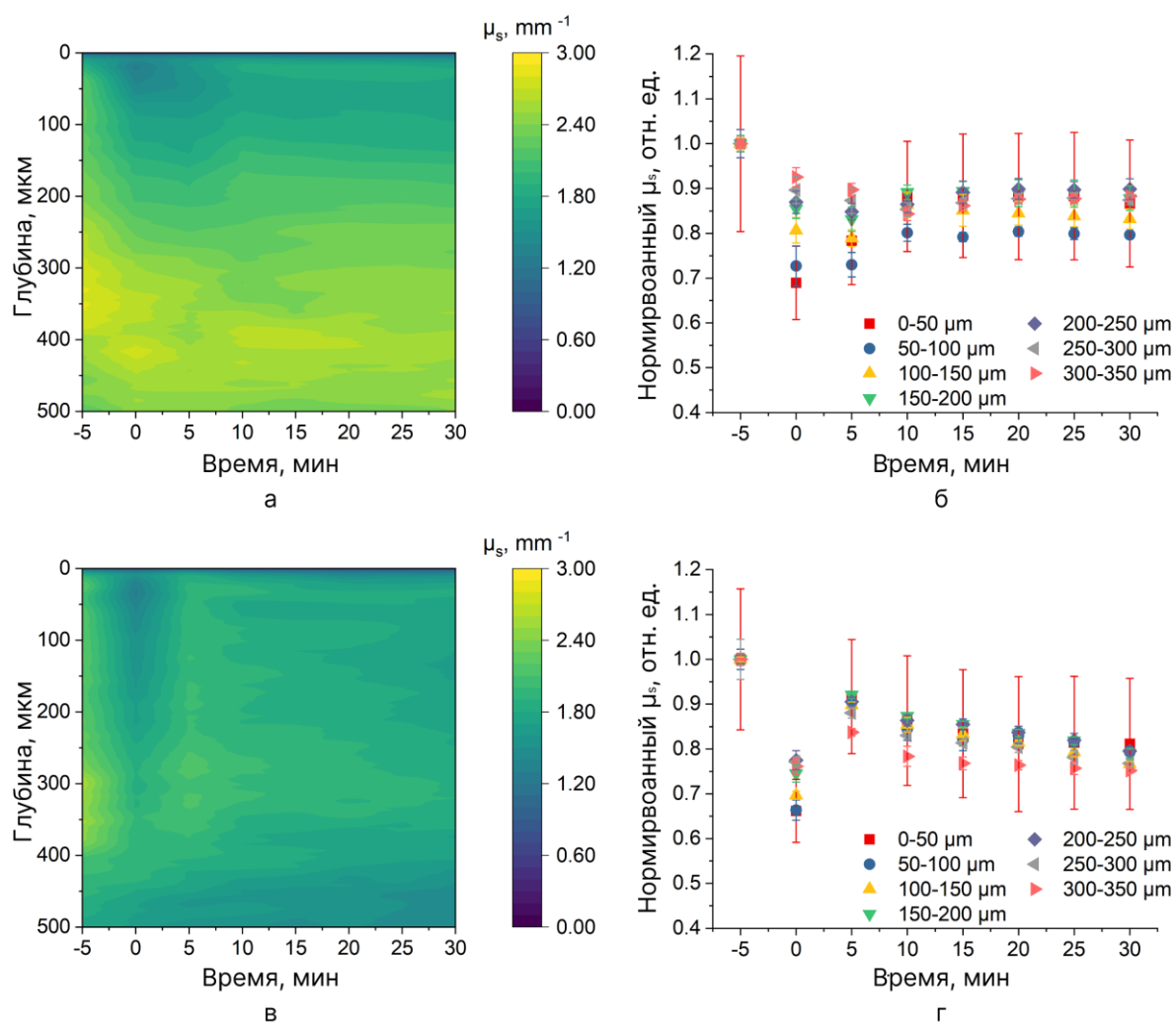


Рисунок 5.5. Тепловые карты коэффициента рассеяния кожи крысы *ex vivo* с разрешением по глубине и времени (а,с) и нормированные временные профили  $\mu_s$  (b,d), полученные после нанесения BD-EtOH с УЗВ (с,d) и без УЗВ (а,b).

Время достижения максимальной дегидратации (минимума  $\mu_s$ ) ожидаемо увеличивается с глубиной из-за диффузионно-ограниченного транспорта: поверхностные слои могут уже начинать восстановление, тогда как более глубокие продолжают дегидратироваться. В настоящей работе ОКТ-сканы выполняли до нанесения, в первой точке после нанесения (отмеченная как  $t=0$ ), а затем каждые 5 мин. Поэтому момент минимума можно определить лишь с точностью порядка  $\sim 5$  мин. Видимое появление минимума около  $t \approx 0$  на разных глубинах на рисунках 5.4 и 5.5, вероятно, означает, что максимальная дегидратация наступала в течение первых нескольких минут после нанесения в условиях *ex vivo*; однако нельзя исключать наличие глубинно-зависимых задержек в течение первых 5 мин.

На рисунке 5.6 представлены столбчатые диаграммы средней эффективной глубины снижения коэффициента рассеяния для EtOH и BD-EtOH и характерного времени регидратации верхних слоев кожи крысы *ex vivo* после нанесения EtOH с УЗВ и без него.

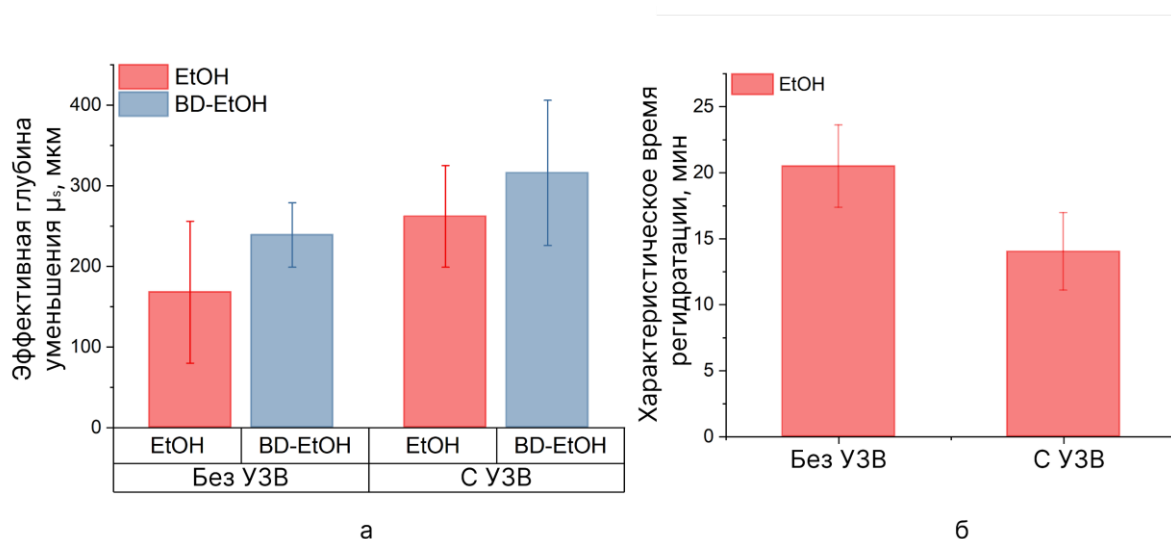


Рисунок 5.6. Столбчатые диаграммы, показывающие эффективную глубину снижения коэффициента рассеяния (эффективную глубину дегидратации) после нанесения EtOH или BD-EtOH с УЗВ и без него (а), а также характерное время регидратации кожи на глубине 0–50 мкм после нанесения EtOH с УЗВ и без него (б).

Результаты показали увеличение эффективной глубины дегидратации при УЗВ (с  $168 \pm 88$  мкм до  $262 \pm 63$  мкм) и уменьшение характерного времени регидратации (с  $21 \pm 3$  мин до  $14 \pm 3$  мин). Кроме того, выявлено различие эффективной глубины дегидратации между EtOH и BD-EtOH (рис. 5.6а). Однако время регидратации для BD-EtOH определить не удалось, поскольку дегидратация сохранялась даже после испарения этанола с поверхности кожи. Эти результаты указывают, что УЗ увеличивал глубину проникновения EtOH, приводя к более глубокой дегидратации и более быстрой регидратации. В то же время раствор BD-EtOH, по-видимому,

вызывал длительную дегидратацию из-за остаточного воздействия на кожу, препятствуя полной регидратации в течение периода наблюдения.

В данной работе предложен и реализован подход к количественной оценке динамических изменений коэффициента рассеяния кожи *ex vivo* на основе анализа ОКТ-сигнала с разрешением по глубине и времени. Экспериментальные результаты позволили визуализировать процессы дегидратации и регидратации кожи под влиянием растворов EtOH и BD-EtOH как при наличии, так и при отсутствии УЗВ, повышающего проницаемость кожи.

Такая глубинно-разрешенная реконструкция коэффициента рассеяния по данным ОКТ имеет ряд преимуществ по сравнению с другими оптическими методами, применяемыми для функциональной оценки гидратации кожи. Например, метод конфокальной рамановской спектроскопии, описанный в [113], позволяет измерять содержание воды с учетом типа ее связывания и обеспечивает пространственное (по глубине) разрешение, однако глубина зондирования ограничена примерно 200 мкм, и метод практически не имеет временного разрешения. В недавнем обзоре [137] обсуждаются различные методы оценки содержания воды в коже, включая подходы на основе спектроскопии диффузного отражения [138]. Эти методы обеспечивают функциональную визуализацию, но глубина зондирования ограничивается проникновением излучения и геометрией пары источник-детектор, что позволяет получать лишь интегральную оценку содержания воды без возможности реконструкции глубинных профилей гидратации. Ранее предложенные ОКТ-подходы, например метод оценки индекса гидратации [139], ограничены анализом гидратации в однородных слоях кожи (эпидермис или дерма) и не обеспечивают достаточного пространственного разрешения по глубине. В то же время разработанный в данной главе подход обеспечивает одновременно высокие пространственное (глубинное разрешение порядка нескольких микрометров  $\approx$  разрешению ОКТ) и временное разрешения ( $\approx$  частота записи ОКТ-кадров). Это открывает возможности для детального исследования динамики миграции воды через различные слои кожи и делает метод перспективной альтернативой существующим решениям для широкого круга задач функциональной визуализации и количественной оценки гидратации тканей.

Предложенный подход показал, что нанесение EtOH приводило к обратимой дегидратации верхних слоев кожи на глубинах до 200 мкм. Коэффициент рассеяния  $\mu_s$  возвращался к исходным значениям в течение 30 мин, что подтверждает быстрое восстановление водного баланса за счет диффузии воды из более глубоких слоев ткани. Важно, что наблюдаемые изменения коэффициента рассеяния и соответствующий эффект оптического просветления были обусловлены исключительно дегидратацией и последующей диффузией воды. Иммерсионный эффект просветления этанола был исключен из-за сравнительно низкого показателя преломления этанола и его быстрого испарения с поверхности кожи (1–2 мин). Эти результаты согласуются с

известным механизмом оптического просветления: дегидратация, вызванная высокоосмотическим агентом, снижает оптическое рассеяние за счет выравнивания показателей преломления между структурными компонентами ткани и интерстициальной жидкостью [98, 112, 113].

Этанол является широко известным усилителем проникновения через кожу и часто используется как компонент для местных лекарственных форм [140]. Обладая способностью проникать трансдермально, этанол может переносить вещества в кожу [141]. Важно, что EtOH может повышать растворимость доставляемого препарата в роговом слое, улучшая его распределение [142]. Аналогично, в данной работе при местном нанесении BD-EtOH растворитель выступал в роли носителя, доставляющего препарат в поверхностные слои кожи. Многочисленные исследования [143–145] показали, что после местного нанесения различных форм, содержащих BD, данный глюкокортикоид преимущественно накапливается в роговом слое и характеризуется относительно медленной диффузией в более глубокие слои эпидермиса. Такой характер распределения связан со специфической химической структурой BD и его сродством к липидам рогового слоя, что способствует длительной ретенции активного вещества в поверхностных слоях кожи.

Накопление BD в роговом слое приводило к изменению картины дегидратации/регидратации. В частности, в верхних слоях кожи (до 200 мкм) в течение всего периода наблюдения (30 мин) после нанесения раствора BD, в отличие от случая EtOH, не наблюдалось полного возвращения коэффициента рассеяния к исходным значениям. Более того, на глубине 300–350 мкм  $\mu_s$  продолжал снижаться в течение первых 10–15 мин, что указывает на задержку регидратации тканей. Эти эффекты могут быть связаны с взаимодействием молекул BD с липидами рогового слоя.

Хорошо известно, что этанол способен вызывать существенные изменения липидного барьера рогового слоя, что и определяет его способность усиливать трансдермальное проникновение лекарств [140, 142, 146, 147]. Показано, что его влияние на проницаемость кожи полностью обратимо после испарения этанола [148]. Однако в случае, когда растворитель содержит молекулы BD, которые являются липофильными и взаимодействуют с липидами барьерного слоя, возврат к нормальному состоянию, по-видимому, оказывается неполным, а проницаемость кожи, вероятно, остается повышенной. Это затрудняло нормальную регидратацию верхних слоев кожи из более глубоких слоев после испарения этанола, поскольку вода не могла эффективно удерживаться в роговом слое. В результате баланс между трансэпидермальной потерей воды и регидратацией смещался в сторону устойчивой дегидратации.

УЗВ значительно увеличило проникновение применяемых этанольных растворов, усиливая глубину обезвоживания кожи. Эти эффекты можно объяснить повышенной проницаемостью кожи, возникающей в результате термического и механического воздействия ультразвука. Полученные данные подтверждают, что ультразвук может служить эффективным инструментом для оптимизации доставки веществ через кожный барьер [98, 149]. Дополнение процедуры УЗВ также повлияло на регидратацию кожи, поскольку усилило задействованные процессы. В частности, в случае нанесения этанола ультразвук ускорил процесс регидратации. В свою очередь, при применении ВД-этанола использование этого физического стимула сделало эффект глюкокортикоидов на регидратацию кожи еще более выраженным. Хотя процесс регидратации начинался сразу после испарения этанола (в течение 1–2 минут после нанесения), коэффициент рассеяния продолжал уменьшаться, причем скорость постепенно замедлялась со временем.

Таким образом, данное исследование убедительно показало, что анализ процессов дегидратации и регидратации позволил оценить воздействие на кожу местного применения химических и физических усилителей проникновения, а также самих активных веществ. Эти результаты открывают новые перспективы для оптимизации методов трансдермальной доставки лекарственных средств и изучения динамических изменений в здоровых и патологических тканях.

Результаты данного исследования подчеркивают важность комплексного подхода к изучению динамических изменений тканей на основе реконструкции коэффициента рассеяния по данным ОКТ. Предложенный метод анализа изображений ОКТ доказал свою эффективность для количественной оценки и визуализации процессов дегидратации и регидратации с высоким пространственным и временным разрешением. Он также может служить инструментом для изучения структурных изменений кожи при длительном воздействии различных химических веществ и физических стимулов.

### **5.3. Выводы**

В данном исследовании был разработан и внедрен метод количественной визуализации процессов обезвоживания и регидратации кожи *ex vivo* на основе ОКТ с высоким пространственным и временным разрешением.

Результаты эксперимента показали, что применение этанола вызывало обратимое обезвоживание верхних слоев кожи крысы на глубине до  $168 \pm 88$  мкм, за которой последовала стадия регидратации, обусловленная диффузией воды из более глубоких слоев. УЗВ усилило эффект обезвоживания, увеличив глубину проникновения этанола до  $262 \pm 63$  мкм и ускорение

восстановления коэффициента рассеяния с  $21 \pm 3$  мин до  $14 \pm 3$  мин. Этот эффект был объяснен повышением проницаемости кожи и усилением подвижности воды.

Предложенный подход имеет значительную практическую ценность, поскольку позволяет проводить количественную оценку процессов диффузии воды и оптических просветляющих агентов в тканях с высоким пространственным разрешением. Он может быть использован для изучения воздействия различных химических веществ на ткани, разработки эффективных протоколов оптического просветления, а также служить инструментом для оценки свойств и эффективности косметических и фармацевтических продуктов, а также для прогнозирования потенциальных побочных эффектов лекарственных препаратов.

В будущем этот метод может быть адаптирован для применения *in vivo* и распространен на другие типы биологических тканей. Такой подход потенциально может внести значительный вклад в развитие клинической диагностики и терапевтического мониторинга, особенно в дерматологии и тканевой инженерии.

## ГЛАВА 6. ОПТИЧЕСКОЕ ПРОСВЕТЛЕНИЕ В СОЧЕТАНИИ С АГК-ФИЛЬТРАЦИЕЙ

В главе исследуется комбинированный подход «физическое воздействие + цифровая обработка» для повышения глубины и качества визуализации сосудов в рассеивающих тканях. Физическая часть включает изменение оптических свойств ткани с помощью ОП, а цифровая часть реализует алгоритмы подавления паразитного рассеяния и выделения динамической компоненты (АГК-фильтрация) с последующим вычислением карт кровотока. Эффективность подхода оценивается по метрикам видимости сосудов (контраст сосуд-фон, *CNR*) и по стабильности оценок перфузии при изменении рассеяния; ОКТ используется для оценки изменений оптических свойств при ОП. Показано, что комбинация оптического просветления и цифровой обработки позволяет увеличить глубину визуализации и повысить контраст сосудистых структур без потери информативности динамических метрик.

Широкое применение транскраниальной ЛСКВ ограничено выраженным многократным рассеянием в костной ткани черепа: статические рассеивающие структуры формируют высококонтрастный «квазистатический фон», который (i) снижает видимость сосудов, (ii) делает карту перфузии пространственно неоднородной и (iii) приводит к систематическому занижению оценки скорости кровотока в областях, где вклад статического рассеяния максимален [18, 19, 79, 80, 86, 87, 127].

Существуют два принципиально разных пути преодоления этого ограничения:

1. Оптическое просветление (ОП) – физическое снижение рассеяния за счет изменения оптических свойств ткани (например, черепной кости или кожи) при местном нанесении (ОПА) [88, 100, 101].
2. Цифровая обработка – алгоритмическое подавление влияния статического рассеяния, реализованное как АГК-фильтрация последовательности спекл-изображений с реконструкцией динамической компоненты (кровоток) и подавлением квазистатики (кость/неподвижные ткани/блики) [20, 42–44, 87].

Применение данных подходов одновременно, может увеличить эффективность транскраниальной ЛСКВ. Ключевая гипотеза гибридного подхода формулируется так: ОП подавляет источник артефакта (рассеяние на структурах кости), а АГК-фильтрация удаляет его остаточное проявление в данных, поэтому их совместное применение может давать выраженный комбинированный эффект – эффективность больше, чем у каждого метода по отдельности.

## 6.1. Материалы и методы

Эксперименты проводились на трех взрослых самцах мышей линии BALB/c (10–12 недель;  $25 \pm 2$  г). Протокол исследования был одобрен Комитетом по этике Саратовского государственного медицинского университета им. В. И. Разумовского Минздрава Российской Федерации (протокол № 11 от 7 августа 2022 г.). Мыши содержались при 12-часовом световом/темном режиме ( $22 \pm 1$  °C, влажность  $50 \pm 5\%$ ) со свободным доступом к корму и воде. Анестезия индуцировалась внутривенно тилетамин + золазепамом (Zoletil® 100, Virbac, Франция; 10 мг/кг) и ксилазина гидрохлоридом (Interchemie, Нидерланды; 5 мг/кг). Глубина анестезии подтверждалась отсутствием pedalного и роговичного рефлексов. Животные фиксировались в индивидуально изготовленном стереотаксическом держателе, напечатанном на 3D-принтере. Кожа головы иссекалась хирургически, без повреждения надкостницы, после чего на обнаженный череп наносилось 200 мкл физиологического раствора, чтобы предотвратить обезвоживание.

Одна мышь использовалась для транскраниального мониторинга кровотока методом ЛСКВ, а две - для мониторинга с помощью двух систем ОКТ с центральными длинами волн 930 нм и 1325 нм, соответственно.

В качестве ОПА применялся водный 30% (мас./об.) раствор тартразина (E102, Sigma Aldrich, чистота  $\geq 97\%$ ), содержащий 0.625% (мас./об.) гидроксиэтилцеллюлозы (Shin-Etsu, Германия); полимер выполнял роль гелеобразователя, снижая испарение воды. Смесь нагревалась до 70 °C и перемешивалась на магнитной мешалке в течение 10 минут до полной гомогенизации, после чего охлаждалась в закрытой пробирке до комнатной температуры ( $25 \pm 2$  °C). Затем ОПА в объеме 150 мкл равномерно наносился пипеткой на обнаженный череп и накрывался покровным стеклом, чтобы предотвратить испарение и выпадение тартразина в осадок [150, 151].

