

Метод оценки оптимальных спектральных и энергетических параметров лазерного воздействия при фотодинамической терапии биоткани

С.А.Лысенко, М.М.Кугейко

Решена задача послойной дозиметрии лазерного излучения в биотканях и выбора индивидуальной терапевтической дозы при лазерной терапии. Предложен метод оперативного мониторинга плотности излучения в слоях ткани in vivo, концентраций ее эндогенных (естественных) и экзогенных (специально введенных) хромофоров, а также распределений по глубине спектров действия света на данные хромофоры. В качестве исходной информации используется спектр диффузного отражения света от ткани пациента, измеряемый оптоволоконным спектрофотометром. Количественный анализ измеряемого спектра выполнен с использованием метода аппроксимирующих функций для потоков многократно рассеянного тканью света и полуаналитического метода расчета распределения светового потока по глубине многослойной среды. Показана возможность использования разработанного метода для контроля концентраций фотосенсибилизатора и оксигемоглобина в ткани, световой мощности, поглощаемой данными хромофорами в слоях ткани с различной глубиной залегания, и лазерно-индуцированных изменений в морфологии ткани (объемного содержания кровеносных сосудов и соотношения различных форм гемоглобина) при фотодинамической терапии.

Ключевые слова: биологическая ткань, фотодинамическая терапия, послойная дозиметрия лазерного излучения, диффузное отражение, спектр действия света, фотодиссоциация оксигемоглобина.

1. Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является наименее агрессивным методом лечения рака, основанным на применении света и химического вещества – фотосенсибилизатора (ФС). Физический механизм ФДТ можно представить следующим образом [1]. ФС, введенный в организм человека внутривенно, избирательно накапливается в опухолевых тканях. При облучении пораженного участка ткани светом с определенной длиной волны ФС поглощает кванты света и активизирует фотохимическую реакцию, в результате которой молекулярный триплетный кислород превращается в токсичный для биоткани синглетный кислород, вызывающий разрушение опухоли. Кроме того, ФДТ приводит к повреждению кровеносных сосудов внутри опухоли, которые питают ее и доставляют кислород, что также вызывает гибель раковых клеток.

Поскольку ФДТ сопровождается непрерывной утилизацией молекулярного кислорода в фотохимических реакциях, то для максимального повреждения раковых клеток необходимо поддерживать требуемый уровень оксигенации опухолевой ткани на протяжении всего сеанса терапии. Эффективным методом устранения недостатка кислорода (гипоксии) в зоне опухоли является лазерно-индуцированная фотодиссоциация оксигемоглобина (HbO₂) с выделением кислорода [2]. В работе [3] описан способ ФДТ онкологических заболеваний, включающий введение ФС в зону опухолевой ткани и воздействие на нее лазерным излучением одновременно на двух длинах волн.

Первая длина волны совпадает с максимумом поглощения ФС, а вторая используется для фотодиссоциации HbO₂. Данный способ предполагает использование одних и тех же длин волн лазерного излучения и доз облучения для всех пациентов, что может приводить как к низкой эффективности ФДТ, так и к ряду нежелательных последствий, связанных с излишним нагревом ткани пациента и с ее необратимыми изменениями (коагуляция, разрушение капилляров и т. д.).

Количественной мерой эффективности фотопроцессов в облучаемой ткани, вызываемых поглощением света ее хромофором X, служит спектр действия света на данный хромофор [4]:

$$K_X(z, \lambda) = C_X(z)k_X(\lambda)\Phi(z, \lambda), \quad (1)$$

где λ – длина волны света; C_X и k_X – концентрация и коэффициент поглощения хромофора; $\Phi(z, \lambda)$ – спектр плотности мощности на глубине z в ткани (пространственная освещенность). Для выбора индивидуальных спектральных и энергетических параметров ФДТ необходимо знать спектры действия света на ФС и HbO₂ в ткани пациента, поскольку желаемый терапевтический эффект достигается лишь при определенной мощности, поглощаемой хромофором-мишенью.

Выработке оптимальной стратегии терапевтического воздействия света на биоткань посвящено достаточно большое количество публикаций. Так, в работах [4–9], исходя из результатов численного моделирования светового поля в коже человека при средних или выборочных значениях ее параметров, даются общие рекомендации по спектральной оптимизации методов светотерапии различных заболеваний. Однако данные рекомендации носят качественный характер, и их практическое использование для выбора оптимальных спектральных и энергетических характеристик лазерного излучения в каждом кон-

С.А.Лысенко, М.М.Кугейко. Белорусский государственный университет, Белоруссия, 220030 Минск, просп. Независимости, 4; e-mail: lisenko@bsu.by

Поступила в редакцию 13 января 2014 г., после доработки – 2 июня 2014 г.

кретном случае затруднено отсутствием надежных данных по оптическим параметрам реально облучаемой ткани и их изменениям в процессе взаимодействия света с тканью. По данным экспериментальных исследований [10–12], в процессе сеанса ФДТ происходит частичное разрушение стенок кровеносных сосудов (с высвобождением гемоглобина) и существенно повышается концентрация метгемоглобина в ткани (до 60% от общей концентрации гемоглобина), что приводит к изменению оптических параметров ткани.

Таким образом, для того чтобы повысить эффективность ФДТ и избежать побочных неблагоприятных эффектов, необходимо контролировать концентрации ФС и HbO_2 в зоне опухоли, распределения по глубине спектров действия света на данные хромофоры и локальные изменения морфологии ткани (объемного содержания кровеносных сосудов и соотношения различных форм гемоглобина).

Для определения содержания в ткани ФС часто используется метод стандартных образцов [13–15], основанный на сравнении спектров диффузного отражения (ДО) или флуоресценции реальной ткани с аналогичными спектрами модельных растворов, содержание ФС в которых известно. Однако в реальной биоткани свет поглощается и рассеивается большим количеством оптически активных хромофоров, в результате чего линия поглощения ФС в спектре отражения или флуоресценции ткани сдвигается, а ее форма модифицируется по сравнению с аналогичной линией для модельных растворов [11, 16]. Поэтому попытка интерпретировать измеряемый спектр, используя аналогичные спектры модельных образцов с конкретными оптическими параметрами, не всегда правомерна. В отмеченной выше работе [14] концентрацию ФС в ткани и степень оксигенации гемоглобина устанавливают и на основе количественного анализа спектра ДО ткани в рамках диффузионного приближения теории переноса излучения. К сожалению, предложенный метод правомерен только при малых концентрациях ФС, когда его вклад в ослабление света в ткани на $\lambda = 975$ нм меньше аналогичного вклада воды. В [17] для решения аналогичной задачи использован закон Ламберта–Бэра и показано, что коэффициент корреляции между результатами спектрального и биохимического анализов составляет 0.77–0.88.

Известен ряд работ [18–20], в которых о концентрациях ФС и HbO_2 в ткани, а также о глубине проникновения света в ткань судят (в диффузионном приближении) по спектру ДО ткани, измеряемому с пространственным разрешением. Однако сложность необходимого экспериментального оборудования, большой динамический диапазон регистрируемых сигналов и жесткие ограничения по геометрии измерений и оптическим параметрам ткани, накладываемые диффузионным приближением, существенно затрудняют использование данных методов в клинической практике. Кроме того, эти методы не позволяют оценивать эффективность поглощения света фотосенсибилизатором и оксигемоглобином в слоях ткани с различной глубиной залегания и выбирать оптимальную терапевтическую дозу облучения.

