

АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНИ IN VIVO МЕТОДАМИ МНОГОЧАСТОТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ ГЛУБИНОЙ ЗОНДИРОВАНИЯ

Э. А. Чернявская¹, В. А. Саечников¹, Г. Швайгер²,
А. Остендорф²

¹Белорусский государственный университет
Минск, Беларусь

²Рурский университет, Бохум, Германия
E-mail: saetchnikov@bsu.by

Исследованы возможности повышения точности биохимического анализа состава биологической ткани in vivo с использованием многочастотной спектроскопии диффузного рассеяния света с контролем оптической толщины зондируемого слоя. Продемонстрированы преимущества разработанной методики неинвазивных измерений.

Ключевые слова: неинвазивная диагностика, многочастотная спектроскопия, биохимический состав, биологическая ткань, кровь

ВВЕДЕНИЕ

Процессы поглощения и рассеяния излучения в биоткани обычно анализируются с использованием уравнений Максвелла либо на основе теории переноса. Ограничения применимости первого метода обусловлены сложностью получения точных решений уравнения Максвелла. С другой стороны, процедура моделирования процесса переноса оптического излучения в биоткани затруднена необходимостью учитывать случайные изменения диффузной составляющей интенсивности. Используются различные приближения: теория Кубелки–Мунка, диффузное приближение, метод Монте-Карло и др. Теория переноса используется для описания взаимодействия лазерного излучения с биотканью.

Особенностью лазерной спектроскопии является отсутствие учета рассеяния света в крови при малых концентрациях растворов. Неинвазивные же методы базируются на регистрации обратнорассеянного излучения в биоткани, что обеспечивает получения информации об изменении концентрации хромофоров биологической ткани и крови. Для сложной, многослойной структуры биологической ткани проникающая способность оптического излучения зависит от длины волны. Повысить эффективность выделения сигнала диффузно-рассеянного света на специфических хромофорах биоткани при изменении ее толщины можно, осуществляя измерения на различных длинах волн при пространственном разнесении каналов возбуждения и регистрации.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ДИФфуЗНОГО РАССЕЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНЬЮ IN VIVO И ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Биологические ткани являются сильно рассеивающими средами. Траектории фотонов в них представляют собой зигзагообразные линии с различными длинами. Глубина зондирования и средняя длина траектории фотонов через ткань зависит от поглощающих и рассеивающих свойств ткани и геометрии измерений. Схема экспериментальной установки представлена на рис.1. Основные модули: объект исследования (1) (в наших экспериментах – ткань внутренней стороны пальца человека), галогенная лампа (2), фокусирующая оптика (3), многоканальный оптоволоконный жгут для доставки возбуждающего излучения к исследуемому образцу и рассеянного от образца излучения к спектрометру (4), двухканальный волоконно-оптический спектрометр (5) на видимую и ближнюю ИК спектральные области. Возбуждение осуществлялось через первый канал оптоволоконного жгута, а регистрация интенсивности диффузного рассеяния – через 2–9 каналы, что соответствовало изменению расстояния между каналами возбуждения и регистрации d в диапазоне приблизительно от 0.26 до 2.10 мм. [1] (рис. 1). Данные накапливались в режиме одновременной выборки сигнала в 6 спектральных каналах (660 нм, 740 нм, 810 нм, 840 нм, 910 нм, 950 нм) с частотой до 6 Гц. Длительность измерения в каждом канале оптоволоконного жгута составляла 20 с.