Выбор 30% (мас./об.) водного раствора тартразина был обусловлен «поглощающим» механизмом повышения прозрачности ткани: согласно соотношениям Крамерса–Кронига, краситель с узкой полосой поглощения (Центральная длина волны поглощения 450 нм для тартразина), увеличивает действительную часть показателя преломления в более длинноволновой спектральной области и тем самым тартразин наиболее эффективно снижает рассеяние при  $\lambda \approx 600\text{--}650$  нм (то есть в спектральном диапазоне ЛСКВ) [150, 151]. В отличие от гиперосмотических ОПА (например, глицерина), которые помимо согласования показателей преломления в объеме опираются на механизм дегидратации и обычно требуют высоких концентраций для эффективного ОП (что приводит к высокой вязкости агента и, следовательно, к более медленной диффузии), подход с поглощающим красителем обеспечивает более быстрый и выраженный эффект при умеренных концентрациях [150]. Учитывая экспериментально описанное экспоненциальное снижение стабильности раствора на открытом воздухе при

увеличении концентрации тартразина [150, 151], было выбрано использование 0.625% гидроксиэтилцеллюлозы и покровное стекло для минимизации испарения и выпадения осадка, обеспечив стабильное действие *in vivo* в течение  $\geq 25$  минут.

Система ЛСКВ включала гелий-неоновый лазер с длиной волны 632 нм (20 мВт, диаметр пучка 15 мм), зум-объектив и sCMOS-камеру Thorlabs (1920 × 1200 пикс., 8 бит). Эффективное поле зрения составляло 1.6 × 1.0 см. Последовательности из 200 кадров записывались с частотой 30 кадров/с при времени экспозиции камеры 5 мс.

Пространственно-временной полный спекл-контраст (*FSC*) вычислялся по исходным спекл-изображениям, с пространственным окном 7 × 7 пикселей и временным окном 100 кадров.

Для разделения статической и динамической составляющих спекл-сигнала применялся алгоритм АГК-фильтрации, описанный в главе 2. В анализируемых данных из 100 кадров квазистатический набор обычно включал ~5–20 главных компонент, а остальные формировали динамический набор главных компонент.

Карты статического спекл-контраста (*SSC*) и коэффициента динамической активности (*DAC*) рассчитывались по реконструированным массивам статических и динамических последовательностей спекл-изображений.

Карты относительного индекса кровотока (*rBFI*) рассчитывались как:

$$rBFI_{full} = 1/FSC^2, \quad rBFI_{dynamic} = 1/DAC^2. \quad (6.1)$$

Это определение использует обратно-квадратичную зависимость между спекл-контрастом и скоростью кровотока в случае, когда время экспозиции камеры меньше времени декорреляции, обусловленного движением эритроцитов.

Параметр характеризующий видимость отдельных сосудов количественно оценивался как отношение контраст/шум (*CNR*) как для карт *FSC*, так и для *DAC* после АГК-фильтрации. Значение *CNR* в момент времени *t* определялся следующим образом:

$$CNR(t) = (\langle SC_{ROI}(t) \rangle - \langle SC_{bg}(t) \rangle) / \sigma_{bg}, \quad (6.2)$$

где  $\langle \cdot \rangle$  обозначает среднее значение внутри области интереса (ОИ), соответствующей сосуду; *bg* – соседняя фоновая область паренхимы, не содержащая крупных сосудов; а  $\sigma_{bg}$  – среднеквадратическое отклонение в этой фоновой области. Маски ОИ выделялись вручную в программе ImageJ по картам спекл-контраста. Для анализа *CNR* выбирались пять кортикальных сосудов сопоставимого диаметра ( $120 \pm 50$  мкм); расстояние между их осевыми линиями составляло не менее 400 мкм, чтобы обеспечить независимую выборку шума. Для каждого сосуда фоновая область задавалась в виде кольцевой ОИ, диаметр которого превышал 200 мкм.

В работе использовались коммерческая ОКТ-система с перестраиваемым источником (SS-OCT) OCS1300SS (Thorlabs, США; центральная длина волны 1325 нм, спектральная полоса 100

нм) и спектральная ОКТ-система (SD-OCT) GAN930V2 BU (Thorlabs, США; осевое разрешение 5.34 мкм в воздухе, центральная длина волны 930 нм). Для каждой мыши выполнялось семь сеансов визуализации: до нанесения ОПА (0 мин) и через 1, 5, 10, 15, 20 и 25 минут после этого.

Для количественной оценки изменений оптических свойств черепа, индуцированных тартразином, по данным ОКТ реконструировались глубинно-разрешенные карты коэффициента рассеяния ( $\mu_s$ ). Для этой цели было разработано специализированное программное обеспечение на Python, реализующее алгоритм, описанный в работе [115] и главе 5. Реконструкция основана на модели однократного рассеяния и включает коррекцию осевой функции рассеяния точки ОКТ-системы.

По картам  $\mu_s$  выделялась ОИ для извлечения усредненного по ширине глубинного профиля  $\mu_s$ , что позволяло отслеживать во времени динамику эффекта ОП на различных глубинах в тканях черепа.

## 6.2. Результаты

Карты *FSC*, *SSC* и *DAC*, полученные до и во время ОП, показаны на рисунке 6.1. Они демонстрируют постепенное уменьшение статического рассеяния и более однородное распределение динамической компоненты. Уже через 1 минуту после нанесения ОПА области высокого контраста, связанные с поверхностными рассеивающими структурами (зеленые стрелки на карте *FSC*), практически исчезали, что указывает на раннее начало частичного ОП наружных слоев черепа. При дальнейшем воздействии ОПА (5–25 мин) наблюдалось постепенное снижение как интенсивности, так и площади областей с повышенным *FSC*, ассоциированных с костной тканью черепа (красные стрелки), что свидетельствует о глубоком ОП слоев кости. Одновременно значения *SSC* уменьшались пропорционально снижению рассеяния, тогда как карта *DAC* сохраняла сосудистый рисунок и эффективно подавляла вклад рассеяния от неподвижных тканей. Таким образом, поверхностное рассеяние заметно уменьшалось в первые 5 минут, а к 25-й минуте рассеяние, обусловленное черепом, было существенно подавлено, что позволяло проводить длительный мониторинг церебральной гемодинамики при повышенном оптическом контрасте.

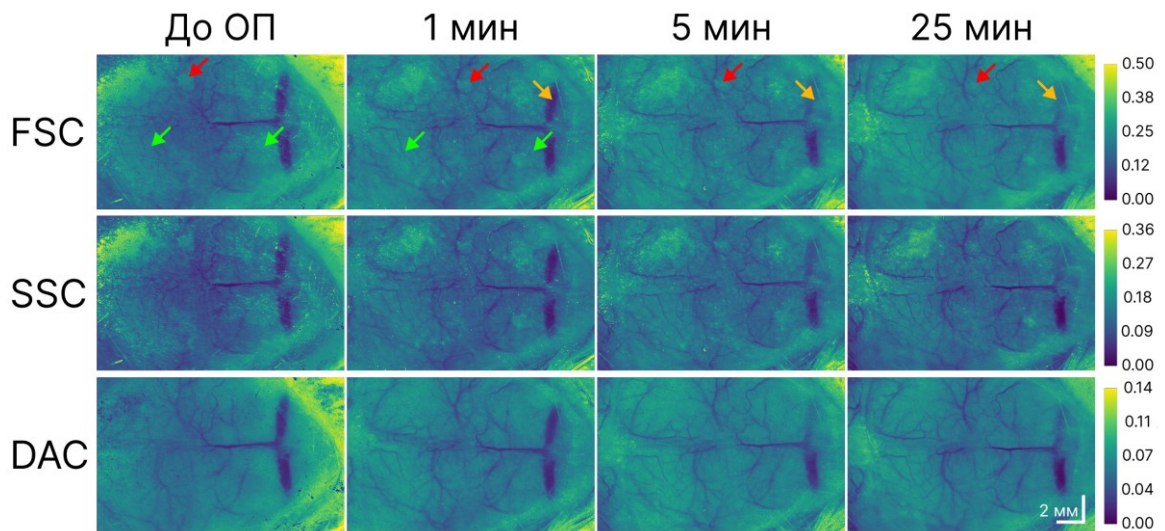


Рисунок 6.1. Карты спекл-контраста, полученные до начала и через 1, 5 и 25 минут после начала ОК. Верхний, средний и нижний ряды показывают полный спекл-контраст (*FSC*), статичный спекл-контраст (*SSC*) и динамический спекл-контраст (*DAC*) соответственно. Красные стрелки обозначают области с высоким *FSC*, возникающие в результате рассеяния в черепной кости; их интенсивность и площадь постепенно уменьшаются в процессе ОП. Зеленые стрелки выделяют поверхностные зоны рассеяния с высоким контрастом, которые исчезают в течение первой минуты. Оранжевые стрелки отмечают небольшую область около края покровного стекла, где раствор тартразина соприкасался с воздухом, что привело к локальному осаждению и сильной зоне артефакта рассеяния; этот артефакт временно увеличил *SSC* (и, следовательно, *FSC*) и был исключен из количественного анализа. Отдельные цветовые шкалы показаны справа для каждого типа контраста (условные единицы).

Карты *FSC* и соответствующие им карты *DAC*, полученные до нанесения ОПА, а также через 1 минуту и 25 минут после его нанесения, представлены на рисунке 6.2. Через 25 минут ОП ранее скрытые сосудистые структуры стали различимы в ОИ 2 (зеленая рамка; красные стрелки). На карте *DAC* поверхностное рассеяние было дополнительно подавлено, что повысило видимость сосудов. АГК-фильтрация дала дополнительное преимущество: статические артефакты, возникавшие из-за пузырьков воздуха в ОПА или попавшего в визуализируемую область элемента шерсти на поверхности черепа (желтые стрелки в ОИ 1), полностью устранялись на *DAC* при сохранении сосудистого рисунка. Несколько сосудов, не выявлявшихся на *FSC*, становились различимыми после АГК-фильтрации (синие стрелки), а ОП дополнительно усиливало этот эффект. Совместное применение ОП и цифровой обработки выявило расширенную сосудистую сеть (зеленые стрелки), которая была неразличима как до обработки ОПА, так и при одной лишь АГК-фильтрации.

Следовательно, комбинированное применение ОП и АГК-фильтрации приводит к выраженному комбинированному эффекту: рассеяние от статических краниальных структур подавляется значительно эффективнее, чем при использовании любой из техник по отдельности, что подтверждается практически полным исчезновением высококонтрастных областей на *DAC* и улучшенной видимостью церебральных сосудов.

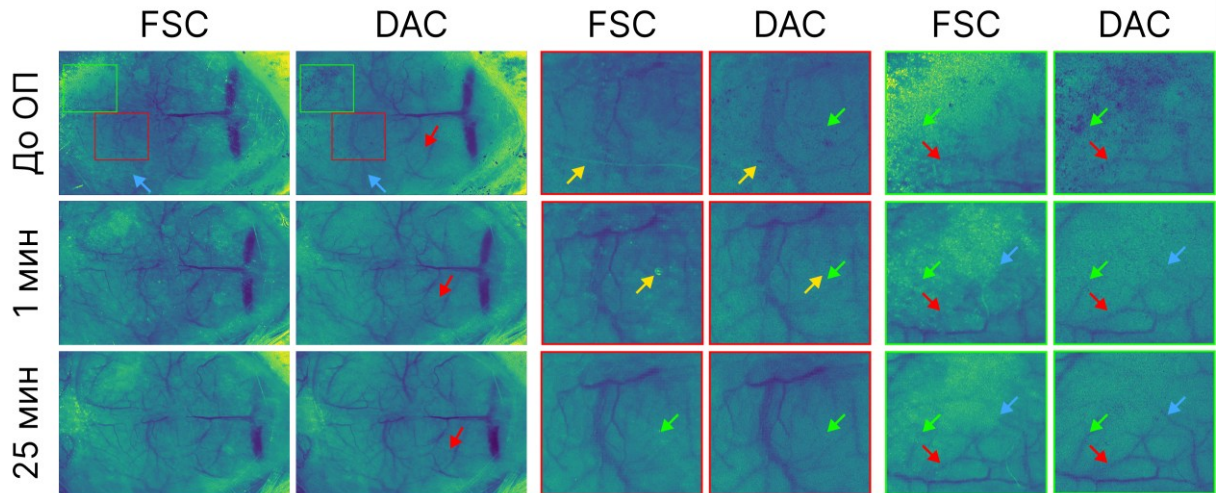


Рисунок 6.2. Сравнение *FSC* и *DAC* карт, полученных до, а также через 1 и 25 минут после применения ОПА. Исходные карты с областями интереса – ОИ 1 (красный контур) и ОИ 2 (зеленый контур) – показаны слева; увеличенные изображения этих областей показаны справа. Желтые стрелки указывают на артефакты, удаленные с помощью АГК-фильтрации; зеленые стрелки отмечают сосуды, различимые только после комбинированного применения ОП и цифровой обработки; красные стрелки обозначают сосуды, выявленные только с помощью ОП; синие стрелки указывают на сосуды, обнаруженные только с помощью АГК-фильтрации.

На рисунке 6.3 показано, как ОП и АГК-фильтрация влияют на симметрию значений спекл-контраста в зеркально-симметричных кортикальных областях мозга мыши. До нанесения ОПА значения *FSC* в двух симметричных ОИ заметно различаются, что указывает на неоднородное поверхностное рассеяние света черепом. Уже через 1 минуту после начала ОП эта разница уменьшается, а к 25-й минуте практически исчезает, отражая постепенное выравнивание оптических свойств черепа. Иное поведение наблюдается для динамической компоненты (*DAC*). Хотя на начальном этапе ее значения также различаются между ОИ, совместное применение ОП и АГК-фильтрации практически сразу устраняет эти расхождения, делая значения *DAC* в обеих областях сопоставимым уже на самой ранней стадии ОП. Таким образом, обе техники в сочетании эффективно нивелируют влияние статического рассеяния регистрируемый спекл-сигнал и обеспечивают более точную, пространственно однородную оценку церебральной перфузии.

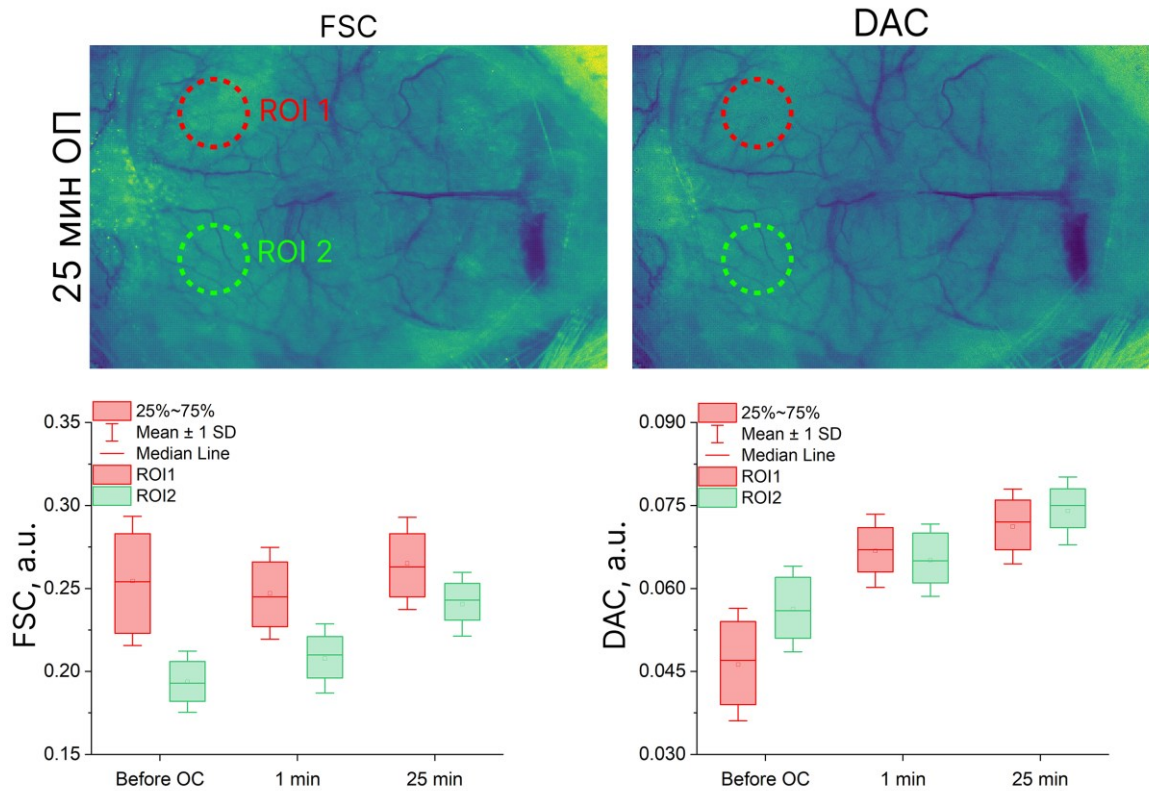


Рисунок 6.3. Карты  $FSC$  и  $DAC$  с зеркально-симметричными областями интереса – ОИ 1 (красный пунктирный круг) и ОИ 2 (зеленый пунктирный круг) – вместе с соответствующими распределениями значений, полученными до ОП, а также через 1 мин и 25 мин после этого.

На рисунке 6.4 сопоставлены карты  $SSC$ , относительные индексы скорости кровотока, рассчитанные по данным  $FSC$  ( $rBFI_{full}$ ) и по динамической компоненте -  $DAC$  ( $rBFI_{dynamic}$ ), а также их разность ( $\Delta rBFI$ ), полученные до ОП, через 1 минуту и 25 минут после него. Пунктирными контурами обозначены области, в которых визуально доминирует статическое рассеяние черепа. До ОП  $rBFI_{full}$  занижает кровотоки в зонах с высоким  $SSC$  по сравнению с соседними и зеркально-симметричными областями мозга, тогда как  $rBFI_{dynamic}$  корректно воспроизводит сосудистый рисунок и дает значения  $rBFI$ , сопоставимые с остальными участками мозга мыши. Это подтверждает, что АГК-фильтрация эффективно подавляет вклад статически рассеивающей костной ткани и позволяет более точно оценивать перфузию при транскраниальной ЛСКВ.

Кроме того, площадь и выраженность зон с сильным рассеянием заметно уменьшаются уже в течение 1 минуты после нанесения 30% раствора тартразина и практически исчезают к 25-й минуте. На картах  $\Delta rBFI$  это проявляется как выраженное снижение яркости внутри контуров, что указывает на выравнивание оптической плотности кости и уменьшение вариабельности статического рассеяния.

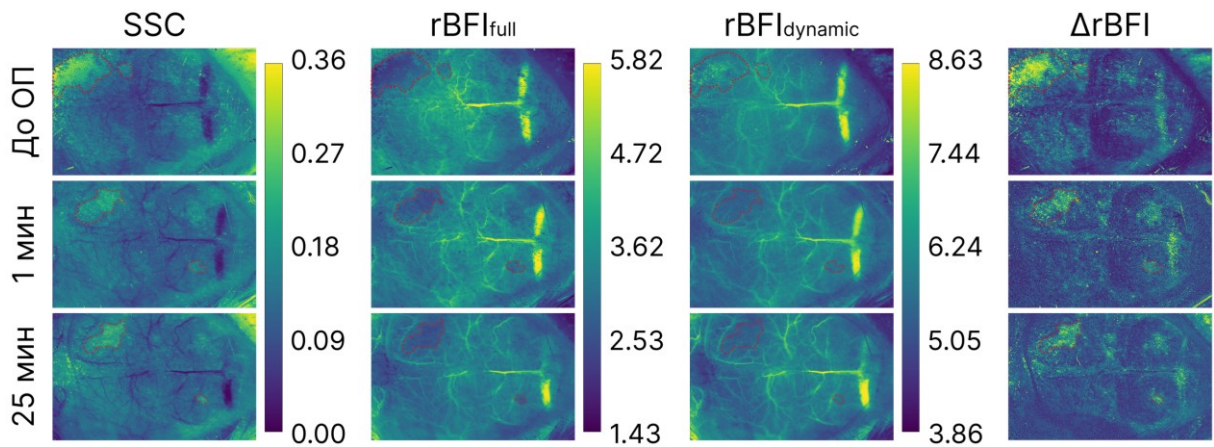


Рисунок 6.4.  $SSC$ , относительные индексы кровотока  $rBFI_{full}$  и  $rBFI_{dynamic}$  и их разница ( $\Delta rBFI$ ) до и спустя 1 и 25 минут после нанесения ОПА.

На рисунке 6.5 представлены составные псевдоцветные карты  $rBFI$ : значения, полученные по  $DAC$  после АГК-фильтрации, закодированы в красном канале, тогда как  $rBFI$ , рассчитанный по  $FSC$ , закодирован в зеленом канале. До ОП (левая панель) наблюдаются обширные красные области, что указывает на занижение скорости кровотока при расчете  $rBFI$  по полному спекл-контрасту в зонах, где доминирует статическое рассеяние черепа. Уже через 1 минуту после нанесения ОПА большинство сосудов выглядит желтым, что отражает сближение двух оценок. К 25-й минуте (правая панель) сосудистая сеть почти полностью становится желтой, что означает минимизацию артефактов, связанных со статическим рассеянием, и близкое согласие оценок перфузии, полученных обоими подходами. Таким образом, ОП существенно минимизирует области, в которых кровоток оказывается занижен, тогда как ЛСКВ с АГК-фильтрацией остается наиболее устойчивым к костно-обусловленным артефактам.

