

# Кинетика обратного рассеяния фотонов кожей в спектральном диапазоне 550–790 нм\*

М.Осис, В.Лукинсон, Я.Латвелс, И.Кузьмина, У.Рубинс, Я.Спигулис

*Разработан и испытан экспериментальный метод оценки времени пробега фотонов (ВПФ), обратно рассеянных кожей человека in vivo. Световые сигналы обратного рассеяния были получены с помощью пикосекундного широкополосного лазера и набора узкополосных интерференционных фильтров с центральными длинами волн 550, 600, 650, 700, 750 и 790 нм. Использовались четыре расстояния (8, 12, 16 и 20 мм) между облучающим и приемным волокнами. Измерения проводились при разных комбинациях длин волн излучения и межволоконных расстояний. Прямые кинетические измерения позволили оценить среднюю длину пути фотона в коже в различных спектральных областях. Результаты, как правило, соответствовали теоретическим ожиданиям, однако четкой зависимости от длины волны в спектральном диапазоне 650–790 нм не наблюдалось. Показана перспективность применения данной методики измерения в будущих исследованиях ВПФ в коже человека.*

**Ключевые слова:** рассеяние света в коже человека, время пробега фотонов, длина оптического пути, применение пикосекундных лазеров.

## 1. Введение

Глубина проникновения света в ткани и связанная с ней длина пути рассеянных фотонов являются важными параметрами в оптической диагностике и терапии. Состав и плотность хромофоров влияют на длину пути диффузно отраженных (обратно рассеянных) фотонов в различных тканях, включая кожу человека [1]. Длина пробега обратно рассеянного фотона в коже на определенных длинах волн является важным параметром для клинических применений, например для картирования распределения концентраций хромофора в мальформации кожи [2–9].

Длина пробега фотонов в тканях может быть оценена теоретически с использованием модельных расчетов, например методом Монте-Карло [10]. Однако реальная структура ткани в определенных местах тела не всегда соответствует стандартным предположениям, что может привести к ошибочным результатам.

С другой стороны, прямые измерения времени пробега фотонов позволяют оценить длину пути рассеянных фотонов в исследуемой ткани, если известен ее показатель преломления. В частности, измеренная в классическом эксперименте с двойным волокном временная задержка между входом падающих фотонов и выходом обратно рассеянных фотонов [7] дает представление о времени движения фотона в структурах кожи до того, как он будет возвращен обратно.

\* Перевод с англ. В.Л.Дербова.

M.Osis, V.Lukinson, J.Latvels, I.Kuzmina, U.Rubins, J.Spigulis. Biophotonics Laboratory, Institute of Atomic Physics and Spectroscopy, University of Latvia, LV-1586, Riga, Rainis Blvd., 19, Latvian Republic; e-mail: martinosis24@inbox.lv

Поступила в редакцию 16 сентября 2018 г., после доработки – 16 ноября 2018 г.

Спектроскопия времени пробега фотонов (ВПФ) широко использовалась для исследований in vitro фармацевтических препаратов и мутных сред [7, 8], однако для живых тканей известно всего несколько исследований ВПФ in vivo. В одном из этих исследований были проведены измерения in vivo ВПФ для кожи, облучаемой на длине волны 1064 нм [9]. Авторы наблюдали зависимость ВПФ от положения участка кожи на теле, шероховатости кожи, а также диффузии воды в ней и не обнаружили зависимости ВПФ от возраста и пола или от геометрии измерений (параллельно или перпендикулярно линиям Лангера). Измерения ВПФ in vivo выполнялись также на длинах волн 405 и 510 нм в коже (фототип II по классификации Фицпатрика) и во внутрикожном невусе [9]. Было обнаружено различие в распределениях ВПФ для здоровой кожи и невуса. Такие исследования in vivo являются клинически важными и могут способствовать усовершенствованию алгоритмов моделирования методом Монте-Карло [10, 11] и других алгоритмов, используемых для оптической диагностики кожи [2, 3].

Цель настоящей работы – создание новой системы для проведения измерений ВПФ в коже in vivo на нескольких длинах волн в диапазоне 550–790 нм с разделенными оптическими волокнами источника и детектора и изменяемым расстоянием между ними. Аналогичные существующие системы, работающие во временной области, используются в диффузионной оптической томографии [12–15].

Нами предложена усовершенствованная пикосекундная лазерная система для измерений ВПФ in vivo в коже человека. Система была экспериментально испытана на восьми добровольцах. Она позволяет изменять длину волны входных импульсов излучения и расстояние между облучающим и приемным волокнами при постоянном давлении зонда на кожу. Проанализированы параметры обратно рассеянных импульсов при различных комбинациях длин волн и расстояниях между точками облучения и приема.