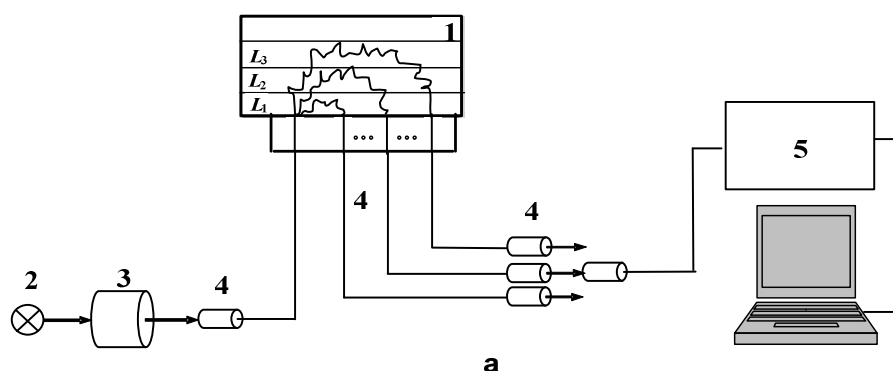


Рис. 1. Схема экспериментальной установки

Данные обрабатывались в среде Matlab. Временные зависимости фотоэлектрических сигналов, соответствующие интенсивности диффузного рассеяния на различных длинах волн, фильтровались на основе вейвлет анализа Wavelet Toolbox Matlab [2]. Выборочные оценки характеристик диффузного рассеяния усреднялись по всему времени измерения.

Для калибровки интенсивности рассеянного излучения в различных каналах оптоволоконного жгута по содержанию биохимических компонент ткани и крови пациентов использовались данные, полученные стандартными сертифицированными методами. После чего строились соответствующие корреляционные кривые и рассчитывались коэффициенты корреляции.

Для пространственно однородной среды коэффициент диффузного отражения можно представить в виде следующего интеграла:

$$R = \frac{I}{I_0} = \int_0^\infty P(\mu'_s, l) \exp(-\mu_a l) dl, \quad ((1))$$

где $P(\mu'_s, l)$ – функция распределения фотонов по длине траектории прохождения в ткани l , которая определяется геометрией экспериментальных измерений (расстоянием между волокнами d , числовой апертурой волокон, расстоянием волокон от поверхности биоткани и др.). Кроме того, она зависит также от рассеивающих свойств среды – редуцированного коэффициента рассеяния μ'_s . При исследовании изменений в спектрах диффузного отражения, вызванных относительно небольшими вариациями μ_a , используется модифицированный закон Ламберта – Бэра :

$$A = \ln R^{-1} = A_0 + \langle L \rangle \mu_a, \quad ((2))$$

где A_0 – ослабление сигнала в среде в отсутствие поглощения, $\langle L \rangle$ – длина пути фотонов в ткани, усредненная определенным образом. В общем случае, когда изменения μ_a велики, $\langle L \rangle$ определяется как [1]:

$$\langle L \rangle_{\text{int}} = \frac{1}{\mu_a} \int_0^{\mu_a} \langle L \rangle \mu_a^* d\mu_a^* = \frac{1}{\mu_a} \times \int_0^{\mu_a} \left[\int_0^\infty l P(l) \exp(-\mu_a^* l) dl / \int_0^\infty P(l) \exp(-\mu_a^* l) dl \right] d\mu_a^*. \quad ((3))$$

В выражении (3) определяется среднее значение длины траектории для диапазона изменения коэффициента поглощения $0 \div \mu_a$. Поскольку величина $\langle L \rangle$ является сложной функцией от μ_a и μ'_s , для практического применения данного выражения, среднюю длину траектории фотонов аппроксимируют более простым выражением. В частности, при небольших вариациях величин μ_a и μ'_s , модифицированный закон Ламберта – Бэра можно записать в дифференциальной форме:

$$\Delta A = \langle L \rangle \Big|_{\mu_a = \mu_a^0} \Delta \mu_a, \quad \mu_a = \mu_a^0 + \Delta \mu_a, \quad ((4))$$

где μ_a^0 – коэффициент поглощения ткани в отсутствие исследуемого хромофора. Здесь $\langle L \rangle$ не зависит от $\Delta \mu_a$, а при условии малых изменений параметра μ'_s , то и от длины волны. В работе [4] было показано, что модифицированный закон Ламберта–Бэра может использоваться и при $\Delta \mu_a \sim \mu_a^0$. Поэтому в диффузионном приближении ($d \gg 1/z_0$ и $\mu_a \ll \mu'_s$) для полубесконечной однородной среды с передающим и приемным волокнами, разнесенными на расстояние d , для ослабления A получается:

$$A = \frac{d}{\delta} + \ln \mu'_s - \ln \left(1 + \frac{d}{\delta} \right) + \text{const} \approx \frac{d}{\delta} + \text{const} = A_0 + \mu_a \left(\frac{3\mu'_s}{\mu_a} \right)^{1/2} d, \quad ((5))$$