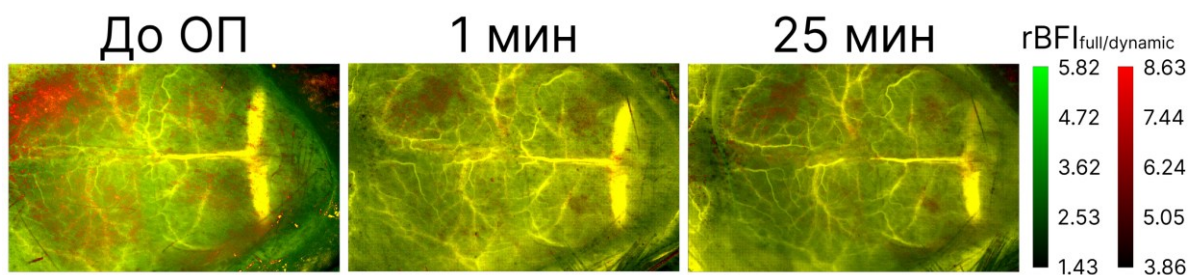


Рисунок 6.5. Псевдоцветные карты  $rBFI$ , полученные до ОП и через 1 мин и 25 мин после. Красный канал кодирует  $rBFI_{dynamic}$ , а зеленый канал представляет  $rBFI_{full}$ . Красные области отмечают участки, где  $rBFI_{full}$  недооценивает скорость кровотока по сравнению с  $rBFI_{dynamic}$ ; их размер и интенсивность заметно уменьшаются в течение 1 мин после ОП и практически исчезают к 25 мин, демонстрируя эффективное подавление статического рассеяния от черепа при ОП.

В совокупности результаты подтверждают комбинированный эффект сочетания ОП и цифровой обработки: ОП уменьшает сам источник артефакта (рассеяние), а АГК-фильтрация

удаляет его остаточный вклад в спекл-сигнале, обеспечивая надежную, пространственно однородную карту мозгового кровотока.

На рисунке 6.6а показана временная динамика  $CNR_{full}$  и  $CNR_{dynamic}$ , усредненных по пяти кортикальным сосудам сопоставимого диаметра ( $120 \pm 50$  мкм). Уже через 1 минуту после нанесения 30% раствора тартразина  $CNR_{full}$  увеличивалось с  $1.5 \pm 0.3$  до  $2.7 \pm 0.4$ , тогда как  $CNR_{dynamic}$  достигало  $2.8 \pm 0.4$ . Оба показателя выходили на плато на уровне  $\approx 3.0$  примерно через  $\sim 20$  минут и оставались стабильными до конца 25-минутного периода наблюдения. Заштрихованные области соответствуют  $\pm$  стандартному отклонению ( $n = 5$  сосудов).

На рисунке 6.6б суммирован суммарный прирост отношения контраст/шум. Одно лишь ОП увеличивало  $CNR$  на 94% к 25-й минуте, тогда как комбинированный протокол ОП + АГК-фильтрация обеспечивал прирост на 104%. Одна только АГК-фильтрация до нанесения ОПА повышала  $CNR$  в среднем на 31%. Количественный анализ подтверждает высокую эффективность гибридной стратегии: АГК-фильтрация сразу дает прирост эффективности ЛСКВ, а ОП закрепляет эффект, обеспечивая двукратное увеличение  $CNR$  относительно исходного уровня.

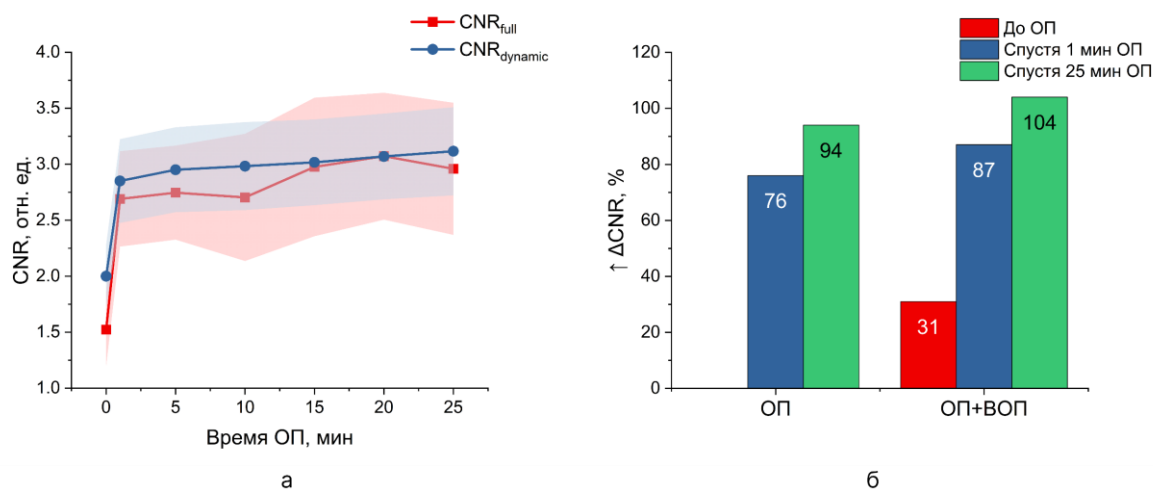


Рисунок 6.6. Количественное влияние ОП и АГК-фильтрации на контрастность сосудов. (а) Временная динамика отношения сигнал/шум ( $CNR$ ), рассчитанного по изображениям  $FSC$  ( $CNR_{full}$ ) и по изображениям  $DAC$  после АГК-фильтрации ( $CNR_{dynamic}$ ). Кривые показывают среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение для пяти кортикальных сосудов сопоставимого диаметра ( $120 \pm 50$  мкм;  $n = 5$ ). (б) Относительное увеличение  $CNR$  ( $\Delta CNR$ ), полученное при использовании только ОП и при комбинированном протоколе ОП + цифровая обработка.

ОКТ-мониторинг показал, как ОП изменяет оптические свойства черепа мыши (рис. 6.7 и 6.8). До нанесения ОПА исходный В-скан (рис. 6.7) демонстрировал два выраженных слоя: поверхностный слой с сильным обратным рассеянием, обусловленным высокой минерализацией,

и более глубокий слой со значительно более слабым рассеянием. Через пять минут после нанесения агента амплитуда рассеяния в первом слое снижалась, а к 20–25 минутам становилась сопоставимой со вторым слоем ( $\mu_s \approx 0.6–0.8 \text{ мм}^{-1}$ ). Одновременно исчезал выраженный градиент яркости на структурных ОКТ-изображениях, что указывает на выравнивание оптических свойств по всей толщине черепа

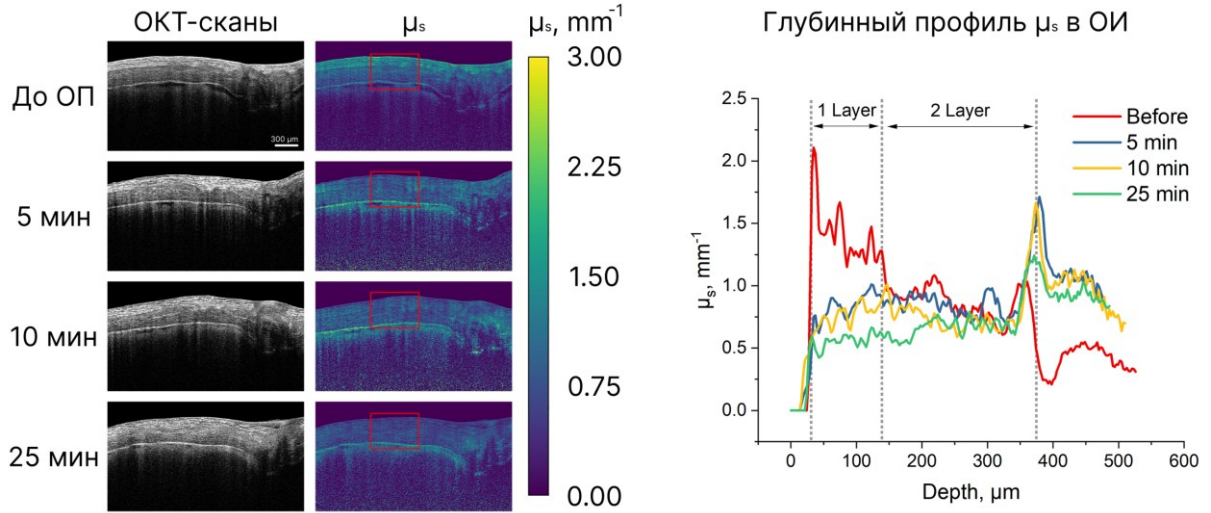


Рисунок 6.7. Временная динамика ОП в черепае мыши, оцененная с помощью ОКТ-930 нм. Левая часть: исходные В-сканы ОКТ (динамический диапазон каждого изображения нормализован для отображения) и соответствующие им карты коэффициентов рассеяния ( $\mu_s$ ); красный прямоугольник обозначает область, из которой были извлечены глубинные профили  $\mu_s$ . Правая часть: глубинные профили  $\mu_s$  в различные моменты времени после применения ОПА.

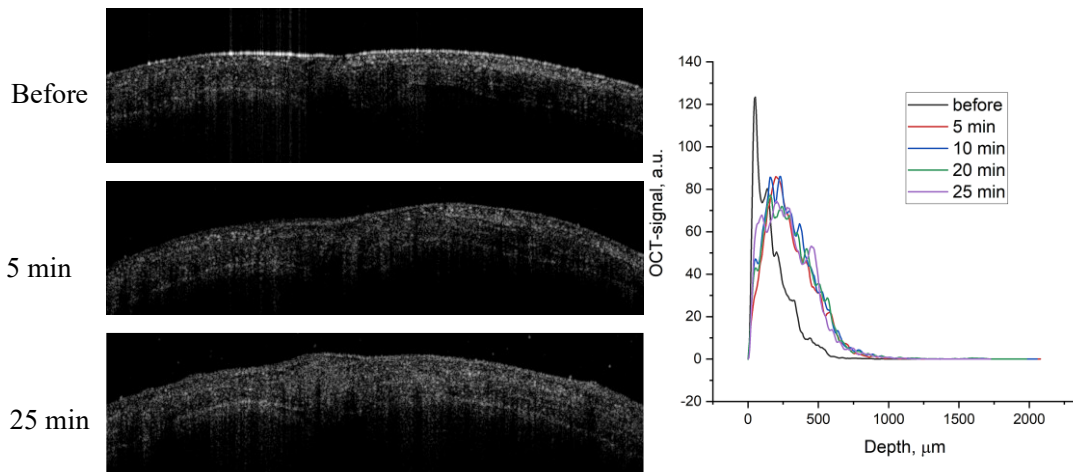


Рисунок 6.8. Динамика оптического просветления черепа мыши по данным ОКТ-1325 нм. Левая часть: исходные сканы ОКТ, размер окна визуализации  $3 \times 8$  мм. Правая часть: профили глубины сигнала ОКТ в разные моменты времени после применения ОПА.

. Глубинно-разрешенные профили (рис. 6.7)  $\mu_s$ , извлеченные из выбранной области интереса, подтвердили селективное действие ОПА: наибольшее снижение происходило в первом

слое, тогда как коэффициент рассеяния во втором слое изменялся лишь незначительно. Таким образом, ОП преимущественно воздействует на поверхностную, высокоминерализованную часть кости, повышая ее оптическую однородность и тем самым увеличивая прозрачность черепа для визуализации церебральных структур.

Хотя настоящее исследование ориентировано на красный спектральный диапазон ( $\lambda = 632$  нм), чтобы использовать максимально выраженное тартразин-индуцированное снижение рассеяния, освещение в ближнем ИК-диапазоне (700–850 нм) обычно характеризуется меньшим рассеянием в тканях и может увеличивать глубину проникновения фотонов. Перенос протокола ОП+АГК-фильтрации в ближний ИК-диапазон потенциально позволит увеличить глубину зондирования, хотя и с рядом компромиссов: более слабое тартразин-индуцированное повышение прозрачности в ближнем ИК и меньшая квантовая эффективность камеры.

В данном пилотном исследовании *in vivo* было объединено оптическое просветление, обеспечиваемое тартразином, с цифровой обработкой на основе АГК. Количественная оценка эффективности ЛСКВ выполнялась по нескольким сосудистым ОИ у одной мыши, а ОКТ-мониторинг динамики  $\mu_s$  и ОКТ-сигнала черепа проводился еще на двух животных на центральных длинах волн 930 и 1325 нм. Небольшой размер выборки ограничивает статистическую мощность и обобщаемость результатов. Межиндивидуальная вариабельность – толщина и минерализация костей свода черепа, возраст/линия, а также анатомическая область – вероятно, влияет на кинетику просветления и степень остаточного квазистатического рассеяния. Ранее опубликованные работы [93, 152] сообщают, что толщина черепа мышей увеличивается с возрастом и что у взрослых животных наблюдаемое рассеяние черепа выше, чем у молодых, что может затруднять транскраниальную визуализацию и увеличивать время, необходимое для достижения эффективного состояния ОП.

Предложенный подход фильтрации на основе АГК опирается на упорядочивание по дисперсии и критерий Гуттмана–Кайзера для выделения квазистатической спекл-вариабельности (кость, неподвижная ткань, блики) из динамической спекл-компоненты. В наборах по 100 кадров квазистатический набор обычно включал 5–20 главных компонент; добавление большего числа кадров незначительно улучшало стабильность, но увеличивало вычислительные затраты.

### 6.3. Выводы

В настоящем исследовании продемонстрировано улучшение транскраниальной ЛСКВ при сочетании ОП с использованием 30% раствора тартразина и цифровой обработке на основе АГК-фильтрации. В результате протокол ОП + АГК-фильтрации обеспечил  $\approx$  двукратное увеличение отношения контраст/шум (*CNR*) (+104%) и позволил визуализировать сосуды, невидимые при стандартной транскраниальной ЛСКВ. ОП снижало коэффициент рассеяния костной ткани

черепе примерно с  $\sim 1.5$  до  $\sim 0.6$   $\text{мм}^{-1}$  и обеспечивало оптическую однородность в течение 20–25 минут, тогда как АГК-фильтрация избирательно подавляла остаточный вклад статических структур, тем самым минимизируя артефакты и повышая контрастность сосудов.

Полученные результаты подтверждают гипотезу: ОП уменьшает первичный источник рассеяния, а АГК-фильтрация удаляет его остаточные компоненты, обеспечивая более точную и пространственно однородную оценку церебральной перфузии. Эти выводы согласуются с ранее опубликованными исследованиями по оптическому просветлению тканей и цифровой обработке данных ЛСКВ и представляют собой первую демонстрацию их совместного применения для минимально инвазивной визуализации мозгового кровотока у лабораторных мышей.

## ГЛАВА 7. МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКОГО СПЕКЛ-СИГНАЛА ДЛЯ ЛСКВ

В главе разрабатывается метод быстрого численного моделирования формирования и динамики лазерной спекл-структуры для задач ЛСКВ. Подход развивает динамическую волновую модель (ДВМ), вводя согласованную систему весовых функций, которые ограничивают вклад частиц по числовой апертуре, учитывают поперечную аподизацию (дефокус) и экспоненциальное затухание зондирующего излучения с глубиной. Реализация с GPU-ускорением (CuPy/Numba) позволила генерировать наборы «сырых» спекл-кадров при контролируемых параметрах среды и регистрации: скорости потока в сосуде, коэффициенте экстинкции, глубине залегания и геометрии сосуда, времени экспозиции и др. Синтетические данные используются для тестирования алгоритмов ЛСКВ с/без АГК-фильтрацией, что позволяет получить карты полного спекл-контраста (*FSC*), статичного спекл-контраста (*SSC*) и коэффициента динамической активности (*DAC*). Показано, что *FSC* чувствителен одновременно к скорости, глубине и экстинкции; *SSC* практически инвариантен к скорости и монотонно меняется с глубиной (индикатор *z*); *DAC* преимущественно отражает изменения скорости при умеренной зависимости от глубины и экстинкции (индикатор *V*). Такой набор метрик снижает смешение факторов и повышает интерпретируемость ЛСКВ без изменений в оптической схеме. Методика может служить стандартной платформой для сравнения и калибровки алгоритмов на синтетических данных и для оптимизации режимов регистрации.

### 7.1. Материалы и методы

#### 7.1.1. Моделирование динамического спекл-сигнала

Для моделирования динамических спекл-изображений, представляющих кровотоки в квазистатичной биоткани, была реализована расширенная и оптимизированная ДВМ (Dynamic Speckle Model (DSM)) [33], в которой каждый элемент рассеивающей среды моделировался как точечный источник. Область моделирования представляла собой трехмерный объем  $512 \times 512 \times 512$  мкм, состоящий из группы равномерно распределенных частиц (имитирующих вторичные источники рассеянного света в биологической ткани) и второй группы рассеивателей, сосредоточенных в цилиндрической области, представляющей сосуд (направленный вдоль *Y* и радиусом 100 мкм). Схематическое изображение модели представлено на рисунке 7.1. Общее число частиц составило  $10^7$ , из них ~12% относились к сосудистой фракции. Каждая частица смещалась на каждом временном шаге -  $\Delta t$ . Для рассеивателей в ткани рассматривалась только диффузионная (броуновская) составляющая движения, тогда как для частиц внутри сосуда вводилась дополнительная составляющая для моделирования направленного движения

кровотока (дрейфа). Начальные координаты частиц задавались случайным образом. Следовательно, на каждом временном шаге обновлялись координаты всех рассеивателей. Для моделирования броуновского движения частиц в квазистатичной ткани местоположение каждой частицы обновлялось согласно:

$$x_{n,tissue}(t + \Delta t) = x_n(t) + Norm(0, 2D\Delta t), \quad (7.1)$$

$$y_{n,tissue}(t + \Delta t) = y_n(t) + Norm(0, 2D\Delta t), \quad (7.2)$$

$$z_{n,tissue}(t + \Delta t) = z_n(t) + Norm(0, 2D\Delta t), \quad (7.3)$$

где  $Norm(0, 2D\Delta t)$  это случайная выборка, взятая из нормального распределения со средним значением 0 и дисперсией  $2D\Delta t$ , где  $D$  – коэффициент диффузии, связанный с временем декорреляции ( $\tau_c$ ) как  $D = 1/\sqrt{\tau_c k^2}$ , где  $k$  – волновое число,  $\Delta t$  – временной шаг моделирования.

Для моделирования направленного вдоль оси  $Y$  движения частиц в сосуде координаты частиц обновлялись согласно:

$$x_{n,vessel}(t + \Delta t) = x_n(t) + Norm(0, 2D\Delta t), \quad (7.4)$$

$$y_{n,vessel}(t + \Delta t) = y_n(t) + Norm(0, 2D\Delta t) + V\Delta t, \quad (7.5)$$

$$z_{n,vessel}(t + \Delta t) = z_n(t) + Norm(0, 2D\Delta t), \quad (7.6)$$

где  $V$  – линейная скорость частиц вдоль оси  $Y$ .

Периодические граничные условия были заданы таким образом, чтобы, когда частицы выходила за пределы моделируемого объема, она возвращалась с другой стороны. Для избежания выхода частиц за пределы сосуда, было реализовано отражение частиц от стенок сосуда согласно закону отражения.

Положение виртуальной эффективной матрицы детектора было установлено на расстоянии  $z_{cam}=240$  мкм (данный параметр можно регулировать) над поверхностью образца. Матрица детектора квадратной формы состояла из  $512 \times 512$  пикселей с размером пикселя 1 мкм.

На каждом коротком временном шаге  $\Delta t$  мгновенная спекл-картина формировалась на виртуальном детекторе путем вычисления полного комплексного поля как суперпозиции волн, рассеянных всеми частицами. Поскольку реальная спекл-визуализация выполняется с конечным временем экспозиции, итоговые кадры были получены путем интегрирования последовательности мгновенных спекл-снимков за заданный интервал – время экспозиции камеры. На вклад каждой частицы в интенсивность, регистрируемую каждым пикселем детектора, влияли несколько весовых факторов: 1. Числовая апертура ( $W_{angle}$ ), ограничивающая объем частиц, влияющих на регистрируемый сигнал пикселя. 2. Дефокусировка (поперечная аподизация) ( $W_{xy}$ ) описывающая амплитудный вклад частицы в регистрируемый сигнал. 3. Экспоненциальное затухание сигнала ( $W_{deep}$ ) в результате рассеяния и/или поглощения.

