

# Мониторинг оксигенации крови методом оптической диффузионной томографии\*

М.Патачия, Д.К.А.Дуту, Д.К.Думитрас

*Оптическая диффузионная томография позволяет реконструировать внутреннюю структуру биологических тканей в двух или трех измерениях на основе распределения коэффициента поглощения и редуцированного коэффициента рассеяния, используя множество пар источник света – приемник. Измеренную интенсивность прошедшего через ткань света можно использовать для расчета концентраций окси- и дезоксигемоглобина, измеряя селективное поглощение основных хромофоров крови методом ИК спектроскопии. Спектральная селективность системы и оценка объема крови и ее оксигенации (BV- и ОХУ-распределения) вместе с реконструкцией внутренней структуры ткани позволяют повысить точность ранней диагностики рака, основанной на характеристике ангиогенеза ткани.*

**Ключевые слова:** оптическая диффузионная томография, спектроскопия ближнего ИК диапазона, фантом крови, концентрация оксигемоглобина.

## 1. Введение

Мультиспектральная оптическая диффузионная томография (ОДТ) позволяет провести неинвазивную реконструкцию внутренней структуры ткани и оценить концентрацию в ней основных хромофоров. В настоящей работе мы исследуем возможность использования простой мультиспектральной системы ОДТ с непрерывным источником света (cw-ОДТ) [1] для оценки с помощью ИК спектроскопии концентрации основных хромофоров ткани, а именно окси- и дезоксигемоглобина.

По сравнению с основными работами [2–4], в которых описывается измерение распределений объема крови (BV) и ее оксигенации (ОХУ) в тканях, использование модулированного узкополосного лазерного излучения не только снижает шум спектроскопических измерений, но и дает возможность оценить распределение хромофоров в измерительной плоскости, проходящей через несколько пар источник света – приемник.

Главным преимуществом системы cw-ОДТ по сравнению с оксиметрами крови на основе ИК спектроскопии является ее способность непосредственно измерять коэффициенты поглощения ( $\mu_a$ ) и редуцированного рассеяния ( $\mu'_s$ ), а также широкий спектр функциональных контрастеров, таких как окси- (HbO<sub>2</sub>) и дезоксигемоглобин (Hb) и объем крови, что увеличивает точность диагностики на основе ангиогенеза в патологически измененной области [5, 6].

\* Перевел с англ. А.П.Попов.

**M.Patachia.** Department of Lasers, National Institute for Laser, Plasma and Radiation Physics, 409 Atomistilor St., PO Box MG-36, 077125 Bucharest, Romania; Faculty of Physics, University of Bucharest, 405 Atomistilor St., PO Box MG-11, 077125 Bucharest, Romania; e-mail: mihai.patachia@infpr.ro

**D.C.A.Dutu, D.C.Dumitras.** Faculty of Physics, University of Bucharest, 405 Atomistilor St., PO Box MG-11, 077125 Bucharest, Romania; e-mail: doru.dutu@infpr.ro

Поступила в редакцию 28 октября 2010 г.

Для иллюстрации работы системы и исследования ее возможностей нами был создан простой фантом ткани на основе интралипида и крови человека.

## 2. Измерительная система cw-ОДТ

Для экспериментов мы использовали недорогую ОДТ-систему на основе непрерывного лазера [1], содержащую два пространственно-совмещенных диодных лазера, RLT780-1000G (1 Вт на длине волны 785 нм) и RLT83500G (0.5 Вт, 830 нм) производства Roithner Lasertechnik, фотодетектор с изменяемым усилением OE-200-SI, оснащенный кремниевым фотодиодом диаметром 1.2 мм и двумя синхронными усилителями LIA-MV-150 (FEMTO Messtechnik GmbH). Система способна проводить 128 независимых измерений в течение примерно 60 с через две мультиплексные оптические схемы с разделением по времени с восемью освещающими (S) и восемью детектирующими (R) волокнами в измерительной головке (оптод) (рис.1).

Поддача излучения в определенный волоконный источник света (S<sub>i</sub>), находящийся в измерительной головке, обеспечивается оптическим демультиплексором DMUX (переключатель с одним входом и несколькими выходами), соединенным с подвижным столиком PI M505.2S2 (Mercury Inc.), который двигает коллиматор, подключенный к оптическому выводу излучения двух диодных лазеров и точно устанавливает выход демультиплексора перед освещающими волокнами.

