

# Метод измерения кислородного насыщения крови на основе спектроскопии диффузно рассеянного света

М.С.Клешнин, А.Г.Орлова, М.Ю.Кириллин, Г.Ю.Голубятников, И.В.Турчин

*Разработан и реализован новый подход к измерению кислородного насыщения крови, основанный на оригинальном двух-ступенчатом алгоритме восстановления относительной концентрации биологических хромофоров (гемоглобин, вода, жиры) по измеренным спектрам диффузно рассеянного света на различных расстояниях от источника излучения. Численные эксперименты и апробация предложенного подхода на биологическом фантоме показали высокую точность восстановления оптических свойств исследуемого объекта, а также возможность корректного расчета степени оксигенации гемоглобина в присутствии аддитивных шумов и без проведения калибровки измерительного устройства. Полученные результаты экспериментальных исследований на животных согласуются с опубликованными ранее результатами других научных групп и демонстрируют возможность применения разработанного метода для мониторинга кислородного насыщения крови в опухолевой ткани.*

**Ключевые слова:** диффузионная оптическая спектроскопия, кислородное насыщение крови, диффузное отражение, восстановление компонентного состава биоткани.

## 1. Введение

Задачи своевременной диагностики и корректного лечения онкологических заболеваний – одни из наиболее важных в современной медицине, и на сегодняшний день опубликовано большое количество работ в различных областях науки, которые в той или иной степени посвящены решению данных задач. С точки зрения биологии онкологическое новообразование (опухоль) представляет собой комплексную систему из раковых клеток, находящихся в микроокружении, которое определяет развитие опухоли (рост, инвазии, метастазирование) [1, 2]. Особенности кровотока в опухоли (ангиогенез, микроциркуляция, оксигенация крови) являются одними из основных характеристик ее микроокружения [2, 3]. Например, злокачественные новообразования имеют расширенные, извилистые и удлинённые сосуды капиллярного типа, что приводит к замедлению кровотока в области опухоли. Неполноценность сосудистого русла в сочетании с высокой метаболической активностью раковых клеток вызывает нарушение баланса между поступлением и потреблением кислорода в опухоли и к формированию гипоксического микроокружения [4]. Наличие гипоксии определяет прогноз развития заболевания и чувствительность к терапевтическому воздействию [5]. Таким образом, поиск новых и развитие существующих методов измерения кислородного насыщения крови в опухолевой ткани – одна из актуальных задач онкологии.

Золотым стандартом определения кислородного насыщения биоткани является полярографическое измерение парциального давления кислорода [6, 7], однако его

применение ограничено вследствие ряда недостатков (инвазивность, большая длительность процедуры, погрешность при введении электродов). Иммуногистохимические методы позволяют исследовать образцы только *ex vivo* и неприменимы для динамических наблюдений [7]. Метод ЭПР-оксиметрии дает возможность отслеживать динамику кислородного насыщения крови, но отличается малой глубиной проникновения в исследуемую ткань [8]. Наиболее эффективный метод наблюдения кислородного статуса биотканей – позитронно-эмиссионная томография, для которой, однако, характерны высокая стоимость и техническая сложность процедуры [9]. Для динамического наблюдения кислородного насыщения крови также используются оптические методы [10], сочетающие в себе неинвазивность, низкую стоимость и возможность проникновения на большую (до 10 см) глубину. Наиболее широкое распространение получили методы на основе диффузионной оптической спектроскопии (ДОС), позволяющие оценить компонентный состав ткани [10–16].

Метод ДОС заключается в зондировании биоткани оптическим излучением и в регистрации диффузно рассеянного света. Восстановление оптических свойств объекта проводится на основе математической модели распространения света, в качестве которой, как правило, применяется диффузионное приближение уравнения переноса излучения (УПИ) [11]. В рамках данной модели оптические свойства биоткани определяются транспортным коэффициентом рассеяния и коэффициентом поглощения света [11, 12]. Спектр транспортного коэффициента рассеяния света характеризует особенности клеточного строения ткани, а спектр коэффициента поглощения позволяет оценить концентрации биологических хромофоров (оксигемоглобин, дезоксигемоглобин, вода, жиры, коллаген и др.) [12, 13]. Величина кислородного насыщения крови в ткани определяется соотношением найденных концентраций окси- и дезоксигемоглобина [13]. При этом восстановленные концентрации хромофоров, а также спектры коэффициентов поглощения и рассеяния света описывают средние значения данных характери-

М.С.Клешнин, А.Г.Орлова, М.Ю.Кириллин, Г.Ю.Голубятников, И.В.Турчин. Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Россия, 603950 Н.Новгород, ул. Ульянова, 46; e-mail: m.s.kleshnin@gmail.com

Поступила в редакцию 30 декабря 2016 г., после доработки – 21 февраля 2017 г.