Известен также метод определения концентрации ФС в рассеивающей среде, основанный на измерениях сигналов флуоресценции и диффузного отражения на расстояниях 0.65 и 1.35 мм от источника возбуждающего излучения [21, 22]. Как показано в работе [21], отношение данных сигналов слабо подвержено влиянию оптических па-

раметров среды и характеризует концентрацию в ней флуорофора. К недостаткам метода следует отнести необходимость использования калибровочного образца с известной концентрацией флуорофора и влияние на результат измерений различий в оптических параметрах среды на длинах волн возбуждающего излучения и света флуоресценции.

Настоящая работа направлена на решение задач послойной дозиметрии лазерного излучения в биоткани, повышение эффективности ФДТ и минимизации побочных неблагоприятных эффектов лечения. Это достигается путем контроля концентраций ФС и HbO_2 в ткани и эффективности поглощения света данными хромофорами в слоях ткани с различной глубиной залегания, а также контроля морфологических изменений облучаемой ткани (объемного содержания кровеносных сосудов и соотношения различных форм гемоглобина). Источником исходной информации является спектр ДО ткани, измеряемый на фиксированном расстоянии от области подвода возбуждающего излучения. Математический аппарат, используемый для обработки данных измерений, включает в себя аппроксимирующие функции для потоков диффузно-отраженного тканью света [23, 24] и оперативный метод расчета распределения светового потока по глубине многослойной, оптически плотной среды [25].

2. Определение морфологических параметров кожной ткани с введенным фотосенсибилизатором

Исследуем возможность определения важных для ФДТ параметров кожи человека с использованием малогабаритной системы измерения диффузного отражения света от биотканей, состоящей из широкополосного излучателя, спектрометра и волоконно-оптического зонда [26]. Зонд представляет собой пучок из семи оптических волокон с естественной плотной упаковкой (шесть осветительных волокон вокруг одного считывающего). Центральное (считывающее) волокно присоединяется к спектрометру. Шесть наружных (осветительных) волокон соединяются с источником излучения и передают свет на исследуемый объект.

Определение структурно-морфологических параметров ткани основывается на сравнении модельного ($\omega(x, \lambda_i)$) и экспериментального ($\omega_{\text{exp}}(\lambda_i)$) спектров ДО ткани и подборе модельных параметров $x = (x_p)$, обеспечивающих минимум функционала

$$\sigma^2 = \frac{1}{N_\lambda - 1} \sum_{i=1}^{N_\lambda - 1} [\omega_{\text{exp}}(\lambda_i) - \omega(x, \lambda_i)]^2, \quad (2)$$

где N_λ – количество точек в измеряемых спектрах. Спектр $\omega_{\text{exp}}(\lambda_i)$ определяется путем сравнения детектируемых сигналов от ткани (P) и от белого диффузного отражателя (P_{ref}):

$$\omega_{\text{exp}}(\lambda_i) = \frac{P(\lambda_i)/P_{\text{ref}}(\lambda_i)}{P(\lambda_0)/P_{\text{ref}}(\lambda_0)}, \quad (3)$$

где λ_0 – нормировочная длина волны. Спектр $\omega(x, \lambda_i) = R(\lambda_i)/R(\lambda_0)$ рассчитывается на основе аналитической модели [22, 23] отражательной способности ткани $R = P/P_0$, где P_0 – мощность коллимированного света, падающего на среду; P – мощность диффузного излучения, выходя-

щего с площадки на поверхности среды вне области падающего света. Нормировка (3) позволяет исключить влияние интенсивности излучения источника, чувствительности приемника и отражательной способности опорного отражателя на точность оценок параметров ткани.

Расчет отражательной способности кожной ткани будем осуществлять в рамках модели кожи в виде двухслойной среды (эпидермис и дерма) с одинаковыми параметрами светорассеяния и различными коэффициентами поглощения слоев [24, 27]. Полагаем, что ФС локализован в тканях дермы, где располагаются кровеносные сосуды. Тогда модельными параметрами x являются: n_{sk} – показатель преломления кожи; B_{sca} – транспортный коэффициент рассеяния соединительной ткани при $\lambda = 400$ нм; ρ_{Mie} – доля рассеяния Ми в общем рассеянии ткани при $\lambda = 400$ нм; x – параметр спектральной зависимости транспортного коэффициента рассеяния Ми; L_e – толщина эпидермиса; f_m – объемная концентрации меланина в эпидермисе; f_{bl} – объемная концентрация капилляров в дерме; d_v – средний диаметр капилляров; C_{Hb} – концентрация общего гемоглобина в крови (г/л); S и C_{MetHb} – относительные содержания оксигемоглобина (HbO_2) и метгемоглобина (MetHb) в общем составе гемоглобина; C_β – молярная концентрация β -каротина; C_{PS} – молярная концентрация ФС. Для параметров L_e и C_{Hb} используем фиксированные значения: $L_e = 60$ мкм, $C_{Hb} = 150$ г/л (средние для кожи человека). Оптические параметры кожи рассчитываются по формулам [24, 27]

$$g(\lambda) = 0.7645 + 0.2355 [1 - \exp(-(\lambda - 500)/729.1)], \quad (5)$$

$$\beta'(\lambda) = B_{sca} \left[\rho_{Mie} \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} \right)^x + (1 - \rho_{Mie}) \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} \right)^4 \right], \quad (6)$$

$$k_e(\lambda) = f_m k_m(\lambda) + (1 - f_m) k_t(\lambda), \quad (7)$$

$$k_d(\lambda) = f_{bl} \alpha(\lambda) k_{bl}(\lambda) + (1 - f_{bl}) k_t(\lambda) + C_\beta \varepsilon_\beta(\lambda) + C_{PS} \varepsilon_{PS}(\lambda), \quad (8)$$

$$k_{bl}(\lambda) = \ln 10 \frac{C_{Hb}}{\mu_{Hb}} [S \varepsilon_{Hb}(\lambda) + C_{MetHb} \varepsilon_{MetHb}(\lambda) + (1 - S - C_{MetHb}) \varepsilon_{HbO_2}(\lambda)], \quad (9)$$

где β' и g – транспортный коэффициент рассеяния и фактор анизотропии рассеяния эпидермиса и дермы; k_e и k_d – коэффициенты поглощения эпидермиса и дермы; k_t – коэффициент поглощения соединительной (обескровленной) ткани; k_{bl} – коэффициент поглощения крови, учитывающий лазерно-индуцированное образование метгемоглобина в кровеносных сосудах облучаемой ткани; ε_{Hb} , ε_{HbO_2} , ε_β и ε_{PS} – молярные коэффициенты поглощения Hb, HbO_2 , β -каротина и ФС в $mm^{-1}/(mоль/л)$; $\mu_{Hb} = 64500$ г/моль – молярная масса гемоглобина; α – поправочный коэффициент, учитывающий эффект локализованного поглощения света кровеносными сосудами [28]:

$$\alpha(\lambda) = \frac{1 - \exp(-d_v k_{bl}(\lambda))}{d_v k_{bl}(\lambda)}. \quad (10)$$

В качестве ФС рассмотрим краситель «Фотосенс» (ГНЦ «НИОПИК»), представляющий собой смесь фракций фталоцианина алюминия с различной степенью суль-

фирования. Оптическая плотность «Фотосенса» приведена в работе [29]. Максимум его молярного коэффициента поглощения ε_{PS} приходится на $\lambda = 675$ нм и, по данным работы [14], составляет $0.25 \text{ см}^{-1} \cdot \text{мкМ}^{-1}$.

