

# Измерение температурной зависимости эффективности оптико-акустического преобразования в биотканях *in-vitro*

С.М.Никитин, Т.Д.Хохлова, И.М.Пеливанов

*Экспериментально исследована возможность применения оптико-акустического метода для мониторинга температуры при тепловом воздействии на биоткани. В качестве исследуемых сред использовались: куриная грудка (как модель мышечной ткани), свиное сало (в качестве жировой ткани) и свиная печень (как модель кровенасыщенной ткани). *In-vitro* измерены зависимости амплитуды возбуждаемого в биотканях оптико-акустического сигнала от температуры в диапазоне 20–80 °С. Измерения проведены в двух режимах: «на нагрев» и «на остывание». Выявлены сходство и различие в поведении полученных зависимостей в различных температурных диапазонах, связанные со структурным составом исследуемых образцов. Проведена оценка предельной точности восстановления температуры по экспериментальным данным для исследуемых типов тканей. Показано, что температура, соответствующая коагуляции биотканей, может быть определена с точностью ~1 °С.*

**Ключевые слова:** оптико-акустический метод, высокоинтенсивный сфокусированный ультразвук, оптические свойства биотканей, мониторинг температуры, эффективность оптико-акустического преобразования.

## 1. Введение

В настоящее время весьма актуальной является задача разработки методов локального измерения температуры внутри биотканей для применений в медицине. Данные методы можно было бы использовать для контроля тепловой энергии, которая поступает в ткань при гипертермии для уничтожения раковых опухолей или при их высокоинтенсивной ультразвуковой (общепринятая аббревиатура – HIFU) терапии. Для этих целей измерения температуры в фокальной области HIFU излучателя необходимо проводить за время, меньшее 1 с, при пространственном разрешении ~1 мм и температурной чувствительности ~1 °С [1]. Прямые измерения температуры биоткани могут быть проведены с использованием термпары или терморезистора. Однако этот метод является инвазивным, т. к. требует хирургического вмешательства. Наряду с ним существуют и неинвазивные методы.

В большинстве методов, основанных на применении диагностического ультразвука для мониторинга температуры, используется температурная зависимость скорости звука [2]. Данная зависимость приводит к сдвигам в изображении органа, подвергнутого температурному воздействию. Решение обратной задачи в приближении модели однородной среды позволяет восстановить распределение температуры [3, 4] при условии, что зависимость скорости звука от температуры для данного органа известна. Ограничением применения этого метода является то, что далеко не все биоткани можно считать акустически однородными. Кроме того, для некоторых биотканей скорость звука растет с температурой, для некоторых (на-

пример, для жировой ткани) – падает, а для некоторых – сначала растет, затем падает при температурах выше 60 °С [5, 6]. Структурные изменения ткани, вызванные ее коагуляцией или обезвоживанием, также приводят к изменению скорости звука [7].

Инфракрасная термография позволяет проводить измерения температуры в реальном времени с точностью 0.1 °С, но только на поверхности исследуемого объекта [8]. Применение оптических методов также ограничено приповерхностными слоями ввиду сильного светорассеяния [9], присущего большинству биотканей.

Распределение температуры в области HIFU воздействия может быть получено методом магниторезонансной (МР) термометрии. Типичное пространственное разрешение данного метода составляет 2–6 мм. При этом достигается чувствительность по температуре ~1 °С, однако временное разрешение равно 1–4 с [10, 11]. Это позволяет использовать МР термометрию только при медленном нагреве [12, 13], когда разрушение ткани происходит за десятки секунд, тогда как, например, HIFU терапия может проводиться за миллисекунды. Немаловажным фактором является также высокая стоимость и громоздкость МР систем [10, 11, 14].

Таким образом, разработка метода, который смог бы преодолеть эти ограничения, т. е. был бы неинвазивным, имел бы достаточное пространственное разрешение, высокую чувствительность по температуре (~1 °С), большую глубину зондирования (порядка нескольких сантиметров) и мог бы использоваться для измерений в реальном времени, остается актуальной задачей.

Для измерения распределения температуры внутри изучаемого объекта, потенциально, может применяться оптико-акустический (ОА) метод [15]. Обычно при исследовании биотканей для генерации ОА сигналов используются наносекундные лазерные импульсы, что позволяет работать в мегагерцевом диапазоне частот акустических колебаний, обеспечивая субмиллиметровое пространственное разрешение. Амплитуда и форма возбуждаемого

С.М.Никитин, Т.Д.Хохлова, И.М.Пеливанов. Международный учебно-научный лазерный центр МГУ им. М.В.Ломоносова, Россия, 119991 Москва, Воробьевы горы; e-mail: pelivanov@ilc.edu.ru

Поступила в редакцию 15 июня 2011 г., после доработки – 7 февраля 2012 г.

акустического сигнала зависят от теплофизических и оптических (коэффициенты поглощения и рассеяния света) свойств среды, а также от плотности энергии лазерного излучения в среде. Данные характеристики зависят от температуры, поэтому амплитуда и форма возбуждаемого ОА сигнала также будут зависеть от температуры в среде. Поскольку в биологических средах (средах со слабой теплопроводностью) скорость звука на несколько порядков больше характерной скорости диффузии тепла за время действия лазерного импульса, распределение температуры внутри биотканей может быть найдено из решения обратной задачи ОА томографии [16–18].

