PACS 42.30.Wb; 33.50.–j

Траекторный метод восстановления изображения для флуоресцентной оптической томографии

О.В.Кравценюк, В.В.Любимов, Н.А.Калинцева

Рассмотрен метод реконструкции, разработанный для оптической диффузной томографии внутренней структуры объектов, которые содержат поглощающие и рассеивающие неоднородности, развитый применительно к объектам с флуоресцирующими неоднородностями. Этот метод пригоден для получения изображения распределения искусственных флуорофоров, скопление которых свидетельствует о наличии различных заболеваний или патологических отклонений.

Ключевые слова: *оптическая диффузионная томография, флуоресцирующие неоднородности, траекторный метод реконструкции.*

1. Введение

Диффузная оптическая томография – это метод получения трехмерных изображений внутренней структуры непрозрачных объектов (в том числе биологических) на основе измерения и обработки теней, обусловленных различиями в пропускании излучения содержащимися в объекте макронеоднородностями. Для получения изображения внутренней структуры объекта этим методом используется излучение ближнего ИК диапазона, получившего название терапевтического окна (0.75 – 0.9 мкм). В этом диапазоне гемоглобин в оксигенированном и дезоксигенированном состояниях имеет существенно различные спектры поглощения, что позволяет отличить здоровую ткань от ткани с морфологическими и функциональными изменениями.

За последние пять лет в нескольких лабораториях началась разработка нового метода диагностики – флуоресцентной диффузной оптической томографии [1 – 5]. В этом методе используются искусственные флуорофоры с различными фармакокинетическими свойствами, специфичные к конкретным заболеваниям. Флуорофор вводится в живой организм, и при возбуждении внешним источником излучения излучает свет на своих длинах волн в диапазоне 0.5 – 0.9 мкм. Из распределения флуоресценции на поверхности биообъекта можно рассчитать пространственное распределение концентрации флуорофора в объекте, на которое влияют различные биохимические процессы, протекающие в живом организме. Так, например, некоторые флуорофоры задерживаются в области ткани со специфическими рецепторами клеток, другие начинают флуоресцировать только тогда, когда присоединяется специфический белок. В обоих случаях флуоресцентный сигнал пропорционален концентрации накопленного или активированного флуорофора [6, 7].

Одним из наиболее перспективных направлений применения методов диффузной оптической флуоресцентной томографии является исследование in vivo мелких лабораторных животных, таких как мыши. Данная биологическая модель, с одной стороны, удобна для изучения процессов роста опухолей, эффективности терапевтических методов и лекарств, а с другой – расширяет выбор флуорофоров вследствие уменьшения длины волны возбуждающего излучения, что позволяет выйти далеко за пределы терапевтического окна. Это обусловлено малостью размеров объектов, а следовательно, возможностью просветить их даже в области сильного поглощения крови [3, 8].

Развитие техники регистрации с использованием CCD-камер позволило в последнее время существенно ускорить процесс сбора данных измерений распределения флуоресценции по всей поверхности объекта [3, 8]. Однако сам процесс реконструкции распределения флуорофора остается громоздким и требует очень большого машинного времени даже при использовании современных компьютеров. Основная сложность реконструкции связана с сильным рассеянием фотонов при их распространении в биологических объектах. Транспортная длина свободного пробега фотонов в биомедицинских объектах составляет $\sim 10^{-1}$ см [9]. Это делает непригодными алгоритмы реконструкции, разработанные в рентгеновской томографии, и требует решения обратной задачи для уравнения переноса или уравнения диффузии.

В настоящей работе проанализирована возможность решения данной задачи методом средних траекторий фотонов (СТФ), который хорошо зарекомендовал себя при реконструкции распределения поглощающих и рассеивающих неоднородностей и требует вследствие некоторых своих особенностей меньших объемов машинного времени [10].