Свет, прошедший через исследуемые среды (фантомы ткани), измеряется аналогичным образом с использованием оптического мультиплексора MUX (переключатель с несколькими входами и одним выходом), который движется точно перед детектирующими волокнами (R<sub>i</sub>); коллиматор размещен на входе фотопредусилителя. Управляемый микропроцессором шаговый двигатель, модель M505.2S2 (20000 имп./об.), обеспечивающий сверхплавное (без вибраций) движение с минимальным шагом 0.1 мкм, позволяет сравнительно быстро и точно позиционировать

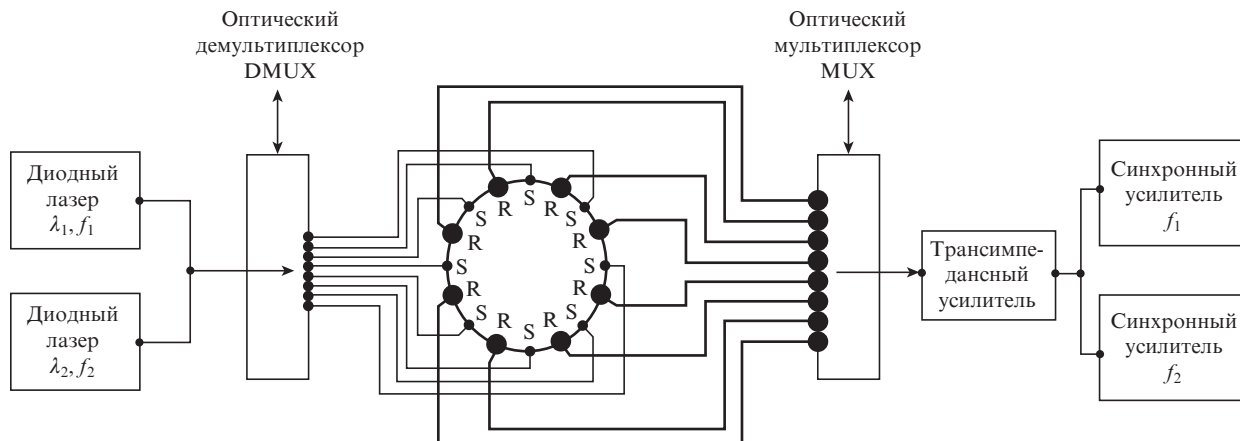


Рис.1. Установка cw-ОДТ, использованная для мониторинга оксигенации крови.

коллиматор перед освещающим/измерительным волокном в диапазоне подвижек до 50 мм.

Эта сложная конструкция, использующая восемь пространственно-распределенных источников света и восемь фотоприемников, дает возможность исследовать зависимость сигнала от расстояния между источником света и приемником и проводить динамические спектральные измерения.

Для проверки эффективности системы применялся жидкостный фантом, моделирующий ткань. Фантом был приготовлен на основе рассеивающего раствора интралипида (липофундина) в воде с общим редуцированным коэффициентом рассеяния  $\mu'_s = 0.8 \text{ мм}^{-1}$  (длина волны 785 нм).

Процесс разведения раствора с желаемым коэффициентом рассеяния описывается формулой

$$\mu_s^{\text{bef}} V^{\text{bef}} + \mu_s^{\text{intr}} V^{\text{intr}} = \mu_s^{\text{aft}} V^{\text{aft}}, \tag{1}$$

где  $V$  – объем раствора, а индексы bef и aft определяют исходные и конечные стадии процесса. Раствор помещался в цилиндрический стакан и размешивался магнитной мешалкой для поддержания его однородности в ходе эксперимента.

Кровь здорового человека, обработанная цитратом натрия, добавлялась в рассеивающий раствор для достижения объемной доли гемоглобина 1.5% (или общей концентрации 30 мкМ). Это типичное значение для нормальных физиологических условий в предположении, что доля объема крови составляет 1.5%, а гематокрит – 15%. Кровь доставлялась из специализированной лаборатории, осуществлялся контроль всех ее физико-химических свойств.