Одним из возможных применений ОА метода является мониторинг процесса HIFU терапии биотканей. При HIFU терапии мощные ультразвуковые волны фокусируются внутрь человеческого тела, что вследствие поглощения ультразвука приводит к нагреву и последующей коагуляции биоткани (например, опухолей) в фокальной области излучателя [19]. Разрушенная область затем «утилизируется» организмом. Этот эффект используется для терапии опухолевых тканей [20–22], вызывая их коагуляционный некроз, и при остановке внутренних кровотечений [23]. Как правило, размеры единичного разрушения, вызванного воздействием HIFU, составляют 5–10 мм в длину и 2–3 мм в поперечном сечении. Для разрушения большой массы ткани фокальная область излучателя сканируется по необходимой области. HIFU терапия уже применялась *in vivo* для неинвазивного удаления новообразований в молочной железе, предстательной железе, печени, почке и других органах (см., напр., [19–21]), однако основным фактором, препятствующим широкому применению этой технологии в медицине, является недостаточное развитие методов контроля процедуры воздействия – визуализации разрушенной области, прицеливания, мониторинга температуры.

Принципиальная возможность ОА диагностики теплового разрушения, вызванного воздействием высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука на биологические ткани, была, по-видимому, впервые продемонстрирована в работе [24]. С помощью HIFU излучателя в свиной печени было получено тепловое разрушение достаточно большой области (25 × 3 мм), расположенной на относительно небольшой глубине (~1 см) внутри биоткани. Благодаря изменению параметров участка среды, подвергшегося тепловому воздействию, временной профиль ОА сигнала имел особенность (локальный максимум). Эта особенность позволяла определить положение области среды, подвергшейся воздействию сфокусированного ультразвука. Однако в [24] не рассматривалась динамика процесса температурного воздействия (определялись лишь изменения оптических свойств коагулированного участка ткани образца по сравнению со свойствами остальной его части). Особенности ОА преобразования по мере нагрева участка биоткани не исследовались.

В работе [25] на примере мышечной ткани и печени собаки была экспериментально продемонстрирована чувствительность амплитуды ОА сигнала к изменению температуры биоткани. Эксперименты были выполнены с помощью широкого лазерного пучка. Поэтому влияния поглощения и рассеяния света, локального распределения плотности энергии лазерного излучения в приповерхностной области исследуемой биоткани, а также параметра Грюнайзена на температурную зависимость амплитуды ОА сигнала не могли быть разделены. С другой

стороны, когда ОА преобразование происходит внутри небольшого участка биоткани, амплитуда ОА сигнала пропорциональна коэффициенту поглощения света на этом участке ткани и очень слабо зависит от коэффициента рассеяния [26]. Таким образом, зависимости амплитуды ОА сигнала от оптических свойств среды при ОА преобразовании, происходящем на поверхности ткани или внутри нее, различны. Данное обстоятельство должно быть учтено при мониторинге температуры во время HIFU воздействия, когда изменение параметров среды происходит внутри малого объема ткани.

Экспериментальное исследование температурной зависимости амплитуды ОА сигнала было также проведено в [27]. В качестве исследуемой модельной среды была взята мышечная ткань индейки. Образец биоткани помещался в резервуар с маслом с температурой, превышающей комнатную. Измерения проводились в диапазоне температур от комнатной до равновесной для обеих сред. Недостаток работы [27] заключался в том, что температурное поле внутри образца было неоднородным, т.е. температура биоткани могла быть различной на поверхности, где происходило основное поглощение света, и внутри, где была установлена термopара.

Для применения в медицинской практике ОА метода контроля температуры биоткани в процессе термического воздействия на нее необходимо установить характер температурной зависимости эффективности ОА преобразования для различных типов тканей, т.е. получить некоторые калибровочные зависимости.

Интересный подход для получения таких калибровочных зависимостей был предложен в работе [28]. Авторы использовали наночастицы для повышения эффективности ОА преобразования внутри биоткани. Предполагалось, что наличие наночастиц приводит к изменению только коэффициента поглощения биоткани, но не коэффициента термоакустического преобразования (параметра Грюнайзена), т.е. сигналом, возникающим за счет теплового расширения самих частиц, пренебрегалось. Как показано в [29], данное предположение не является строгим. Кроме того, коэффициент поглощения биоткани [12, 22, 23] может меняться, если их температура превышает температуру коагуляции.

Насколько нам известно, ОА диагностика *in-vivo* при HIFU воздействии на биоткань упоминается только в одной работе [30]. Удивительно, что контраст амплитуды ОА преобразования в кровенасыщенной ткани (почке мыши) после HIFU воздействия получился отрицательным. Причина этого остается до конца не ясной. Несмотря на рост коэффициента поглощения благодаря формированию метгемоглобина при высоких температурах, процесс коагуляции ткани мог блокировать циркуляцию крови в ткани и инициировать ее обезвоживание. Эти процессы могли уменьшать результирующий ОА контраст, который, как мы полагаем, может сильно зависеть от режима HIFU воздействия.

Таким образом, проблема мониторинга температурного воздействия выглядит достаточно сложной и, следовательно, требует поэтапного решения. Работы, упомянутые выше, не дают прямой рекомендации для создания устройства, способного выполнять ОА мониторинг температуры во время HIFU воздействия в реальном времени.

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы дополнить предыдущие работы в части изучения ОА преобра-

зования в различных типах тканей при различных режимах их нагрева и охлаждения в широком диапазоне температур.

## 2. ОА метод

Амплитуда ОА сигнала, возбуждаемого в некотором элементарном объеме среды, пропорциональна произведению коэффициента поглощения света  $\mu_a$  и эффективности ОА преобразования  $\Gamma = c_0^2 \beta / (2c_p)$  (параметру Грюнайзена;  $c_0$  – скорость звука,  $\beta$  – коэффициент теплового расширения,  $c_p$  – удельная теплоемкость при постоянном давлении) [15], которые зависят от температуры. Восстановление распределения температуры внутри биоткани может быть сделано на основе регистрации ОА сигналов, возбуждаемых в биоткани при поглощении импульсного лазерного излучения, матрицей приемников и дальнейшего решения обратной задачи ОА томографии [15–17], если калибровочная зависимость  $\mu_a \Gamma$  от температуры для исследуемого типа ткани известна.

