

УДК 535.33/.34.535.3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОПТИЧЕСКОГО ПОГЛОЩЕНИЯ И СВЕТОРАССЕЯНИЯ БИОТКАНЕЙ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

¹ К.М. Гираев, ^{1,2} М.А. Магомедов, ¹ Н.А. Ашурбеков, ¹ А.А. Муртазаева

¹ Дагестанский государственный университет

² Институт физики ДНЦ РАН

В статье с использованием инверсного метода моделирования Монте-Карло определены спектры оптических показателей поглощения, рассеяния и фактора анизотропии для нормальных и опухолевых биотканей в диапазоне длин волн 300–800 нм. Дан анализ полученным результатам и обсуждаются факторы, оказывающие влияние на оптические спектры биотканей при развитии процессов малигнизации.

Using the inverse Monte Carlo method defined were the spectra of optical parameters of absorption, scattering, and anisotropy factor for normal and tumor biotissues in the wavelength range of 300–800 nm. The analysis of the results is given and the factors that influence the optical spectra of biotissues during the malignancy process development are being discussed.

Ключевые слова: оптические спектры; показатели поглощения, рассеяния и фактор анизотропии рассеяния; метод Монте-Карло; биоткань; патология.

Keywords: optical spectra; absorption coefficient, scattering coefficient; anisotropy factor; the Monte Carlo method; biotissue; pathology.

1. Введение

В последнее время уделяется большое внимание исследованию распространения оптического излучения в биологических средах. Интерес к этой проблеме в значительной мере вызван современным развитием лазерных методов лучевой медицины, в которых наряду с хирургией существенные перспективы клинического применения приобретают методы лазерной терапии и диагностики, например, лазерная термотерапия или фотодинамическая терапия (см., например, [1–4]). Для корректного определения дозиметрии лазерного излучения при проведении терапевтических процедур, восстановления изображения при диффузной томографии или же во флуоресцентной спектроскопии биообъектов необходимы точные сведения об оптических характеристиках исследуемых биотканей – показателе поглощения – μ_a , рассеяния – μ_s и факторе анизотропии рассеяния – g .

Определение оптических показателей биологических тканей является весьма трудоемкой задачей из-за сложной структуры самой ткани и многообразия процессов взаимодействия фотонов с ней. Известно (см., например, [1–7]), что большинство объектов, включая ткани растительного и животного происхождения, относятся к оптически мутным случайно-неоднородным средам, для которых показатель рассеяния может превышать показатель поглощения до сотни раз. Вследствие этого задача по разделению вкладов поглощения и рассеяния в ослабление интенсивности прошедшего или отраженного света сопряжена со значительными трудностями.

Современные методы определения оптических параметров биотканей основываются на решении обратной задачи для уравнения переноса излучения. Известны различные теоретические методы описания процесса распространения света в биосредах – аналитические, такие как методы диффузионного приближения и методы Кубелки – Мунка (частным случаем которого являются различные вариации многопоточковых моделей) [1, 2, 11–14], а также численные методы – методы добавления-удвоения (ДУ) и методы Монте-Карло (МК) [1, 8–10].

Среди всех методов высокой точностью и эффективностью отличается метод Монте-Карло, базирующийся на стохастическом моделировании транспорта фотонов в рассеивающей среде. Однако, несмотря на существующие достоинства, к настоящему времени метод МК не нашел широкого практического применения, поскольку требует сложных и достаточно объемных вычислений и, как правило, используется для верификации результатов аналитических моделей. В связи с этим представляется актуальным совершенствование метода МК для опреде-

ления оптических свойств различных биологических тканей, обладающих быстроедействием и надежной практической пригодностью.

Данная статья посвящена исследованиям стационарных оптических свойств биологических тканей в зависимости от формы патологического состояния. С этой целью были измерены спектры коэффициентов пропускания и отражения для нормальных и опухолевых тканей желудка. На основе полученных экспериментальных данных инверсным методом Монте-Карло были рассчитаны спектральные зависимости оптических показателей биотканей, таких как коэффициент поглощения – μ_a , коэффициент рассеяния – μ_s , фактор анизотропии рассеяния – g . По результатам исследований выявлены особенности спектральной зависимости показателей поглощения, рассеяния и фактора анизотропии биотканей и обсуждаются факторы, оказывающие влияние на их оптические свойства при развитии процессов малигнизации.

2. Методика приготовления материалов и техника эксперимента.