Связь отражательной способности моделирующей кожу человека двухслойной среды с оптическими параметрами среды с высокой точностью описывается следующим выражением [24]:

$$\begin{aligned} -\ln R = & \sum_{m=1}^3 a_{1,m} (\beta')^m + \sum_{m=1}^3 a_{2,m} k_e^m + \sum_{m=1}^3 a_{3,m} k_d^m \\ & + \sum_{m=1}^3 a_{4,m} g^m + \sum_{m=1}^3 a_{5,m} (n_{sk} - 1)^m + \sum_{m=1}^3 a_{6,m} \delta_d^m \\ & + \sum_{m=1}^3 a_{7,m} (k_e L_e)^m + \sum_{m=1}^3 a_{8,m} (k_d \delta_d)^m + k_e L_e \sum_{m=1}^3 a_{9,m} \left(\frac{k_e}{\beta'} \right)^m \\ & + L_e \sum_{m=1}^3 a_{10,m} \left(\frac{k_e}{\beta'} \right)^m + \delta_d \sum_{m=1}^3 a_{11,m} \left(\frac{k_d}{\beta'} \right)^m \\ & + \frac{L_e}{\delta_d} \sum_{m=1}^3 a_{12,m} (k_d \delta_d)^m, \end{aligned} \quad (11)$$

где $a_{i,m}$ – коэффициенты аппроксимации; $\delta_d = [3k_d(k_d + \beta')]^{-1/2}$ – глубина проникновения света в дерму (в диффузионном приближении). Рассмотрим геометрическую конфигурацию оптоволоконного зонда, при которой осветительное и считывающее волокна диаметром 0.8 мм разнесены на расстояние 0.83 мм друг от друга. Коэффициенты, присутствующие в выражении (11) и соответствующие такой геометрии эксперимента, приведены в табл. 1. Данным коэффициентам отвечают следующие размерности параметров среды: $[L_e] = \text{мм}$, $[\beta'] = \text{мм}^{-1}$, $[k_e] = \text{мм}^{-1}$, $[k_d] = \text{мм}^{-1}$. Среднеквадратичная погрешность аппроксимации результатов численных расчетов R выражением (11) составляет 0.85%. Коэффициент корреляции между значениями R , полученными методом Монте-Карло (МК) и по формуле (11), равен 0.9998.

Алгоритм восстановления модельных параметров основан на минимизации невязки между результатами расчета нормированного спектра ДО кожи по формулам (5)–(11) и экспериментальными данными. Точность восстановления важных для ФДТ модельных параметров (f_{bl} , S , C_{MetHb} , C_{PS}) оценивалась на основе результатов численного расчета спектров ДО кожи методом МК. Расчет выполнялся для 70 значений λ , равномерно распределенных на отрезке [450 нм, 800 нм], при следующем разбро-

Табл. 1. Коэффициенты формулы (11) для расчета отражательной способности кожи.

i, m	$a_{i,m}$	i, m	$a_{i,m}$	i, m	$a_{i,m}$
1, 1	0.0847	5, 1	-8.1287	9, 1	-1.1419
1, 2	0.0413	5, 2	21.329	9, 2	0.2703
1, 3	-0.0038	5, 3	-16.079	9, 3	-0.0223
2, 1	-0.0154	6, 1	0.3936	10, 1	-2.0241
2, 2	0.0011	6, 2	-0.0282	10, 2	0.5741
2, 3	0.0000	6, 3	0.0010	10, 3	-0.0730
3, 1	1.4851	7, 1	6.5092	11, 1	2.9094
3, 2	-0.4444	7, 2	-2.7701	11, 2	-4.8814
3, 3	0.0606	7, 3	1.6099	11, 3	1.6287
4, 1	-2.1242	8, 1	16.925	12, 1	-9.2751
4, 2	15.478	8, 2	-55.178	12, 2	23.034
4, 3	-11.822	8, 3	90.164	12, 3	-27.204