Для инициации дезоксигенации жидкостного фантома в раствор добавлялось 4 г хлебопекарных дрожжей. Температура фантома в течение дезоксигенации поддерживалась равной 37 °С (активное состояние дрожжей). Во избежание механического гемолиза в экспериментах использовалась круглая мешалка, а частота перемешивания выбиралась между 100 и 200 об/мин.

Дезоксигенация наблюдалась до тех пор, пока насыщение гемоглобина кислородом не достигало устойчивого состояния при 25%. После дезоксигенации раствор дрожжей и интралипида приходил в стационарное состояние, и оксигенация моделировалась снова путем медленного добавления кислорода из кислородного бака к фантому. Кислород поступал до достижения устойчивого уровня

оксигенации. Устойчивый уровень насыщения гемоглобина кислородом составлял 85%.

### 3. Принципы измерений

В соответствии с модифицированным законом Ламберта–Бугера–Бера (МЛББ), изменение оптической плотности  $\Delta OD$  в момент времени  $t$  из-за изменения концентрации оксигемоглобина  $\Delta C_{\text{HbO}_2}$  и дезоксигемоглобина  $\Delta C_{\text{Hb}}$  (в мкМ) описывается формулой

$$\begin{aligned} \Delta OD(r, s; \lambda, t) &= -\ln \frac{I(r, s; \lambda, t)}{I_0(r, s; \lambda)} \\ &= [\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda) \Delta C_{\text{HbO}_2}(r; t) + \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda) \Delta C_{\text{Hb}}(r; t)] \text{DPF}(r) d(r), \end{aligned} \tag{2}$$

где  $r, s$  – координаты положения детектора и источника;  $\lambda$  – длина волны лазера;  $I(r, s; \lambda, t)$  – измеренный поток фотонов в момент времени  $t$ ;  $I_0(r, s; \lambda)$  – первоначальный поток фотонов;  $\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda)$  и  $\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda)$  (в  $\text{мкМ}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1}$ ) – коэффициенты ослабления света для  $\text{HbO}_2$  и  $\text{Hb}$ ;  $\text{DPF}(r)$  – безразмерный дифференциальный коэффициент пробега фотона;  $d(r)$  (в мм) – расстояние между источником света и детектором в положении  $r$  [2, 7].

Величиной  $OD_\lambda$  определяется ослабление интенсивности света на длине волны  $\lambda$ , оно является суперпозицией оптических потерь на поглощение ( $A_\lambda$ ) и рассеяние ( $S_\lambda$ ) света. Из МЛББ следует, что изменения концентрации  $\text{HbO}_2$  и  $\text{Hb}$  могут быть найдены по результатам измерений оптической плотности на двух длинах волн. Тогда изменения концентрации  $\text{HbX}$  (т.е.  $\text{HbO}_2$  или  $\text{Hb}$ ) находятся из соотношения

$$\Delta C_{\text{HbX}}(r_i, s_i; t) = \frac{\Delta OD_{\text{HbX}}(r_i, s_i; t)}{\text{DPF}(r) d(r)}. \tag{3}$$

Так как расстояние между источником и приемником относительно велико, а изменения концентрации гемоглобина могут иметь место в любой точке между ними, в рассчитанных выше изменениях  $\text{HbX}$  (3) присутствует некоторая неясность.

С учетом вкладов обоих хромофоров уравнение (2) для длины волны  $\lambda$  можно переписать так:

$$\Delta OD_\lambda = (\varepsilon_{\lambda \text{HbO}_2} \Delta C_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\lambda \text{Hb}} \Delta C_{\text{Hb}}) \text{DPF}_\lambda d. \tag{4}$$

Измеряя  $\Delta OD_\lambda$  на  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  и используя известные коэффициенты ослабления  $\epsilon_{\text{HbO}_2}$  и  $\epsilon_{\text{Hb}}$  на этих длинах волн, можно определить изменения концентрации:

$$\Delta C_{\text{Hb}} = \left( \epsilon_{\lambda_2 \text{HbO}_2} \frac{\Delta OD_{\lambda_1}}{\text{DPF}_{\lambda_1}} - \epsilon_{\lambda_1 \text{HbO}_2} \frac{\Delta OD_{\lambda_2}}{\text{DPF}_{\lambda_2}} \right) \times [(\epsilon_{\lambda_1 \text{Hb}} \epsilon_{\lambda_2 \text{HbO}_2} - \epsilon_{\lambda_2 \text{Hb}} \epsilon_{\lambda_1 \text{HbO}_2})d]^{-1}, \quad (5)$$