стик в исследуемом объеме, внутри которого биоткань считается пространственно однородной.

Наиболее простой и коммерчески доступный метод ДОС для расчета кислородного статуса биоткани основан на раздельном восстановлении коэффициентов поглощения и рассеяния в ткани по спектральной интенсивности диффузно рассеянного излучения, измеренной на различных расстояниях от источника света (применение пространственных измерений) [14]. Однако данный подход требует калибровки устройства и корректного учета внешних факторов (фоновое освещение, коэффициент усиления приемного тракта, качество оптического контакта с тканью и т. д.). Использование амплитудной модуляции зондирующего излучения [15] или коротких световых импульсов [16] позволяет раздельно восстановить коэффициент поглощения и транспортный коэффициент рассеяния в биоткани по временным характеристикам зарегистрированного излучения (форма диффузно рассеянного импульса или фазовый сдвиг измеренного сигнала) при фиксированном расстоянии между источником и приемником света, а также облегчает калибровку ДОС-системы. Однако применение специальных источников света, а также времякоррелированных счетчиков фотонов или высокочастотных приемных трактов приводит к значительному усложнению конструкции ДОС-системы и повышению ее стоимости.

В настоящей работе представлен новый подход к расчету кислородного насыщения крови в биоткани с применением пространственных измерений спектров диффузно рассеянного света на двух разных расстояниях от источника излучения. При этом измерения проводятся для геометрии диффузного отражения с использованием непрерывного и немодулированного зондирующего излучения, что обеспечивает простоту технической реализации и высокую коммерческую доступность предложенного подхода, а также возможность применения метода ДОС в различных биомедицинских приложениях. Для восстановления компонентного состава ткани применяется оригинальный двухступенчатый алгоритм с использованием аналитических моделей распространения света в биоткани на основе диффузионного приближения УПИ. Приведены результаты численных экспериментов и апробации разработанного метода на биологическом фантоме, которые показали высокую точность восстановления коэффициентов поглощения и рассеяния света и измерения кислородного насыщения крови в исследуемом объекте. Приведены также результаты экспериментальных исследований на лабораторных животных для мониторинга степени оксигенации крови в опухолевой ткани.

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Восстановление оптических свойств биоткани

Расчет кислородного насыщения крови в биоткани разделяется на два этапа. Сначала по измеренной спектральной интенсивности диффузно рассеянного света  $I(\lambda)$  необходимо восстановить спектры коэффициента поглощения  $\mu_a(\lambda)$  и транспортного коэффициента рассеяния  $\mu'_s(\lambda)$  в биоткани. Далее в восстановленном спектре коэффициента поглощения необходимо определить парциальные вклады коэффициентов поглощения основных биологических хромофоров: оксигемоглобина, дезоксигемоглобина, воды и жиров.

В рамках диффузионного приближения УПИ спектральную интенсивность света в мутной среде на заданном расстоянии  $r$  от точечного изотропного источника излучения можно описать выражением [17, 18]

$$I(\lambda, r) = AI_0(\lambda) \frac{\mu_a(\lambda) + \mu'_s(\lambda)}{r} \times \exp\left(-\sqrt{3\mu_a(\lambda)[\mu_a(\lambda) + \mu'_s(\lambda)]}\right), \quad (1)$$

где  $\lambda$  – длина волны;  $I_0(\lambda)$  – спектральная интенсивность зондирующего излучения;  $A$  – мультипликативный фактор, который определяется параметрами источника и приемника света (апертура, квантовый выход, качество контакта с тканью и др.) и находится при калибровке ДОС-системы. С учетом граничных условий на границе раздела воздух – ткань [18] доля интенсивности (1) излучения, диффузного отраженного от биоткани, описывается выражением для коэффициента диффузного отражения света от мутной среды  $R(\lambda, r)$  [11, 19, 20]:

$$R = \frac{A\mu'_s}{\mu'_t} \left[ \frac{1}{\mu'_t \rho_1^2} \left( \mu_{\text{eff}} + \frac{1}{\rho_1} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} \rho_1) + \frac{1}{\rho_2^2} \left( \frac{1}{\mu'_t} + 2z_b \right) \left( \mu_{\text{eff}} + \frac{1}{\rho_2} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} \rho_2) \right],$$

$$\rho_1 = \sqrt{r^2 + \frac{1}{\mu'^2_t}}, \quad \rho_2 = \sqrt{r^2 + \left( \frac{1}{\mu'_t} + 2z_b \right)^2}, \quad (2)$$

$$z_b = \frac{2(1+d)}{3\mu'_t(1-d)}, \quad \mu_{\text{eff}} = \sqrt{3\mu_a \mu'_t}, \quad \mu'_t = \mu_a + \mu'_s,$$

