

значения c и d ближе к истинным. Данные рис. 5 показывают, что измерения с базой позволяют восстановить средний диаметр капилляров при гораздо менее жестких требованиях на экспериментальные значения δ . Аналогичная ситуация имеет место при диагностике S . Расчеты чувствительности интенсивности рассеянного света к S показали, что она в 5 – 20 раз больше, чем при измерении КДО.

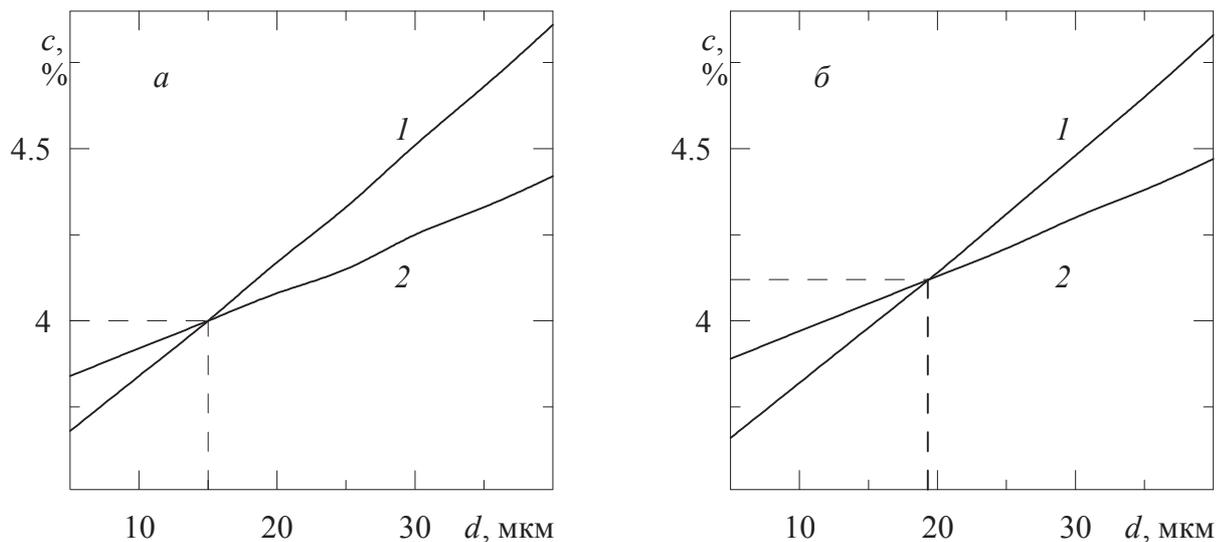


Рисунок 5 – Пары c и d , дающие «измеренное» отношение значений плотности излучения на двух расстояниях $r = 2$ и 3 мм при диффузном освещении поверхности кожи, $a - \delta < 1\%$; $b - \delta = 10\%$; $1 - \lambda = 500$ нм; $2 - \lambda = 570$ нм; $c = 4\%$; $d = 15$ мкм

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ и ГКНТ по договору № Ф09ГКНТ-004.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов А. П. Оптика рассеивающих сред. Минск: Наука и техн., 1969, - 592 с.
2. Хайруллина А. Я. // Инж.-физ. журн. – 1996. – Т. 69. №3. – С. 390 – 398.
3. Барун В. В., Иванов А. П. // Опт. спектроск. – 2006. Т. 100. №1. С. 149 – 157.
4. Барун В. В., Иванов А. П. и др. // Журн. прикл. спектроск. – 2007. – Т. 74. №3. С. 387 – 394.
5. Иванов А. П., Барун В. В., Петрук В. Г. / Проблемы оптической физики, под ред. Тучина В. В. – Саратов: Новый ветер. – 2006. – С. 26 – 37.
6. Барун В. В., Иванов А. П. // Опт. спектроск. – 2004. Т. 96. №6. С. 1019 – 1024.
7. Jacques S. L.. <http://omlc.ogi.edu/news/jan98/skinoptics.html>.
8. Зега Э. П., Иванов А. П., Кацев И. Л.. Перенос изображения в рассеивающей среде. Минск, Наука и техн., 1985 – 327 с.