$$\Delta C_{\text{HbO}_2} = \left( \epsilon_{\lambda_1 \text{Hb}} \frac{\Delta OD_{\lambda_2}}{\text{DPF}_{\lambda_2}} - \epsilon_{\lambda_2 \text{HbO}_2} \frac{\Delta OD_{\lambda_1}}{\text{DPF}_{\lambda_1}} \right) \times [(\epsilon_{\lambda_1 \text{Hb}} \epsilon_{\lambda_2 \text{HbO}_2} - \epsilon_{\lambda_2 \text{Hb}} \epsilon_{\lambda_1 \text{HbO}_2})d]^{-1}. \quad (6)$$

Полагая, что изменения концентрации могут быть любыми и используя для  $\text{DPF}_\lambda$  соотношение

$$\text{DPF}_\lambda = \frac{1}{2} \left( \frac{3\mu_{s\lambda}}{\mu_{a\lambda}^{\text{init}}} \right)^{1/2} \left[ 1 - \frac{1}{1 + d(3\mu_{s\lambda}^{\text{init}} \mu_{a\lambda}^{\text{init}})^{1/2}} \right], \quad (7)$$

получаем решение уравнения диффузии фотонов для полубесконечной среды:

$$\Delta OD_\lambda = \frac{1}{2} \left( \frac{3\mu_{s\lambda}}{\mu_{a\lambda}^{\text{init}}} \right)^{1/2} \left[ 1 - \frac{1}{1 + d(3\mu_{s\lambda}^{\text{init}} \mu_{a\lambda}^{\text{init}})^{1/2}} \right] \times (\epsilon_{\lambda \text{HbO}_2} \Delta C_{\text{HbO}_2} + \epsilon_{\lambda \text{Hb}} \Delta C_{\text{Hb}})d. \quad (8)$$

Это соотношение показывает, что  $\Delta OD_\lambda$  зависит от рассеяния ткани, начальной концентрации хромофоров, коэффициентов экстинкции и расстояния  $d$  между парой источник света – приемник.

Информация о хромофорах крови может быть использована для оценки объема крови и оксигенации ткани, которые являются признаками гемодинамической активности.

Для реализации ИК спектроскопии могут применяться различные подходы: с разрешением по времени, частоте и с использованием непрерывного излучения. Среди них наиболее практичным является последний, в котором свет с постоянной интенсивностью вводят в ткань, а затем анализируют уменьшение интенсивности из-за поглощения. Изменение интенсивности используется для расчета изменения концентрации хромофоров крови. Благодаря своей практичности непрерывные ИК системы позволяют проводить мониторинг хромофоров крови у пациента в течение длительного времени.

Так как каждый хромофор имеет свой коэффициент ослабления и свой дифференциальный коэффициент пробега, то измерения на двух длинах волн могут быть просто выражены матрицами ( $T$  – транспонирование матрицы), а именно:

$$\overline{\Delta OD} = \overline{M} \times \overline{\Delta C}, \quad (9)$$

где

$$\overline{\Delta OD} = \begin{vmatrix} \Delta OD_{\lambda_1} \\ \Delta OD_{\lambda_2} \end{vmatrix}; \quad \overline{\Delta C} = \begin{vmatrix} \Delta C_{\text{HbO}_2} \\ \Delta C_{\text{Hb}} \end{vmatrix};$$

$$\overline{M} = d \left( \begin{vmatrix} \epsilon_{\lambda_1 \text{HbO}_2} & \epsilon_{\lambda_2 \text{HbO}_2} \\ \epsilon_{\lambda_1 \text{Hb}} & \epsilon_{\lambda_2 \text{Hb}} \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \text{DPF}_{\lambda_1} & 0 \\ 0 & \text{DPF}_{\lambda_2} \end{vmatrix} \right)^T.$$

Следовательно, уравнение (9) определяет связь изменения интенсивности света с концентрацией хромофоров крови.

Найдем следующие два параметра как функции концентраций хромофоров крови, а именно

$$\text{BV} = \Delta C_{\text{HbO}_2} + \Delta C_{\text{Hb}}, \quad (10)$$

$$\text{OXY} = \Delta C_{\text{HbO}_2} - \Delta C_{\text{Hb}}, \quad (11)$$

которые предполагаются пропорциональными изменениям объема крови и оксигенации из-за активации гемодинамики.