Эти особенности состоят в следующем. Используется относительная тень от макронеоднородности, для которой получено уравнение в виде интеграла по средней тра-

O.V.Kravtsenyuk. Institute of Electronic Structure & Laser – Foundation for Research and Technology – Hellas (IESL-FORTH) P.O.Box 1527, Vassilika Vouton, 71110 Heraklion, Crete; e-mail: olgakr@iesl.forth.gr
В.В.Любимов, Н.А.Калинцева. НИИ лазерной физики ФГУП «НПК "ГОИ им. С.И.Вавилова"» Россия, 199034 С.-Петербург, Биржевая л., 12; e-mail: vv_lyubimov@mail.ru

Поступила в редакцию 5 июля 2006 г., после доработки – 5 октября 2006 г.

ектории фотонов от источника к приемнику. Замена объемных интегралов интегралами по траектории приводит к разреженной системе уравнений, что чрезвычайно ускоряет расчет. Поскольку в подынтегральное выражение входит характеристика макронеоднородности, усредненная по распределению траекторий фотонов вокруг средней, то и восстанавливается усредненная характеристика. Однако это не является ограничением на достигнутый предел разрешения, т. к. использование методов восстановления изображения [11, 12], разработанных в оптике, позволяет в несколько раз уменьшить предел разрешения по сравнению с шириной распределения траекторий фотонов вокруг средней траектории, причем предел улучшения качества изображения определяется отношением сигнал/шум для относительной тени.

Таким образом, при использовании метода СТФ на основании данных об отношении сигнал/шум и о распределении траекторий фотонов вокруг средней траектории появляется возможность обоснованного выбора минимального конечного элемента в сечении объекта в соответствии со следствием Найквиста из теоремы Котельникова – Шеннона [13]. Особенно большой выигрыш в быстродействии метод СТФ дает при переходе к трехмерным объектам сложной формы, т. к. позволяет компоновать трехмерную реконструкцию их двумерных слоев, образованных СТФ [10].

2. Общий анализ возможностей реконструкции распределения флуорофоров в объекте

При использовании для возбуждения флуорофора синусоидально-модулированного лазерного излучения, освещающего точечный участок на поверхности исследуемого объекта, задача реконструкции распределения флуорофора представляет собой обратную задачу для системы уравнений [14]

$$\Delta\varphi_{\rm e}(r) + k_{\rm e}^2\varphi_{\rm e}(r) = -\frac{S(r)}{D_{\rm e}}\,\delta(r), \tag{1}$$

$$\Delta\varphi_{\rm f}(r) + k_{\rm f}^2\varphi_{\rm f}(r) = -\frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)\delta\mu_{\rm ae}}{D_{\rm f}(1-{\rm i}\omega\tau)}\,\varphi_{\rm e}(r), \tag{2}$$

где $\varphi_{\rm e}(r)$ – плотность возбуждающего лазерного излучения внутри объекта; $\varphi_{\rm f}(r)$ – плотность излучения флуоресценции внутри объекта; $k_{\rm e}^2 = {\rm i}\omega n_{\rm e}/(cD_{\rm e}) - \mu_{\rm ae}/D_{\rm e}$; $k_{\rm f}^2 = {\rm i}\omega n_{\rm f}/(cD_{\rm f}) - \mu_{\rm af}/D_{\rm f}$; ω – угловая частота модуляции; $n_{\rm e}$ – коэффициент преломления на длине волны лазерного излучения; c – скорость света; $D_{\rm e}$ и $\mu_{\rm ae}$ – коэффициент диффузии и коэффициент поглощения излучения с длиной волны возбуждающего лазерного излучения соответственно; $\gamma(\lambda,\Delta\lambda)$ – выход флуоресценции на длине волны регистрации; $\delta\mu_{\rm ae}$ – поправка к коэффициенту поглощения, обусловленная локальной концентрацией флуорофора в полосе регистрации; $\delta\mu_{\rm ae} \propto C_{\rm f}$; $C_{\rm f}$ – концентрация флуорофора; λ – регистрируемая длина волны флуоресценции; $\Delta\lambda$ – регистрируемый диапазон длин волн; τ – время жизни возбужденного состояния флуорофора; индексом f обозначены соответствующие параметры флуоресценции.