Таким образом, для учета оптических и глубинных факторов вклад каждой частицы  $p$  в комплексное поле пикселя  $(x_i, y_j)$  умножался на произведение трех весов:

$$W_{total} = W_{angle} W_{xy} W_{deep}, \quad (7.7)$$

Вклад частицы учитывался только если угол наблюдения относительно оптической оси пикселя удовлетворял ограничению по числовой апертуре. Это реализовано с помощью выражения:

$$W_{angle} = \begin{cases} 1, & \frac{\rho}{r} \leq \sin \theta_{max} \\ 0, & \text{иначе} \end{cases} \quad (7.8)$$

где  $\rho = \sqrt{(x_i - x_p)^2 + (y_i - y_p)^2}$  – поперечное расстояние между частицей и пикселем,  $r = \sqrt{\rho^2 + (z_p - z_{cam})^2}$  – полная дистанция до детектора,  $\theta_{max}$  – предельный угол, описывающий апертуру детектора.

Чувствительность к глубине моделировалась экспоненциальным затуханием:

$$W_{deep} = \exp(-\mu_t z_p), \quad (7.9)$$

где  $\mu_t$  эффективный коэффициент экстинкции. Такая форма соответствует закону Бугера-Ламберта-Бера и описывает снижение вклада глубинных слоев в результате однократного рассеяния/поглощения.

Для простоты моделирования дефокусировки использовалась простая гауссовая аподизация в плоскости детектора, ширина которой линейно растет с глубиной:

$$W_{xy} = \exp\left(-\frac{\rho^2}{2\sigma_z^2}\right), \quad \sigma_z = \frac{(z_p - z_{cam}) \tan \theta_{max}}{2.45}, \quad (7.10)$$

где коэффициент 2.45 подобран так, чтобы калибровать ширину так, чтобы ширина на половине максимума аподизации примерно соответствовала поперечному размеру конуса  $W_{angle}$ .

С учетом указанных факторов мгновенное комплексное поле в пикселе вычислялось как:

$$E_{ij} = \sum_{p \in N_{win}(i,j)} W_{angle} W_{xy} W_{deep} \exp(ikr), \quad I_{ij} = |E_{ij}|^2 \quad (7.11)$$

где  $k=2\pi/\lambda$ , а  $N_{win}(i,j)$  частицы внутри вычислительного конуса  $W_{angle}$  (техническое ограничение для ускорения расчетов). Интенсивность  $I_{ij}$  интегрировалась по 500 мгновенным шагам  $\Delta t$  в пределах времени экспозиции.

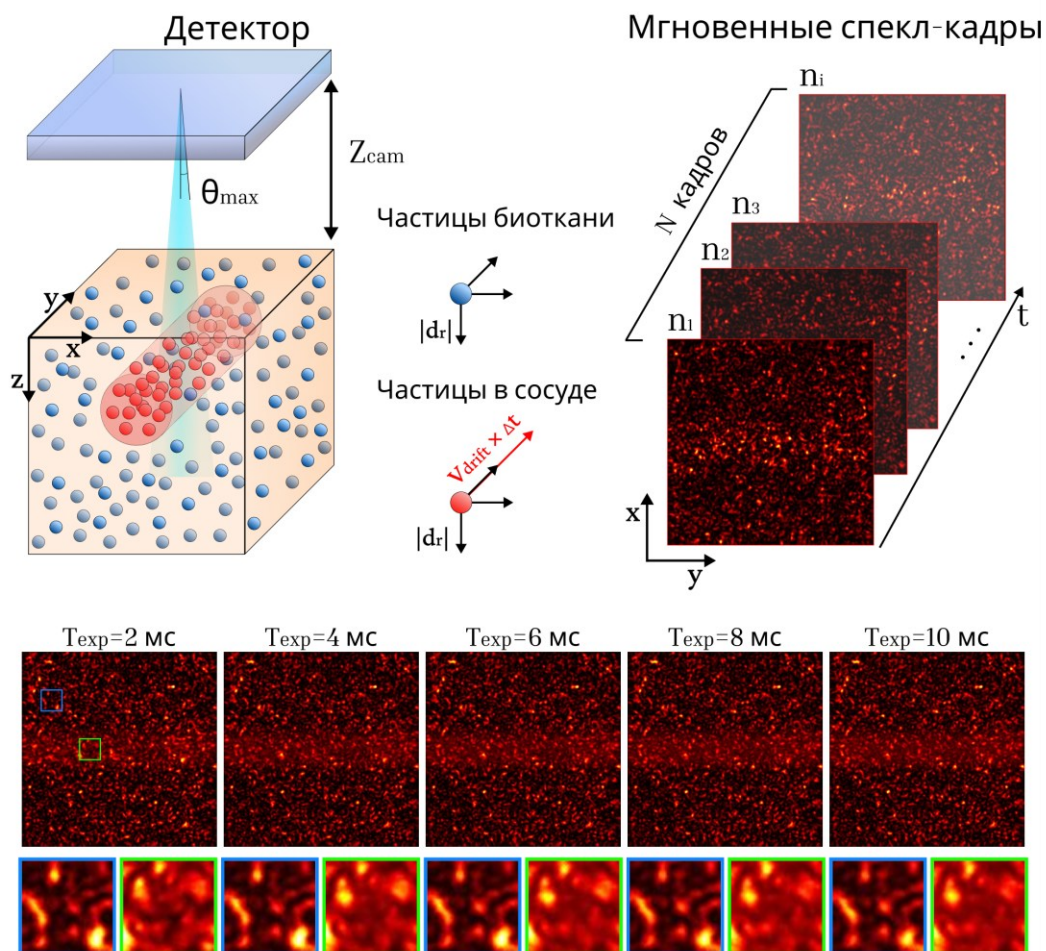


Рисунок 7.1. Схематическое изображение метода моделирования динамического спекл-сигнала и типичные мгновенные и усредненные по времени экспозиции спекл-изображения с выделенными областями интереса для статических и динамических областей.

Поскольку реальная спекл-визуализация выполняется с конечной экспозицией, итоговые кадры получали путем интегрирования последовательности из 500 мгновенных спекл-кадров за интервал экспозиции  $T_{exp}=5$  мс. В расчетах использовались параметры:  $\Delta t=10$  мкс,  $\lambda=785$  нм,  $\tau_c=20$  мс,  $\sin\theta_{max}=NA=0.08$ , число итоговых последовательных кадров с данным временем экспозицией - 100.

Разработанный метод использовался в качестве оптического фантома для оценки влияния  $V$ ,  $\mu_t$ ,  $z$  (глубина залегания сосуда) на измеряемый спекл-контраст с/без АГК-фильтрацией. Для этого было смоделировано 64 набора по 100 спекл-изображений (цифровых фантомов) каждый, при варьировании глубины залегания сосуда диаметром 200 мкм [100, 200, 300 и 400 мкм], коэффициента экстинкции  $\mu_t$  [0.5, 1.5, 3.0, 5.0  $\text{мм}^{-1}$ ], и линейной скорости частиц в сосуде [1, 5, 10, 20  $\text{мм/с}$ ]. При изменении одного параметра, остальные фиксировались.

### 7.1.2. Метрики АГК-ЛСКВ

Для анализа необработанных спекл-изображений использовался алгоритм расчета пространственно-временного полного спекл-контраста (FSC) с пространственным окном  $7 \times 7$  пикселей и временным окном 100 кадров [153–156] согласно выражению:

$$FSC = \frac{\sigma_{full}(x, y)}{\langle I_{full} \rangle}. \quad (7.12)$$

Здесь  $\sigma_{full}$  и  $\langle I_{full} \rangle$  стандартное отклонение и среднее значение получены из полного массива  $I_{full}$ . Префикс *full* добавлен, чтобы подчеркнуть, что эта традиционная метрика ЛСКВ отражает комбинированный статический и динамический вклад в изменчивость спекл-контраста.

Для разделения статической и динамической компонент спекл-сигнала использовался алгоритм АГК-фильтрации описанный в главе 2. Каждое спекл-изображение из массива преобразовывалось в вектор-столбец, формируя матрицу размером  $M \times N$  ( $M = 262144$  пикселей,  $N = 100$  кадров). Главные компоненты извлекались и разделялись на статические и динамические по критерию Гутмана–Кайзера.

По реконструированным наборам спекл-изображений статической компоненты были рассчитаны карты SSC:

$$SSC = \frac{\sigma_{static}(x, y)}{\langle I_{static} \rangle}, \quad (7.13)$$

где  $\sigma_{static}$  и  $\langle I_{static} \rangle$  - локальное среднее значение и стандартное отклонение, рассчитанные на основе массива  $I_{static}$  реконструированного по статичной группе главных компонент.

Коэффициент динамической активности рассчитывался согласно:

$$DAC = \frac{\sigma_{dynamic}(x, y)}{\langle I_{full} \rangle}, \quad (7.14)$$

где  $\sigma_{dynamic}$  определяется из динамического массива  $I_{dynamic}$ , тогда как  $\langle I_{full} \rangle$  берется из полного массива  $I_{full}$  для компенсации локальных вариаций средней интенсивности.

Параметры  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  были рассчитаны в области сосуда для каждого случая при вариации скорости потока жидкости в сосуде ( $V$ ), коэффициента экстинкции ( $\mu_t$ ) и глубины залегания сосуда ( $z$ ).

## 7.2. Оценка чувствительности метрик АГК-ЛСКВ к $V$ , $z$ и $\mu_t$

Анализ чувствительности  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  к изменению  $V$ ,  $z$  и  $\mu_t$  выполнялся по полной факторной сетке из 64 условий ( $4 \times 4 \times 4$ ), включающей: скорость потока жидкости  $V = [1, 5, 10, 20]$  мм/с, коэффициент экстинкции  $\mu_t = [0.5, 1.5, 3.0, 5.0]$  мм<sup>-1</sup> и глубину залегания сосуда  $z = [100, 200, 300, 400]$  мкм]. В качестве откликов АГК-ЛСКВ на изменения факторов использовались  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ . Для анализа влияния скорости потока дополнительно использовалось преобразование,

основанное на теоретическом ожидании более линейной связи между параметром спекл-контраста и относительной скорости потока:

$$SFI_{FSC} = \frac{1}{FSC^2}, \quad SFI_{SSC} = \frac{1}{SSC^2}, \quad SFI_{DAC} = \frac{1}{DAC^2} \quad (7.15)$$

### 7.2.1. Оценка чувствительности по доле объясненной вариации

Для количественного сравнения веса фактора в отклик метрик АГК-ЛСКВ использовалась доля объясненной вариации  $\eta^2$ , определяемая как отношение суммы квадратов эффекта к общей сумме квадратов отклика.  $\eta^2$  интерпретируется как доля общей вариабельности  $y$ , ассоциированная с изменением рассматриваемого фактора. Оценка выполнялась с помощью аддитивной модели главных эффектов вида [157, 158]:

$$y \sim C(V) + C(\mu_t) + C(z) \quad (7.16)$$

где  $y$  – рассматриваемый отклик ( $FSC$ ,  $SSC$ ,  $DAC$  и соответствующий им  $SFI$ -отклик) а факторы  $V$ ,  $z$  и  $\mu_t$  заданы как категориальные (через  $C(\cdot)$ ), то есть рассматривались как дискретные уровни, что позволило оценить вклад фактора без предположения о линейности отклика по соответствующей шкале. Для каждого фактора  $X$  ( $V$ ,  $z$ ,  $\mu_t$ ) вычислялась [157, 158]:

$$\eta_x^2 = \frac{SS_x}{SS_{total}} \quad (7.17)$$

где  $SS_x$  – сумма квадратов для фактора  $X$ , рассчитанная по схеме *Type II* [159], соответствующей оценке уникального вклада фактора  $X$  в долю объясненной вариации при учете остальных главных эффектов. А  $SS_{total} = SS_V + SS_{\mu_t} + SS_z + SS_{Residual}$ , где  $SS_{Residual}$  – остаточная доля, отражающая часть вариации, не описываемая аддитивной моделью главных эффектов.

Метрика  $\eta^2$  показывает какая доля общей вариабельности отклика на всей факторной сетке ассоциирована с изменением конкретного фактора.

### 7.2.2. Оценка чувствительности через размер отклика

Чтобы дополнить  $\eta^2$  физически-интерпретируемой мерой чувствительности, рассчитывался нормированный средний размах отклика по фактору -  $\langle \Delta \rangle / \sigma$  [160]. Для выбранного фактора  $X$  и фиксированных двух остальных факторов определялся размах:

$$\Delta_i^{(X)} = \max(y|X) - \min(y|X) \quad (7.18)$$

где индекс  $i$  перебирает все срезы (комбинации двух фиксированных факторов).

Размах усреднялся по всем срезам:

$$\langle \Delta^{(X)} \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \Delta_i^{(X)} \quad (7.19)$$

Для сопоставимости между откликами вводилась нормировка на стандартное отклонение по всей выборке:

$$S_x = \frac{\langle \Delta^{(x)} \rangle}{\sigma_y} \quad (7.20)$$

где  $\sigma_y$  – стандартное отклонение отклика  $y$ , вычисленное по всей факторной сетке. Нормировка на  $\sigma_y$  переводит меру чувствительности в единицы «числа стандартных отклонений», что является общепринятым приемом для построения безразмерных и интерпретируемых эффект-размеров [157].

Для фактора  $V$  в качестве  $y$  использовались  $SFI$ -метрики.

Метрика  $\langle \Delta \rangle / \sigma$  показывает на сколько стандартных отклонений в среднем меняется отклик, когда фактор пробегает весь рассматриваемый диапазон, при фиксированных прочих факторах. То есть  $\langle \Delta \rangle / \sigma$  характеризует меру динамического диапазона отклика на фактор.

### 7.2.3. Оценка линейности метрик АГК-ЛСКВ

Для оценки монотонности и близости к линейному отклику использовался коэффициент корреляции Пирсона  $r$  между фактором и откликом в каждом срезе (по 4 уровня фактора):

- для оценки линейности отклика на изменение глубины залегания сосуда  $z$ :  $r(y, z)$  при фиксированных  $V, \mu_t$ ;
- для коэффициента экстинкции  $\mu_t$ :  $r(y, \mu_t)$  при фиксированных  $V, z$ ;
- для скорости потока  $V$ :  $r(y, V)$  при фиксированных  $\mu_t, z$ ;

Далее распределение  $r$  агрегировалось по всем срезам факторной сетки (медиана  $r$ ). Поскольку в каждом срезе всего 4 точки,  $r$  трактовалась как описательная мера линейности отклика на рассматриваемых диапазонах факторов.

## 7.3. Результаты

Оптическая чувствительность детектора по глубине и в латеральном направлении задается произведением трех весов  $W_{angle}$ ,  $W_{xy}$  и  $W_{deep}$ . На рисунке 7.2 представлены их глубинные срезы и комбинированная функция  $W_{total}$  при  $\mu_t = 1.5 \text{ мм}^{-1}$ , что демонстрирует ограничение вклада глубинных областей в результате затухания зондирующего излучения, и дефокусировку, в результате ограничения глубины фокуса оптической системы.

На рисунке 7.3 представлены типичные пространственные карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ , полученные по исходным наборам спекл-изображений при варьировании скорости  $V$ : 1 и 10 мм/с, глубины  $z$ : 100 и 400 мкм и  $\mu_t$ : 0.5 и 3.0 мм<sup>-1</sup>. ОИ сосуда обозначена прямоугольником, по которому выполнялось последующее усреднение для анализа зависимости  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  от скорости потока жидкости, коэффициента экстинкции и глубины залегания сосуда.

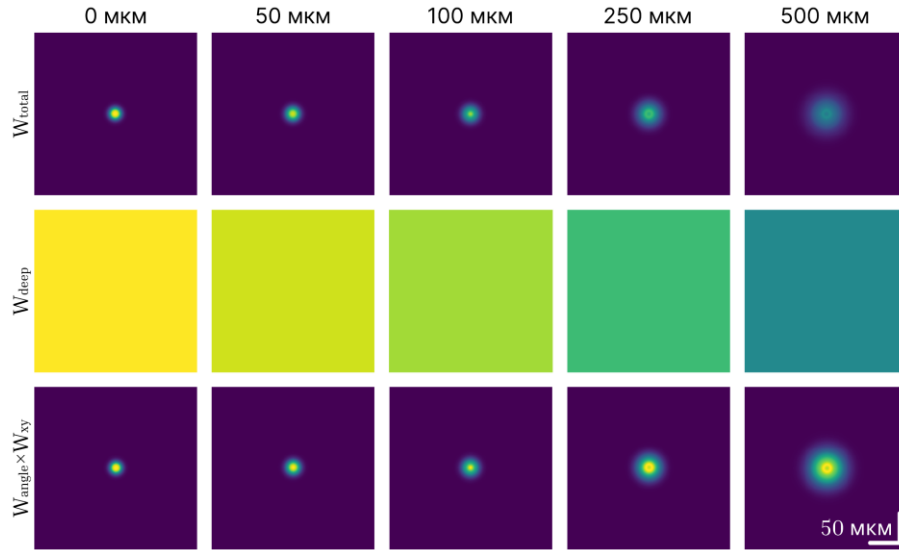


Рисунок 7.2. Глубинные срезы весовых функций: комбинированной функции  $W_{total}$ , угловой функции ограничения и гауссова фактора  $W_{angle} \times W_{xy}$  и экспоненциальной функции затухания с глубиной  $W_{deep}$  при  $\mu_t = 1.5 \text{ мм}^{-1}$ .

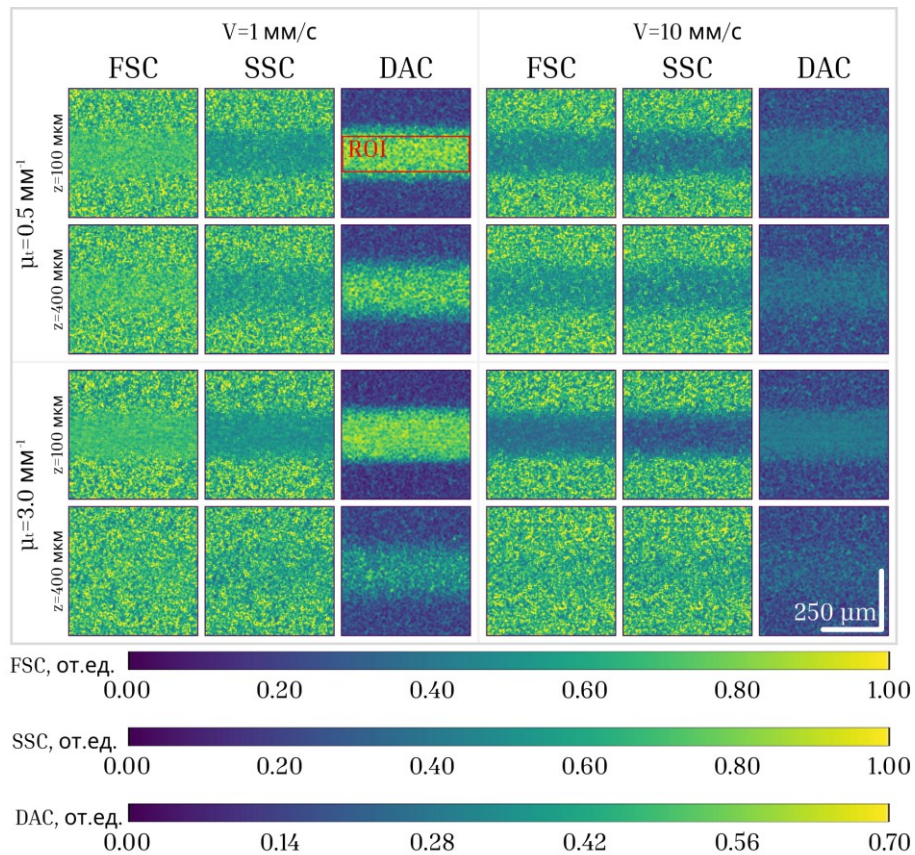


Рисунок 7.3. Карты  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ , полученные при различных скоростях  $V$ : 1 и 10 мм/с (столбцы) для  $z$ : 100 и 400 мкм и  $\mu_t$ : 0.5 и 3.0  $\text{мм}^{-1}$ ;  $T_{exp} = 5$  мс, окно  $7 \times 7$  px, 100 кадров. Прямоугольником обозначена ОИ сосуда, по которой выполнялось усреднение для построения сводных зависимостей  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  (рис. 7.4–7.6). Для каждой метрики использовались единые цветовые шкалы.

На рис. 7.4 представлены зависимости трех метрик лазерной спекл-контрастной визуализации -  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  - от скорости потока  $V$ , глубины залегания сосуда  $z$  и коэффициента экстинкции  $\mu_t$ .