Для измерения калибровочных зависимостей мы предлагаем использовать следующую методику. Пусть на границу прозрачной среды и биоткани падает лазерный импульс наносекундной длительности. Тогда, как показано, например, в [26], амплитуда возбуждаемого в биоткани ОА сигнала определяется выражением

$$P_{\max} = k \Gamma \mu_a E_0, \quad (1)$$

где  $k \equiv E_{\max} / E_0$  – коэффициент возрастания плотности энергии излучения в приповерхностном слое рассеивающей среды;  $E_{\max}$  – максимальная плотность энергии лазерного излучения в среде.

Если среда является однородной, поглощающей и нерассеивающей, то максимальная плотность энергии лазерного излучения  $E_{\max}$  достигается на поверхности поглощающей среды и равна плотности энергии в падающем лазерном пучке  $E_0$ . Однако для рассеивающих сред  $E_{\max}$  в приповерхностном слое может в 4–6 раз превышать  $E_0$  благодаря обратному рассеянию света. Данный эффект теоретически и экспериментально исследовался в ряде работ (см., напр., [31–33]). В этом случае коэффициент  $k$  зависит от диаметра лазерного пучка и оптических коэффициентов (коэффициента поглощения и приведенного коэффициента рассеяния света) [26]. Поэтому амплитуда возбуждаемого ОА сигнала будет определяться уже тремя изменяющимися с температурой параметрами:  $E_{\max}$ ,  $\mu_a$  и  $\Gamma$  (см. формулу (1)). Изменение параметров  $E_{\max}$  и  $\mu_a$  обусловлено необратимыми изменениями в биоткани, например при ее коагуляции [24, 34, 35], или образованием при высоких температурах метгемоглобина в содержащейся в ней крови [36, 37]. Это существенно усложняет возможность интерпретации получаемых данных.

Однако в случае узкого пучка диаметром  $d \leq l^*$  ( $l^* = 1/\mu'_s$  – транспортная длина свободного пробега фотона в среде), что для большинства биотканей в видимом и ближнем ИК диапазонах выполняется при условии  $d \leq 0.5$  мм, величина  $k(\mu_a/\mu'_s)$  является константой при  $0.01 < \mu_a/\mu'_s < 0.3$  [26]. Следовательно, диаметр зондирующего пучка может быть подобран так, чтобы в приповерхностном слое среды плотность поглощенной энергии лазерного излучения  $\mu_a E_{\max}$  была примерно одинакова при различных коэффициентах рассеяния и линейно зависела от коэффициента поглощения света  $\mu_a$ .

Итак, при косвенной схеме регистрации [26], узком лазерном пучке и конечной длительности лазерного импульса амплитуда ОА сигнала пропорциональна коэффициенту поглощения света  $\mu_a$  и практически не зависит от приведенного коэффициента рассеяния  $\mu'_s$ . Тогда температурная зависимость амплитуды ОА сигнала будет совпадать с температурной зависимостью  $\mu_a \Gamma$  (тем самым из выражения (1) исключается зависимость  $E_{\max}$  от температуры, которая связана с изменением коэффициента рассеяния света в биоткани).

Таким образом, измерив зависимость амплитуды ОА сигнала от температуры в данных условиях для разных биотканей, можно получить калибровочные зависимости для  $\mu_a \Gamma$ .

## 3. Экспериментальная установка и исследуемые среды

В качестве источника возбуждения ОА сигналов использовалось излучение основной гармоники ( $\lambda = 1064$  нм) импульсного Nd:YAG-лазера с модуляцией добротности и частотой повторения 50 Гц импульсов длительностью  $\tau_L = 12$  нс (рис. 1). Энергия импульсов могла уменьшаться с помощью набора светофильтров и составляла 2–3 мДж на поверхности биоткани, а диаметр пучка был равен 2.5 мм. Важно отметить, что плотность энергии лазерного излучения, падающего на исследуемый объект в процессе измерений, согласно [38], была значительно меньше максимально допустимой. Среда нагревалась за один лазерный импульс менее чем на  $0.01$  °C, а за весь цикл измерений при усреднении по 128 реализациям – менее чем на  $1$  °C.

Для поворота направления излучения на  $90^\circ$  в установке использовался специальный делительный куб. Он был изготовлен из двух находящихся в оптическом контакте кварцевых призм треугольного сечения. На одну из соприкасающихся поверхностей был нанесен тонкий металлический слой. Этот слой являлся «акустически тонким», т. е. возбуждаемый в исследуемой среде ОА сигнал, проходя через него, не испытывал потерь на отражение. Снизу куб соприкасался с исследуемой средой, а сверху, через дюралевое кольцо толщиной 7 мм, наполненное дистиллированной водой, – с широкополосным пьезоприемником. Наличие дюралевого кольца с водой обеспечивало практически постоянную температуру приемника во вре-

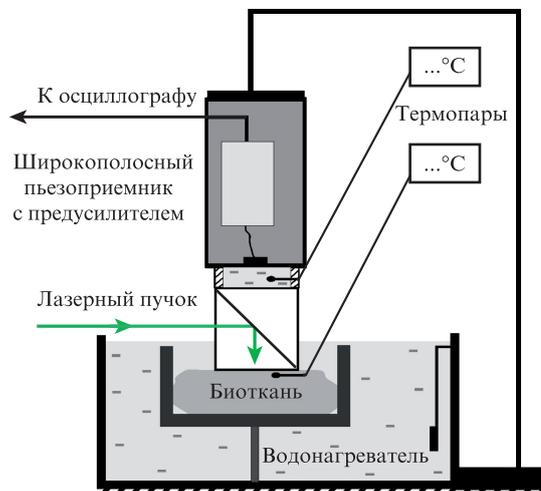


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

мя проведения эксперимента (максимальная температура жидкости вблизи приемника дополнительно контролировалась термопарой и составляла не более 40°C). Металлизированный корпус приемника обеспечивал отвод тепла от его поверхности. Все это позволяло пренебречь пирозффектами в пьезоэлектрическом преобразователе и изменением его чувствительности в зависимости от температуры.