## 2. Метод и материалы

Схема предложенной системы показана на рис.1. В качестве источника света в спектральном диапазоне 400–2000 нм использовался широкополосный пикосекундный лазер WhiteLase micro (NKT Photonics, Дания). Длительность импульсов (FWHM) составляла 6 пс, частота их следования – 20 МГц.

Выбор узкой спектральной полосы входного излучения обеспечивался набором оптических фильтров 500FS10-25, 550FS10-25, 600FS10-25, 650FS10-25, 700FS10-25, 750FS10-25, 790FS10-25 (Andover Corporation, США) с полуширинами полос 10 нм и центральными длинами волн 500, 550, 600, 650, 700, 750 и 790 нм. Для дополнительной спектральной фильтрации использовался решеточный монохроматор с разрешением 1 нм, исключающий попадание на детектор сигналов флуоресценции кожи. Для обеспечения распространения оптического сигнала между облучающим и приемным волокнами WF-400 (Light Guide Optics International, Латвия) с диаметрами сердцевин из кварца 400 мкм и длинами 1.05 м, а также с изменяемым расстоянием между ними была разработана специальная система держателя волокон (рис.1), обеспечивающая межволоконные расстояния 8, 12, 16 и 20 мм.

Для обработки сигналов обратного рассеяния использовался детектор, работающий в режиме счета фотонов (фотоумножитель PMC-100-4) с контроллером детектора DCC-100 и картой обработки данных SPC-150 (все компоненты производства Becker & Hickl GmbH, Германия).

Цель настоящего экспериментального исследования состояла в том, чтобы измерить форму импульсов на входе в кожу и на выходе из нее, оценить ВПФ в коже предплечья человека и его зависимость от длины волны в спектральном диапазоне 550–790 нм. Данные собирались для каждой выбранной длины волны при изменении расстояния между волокнами в контактном зонде. Для поддержания давления на поверхность кожи постоянным при всех измерениях зонд был спроектирован как лифт, где внутренняя скользящая часть (пробник с двумя волокнами, расстояние между которыми может изменяться)

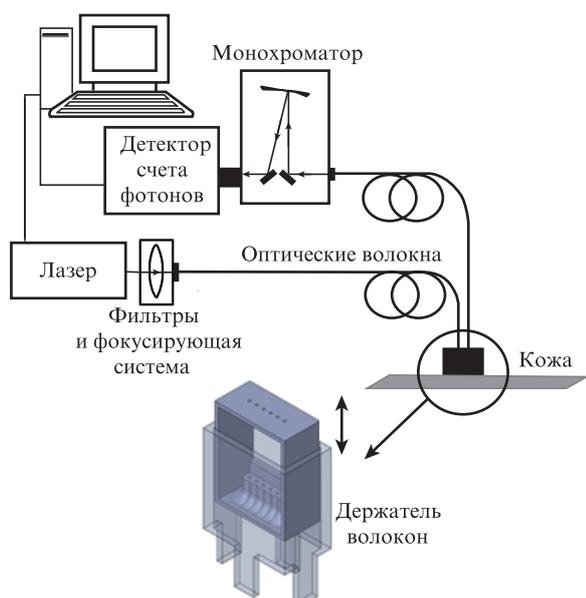


Рис.1. Схема установки для измерения кинетики обратного рассеяния света кожей.

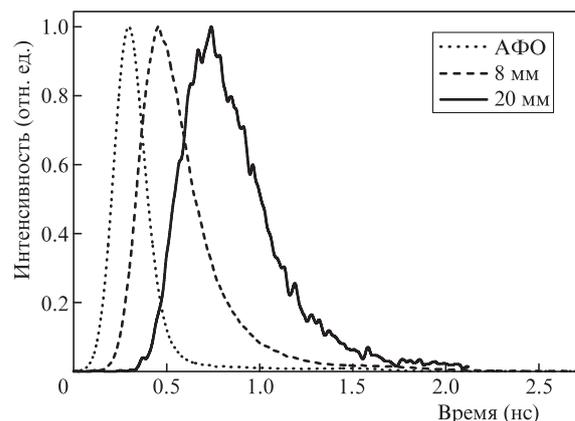


Рис.2. Сигнал АФО и сигналы излучения на  $\lambda = 650$  нм, обратно рассеянного кожей, при расстояниях между волокнами 8 и 20 мм.

лежит на коже и обеспечивает давление  $\sim 35$  г/см<sup>2</sup>, определяемое ее массой (см. держатель волокон на рис.1). Внешняя часть зонда, внутри которой поднимается и опускается пробник, во время измерений фиксировалась на коже.