$$d = -\frac{1.44}{n^2} + \frac{0.71}{n} + 0.67 + 0.06n, \quad n = 1.4.$$

Здесь  $n$  – показатель преломления света на границе биоткань–воздух, а  $z_b$  – экстраполированная длина Милна. При этом спектр коэффициента транспортного рассеяния света в ткани можно аппроксимировать степенной функцией длины волны, а спектральную зависимость полного коэффициента поглощения удобно представить в виде суммы известных спектров для оксигемоглобина  $\mu_a^{\text{HbO}_2}(\lambda)$ , дезоксигемоглобина  $\mu_a^{\text{Hb}}(\lambda)$ , воды  $\mu_a^{\text{H}_2\text{O}}(\lambda)$  и жиров  $\mu_a^{\text{lip}}(\lambda)$ , умноженных на парциальные концентрации данных хромофоров  $C_{\text{HbO}_2}$ ,  $C_{\text{Hb}}$ ,  $C_{\text{H}_2\text{O}}$  и  $C_{\text{lip}}$  [21, 22]:

$$\mu'_s(\lambda) = C_s \lambda^{-b}, \quad \mu_a(\lambda) = C_{\text{HbO}_2} \mu_a^{\text{HbO}_2}(\lambda) + C_{\text{Hb}} \mu_a^{\text{Hb}}(\lambda) + C_{\text{H}_2\text{O}} \mu_a^{\text{H}_2\text{O}}(\lambda) + C_{\text{lip}} \mu_a^{\text{lip}}(\lambda). \quad (3)$$

Численное решение уравнения (2) относительно неизвестных параметров аппроксимации (3) позволяет восстановить компонентный состав исследуемого объекта и рассчитать значение кислородного насыщения (сатурации)  $\text{StO}_2$  внутри измерительного объема [22, 23]:

$$\text{StO}_2 = C_{\text{HbO}_2} (C_{\text{HbO}_2} + C_{\text{Hb}})^{-1}. \quad (4)$$

Кроме того, аппроксимация (3) для искомым коэффициентов поглощения и транспортного рассеяния света существенно снижает размерность задачи восстановления компонентного состава биоткани, что повышает устойчивость ее решения.

В настоящей работе для численного решения уравнения (2) с учетом аппроксимации (3) использовался алгоритм Левенберга–Марквардта [24], а спектры коэффициентов поглощения света для биологических хромофоров определялись из литературных данных [25]. Такой подход дает возможность быстро находить локальное решение обратной задачи вблизи начальной точки алгоритма. Однако наличие погрешности измерений и отсутствие априорных данных о компонентном составе конкретного образца биоткани не позволяют использовать литературные данные в качестве начальной точки. Таким образом, для определения начальных концентраций биологических хромофоров удобно использовать параметры аппроксимации (3) для коэффициентов поглощения и транспортного рассеяния света в исследуемом объекте, спектры которых можно оценить с помощью итерационной процедуры:

$$\begin{aligned} \mu_s^{(i+1)} &= \frac{I_1 r_1}{A I_0} \exp\left(\sqrt{3\mu_a^{(i)}[\mu_a^{(i)} + \mu_s^{(i)}]r_1}\right) - \mu_a^{(i)}, \\ \mu_a^{(i+1)} &= \frac{1}{3(r_2 - r_1)^2 [\mu_a^{(i)} + \mu_s^{(i+1)}]} \left[ \ln\left(\frac{I_1 r_1}{I_2 r_2}\right) \right]^2, \\ \mu_a^{(0)} &= 0, \quad \mu_s^{(0)} = 0, \quad i = 0, 1, 2, 3, \dots \end{aligned} \quad (5)$$

Итерационная схема (5) была получена из выражения (1) для спектральных интенсивностей диффузно рассеянного света  $I_1$  и  $I_2$ , зарегистрированных на расстояниях  $r_1$  и  $r_2$  от источника света, с учетом одного из условий применимости диффузионного приближения УПИ:

$$\mu_s'(\lambda) \gg \mu_a(\lambda). \quad (6)$$

## 2.2. Численный эксперимент

Для первоначальной апробации предложенного метода расчета кислородного насыщения крови были проведены численные эксперименты, в которых измеренная спектральная интенсивность диффузно рассеянного света моделировалась с использованием выражения (2) и с добавлением равномерно распределенного шума, соответствующего шуму приемника света. Далее смоделированные измерения для разных концентраций биологических хромофоров и отношений сигнал/шум были использованы для восстановления исходных спектров коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния, а также для вычисления компонентного состава исследуемого объекта. Важно отметить, что ввиду зависимости измеренной спектральной интенсивности от длины волны и расстояния между источником и приемником света под отношением сигнал/шум SNR здесь и далее понималось отношение минимального значения  $R(\lambda, r)$  на используемом участке спектра к корню квадратному из дисперсии шума  $\sigma_n$ :

$$\text{SNR} = 10 \lg[\sigma_n^{-1} \min_{\lambda, r} R(\lambda, r)]. \quad (7)$$

Кроме того, смоделированные измерения спектральной интенсивности диффузно рассеянного света были использованы для оценки влияния ошибки калибровки ДОС-системы на точность восстановления оптических свойств биоткани и расчета ее компонентного состава.