Прямое решение уравнения (2) имеет вид

$$\varphi_{\rm f}(r) = \frac{1}{4\pi}\int_V \frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)\delta\mu_{\rm af}}{D_{\rm f}(1-{\rm i}\omega\tau)}\,\varphi_{\rm e}(r)g_{\rm f}(r-r_1)\,{\rm d}^3r_1, \tag{3}$$

или, при переходе к плотности потока излучения флуоресценции через единицу поверхности,

$$\frac{CD_{\rm f}}{n}\frac{\partial\varphi_{\rm f}(r)}{\partial\eta} = \frac{c}{4\pi n}\int_V \frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)\delta\mu_{\rm af}}{1-{\rm i}\omega\tau}\,\varphi_{\rm e}(r) \times\frac{\partial}{\partial\eta}g_{\rm f}(r-r_1)\,{\rm d}^3r_1, \tag{4}$$

где интеграл в формулах берется по объему, а для восстановления распределения $\delta\mu_{\rm ae}$ используются результаты измерения величины $(cD_{\rm f}/n)[\partial\varphi_{\rm f}(r)/\partial\eta]$ на поверхности объекта; $g(r-r_1)$ – функция Грина уравнений (1), (2). Для неограниченного пространства $g(r) = (1/|r|)\exp{\rm i}k|r|$. Для важного случая прямоугольных объектов $g(r)$ представляется методом отражения в виде ряда по функциям Грина неограниченного пространства [14]. Ряд значительно упрощается при использовании вытянутой в продольном направлении прямоугольной кюветы [3, 8]. При характерных для биообъектов значениях D и $\mu_{\rm a}$ достаточно двух-четырех членов ряда.

Учитывая, что в приближении Гюйгенса – Френеля

$$\varphi(r) = \frac{k}{2\pi{\rm i}}\int \varphi(r_1)g(r-r_1)\,{\rm d}^2r_1, \tag{5}$$

для решений уравнений (1), (2) получаем соотношение

$$\left[\frac{\partial}{\partial\eta}\varphi_{\rm f}(r,\lambda)\right]\Big/\left[\frac{\partial}{\partial\eta}\varphi_{\rm e}(r)\right] = \frac{\rm i}{2}\int_L \frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)}{D_{\rm f}(1-{\rm i}\omega\tau)k_{\rm e}} \times\langle\delta\mu_{\rm af}\rangle\left[\frac{\partial}{\partial\eta}g_{\rm f}(r-r_1,\lambda)\right]\Big/\left[\frac{\partial}{\partial\eta}g_{\rm e}(r-r_1)\right]{\rm d}l, \tag{6}$$

где

$$\left[\frac{\partial}{\partial\eta}g_{\rm f}(r-r_1,\lambda)\right]\Big/\left[\frac{\partial}{\partial\eta}g_{\rm e}(r-r_1)\right] \simeq \exp{\rm i}\delta k|r-r_1|;$$

$\partial/\partial\eta$ – производная по нормали к поверхности; $\delta k = k_{\rm f}(\lambda) - k_{\rm e}$;

$$\langle\delta\mu_{\rm af}\rangle = \frac{\int_S \delta\mu_{\rm af}\varphi_{\rm e}(r)(\partial/\partial\eta)g_{\rm e}(r-r_1)}{\int_S \varphi_{\rm e}(r)(\partial/\partial\eta)g_{\rm e}(r-r_1)\,{\rm d}^2r_1}\,{\rm d}^2r_1.$$

Выражение (6) позволяет для реконструкции распределения флуорофора использовать метод средних траекторий. Излучение возбуждения распространяется от внешнего его источника к приемнику вдоль СТФ, частично поглощается встретившимися на пути флуоресцентными неоднородностями и измеряется на поверхности объекта. Флуоресцентные неоднородности, в свою очередь, служат вторичными источниками, флуоресцентный сигнал от которых также измеряется на поверхности объекта. Поэтому в алгоритме реконструкции следует учесть, что излучение возбуждения и излучение флуоресценции испытывают различное ослабление, для чего необходимо предварительно оценить положение неоднородностей в объекте.