где $\delta = \left[3\mu_a (\mu_a + \mu'_s) \right]^{-1/2} \approx (3\mu_a \mu'_s)^{-1/2}$ – глубина проникновения света в ткань. Здесь вид (5) соответствует модифицированному закону Ламберта – Бэра (3), в котором

$$\langle L \rangle_{\text{int}} = \left(\frac{3\mu'_s}{\mu_a} \right)^{1/2} d. \quad ((6))$$

Обусловленная действиями ряда факторов (ослаблением интенсивности излучения от поглощения компонентами ткани и рассеянием в ней) сложная многопараметрическая зависимость интенсивности диффузно рассеянного излучения от рас-

стояния между передающими и приемными волокнами первоначально усреднялась по всему времени измерений для различных спектральных диапазонов.

Хорошо прослеживается увеличение усредненного по времени измерения коэффициента пропускания ткани по мере увеличения длины волны, а также явно проявляющийся сдвиг в длинноволновую область величины d , соответствующей максимальной интенсивности регистрируемого рассеянного излучения (рис. 2).

Полученные экстремумы можно объяснить двумя процессами. Во-первых, это обусловлено общим ослаблением излучения при увеличении длины волны. Во-вторых, увеличением с ростом d вклада в регистрируемое излучение потока от более глубоких слоев.

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПО ГЛУБИНЕ ТКАНИ

На рис. 3 приведены зависимости усредненных интенсивностей от d , нормированные на интенсивность сигнала в наиболее длинноволновом из исследованных диапазонов (950 нм). Как видно из рисунка, по мере увеличения d , следовательно, длины прохождения и глубины проникновения излучения в ткань, нормированная интенсивность в каналах сначала увеличивается, а затем падают. Причем в более коротковолновом диапазоне это проявляется отчетливее. При этом сами зависимости можно аппроксимировать тремя экспонентами, как показано на рис. 3, по крайней мере, для двух из трех приведенных. Таким образом, имеет место явное нарушение экспоненциального закона затухания зондирующего излучения по мере увеличения толщины исследуемого слоя, что свидетельствует о существенном изменении его оптических характеристик слоя при различной глубине проникновения излучения в биоткань.

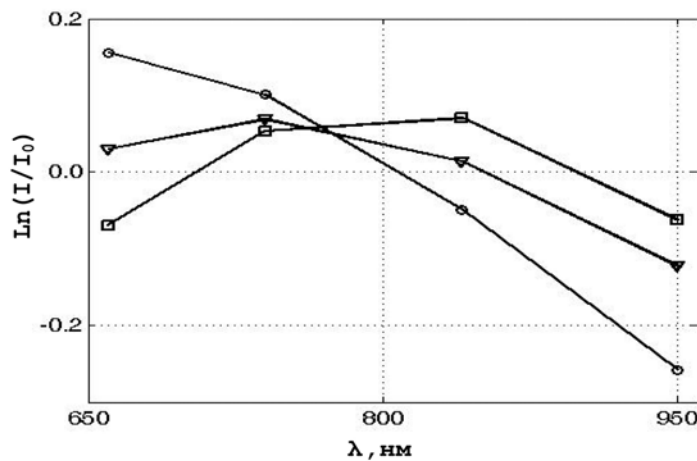


Рис. 2. Зависимость от длины волны интенсивности диффузного рассеянного излучения (в) во 2 (○), 5 (▼), 8 (□) каналах оптоволоконного пробника

Результаты моделирования зависимости относительных интенсивностей диффузного рассеяния для различных пар длин волн от концентраций гемоглобина и оксигемоглобина, а также величины d , показали, что при малых концентрациях оксигемоглобина отношение интенсивностей увеличивается по мере увеличения d , а при