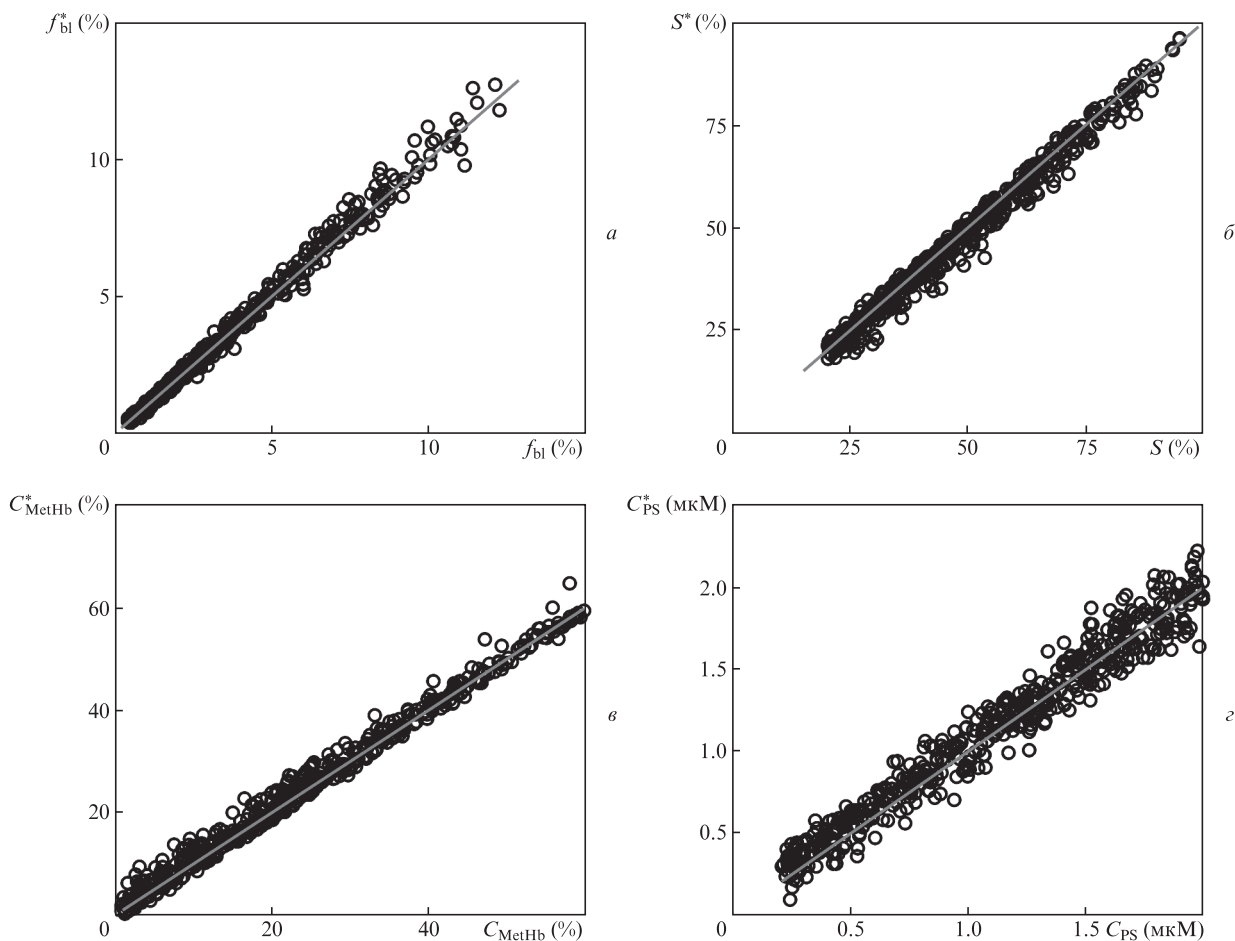


Рис.1. Результаты численных экспериментов по восстановлению морфологических параметров кожи (а–г) и концентрации в ней ФС (з) из спектральных сигналов ДО, нормированных на $\lambda = 800$ нм. Линии на рисунках соответствуют точному равенству известных (ось абсцисс) и восстановленных (ось ординат) параметров.

се модельных параметров: $f_m = 1\%–10\%$, $f_{bl} = 0.4\%–14\%$, $d_v = 5–90$ мкм, $S = 20\%–98\%$, $C_{MetHb} = 1\%–60\%$, $C_\beta = 0.2–5.0$ мкМ, $C_{PS} = 0.2–2.0$ мкМ, $B_{sca} = 4–11$ мм⁻¹, $\rho_{Mie} = 0.1–0.6$, $x = 0.5–1.0$, $n_{sk} = 1.4–1.5$.

Соответствующие 550 случайным реализациям спектра ДО кожи параметры f_{bl} , S , C_{MetHb} и C_{PS} , смоделированные методом МК и восстановленные из этих спектров, представлены на рис.1. Коэффициенты корреляции между известными и восстановленными значениями f_{bl} , S , C_{MetHb} , C_{PS} составляют 0.996, 0.991, 0.994, 0.980 соответственно. Среднеквадратичные погрешности восстановления данных параметров таковы: $\Delta f_{bl} = 0.26\%$, $\Delta S = 2.4\%$, $\Delta C_{MetHb} = 1.7\%$, $\Delta C_{PS} = 0.1$ мкМ. Следовательно, сигналы ДО, регистрируемые при рассматриваемой измерительной базе (0.83 мм), обладают достаточной для практического применения чувствительностью к содержанию метгемоглобина в крови и к дополнительному экзогенному хромофору ткани – фотосенсибилизатору.

3. Определение спектров действия света на фотосенсибилизатор и эффективности фотодиссоциации оксигемоглобина в слоях ткани

Рассмотрим возможность определения спектра действия света на ФС $K_{PS}(z, \lambda)$ и эффективности фотодиссоциации оксигемоглобина $n(z, \lambda)$ по нормированному спек-

тру ДО каждой ткани $\omega(\lambda) = R(\lambda)/R(800$ нм). Функция $K_{PS}(z, \lambda)$ представляет собой суммарную мощность излучения, поглощенную ФС в единичном объеме среды, при единичной освещенности ее поверхности монохроматическим светом:

$$K_{PS}(z, \lambda) = C_{PS} \epsilon_{PS}(\lambda) \Phi(z, \lambda). \tag{12}$$

Под функцией $n(z, \lambda)$ понимается число молекул кислорода, образующихся в единицу времени в единице объема ткани на глубине z , при единичной освещенности поверхности ткани [30]:

$$n(z, \lambda) = f_{bl} S (C_{tHb} / \mu_{tHb}) \ln 10 \epsilon_{HbO_2}(\lambda) \Phi(z, \lambda) (q \lambda / h c), \tag{13}$$

где h – постоянная Планка; c – скорость света в среде; q – квантовый выход фотодиссоциации, который при возбуждении HbO₂ светом с $\lambda = 300–650$ нм составляет примерно 3%–5% [31].

Пусть сигнал ДО измеряют при диаметрах круглых осветительной и приемной площадок на поверхности среды 0.8 мм и расстоянии между их центрами 0.83 мм. Спектр $\omega(\lambda)$, отвечающий такой геометрии измерений, представлен на рис.2,а. Данный спектр рассчитан методом МК для случайной комбинации модельных параметров (x_p): $f_m = 1.85\%$, $f_{bl} = 3.84\%$, $d_v = 32.2$ мкм, $S = 82.5\%$, $C_{MetHb} = 11.4\%$, $C_\beta = 0.47$ мкМ, $C_{PS} = 1.04$ мкМ, $B_{sca} = 6.46$ мм⁻¹, $\rho_{Mie} = 0.19$, $x = 0.94$, $n_{sk} = 1.45$. Модельные па-