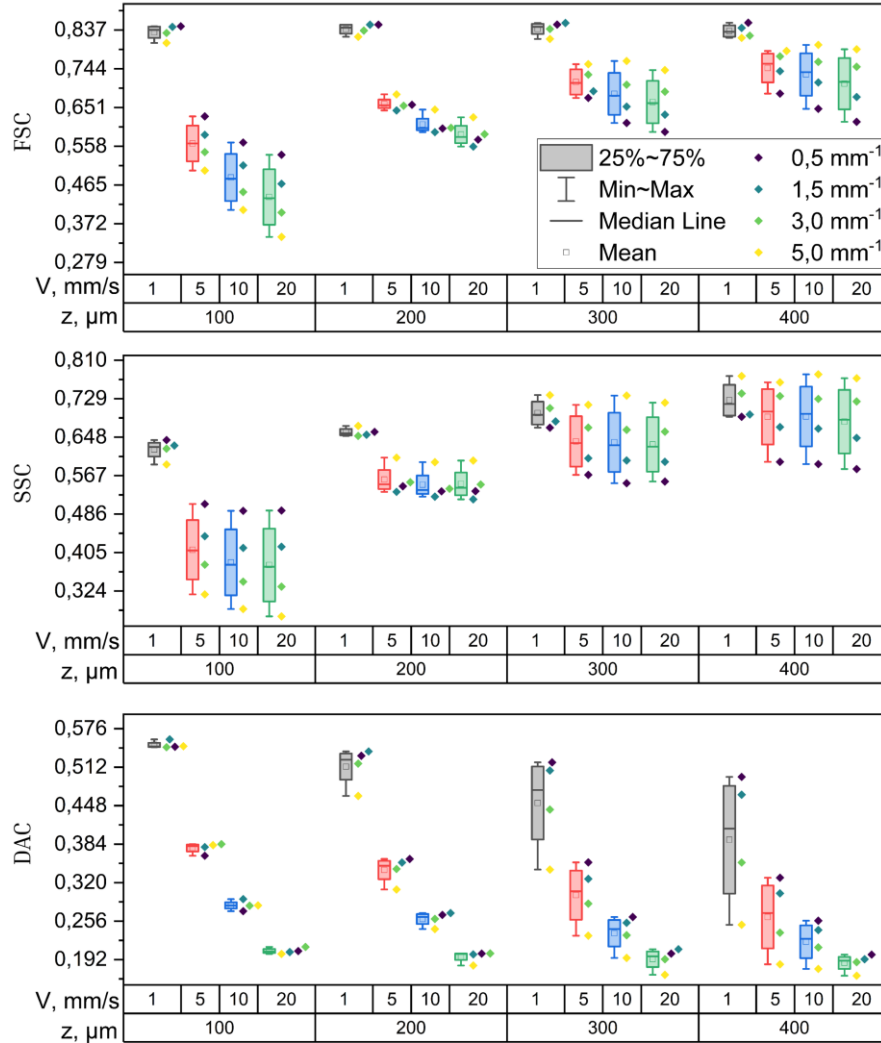


Рисунок 7.4. Зависимость усредненного по области сосуда  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  от скорости потока  $V$  и глубины залегания сосуда  $z$  при различных коэффициентах экстинкции  $\mu_t$ . Цвет отдельных точек соответствует  $\mu_t$ , боксплоты построены по объединенной выборке для всех  $\mu_t$ . В каждом боксплоте показаны медиана, межквартильный интервал (25–75 %), вертикальными линиями - минимальные/максимальные значения; точки – отдельные значения при заданном  $\mu_t$ .

Полный спекл-контраст демонстрирует чувствительность ко всем трем параметрам: при увеличении  $V$ ,  $z$ ,  $\mu_t$  распределения смещаются, что свидетельствует о комбинированном влиянии скорости потока, оптического ослабления и глубины залегания на суммарный контраст. В отличие от этого,  $SSC$  практически не зависит от скорости потока во всем рассматриваемом диапазоне значений, но заметно изменяется с глубиной  $z$ ; тем самым  $SSC$  может рассматриваться как

информативная мера глубины залегания. Следует отметить, что при низких скоростях ( $V=1$  мм/с) наблюдается систематическое завышение  $SSC$ , что, вероятно, связано с остаточным вкладом медленного динамического компонента при конечном времени экспозиции и смешении статической/динамической составляющих. Показатель  $DAC$  в меньшей степени зависит от  $z$ , однако четко отражает изменения  $V$ , что делает  $DAC$  предпочтительной метрикой для оценки относительной скорости потока при умеренных вариациях глубины и коэффициента экстинкции.

Рисунок 7.5 демонстрирует карты трех метрик -  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ , в координатах скорости  $V$  и глубины залегания  $z$  при разных коэффициентах экстинкции  $\mu_t$ .  $FSC$  зависит от всех параметров: ориентация цветовых изолиний преимущественно наклонная, что отражает совместное влияние  $V$ ,  $z$  и  $\mu_t$  на значения спекл-контраста. Кроме того, увеличение  $\mu_t$  приводит к значительному ослаблению чувствительности параметра к скорости потока жидкости, что ограничивает потенциал метода к оценке относительной скорости потока жидкости в сильно рассеивающих тканях. В отличие от него,  $SSC$  практически не меняется с  $V$  и выражено изменяется с глубиной: для  $\mu_t = 1.5-5.0$  мм<sup>-1</sup> цветные изолинии близки к горизонтальным, что указывает на чувствительность к  $z$  и позволяет рассматривать  $SSC$  как меру глубины залегания в рассеивающей среде. При этом на малых скоростях ( $V \approx 1$  мм/с) наблюдается систематическое завышение  $SSC$  - вероятно, из-за остаточного вклада медленно изменяющейся динамической компоненты при конечной экспозиции и частичного смешения со статической составляющей спекл-сигнала при АГК-фильтрации. Показатель  $DAC$ , напротив, в меньшей степени зависит от  $z$ , но хорошо отражает изменения скорости: для  $\mu_t = 0.5-1.5$  мм<sup>-1</sup> цветные изолинии преимущественно вертикальны (градиент направлен по оси  $V$ ), что указывает на доминирующее влияние скорости. По мере увеличения  $\mu_t$  ориентация градиента  $DAC$  постепенно наклоняется, проявляя возрастающую чувствительность к  $z$ , что согласуется с усилением оптического ослабления и снижением вклада глубинных слоев – доля полезного сигнала уменьшается. Тем не менее, чувствительность  $DAC$  к скорости потока жидкости значительно выше по сравнению с  $FSC$  даже при большой глубине и высоком коэффициенте экстинкции, что выражается в большем градиенте относительно оси  $V$ . В совокупности эти наблюдения подтверждают:  $SSC$  – может служить мерой относительной глубины залегания сосуда,  $DAC$  - мерой относительной скорости потока в пределах эффективной глубины зондирования ЛСКВ, а  $FSC$  аккумулирует влияние всех трех факторов, что может затруднять интерпретацию экспериментальных данных.

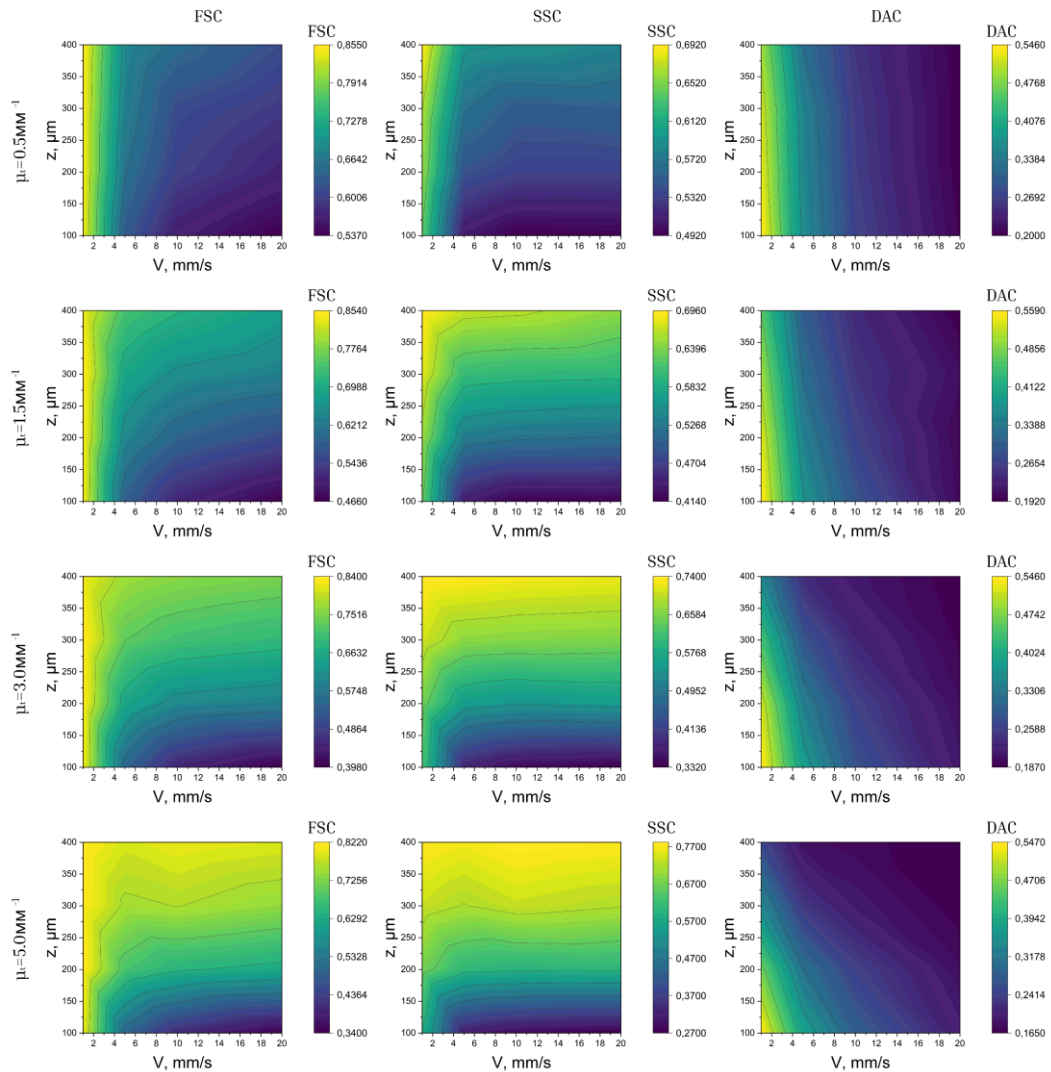


Рисунок 7.5. Карты распределений полного спекл-контраста  $FSC$ , статического спекл-контраста  $SSC$  и коэффициента динамической активности  $DAC$  в плоскости «скорость потока  $V$  - глубина залегания  $z$ » при различных коэффициентах экстинкции  $\mu_t$ .

На рисунке 7.6 показаны карты трех метрик -  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$  - в координатах глубины  $z$  и коэффициента экстинкции  $\mu_t$  при различных скоростях потока жидкости в сосуде  $V$ .  $FSC$  и  $SSC$  зависят и от глубины, и от коэффициента оптического ослабления: с увеличением  $z$  и  $\mu_t$  наблюдается систематическое изменение уровня спекл-контраста (наклонные изолинии), что отражает совместный вклад геометрического фактора (удлинение пути рассеяния) и поглощающих/рассеивающих свойств среды. Увеличение глубины залегания сосуда приводит к увеличению значений спекл-контраста, что согласуется с работами [19, 42], в то время как увеличение коэффициента экстинкции приводит к уменьшению значения спекл-контраста, что подтверждает наблюдения [100, 127]. Тем не менее, на картах  $SSC$  градиент направлен преимущественно вдоль оси  $z$ , за исключением больших  $\mu_t$  и  $z$ . В свою очередь, карта  $DAC$  принципиально отличается от  $FSC$  и  $SSC$ : при относительно малых  $z$  и  $\mu_t$  значения  $DAC$

сохраняются квазиизотропно-однородными, что демонстрирует лучший потенциал к глубиннонезависимой оценке относительной скорости кровотока по сравнению с традиционным *FSC*. Однако с ростом  $z$  и  $\mu_t$  показатель монотонно снижается, что указывает на занижение оценки коэффициента динамической активности при усилении оптического затухания и увеличении глубины для моделируемых параметров оптической системы. Это согласуется с тем, что увеличение  $\mu_t$  и  $z$  уменьшает долю и/или вес эффективно детектируемых динамических рассеянных фотонов и снижает контраст динамической составляющей.

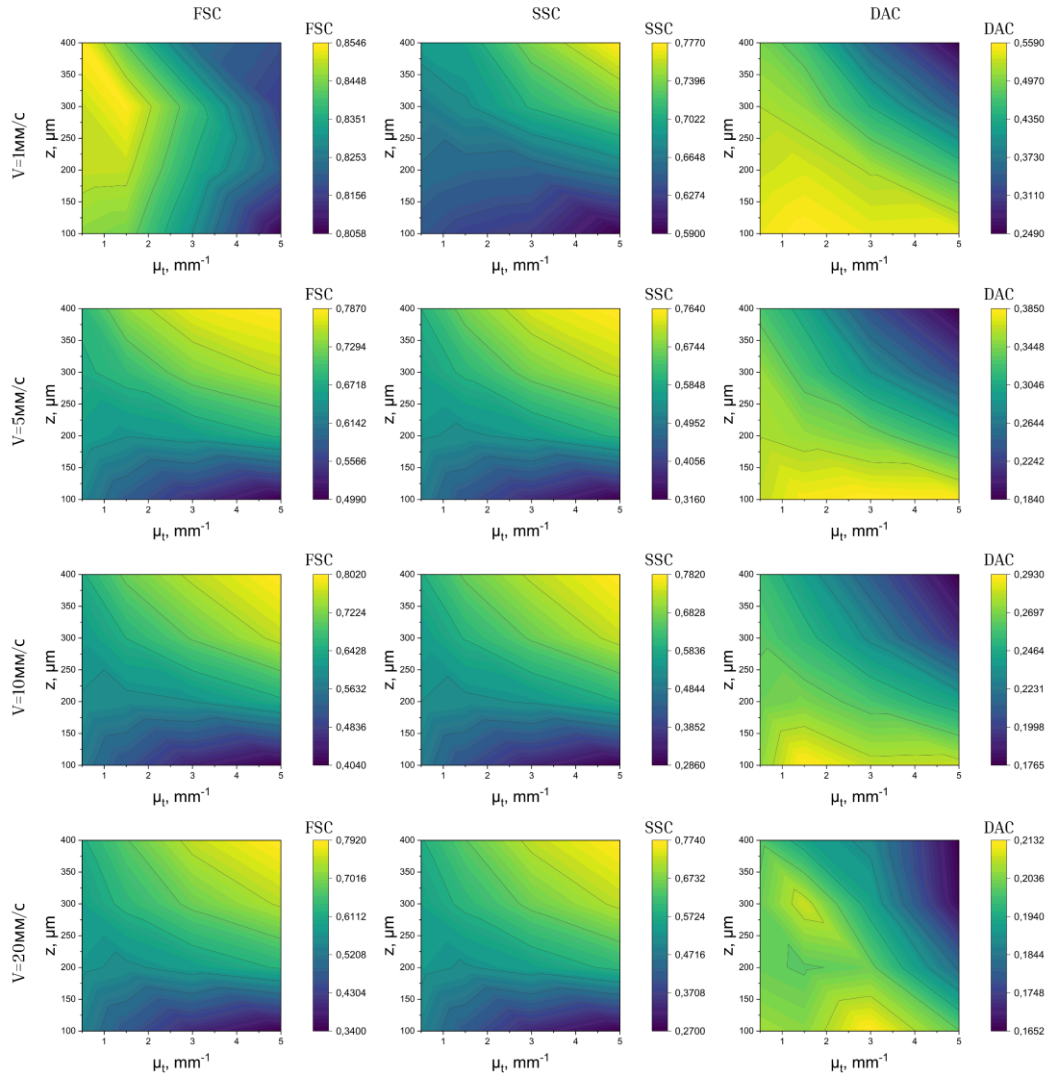


Рисунок 7.6. Карты распределений полного спекл-контраста (*FSC*), статического спекл-контраста (*SSC*) и коэффициента динамической активности (*DAC*) в плоскости  $(z, \mu_t)$  при различных скоростях потока жидкости –  $V$ .

При больших  $z$  и  $\mu_t$  занижение *DAC* может объясняться завышением числа главных компонент, отнесенных к динамической компоненте спекл-сигнала. Критерий Гуттмана–Кайзера для АГК-фильтрации, хотя и дает значительное преимущество перед традиционной оценкой *FSC*

в ЛСКВ, может быть не оптимален. Таким образом, требуется поиск альтернативных правил разделения статических и динамических компонент.

### 7.3.1. Оценка метрик АГК-ЛСКВ

В таблице 7.1 представлены доли объясненной вариации  $\eta^2$  для факторов  $V$ ,  $z$  и  $\mu_t$  в аддитивной модели главных эффектов ( $y \sim C(V) + C(\mu) + C(z)$ ), а также доля остатка  $\eta^2_{\text{остаток}}$ , отражающая часть вариации, не описанную главными эффектами.

Таблица 7.1. Доли объясненной вариации  $\eta^2$  (%) в аддитивной модели главных эффектов для отклика метрик АГК-ЛСКВ.

Отклик	$\eta^2(V)$ , %	$\eta^2(z)$ , %	$\eta^2(\mu_t)$ , %	$\eta^2(\text{остаток})$ , %
<i>FSC</i>	<b>51.7</b>	27.2	0.3	20.8
<i>SSC</i>	14.9	<b>57.9</b>	2.1	25.0
<i>DAC</i>	<b>78.9</b>	7.8	4.8	8.5
<i>SFI<sub>FSC</sub></i>	27.0	33.3	0.6	39.1
<i>SFI<sub>SSC</sub></i>	9.4	46.2	1.8	42.6
<i>SFI<sub>DAC</sub></i>	<b>73.3</b>	9.1	9.1	8.5

Из таблицы 7.1 видно, что *FSC* сильнее всего определяется скоростью  $V$  ( $\eta^2(V)=51.7\%$ ) и заметно зависит от глубины ( $\eta^2(z)=27.2\%$ ), относительно большой остаток (20.8%) указывает, что в отклике *FSC* присутствуют выраженные эффекты взаимодействия факторов. *SSC* в наибольшей степени отражает глубину  $z$  ( $\eta^2(z)=57.9\%$ ), а влияние скорости низкое (14.9%). *DAC* и *SFI<sub>DAC</sub>* преимущественно определяются скоростью ( $\eta^2(V)=78.9$  и 73.3 %, соответственно)

В таблице 7.2 приведен нормированный средних размах  $\langle \Delta \rangle / \sigma$  по каждому фактору при фиксированных двух остальных, для фактора  $V$  использовалась *SFI*-метрика отклика.

Таблица 7.2. Нормированный средний размах  $\langle \Delta \rangle / \sigma$  для отклика метрик АГК-ЛСКВ

Отклик	$\langle \Delta \rangle / \sigma$ по $V$ (для <i>SFI</i> )	$\langle \Delta \rangle / \sigma$ по $z$	$\langle \Delta \rangle / \sigma$ по $\mu_t$
<i>FSC</i>	<b>1.39</b>	<b>1.38</b>	0.78
<i>SSC</i>	0.77	<b>2.00</b>	<b>1.06</b>
<i>DAC</i>	<b>2.30</b>	0.74	0.60

Из таблицы 7.2 следует, что наибольший отклик при изменении глубины залегания сосуда демонстрирует *SSC* ( $2.00 \times \sigma$ ), и самый слабый отклик *DAC* ( $0.74 \times \sigma$ ). По  $\mu_t$  максимальный средний размах наблюдается также у *SSC* ( $1.06 \times \sigma$ ), затем *FSC* ( $0.78 \times \sigma$ ) и *DAC* ( $0.6 \times \sigma$ ). По скорости потока

(в *SFI*-представлении) наибольшая чувствительность наблюдается у *DAC* ( $2.3 \times \sigma$ ) и наименьшая у *SSC* ( $0.77 \times \sigma$ ).

В таблице 7.3 приведена сводная таблица коэффициентов корреляции Пирсона для откликов метрик АГК-ЛСКВ на каждый фактор.

Таблица 7.3. Коэффициенты корреляции  $r$  отклика метрик АГК-ЛСКВ и факторов  $V$ ,  $z$  и  $\mu_t$ .

Отклик	Медиана $r$ для $V$ (для <i>SFI</i> )	Медиана $r$ для $z$	Медиана $r$ для $\mu_t$
<i>FSC</i>	0.880	0.973	0.820
<i>SSC</i>	0.728	0.989	0.923
<i>DAC</i>	0.998	-0.988	-0.952

Из таблицы 7.3 видно, что зависимость *SSC* от глубины близка к линейной ( $r=0.989$ ). При этом наибольшая линейность наблюдается у *DAC* в *SFI*-форме для фактора скорости потока жидкости ( $r=0.998$ ).

Совместный анализ табл. 7.1–7.3 показывает, что статичный спекл-контраст *SSC* является наиболее информативной метрикой для оценки глубины залегания сосуда  $z$  (наибольшая доля объясненной вариации и максимальный нормированный размах отклика по  $z$ ), что согласуется с выводами главы 4. Вместе с тем *SSC* демонстрирует заметную чувствительность и к коэффициенту экстинкции  $\mu_t$ , что потенциально может вносить неоднозначность в интерпретацию *SSC* как «чистого» индикатора глубины.