Перед измерениями *in vivo* регистрировалась аппаратная функция отклика (АФО) (рис.2) путем размещения облучающего волокна напротив принимающего. Она задавала временную шкалу для дальнейших измерений. Каждый результат измерений определялся как среднее значение результатов трех последовательных измерений длительностью по 30 с.

Анализировались зависимости временной задержки  $\Delta t$  пика импульса обратно рассеянного излучения относительно пика сигнала АФО и его полной ширины  $\tau$  от длины волны и расстояния между оптическими волокнами.

Для обработки сигналов была создана специальная программа в среде MATLAB. Ошибка каждого измерения определялась с учетом как систематической ошибки измерения (примерно 6 пс), так и среднеквадратичного отклонения измеренных значений для кожи.

Измерения проводились на ладонной стороне левого предплечья у восьми добровольцев в возрасте от 25 до 68 лет с фототипом кожи II и III (классификация Фитцпатрика) с разрешения местного комитета по этике и письменного согласия добровольцев. Средняя плотность мощности излучения на коже составляла  $\sim 10$  мВт/см<sup>2</sup>, что значительно ниже предела безопасности для кожи, равного 200 мВт/см<sup>2</sup> [16].

## 3. Результаты и их обсуждение

На рис.3 и 4 представлены результаты сравнения параметров входного и выходного импульсов излучения, а именно зависимости временной задержки между пиками импульсов  $\Delta t$  и разности длительностей импульсов  $\Delta$  от расстояния между облучающим и приемным волокнами для разных длин волн, усредненные по результатам измерений для всех добровольцев. Как и ожидалось, увеличение расстояния между волокнами привело к уширению принимаемого импульса и увеличению временной задержки его пика [5, 17].

Мы ожидали также заметного увеличения значений  $\Delta t$  и  $\Delta$  для длин волн, превышающих 600 нм, где поглощение света гемоглобином значительно снижено. Данные для одного добровольца демонстрируют ожидаемое увеличе-

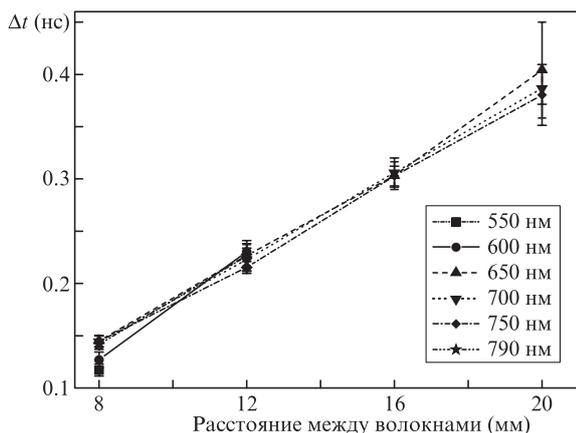


Рис.3. Зависимость временной задержки  $\Delta t$  от расстояния между волокнами для шести длин волн в диапазоне 550–790 нм.

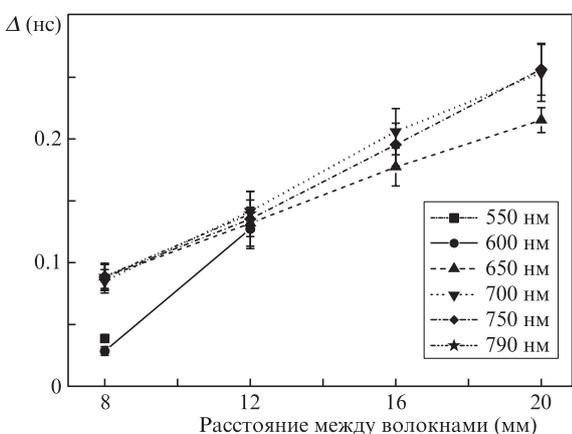


Рис.4. Разность длительностей импульсов АФО и обратно рассеянных лазерных импульсов в зависимости от расстояния между волокнами для шести длин волн в диапазоне 550–790 нм.

ние (рис.5 и 6), но не для всех расстояний между волокнами, потому что обратно рассеянные сигналы на длинах волн 550 и 600 нм были чрезвычайно слабыми, сравнимыми с уровнем шума.