Приемник был изготовлен из пленки ПВДФ толщиной 110 мкм. Он имел плавную переходную характеристику в диапазоне частот 0.05–12 МГц, его низкочастотная чувствительность составляла 845 мкВ/Па (с учетом 50-кратного усиления). Зарегистрированный приемником сигнал записывался цифровым осциллографом Tektronix TDS-1012 (частота дискретизации 1 ГГц, полоса 100 МГц). Синхронизация работы системы осуществлялась с помощью фотодиода, расположенного за глухим зеркалом лазера.

Как отмечалось выше, для диагностики температуры биотканей ОА методом в процессе температурного воздействия на них необходимо получение калибровочных зависимостей параметра  $\mu_a \Gamma$  от температуры. Данные калибровочные зависимости могут различаться для биотканей с разными структурными составляющими, т. е. зависеть от процентного содержания в них жира, воды, мышечной ткани и крови. Поэтому в качестве модельных биологических сред мы использовали свиную печень (среду, моделирующую кровенасыщенные ткани), куриную грудку (среду, моделирующую мышечную ткань) и свиное сало (среду, моделирующую жировую ткань).

Исследуемые биологические объекты хранились не более 36 ч после их извлечения из организма животного и не подвергались глубоким температурным воздействиям (заморозка, высокотемпературный нагрев). Для проведения экспериментов вырезались образцы размером 3 × 3 × 2 см. Затем они помещались на некоторое время (~1 ч) в сосуд с дистиллированной водой. В сосуде создавалось пониженное давление (~0.5 атм) путем частичного откачивания из него воздуха. Это позволяло извлечь из исследуемой биоткани воздушные пузырьки, искажающие временной профиль возбуждаемых в биотканях ОА сигналов.

После процедуры дегазации образцы закреплялись в держателе, который затем помещался в термостат с дистиллированной водой. Измерения зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры проводились в двух режимах: «на нагрев» и «на остывание» биотканей. При нагреве образцов их температура изменялась от комнатной (~23°C) до ~80°C, а при остывании – от ~80°C до комнатной температуры. Образцы нагревались достаточно медленно (примерно на 2°C за 5–10 мин), чтобы распределение температуры в образце было однородным. Температура внутри образцов контролировалась термопарой. При проведении измерений «на остывание» вода в термостате смешивалась с холодной водой. После выравнивания температур в термостате и образце измерялась амплитуда ОА сигнала. При дальнейшем охлаждении процедура повторялась.

Для исследования релаксации значения  $\mu_a \Gamma$  измерения температурной зависимости амплитуды ОА сигнала «на остывание» проводились начиная с температур, меньших 78°C. Для этого образец нагревался (при одновременном измерении амплитуды ОА сигнала) до некоторой температуры (меньшей 78°C), после чего начиналась процедура охлаждения (при измерении амплитуды ОА сигнала).

После того как температура образца достигала комнатной, измерение зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры вновь проводилось в режиме «на нагрев».

В общей сложности было исследовано около 10 образцов каждого типа биотканей. Ниже приведены результаты для трех образцов каждого типа биотканей. Группа А относится к мышечной ткани курицы (грудки), группа В – к свиной жировой ткани, а группа С – к свиной кровенасыщенной ткани (печени).

#### 4. Экспериментальные результаты

Характерные временные профили регистрируемых сигналов приведены на рис.2. Время прихода ОА сигнала от образца на поверхность приемника составляло ~11.7 мкс. Оно складывалось из времени прохождения ОА сигнала через делительный куб (~7 мкс) и из времени прохождения его через диафрагму, наполненную дистиллированной водой (~4,7 мкс). Различие во времени прихода ОА сигналов на приемник объясняется зависимостью скорости

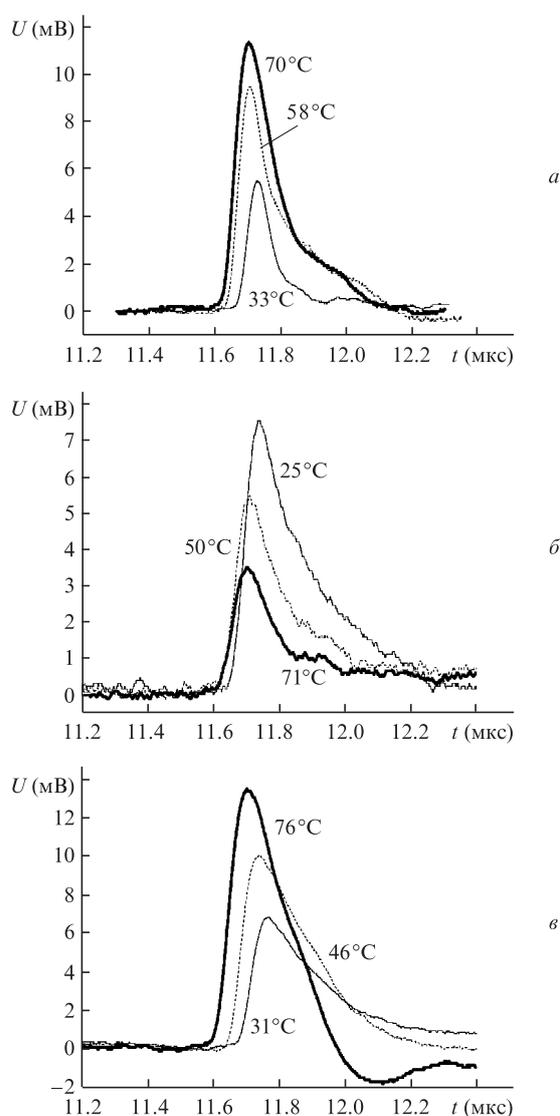


Рис.2. Временные профили ОА сигналов, возбуждаемых в образцах мышечной ткани курицы (а), свиной жировой ткани (б) и свиной печени (в) при различных температурах и зарегистрированных в дальнем волновом поле широкополосным пьезоприемником.