При варьировании  $z$  и  $\mu_t$  получено, что нормированный средний размах отклика *SSC* по глубине примерно в 2 раза превышает размах по  $\mu_t$  ( $\langle \Delta \rangle / \sigma = 2.00$  для  $z$  против 1.06 для  $\mu_t$ ). Если перевести это в «удельную» чувствительность, то в среднем изменение глубины на 100 мкм соответствует отклику *SSC* порядка  $0.67\sigma$ , тогда как изменение  $\mu_t$  на  $1 \text{ мм}^{-1}$  – порядка  $0.24\sigma$  (в пределах рассмотренных диапазонов факторов). Для биологических тканей пространственная неоднородность оптического ослабления в пределах небольшого поля зрения для одного типа ткани, как правило, существенно ниже десятикратного диапазона  $\mu_t$ , использованного в цифровом эксперименте; в частности, для участка кожи порядка  $\sim 1 \text{ см}^2$  вариации  $\mu_t$  обычно не превышают величины порядка единиц  $\text{мм}^{-1}$ . Следовательно, при умеренно однородных оптических свойствах ткани вклад глубины в вариации *SSC* оказывается доминирующим, и допущение главы 4 о том, что *SSC* преимущественно отражает вариацию  $z$ , может быть оправдано.

В отличие от *SSC*, метрика *DAC* (и особенно ее *SFI*-представление) демонстрирует наибольшую чувствительность и близкую к линейной зависимость от скорости потока, что согласуется и подтверждает выводы главы 3.

В настоящей работе предложен и апробирован численный метод моделирования динамической спекл-структуры, позволяющий независимо варьировать скорость потока  $V$ , коэффициент экстинкции  $\mu_t$  и глубину залегания сосуда  $z$ , а также параметры регистрации (числовая апертура, время экспозиции, размер пикселя, размер моделируемого объема и др.). Разработанный метод использовался для получения 64 наборов из 100 последовательных спекл-изображений с заданным временем экспозиции камеры для различных  $V$ ,  $\mu_t$  и  $z$ . Время моделирования одного набора данных составляло приблизительно 8 минут с использованием GPU (NVIDIA GeForce RTX 5070). Каждый набор спекл-изображений был разделен на статичную и динамичную компоненты спекл-сигнала с помощью АГК-фильтрации. Данный подход позволил оценить влияние  $V$ ,  $\mu_t$  и  $z$  на метрики  $FSC$ ,  $SSC$  и  $DAC$ . Полученные зависимости согласуются и дополняют физическую картину формирования ЛСКВ-сигнала и уточняют области применимости и устойчивости каждой из метрик.

Полный спекл-контраст одновременно чувствителен к  $V$ ,  $\mu_t$  и  $z$ . Это ожидаемо, поскольку при фиксированной экспозиции усреднение по времени «выделяет» быстрые флуктуации (рост  $V$  приводит к большему размытию спекл-паттерна), а глубина и оптическое ослабление перераспределяют вклад слоев в эффективный объем зондирования и меняют долю динамической компоненты в регистрируемом поле. С практической точки зрения  $FSC$  остается интегральной метрикой, аккумулирующей несколько факторов сразу; без дополнительной информации о среде ее однозначная интерпретация затруднительна. Полученные результаты согласуются и дополняют результаты [19, 100, 127]. Согласно полученным данным, при снижении коэффициента экстинкции зависимость  $FSC$  от глубины залегания сосуда снижается. Таким образом методы оптического просветления, направленные на снижение рассеяния биотканей, способны увеличить диагностический потенциал классического ЛСКВ, что подтверждено экспериментально [102, 150, 161, 162].

Статичный спекл-контраст, полученный после АГК-фильтрации, оказывается практически инвариантен к скорости  $V$  и монотонно изменяется с глубиной  $z$  (при прочих равных), что позволяет оценить относительную глубину залегания сосуда и открывает квазитомографический потенциал ЛСКВ без изменений в оптической схеме установки. Такой характер отражает доминирование статичных рассеивателей вне сосуда в суммарном поле  $I_{static}$ . Отмеченное в работе систематическое завышение  $SSC$  при низких  $V \approx 1$  мм/с можно трактовать как частичное «утекание» медленной динамики в статическое субпространство при конечном  $T_{exp}$ : когда  $\tau_c$  сравнимо с экспозицией, энергию медленных компонент сложно полностью отделить критериями простого порога собственных значений. Данное наблюдение подтверждается результатами главы 4.

Коэффициент динамической активности демонстрирует наибольшую селективность к  $V$  и меньшую - к  $z$ . Это согласуется с определением  $DAC$  как нормированной оценки динамических флуктуаций: при умеренных  $\mu_t$  и  $z$  он преимущественно отражает изменения скорости в сосудистой фракции. При росте  $\mu_t$  и/или  $z$  динамический вклад подавляется (уменьшается доля эффективно детектируемых динамически рассеянных фотонов и снижается их вес в суммарном сигнале), поэтому  $DAC$  монотонно уменьшается и частично утрачивает глубинную инвариантность - эффект усиливается по мере усиления оптического затухания. Однако чувствительность к изменению скорости кровотока сохраняется, в отличие от  $FSC$ , значения которого уходят в насыщение.

Результаты позволяют рекомендовать двухшаговую процедуру количественной интерпретации в условиях ограниченной априорной информации о среде: Шаг 1 (оценка глубины): использовать  $SSC$  как индикатор  $z$  сосуда, поскольку он слабо зависит от  $V$  и чувствителен к геометрии/ослаблению. Это дает «грубую калибровку глубины» в пределах эффективной зоны чувствительности оптики. Шаг 2 (оценка скорости): применить  $DAC$  для восстановления относительных изменений  $V$ . Такой подход уменьшает смешение глубинных и скоростных эффектов, присущее  $FSC$ , но не устраняет ее полностью.

Выбранный критерий Гуттмана–Кайзера [42] для отделения статического подпространства прост и устойчив, но не всегда оптимален. В режимах низких скоростей (медленная динамика) и/или низкого отношения сигнал/шум часть динамики может попадать в высокоэнергетические компоненты, что завышает  $SSC$  и занижает  $DAC$ .

В данной работе используется приближения/допущения одномодовой суперпозиции полей точечных рассеивателей с экспоненциальным затуханием (однократное рассеяние/поглощение) и эмпирической поперечной аподизацией  $W_{xy}$ . В реальной ткани многократное рассеяние, гетерогенность оптических свойств, частичная когерентность и точная форма функции рассеяния точки и функции чувствительности пикселя к зондируемому объему могут смещать весовые функции по глубине и углу. Это не влияет на качественные выводы, но может менять абсолютные уровни метрик. Кроме того, в текущей реализации не учитываются счетный и считывающий шумы и квантовая эффективность детектора [33]. Включение приборной модели может улучшить сопоставимость с экспериментом.

Дальнейшее направление развития предложенного метода может быть связано с Монте-Карло моделированием переноса излучения для более точной оценки  $W_{xy}$  и  $W_{deep}$  и учета гетерогенности оптических свойств образца. Подобную оценку весовых функций можно перенести в предложенный метод моделирования. Кроме того, данная работа дает возможность быстро оценить влияние длины волны, размера пикселя,  $NA$  и других характеристик объектива на измеряемые параметры в различных условиях среды.

#### 7.4. Выводы

В работе представлен метод быстрого численного моделирования динамической спекл-структуры в ткани с управляемыми параметрами среды и регистрации и подходящий для применения его в качестве оптического фантома для оценки методов ЛСКВ. Проведена оценка полного спекл-контраста, статичного спекл-контраста (после АГК-фильтрации) и коэффициента динамической активности при варьировании глубины залегания сосуда, коэффициента экстинкции и скорости кровотока в биологических диапазонах. Показано, что *FSC* чувствителен одновременно к скорости  $V$ , глубине  $z$  и коэффициенту экстинкции  $\mu_t$ . Его использование без априорной информации об образце может приводить к смешению факторов и невозможности корректной интерпретации экспериментальных данных. *SSC* практически инвариантен к  $V$  и монотонно меняется с  $z$  (и  $\mu_t$ ), что позволяет рассматривать его как меру глубины залегания сосуда (при фиксированных параметрах оптической системы). *DAC* демонстрирует наибольшую селективность к  $V$  при умеренной зависимости от  $z$  и  $\mu_t$ , то есть может служить мерой скорости потока, более устойчивой к глубинным вариациям, чем *FSC*.

Предложенный метод, будучи расширен учетом приборных и оптических факторов, может служить стандартной платформой для тестирования, сравнения и калибровки алгоритмов ЛСКВ на синтетических данных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная диссертационная работа направлена на решение актуальной для биофизики задачи развития методов лазерной спекл-контрастной визуализации и оптической когерентной томографии для исследования кровотока и тканевой диффузии в условиях многослойной и оптически неоднородной рассеивающей среды. Ключевой методологический акцент сделан на переходе от использования единственной агрегированной метрики (спекл-контраста) к анализу исходного массива спекл-изображений как многомерного сигнала с возможностью разделения квазистатического и динамического вкладов рассеяния. Предложенный подход повышает устойчивость интерпретации карт перфузии по отношению к глубине залегания сосудов и изменениям оптических свойств ткани, а также позволяет реализовать программные режимы квазитомографической визуализации сосудистых структур без усложнения аппаратуры.

Основные результаты и выводы можно сформулировать следующим образом:

1. Проведен анализ физических основ ЛСКВ и показано, что в реальных биотканях измеряемый спекл-контраст определяется одновременно временем декорреляции спекл-паттерна (связанным со скоростью потока) и долей динамически рассеянного света, зависящей от глубины залегания сосудов и оптических свойств ткани. Это приводит к смещению факторов глубины, рассеяния и скорости при интерпретации классических карт перфузии в одноэкспозиционном режиме.
2. Разработана воспроизводимая методология обработки исходного спекл-массива на основе анализа главных компонент с реконструкцией отдельных наборов квазистатической и динамической компонент спекл-сигнала. Определен набор взаимодополняющих карт: полный спекл-контраст ( $FSC$ ), статичный спекл-контраст ( $SSC$ ) и коэффициент динамической активности ( $DAC$ ), позволяющий получать канал оценки перфузии при подавленном квазистатическом фоне без модификации оптической схемы.
3. На оптических фантомах с модельным сосудом и варьируемой глубиной залегания показано, что использование динамической компоненты -  $DAC$ , выделенной методом АГК-фильтрации, существенно снижает глубинную зависимость оценки относительной скорости по сравнению с классическим полным спекл-контрастом, при сохранении высокой чувствительности к скорости потока. Эффективность подхода продемонстрирована для различных режимов вычисления метрик и для геометрий регистрации (трансмиссионной и рефлективной), а также подтверждена в *in vivo* экспериментах.
4. Разработан квазитомографический подход АГК-ЛСКТ, в котором статическая и динамическая компоненты, получаемые из одного исходного набора спекл-изображений,

используются как независимые каналы для оценки относительной глубины залегания сосудистых структур и относительной перфузии. Показано хорошее согласование профилей глубины, восстановленных по SSC, с данными ультразвуковой томографии для оптического фантома толщиной 5 мм (коэффициент детерминации  $r^2 = 0.90$ ; смещение по анализу Бланда–Альтмана около -0.052 в нормированной шкале от 0 до 1).

5. Разработана методология ОКТ-мониторинга динамики коэффициента рассеяния/ослабления ткани с глубинным и временным разрешением с учетом аксиальной функции рассеяния точки и положения фокуса. В экспериментах *ex vivo* показана применимость метода для количественного анализа дегидратации/регидратации и процессов диффузии агентов в коже; в частности, для 70% этанола зафиксировано обратимое снижение коэффициента рассеяния в верхних слоях с эффективной глубиной дегидратации  $168 \pm 88$  мкм и характеристическим временем регидратации  $\sim 20$  минут, а также продемонстрировано влияние состава раствора и ультразвукового воздействия на кинетику процесса.
6. Продемонстрирован комбинированный подход «оптическое просветление + цифровая обработка»: применение оптического просветляющего агента уменьшает рассеяние и увеличивает вклад глубинных фотонов, а АГК-фильтрация дополнительно подавляет остаточный квазистатический фон в спекл-сигнале. В транскраниальном *in vivo* эксперименте показано улучшение видимости/контрастности сосудов и устойчивости оценок перфузии. Количественно к 25-й минуте одно лишь оптическое просветление увеличивало отношение контраст/шум на 94%, тогда как комбинированный протокол обеспечивал прирост порядка 104%. ОКТ-мониторинг подтвердил динамику изменения оптических свойств ткани/черепа при оптическом просветлении на различных длинах волн.
7. Реализован метод численного моделирования динамического спекл-сигнала, позволяющий моделировать исходные последовательности спекл-изображений при контролируемых параметрах (скорость потока  $V$ , глубина залегания  $z$ , коэффициент экстинкции  $\mu_t$ ) и использовать их для тестирования алгоритмов ЛСКВ. По результатам факторного анализа показано, что  $FSC$  неизбежно смешивает вклад факторов (например,  $\eta^2(V)=51.7\%$  и  $\eta^2(z)=27.2\%$ ), тогда как  $SSC$  наиболее информативен для оценки глубины ( $\eta^2(z)=57.9\%$ , медиана  $r(z)=0.989$ ), а  $DAC$  наиболее селективен к скорости потока ( $\eta^2(V)=78.9\%$ , медиана  $r(V)=0.998$ ). Полученные данные обосновывают совместное использование  $SSC$  и  $DAC$  для разделения вкладов глубины и скорости в практических задачах.

Полученные результаты в совокупности подтверждают защищаемые положения и демонстрируют, что анализ исходного спекл-сигнала с выделением квазистатической и динамической компонент является эффективным программным способом повышения информативности ЛСКВ. Интеграция ЛСКВ-подходов с независимым ОКТ-контролем динамики оптических свойств ткани расширяет возможности количественной интерпретации карт перфузии в условиях изменяющегося рассеяния (в том числе при дегидратации/регидратации и оптическом просветлении) и формирует основу для дальнейшего развития неинвазивных методов функциональной оптической диагностики.

Перспективы дальнейших исследований связаны с развитием адаптивных критериев выбора числа главных компонент и повышением устойчивости АГК-фильтрации при низких скоростях и/или низком отношении сигнал/шум; расширением подхода на мультиэкспозиционные режимы и более сложные модели формирования спекл-сигнала; совершенствованием метода моделирования динамического спекл-сигнала с учетом переноса излучения (например, Монте-Карло) и неоднородности оптических свойств.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Aksu, U. Microcirculation: Current Perspective in Diagnostics, Imaging, and Clinical Applications / U. Aksu, B. Yavuz-Aksu, N. Goswami // *Journal of Clinical Medicine*. – 2024. – Vol. 13. – № 22. – P. 6762. DOI: 10.3390/jcm13226762.
2. Balasubramanian, G.V. The Role of Cutaneous Microcirculatory Responses in Tissue Injury, Inflammation and Repair at the Foot in Diabetes / G.V. Balasubramanian, N. Chockalingam, R. Naemi // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 9. DOI: 10.3389/fbioe.2021.732753.
3. Gutterman, D.D. The Human Microcirculation / D.D. Gutterman, D.S. Chabowski, A.O. Kadlec et al. // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 118. – № 1. – P. 157-172. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.305364.
4. Charkoudian, N. Skin Blood Flow in Adult Human Thermoregulation: How It Works, When It Does Not, and Why / N. Charkoudian // *Mayo Clinic Proceedings*. – 2003. – Vol. 78. – № 5. – P. 603-612. DOI: 10.4065/78.5.603.
5. LEBLANC, A.J. Microvascular Repair: Post-Angiogenesis Vascular Dynamics / A.J. LEBLANC, L. KRISHNAN, C.J. SULLIVAN et al. // *Microcirculation*. – 2012. – Vol. 19. – № 8. – P. 676-695. DOI: 10.1111/j.1549-8719.2012.00207.x.
6. Granger, D.N. Inflammation and the Microcirculation / D.N. Granger, E. Senchenkova // *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function*. – 2010. – Vol. 2. – № 1. – P. 1-87. DOI: 10.4199/C00013ED1V01Y201006ISP008.
7. Østergaard, L. Microcirculatory dysfunction and tissue oxygenation in critical illness / L. Østergaard, A. Granfeldt, N. Secher et al. // *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. – 2015. – Vol. 59. – № 10. – P. 1246-1259. DOI: 10.1111/aas.12581.
8. Attwell, D. The neural basis of functional brain imaging signals / D. Attwell, C. Iadecola // *Trends in Neurosciences*. – 2002. – Vol. 25. – № 12. – P. 621-625. DOI: 10.1016/S0166-2236(02)02264-6.
9. Linkous, C. Applications of Laser Speckle Contrast Imaging Technology in Dermatology / C. Linkous, A.D. Pagan, C. Shope et al. // *JID Innovations*. – 2023. – Vol. 3. – № 5. – P. 100187. DOI: 10.1016/j.xjidi.2023.100187.
10. Liu, Q. Increased blood flow in keloids and adjacent skin revealed by laser speckle contrast imaging / Q. Liu, X. Wang, Y. Jia et al. // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2016. – Vol. 48. – № 4. – P. 360-364. DOI: 10.1002/lsm.22470.
11. Zheng, K.J. Validity of laser speckle contrast imaging for the prediction of burn wound healing potential / K.J. Zheng, E. Middelkoop, M. Stoop et al. // *Burns*. – 2022. – Vol. 48. – № 2. – P. 319-327. DOI: 10.1016/j.burns.2021.04.028.

12. Duranteau, J. The future of intensive care: the study of the microcirculation will help to guide our therapies / J. Duranteau, D. De Backer, K. Donadello et al. // *Critical Care*. – 2023. – Vol. 27. – № 1. – P. 190. DOI: 10.1186/s13054-023-04474-x.
13. Boas, D.A. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics / D.A. Boas, A.K. Dunn // *Journal of Biomedical Optics*. – 2010. – Vol. 15. – № 1. – P. 011109. DOI: 10.1117/1.3285504.
14. Heeman, W. Clinical applications of laser speckle contrast imaging: a review / W. Heeman, W. Steenbergen, G.M. van Dam, E.C. Boerma // *Journal of Biomedical Optics*. – 2019. – Vol. 24. – № 08. – P. 1. DOI: 10.1117/1.JBO.24.8.080901.
15. Markwalder, L. In vivo laser speckle contrast imaging of microvascular blood perfusion using a chip-on-tip camera / L. Markwalder, R. Gush, F. Khan et al. // *iScience*. – 2024. – Vol. 27. – № 3. – P. 109077. DOI: 10.1016/j.isci.2024.109077.
16. Briers, D. Laser speckle contrast imaging: theoretical and practical limitations / D. Briers, D.D. Duncan, E. Hirst et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2013. – Vol. 18. – № 6. – P. 066018. DOI: 10.1117/1.JBO.18.6.066018.
17. Liu, C. Choosing a model for laser speckle contrast imaging / C. Liu, K. Kılıç, S.E. Erdener et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2021. – Vol. 12. – № 6. – P. 3571. DOI: 10.1364/BOE.426521.
18. Davis, M.A. Imaging depth and multiple scattering in laser speckle contrast imaging / M.A. Davis, S.M.S. Kazmi, A.K. Dunn // *Journal of Biomedical Optics*. – 2014. – Vol. 19. – № 8. – P. 086001. DOI: 10.1117/1.JBO.19.8.086001.
19. Li, D.-Y. Transmissive-detected laser speckle contrast imaging for blood flow monitoring in thick tissue: from Monte Carlo simulation to experimental demonstration / D.-Y. Li, Q. Xia, T.-T. Yu et al. // *Light: Science & Applications*. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – P. 241. DOI: 10.1038/s41377-021-00682-8.
20. Khaksari, K. Combined effects of scattering and absorption on laser speckle contrast imaging / K. Khaksari, S.J. Kirkpatrick // *Journal of Biomedical Optics*. – 2016. – Vol. 21. – № 7. – P. 076002. DOI: 10.1117/1.JBO.21.7.076002.
21. Li, D. Improving sampling depth of laser speckle imaging by topical optical clearing: A theoretical and *in vivo* study / D. Li, Y. Zhang, B. Chen // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2020. – Vol. 13. – № 02. DOI: 10.1142/S1793545820500042.
22. Qin, H. Precision measurement of stratum corneum thickness in OCT images using variational autoencoders and advanced DSP techniques / H. Qin, Y. Wang // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2026. – Vol. 13. DOI: 10.3389/fbioe.2025.1732519.
23. Neubrand, L.B. Towards non-invasive tissue hydration measurements with optical coherence tomography / L.B. Neubrand, T.G. van Leeuwen, D.J. Faber // *Journal of Biophotonics*. – 2024. – Vol. 17. – № 7. DOI: 10.1002/jbio.202300532.