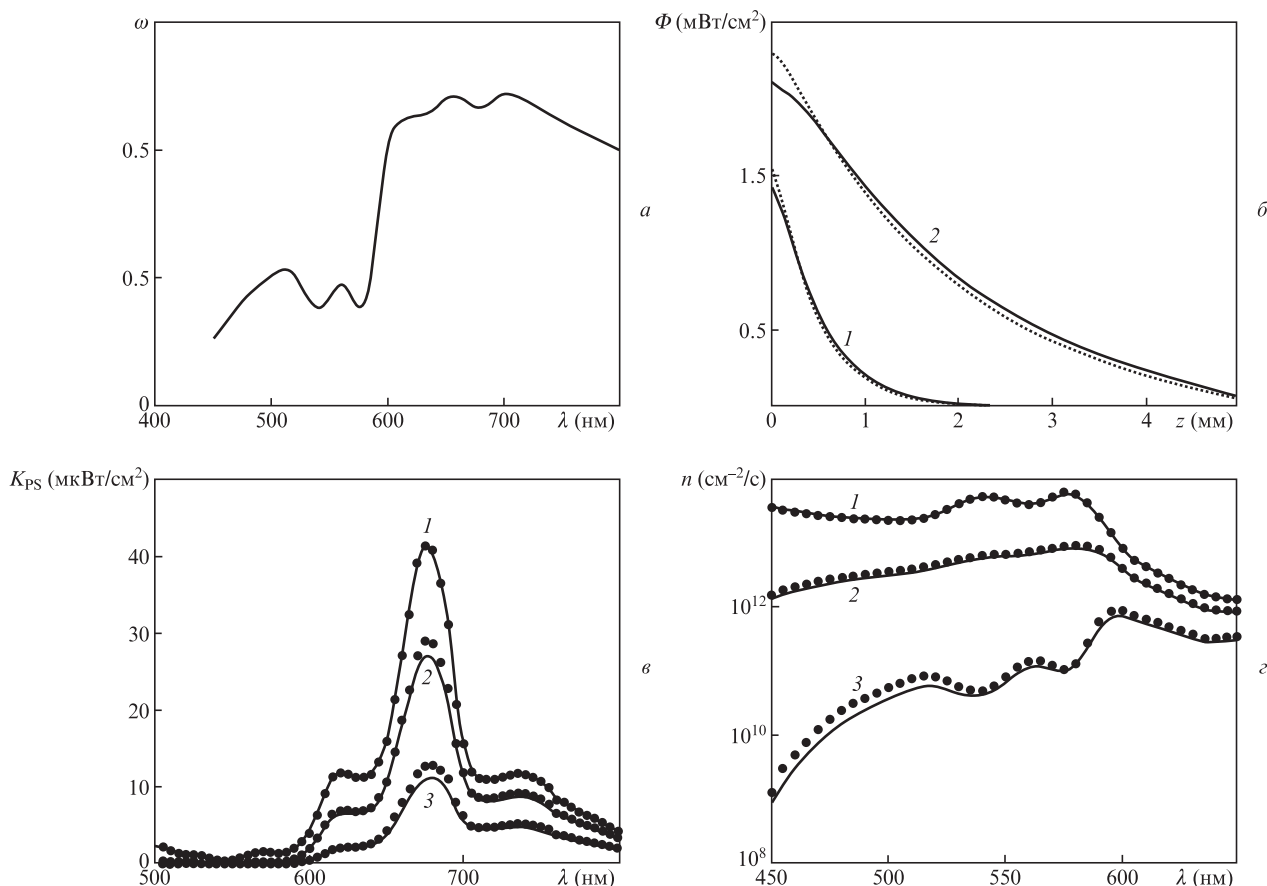


Рис.2. Результаты численного эксперимента по восстановлению спектральной плотности излучения, поглощаемого ФС «Фотосенс» и оксигемоглобином в слоях кожи на глубине $z_1 = 0.1$ мм, $z_2 = 1.0$ мм (1), $z_1 = 1.0$ мм, $z_2 = 2.0$ мм (2) и $z_1 = 3.0$ мм, $z_2 = 5.0$ мм (3), из спектра ДО кожи; а – спектральный сигнал диффузного света, нормированный на $\lambda = 800$ нм; б – истинные (сплошные кривые) и восстановленные (пунктир) распределения полной освещенности по глубине среды на $\lambda = 575$ (1) и 675 нм (2); в – истинные (точки) и восстановленные (сплошные кривые) спектральные эффективности поглощения света ФС; з – истинные (точки) и восстановленные (сплошные кривые) спектральные эффективности фотодиссоциации NbO_2 .

раметры (x_p^*), полученные в результате минимизации невязки между данным спектром и спектром, рассчитанным на основе формулы (11), имеют следующие значения: $f_m^* = 0.74\%$, $f_{bl}^* = 3.80\%$, $d_v^* = 43.9$ мкм, $S^* = 83.3\%$, $C_{MetHb}^* = 11.4\%$, $C_\beta^* = 0.25$ мкМ, $C_{PS}^* = 1.02$ мкМ, $B_{sca}^* = 8.14$ мм⁻¹, $\rho_{Mic}^* = 0.12$, $x^* = 0.56$, $n_{sk}^* = 1.44$. Видно, что параметры f_{bl} , S , C_{MetHb} и C_{PS} восстанавливаются с достаточно высокой точностью, что согласуется с результатами анализа диагностических возможностей рассматриваемых измерений. Между тем, восстановленные значения других параметров существенно отличаются от их заданных значений. Причиной этого является неоднозначная зависимость нормированного спектра ДО среды, моделирующей кожную ткань, от указанных выше параметров. Существует бесконечное количество решений обратной задачи, одинаково хорошо воспроизводящих спектр $\omega(\lambda)$ в рамках используемой модели. Диапазоны значений параметров f_{bl} , S , C_{MetHb} и C_{PS} , отвечающих одному и тому же спектру $\omega(\lambda)$, являются достаточно узкими (см. разброс точек на рис.1 относительно прямых $x_p = x_p^*$), что позволяет получать удовлетворительные оценки данных параметров по измерениям $\omega(\lambda)$. Аналогичные диапазоны для других модельных параметров сравнимы с априорной неопределенностью последних.

Тем не менее все комбинации модельных параметров, приводящие к одному и тому же расчетному спектру $\omega(\lambda)$, соответствуют примерно одинаковому световому режи-

му внутри среды. В подтверждение этому на рис.2,б изображены распределения освещенности по глубине среды $\Phi(z, \lambda)$ на $\lambda = 575$ и 675 нм, рассчитанные методом МК при заданных значениях модельных параметров и аналитически – при их восстановленных значениях (метод расчета описан в работе [25]). Действительно, несмотря на существенные различия между заданными и восстановленными параметрами среды, и те и другие обуславливают практически одинаковую пространственную освещенность в среде. Восстановленные профили $\Phi(z, \lambda)$ отличаются от истинных распределений освещенности в среде (соответствующих заданным параметрам среды) в пределах погрешности метода расчета $\Phi(z, \lambda)$. Функции $K_{PS}(z, \lambda)$ и $n(z, \lambda)$, полученные по восстановленным параметрам f_{bl} , S , C_{PS} и распределениям $\Phi(z, \lambda)$, также достаточно хорошо воспроизводят истинные спектры действия света на ФС и эффективные фотодиссоциации NbO_2 . В качестве примера на рис.2,в,з представлены функции

$$K_{PS}(\lambda) = \int_{z_1}^{z_2} K_{PS}(z, \lambda) dz \text{ и } n(\lambda) = \int_{z_1}^{z_2} n(z, \lambda) dz,$$

рассчитанные для трех слоев среды с глубиной залегания $[z_1, z_2]$. Видно, что несущественные количественные различия между истинными и восстановленными профилями $K_{PS}(\lambda)$ и $n(\lambda)$ имеют место лишь для глубоких слоев среды.

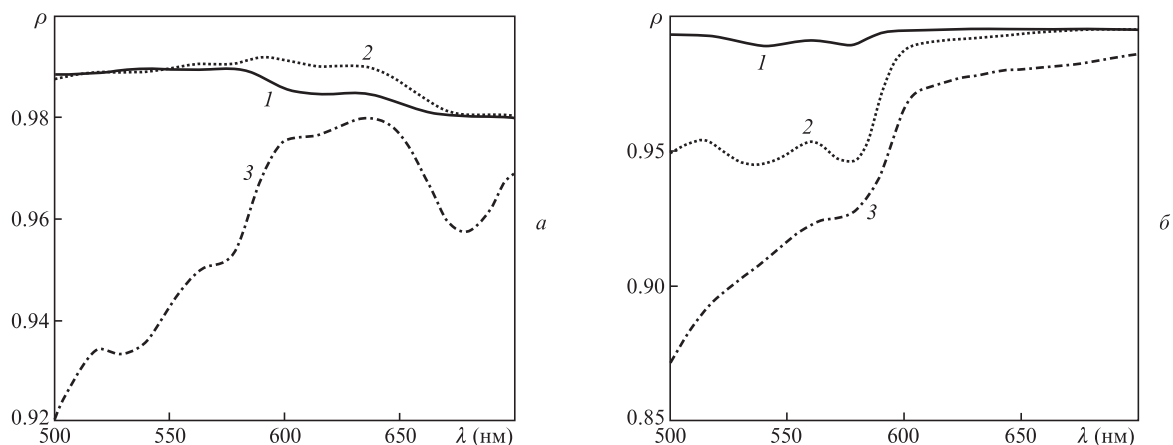


Рис.3. Коэффициенты корреляции между истинными и восстановленными спектрами $K_{PS}(\lambda)$ (а) и $n(\lambda)$ (б) для трех слоев ткани при $z_1 = 0.1$ мм, $z_2 = 1.0$ мм (1), $z_1 = 1.0$ мм, $z_2 = 2.0$ мм (2) и $z_1 = 3.0$ мм, $z_2 = 5.0$ мм (3).