Для проведения спектральных исследований оптических свойств образцы биотканей отбирались во время плановых гастроскопических операций по поводу раковой опухоли слизистой оболочки антрального отдела желудка. При этом исследуемые образцы биотканей брались как из опухолевого поражения, так и из области, удаленной на расстояние 9–10 см от видимого края патологического очага. Гистохимический анализ образцов биотканей с этих участков показал, что в среднем в 30–40% случаев злокачественных поражений для участков биоткани, максимально отстоящих от видимой границы патологического очага, наблюдались незначительные *поверхностные дефекты и функциональные расстройства (норма)*. Таким образом, из общего числа проведенных исследований посредством гистохимических исследований было установлено 49 случаев низкодифференцированной формы рака желудка, тогда как контрольную группу составили 16 образцов с наименьшими морфологическими изменениями.

Сразу же после хирургической резекции фрагменты биотканей в течение нескольких часов ополаскивали в 0.9% физиологическом растворе для удаления остатков крови и затем при помощи криостатного микротомы CM-1910S («Leica Microsystem», Германия) получали обескровленные гистологические срезы размером 1–1.5 см² и толщиной до 1.0 ± 0.1 мм. Образцы биотканей помещались между двумя кварцевыми пластинами с добавлением капли физиологического раствора. Промежуток между краями стекол герметично заливался клеем для предотвращения высыхания ткани.

Спектрофотометрические измерения коэффициентов пропускания и отражения биотканей проводились по стандартной методике (см., например, [1, 15]) с использованием одной интегрирующей сферы Avasphere-100 («Avantes», Нидерланды) при возбуждении светом ксеноновой лампы. Анализ фотосигналов осуществлялся при помощи автоматизированного спектрометра MS3504i («СП СОЛАР ТИИ», Беларусь) на базе спектрографа (дифракционная решетка 200 штр./мм, линейная дисперсия 14.5 нм/мм) и ПЗС-матричной камеры HS-103H (16-бит, 2048×64 пикс., спектральная чувствительность 200–1100 нм; «Hamamatsu», Япония), сигнал с которой подавался на персональный компьютер через USB-порт.

Для каждого образца измерения проводились по несколько раз. Конечный результат определялся путем усреднения серийных измерений по среднеквадратичному отклонению

$$\delta = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\bar{\xi} - \xi_i)^2 / n(n-1)}$$
, где n – число серий измерений, ξ_i – данные для спектрофотометрических

коэффициентов для i -го образца биоткани, $\bar{\xi}$ – среднее значение спектрофотометрических ко-

эффициентов в каждой спектральной точке, найденное как $\sum_{i=1}^n \xi_i / n$.

3. Методика определения оптических показателей

Для определения оптических показателей поглощения – μ_a , рассеяния – μ_s и фактора анизотропии рассеяния – g по измеренным значениям спектральных коэффициентов полного пропускания – T_i^{exp} , диффузного отражения – R_d^{exp} и коллимированного пропускания – T_c^{exp} применялся широко используемый в оптике биотканей инверсный метод Монте-Карло, поскольку он позволяет учесть структуру биоткани, параметры экспериментальной установки, геометрию измерений и др. [1, 9, 10]. Метод МК основан на расчете большого числа случайных траекторий фотонов в рассеивающей среде, от оптических свойств которой зависят длина и форма индивидуальных траекторий и на последующей статистической обработке результатов. При этом расчет траекторий распространения света в биосреде строился на основе фазовой функции Хеньи – Гринштейна [16]:

$$f_{HG} = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g \cos \theta)^{3/2}}, \quad (1)$$

где θ – полярный угол рассеяния. Распределение по азимутальному углу рассеяния считалось равномерным.

В настоящей работе для вычисления оптических показателей биотканей был предложен порядок действий, который вкратце может быть изложен так:

1. По известным экспериментальным данным T_t^{exp} , T_d^{exp} и R_d^{exp} вычислялись начальные приближенные значения μ_a , μ_s и g посредством следующих соотношений [10, 15]:

$$\frac{\mu'_s}{\mu_a + \mu'_s} = \begin{cases} 1 - \left(\frac{1 - 4R_d^{\text{exp}} - T_t^{\text{exp}}}{1 - T_t^{\text{exp}}} \right)^2, & \text{при } \frac{R_d^{\text{exp}}}{1 - T_t^{\text{exp}}} < 0.1 \\ 1 - \frac{4}{9} \left(\frac{1 - R_d^{\text{exp}} - T_t^{\text{exp}}}{1 - T_t^{\text{exp}}} \right)^2, & \text{при } \frac{R_d^{\text{exp}}}{1 - T_t^{\text{exp}}} \geq 0.1 \end{cases}, \quad (2)$$

$$(\mu_a + \mu'_s)d = \begin{cases} -\frac{\ln T_t^{\text{exp}} \ln 0.05}{\ln R_d^{\text{exp}}}, & \text{при } R_d^{\text{exp}} \leq 0.1 \\ 2^{1+5(R_d^{\text{exp}} - T_t^{\text{exp}})}, & \text{при } R_d^{\text{exp}} > 0.1 \end{cases}, \quad (3)$$

$$(\mu_a + \mu_s)d = -\ln T_c^{\text{exp}}, \quad (4)$$

где $\mu'_s = (1-g)\mu_s$ – показатель транспортного рассеяния, d – толщина образца биоткани, а T_c^{exp} – коллимированное пропускание $T_c^{\text{exp}} = T_t^{\text{exp}} - T_d^{\text{exp}}$.

2. По рассчитанным с помощью выражений (2–4) приближенным значениям μ_a , μ_s и g методом Монте-Карло вычислялись расчетные значения T_t^{calc} , T_d^{calc} и R_d^{calc} .

3. Далее строилась целевая функция и проводилась процедура ее минимизации:

$$F = (T_t^{\text{exp}} - T_t^{\text{calc}})^2 + (T_d^{\text{exp}} - T_d^{\text{calc}})^2 + (R_d^{\text{exp}} - R_d^{\text{calc}})^2. \quad (5)$$

4. В качестве критерия завершения процедуры минимизации было использовано следующее выражение:

$$\frac{|T_t^{\text{exp}} - T_t^{\text{calc}}|}{T_t^{\text{exp}}} + \frac{|T_d^{\text{exp}} - T_d^{\text{calc}}|}{T_d^{\text{exp}}} + \frac{|R_d^{\text{exp}} - R_d^{\text{calc}}|}{R_d^{\text{exp}}} \leq \varepsilon, \quad (6)$$

где величина погрешности лежала в пределах $\varepsilon = 0.01$.

Поскольку на каждом шаге минимизации при вычислении целевой функции требовалось проведения расчетов T_t^{calc} , T_d^{calc} и R_d^{calc} , что требует значительных вычислений и больших вычислительных ресурсов, то в работе был использован метод минимизации целевой функции на основе симплексного метода Нелдера – Мида [17, 18], позволяющий найти минимум целевой функции за достаточно малое обращение к целевой функции. Проведенные расчеты показали, что для нахождения минимума с точностью $\varepsilon = 0.01$ во всем спектральном диапазоне требуется в среднем 10–30 обращений к целевой функции.

4. Результаты и обсуждение

На рис. 1 и 2 приведены экспериментально полученные спектральные зависимости коэффициентов диффузного пропускания T_d^{exp} , диффузного отражения R_d^{exp} и коллимированного пропускания T_c^{exp} для тканей слизистой оболочки антрального отдела желудка в норме и при начальных стадиях раковых поражений.

Спектры оптических показателей поглощения μ_a , рассеяния μ_s и фактора анизотропии рассеяния g , рассчитанные инверсным методом Монте-Карло на основе экспериментальных данных, для нормальных и опухолевых образцов биотканей показаны, соответственно, на рис. 3, 4 и 5. Как видно из рисунков, характер спектральной зависимости оптических свойств исследуемых биотканей имеет ряд общих закономерностей.

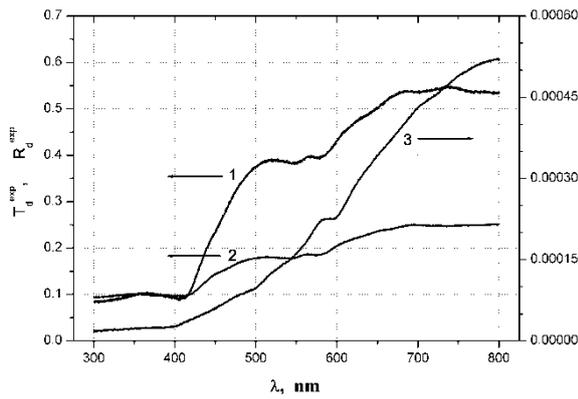


Рис. 1. Спектральные зависимости коэффициентов диффузного пропускания T_d^{exp} , диффузного отражения R_d^{exp} и коллимированного пропускания T_c^{exp} для тканей слизистой оболочки антрального отдела желудка в норме