24. Kübler, J. Investigation of methods to extract confocal function parameters for the depth resolved determination of attenuation coefficients using OCT in intralipid samples, titanium oxide phantoms, and in vivo human retinas / J. Kübler, V.S. Zoutenbier, A. Amelink et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2021. – Vol. 12. – № 11. – P. 6814. DOI: 10.1364/BOE.440574.
25. Zaytsev, S.M. Estimation of Scattering Properties Modifications Caused by In Vivo Human Skin Optical Clearing Using Line-Field Confocal Optical Coherence Tomography / S.M. Zaytsev, L. Waszczuk, J. Ogien et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2025. – Vol. 18. – № 12. DOI: 10.1002/jbio.202400264.
26. Yan, Z. Determination of confocal parameters of OCT imaging for eliminating confocal effect on attenuation coefficient estimation / Z. Yan, X. Cao, G. Shi, J. Mo // *Optics Express*. – 2025. – Vol. 33. – № 7. – P. 16275. DOI: 10.1364/OE.555753.
27. Aglyamov, S.R. Optical coherence tomography for noninvasive monitoring of drug delivery / S.R. Aglyamov, K. V. Larin // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2025. – Vol. 220. – P. 115571. DOI: 10.1016/j.addr.2025.115571.
28. Staehr, C. Neurovascular Uncoupling Is Linked to Microcirculatory Dysfunction in Regions Outside the Ischemic Core Following Ischemic Stroke / C. Staehr, J.T. Giblin, E. Gutiérrez-Jiménez et al. // *Journal of the American Heart Association*. – 2023. – Vol. 12. – № 11. DOI: 10.1161/JAHA.123.029527.
29. Liu, B. Dynamic light scattering and laser speckle contrast imaging of the brain: theory of the spatial and temporal statistics of speckle pattern evolution / B. Liu, D. Postnov, D.A. Boas, X. Cheng // *Biomedical Optics Express*. – 2024. – Vol. 15. – № 2. – P. 579. DOI: 10.1364/BOE.510333.
30. Rivera, D.A. Quasi-analytic solution for real-time multi-exposure speckle imaging of tissue perfusion / D.A. Rivera, C.B. Schaffer // *Biomedical Optics Express*. – 2023. – Vol. 14. – № 8. – P. 3950. DOI: 10.1364/BOE.493821.
31. Santorelli, A. Multi-exposure Speckle Imaging for Quantitative Evaluation of Cortical Blood Flow / A. Santorelli, C.T. Sullender, A.K. Dunn. – 2023. – P. 97-111.
32. Parker, L. Multi-exposure speckle imaging through an optical fiber bundle / L. Parker, S.A. Englemann, A. Tomar et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2025. – Vol. 30. – № 10. DOI: 10.1117/1.JBO.30.10.106006.
33. Zilpelwar, S. Model of dynamic speckle evolution for evaluating laser speckle contrast measurements of tissue dynamics / S. Zilpelwar, E.J. Sie, D. Postnov et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2022. – Vol. 13. – № 12. – P. 6533. DOI: 10.1364/BOE.472263.
34. Zheng, S. Direct characterization of tissue dynamics with laser speckle contrast imaging / S. Zheng, J. Mertz // *Biomedical Optics Express*. – 2022. – Vol. 13. – № 8. – P. 4118. DOI: 10.1364/BOE.462913.

35. Miao, P. Entropy analysis reveals a simple linear relation between laser speckle and blood flow / P. Miao, Z. Chao, Y. Zhang et al. // *Optics Letters*. – 2014. – Vol. 39. – № 13. – P. 3907. DOI: 10.1364/OL.39.003907.
36. Liu, X. Improving Contrast Accuracy and Resolution of Laser Speckle Contrast Imaging Using Two-Dimensional Entropy Algorithm / X. Liu, H. Yang, R. Li // *IEEE Access*. – 2021. – Vol. 9. – P. 148925-148932. DOI: 10.1109/ACCESS.2021.3111097.
37. Evans, L.E. Combining In Vivo Two-Photon and Laser Speckle Microscopy With the Ex Vivo Capillary-Parenchymal Arteriole Preparation as a Novel Approach to Study Neurovascular Coupling / L.E. Evans, A.L. Gray, K.R. Walsh et al. // *Microcirculation*. – 2025. – Vol. 32. – № 1. DOI: 10.1111/micc.70001.
38. Akther, S. Choosing a polarisation configuration for dynamic light scattering and laser speckle contrast imaging. / S. Akther, M.B. Mikkelsen, D.D. Postnov // *Biomedical optics express*. – 2024. – Vol. 15. – № 1. – P. 336-345. DOI: 10.1364/BOE.507367.
39. González Olmos, A. Optimizing the precision of laser speckle contrast imaging / A. González Olmos, S. Zilpelwar, S. Sunil et al. // *Scientific Reports*. – 2023. – Vol. 13. – № 1. – P. 17970. DOI: 10.1038/s41598-023-45303-z.
40. Maity, A.K. SpeckleCam: high-resolution computational speckle contrast tomography for deep blood flow imaging / A.K. Maity, M.K. Sharma, A. Veeraraghavan, A. Sabharwal // *Biomedical Optics Express*. – 2023. – Vol. 14. – № 10. – P. 5316. DOI: 10.1364/BOE.498900.
41. Howard, A.C. Validation of the Linearity in Image Reconstruction Methods for Speckle Contrast Optical Tomography / A.C. Howard, B. Kim, L. Carlton et al. // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2025. – Vol. 31. – № 4: Adv. in Neurophoton. for Non. – P. 1-8. DOI: 10.1109/JSTQE.2025.3581407.
42. Arias-Cruz, J.A. Visualization of in vitro deep blood vessels using principal component analysis based laser speckle imaging / J.A. Arias-Cruz, R. Chiu, H. Peregrina-Barreto et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10. – № 4. – P. 2020. DOI: 10.1364/BOE.10.002020.
43. Wang, M. Real-time full-field optical angiography utilizing principal component analysis / M. Wang, C. Guan, W. Mao et al. // *Optics Letters*. – 2018. – Vol. 43. – № 11. – P. 2559. DOI: 10.1364/OL.43.002559.
44. Li, C. Dynamic laser speckle angiography achieved by eigen-decomposition filtering / C. Li, R. Wang // *Journal of Biophotonics*. – 2017. – Vol. 10. – № 6-7. – P. 805-810. DOI: 10.1002/jbio.201600237.
45. Chang, S. Review of methods and applications of attenuation coefficient measurements with optical coherence tomography / S. Chang, A.K. Bowden // *Journal of Biomedical Optics*. – 2019. – Vol. 24. – № 09. – P. 1. DOI: 10.1117/1.JBO.24.9.090901.

46. Faber, D.J. Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography / D.J. Faber, F.J. van der Meer, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen // *Optics Express*. – 2004. – Vol. 12. – № 19. – P. 4353. DOI: 10.1364/OPEX.12.004353.
47. Vermeer, K.A. Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography / K.A. Vermeer, J. Mo, J.J.A. Weda et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2014. – Vol. 5. – № 1. – P. 322. DOI: 10.1364/BOE.5.000322.
48. Smith, G.T. Automated, Depth-Resolved Estimation of the Attenuation Coefficient From Optical Coherence Tomography Data / G.T. Smith, N. Dwork, D. O'Connor et al. // *IEEE Transactions on Medical Imaging*. – 2015. – Vol. 34. – № 12. – P. 2592-2602. DOI: 10.1109/TMI.2015.2450197.
49. Trunina, N.A. Study of water diffusion in human dentin by optical coherent tomography / N.A. Trunina, V. V. Lychagov, V. V. Tuchin // *Optics and Spectroscopy*. – 2010. – Vol. 109. – № 2. – P. 162-168. DOI: 10.1134/S0030400X10080035.
50. Zaytsev, S.M. In vivo skin optical clearing efficacy quantification of clinically compatible agents using line-field confocal optical coherence tomography / S.M. Zaytsev, M. Amouroux, V. V. Tuchin et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2023. – Vol. 28. – № 05. DOI: 10.1117/1.JBO.28.5.055002.
51. Wang, Y. DMSO synergized with sugars: optical clearing agent modulation of optical coherence tomography of skin tissues / Y. Wang, W. Fang, K. Zhang, Z. Men // *Applied Optics*. – 2024. – Vol. 63. – № 9. – P. 2279. DOI: 10.1364/AO.516082.
52. Narawane, A. Optical clearing with tartrazine enables deep transscleral imaging with optical coherence tomography / A. Narawane, R. Trout, C. Viehland et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2024. – Vol. 29. – № 12. DOI: 10.1117/1.JBO.29.12.120501.
53. Konovalov, A. Laser Speckle Contrast Imaging in Neurosurgery: A Systematic Review / A. Konovalov, V. Gadzhiagaev, F. Grebenev et al. // *World Neurosurgery*. – 2023. – Vol. 171. – P. 35-40. DOI: 10.1016/j.wneu.2022.12.048.
54. Kuri, P.M. Deep Learning-Based Image Analysis for the Quantification of Tumor-Induced Angiogenesis in the 3D In Vivo Tumor Model—Establishment and Addition to Laser Speckle Contrast Imaging (LSCI) / P.M. Kuri, E. Pion, L. Mahl et al. // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 15. – P. 2321. DOI: 10.3390/cells11152321.
55. Yu, C.-Y. Design and validation of a convolutional neural network for fast, model-free blood flow imaging with multiple exposure speckle imaging / C.-Y. Yu, M. Chammas, H. Gurden et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2023. – Vol. 14. – № 9. – P. 4439. DOI: 10.1364/BOE.492739.
56. Meglinski, I. Dynamic Light Scattering in Biomedical Applications: feature issue introduction / I. Meglinski, A. Dunn, T. Durduran et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2024. – Vol. 15. – № 5. – P. 2890. DOI: 10.1364/BOE.525699.

57. Abdurashitov, A.S. Histogram analysis of laser speckle contrast image for cerebral blood flow monitoring / A.S. Abdurashitov, V. V. Lychagov, O.A. Sindeeva et al. // *Frontiers of Optoelectronics*. – 2015. – Vol. 8. – № 2. – P. 187-194. DOI: 10.1007/s12200-015-0493-z.
58. Shteinberg, O. Microsaccades Tracking by Secondary Speckle Pattern Analysis / O. Shteinberg, S. Agdarov, Y. Beiderman et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2025. – Vol. 18. – № 12. DOI: 10.1002/jbio.202400184.
59. Tzabari Kelman, Y. Optical tissue probing: human skin hydration detection by speckle patterns analysis / Y. Tzabari Kelman, S. Asraf, N. Ozana et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10. – № 9. – P. 4874. DOI: 10.1364/BOE.10.004874.
60. Patel, D.D. Validating a low-cost laser speckle contrast imaging system as a quantitative tool for assessing retinal vascular function / D.D. Patel, D.M. Lipinski // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 7177. DOI: 10.1038/s41598-020-64204-z.
61. Sdobnov, A. Advances in Dynamic Light Scattering Imaging of Blood Flow / A. Sdobnov, G. Piavchenko, A. Bykov, I. Meglinski // *Laser & Photonics Reviews*. – 2024. – Vol. 18. – № 2. DOI: 10.1002/lpor.202300494.
62. Mennes, O.A. Assessment of microcirculation in the diabetic foot with laser speckle contrast imaging / O.A. Mennes, J.J. van Netten, J.G. van Baal, W. Steenbergen // *Physiological Measurement*. – 2019. – Vol. 40. – № 6. – P. 065002. DOI: 10.1088/1361-6579/ab2058.
63. Feng, W. Comparison of cerebral and cutaneous microvascular dysfunction with the development of type 1 diabetes / W. Feng, S. Liu, C. Zhang et al. // *Theranostics*. – 2019. – Vol. 9. – № 20. – P. 5854-5868. DOI: 10.7150/thno.33738.
64. Gnyawali, S.C. Quantification of Cerebral Perfusion using Laser Speckle Imaging and Infarct Volume using MRI in a Pre-clinical Model of Posterior Circulation Stroke / S.C. Gnyawali, D.G. Wheeler, A.L. Huttinger et al. // *Journal of Visualized Experiments*. – 2020. – № 165. DOI: 10.3791/61673.
65. Tenland, K. Successful Free Bilamellar Eyelid Grafts for the Repair of Upper and Lower Eyelid Defects in Patients and Laser Speckle Contrast Imaging of Revascularization / K. Tenland, J. Berggren, K. Engelsberg et al. // *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery*. – 2021. – Vol. 37. – № 2. – P. 168-172. DOI: 10.1097/IOP.0000000000001724.
66. Sdobnov, A. Beyond life: Exploring hemodynamic patterns in postmortem mice brains / A. Sdobnov, V. Tsytsarev, G. Piavchenko et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2024. – Vol. 17. – № 7. DOI: 10.1002/jbio.202400017.
67. Konovalov, A. Real-time laser speckle contrast imaging for intraoperative neurovascular blood flow assessment: animal experimental study / A. Konovalov, F. Grebenev, D. Stavtsev et al. // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 1735. DOI: 10.1038/s41598-023-51022-2.

68. Pinho, A. Postoperative Time and Anatomic Location Influence Skin Graft Reperfusion Assessed With Laser Speckle Contrast Imaging / A. Pinho, A. Brinca, J. Xará et al. // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2024. – Vol. 56. – № 6. – P. 564-573. DOI: 10.1002/lsm.23815.
69. Balaji, M.M. Probing diffusive media through speckle differencing / M.M. Balaji, D. Ahsanullah, P. Rangarajan // *Biomedical Optics Express*. – 2024. – Vol. 15. – № 9. – P. 5442. DOI: 10.1364/BOE.531797.
70. Amini, N. Impact of light polarization on laser speckle contrast imaging with a custom phantom for microvascular flow / N. Amini, A. Esteki, M. Ahmadi, P. Sasanpour // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 26652. DOI: 10.1038/s41598-024-73757-2.
71. Cheng, T.Y. Choosing a camera and optimizing system parameters for speckle contrast optical spectroscopy / T.Y. Cheng, B. Kim, B.B. Zimmermann et al. // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 11915. DOI: 10.1038/s41598-024-62106-y.
72. Orlik, X. Standardizing Laser Speckle Orthogonal Contrast Imaging: Achieving Reproducible Measurements across Instruments / X. Orlik, E. Colin, A. Plyer // *Photonics*. – 2024. – Vol. 11. – № 7. – P. 585. DOI: 10.3390/photonics11070585.
73. Zherebtsov, E. Enhancing Transcranial Blood Flow Visualization with Dynamic Light Scattering Technologies: Advances in Quantitative Analysis / E. Zherebtsov, A. Sdobnov, O. Sieryi et al. // *Laser & Photonics Reviews*. – 2025. – Vol. 19. – № 2. DOI: 10.1002/lpor.202401016.
74. Liu, B. Dynamic light scattering and laser speckle contrast imaging of the brain: theory of the spatial and temporal statistics of speckle pattern evolution / B. Liu, D. Postnov, D.A. Boas, X. Cheng // *Biomedical Optics Express*. – 2024. – Vol. 15. – № 2. – P. 579. DOI: 10.1364/BOE.510333.
75. González Olmos, A. Lossless temporal contrast analysis of laser speckle images from periodic signals / A. González Olmos, Z. Humlesen, V. Matchkov, D.D. Postnov // *Biomedical Optics Express*. – 2023. – Vol. 14. – № 4. – P. 1355. DOI: 10.1364/BOE.485951.
76. Ramirez-San-Juan, J.C. Spatial versus temporal laser speckle contrast analyses in the presence of static optical scatterers / J.C. Ramirez-San-Juan, C. Regan, B. Coyotl-Ocelotl, B. Choi // *Journal of Biomedical Optics*. – 2014. – Vol. 19. – № 10. – P. 106009. DOI: 10.1117/1.JBO.19.10.106009.
77. Duncan, D.D. Spatio-temporal algorithms for processing laser speckle imaging data / D.D. Duncan, S.J. Kirkpatrick // S.J. Kirkpatrick, R.K. Wang eds. . – 2008. – P. 685802.
78. Parthasarathy, A.B. Robust flow measurement with multi-exposure speckle imaging / A.B. Parthasarathy, W.J. Tom, A. Gopal et al. // *Optics Express*. – 2008. – Vol. 16. – № 3. – P. 1975. DOI: 10.1364/OE.16.001975.
79. Kondász, B. Mixed scattering as a problem in laser speckle contrast analysis / B. Kondász, B. Hopp, T. Smausz // *Applied Optics*. – 2021. – Vol. 60. – № 22. – P. 6593. DOI: 10.1364/AO.428785.

80. Zheng, S. Correction for background scattering dynamics in quantitative laser speckle contrast imaging / S. Zheng, L. Kretsge, A. Cruz-Martín, J. Mertz // *Biomedical Applications of Light Scattering XII* / A. Wax, V. Backman eds. . – SPIE, 2022. – P. 18.
81. Ramirez-San-Juan, J.C. Impact of velocity distribution assumption on simplified laser speckle imaging equation / J.C. Ramirez-San-Juan, R. Ramos-García, I. Guizar-Iturbide et al. // *Optics Express*. – 2008. – Vol. 16. – № 5. – P. 3197. DOI: 10.1364/OE.16.003197.
82. Ramírez-San-Juan, J.C. Integration of image exposure time into a modified laser speckle imaging method / J.C. Ramírez-San-Juan, Y.C. Huang, N. Salazar-Hermenegildo et al. // *Physics in Medicine and Biology*. – 2010. – Vol. 55. – № 22. – P. 6857-6866. DOI: 10.1088/0031-9155/55/22/016.
83. Wang, C. Robust quantitative single-exposure laser speckle imaging with true flow speckle contrast in the temporal and spatial domains / C. Wang, Z. Cao, X. Jin et al. // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10. – № 8. – P. 4097. DOI: 10.1364/BOE.10.004097.
84. Bonachela, J.A. Entropy estimates of small data sets / J.A. Bonachela, H. Hinrichsen, M.A. Muñoz // *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*. – 2008. – Vol. 41. – № 20. – P. 202001. DOI: 10.1088/1751-8113/41/20/202001.
85. Zherebtsov, E. Enhancing Transcranial Blood Flow Visualization with Dynamic Light Scattering Technologies: Advances in Quantitative Analysis / E. Zherebtsov, A. Sdobnov, O. Sieryi et al. // *Laser & Photonics Reviews*. – 2025. – Vol. 19. – № 2. DOI: 10.1002/lpor.202401016.
86. Zheng, S. Depth resolution in multifocus laser speckle contrast imaging / S. Zheng, S. Xiao, L. Kretsge et al. // *Optics Letters*. – 2021. – Vol. 46. – № 19. – P. 5059. DOI: 10.1364/OL.436334.
87. Zhang, Y. Separating single- and multiple-scattering components in laser speckle contrast imaging of tissue blood flow / Y. Zhang, C. Wang, S. Tong, P. Miao // *Biomedical Optics Express*. – 2022. – Vol. 13. – № 5. – P. 2881. DOI: 10.1364/BOE.453412.
88. Yu, T. Physical and chemical mechanisms of tissue optical clearing / T. Yu, J. Zhu, D. Li, D. Zhu // *iScience*. – 2021. – Vol. 24. – № 3. – P. 102178. DOI: 10.1016/j.isci.2021.102178.
89. Zaytsev, S.M. Impact of optical clearing on *ex vivo* human skin optical properties characterized by spatially resolved multimodal spectroscopy / S.M. Zaytsev, M. Amouroux, G. Khairallah et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2022. – Vol. 15. – № 1. DOI: 10.1002/jbio.202100202.
90. Kılıç, K. Chronic Cranial Windows for Long Term Multimodal Neurovascular Imaging in Mice / K. Kılıç, M. Desjardins, J. Tang et al. // *Frontiers in Physiology*. – 2021. – Vol. 11. DOI: 10.3389/fphys.2020.612678.
91. Drew, P.J. Chronic optical access through a polished and reinforced thinned skull / P.J. Drew, A.Y. Shih, J.D. Driscoll et al. // *Nature Methods*. – 2010. – Vol. 7. – № 12. – P. 981-984. DOI: 10.1038/nmeth.1530.