В случае фантомных экспериментов можно подобрать условия, при которых коэффициент поглощения будет практически постоянным во всем рабочем диапазоне длин волн возбуждения и флуоресценции, т. е. $k_e \simeq k_f$. Тогда будет выполняться условие $\delta k L \ll 1$, и для реализации алгоритма реконструкции на основе уравнения (6) можно использовать те же методы, которые хорошо себя зарекомендовали при работе с поглощающими неоднородностями, используя в качестве тени отношение плотностей потоков флуоресценции и возбуждающего излучения $[(\partial/\partial\eta)\varphi_f(r)]/[(\partial/\partial\eta)\varphi_e(r)]$, измеренных на поверхности объекта [14, 15].

В реальных объектах выделить в спектре поглощения крови участки, удовлетворяющие этому условию, довольно сложно, тем более что из спектра флуоресценции потребуется вырезать ограниченный участок, удовлетворяющий условию $\delta k L \ll 1$.

Для одиночной неоднородности с известным положением ее центра $\bar{r}_1^*$ и траектории, проходящей через точку $\bar{r}_1^*$, формулу (6) можно упростить, вынеся множитель $[(\partial/\partial\eta)\, g_f(r - r_1^*, \lambda)]/[(\partial/\partial\eta)\, g_e(r - r_1^*)]$ за знак интеграла; тогда получим

$$F(i,k) = \frac{[\partial g_e(r - r_1^*)/\partial\eta][\partial\varphi_f(r,\lambda)/\partial\eta]}{[\partial g_f(r - r_1^*,\lambda)/\partial\eta][\partial\varphi_e(r,\lambda)/\partial\eta]}$$
$$= \frac{\mathrm{i}}{2}\int_{l_i}^{l_k} \frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)\langle\delta\mu_a\rangle}{D_f(1 - \mathrm{i}\omega\tau)k_e}\,\frac{[\partial g_f(r - r_1,\lambda)/\partial\eta]}{[\partial g_f(r - r_1^*,\lambda)/\partial\eta]}$$
$$\times \frac{[\partial g_e(r - r_1^*)/\partial\eta]}{[\partial g_e(r - r_1)/\partial\eta]}\,\mathrm{d}l \simeq \frac{\mathrm{i}}{2}\int_L \frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)\langle\delta\mu_a\rangle}{D_f(1 - \mathrm{i}\omega\tau)k_e}$$
$$\times \exp[\mathrm{i}\delta k(r_1 - r_1^*)]\mathrm{d}l. \tag{7}$$

Для траекторий, параллельных траектории, проходящей через центр неоднородности, $\bar{r}_1^*$ определяется как точка пересечения этой траектории с перпендикулярной ей плоскостью, проходящей через центр неоднородности. Введенная таким образом величина $F(i,k)$ может быть названа скорректированной относительной тенью. При выполнении условия $\frac{1}{2}\delta k\delta l \ll 1$, где δl – размер неоднородности, $F(i,k)$ достигает максимума для траекторий, проходящих через неоднородность, что обеспечивает быстроту решения получаемой на основе уравнения (7) системы алгебраических уравнений. Еще более мягкими ограничения на величину δk являются для усредненной по встречным направлениям скорректированной относительной тени $\langle F(i,k)\rangle$, для которой уравнение (7) принимает вид

$$\langle F(i,k)\rangle = \frac{1}{2}[F(i,k) + F(k,i)] \approx \mathrm{i}\int_{l_i}^{l_k} \frac{\gamma(\lambda,\Delta\lambda)}{D_f}$$
$$\times \frac{\langle\delta\mu_a\rangle}{(1 - \mathrm{i}\omega\tau)k_e}\cosh[\mathrm{i}\delta k(r_1 - r_1^*)]\mathrm{d}l, \tag{7a}$$

а ограничение на величину δk таково: $\frac{1}{24}(\delta k\delta l)^2 \ll 1$.