УДК 535:34, 535:36

**Иванов А. П., Барун В. В., Дик В. П. (Беларусь, Минск), Петрук В. Г., Кватернюк С. М.,
Васильковский И. В. (Украина, Винница)**

ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СУСПЕНЗИИ ЭРИТРОЦИТОВ

Введение

Кровь является одним из основных функциональных компонентов организма человека. Любые заболевания или патологии тем или иным образом проявляются в оптико-биофизических параметрах крови. Поэтому для медицинской диагностики актуален поиск новых путей детектирования изменений указанных параметров. Оптические средства и, в частности, спектральные характеристики рассеянного излучения предоставляют врачу один из способов такого детектирования. Отличительными особенностями этого подхода являются быстродействие, отсутствие дорогостоящих препаратов и реактивов, возможность построения неинвазивных методик диагностики, исследуемый объект практически не подвергается внешнему воздействию и т.д. Для построения диагностических процедур

важно найти новые или расширить число известных оптических маркеров структурных, биофизических, компонентных параметров крови и ее дериватов.

Разработка оптических методов диагностики крови и ее дериватов имеет давнюю историю. Условно эти методы можно разделить на два широких класса, один из которых базируется на характеристиках однократно рассеянного света, а другой реализуется в условиях многократного рассеяния. Каждый из подходов, естественно, имеет свои преимущества и недостатки. Первый основан на известных решениях уравнений Максвелла или формулах Ми, содержащих в явном виде искомые параметры, но требует разбавления крови или использования очень тонких слоев среды вследствие ее высокой степени мутности. При этом могут изменяться диагностируемые параметры эритроцитов, и необходимы специальные физико-химические процедуры сохранения исходных свойств рассеивающих частиц. Переход в дальний ИК спектральный диапазон, где рассеяние света кровью меньше, чем в видимой области, сразу же ограничивает число параметров эритроцитов, поддающихся детектированию. Методики, основанные на многократном рассеянии света кровью, требуют решения уравнения переноса излучения, что само по себе представляет собой сложную задачу физической оптики и математической физики, и последующее применение процедур обращения, относящихся к классу некорректно поставленных задач.

Структурные параметры эритроцитов и их агрегатов

Геометрические размеры эритроцитов представлены в [1, 2] по данным различных авторов. Кратко приведем здесь эти сведения. Эритроциты в норме имеют форму двояковогнутых дисков диаметром $d = 7 - 9$ мкм. По краю толщина диска составляет $1.7 - 2.4$ мкм, а в центре $0.9 - 1.2$ мкм. Форма эритроцитов зависит от осмолярности (солевого состава) среды [3], в которой они находятся, и скорости сдвига их течения [4]. В норме эти биофизические параметры имеют значения соответственно 300 мосмоль/л и 600 с^{-1} . При низкой осмолярности эритроцит «набухает» и его форма стремится к сферической, а при высокой он сжимается и превращается в частицу неправильной формы меньших размеров, чем в норме, с шероховатой поверхностью. Когда увеличивается скорость сдвига и достигает 1000 с^{-1} и более, эритроциты удлиняются в направлении течения [2]. При агрегации эритроциты группируются в «монетные столбики» [5, 6]. Ниже будем моделировать эритроциты цилиндром с круговым основанием диаметром 8 мкм и высотой $l_0 = 2$ мкм. В [7] показано, что двояковогнутую структуру частиц можно просто учесть путем введения в показатель поглощения множителя, несколько изменяющего объем гемоглобина. Соответственно, агрегат эритроцитов будем полагать цилиндром, диаметр которого равен d , а длина $-l = l_0 N$, где N – число частиц в агрегате.

Спектры показателей ослабления и вероятности выживания фотона

Эритроцит представляет собой оптически «мягкую» частицу, у которой действительная часть комплексного показателя преломления $m = n - ik$ близка к 1 ($n = 1.03 \div 1.06$) [7], а мнимая варьируется в широких пределах – порядка $k = 2 \cdot 10^{-5} \div 2 \cdot 10^{-2}$ в видимой и ближней ИК областях спектра на длинах волн $\lambda = 300 - 1000$ нм. Для расчета показателей ослабления ϵ и поглощения k будем использовать приближение аномальной дифракции. В случае цилиндрических частиц соответствующие формулы приведены в [8, 9]. На рис. 1 приведены спектры ϵ и величины $1 - \Lambda = k/\epsilon$ (Λ – вероятность выживания фотона) по мере увеличения степени агрегации эритроцитов при $n - 1 = 0.03$ и степени оксигенации крови $S = 0.75$. Здесь же символами показаны соответствующие значения для сферических частиц, имеющих такой же объем как эритроциты или их агрегаты. Представленные спектры ϵ нормированы на объем частицы, так что все кривые относятся к одинаковому количеству рассеивающего и поглощающего свет материала. Для получения показателя поглощения крови значения ϵ следует умножить на гематокрит H (объемную долю эритроцитов или их агрегатов в крови).