звука в поворотном кубе и слое воды, контактирующем с приемником, от температуры. Отметим, что указанный временной сдвиг сигналов не влияет на их амплитуду. Временные профили сигналов показывают, что эффективность ОА преобразования в исследуемых биотканях изменяется. Интересно, что при изменении температуры от комнатной до 80 °С для мышечной и кровенасыщенной тканей наблюдается рост амплитуды ОА сигнала более чем в два раза, тогда как для свиной жировой ткани происходит падение амплитуды более чем в два раза. Более подробно данные зависимости рассмотрены ниже.

#### 4.1. Мышечная ткань курицы

Для образцов куриной грудки температурные зависимости амплитуды ОА сигнала приведены на рис.3. Амплитуда возбуждаемого ОА сигнала возрастала с увеличением температуры от 25 до 70 °С. В некоторых случаях (как, например, для образцов А2, А3) наклон зависимостей становился более резким при температуре ~45 °С. При температурах свыше 70 °С амплитуда ОА сигнала практически не менялась.

При остывании образцов от температуры  $T \leq 45$  °С изменение амплитуды ОА сигнала повторяло аналогичные кривые, полученные при нагреве образцов (рис.3, образец А3), т. е. изменения в данной биоткани были обратимыми. При остывании образцов от  $T > 45$  °С амплитуда ОА сигнала не возвращалась к начальному значению, демонстрируя происходящие необратимые изменения в структуре ткани.

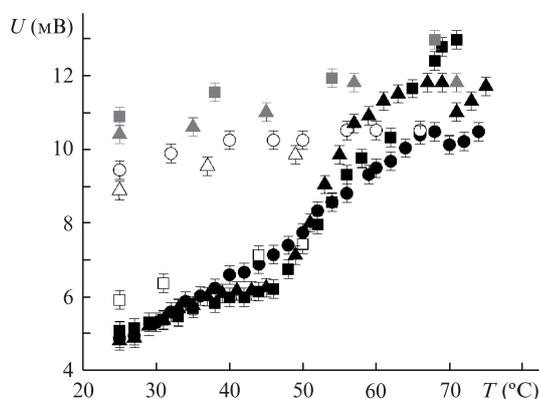
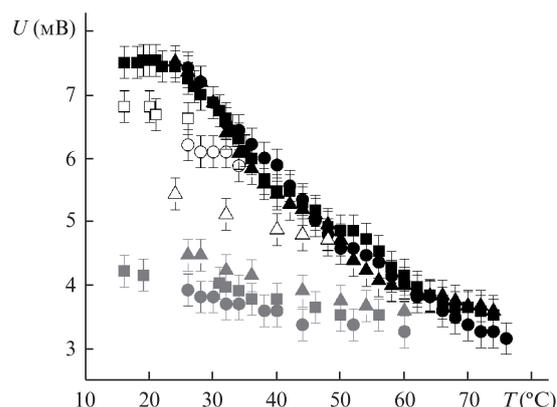


Рис.3. Зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для образцов мышечной ткани курицы, полученные при нагреве образцов А1 (●), А2 (■) и А3 (▲) от 25 до 78 °С и остывании образца А1 от 66 до 25 °С (○), образца А2 от 50 до 25 °С (□) и от 68 до 25 °С (▨), образца А3 от 55 до 25 °С (△) и от 72 до 25 °С (▴).

#### 4.2. Свиная жировая ткань

Температурные зависимости амплитуды ОА сигнала для различных образцов свиного сала приведены на рис.4. Отличие этих зависимостей от зависимостей для других исследуемых тканей состоит в том, что амплитуда ОА сигнала уменьшается с увеличением температуры от 25 до 80 °С. В случае охлаждения образцов от температуры  $T \geq 36$  °С (светлые точки на рис.4) наклон зависимостей становится более пологим, чем при нагреве. Это может свидетельствовать о частичной деградации жировой ткани, например за счет ее липолиза [39, 40], при любых температурах, превышающих температуру живого организма.

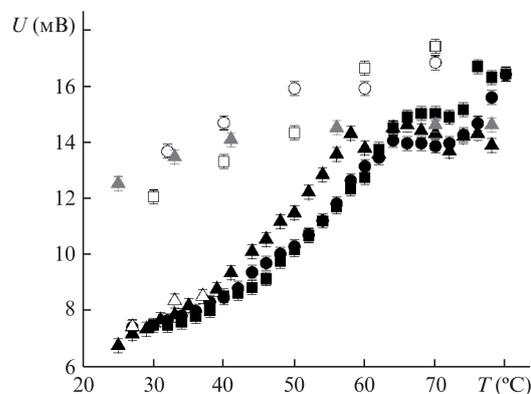


Зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для образцов свиной жировой ткани, полученные при нагреве образцов В1 (●), В2 (■) и В3 (▲) от ~20 до 75 °С и остывании образца В1 от 36 до 26 °С (○) и от 76 до 25 °С (●), образца В2 от 32 до 15 °С (□) и от 65 до 15 °С (▨), образца В3 от 50 до 24 °С (△) и от 66 до 25 °С (▴).