Для подтверждения корректности сделанных выводов проведена серия аналогичных численных экспериментов. Использовался ансамбль из 550 реализаций $\omega(\lambda)$ и $\Phi(z, \lambda)$, полученных методом МК при случайных комбинациях модельных параметров. Спектры $K_{PS}(\lambda)$ и $n(\lambda)$, восстановленные из $\omega(\lambda)$, сравнивались с аналогичными известными спектрами, отвечающими заданным параметрам среды. Коэффициенты корреляции между истинными и восстановленными спектрами $K_{PS}(\lambda)$ и $n(\lambda)$ приведены на рис.3. Видно, что предлагаемый метод позволяет с высокой степенью достоверности определять спектры $K_{PS}(\lambda)$ и $n(\lambda)$ в слоях ткани с глубиной залегания до 2.0–2.5 мм при рассматриваемом разбросе оптических параметров ткани. Для более глубоких слоев можно получать корректные оценки спектральных особенностей поглощения света ФС и HbO_2 (например, положение максимума поглощения), однако абсолютные величины $K_{PS}(\lambda)$ и $n(\lambda)$ в ряде случаев (например, при высокой пигментации кожи) могут определяться с большими погрешностями. Это обстоятельство не является ограничением предлагаемого метода, а связано с конечной глубиной проникновения света в ткань. Для получения информации о более глубоких слоях ткани следует дополнить рассматриваемые измерения $\omega(\lambda)$ ближним ИК диапазоном. При этом, разумеется, придется учесть дополнительные хромофоры ткани – воду и липиды, поглощающие излучение с $\lambda > 900$ нм. В остальном алгоритм обработки $\omega(\lambda)$ остается без изменений.

4. Влияние анатомического строения ткани

Представленные выше результаты получены в приближении модели кожной ткани с тонким верхним слоем (эпидермис) и полубесконечным однородным нижним слоем (дерма). Такая модель, несмотря на свою простоту, хорошо описывает экспериментальные спектры ДО кожи и позволяет выполнять оценки некоторых среднеобъемных параметров эпидермиса и дермы [24, 27]. Однако реальное строение кожи намного сложнее, чем это предполагается в используемой модели. В составе дермы выделяют несколько анатомических областей (слоев) с различным содержанием кровеносных сосудов. В связи с этим возникает вопрос: насколько корректно связь спектра ДО кожи с характеристиками светового поля в ее многослойной дерме воспроизводится в рамках используемой модели?

Для ответа на поставленный вопрос рассмотрим более реалистичную модель кожи человека, предложенную

в работе [32]. В исходном варианте модель представлена в виде слоев кожи с геометрическими толщинами L и оптическими параметрами (коэффициент поглощения k , коэффициент рассеяния β , фактор анизотропии рассеяния g) на $\lambda_1 = 337$ нм и $\lambda_2 = 633$ нм. Предполагая, что основными поглотителями света в коже являются меланин, Hb и HbO_2 , по заданным коэффициентам поглощения каждого слоя на λ_1 (изобестическая точка спектров поглощения Hb и HbO_2) несложно получить концентрации меланина f_m и капилляров f_{bl} в соответствующих слоях (табл.2). Будем считать, что во всех слоях дермы $S = 70\%$, $C_{\text{Hb}} = 150$ г/л, $d_v = 10$ мкм, а фоновое поглощение ткани $k_i(\lambda)$ соответствует экспериментальным данным [33]. Суммарный коэффициент поглощения каждого из слоев рассчитывается по формулам (7)–(9) при $C_\beta = 0$, $C_{PS} = 0$ и $C_{\text{MetHb}} = 0$. Для расчета $\beta(\lambda)$ и $g(\lambda)$ в диапазоне $\lambda = 450–800$ нм используем соответственно степенную $(A(\lambda_2/\lambda)^v)$ и линейную $(B + C\lambda)$ функции с коэффициентами A , v , B и C , полученными для каждого слоя ткани по соответствующим им значениям β и g на λ_1 и λ_2 (табл.2). Показатель преломления всех слоев кожи полагаем одинаковым и равным 1.45.

Спектр ДО кожи с многослойной дермой $\omega_m(\lambda)$, рассчитанный методом МК (рис.4,а), интерпретировался в приближении модели кожи с однородной дермой. Восстановленные из спектра $\omega_m(\lambda)$ параметры двухслойной модели кожи таковы: $f_m L_e = 0.84$ мкм, $f_{bl} = 5.13\%$, $d_v = 12.5$ мкм, $S = 68\%$, $B_{\text{sca}} = 7.59$ мм⁻¹, $\rho_{\text{Mie}} = 0.95$, $x = 1.97$, $n_{\text{sk}} = 1.37$. Видно, что восстановленные значения интегрального содержания меланина в эпидермисе, степени оксигенации крови и диаметра капилляров достаточно близки к соответствующим значениям для многослойной модели кожи. Восстановленный параметр f_{bl} примерно равен средней по глубине многослойной дермы концентрации капилляров,

$$\sum_{i=2}^5 L_i f_{bl,i} / \sum_{i=1}^5 L_i = 5.58\%.$$

Табл.2. Параметры слоев кожи, используемые при моделировании.

Слой	L (мм)	f_m (%)	f_{bl} (%)	A (мм ⁻¹)	v	B	C (10 ⁴ мм ⁻¹)
1	0.1	1.3	0	10.7	0.687	0.64	2.36
2	0.2	0	4	18.7	0.307	0.61	3.38
3	0.2	0	7	19.2	0.393	0.61	3.38
4	0.9	0	4	18.7	0.687	0.61	3.38
5	0.6	0	8	19.4	0.421	0.61	3.38