Как видно из рис. 1а, по мере укрупнению частиц они менее эффективно ослабляют свет, проходящий через среду. Так, при увеличении N от 1 до 20 показатель поглощения, нормированный указанным образом, уменьшается примерно в 4 раза. При этом сами спектральные зависимости ϵ становятся более нейтральными, претерпевая слабые осцилляции около среднего значения. Показатели поглощения сферических частиц меньше, как правило, соответствующих ϵ для цилиндров. Данные рис. 1а можно использовать для выбора оптимальных длин волн при экспериментальном определении осмолярности крови, уменьшении которой приводит к сферулизации эритроцитов. Так, в случае отдельных частиц (кривая 1) максимальное отличие (примерно в 1.5 раза) значений ϵ для цилиндров и сфер имеет место при λ около 450 нм. Именно на этой длине волны проще всего наблюдать за «набуханием» эритроцитов. Отметим, что расчеты, выполненные при $n - 1 = 0.06$, показали незначительный рост ϵ по сравнению с $n - 1 = 0.03$. При этом все спектральные особенности, показанные на рис. 1а, сохраняются. Изменение степени оксигенации в пределах $S = 0.5 \div 0.97$ практически не оказывает влияния на показатель ослабления.

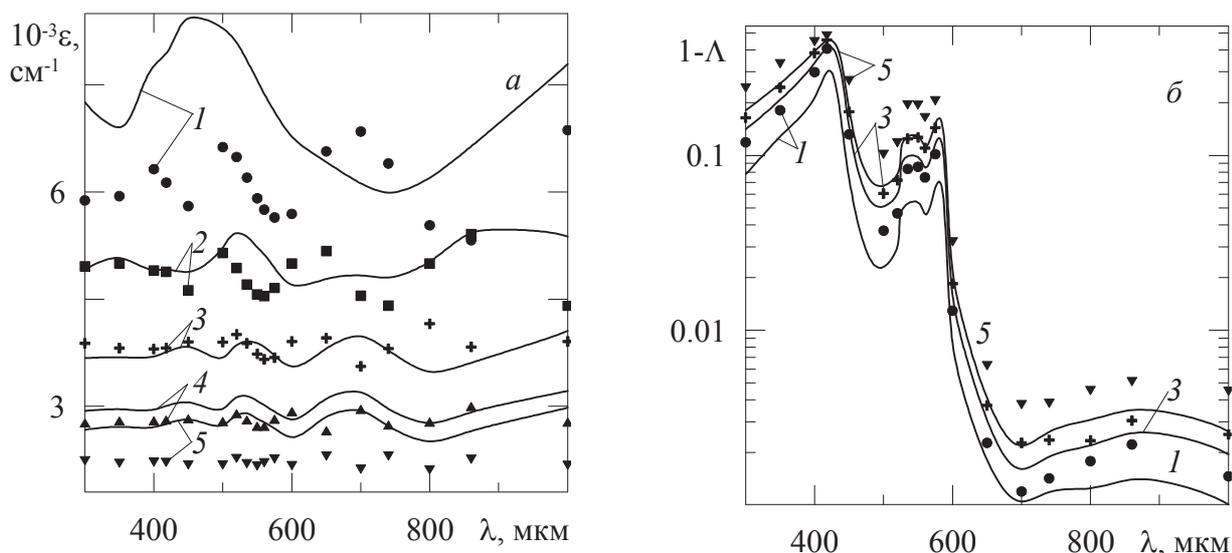


Рисунок 1 – Спектры показателя ослабления ε (а) и величины $1 - \Lambda$ (б) отдельных эритроцитов и их агрегатов при $N = 1$ (кривые 1), 2 (2), 4 (3), 10 (4) и 20 (5), $n - 1 = 0.03$, $S = 0.75$. Символы относятся к эквивалентным сферическим частицам

Зависимости $1 - \Lambda$ от λ (рис. 1б), в целом, повторяют спектральный ход показателя поглощения крови [10]. При укрупнении агрегата эритроцитов вероятность выживания фотона несколько уменьшается. Расчеты для сферических частиц дают несильно заниженные значения Λ .