При этом относительная погрешность калибровки  $\xi$  определялась различием между измеренным мультипликативным фактором  $A^{\text{rec}}$  и его реальным значением  $A^{\text{or}}$  в выражении (1):

$$A^{\text{rec}} = (1 + \xi)A^{\text{or}}. \quad (8)$$

Дополнительно было проведено моделирование изменений спектральной интенсивности диффузно рассеянного света в присутствии стороннего источника излучения, который вносил определенный вклад в зарегистрированный сигнал. Смоделированные измерения для разных сторонних источников были использованы для оценки точности восстановления оптических свойств биоткани и расчета ее компонентного состава в присутствии аддитивной нешумовой помехи в зарегистрированном сигнале.

Моделирование всех измерений, а также вычислительный алгоритм для предложенного метода ДОС были реализованы в программной среде MATLAB (MathWorks Inc., США).

## 2.3. Экспериментальный макет ДОС-системы

Для реализации предложенного метода ДОС-измерений была создана экспериментальная установка, схема которой представлена на рис.1. В качестве источника зондирующего излучения применялась галогеновая лампа LS-1-LL (Ocean Optics Inc., США), а диффузно рассеянный свет регистрировался одновременно двумя спектрометрами S2000 (Ocean Optics Inc., США) на расстояниях 1.5 и 3 мм от точки падения зондирующего излучения. Доставка света от лампы к ткани и от ткани к спектрометрам осуществлялась оптическими волокнами диаметром 200 мкм (ООО «Полироник», Россия), а для отображения измеренных спектров интенсивности диффузно рассеянного света использовался персональный компьютер.

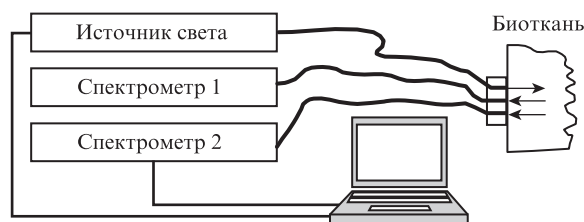


Рис.1. Схема экспериментальной установки для восстановления оптических характеристик биологических тканей (коэффициент поглощения и транспортный коэффициент рассеяния) и расчета кислородного насыщения крови.

## 2.4. Исследования на биологическом фантоме

Первоначальная апробация экспериментальной установки была проведена на биологическом фантоме, который представлял собой кювету, заполненную раствором, состоящим из 600 мл натрий-фосфатного буфера, 87 мл липофундина МСТ/ЛСТ с концентрацией 10% и 2 мл крови с концентрацией гемоглобина 155 г/л. Для вариации степени оксигенации крови к кювете была подведена трубка с пористым распылителем, через которую в раствор поступал кислород или азот. При этом напряжение (парциальное давление) кислорода  $p_{O_2}$  в растворе контролировалось полярографическими измерениями с использованием микроэлектрода Кларка ОХ-N (Unisense A/S, Дания).

Температура фантома поддерживалась равной 37°C термостатическим элементом, погруженным в раствор.

В ходе модельного эксперимента оптоволоконный щуп экспериментальной установки опускался в раствор и проводились измерения спектра интенсивности диффузно рассеянного света при различных парциальных давлениях кислорода в растворе. Далее зарегистрированные спектры были использованы для восстановления кривой диссоциации оксигемоглобина в биологическом фантоме. При этом применялась только частичная калибровка экспериментальной установки, при которой определялся нулевой уровень сигнала в отсутствие зондирующего излучения.

## 2.5. Исследования на лабораторных животных

Разработанный метод измерения кислородного насыщения крови также был дополнительно апробирован на лабораторных животных *in vivo* в задаче мониторинга оксигенации гемоглобина в опухолевой ткани. В ходе данного исследования проводилась регистрация спектральной интенсивности диффузно рассеянного света в развитой опухоли (карциноме молочной железы человека SKBR-3) на теле животного (самки мыши *balb/c-nude*). Измерения выполнялись ежедневно в течение недели, начиная с 12-го дня после перевивки опухоли, когда ее размер превысил 5 мм. Полученные экспериментальные данные были использованы для оценки изменения кислородного насыщения крови в опухоли по мере ее роста. Все экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных («Этический кодекс», разработанный и опубликованный в 1985 г. Советом международных научных организаций).