#### 4.3. Свиная печень

Характерная особенность печени состоит в ее кровенасыщенности. Кровь является основным хромофором в видимом и ближнем ИК диапазонах. Поскольку амплитуда ОА сигнала определяется произведением  $\mu_a \Gamma$ , ее температурная зависимость должна испытывать дополнительный рост, а особенности поведения амплитуды ОА сигнала при высоких температурах должны определяться изменениями структуры гемоглобина.

Температурные зависимости амплитуды ОА сигнала для различных образцов свиной печени приведены на рис.5. Аналогично случаю мышечной ткани курицы, при остывании образцов свиной печени от температуры  $T < 45$  °С зависимость повторяла кривую, полученную при нагреве. При остывании образцов от  $T > 45$  °С зависимость амплитуды ОА сигнала от температуры была линейной, причем наклон прямой был меньше, чем при нагреве ткани. Амплитуда ОА сигнала, измеренного в исходном образце при комнатной температуре, отличалась от амплитуды ОА сигнала, зарегистрированного после остывания образца от  $T \sim 80$  °С до комнатной температуры, примерно в два раза. Этот результат хорошо согласуется с нашей предыдущей работой [24], где измерялись оптиче-



Зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для образцов свиной печени, полученные при нагреве образцов С1 (●), С2 (■) и С3 (▲) от ~25 до ~80 °С и остывании образца С1 от 70 до 30 °С (○), образца С2 от 70 до 30 °С (□), образца С3 от 38 до 27 °С (△) и от 78 до 25 °С (▴).

ские свойства сырой и вареной свиной печени. Для абсолютного большинства образцов данного типа биотканей амплитуда ОА сигнала дополнительно возросла при температурах, превышающих  $\sim 72^\circ\text{C}$  (образцы С1, С2). Однако для одного из образцов (С3), дополнительного роста не наблюдалось.

## 5. Оценка предельной точности определения температуры биоткани

Используя температурные зависимости амплитуды ОА сигнала для исследуемых биотканей, можно оценить предельную точность восстановления температуры в биотканях по измеренной амплитуде ОА сигнала. Для этого для каждого типа биотканей экспериментальные данные были разбиты на несколько групп, соответствующих различным температурным диапазонам. В каждом из выбранных диапазонов данные аппроксимировались прямыми по методу наименьших квадратов. Например, при нагреве зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для свиной печени и куриной грудки, имеющие излом вблизи  $45^\circ\text{C}$ , разбивались на два участка: от  $\sim 20$  до  $\sim 45^\circ\text{C}$  и от  $\sim 45$  до  $\sim 65^\circ\text{C}$ . Температурные зависимости амплитуды ОА сигнала для свиного сала при нагреве не разбивались на участки, а аппроксимировались одной прямой во всем исследуемом диапазоне температур, поскольку на экспериментальных зависимостях изломы отсутствовали. Температурные зависимости амплитуды ОА сигнала для всех биотканей при их охлаждении также аппроксимировались одной прямой.

Для каждой полученной прямой вычислялся тангенс угла наклона и стандартное отклонение амплитуды ОА сигнала. После этого находилась погрешность восстановления температуры. Результаты оценки точности восстановления температуры по экспериментальным данным представлены в табл.1–3.

## 6. Обсуждение результатов и выводы

Как уже говорилось выше, в процессе HIFU терапии важно контролировать температуру биоткани. Амплитуда ОА сигнала пропорциональна величине  $\mu_a \Gamma$ . Данный коэффициент является функцией температуры и тем самым определяет температурную зависимость амплитуды ОА сигнала.

Для начального этапа нагрева куриной мышечной ткани (от  $23$  до  $\sim 45^\circ\text{C}$ ; рис.3, табл.1) было характерно почти линейное возрастание амплитуды ОА сигнала с температурой, что, по-видимому, связано с ростом коэффициента теплового расширения воды, содержащейся в биоткани, с температурой [41]. Более резкое возрастание амплитуды ОА сигнала при повышении температуры (от  $\sim 45$  до  $\sim 70^\circ\text{C}$ ) отчасти может быть связано с некоторым скачкообразным ростом коэффициента рассеяния (более чем в два раза [24]) при коагуляции белковой ткани и, следовательно, с ростом  $E_{\text{max}}$  (1). Поскольку диаметр лазерного пучка при измерениях был больше транспортной длины свободного пробега фотона в среде, увеличение коэффициента рассеяния могло приводить к дополнительному росту амплитуды ОА сигнала до  $\sim 20\%$ . Однако бо-

Табл.1. Оценки точности восстановления температуры по экспериментальной зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для мышечной ткани курицы (грудки).

Образец	Температурный диапазон ( $^\circ\text{C}$ )	Тангенс угла наклона по модулю ( $\text{мВ}/^\circ\text{C}$ )	Среднеквадратичное отклонение амплитуды ОА сигнала ( $\text{мВ}$ )	Погрешность восстановления температуры ( $^\circ\text{C}$ )
А1	25–40	0.13	0.08	0.6
	40–65	0.18	0.11	0.6
	66–25	0.028	0.17	6
А2	25–45	0.061	0.05	0.8
	45–65	0.3	0.21	0.7
	55–25	0.063	0.06	1
	72–25	0.048	0.23	4.8
А3	25–45	0.077	0.14	1.8
	50–63	0.32	0.42	1.3
	35–25	0.1	0.1	1
	50–25	0.04	0.15	3.8
	72–25	0.035	0.22	6.3

Табл.2. Оценки точности восстановления температуры по экспериментальной зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для свиной жировой ткани.