Эффект «сита» на эритроцитах

В теории рассеяния света на частицах хорошо известно [11], что показатели поглощения раствора вещества и суспензии частиц из того же вещества могут сильно различаться. В первом случае показатель поглощения крови есть просто средневзвешенная сумма соответствующих показателей компонент (будем учитывать только основные компоненты – окси- HbO₂ и деоксигемоглобин Hb)

$$k_b^*(\lambda) = Hf[Sk_{\text{HbO}_2}(\lambda) + (1 - S)k_{\text{Hb}}(\lambda)] = \alpha Hk_e(\lambda), \quad (1)$$

где f – объемная доля гемоглобинов в эритроцитах ($f = 0.25$), k_{HbO_2} , k_{Hb} и k_e – показатели поглощения соответственно окси-, деоксигемоглобина и эритроцитов. В случае суспензии, при локализации гемоглобинов в эритроцитах, в (1) необходимо ввести поправочный коэффициент C [9, 11]

$$k_b(\lambda) = CHf[Sk_{\text{HbO}_2}(\lambda) + (1 - S)k_{\text{Hb}}(\lambda)] = CHk_e(\lambda), \quad (2)$$

учитывающий различия k_b^* и k_b . Значения C зависят от сечения поглощения эритроцитов и от концентрации f гемоглобинов в них. В [12] показано, что при $l \gg d$ в расчетах показателя поглощения цилиндр можно заменить параллелепипедом той же длины, но с поперечным сечением $d \cdot a_{\text{eff}}$, где $a_{\text{eff}} = 0.25\pi d(1 - 0.043k_e d)$ – сторона вдоль направления падения света. Для случайно ориентированных цилиндрических поглотителей получена формула [12]

$$C \equiv C_{\text{rand}} = 2\sqrt{3} \frac{1 - \exp[-\pi k_e d(1 - 0.043k_e d) / (2\sqrt{3})]}{\pi k_e d}, \quad (3)$$

а для регулярно ориентированных –

$$C \equiv C_{\text{alig}} = \frac{\sin \vartheta \{1 - \exp[-0.25\pi k_e d(1 - 0.043k_e d) / \sin \vartheta]\}}{0.25\pi k_e d}, \quad (4)$$

где ϑ – угол между направлением освещения и продольной осью цилиндра. При l порядка d следует пользоваться более громоздкими формулами аномальной дифракции [8, 9].

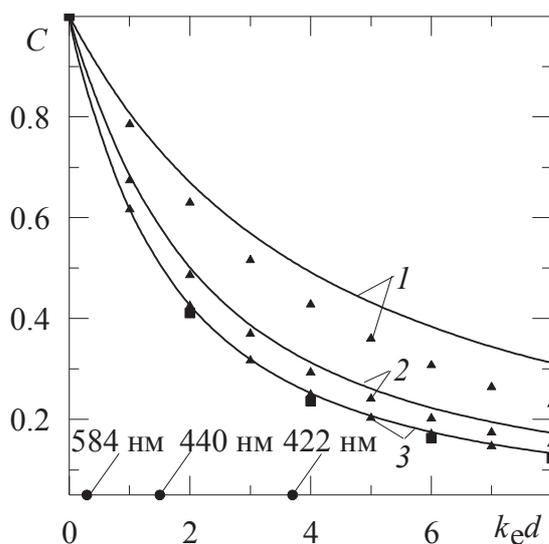


Рисунок 2 – Зависимость C от $k_e d$ при $l = d/4$ (кривая 1), d (2) и $5d$ (3); \blacktriangle – расчет по (3); \blacksquare – для сфер с таким же отношением объема к поверхности, как у цилиндров. На оси абсцисс указаны λ , соответствующие отмеченным значениям $k_e d$