## 3. Результаты и их обсуждение

### 3.1. Результаты численного эксперимента

На рис.2,*а* представлен пример рассчитанного отношения спектральных интенсивностей диффузно рассеянного света в биоткани, зарегистрированных на разных расстояниях от источника зондирующего излучения в присутствии равномерно распределенного аддитивного шума. Как показано на рис.2,*б*, реализация итерационной схемы (5) для такой спектральной зависимости приводит к ошибкам при расчете коэффициента поглощения света, но использование аппроксимации (3) для оптических параметров биоткани позволяет выделить гладкую функцию в восстановленном спектре. При этом в численном эксперименте было обнаружено, что отношение сигнал/шум, вычисленное по формуле (7), влияет только на количество итераций в разработанном алгоритме, которые необходимы для достижения заданной погрешности восстановления коэффициента поглощения в биоткани и для расчета ее компонентного состава. Однако важно отметить, что в настоящей работе не исследовался случай, когда отношение сигнал/шум было меньше 1 дБ, поскольку в реальных экспериментах, как правило, всегда можно выделить участок измеренного спектра интенсивности диффузно рассеянного света, на котором отношение сигнал/шум превышает данную величину.

На рис.3 показано, что в отличие от шума с нулевым средним значением нешумовая помеха, вызванная сторон-

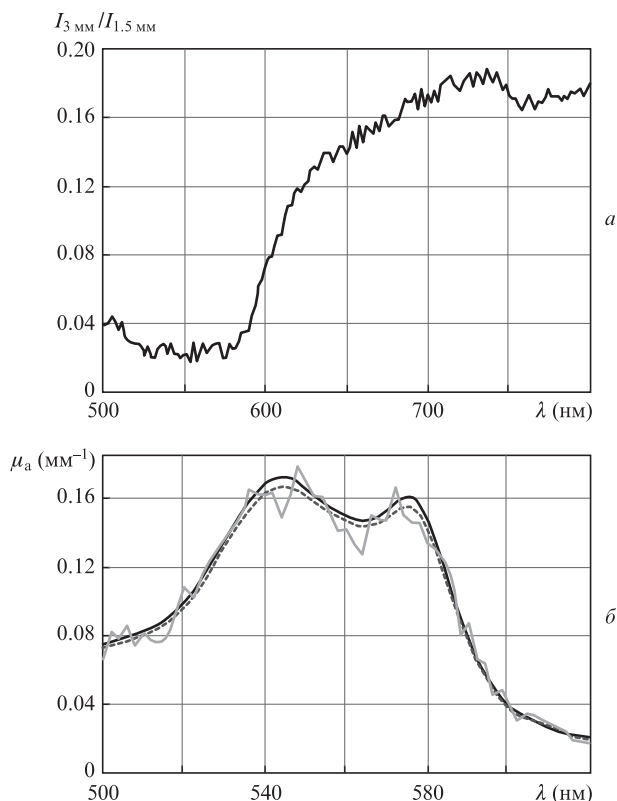


Рис.2. Отношение спектральных интенсивностей диффузно рассеянного света в численной модели биоткани, зарегистрированных на расстояниях 1.5 и 3 мм от источника зондирующего излучения при отношении сигнал/шум 1 дБ (*а*), а также исходный (сплошная черная кривая) и восстановленные спектры коэффициента поглощения в модели биоткани до (сплошная серая кривая) и после (штриховая кривая) их аппроксимации линейной комбинацией спектров коэффициентов поглощения биологических хромофоров (*б*).

ним источником излучения, приводит к смещению абсолютных значений восстановленного спектра поглощения относительно исходного. При этом величина смещения определяется отношением спектральных интенсивностей стороннего источника и диффузно рассеянного света и зависит от длины волны. Однако в ходе численного эксперимента было выявлено, что относительная погрешность  $\varepsilon$  расчета концентраций биологических хромофоров не превышает отношения максимальной доли стороннего сигнала  $J(\lambda)$  в зарегистрированном излучении к минимальному значению  $R(\lambda, r)$ :

$$\varepsilon = \frac{C_{bc}^{or} - C_{bc}^{rec}}{C_{bc}^{or}} < \max_{\lambda} J(\lambda) [\min_{\lambda, r} R(\lambda, r)]^{-1}, \quad (9)$$

где  $C_{bc}^{rec}$  и  $C_{bc}^{or}$  – восстановленная и исходная концентрации любого из биологических хромофоров. При этом неравенство (9) также выполнялось и для относительной погрешности расчета кислородного насыщения, однако она, как правило, была в несколько раз меньше погрешности восстановления компонентного состава.