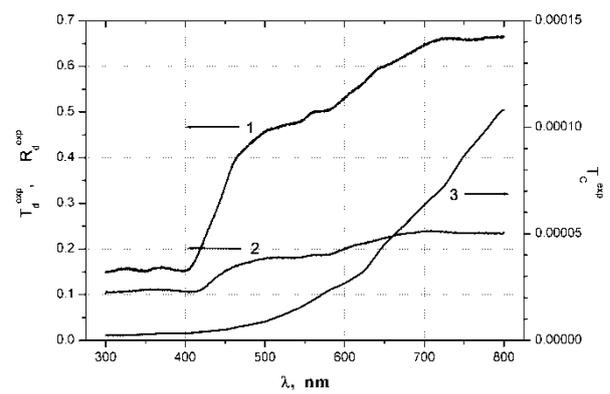


Рис. 2. Спектральные зависимости коэффициентов диффузного пропускания T_d^{exp} , диффузного отражения R_d^{exp} и коллимированного пропускания T_c^{exp} для тканей слизистой оболочки антрального отдела желудка при начальных стадиях раковых поражений

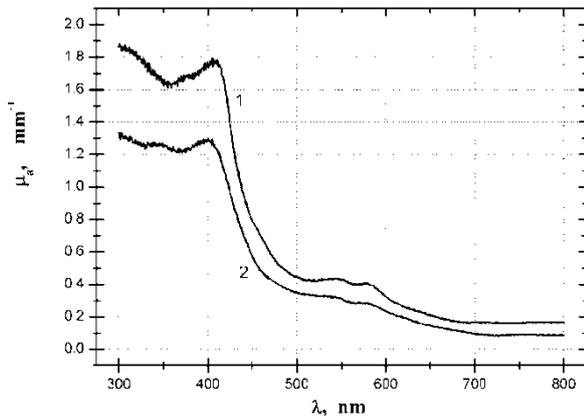


Рис. 3. Спектральные зависимости оптического коэффициента поглощения μ_a для тканей слизистой оболочки антрального отдела желудка в норме (1) и при начальных стадиях раковых поражений (2)

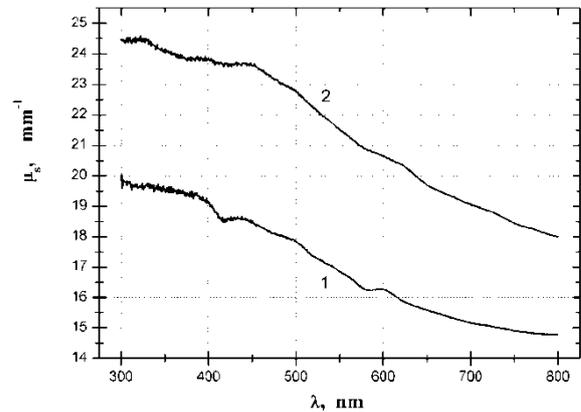


Рис. 4. Спектральные зависимости оптического коэффициента рассеяния μ_s для тканей слизистой оболочки антрального отдела желудка в норме (1) и при начальных стадиях раковых поражений (2)

Спектры показателя μ_a обнаруживают четко выраженные экстремумы вблизи длин волн 350, 405, 545 и 578 нм и монотонное снижение в сторону длинноволновой области спектра с минимумом на спектральном участке 720–780 нм.

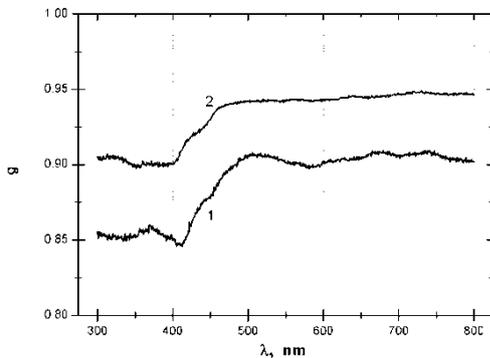


Рис. 5. Спектральные зависимости фактора анизотропии g для тканей слизистой оболочки антрального отдела желудка в норме (1) и при начальных стадиях раковых поражений (2)

Подобная зависимость μ_a , скорее всего, связана с оптическими свойствами эндогенных хромофоров (аминокислоты, белки, коферменты, пигменты, витамины и т.п.), полосы поглощения которых локализованы преимущественно в коротковолновой области спектра [1–7, 19].