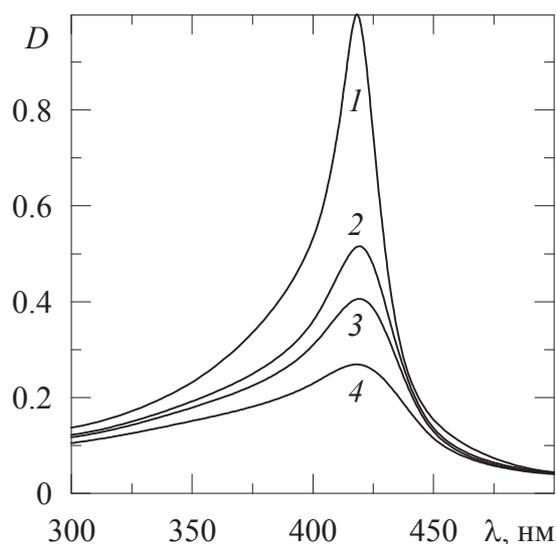


Рисунок 3 – Спектр нормированной оптической плотности раствора гемоглобинов (кривая 1) и суспензии эритроцитов при $l = 2$ (2), 4 (3) и 40 мкм (4), $d = 8$ мкм, $S = 0.75$

Рис. 2 иллюстрирует зависимости C от оптического диаметра $\mu_e d$ для отдельных эритроцитов и их агрегатов. Кривые 1 – 3 соответствуют увеличению l , начиная от $l = 2$ мкм ($N = 1$) до $l = 40$ мкм ($N = 20$). Точками на оси абсцисс, в качестве примера, указаны изосбестические длины волн λ (поглощение не зависит от S), соответствующие данным значениям $k_e d$. Здесь же приведены результаты расчета по (3) при аппроксимации цилиндров параллелепипедами (\blacktriangle) [12]. Видно, что уже при $l = d$ (кривая 2) такое приближение вполне приемлемо, а при $l = 5d$ (3) расхождение между кривой и символами практически незаметно. Ввод коэффициента C в (2) говорит о нарушении закона Бера для дисперсного поглотителя. Его значения как раз указывает долю массы, эффективно участвующей в поглощении. Из рис. 1 видно, что в синей области спектра $C \cong 0.3 - 0.5$ в зависимости от длины l цилиндрической частицы. При увеличении длины волны λ значения C , в целом, растут. При $\lambda \geq 600$ нм коэффициент C близок к 1 вследствие малости $k_e d$, так что обе формулы (1) и (2) практически эквивалентны, и показатели поглощения раствора и дисперсного вещества одинаковы.

В спектроскопии широко распространено понятие оптической плотности $D = -\ln(T)$, где T – коэффициент пропускания исследуемого образца. Измерения D часто используются для определения концентрации поглощающего вещества. На рис. 3 сопоставлены результаты расчетов нормированных спектров $D(\lambda)$ для раствора гемоглобинов и суспензии хаотически ориентированных эритроцитов при одинаковой массе поглотителя. Нормировка всех приведенных кривых осуществлена на максимум $D(\lambda)$ для раствора. Как видно, в синей области спектра имеют место существенные различия между соответствующими кривыми, достигающие нескольких раз. Естественно, что различия наиболее заметны в максимуме поглощения гемоглобина в полосе Сорэ ($\lambda_{\max} \cong 420$ нм), где оптические размеры $k_e d$ и $k_e l$ отдельных эритроцитов или их агрегатов принимают наибольшие значения.

Заключение

В работе показано, как спектральные характеристики рассеяния и поглощения света можно использовать для диагностики крови и эритроцитов. При проведении спектроскопических измерений в синей области необходимо четко обращать внимание на структуру пробы, раствор это или суспензия. Сказанное достаточно очевидно для оптики дисперсных сред, но данные рис. 3 позволяют делать количественные оценки для конкретного объекта исследования – дериватов гемоглобина крови. В случае суспензии эритроцитов, имеет место зависимость оптической плотности от размеров частиц. Поэтому, с одной стороны, для прямого определения концентрации поглотителя по значениям $D(\lambda)$ следует знать эти размеры, а с другой, измерения $D(\lambda)$ позволяют ставить вопрос о решении различных обратных задач оптики дисперсных сред, включая определение размеров эритроцитов или их агрегатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ и ГКНТ по договору № Ф09ГКНТ-004.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кассирский И. А., Алексеев Г. А. Клиническая гематология. М.: Медицина, 1970. – 800 с.
2. Левтов В. А., Регирер С. А., Шадрина Н. Х. Реология крови, М.: Медицина, 1982. – 270 с.
3. Meinke M., Friebel M., Muller G. // Proc. SPIE. – 2007. – V. 6629. – P. 6629-1 – 6629-10.
4. Friebel M., Helfmann J., Muller G., et al. // J. Biomed. Opt. – 2007. – V. 12. – P. 054005-1–054005-8.
5. Lister J. // Philos. Trans. Roy. Soc., London. 1859. – V. 148. – P. 645 – 702.
6. Чижевский А. Л. Структурный анализ движущейся крови. М.: Изд. АН СССР, 1959.
7. Науменко Е. К. // Журн. прикл. спектроск. – 2003. – Т. 70. – С. 375 – 380.
8. Петрушин А. Г. // – 1983. Т. 54. № 5. С. 882 – 884.
9. Барун В. В., Иванов А. П. // Журн. прикл. спектроск. – 2009. – Т. 74. № 4. С. 516 – 524.
10. Барун В. В., Иванов А. П. // Опт. спектроск. – 2006. – Т. 100. № 1. С. 149 – 157.
11. Шифрин К. С. Введение в оптику океана, Л.: Гидрометеоздат, 1983 – 277 с.
12. Барун В. В., Иванов А. П. // Опт. спектроск. – 2004. – Т. 96. – С. 1019 – 1024.