Это условие определяет допустимое различие между длинами волн возбуждающего излучения и регистрируемого участка спектра флуорофора, позволяющее использовать скорректированную относительную тень для реконструкции распределения $\delta\mu_{af}$ в одиночной опухоли методом средних траекторий.

При больших δk будет реконструироваться распределение $\langle\delta\mu_a\rangle\cosh[\mathrm{i}\delta k(r_1 - r_1^*)]$, и это потребует исключения из него вклада гиперболического косинуса.

3. Определение положения флуоресцирующей неоднородности в плоском слое

Выше показано, что для реконструкции распределения флуоресцирующей неоднородности необходимо предварительно знать положение самой неоднородности. Методика определения положения неоднородности может быть основана на выявленном в работе [16] эффекте переноса изображения через сильнорассеивающий и поглощающий слои. В [16] показано, что напротив каждой светящейся точки на выходной поверхности объекта присутствует размытое пятно с распределением интенсивности $\partial/g(\bar{r}_1 - \bar{r})/\partial\eta$, где $\bar{r}$ – координата точки на поверхности, а $\bar{r}_1$ – координата светящейся точки.

3.1. Определение положения флуоресцирующей опухоли по измерению интенсивности флуоресценции при смещении освещаемого участка

Для расчета плотности фотонов $\varphi_e(r)$ возбуждающего излучения необходимо вычислить функцию Грина уравнения диффузии, удовлетворяющую граничным условиям $a\,\partial g(r)/\partial\eta + g(r) = 0$ на поверхности исследуемого тела в виде слоя рассеивающей среды. Наиболее просто это делается методом отражения [17] с использованием граничного условия $g(r) = 0$ на плоскости, находящейся от поверхности объекта на расстоянии экстраполированной длины. Экстраполированная длина в зависимости от коэффициентов преломления и поглощения среды выбирается из решения уравнения переноса для полубесконечной среды [18].

Падающий на поверхность однонаправленный световой пучок заменяется точечным изотропным источником, расположенным от поверхности объекта на расстоянии транспортной длины свободного пробега фотона. Решение уравнения диффузии для непрерывного источника строится в следующем виде:

$$\varphi_e(r) = \frac{A\exp(-\sqrt{3\mu_s'\mu_a}\,|\boldsymbol{r} - \boldsymbol{r}_1|)}{|\boldsymbol{r} - \boldsymbol{r}_1|}$$
$$- \frac{A\exp(-\sqrt{3\mu_s'\mu_a}\,|\boldsymbol{r} + \boldsymbol{r}_1|)}{|\boldsymbol{r} + \boldsymbol{r}_1|}, \tag{8}$$

где $\boldsymbol{r}_1$ – вектор, у которого компоненты x_1 и y_1 совпадают с координатами освещаемой точки, а компонента z_1 равна сумме экстраполированной длины и длины свободного пробега.

Из (8) легко видеть, что $\varphi_e(r) = 0$ в плоскости, удаленной от поверхности объекта на экстраполированную длину. Полный расчет $\varphi_e(r)$ требует построения ряда, получаемого при последовательном отражении от плоскостей, расположенных на расстоянии $d + 2z_1$ друг от друга, но на практике при $d\sqrt{3\mu_s'\mu_a} \ll 1$ достаточно ограничиться двумя членами, и только при расчете плотности потока сквозь слой, когда источники и приемники находятся на противоположных его поверхностях, необходимо добавить еще два члена ряда:

$$\varphi_e(r) = \frac{A\exp(-\sqrt{3\mu_s'\mu_a}\,|\boldsymbol{r} - \boldsymbol{r}_1|)}{|\boldsymbol{r} - \boldsymbol{r}_1|} -$$