#### 4. Расчет и параметры

Коэффициент поглощения и редуцированный коэффициент рассеяния, используемые при расчете  $\text{DPF}_\lambda$ , взяты из литературы [8]. В предположении, что уровень насыщения кислородом составляет 85%, а общая концентрация гемоглобина – 150 мкМ, получаем следующие коэффициенты поглощения и редуцированный коэффициент рассеяния:  $\mu_{a785} = 0.016 \text{ мм}^{-1}$ ,  $\mu_{a830} = 0.022 \text{ мм}^{-1}$ ,  $\mu'_{s785} = 0.8 \text{ мм}^{-1}$ ,  $\mu'_{s830} = 0.95 \text{ мм}^{-1}$ .

Подставляя эти коэффициенты в формулу (7), получаем значения  $\text{DPF}_\lambda$  для трех различных расстояний  $d$  между источником света и детектором на указанных длинах волн (табл.1). Эти значения соответствуют литературным данным [3]. Кроме того, из значений, взятых из литературы [8], получаем:

$$\overline{\epsilon} = \begin{vmatrix} \epsilon_{\text{HbO}_2}^{785} & \epsilon_{\text{HbO}_2}^{830} \\ \epsilon_{\text{Hb}}^{785} & \epsilon_{\text{Hb}}^{830} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} 0.731 & 0.974 \\ 0.997 & 0.693 \end{vmatrix}. \quad (12)$$

Подставив (12) в (9), получим соотношения между изменением интенсивности света и концентрацией хромофоров крови для различных  $d$ :

$$\begin{vmatrix} \Delta C_{\text{HbO}_2} \\ \Delta C_{\text{Hb}} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} -0.38066 & 0.53502 \\ 0.54528 & -0.39980 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \Delta OD_{785} \\ \Delta OD_{830} \end{vmatrix},$$

$$d = 9.75 \text{ мм};$$

$$\begin{vmatrix} \Delta C_{\text{HbO}_2} \\ \Delta C_{\text{Hb}} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} -0.16330 & 0.226746 \\ 0.23831 & -0.17473 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \Delta OD_{785} \\ \Delta OD_{830} \end{vmatrix}, \quad (13)$$

$$d = 19.13 \text{ мм};$$

$$\begin{vmatrix} \Delta C_{\text{HbO}_2} \\ \Delta C_{\text{Hb}} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} -0.10385 & 0.14596 \\ 0.15534 & -0.11390 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \Delta OD_{785} \\ \Delta OD_{830} \end{vmatrix},$$

$$d = 27.75 \text{ мм}.$$

Табл.1.  $\text{DPF}_\lambda$  для различных расстояний  $d$  между источником света и детектором.

$d$ (мм)	$\text{DPF}_{785}$	$\text{DPF}_{830}$
9.75	4.02	4.04
19.13	4.83	4.70
27.7	5.17	4.98

### 5. Результаты и их обсуждение

Для проверки эффективности системы был использован динамический жидкостный фантом, моделирующий ткань. Раствор помещался в специальный цилиндрический стакан, в нижней части которого имелась трубка для подачи кислорода, закрытая пористой стеклянной прокладкой для предотвращения проникновения жидкости и улучшения распределения пузырьков кислорода по объему жидкостного фантома.

Дезоксигенация и оксигенация гемоглобина были последовательно реализованы путем погружения мешочка с дрожжами в жидкостный фантом с последующей доставкой дополнительного объема кислорода из кислородного бака к фантому. Подача кислорода продолжалась до момента достижения устойчивого уровня оксигенации.

Дрожжи помещались в мешочек из фильтровальной бумаги во избежание смешивания их с жидкостным фантомом и образования неоднородных сгустков. Эта мера предосторожности применялась только в течение нескольких циклов дезоксигенации.

На каждой длине волны измерялся пропорциональный потоку фотонов сигнал на выходе двух синхронных усилителей. Сигнал, измеренный фотодетектором, помещенным на расстоянии  $d$  от источника света, определяет концентрацию хромофоров во время процессов оксигенации и дезоксигенации в фантоме крови (рис.2).