Проведенные численные эксперименты также показали, что относительная ошибка калибровки ДОС-системы  $\xi$  в выражении (8) приводит к мультипликативной погрешности восстановления коэффициентов поглощения и транспортного рассеяния света в биоткани:

$$\mu_a^{rec}(\lambda) \approx (1 - \xi)^{-1} \mu_a^{or}(\lambda), \quad \mu_s^{rec}(\lambda) \approx (1 - \xi) \mu_s^{or}(\lambda), \quad (10)$$

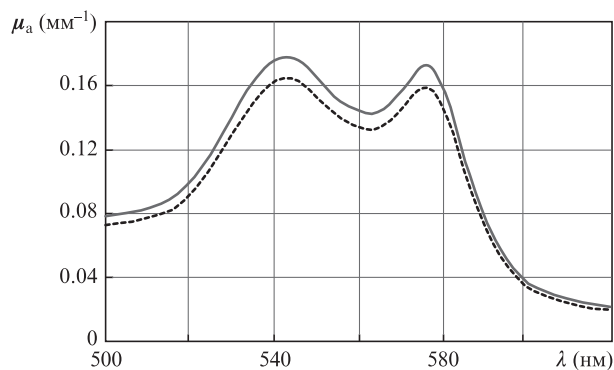


Рис.3. Исходный (сплошная кривая) и восстановленный (штриховая кривая) спектры коэффициента поглощения в модели биоткани в присутствии стороннего источника излучения, максимальная интенсивность которого в два раза меньше минимального значения измеренной интенсивности зондирующего излучения, прошедшего через ткань.

где  $\mu_{a,s}^{\text{rec}}(\lambda)$  и  $\mu_{a,s}^{\text{or}}(\lambda)$  – восстановленные и исходные спектры оптических параметров исследуемого объекта. Таким образом, согласно выражению (10), погрешность калибровки приводит к неверному расчету абсолютных значений коэффициентов поглощения и транспортного рассеяния, однако она не влияет на результат восстановления компонентного состава, поскольку при выполнении условия (6) отличие форм восстановленных спектров от исходных будет незначительным. В ходе численного эксперимента было обнаружено, что даже для погрешности калибровки, близкой к единице, относительная погрешность расчета относительных концентраций биологических хромофоров не превышает 1%, что сравнимо с заданной точностью алгоритма восстановления. Данное утверждение также было подтверждено и в экспериментальных исследованиях на биологическом фантоме.

### 3.2. Результаты исследований на биологическом фантоме

На рис.4,*a* представлены характерные спектры диффузно рассеянного света в биологическом фантоме, измеренные на расстояниях 1.5 и 3 мм от источника излучения при разном парциальном давлении кислорода. Данный рисунок наглядно демонстрирует зарегистрированные изменения спектральной интенсивности, по которым проводилось восстановление кривой диссоциации оксигемоглобина. При этом отношение сигнал/шум на выбранном участке спектра не превышало 1 дБ. Результаты восстановления кислородного насыщения крови в биологическом фантоме при различном парциальном давлении газа приведены на рис.4,*б*. Видно, что восстановленная кривая диссоциации оксигемоглобина достаточно хорошо совпадает с литературными данными [26]. Наблюдаемая погрешность была обусловлена нестабильностью нулевого уровня сигнала в отсутствие зондирующего излучения (появление аддитивной нешумовой помехи).

### 3.3. Результаты исследований на лабораторных животных

Задача расчета степени оксигенации гемоглобина также была успешно решена и при апробации предложенного метода ДОС-измерений на лабораторных животных. На рис.5,*a* показаны примеры восстановленных спектров коэффициента поглощения света в опухолевой ткани при

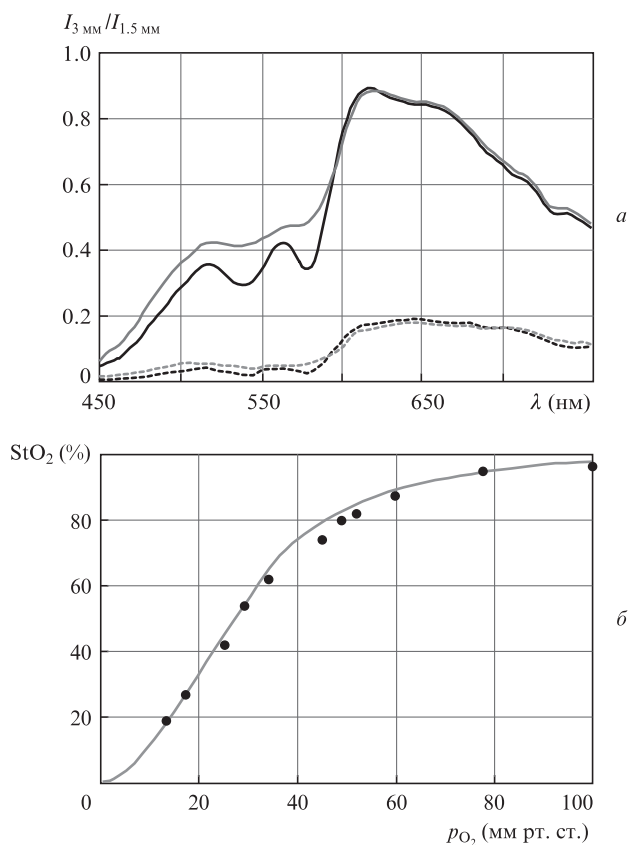


Рис.4. Спектры диффузно рассеянного света в биологическом фантоме, измеренные на расстояниях 1.5 мм (сплошные кривые) и 3 мм (штриховые кривые) от источника зондирующего излучения при парциальном давлении кислорода 78 мм рт. ст. (черные кривые) и 25 мм рт. ст. (серые кривые) (*a*), а также кривая диссоциации оксигемоглобина [26] (серая кривая) и восстановленная зависимость оксигенации крови в биологическом фантоме от парциального давления кислорода при температуре 37°C и pH = 7.4 (черные точки) (*б*).