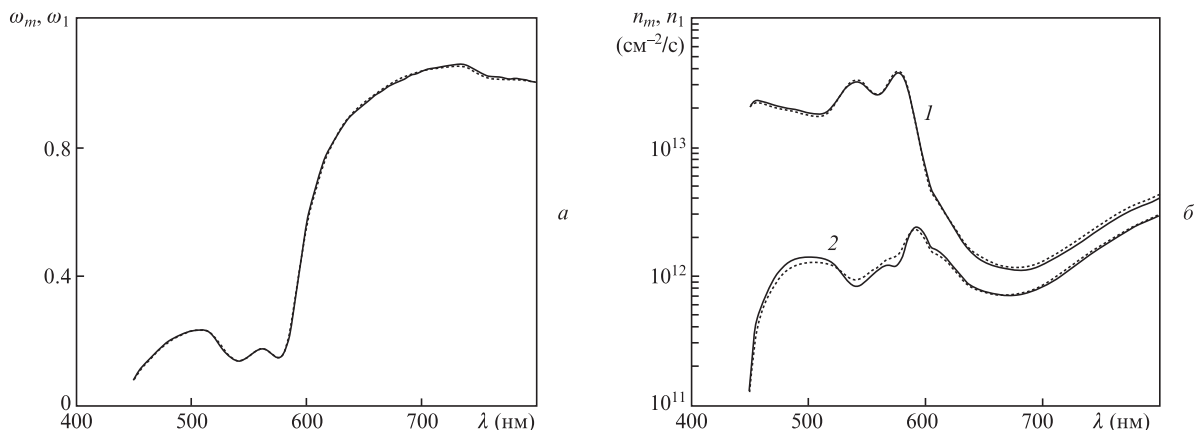


Рис.4. Результаты численного эксперимента по восстановлению спектральной эффективности фотодиссоциации HbO_2 из спектра ДО многослойной среды, моделирующей кожную ткань; *a* – нормированные спектры ДО кожи, рассчитанные в рамках моделей кожи с многослойной (сплошная кривая) и однородной (пунктир) дермой (практически совпадают); *б* – спектры эффективности фотодиссоциации HbO_2 при $z = 0.1\text{--}1.0$ мм (1) и $1.0\text{--}2.0$ мм (2), рассчитанные при истинных параметрах пятислойной среды (сплошные кривые) и при восстановленных параметрах двухслойной среды (пунктир).

Спектр ДО кожи $\omega_1(\lambda)$, рассчитанный по формулам (5)–(11) при восстановленных модельных параметрах, практически не отличим от спектра $\omega_m(\lambda)$.

Рассмотрим результаты восстановления характеристик светового поля внутри многослойной ткани по ее ДО. Физической основой такого восстановления является зависимость глубины проникновения света в ткань от λ . Зондирующее излучение с различной λ проникает в разные слои ткани и поэтому содержит информацию о данных слоях. Спектры эффективности фотодиссоциации HbO_2 $n_m(\lambda)$ на различных глубинах в ткани, рассчитанные методом МК при параметрах ткани из табл.2, приведены на рис.4,б. Там же представлены аналогичные спектры $n_1(\lambda)$, рассчитанные в рамках двухслойной модели кожи методом [25]. Расчет $n_1(\lambda)$ выполнялся при модельных параметрах, восстановленных из $\omega_m(\lambda)$. Различие между спектрами $n_1(\lambda)$ и $n_m(\lambda)$ не превышает погрешности восстановления $n_1(\lambda)$, предсказанной на основе модели кожи с однородной дермой, и не является принципиальным для практики.

Таким образом, можно заключить, что для определения пространственной освещенности в многослойной дерме и спектров действия света на ее хромофоры можно с успехом использовать модель кожной ткани с однородной дермой. Причиной этого является оптическая эквивалентность данных сред, т.е. спектрально-пространственные характеристики светового поля внутри и вне многослойной среды можно достаточно точно воспроизвести в рамках модели двухслойной среды. Следует отметить, что на этом принципе основаны методы обработки данных, получаемых при помощи сканирующих солнечных фотометров в глобальной сети мониторинга атмосферного аэрозоля AERONET (AErosol RObotic NETwork) [34, 35]. Микрофизические параметры аэрозоля получают в приближении модели однородной атмосферы по угловым распределениям спектральной яркости неба в альмукантарате и вертикале Солнца.

5. Экспериментальные оценки эффективности фотодиссоциации оксигемоглобина в кровеносных сосудах кожи

Разработанный метод определения эффективности фотодиссоциации HbO_2 в тканях *in vivo* опробован на коже

30 добровольцев (25 мужчин и 5 женщин в возрасте от 20 до 65 лет). В экспериментах использовался оптоволоконный спектрофотометр Avantes [26] с диаметрами светоподводящего и светопринимающего волокон 0.4 мм (более подробное описание проводимых экспериментов см. в [24]). Структурно-морфологические параметры кожи, найденные по спектру ее ДО, использовались для расчета оптических параметров кожи и глубинного распределения в ней освещенности $\Phi(z, \lambda)$. Спектр эффективности фотодиссоциации HbO_2 рассчитывался по формуле (13) в соответствии с восстановленными значениями модельных параметров f_{bi} , S и пространственной освещенности $\Phi(z, \lambda)$.

В качестве примера на рис.5,а представлены экспериментальные ($\omega_{\text{exp}}(\lambda)$) и подобранные в рамках модели ($\omega(\lambda)$) спектры ДО безымянного пальца трех добровольцев (тыльная сторона). Спектры эффективности фотодиссоциации HbO_2 во всей толще дермы, восстановленные из $\omega_{\text{exp}}(\lambda)$, представлены на рис.5,б. Видно, что количество молекулярного кислорода, высвобождаемое из кровеносных сосудов дермы в окружающую ткань, зависит от оптических параметров ткани и при одной и той же дозе облучения может различаться в несколько раз. В целом эффективность генерации кислорода на длине волны максимального поглощения света HbO_2 ($\lambda_{\text{max}} = 577$ нм) для одного и того же анатомического участка кожи разных добровольцев различается в 2–3 раза. Для разных анатомических участков вариации $n(\lambda_{\text{max}})$ еще более существенны – значения $n(\lambda_{\text{max}})$ для кожи пальца, ладони и переносицы добровольцев могут различаться более чем в 10 раз. Очевидно, что это обстоятельство необходимо учитывать при проведении сеансов лазерной терапии с целью повышения эффективности генерации кислорода и во избежание нежелательных последствий лазерной терапии.

6. Заключение

Разработанные методы неинвазивного определения концентраций эндогенных и экзогенных хромофоров ткани (капилляров, оксигемоглобина, метгемоглобина, фотосенсибилизатора) и эффективности поглощения ими света в слоях ткани, находящихся на различной глубине, позволяют учитывать индивидуальные особенности ткани пациента при проведении ФДТ. Это, в свою очередь, позволит выбирать оптимальные для конкретного паци-