Образец	Температурный диапазон ( $^\circ\text{C}$ )	Тангенс угла наклона по модулю ( $\text{мВ}/^\circ\text{C}$ )	Среднеквадратичное отклонение амплитуды ОА сигнала ( $\text{мВ}$ )	Погрешность восстановления температуры ( $^\circ\text{C}$ )
В1	20–76	0.063	0.16	2.5
	36–26	0.024	0.05	2.1
	76–25	0.014	0.045	3.2
В2	25–75	0.1	0.26	2.6
	32–15	0.026	0.07	2.7
	65–15	0.024	0.065	2.7
В3	25–75	0.08	0.33	4.1
	30–25	0.04	0.06	1.5
	50–24	0.03	0.046	1.5
	66–25	0.027	0.056	2.1

Табл.3. Оценки точности восстановления температуры по экспериментальной зависимости амплитуды ОА сигнала от температуры для свиной кровенасыщенной ткани (печени).

Образец	Температурный диапазон (°C)	Тангенс угла наклона по модулю (мВ/°C)	Среднеквадратичное отклонение амплитуды ОА сигнала (мВ)	Погрешность восстановления температуры (°C)
C1	27–42	0.093	0.11	1.2
	44–64	0.04	0.22	0.9
	70–30	0.076	0.38	5
C2	30–42	0.08	0.12	1.5
	44–62	0.206	0.12	0.6
	70–30	0.11	0.3	2.7
C3	24–42	0.14	0.1	0.7
	44–58	0.286	0.15	0.5
	38–27	0.107	0.2	1.9
	55–27	0.062	0.15	2.5
	78–25	0.041	0.4	9.7

лее вероятным является изменение теплоемкости биоткани или ее коэффициента теплового расширения. При достижении температуры  $\sim 70^\circ\text{C}$  (см. рис.3) амплитуда сигнала практически не менялась с ростом температуры, что может быть связано с обезвоживанием биоткани при коагуляции белковых компонент, а также с их частичным разрушением. При остывании образцов от температуры  $T \lesssim 45^\circ\text{C}$  амплитуда ОА сигнала возвращалась к исходной, что, по-видимому, говорит об отсутствии необратимых изменений в белковой ткани до начала коагуляции. При охлаждении ткани от  $T > 46^\circ\text{C}$  наклон температурной зависимости становился более пологим, чем при нагреве. Это говорит о некоторых необратимых структурных изменениях, происходящих в биотканях при температурах выше температуры их коагуляции.

Основное отличие температурных зависимостей, измеренных для жировой ткани (рис.4), от таковых, измеренных для двух других типов тканей, состоит в том, что амплитуда ОА сигнала уменьшается с увеличением температуры от  $25$  до  $80^\circ\text{C}$ . Падение эффективности ОА преобразования происходит монотонно и без изломов во всем диапазоне исследуемых температур. При остывании образца от  $T \gtrsim 36^\circ\text{C}$  наклон зависимости изменялся. По-видимому, это связано с тем, что структурные изменения в жировой ткани происходят при увеличении температуры выше температуры живого организма и имеют необратимый характер.

Необходимость изучения образцов свиной печени была связана с тем, что она наиболее близка по своим свойствам к печени человека и является хорошим примером кровенасыщенной биотканей. Кроме того, в ее составе имеются также жиры и белки. Как и следовало ожидать (рис.5), абсолютное значение амплитуды ОА сигнала значительно больше, чем для мышечной ткани ввиду наличия гемоглобина. Однако температурная зависимость амплитуды схожа с полученной для куриной грудки за исключением последнего участка (свыше  $\sim 72^\circ\text{C}$ ), где амплитуда ОА сигнала снова начинала возрастать для большинства образцов. Это можно объяснить образованием метгемоглобина в крови, что ведет к увеличению коэффициента поглощения [32]. Отметим, однако, что для одного из образцов (C3) дополнительного роста при температурах свыше  $\sim 65^\circ\text{C}$  не наблюдалось. Объяснить этот факт можно локальной (в пределах лазерного пятна диаметром  $2$  мм) неоднородностью данного образца, т.е. отсутствием или недостатком кровеносных капилляров в облучаемом участке биоткани. При остывании свиной печени зависимость

амплитуды ОА сигнала от температуры существенно не отличалась от таковой для куриной грудки, что еще раз может служить подтверждением гипотезы об изменении коэффициента объемного расширения белковых компонент тканей после их коагуляции.

Важным моментом в диагностике температуры каким-либо методом, не обязательно оптико-акустическим, является своеобразная «память» температурных зависимостей для всех типов исследуемых биотканей, содержащих белковые компоненты, при их нагреве до температуры свыше  $\sim 45^\circ\text{C}$ . Действительно, амплитуда ОА сигнала зависит не только от текущей температуры ткани, но и от предыстории ее нагрева. Для жировой ткани данная особенность проявляется уже при температурах, превышающих температуру живого организма. Этот факт еще раз подтверждает необходимость разработки методов, способных контролировать в реальном времени температуру биотканей во время их нагрева.

Для каждой из трех изучаемых биотканей была найдена оценка точности определения температуры биоткани по экспериментально полученным калибровочным кривым (табл.1–3). Показано, что температура свиной печени и куриной грудки в области от  $\sim 25$  до  $\sim 45^\circ\text{C}$  может быть определена с точностью не хуже чем  $2^\circ\text{C}$ . В области коагуляции исследуемых биотканей их температура может быть определена с большей точностью – примерно  $1^\circ\text{C}$ . Это связано с более быстрым ростом амплитуды ОА сигнала при повышении температуры в данной области.

Найденные калибровочные зависимости будут использоваться при проведении исследований с источником локального нагрева биотканей, например с HIFU излучателем. Мы надеемся, что полученные результаты могут стать основой для дальнейшего развития ОА методик и устройств для мониторинга температуры в биологических тканях и органах живых организмов in-vivo.