Наименьшие длины пробега фотонов в коже вычислялись по разности времен прихода первых фотонов (самого начала переднего фронта импульса) АФО и фотонов, возвращенных кожей (в расчетах использовался показатель преломления  $n = 1.36$  [10]). Расчет длины пробега

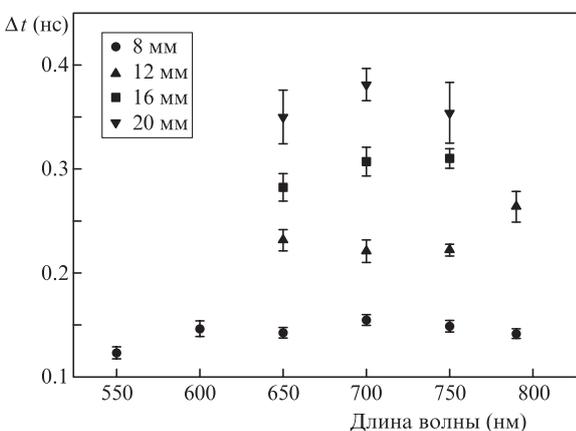


Рис.5. Зависимости времени задержки  $\Delta t$  от длины волны при разных расстояниях между волокнами (данные для одного добровольца).

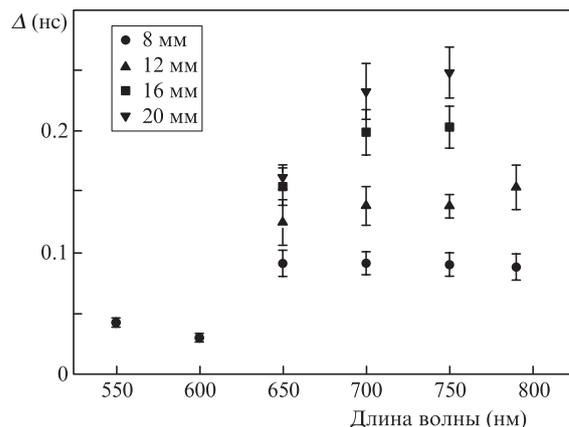


Рис.6. Зависимости разности длительностей импульсов АФО и обратно рассеянных импульсов от длины волны при разных расстояниях между волокнами (данные для одного добровольца).

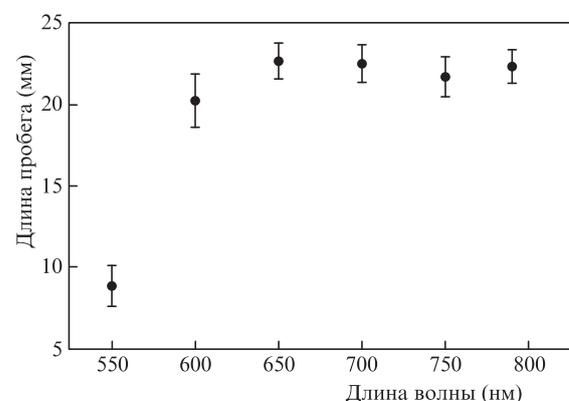


Рис.7. Длина пробега первых обратно рассеянных фотонов для шести длин волн при расстоянии между волокнами 8 мм (данные для одного добровольца).

«первых» обратно рассеянных фотонов проводился на основе измерения временной задержки между моментами достижения уровней сигнала в 10% от максимума на передних фронтах импульса АФО и обратно рассеянных импульсов. На рис.7 показаны полученные таким образом длины пробега первых фотонов при расстоянии между волокнами 8 мм для различных длин волн.

Полученные при больших расстояниях между волокнами наименьшие длины пробега фотонов превысили приведенные на рис.7 примерно в 2.5 раза. Причиной такого различия может быть интенсивное поглощение света оксигемоглобином ( $\text{HbO}_2$ ) и дезоксигемоглобином ( $\text{Hb}$ ) [18]. Поглощение гемоглобином намного больше при длине волны  $\lambda = 550$  нм, чем в диапазоне  $\lambda = 600$ –790 нм, поэтому сигнал на  $\lambda = 550$  нм очень слаб – регистрируется лишь несколько фотонов с «баллистическими» траекториями. При  $\lambda = 650$  нм и более поглощается меньшее число фотонов, поэтому в результате рассеяния фотоны проходят через более глубокие слои кожи по соответственно более длинным траекториям.

#### 4. Заключение

Создана и протестирована усовершенствованная пикосекундная импульсная лазерная система для исследования кинетики фотонов, обратно рассеиваемых кожей. Это дало возможность использовать возбуждающее из-

лучение с различными длинами волн при разных расстояниях между облучающим и приемным оптическими волокнами. Экспериментальные измерения на предплечьях восьми добровольцев позволили исследовать поведение трех параметров (задержка пика выходного импульса относительно пика входного, изменение полной длительности импульса и время прихода первых возвращенных фотонов).