больших – уменьшается. Это определяется изменением соотношений эффективностей поглощения хромофоров при изменении их концентраций. Немонотонный характер изменения интенсивности для всех пар длин волн (рис. 3) объясняется наличием нескольких слоев биоткани с различными характеристиками. По мере увеличения d основной вклад в диффузно рассеянное излучение получаем от более глубоких слоев. При минимальном d получаем регистрируем рассеяние в основном от рогового слоя с низким содержанием хромофоров крови, что приводит к росту интенсивности при увеличении d . При увеличении d увеличивается вклад от слоев с высоким содержанием крови.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ ТОЛЩИНЫ ТКАНИ ДЛЯ АНАЛИЗА ЕЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА IN VIVO

На основании приведенных выше результатов исследований проведена оптимизация экспериментальной методики анализа ткани *in vivo* на содержание хромофоров, в качестве которых использовался гемоглобин в оксидированной и деоксидированной формах. Выбор хромофоров обусловлен наличием хорошо разработанной к настоящему времени методики их контроля неинвазивными методами и поэтому возможностью сравнения методик по точности [2]. Используя описанную выше методику, для 10 пациентов были исследованы зависимости интенсивности диффузного рассеяния на длинах волн: 660, 740, 840, 910 и 950 нм, измеренные во 2 ÷ 9 каналах оптоволоконного пробника. Для данной группы пациентов построены корреляционные кривые для всех возможных отношений длин волн на различных каналах, определены коэффициенты корреляции. В процессе обработки данных была сделана выборка каналов, отношений длин волн, симлетов различных порядков и уровней декомпозиции для которых коэффициент корреляции превышает 0.80. Оказалось, что коэффициент корреляции зависит как от канала регистрации оптоволоконного жгута, так и от выбранной пары спектральных диапазонов регистрации. В частности, оптимальным каналом для измерения общего уровня гемоглобина является восьмой для пары: 660 нм и 950 нм. Для других пар, например 840 нм и 950 нм, зависимость

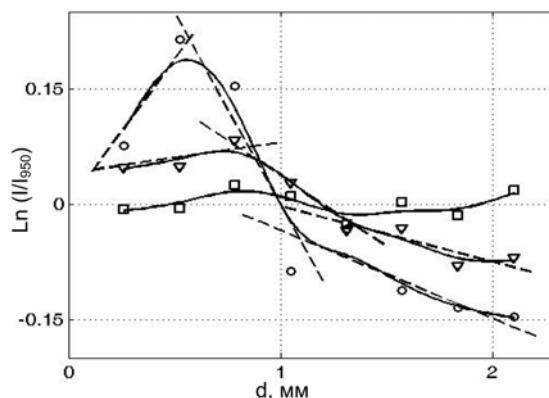


Рис. 3. Зависимость относительной интенсивности диффузно-рассеянного излучения, пересчитанная на длину прохода в ткани на длинах волн 660 (○), 740 (▼), 840 (□) нм

оказывается более сложная. Полученные результаты можно объяснить тем, что глубина проникновения излучения в биоткань, так же как и длина траектории в ней, для 8 канала максимальны (рис. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе модифицированного закона Ламберта – Бэра в рамках диффузионного приближения проведен анализ экспериментальных данных по неинвазивному определению биохимического состава биологической ткани и динамики его изменения с контролем глубины проникновения излучения в ткань. Показано, что контроль оптической толщины слоя биоткани позволяет повысить точность и достоверность результатов биохимического анализа *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Саечников, В. А.* Анализ биохимического состава биологической ткани *in vivo* методом диффузного рассеяния света. / В. А. Саечников, Э. А. Чернявская // ЖПС. 2010. Т. 77, № 6. С. 943–951.
2. *Чернявская, Э. А.* Оптимальная фильтрация экспериментальных данных при неинвазивном определении гемоглобина в крови на основе вейвлет-анализа. / Э. А. Чернявская, Т. В.Авилин // Вестн. БГУ. Серия 1. 2008. № 1. С. 32–35.