Работа поддержана РФФИ (гранты № 07-02-00940-а и 10-02-01468-а) и МНТЦ (проект № 3691).

- Larina I.V., Larin K.V., Esenaliev R.O. *J. Phys. D*, **38**, 2633 (2005).
- Nasoni R.L., Bowena T., Connora W.G., Sholesa R.R. *Ultrason. Imaging*, **1**, 34 (1979).
- Farny C.H., Clement G.T. *Ultrasound Med. Biol.*, **35**, 1995 (2009).
- Stepanishen P.R., Benjamin K.C. *J. Acoust. Soc. Am.*, **71**, 803 (1982).
- Bamber J., Hill C. *Ultrasound Med. Biol.*, **5**, 149 (1979).
- Duck F.A. *Physical Properties of Tissue* (London: Academic Press, 1990).
- Techavipoo U., Varghese T., Chen Q., Stiles T.A., Zagzebski J.A., Frank G.R. *J. Acoust. Soc. Am.*, **115**, 2859 (2004).

8. Welch J., Van Gemert M.J.C. *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue* (New York: Plenum Press, 1995).
9. Tuchin V.V. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics* (Bellingham: SPIE Press, 2007).
10. Köhler M.O., de Senneville D.B., Quesson B., Moonen C.T., Ries M. *Magn. Reson. Med.*, **66**, 102 (2011).
11. Furusawa H., Namba K., Thomsen S., Akiyama F., Bendet A., Tanaka C., Yasuda Y., Nakahara H. *J. Am. Coll. Surg.*, **203**, 54 (2006).
12. Hynynen K., McDannold N. *Int. J. Hyperthermia*, **20**, 725 (2004).
13. Larrat B., Pernot M., Aubry J.F., Dervishi E., Sinkus R., Seilhean D., Marie Y., Boch A.L., Fink M., Tanter M. *Phys. Med. Biol.*, **55**, 365 (2010).
14. Kuroda K. *Int. J. Hyperthermia*, **21**, 547 (2005).
15. Гусев В.Э., Карабутов А.А. *Лазерная оптоакустика* (М.: Наука, 1991).
16. Li H., Wang L.V. *Phys. Med. Biol.*, **54**, R59 (2009).
17. Kruger R.A., Kiser W.L., Reinecke D.R., Kruger G.A. *Medical Phys.*, **30**, 856 (2003).
18. Хохлова Т.Д., Пеливанов И.М., Карабутов А.А. *Акустический журн.*, **55**, 672 (2009).
19. Бэйли М.Р., Хохлова В.А., Сапожников О.А., Каргл С.Г., Крам Л.А. *Акустический журн.*, **49**, 437 (2003).
20. Haar G.T., Coussios C. *Int. J. Hyperthermia*, **23** (2), 89 (2007).
21. Kennedy J.E. *Nat. Rev. Cancer*, **5** (4), 321 (2005).
22. Zhou Y.-F. *World J. Clin. Oncol.*, **2** (1), 8 (2011).
23. Hwang J.H., Vaezy S., Martin R., Cho M.-Y., Noble M.L., Crum L.A., Kimmey M. *Gastrointest. Endosc.*, **58**, 111 (2003).
24. Хохлова Т.Д., Пеливанов И.М., Сапожников О.А., Соломатин В.С., Карабутов А.А. *Квантовая электроника*, **36**, 1097 (2006).
25. Esenaliev R.O., Larina I.V., Larin K.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3594**, 1 (1999).
26. Пеливанов И.М., Барская М.И., Подымова Н.Б., Хохлова Т.Д., Карабутов А.А. *Квантовая электроника*, **39**, 830 (2009).
27. Pramanik M., Wang L.V. *J. Biomed. Opt.*, **14**, 054024 (2009).
28. Shah J., Park S., Aglyamov S., Larson T., Ma L., Sokolov K., Johnston K., Miller T., Emelianov S. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 034024 (2008).
29. Inkov V.N., Karabutov A.A., Pelivanov I.M. *Laser Phys.*, **12**, 1283 (2001).
30. Chitnis P.V., Brecht H.-P., Su R., Oraevsky A.A. *J. Biomed. Opt.*, **15**, 021313 (2010).
31. Грашин П.С., Карабутов А.А., Ораевский А.А., Пеливанов И.М., Подымова Н.Б., Савагеева Е.В., Соломатин В.С. *Квантовая электроника*, **32**, 868 (2002).
32. Tuchin V.V., Utz S.R., Yaroslavsky I.V. *Opt. Eng.*, **33**, 3178 (1994).
33. Star W.M. *Phys. Med. Biol.*, **42**, 763 (1997).
34. Ritz J.P., Roggan A., Germer C.T., Isbert C., Muller G., Buhr H.J. *Lasers Surg. Med.*, **28**, 307 (2001).
35. Yaroslavsky A.N., Schulze P.C., Yaroslavsky I.V., Schober R., Ulrich F., Schwartz H.J. *Phys. Med. Biol.*, **47**, 2059 (2002).
36. Lee J., El-Abaddi N., Duke A., Cerussi A.E., Brenner M., Tromberg B.J. *J. Appl. Physiol.*, **100**, 615 (2006).
37. Black J.F., Barton J.K. *Photochem. Photobiol.*, **80**, 89 (2004).
38. Wang L.V. *Photoacoustic Imaging and Spectroscopy* (New York: CRC Press, 2009).
39. Дубровский В.А., Янина И.Ю., Тучин В.В. *Биофизика*, **56**, 425 (2011).
40. Дубровский В.А., Дворкин Б.А., Янина И.Ю., Тучин В.В. *Цитология*, **53**, 423 (2011).
41. *Физические величины. Справочник*. Под ред. И.С.Григорьева, Е.З.Мейлихова (М.: Энергоатомиздат, 1991).