$$-\frac{A\exp(-\sqrt{3\mu_{\rm s}'\mu_{\rm a}}\,|\boldsymbol{r}+\boldsymbol{r}_1|)}{|\boldsymbol{r}+\boldsymbol{r}_1|}-\frac{A\exp(\sqrt{3\mu_{\rm s}'\mu_{\rm a}}|\boldsymbol{r}_2-\boldsymbol{r}_1|)}{|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_2-\boldsymbol{r}_1|}$$

$$+\frac{A\exp(-\sqrt{3\mu_{\rm s}'\mu_{\rm a}}|\boldsymbol{r}_2+\boldsymbol{r}_1|}{|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_2+\boldsymbol{r}_1|},\qquad(9)$$

где $\boldsymbol{r}_2$ – вектор, у которого компоненты x_2 и y_2 совпадают с координатами освещаемой точки, а компонента $z_2 = 2d + 4z_0$ равна сумме экстраполированной длины и длины свободного пробега.

Величина A определяется из условия, что при $|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_1| \to 0$ падающий на поверхность поток

$$P_{\rm e}=h\nu\frac{cD}{n}4\pi|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_1|^2\frac{\partial}{\partial(\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_1)}\frac{A\exp(-\sqrt{3\mu_{\rm s}'\mu_{\rm a}}\,|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_1|)}{|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_1|}.$$

Это дает

$$A=\frac{P_{\rm e}n}{4\pi cDh\nu_{\rm e}'},\qquad(10)$$

где $D = 1/3\mu_{\rm s}'$.

Объемная плотность излучающих молекул флуорофора $n_{\rm f}$ пропорциональна плотности возбуждающего излучения:

$$n_{\rm f}=4\delta\mu_{\rm af}\frac{c}{n}\frac{\varphi_{\rm e}}{h\nu_{\rm e}},\qquad(11)$$

а излучаемый единицей объема поток

$$P_{\rm f}\,{\rm d}V=\gamma\delta\mu_{\rm af}\frac{c}{n}\varphi_{\rm e}\frac{\nu_{\rm f}}{\nu_{\rm e}}{\rm d}V,\qquad(12)$$

где $\nu_{\rm f}$ и $\nu_{\rm e}$ – частоты излучения флуоресценции и возбуждающего излучения.

Пусть система координат выбрана следующим образом: плоскость $z = 0$ соответствует поверхности слоя, на которой располагаются источники, а плоскость $x = 0$ проходит через центр единственной неоднородности. Если единица объема флуоресцирующей неоднородности находиться на глубине z, а источник возбуждающего излучения смещен на величину x, то расчет соотношения $P_{\rm f}(z,x)/P_{\rm f}(z,0)$ с учетом формул (8), (12) приводит к выражению

$$\frac{P_{\rm f}(z,x)}{P_{\rm f}(z,0)}\simeq\frac{z^2\exp[\sqrt{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm ae}}(\sqrt{x^2+z^2}-z)}{x^2+z^2}$$

$$=\cos^2\varphi\exp[-z\sqrt{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm a}}(1/\cos\varphi-1)],\qquad(13)$$

где $\cos\varphi = z/\sqrt{z^2+x^2}$.

Эта формула позволяет рассчитать глубину расположения флуоресцентной неоднородности по снижению интенсивности флуоресценции при смещении источника возбуждающего излучения. Так как при этих измерениях расстояние от любого элемента объема до поверхности объекта, на которой расположены приемники излучения, постоянно, то дополнительной деформации спектра флуоресценции из-за различия в поглощениях на разных длинах волн не происходит, т. е. эти измерения не требуют выделения отдельного ограниченного участка спектра.

Следует отметить, что если неравномерность поглощения излучения возбуждения внутри неоднородности значительна ($(3\mu_{\rm ae}\mu_{\rm s})^{1/2}\delta l \geqslant 1$), то положения неоднородности, определенные при перемене сторон освещения и регистрации флуоресценции, будут различаться, однако это не помешает оценить ее продольные размеры.