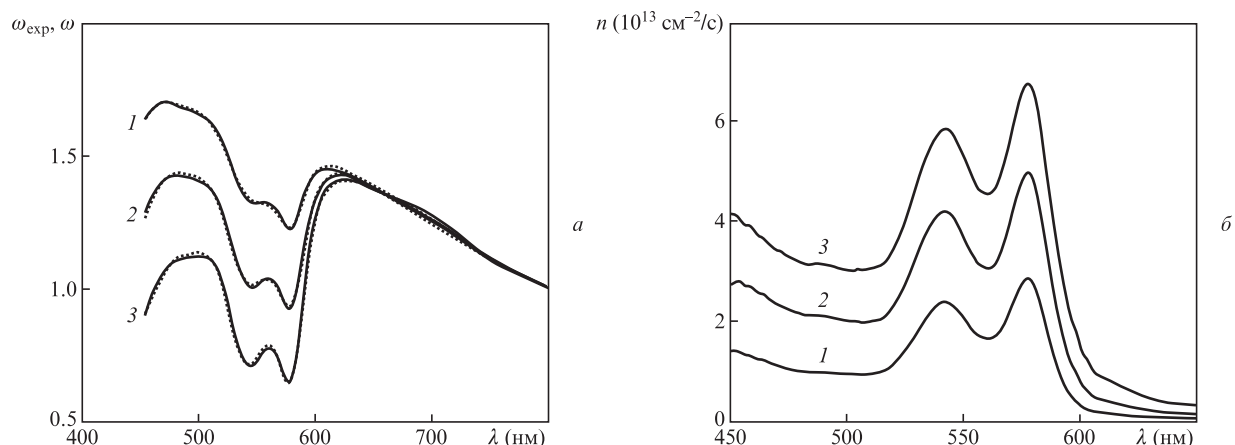


Рис.5. Результаты эксперимента по неинвазивному определению эффективности фотодиссоциации HbO_2 в коже безымянного пальца; a – экспериментальные (сплошные кривые) и модельные (пунктир) спектры диффузного отражения света от кожи; b – зависимости эффективности фотодиссоциации HbO_2 во всей толще дермы от длины волны возбуждающего излучения при $f_{bl} = 0.6\%$, $S = 54\%$ (1), $f_{bl} = 1.6\%$, $S = 64\%$ (2) и $f_{bl} = 3.2\%$, $S = 83\%$ (3).

ента источники лазерного излучения и терапевтическую дозу, обеспечивающие наибольшее поглощение света фотосенсибилизатором и наилучшую генерацию кислорода на глубине залегания участка ткани с патологией или во всей ее толще при минимальном лазерном воздействии на здоровую ткань. Таким образом, можно повысить эффективность и снизить продолжительность сеансов лазерной терапии, избежать побочных неблагоприятных эффектов и стандартизировать методы лечения больных с одинаковой патологией.

- Li B., Qiu Z., Huang Z. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **8553**, 85530F-1 (2012).
- Асимов Р.М., Асимов М.М., Рубинов А.Н. *Лазерная медицина*, **12**, 9 (2008).
- Джагаров Б.М., Жаврид Э.А., Истомин Ю.П., Чалов В.Н. *ЖПС*, **68**, 151 (2001).
- Асимов Р.М., Асимов М.М., Рубинов А.Н. *ЖПС*, **65**, 877 (1998).
- Асимов М.М., Королевич А.Н., Константинова Е.Э. *ЖПС*, **74**, 120 (2007).
- Барун В.В., Иванов А.П. *ЖПС*, **77**, 82 (2010).
- Valentine R.M., Wood K., Brown C.T.A., Ibbotson S.H., Moseley H. *Phys. Med. Biol.*, **57**, 6327 (2012).
- Wang Y., Zuo Z., Gu Y., Huang N., Chen R., Li B., Qiu H., Zeng J., Zhu J., Liang J. *J. Biomed. Opt.*, **17**, 068003-1 (2012).
- Mustafa F.H., Jaafar M.S. *Indian J. Phys.*, **87**, 203 (2013).
- Randeberg L.L., Bonesrønning J.H., Dalaker M., Nelson J.S., Svaasand L.O. *Lasers Surg. Med.*, **34**, 414 (2004).
- Самцов М.П., Воропай Е.С., Ляшенко Л.С., Мельников Д.Г., Каплевский К.Н., Луговский А.П. *ЖПС*, **78**, 121 (2011).
- Fiskerstrand E.J., Svaasand L.O., Kopstad G., Dalaker M., Norvang L.T., Volden G. *British J. Dermatol.*, **134**, 1039 (1996).
- Strattonnikov A.A., Ermishova N.V., Meerovich G.A., Kudashev B.V., Vakoulovskaya E.G., Loschenov V.B. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4613**, 162 (2002).
- Стратонников А.А., Меерович Г.А., Рябова А.В., Савельева Т.А., Лощенко В.В. *Квантовая электроника*, **36**, 1103 (2006).
- Jones L.R., Towles N.J., Moore F.B., Wolfen H.C., Wallace M.B. US Patent 2011/0270056 A1, 03.11.2011.

- Барун В.В., Иванов А.П., Чан Х.Н., Нгуен К.Т. Патент RU 2 438 733 C1, A61N 5/06, 10.01.2012.
- Austwick M.R., Woodhams J.H., Chalau V., Mosse C.A., Eliot C., Lovat L., MacRobert A.J., Bigio I.J., Bown S.G. *J. Innovat. Opt. Health. Sci.*, **4**, 97 (2011).
- Strattonnikov A.A., Edinac N.E., Klimov D.V., Linkov K.G., Loschenov V.B., Lukyanets E.A., Meerovich G.A., Vakoulovskaya E.G. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **2924**, 49 (1996).
- Loschenov V.B., Konov V.I., Prokhorov A.M. *Laser Phys.*, **10**, 1188 (2000).
- Wang H.W., Zhu T.C., Putt M.E., Solonenko M., Metz J., Dimofte A., Miles J., Fraker D.L., Glatstein E., Hahn S.M., Yodh A.G. *J. Biomed. Opt.*, **10**, 014004-1 (2005).
- Weersink R., Patterson M.S., Diamond K., Silver S., Padgett N. *Appl. Opt.*, **34**, 6389 (2001).
- Король М.М., Слесарь А.С., Пархоц М.В., Хайруллина А.Я., Ольшанская Т.В. *ЖПС*, **76**, 277 (2009).
- Лысенко С.А., Кугейко М.М., Фираго В.А., Собчук А.Н. *ЖПС*, **81**, 128 (2014).
- Лысенко С.А., Кугейко М.М., Фираго В.А., Собчук А.Н. *Квантовая электроника*, **44**, 69 (2014).
- Лысенко С.А., Кугейко М.М. *ЖПС*, **80**, 273 (2013).
- <http://www.avantes.ru/spectroavaspes256.php>.
- Лысенко С.А., Кугейко М.М. *Оптика и спектроскопия*, **115**, 148 (2013).
- Verkruysse W., Lucassen G.W., de Boer J.F., Smithies D.J., Nelson J.S., van Gemert M.J.C. *Phys. Med. Biol.*, **42**, 51 (1997).
- Model S.S., Savelieva T.A., Linkov K.G. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **8699**, 86990E-1 (2013).
- Барун В.В., Иванов А.П., Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. *Оптика и спектроскопия*, **115**, 235 (2013).
- Лепешкевич С. В., Коновалова Н. В., Джагаров Б. М. *Биохимия*, **68**, 676 (2003).
- Тучин В.В. *УФН*, **167**, 517 (1997).
- Jacques S.L. *Adv. Opt. Imag. Phot. Migrat.*, **2**, 364 (1996).
- Holben B.N., Eck T.F., Slutsker I., Tanre D., Buis J.P., Setzer A., Vermote E., Reagan J.A., Kaufman Y.J., Nakajima T., Lavenu F., Jankowiak I., Smirnov A. *Remote Sens. Environ.*, **66**, 1 (1998).
- Dubovik O., King M.D. *J. Geophys. Res.*, **105**, 20673 (2000).