УДК 535.34, 535:36

Барун В. В., Иванов А. П. (Беларусь, Минск)**МОДЕЛИРОВАНИЕ СПЕКТРОВ ДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ НА ХРОМОФОРЫ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА****Введение**

Низкоинтенсивная лазерная терапия прочно вошла в практику лечебных и профилактических процедур, направленных на борьбу с различными заболеваниями человека и снижение рисков здоровью от влияния неблагоприятных факторов окружающей среды. Однако биофизические механизмы воздействия излучения до конца не выяснены. Известно несколько фотоиндуцированных процессов, протекающих при облучении организма, например, светокислородный эффект [1] и фотодиссоциация оксигемоглобина [2]. Оба этих механизма связаны с поглощением света и образованием кислорода в различных формах, оказывающем биофизическое действие. Количественно роль указанных процессов зависит от закономерностей распространения света и результирующих коэффициентов поглощения отдельных хромофоров кожного покрова и ткани в целом. Актуально разработать методику оценки эффективности фотоиндуцированных механизмов воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические ткани в условиях *in vivo* на основе моделирования световых полей в среде.

Понятие спектра действия света

Это понятие часто вводят для оценки эффективности различных фотофизических и фотохимических процессов (люминесценция, фотохимические реакции и т.п.). Конкретная его дефиниция зависит от типа исследуемого процесса. Ниже будем понимать под спектром действия K внешнего излучения на компоненту ткани суммарную мощность излучения, поглощенную данной компонентой в единичном объеме среды, при падении единичной плотности мощности E_0 монохроматического света на ее поверхность. В качестве исследуемой биоткани выберем кожу, т.к. это, с одной стороны, – самый верхний слой тела человека, через который происходит практически любое неинвазивное световое воздействие, а с другой, – ее структурные, биофизические и оптические свойства достаточно полно изучены в литературе. Будем использовать трехслойную модель кожи, включающую верхний роговой слой, эпидермис и дерму. Тогда нормированные спектры действия K^* , см⁻¹ на компоненты биоткани имеют вид:

$$K_m^*(\lambda, z) = K_m(\lambda, z) / f_m = k_m(\lambda)E(\lambda, z) / E_0, \quad (1)$$

$$K_t^*(\lambda, z) = \begin{cases} K_t(\lambda, z) / (1 - f_m) = k_t(\lambda)E(\lambda, z) / E_0 & \text{при } z \text{ в эпидермисе,} \\ K_t(\lambda, z) / (1 - C_v) = k_t(\lambda)E(\lambda, z) / E_0 & \text{при } z \text{ в дерме,} \end{cases} \quad (2)$$

$$K_{\text{HbO}_2}^*(\lambda, z) = K_{\text{HbO}_2}(\lambda, z) / (C_v HfS) = k_{\text{HbO}_2}(\lambda)E(\lambda, z) / E_0, \quad (3)$$

$$K_{\text{Hb}}^*(\lambda, z) = K_{\text{Hb}}(\lambda, z) / [C_v Hf(1 - S)] = k_{\text{Hb}}(\lambda)E(\lambda, z) / E_0, \quad (4)$$

где индексы m , t , HbO_2 и Hb относятся соответственно к ткани-основе, меланину, окси- и деоксигемоглобину, λ – длина волны, z – глубина, отсчитываемая от поверхности, f_m и C_v – объемные концентрации меланина и кровеносных сосудов, H – гематокрит (объемная доля эритроцитов в крови), f –