Для определения глубины нахождения флуоресцирующей неоднородности также может быть использована деформация спектра флуоресценции на выходе из объекта, обусловленная зависимостью спектра поглощения от длины волны.

3.2. Определение поперечных размеров флуоресцирующей неоднородности

В [16] применительно к томографии на ультракоротких импульсах было показано, что оценки разрешающей способности по ширине банановидной зоны и ширине изображения точки на выходной поверхности достаточно близки. Рассмотрим использование переноса изображения для определения поперечных размеров.

Функция Грина для точечного источника, погруженного в полупространство на глубину $z_{\rm s}$, имеет следующий вид:

$$\varphi(r,\lambda)\simeq\frac{A\exp\Big[-\sqrt{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm af}(\lambda)}\sqrt{(z-z_{\rm s})^2+x^2+y^2}\,\Big]}{(z-z_{\rm s})^2+x^2+y^2}$$

$$-\frac{A\exp\Big[-\sqrt{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm af}(\lambda)}\sqrt{(z+z_{\rm s})^2+x^2+y^2}\,\Big]}{(z-z_{\rm s})^2+x^2+y^2}.\qquad(14)$$

Тогда плотность потока через поверхность экстраполированной границы есть

$$I(z,y,0)=\frac{cD}{n}\frac{\partial\varphi}{\partial z},\qquad(15)$$

и после вычисления при $z_2 \gg x, y$ получим

$$I=\frac{c}{n}DA\sqrt{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm af}(\lambda)}$$

$$\times\frac{2\exp\{-\sqrt{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm af}(\lambda)}\,[z_{\rm s}+(x^2+y^2)/2z_{\rm s}]\}}{\sqrt{z_{\rm s}^2+x^2+y^2}}.\qquad(16)$$

Из (16) видно, что каждая точка неоднородности создает на выходной поверхности слоя размытое пятно с гауссовым распределением шириной $\varDelta$ на уровне 0.5 от максимума:

$$\varDelta=2\sqrt{2\ln2}\sqrt{\frac{z_{\rm s}}{3\mu_{\rm s}\mu_{\rm af}(\lambda)}}.\qquad(17)$$

При этом перенесенное изображение $F(x_1, y_1)$ неоднородности имеет вид

$$F(x,y)=\int f(x_1,y_1)k(x-x_1,y-y_1){\rm d}x_1{\rm d}y_1,\qquad(18)$$

где $f(x,y)$ – истинное изображение неоднородности; $k(\Delta x,\Delta y)$ – передаточная функция, задаваемая формулой (16); $F(x,y)$ – изображение, получаемое на выходной поверхности слоя.

Из (16) и (18) видно, что с точки зрения повышения разрешающей способности для проведения исследований целесообразно выбирать участок спектра флуоресценции с максимальным поглощением. Дальнейшее увеличение разрешающей способности может быть достигнуто при использовании методов восстановления изображения [11]. Так как распределение $k(\Delta x, \Delta y)$ имеет форму распределения Гаусса, то рассчитывать на выигрыш в разрешении более чем в 2–3 раза из-за наличия шумовых артефактов в восстанавливаемом изображении не приходится [12]. В отсутствие селекции спектра флуоресценции величину μ_{af} целесообразно определять по максимуму сигнала флуоресценции, измеряемого на поверхности объекта.

4. Реконструкция распределения $\delta\mu_{\mathrm{a}}$

Поскольку

$$f(x, y) \sim \int_{-\delta l/2}^{\delta l/2} \delta\mu_{\mathrm{a}}(r - r_1^*)\, \mathrm{d}z_1, \tag{19}$$

то в тех случаях, когда распределение $\delta\mu_{\mathrm{a}}$ относительно центра неоднородности r_1^* можно считать симметричным, формулу (19) можно использовать для оценки $\delta\mu_{\mathrm{a}}(r - r_1^*)$ с помощью обычных томографических методов реконструкции (см., напр., [19]).