Полученные результаты в целом согласуются с ожиданиями, основанными на поглощающих свойствах гемоглобина крови, находящейся в коже. Однако четких зависимостей упомянутых выше параметров от длины волны в спектральном диапазоне 650–790 нм не наблюдалось. Отношение сигнал/шум для измеренных сигналов было относительно малым, особенно при длинах волн 550 и 600 нм. Для получения из измеренных сигналов распределения фотонов по длинам пробега в коже чувствительность регистрации выходного оптического импульса необходимо повысить, в первую очередь за счет уменьшения потерь сигнала в оптической системе. Дальнейшие исследования должны быть направлены на улучшение обработки сигналов, включая расчет передаточных функций, связанных с рассеянием (отклик на ультракороткие дельта-импульсы) возвращаемого кожей света, чтобы предоставить более подробную информацию о том, как преобразуется входной сигнал при прохождении через кожные структуры [19, 20]. Это даст возможность непосредственно определять распределения фотонов по длинам пробега в коже человека на заданных длинах волн. Кроме того, для получения более подробных и точных экспериментальных результатов необходимо собрать больший набор данных для разных типов кожи, возраста пациентов и мест измерения на теле.

Работа поддержана проектом Laserlab-Europe № EU-N2020 654148 и исследовательскими фондами Университета Латвии.

1. Anderson R.R., Parrish J.A. *J. Investig. Dermatol.*, **77** (1), 13 (1981).

2. Kuzmina I., Diebele I., Jakovels D., Spigulis J., Valeine L., Kapostinsh J., Berzina A. *J. Biomed. Opt.*, **16** (6), 060502 (2011).
3. Barun V.V., Ivanov A.P., Volotovskaya A.V., Ulashchik V.S. *J. Appl. Spectrosc.*, **4** (3), 430 (2007).
4. Spinellia L., Farina A., Binzoni T., Torricelli A., Pifferi A., Martelli F. *Proc. SPIE*, **10059**, 100590X (2017).
5. Wang R.K., Tuchin V.V. (Eds) *Advanced Biophotonics Tissue Optical Sectioning* (London: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2013).
6. Svensson T., Alerstam E., Khoptyar D., Johansson J., Folestad S., Andersson-Engels S. *Rev. Sci. Instrum.*, **80** (6), 063105 (2009).
7. Khoptyar D., Subash A.A., Johansson S., Saleem M., Sparén A., Johansson J., Andersson-Engels S. *Opt. Express*, **21** (18), 20941 (2013).
8. Bernengo J.-C., Adhoue H., Mouglin D. *Skin Res. Technol.*, **21** (1), 25 (2015).
9. Dzerve A., Ferulova I., Lihachev A., Spigulis J. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **2** (3), 030301 (2016).
10. Spigulis J., Oshina I., Berzina A., Bykov A. *J. Biomed. Opt.*, **22** (9), 091508 (2017).
11. Сергеева Е.А., Кириллин М.Ю., Приезжев А.В. *Квантовая электроника*, **36** (11), 1023 (2006) [*Quantum Electron.*, **36** (11), 1023 (2006)].
12. Farina A., Tagliabue S., Di Sieno L., Martinenghi E., Durduran T., Arridge S., Martelli F., Torricelli A., Pifferi A., Mora A.D. *Appl. Sci.*, **7** (12), 1235 (2017).
13. Cooper R.J., Magee E., Everdell N., Magazov S., Varela M., Airantzis D., Gibson A.P., Hebden J.C. *Rev. Sci. Instrum.*, **85** (5), 053105 (2014).
14. Lapointe E., Pichette J., Bérubé-Lauzière Y. *Rev. Sci. Instrum.*, **83** (6), 063703 (2012).
15. Eda H., Oda I., Ito Y., Wada Y., Oikawa Y., Tsunazawa Y., Takada M., Tsuchiya Y., Yamashita Y., Oda M., Sassaroli A., Yamada Y., Tamura M. *Rev. Sci. Instrum.*, **70** (9), 3595 (1999).
16. *Safety of Laser Products – Part 1: Equipment Classification and Requirements* (IEC 60825-1, 2007).
17. Laughton M.A., Warne D.F. (Eds) *Electrical Engineer's Reference Book* (London: Elsevier Science, 2003).
18. <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>.
19. Parr E.A. *Logic Designer's Handbook: Circuits and Systems* (London: Newness, 1993, pp 65, 66).
20. Sinclair I., Dunton J. *Electronic and Electrical Servicing: Consumer and Commercial Electronics* (London: Newness, 2007, p. 172).