длительном наблюдении животного. При этом спектральная полоса восстановления была выбрана в длинноволновой области ввиду зашумленности коротковолнового участка зарегистрированных спектров диффузно рассеянного света. Важно отметить, что форма восстановленных спектров соответствует реальной, однако абсолютные значения восстановленного и реального коэффициентов поглощения света в исследуемом объекте могут существенно различаться ввиду отсутствия полной калибровки экспериментальной установки. Данный факт не позволил определить абсолютные значения концентраций биологических хромофоров в опухоли, но он никак не повлиял на точность вычисления кислородного насыщения в ткани. Результаты расчета степени оксигенации гемоглобина по восстановленным спектрам поглощения света представлены на рис.5,*б*. Видно, что кислородное насыщение крови в опухоли снижается по мере ее роста и выходит на постоянный уровень. Полученные значения кислородного насыщения крови и его изменение с ростом опухоли ранее экспериментально наблюдались другими научными группами, а результаты были опубликованы в [27]. Необходимо также отметить, что при исследовании биотканей появляется дополнительная погрешность расчета кислородного насыщения, обусловленная присутствием неучтенных хромофоров (меланин, коллаген и др.), структурированностью ткани и уровнем гематокрита в крови [28]. При этом величину данной ошибки определить нель-

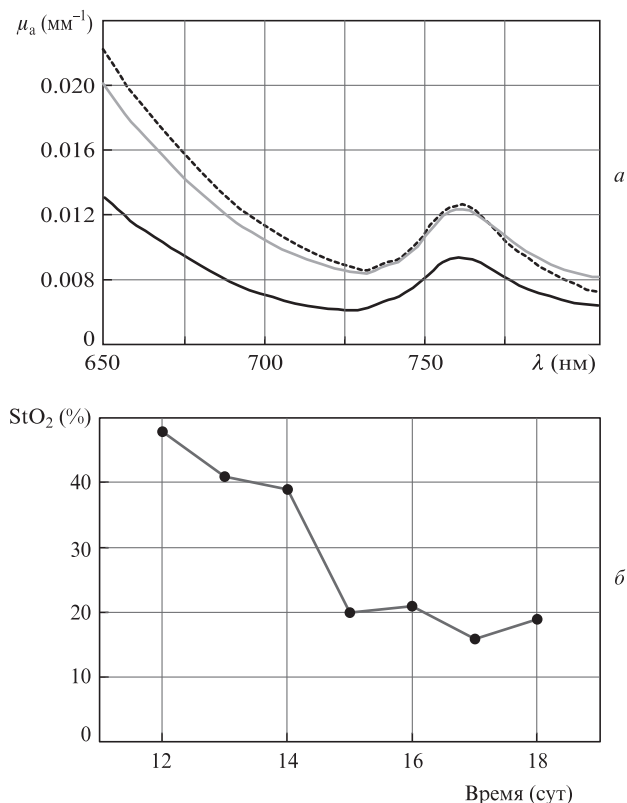


Рис.5. Восстановленные спектры коэффициента поглощения света в опухолевой ткани через 12 (черная кривая), 14 (серая кривая) и 16 суток (штриховая кривая) после перевивки опухоли (а), а также значения кислородного насыщения крови в опухоли, измеренные при мониторинге (б).

зя, поскольку она зависит только от образца ткани, однако при проведении измерений в видимом диапазоне длин волн влияние перечисленных факторов несущественно.

#### 4. Заключение

В настоящей работе предложен оригинальный подход к измерению кислородного насыщения крови в биоткани на основе спектроскопии диффузно рассеянного света. При этом процедуру измерений можно разделить на четыре этапа. Сначала выполняются измерения спектральной интенсивности диффузно рассеянного света на поверхности ткани (отражательная геометрия) на расстояниях 1.5 и 3 мм от источника света. Далее по зарегистрированным данным проводится приближенное восстановление коэффициентов поглощения света и транспортного рассеяния на основе итерационной схемы, полученной из решения диффузионного УПИ для бесконечной однородной среды. На следующем этапе восстановленный спектр коэффициента поглощения света аппроксимируется линейной комбинацией спектров поглощения оксигемоглобина, дезоксигемоглобина, воды и жиров, а спектр транспортного коэффициента рассеяния представляется в виде степенной функции длины волны. Полученные параметры аппроксимации являются начальной точкой для численного решения уравнения диффузного отражения, которое учитывает граничные эффекты. На последнем этапе скорректированные коэффициенты используются для расчета кислородного насыщения крови в исследуемом объекте.