При несимметричных неоднородностях необходимо использовать формулы (7) и (7а). Как показывает опыт работы с объектом в виде плоского слоя, для устойчивой реконструкции достаточно наборов теней, сделанных при ракурсах, которые изменяются в пределах $\pm 45^\circ$.

5. Заключение

Метод СТФ, апробированный при реконструкции рассеивающих и поглощающих макронеоднородностей в сильнорассеивающей среде, может быть использован для реконструкции распределения флуорофора в отдельной флуоресцирующей макронеоднородности, содержащейся в сильнорассеивающем объекте. Полученные теоретические результаты применяются для разработки алгоритма реконструкции распределения флуорофора и его программной реализации.

Работа выполнена в развитие направления «Живые системы» ЛОТ 3 ЖС-13.3/001 «Разработка методов прижизненного мониторинга молекулярных процессов в живых организмах на основе принципов флуоресцентной томографии». О.В.Кравценюк благодарит за поддержку Европейское сообщество и его 6-ю программу Марии Кюри поддержки иностранных ученых (грант MIF1-CT-2005-008330).

1. Li X., Chance B., Yodh A.G. *Appl. Opt.*, **37** (28), 6833 (1998).
2. Milstein A.B., Kennedy M.D., Low P.S., Bowman C.A., Webb K.J. *Appl. Opt.*, **44** (12), 2300 (2005).
3. Schulz R.B., Ripoll J., Ntziachristos V. *IEEE Trans. Med. Imag.*, **23** (4), 1 (2004)
4. Ntziachristos V., Weissleder R. *Opt. Lett.*, **26** (2), 893 (2001).
5. Godavarty A., Eppstein M.J., Zhang C., Theru S., Thompson A., Gurfinkel M., Sevick-Muraca E.M. *Phys. Med. Biol.*, **48**, 1701 (2003).
6. Bornhop D.J., Contag C.H., Licha K., Murthy C.J. *Biomed. Opt.*, **6**, 106 (2001).
7. Ntziachristos V., Tung C., Bremer C., Weissleder R. *Nat. Med.*, **8**, 757 (2002).
8. Partvardan S.V., Bloch S.R., Achilefu S., Curver J.P. *Opt. Express*, **13** (7), 2564 (2005).
9. Тучин В.В. *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследования* (Саратов: изд-во Саратовского ун-та, 1998).
10. Lyubimov V.V, Kalintsev A.G, Konovalov A.B., Lyamtsev O.V. Kravtsenyuk O.V., Murzin A.G., Golubkina O.V., Mordvinov G.B., Soms L.N., Yavorskaya L.M. *Phys. Med. Biol.*, **47**, 2109 (2002).
11. Василенко Г.И., Тараторин И.Н. *Восстановление изображения* (М.: Радио и связь, 1986).
12. Калинцев А.Г., Калинцева Н.А., Кравценюк О.В., Любимов В.В. *Оптика и спектроскопия*, **99** (1), 172 (2005).
13. Наттирер Ф. *Математические аспекты компьютерной томографии* (М.: Мир, 1990, с. 280).
14. Любимов В.В. *Оптика и спектроскопия*, **88** (2), 321 (2000).
15. Lyubimov V.V., Kravtsenyuk O.V., Rylkov V.V., Volkonsky V.B., in *Techn. Program of X Conf. on Laser Optics* (St.-Petersburg, 2000, p. 67).
16. Любимов В.В. *Оптика и спектроскопия*, **76**, 814 (1994).
17. Будак Б.М., Тихонов А.Н., Самарский А.А. *Сборник задач по математической физике* (М.: Наука, 1972, с. 687)
18. Aronson R. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **1888**, 297 (1993).
19. Kravtsenyuk O.V., Lyamtsev O.V., Lyubimov V.V., Mironov E.P., Murzin A.G., Volegov P.L., Yavorskaya L.M. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3262**, 276 (1998).