Измерив указанный сигнал, мощность лазеров на выходе освещающего волокна (6.61 мВт для 785 нм и 19.1 мВт

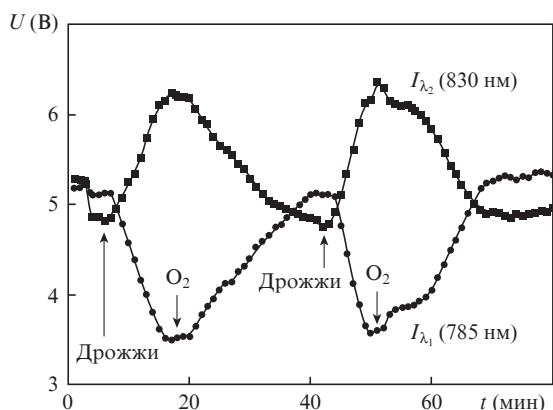


Рис.2. Напряжение на выходе двух синхронных усилителей, используемое для декодирования сигнала, на длинах волн 785 и 830 нм.

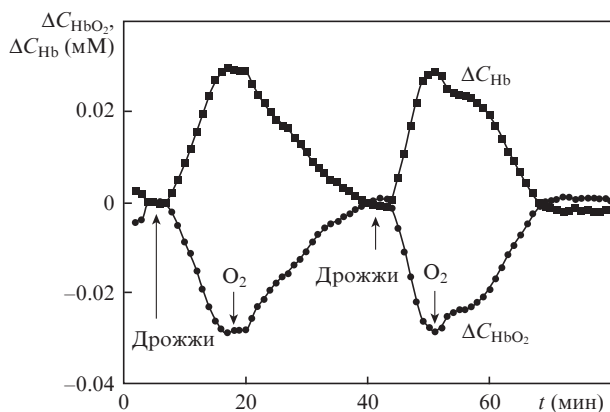


Рис.3. Эволюция во времени концентрации окси- и дезоксигемоглобина в фантоме ткани при активации гемодинамики путем напуска кислорода и добавления дрожжей.

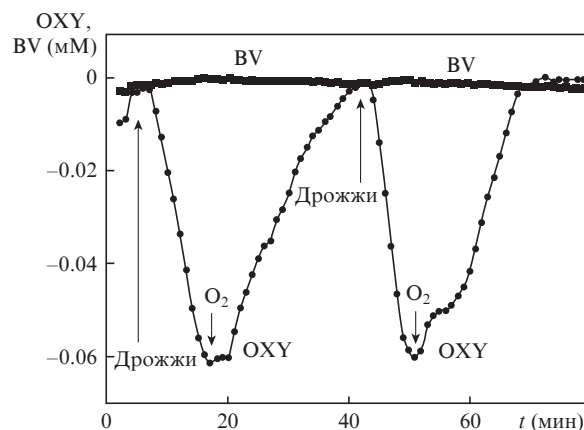


Рис.4. Эволюция во времени оксигенации и объема крови при активации гемодинамики путем напуска кислорода и добавления дрожжей.

для 830 нм) и общее усиление измерительной системы, можно вычислить концентрации окси- и дезоксигемоглобина в соответствии с уравнениями (2), (9) и (12) (рис.3).

Для известных значений  $\Delta C_{HbO_2}$  и  $\Delta C_{Hb}$  в соответствии с уравнениями (10) и (11) можно измерить оксигенацию OXY и объем крови BV (рис.4). Полученные данные хорошо согласуются с основными результатами, опубликованными в последние годы [3–5].

При измерении можно следить за изменением концентрации окси- и дезоксигемоглобина по цвету жидкостного фантома, который меняется от ярко-красного при полной оксигенации до темно-красного при полной дезоксигенации. Снижение гемолиза в фантоме крови подтверждается воспроизводимостью уровня насыщения кислородом для гемоглобина, остающегося постоянным в течение повторных измерений (85%).

Такой же результат может быть получен, если концентрация измеряется динамически с помощью восьми пар источник света – приемник измерительной головки и программно обеспечения, с помощью которого инициируется периодическая связь двух оптических мультиплексоров в измерительной системе каждой смежной пары источник – приемник ( $S_iR_j$ ). Расстояние между источником и приемником света в такой паре равно 9.75 мм, как и при статических измерениях.