Апробация предложенного метода ДОС-измерений на смоделированных измерениях спектральной интенсивности диффузно рассеянного света показала, что погрешность восстановления относительных концентраций биологических хромофоров определяется заданной точностью вычислительного алгоритма, если отношение сигнал/шум превышает 1 дБ. При этом не требуется корректной калибровки ДОС-системы. Однако наличие сторонних источников света может приводить к дополнительной погрешности расчета компонентного состава, которая не превышает отношения максимальной величины помехи к минимальному значению сигнала.

Данные результаты были подтверждены в ходе апробации разработанного метода на биологическом фантоме, которая показала хорошее соответствие восстановленной кривой диссоциации гемоглобина с литературными данными. Полученные результаты мониторинга кислородного насыщения крови в опухоли на теле мыши также совпали с опубликованными данными других научных групп.

Таким образом, можно говорить о состоятельности предложенного подхода к измерениям кислородного насыщения крови на основе спектроскопии диффузно рассеянного света и о необходимости его дальнейшего развития для клинического применения.

Авторы выражают благодарность М.Б.Прудникову и В.И.Плеханову за создание контактного оптоволоконного го шупа для макета ДОС-системы.

Настоящая работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-32-60093 мол\_а\_дк).

1. Quail D.F., Joyce J.A. *Nat. Med.*, **19**, 1423 (2013).
2. Horsman M., Vaupel P. *Front. Oncol.*, **6**, 66 (2016).
3. Finger E.C., Giaccia A.J. *Cancer Metastasis Rev.*, **29**, 285 (2010).
4. Plank M.J., Sleeman B.D. *J. Theor. Med.*, **5**, 137 (2003).
5. Jain R.K. *J. Clin. Oncol.*, **31**, 2205 (2013).
6. Крешков А.П. *Основы аналитической химии. Книга 2* (М.: Химия, 1971).
7. Raleigh J.A., Chou S.C., Arteel G.E., Horsman M.R. *Radiat. Res.*, **151**, 580 (1999).
8. Swartz H.M., Clarkson R.B. *Phys. Med. Biol.*, **43**, 1957 (1998).
9. Ehling J., Lammers T., Kiessling F. *Thromb. Haemost.*, **109**, 375 (2013).
10. Rosenthal E., Zinn R. (Eds) *Optical Imaging of Cancer* (New York: Springer, 2009).
11. Farrell T., Patterson M., Wilson B. *Med. Phys.*, **19**, 879 (1992).
12. Pham T., Hornung R., Ha H., et al. *J. Biomed. Opt.*, **7**, 34 (2002).
13. Lee J., Saltzman D., Cerussi A., et al. *Physiol. Meas.*, **27**, 757 (2006).
14. Nichols M.G., Hull E.L., Foster T.H. *Appl. Opt.*, **36**, 93 (1997).
15. Bevilacqua F., Berger A., Cerussi A., et al. *Appl. Opt.*, **39**, 6498 (2000).
16. Taroni P., Comelli D., Farina A., et al. *Opt. Express*, **15**, 3301 (2007).
17. Kleshnin M.S., Turchin I.V. *Las. Phys. Lett.*, **10**, 075601 (2013).
18. Contini D., Martelli F., Zaccanti G. *Appl. Opt.*, **36**, 4587 (1997).
19. Kienle A., Lilje L., Patterson M., et al. *Appl. Opt.*, **35**, 2304 (1996).
20. Лысенко С.А., Кугейко М.М. *Квантовая электроника*, **44**, 252 (2014).
21. Durduran T., Choe R., Baker W., Yodh A. *Rep. Prog. Phys.*, **73**, 076701 (2010).
22. Стратонников А.А., Меерович Г.А., Рябова А.В. и др. *Квантовая электроника*, **36**, 1103 (2006).
23. Perekatova V., Subochev P., Kleshnin M., et al. *Biomed. Opt. Express*, **7**, 3979 (2016).
24. Гилл Ф., Мюррей У., Райт М. *Практическая оптимизация* (М.: Мир, 1985).
25. <http://omlc.org/spectra/index.html>.
26. Белебезев Г.И., Козьм В.В. *Физиология и патофизиология искусственной вентиляции легких* (Киев: Ника-Центр, 2003).
27. Vishwanath K., Yuan H., Barry W., et al. *Neoplasia*, **11**, 889 (2009).
28. Bosschaart N., Edelman G., Aalders M., et al. *Lasers Med. Sci.*, **29**, 453 (2014).