92. Yang, G. Thinned-skull cranial window technique for long-term imaging of the cortex in live mice / G. Yang, F. Pan, C.N. Parkhurst et al. // *Nature Protocols*. – 2010. – Vol. 5. – № 2. – P. 201-208. DOI: 10.1038/nprot.2009.222.
93. Zhao, Y.-J. Skull optical clearing window for in vivo imaging of the mouse cortex at synaptic resolution / Y.-J. Zhao, T.-T. Yu, C. Zhang et al. // *Light: Science & Applications*. – 2017. – Vol. 7. – № 2. – P. 17153-17153. DOI: 10.1038/lsa.2017.153.
94. Park, H. Longitudinal study of hemodynamics and dendritic membrane potential changes in the mouse cortex following a soft cranial window installation / H. Park, N. You, J. Lee, M. Suh // *Neurophotonics*. – 2019. – Vol. 6. – № 01. – P. 1. DOI: 10.1117/1.NPh.6.1.015006.
95. Tuchin, V. V. Optical clearing of tissues: Issues of antimicrobial phototherapy and drug delivery / V. V. Tuchin, E.A. Genina, E.S. Tuchina et al. // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2022. – Vol. 180. – P. 114037. DOI: 10.1016/j.addr.2021.114037.
96. Xia, Q. In vivo skin optical clearing for improving imaging and light-induced therapy: a review / Q. Xia, D. Li, T. Yu et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2023. – Vol. 28. – № 06. DOI: 10.1117/1.JBO.28.6.060901.
97. K.V. Berezin. Optical clearing of human skin in vivo using aqueous solutions of sorbitol, xylitol, xylose, and DMSO / K.V. Berezin, E.Yu. Stepanovich, A.M. Likhter et al. // *Optics and Spectroscopy*. – 2025. – Vol. 133. – № 5. – P. 535-549.
98. Genina, E.A. Rapid Ultrasound Optical Clearing of Human Light and Dark Skin / E.A. Genina, Y.I. Surkov, I.A. Serebryakova et al. // *IEEE Transactions on Medical Imaging*. – 2020. – Vol. 39. – № 10. – P. 3198-3206. DOI: 10.1109/TMI.2020.2989079.
99. Moldon, P.A. Influence of optical clearing agents on the scattering properties of human nail bed and blood microrheological properties: In vivo and in vitro study / P.A. Moldon, P.B. Ermolinskiy, A.E. Lugovtsov et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2025. – Vol. 18. – № 12. DOI: 10.1002/jbio.202300524.
100. Timoshina, P.A. Transmission Laser Speckle Contrast Imaging Combined With Optical Clearing Using Magnetic Resonance Contrast Agents / P.A. Timoshina, Y.I. Surkov, A.E. Lugovtsov et al. // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2025. – Vol. 57. – № 7. – P. 625-636. DOI: 10.1002/lsm.70051.
101. Feng, W. Visualization of skin microvascular dysfunction of type 1 diabetic mice using in vivo skin optical clearing method / W. Feng // *Journal of Biomedical Optics*. – 2018. – Vol. 24. – № 03. – P. 1. DOI: 10.1117/1.JBO.24.3.031003.
102. WANG, J. ASSESSMENT OF OPTICAL CLEARING INDUCED IMPROVEMENT OF LASER SPECKLE CONTRAST IMAGING / J. WANG, D. ZHU, M. CHEN, X. LIU // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2010. – Vol. 03. – № 03. – P. 159-167. DOI: 10.1142/S1793545810001052.

103. Tuchina, D.K. Kinetics of Rat Skin Optical Clearing at Topical Application of 40%Glucose: Ex Vivo and In Vivo Studies / D.K. Tuchina, P.A. Timoshina, V. V. Tuchin et al. // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. – 2019. – Vol. 25. – № 1. – P. 1-8. DOI: 10.1109/JSTQE.2018.2830500.
104. Zhai, L. Laser speckle contrast imaging based on uniting spatiotemporal Fourier transform / L. Zhai, Y. Du, X. Wu et al. // Chinese Optics Letters. – 2024. – Vol. 22. – № 1. – P. 011701. DOI: 10.3788/COL202422.011701.
105. Zheng, S. Direct characterization of tissue dynamics with laser speckle contrast imaging / S. Zheng, J. Mertz // Biomedical Optics Express. – 2022. – Vol. 13. – № 8. – P. 4118. DOI: 10.1364/BOE.462913.
106. Chuchvara, N. Manually scanned single fiber optical coherence tomography for skin cancer characterization / N. Chuchvara, B. Rao, X. Liu // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 15570. DOI: 10.1038/s41598-021-95118-z.
107. Perwein, M.K.E. Dynamic Optical Coherence Tomography: A Non-Invasive Imaging Tool for the Distinction of Nevi and Melanomas / M.K.E. Perwein, J. Welzel, N. De Carvalho et al. // Cancers. – 2022. – Vol. 15. – № 1. – P. 20. DOI: 10.3390/cancers15010020.
108. Zhou, W. Optical Biopsy of Melanoma and Basal Cell Carcinoma Progression by Noncontact Photoacoustic and Optical Coherence Tomography: *In Vivo* Multi-Parametric Characterizing Tumor Microenvironment / W. Zhou, Z. Chen, Q. Zhou, D. Xing // IEEE Transactions on Medical Imaging. – 2020. – Vol. 39. – № 6. – P. 1967-1974. DOI: 10.1109/TMI.2019.2962614.
109. Achkasova, K.A. Attenuation coefficient as a tool to detect changes in the white matter of the rat brain caused by different types of gliomas and irradiation / K.A. Achkasova, E.B. Kiseleva, A.L. Potapov et al. // Biomedical Optics Express. – 2024. – Vol. 15. – № 11. – P. 6136. DOI: 10.1364/BOE.533903.
110. Larin, K. V. Optical Clearing for OCT Image Enhancement and In-Depth Monitoring of Molecular Diffusion / K. V. Larin, M.G. Ghosn, A.N. Bashkatov et al. // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. – 2012. – Vol. 18. – № 3. – P. 1244-1259. DOI: 10.1109/JSTQE.2011.2181991.
111. Tabassum, S. Optical scattering as an early marker of apoptosis during chemotherapy and antiangiogenic therapy in murine models of prostate and breast cancer / S. Tabassum, A. Tank, F. Wang et al. // Neoplasia. – 2021. – Vol. 23. – № 3. – P. 294-303. DOI: 10.1016/j.neo.2021.01.005.
112. Tuchin, V. V. Handbook of Tissue Optical Clearing / V. V. Tuchin, D. Zhu, E.A. Genina. – Boca Raton : CRC Press, 2021..
113. Sdobnov, A.Y. Hydrogen bound water profiles in the skin influenced by optical clearing molecular agents—Quantitative analysis using confocal Raman microscopy / A.Y. Sdobnov, M.E.

Darvin, J. Schleusener et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2019. – Vol. 12. – № 5. DOI: 10.1002/jbio.201800283.

114. Darvin, M.E. Optical Methods for Non-Invasive Determination of Skin Penetration: Current Trends, Advances, Possibilities, Prospects, and Translation into In Vivo Human Studies / M.E. Darvin // *Pharmaceutics*. – 2023. – Vol. 15. – № 9. – P. 2272. DOI: 10.3390/pharmaceutics15092272.

115. Liu, J. Optimized depth-resolved estimation to measure optical attenuation coefficients from optical coherence tomography and its application in cerebral damage determination / J. Liu, N. Ding, Y. Yu et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2019. – Vol. 24. – № 03. – P. 1. DOI: 10.1117/1.JBO.24.3.035002.

116. Kaiser, H.F. A NOTE ON GUTTMAN'S LOWER BOUND FOR THE NUMBER OF COMMON FACTORS<sup>1</sup> / H.F. Kaiser // *British Journal of Statistical Psychology*. – 1961. – Vol. 14. – № 1. – P. 1-2. DOI: 10.1111/j.2044-8317.1961.tb00061.x.

117. Kalambur, V.S. Microvascular blood flow and stasis in transgenic sickle mice: Utility of a dorsal skin fold chamber for intravital microscopy / V.S. Kalambur, H. Mahaseth, J.C. Bischof et al. // *American Journal of Hematology*. – 2004. – Vol. 77. – № 2. – P. 117-125. DOI: 10.1002/ajh.20143.

118. Palochak, C.M.A. Retinal Blood Velocity and Flow in Early Diabetes and Diabetic Retinopathy Using Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy / C.M.A. Palochak, H.E. Lee, J. Song et al. // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 8. – № 8. – P. 1165. DOI: 10.3390/jcm8081165.

119. Kim, S. Sample entropy analysis of laser speckle fluctuations to suppress motion artifact on blood flow monitoring / S. Kim, E. Kim, E. Anguluan, J.G. Kim // *Chinese Optics Letters*. – 2022. – Vol. 20. – № 1. – P. 011702. DOI: 10.3788/COL202220.011702.

120. Song, L. Improving temporal resolution and speed sensitivity of laser speckle contrast analysis imaging based on noise reduction with an anisotropic diffusion filter / L. Song, X. Wang, R. Zhang et al. // *Journal of Optics*. – 2018. – Vol. 20. – № 7. – P. 075301. DOI: 10.1088/2040-8986/aac4be.

121. Giavarina, D. Understanding Bland Altman analysis / D. Giavarina // *Biochemia Medica*. – 2015. – Vol. 25. – № 2. – P. 141-151. DOI: 10.11613/BM.2015.015.

122. Guven, G. Comparison of laser speckle contrast imaging with laser Doppler perfusion imaging for tissue perfusion measurement / G. Guven, A. Dijkstra, T.M. Kuijper et al. // *Microcirculation*. – 2023. – Vol. 30. – № 1. DOI: 10.1111/micc.12795.

123. Gupta, V. Skin typing: Fitzpatrick grading and others / V. Gupta, V.K. Sharma // *Clinics in Dermatology*. – 2019. – Vol. 37. – № 5. – P. 430-436. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2019.07.010.

124. Chen, R. Deep-learning-based 3D blood flow reconstruction in transmissive laser speckle imaging / R. Chen, S. Tong, P. Miao // *Optics Letters*. – 2023. – Vol. 48. – № 11. – P. 2913. DOI: 10.1364/OL.489480.

125. Zhao, M. Noncontact Speckle Contrast Diffuse Correlation Tomography of Blood Flow Distributions in Burn Wounds: A Preliminary Study / M. Zhao, S. Mazdeyasna, C. Huang et al. // *Military Medicine*. – 2020. – Vol. 185. – № Supplement\_1. – P. 82-87. DOI: 10.1093/milmed/usz233.

126. Dragojević, T. High-density speckle contrast optical tomography of cerebral blood flow response to functional stimuli in the rodent brain / T. Dragojević, E.E. Vidal Rosas, J.L. Hollmann et al. // *Neurophotonics*. – 2019. – Vol. 6. – № 04. – P. 1. DOI: 10.1117/1.NPh.6.4.045001.

127. Kulcsar, C. Laser speckle size and contrast investigation of volumetric scattering from controlled turbid phantoms and mouse skin tissues / C. Kulcsar, D.C. Louie, A. Vitkin // *iScience*. – 2025. – Vol. 28. – № 5. – P. 112433. DOI: 10.1016/j.isci.2025.112433.

128. Utz, S.R. The dynamics of some human skin biophysical parameters in the process of optical clearing after hyperosmotic solutions topical application / S.R. Utz, V. V. Tuchin, E.M. Galkina // *Vestnik dermatologii i venerologii*. – 2015. – Vol. 91. – № 4. – P. 60-68. DOI: 10.25208/0042-4609-2015-91-4-60-68.

129. Lin, T.-K. Barrier abnormalities and keratinocyte-derived cytokine cascade after cessation of long-term topical glucocorticosteroid on hairless mouse skin / T.-K. Lin, K.-J. Wei, C.-H. Wu et al. // *Dermatologica Sinica*. – 2015. – Vol. 33. – № 2. – P. 103-111. DOI: 10.1016/j.dsi.2015.05.002.

130. Røpke, M.A. Effects of glucocorticoids on stratum corneum lipids and function in human skin—A detailed lipidomic analysis / M.A. Røpke, C. Alonso, S. Jung et al. // *Journal of Dermatological Science*. – 2017. – Vol. 88. – № 3. – P. 330-338. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2017.08.009.

131. Barnes, L. Topical Corticosteroid-Induced Skin Atrophy: A Comprehensive Review / L. Barnes, G. Kaya, V. Rollason // *Drug Safety*. – 2015. – Vol. 38. – № 5. – P. 493-509. DOI: 10.1007/s40264-015-0287-7.

132. Bashkatov, A.N. Measurement of tissue optical properties in the context of tissue optical clearing / A.N. Bashkatov, K. V. Berezin, K.N. Dvoretzkiy et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2018. – Vol. 23. – № 09. – P. 1. DOI: 10.1117/1.JBO.23.9.091416.

133. Genina, E.A. Optical clearing of human skin: comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin / E.A. Genina, A.N. Bashkatov, A.A. Korobko et al. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2008. – Vol. 13. – № 2. – P. 021102. DOI: 10.1117/1.2899149.

134. Fluhr, J.W. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent *in vivo* and *ex vivo* models / J.W. Fluhr, K.R. Feingold, P.M. Elias // *Experimental Dermatology*. – 2006. – Vol. 15. – № 7. – P. 483-492. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2006.00437.x.

135. Rich, K.T. Relations between acoustic cavitation and skin resistance during intermediate- and high-frequency sonophoresis / K.T. Rich, C.L. Hoerig, M.B. Rao, T.D. Mast // *Journal of Controlled Release*. – 2014. – Vol. 194. – P. 266-277. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.08.007.

136. Park, D. Sonophoresis in transdermal drug deliveries / D. Park, H. Park, J. Seo, S. Lee // *Ultrasonics*. – 2014. – Vol. 54. – № 1. – P. 56-65. DOI: 10.1016/j.ultras.2013.07.007.
137. Perkov, S. Optical Based Methods for Water Monitoring in Biological Tissue / S. Perkov, J. Cvjetinovic, A. Sydygalieva et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2025. – Vol. 18. – № 12. DOI: 10.1002/jbio.202400438.
138. Davydov, D.A. Skin dehydration monitoring with optical spectroscopy allows assessment of water content in the organism: Thermal and physical loads, diuretic therapy / D.A. Davydov, G.S. Budylin, A. V. Baev et al. // *Journal of Biophotonics*. – 2025. – Vol. 18. – № 6. DOI: 10.1002/jbio.202300509.
139. Lee, C.-K. Evaluation of Moisture-Related Attenuation Coefficient and Water Diffusion Velocity in Human Skin Using Optical Coherence Tomography / C.-K. Lee, M.-T. Tsai, F.-Y. Chang et al. // *Sensors*. – 2013. – Vol. 13. – № 4. – P. 4041-4050. DOI: 10.3390/s130404041.
140. Megrab, N.A. Oestradiol permeation across human skin, silastic and snake skin membranes: The effects of ethanol/water co-solvent systems / N.A. Megrab, A.C. Williams, B.W. Barry // *International Journal of Pharmaceutics*. – 1995. – Vol. 116. – № 1. – P. 101-112. DOI: 10.1016/0378-5173(94)00321-U.
141. Mitriaiikina, S. Synergetic effects of isopropyl alcohol (IPA) and isopropyl myristate (IPM) on the permeation of betamethasone-17-valerate from semisolid Pharmacopoeia bases / S. Mitriaiikina, C.C. Muller-Goymann // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2007. – Vol. 17. – № 5. – P. 1-8. DOI: 10.1016/S1773-2247(07)50052-3.
142. Dragicevic, N. Chemical Penetration Enhancers: Classification and Mode of Action / N. Dragicevic, J.P. Atkinson, H.I. Maibach // *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement*. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2015. – P. 11-27.
143. Mitriaiikina, S. Comparative Permeation Studies of Nondiluted and Diluted Betamethasone-17-Valerate Semisolid Formulations through Isolated Human Stratum Corneum and Artificial Skin Construct / S. Mitriaiikina, C.C. Müller-Goymann // *Skin Pharmacology and Physiology*. – 2009. – Vol. 22. – № 3. – P. 142-150. DOI: 10.1159/000203368.
144. Pershing, L.K. Feasibility of Measuring the Bioavailability of Topical Betamethasone Dipropionate in Commercial Formulations Using Drug Content in Skin and a Skin Blanching Bioassay / L.K. Pershing, B.S. Silver, G.G. Krueger et al. // *Pharmaceutical Research*. – 1992. – Vol. 9. – № 1. – P. 45-51. DOI: 10.1023/A:1018975626210.
145. Pershing, L.K. Topical 0.050% Betamethasone Dipropionate / L.K. Pershing // *Archives of Dermatology*. – 1994. – Vol. 130. – № 6. – P. 740. DOI: 10.1001/archderm.1994.01690060070007.
146. Manabe, E. Analysis of skin penetration enhancing effect of drugs by ethanol-water mixed systems with hydrodynamic pore theory / E. Manabe, K. Sugibayashi, Y. Morimoto // *International*

Journal of Pharmaceutics. – 1996. – Vol. 129. – № 1-2. – P. 211-221. DOI: 10.1016/0378-5173(95)04328-4.

147. Bommannan, D. Examination of the effect of ethanol on human stratum corneum in vivo using infrared spectroscopy / D. Bommannan, R.O. Potts, R.H. Guy // Journal of Controlled Release. – 1991. – Vol. 16. – № 3. – P. 299-304. DOI: 10.1016/0168-3659(91)90006-Y.

148. Berner, B. Ethanol: Water Mutually Enhanced Transdermal Therapeutic System II: Skin Permeation of Ethanol and Nitroglycerin / B. Berner, G.C. Mazzenga, J.H. Otte et al. // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 1989. – Vol. 78. – № 5. – P. 402-407. DOI: 10.1002/jps.2600780512.

149. Johnson, M.E. Synergistic Effects of Chemical Enhancers and Therapeutic Ultrasound on Transdermal Drug Delivery / M.E. Johnson, S. Mitragotri, A. Patel et al. // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 1996. – Vol. 85. – № 7. – P. 670-679. DOI: 10.1021/js960079z.

150. Ou, Z. Achieving optical transparency in live animals with absorbing molecules / Z. Ou, Y.-S. Duh, N.J. Rommelfanger et al. // Science. – 2024. – Vol. 385. – № 6713. DOI: 10.1126/science.adm6869.

151. Guerra, A.R. Tartrazine for Optical Clearing of Tissues: Stability and Diffusion Issues / A.R. Guerra, L.R. Oliveira, G.O. Rodrigues et al. // Journal of Biophotonics. – 2025. – Vol. 18. – № 10. DOI: 10.1002/jbio.202500160.

152. Soleimanzad, H. Optical properties of mice skull bone in the 455- to 705-nm range / H. Soleimanzad, H. Gurden, F. Pain // Journal of Biomedical Optics. – 2017. – Vol. 22. – № 1. – P. 010503. DOI: 10.1117/1.JBO.22.1.010503.

153. Timoshina, P.A. Transmission Laser Speckle Contrast Imaging Combined With Optical Clearing Using Magnetic Resonance Contrast Agents / P.A. Timoshina, Y.I. Surkov, A.E. Lugovtsov et al. // Lasers in Surgery and Medicine. – 2025. – Vol. 57. – № 7. – P. 625-636. DOI: 10.1002/lsm.70051.

154. Li, D.-Y. Transmissive-detected laser speckle contrast imaging for blood flow monitoring in thick tissue: from Monte Carlo simulation to experimental demonstration / D.-Y. Li, Q. Xia, T.-T. Yu et al. // Light: Science & Applications. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – P. 241. DOI: 10.1038/s41377-021-00682-8.

155. González Olmos, A. Optimizing the precision of laser speckle contrast imaging / A. González Olmos, S. Zilpelwar, S. Sunil et al. // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13. – № 1. – P. 17970. DOI: 10.1038/s41598-023-45303-z.

156. Surkov, Yu. Laser speckle contrast imaging with principal component and entropy analysis: a novel approach for depth-independent blood flow assessment / Yu. Surkov, P. Timoshina, I. Serebryakova et al. // Frontiers of Optoelectronics. – 2025. – Vol. 18. – № 1. – P. 1. DOI: 10.1007/s12200-024-00143-1.

157. Lakens, D. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs / D. Lakens // *Frontiers in Psychology*. – 2013. – Vol. 4. DOI: 10.3389/fpsyg.2013.00863.
158. Olejnik, S. Generalized Eta and Omega Squared Statistics: Measures of Effect Size for Some Common Research Designs. / S. Olejnik, J. Algina // *Psychological Methods*. – 2003. – Vol. 8. – № 4. – P. 434-447. DOI: 10.1037/1082-989X.8.4.434.
159. Langsrud, Ø. ANOVA for unbalanced data: Use Type II instead of Type III sums of squares / Ø. Langsrud // *Statistics and Computing*. – 2003. – Vol. 13. – № 2. – P. 163-167. DOI: 10.1023/A:1023260610025.
160. Okada, K. Researchers' choice of the number and range of levels in experiments affects the resultant variance-accounted-for effect size / K. Okada, T. Hoshino // *Psychonomic Bulletin & Review*. – 2017. – Vol. 24. – № 2. – P. 607-616. DOI: 10.3758/s13423-016-1128-0.
161. Liu, Y. Tissue optical clearing enhances efficacy of vascular targeted photodynamic therapy of mouse dorsal skin / Y. Liu, Q. Wang, Y. Liu et al. // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2024. – Vol. 17. – № 02. DOI: 10.1142/S1793545823500232.
162. Feng, W. Comparison of Cortical and Cutaneous Vascular Hemodynamic Changes in Hypoxia by Using *in Vivo* Skull and Skin Optical Clearing Techniques / W. Feng, C. Zhang, D. Zhu // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2021. – Vol. 27. – № 4. – P. 1-7. DOI: 10.1109/JSTQE.2021.3062595.