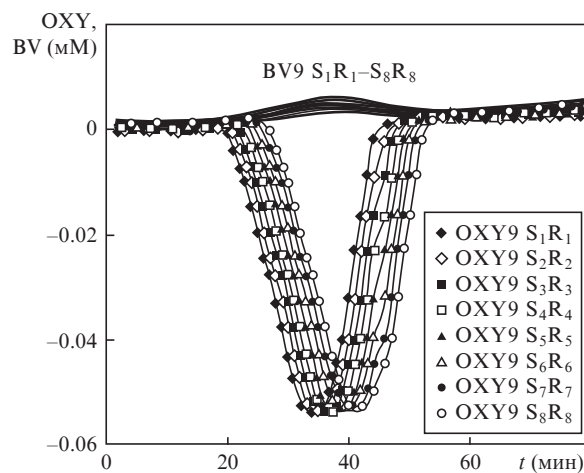


Рис.5. Эволюция во времени оксигенации и объема крови при гемодинамической активации и использовании динамического сбора данных ОДТ-системы.

При вычислении  $\Delta OD_\lambda$  необходимо ввести поправочный коэффициент для компенсации ошибок в положении оптического волокна в двух оптических мультиплексорах и измерительной головке. Поправочный коэффициент определяется коэффициентом масштабирования сигнала в растворе интралипида для восьми пар источник света–приемник.

Зависимости  $OXY$  и  $BV$  от времени при активации гемодинамики представлены на рис.5.

## 6. Заключение

Полученные результаты подтверждают расчетные параметры жидкостного фантома и способность системы оценивать концентрацию окси- и дезоксигемоглобина.

Хорошее согласие статических и динамических изменений указывает на однородность жидкостного фантома. Отклонение в результатах измерений составляет менее 5% и обусловлено наличием пузырьков кислорода в растворе в процессе оксигенации и неоднородностей при погружении мешочка с дрожжами в жидкостный фантом.

Использование для освещения биологических тканей диодных лазеров вместо светодиодов увеличивает отношение сигнал/шум и позволяет разработать сложную систему с несколькими парами источник света–приемник. Применение лазерного излучения повышает спектральную селективность и пространственно-временное разрешение, а также позволяет избежать увеличения температуры ткани в месте контакта с источником света.

Основным преимуществом функциональной ИК спектроскопии является возможность непосредственно и с очень высоким временным разрешением измерять широкий спектр функциональных контрастеров, таких как окси- и дезоксигемоглобин, а также общий гемоглобин. Анализ распределения хромофора при помощи непрерывной ИК спектроскопии может повысить разрешение и точность в различных приложениях cw-ОДТ, включая визуализацию рака молочной железы [6].

1. Dutu D.C.A., Dumitras D.C., Matei C., Magureanu A.M., Patachia M., Miclos S., Savastru D., Liang X., Jiang H., Iftimia N., *Design and Parametric Evaluation of a Continuous-wave Diffuse Optical Tomography System* (ICPEPA'09) (Sapporo, Japan, 2009).
2. Chul Ye J., Tak S., Eun Jang K., Jung J., Jang J. *Neuroimage*, **44**, 428 (2009).
3. Bozkurt A., Rosen A., Rosen H., Onaral B. *A Portable Near Infrared Spectroscopy System for Bedside Monitoring of Newborn Brain*, *Bio-Medical Eng. OnLine* (2005).
4. Hazinski M.F. *Pediatric Evaluation and Monitoring Considerations, Hemodynamic Monitoring: Invasive and Noninvasive Clinical Application*, Ed. by G.O.Darovic (Philadelphia, PA: W.B.Saunders, 2002, p.471–514).
5. Devaraj A. *Signal Processing for Functional Near-infrared Neuroimaging*, PhD Thesis, Drexel University, 2005.
6. Srinivasan S., Pogue B.W., Jiang S.D., Dehghani H., Kogel C., Soho S., Gibson J.J., Tosteson T.D., Poplack S.P., Paulsen K.D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **100**, 12349 (2003).
7. Heiskala J., Kotilahti K., Nissilä I. *Proc. 2005 IEEE Eng. in Medicine and Biology 27th Annual Conf.* (Shanghai, China, 2005).
8. Prahl S., *Tabulated Molar Extinction Coefficient for Hemoglobin in Water* (prahl@ece.ogi.edu).