Максимальное значение μ_s приходится на УФ область спектра и с ростом длины волны монотонно снижается в красноволновую область с образованием локального минимума вблизи длин волн 415 ± 10 нм, тогда как фактор анизотропии рассеяния g достигает минимума в коротковолновой области спектра и растет в сторону больших длин волн. Данный факт свидетельствует о снижении вклада рэлеевского рассеяния от фракций частиц малого размера (надмолекулярные комплексы и

стромальные элементы) и возрастание роли рассеяния Ми в результирующем спектре μ_s от клеточных ядер и фиброзных элементов соединительной ткани.

Статистический разброс значений μ_a и μ_s , рассчитанный по средне-квадратичному отклонению, как для нормальной, так и раковой ткани желудка составил в среднем 5%, а для g – не превышал 3%.

В то же время, наряду с общими характеристиками, оптическим спектрам исследуемых биотканей присущи ярко выраженные индивидуальные особенности. Более наглядно эти различия заметны из таблицы. Сравнительный анализ оптических кривых показывает, что относительно нормы развитие раковой опухоли в тканях слизистой оболочки желудка (рис. 2) приводит к незначительному снижению показателя поглощения μ_a , в то время как показатель рассеяния μ_s и фактор анизотропии g показывают значительный рост по сравнению с нормой.

Характер зависимости оптических свойств биотканей при исследуемых формах патологии можно объяснить следующим образом. Известно, что в отличие от нормальной клетки опухолевые ткани характеризуются большим содержанием специфичных хромофоров – структурных белков (миозина, коллагена), холестерина, секретов (слизи) и недоокисленных продуктов обмена (см., например, [1, 20, 21]). В дополнение к этому рост злокачественной опухоли, как правило, сопровождается более активным и беспорядочным, чем для нормы, разрастанием микрокапилляров с неравномерной и некорректируемой взаимосвязью между приводящими и отводящими сосудистыми ветвями, что со временем приводит к нарушению циркуляции, застою крови и, как следствие, к незначительному уменьшению показателя поглощения. В то же время рост параметров μ_s и g , по-видимому, объясняется увеличением хаотизации клеточных структур и разбросом размеров клеточных ядер (от 10–12 мкм для нормы до 20–50 мкм для злокачественных новообразований) или образованием многоядерных клеточных структур [21–23]. В совокупности с большей, чем для нормы, водянистостью цитоплазмы (см., например, [1, 21–23]), это приводит к изменениям в соотношениях показателей преломления ядро/цитоплазма, вследствие чего возрастает роль рассеяния Ми и оптическое излучение претерпевает значительное рассеяние в направлении своего первоначального распространения.

Данные оптических показателей поглощения (μ_a), рассеяния (μ_s), фактора анизотропии (g) и эффективного ослабления (μ_{eff}) для тканей слизистой оболочки желудка в норме и при низкодифференцированной форме рака

λ , нм	μ_a , мм ⁻¹	μ_s , мм ⁻¹	g	μ_{eff}
Нормальная биоткань				
300	1.86364	20.03182	0.85531	21.89546
400	1.73435	19.13492	0.84953	20.86927
500	0.44683	17.83886	0.90639	18.28569
600	0.32430	16.26766	0.90237	16.59196
700	0.16899	15.15527	0.90630	15.32426
800	0.16423	14.79094	0.90189	14.95517
Низкодифференцированная форма рака				
300	1.33513	24.48066	0.90550	25.81579
400	1.28668	23.84982	0.90105	25.13650
500	0.34908	22.74312	0.94145	23.09220
600	0.23539	20.64506	0.94316	20.88045
700	0.09369	19.06013	0.94743	19.15382
800	0.08459	18.00755	0.94628	18.09214

участке 700–750 нм, где интенсивность поглощения может быть до 20 раз меньше своего максимального значения;

– зависимость оптических свойств биотканей от степени их патологического поражения имеет сложный и многообразный характер. В частности, относительно нормы развития злокачественных новообразований приводит к незначительному уменьшению μ_a , тогда как μ_s и g показывают рост по сравнению с нормой;

– форма спектральной зависимости оптических показателей поглощения, рассеяния и фактора анизотропии рассеяния во многом определяется структурно-морфологическими ха-

5. Заключение

Таким образом, приведенные в статье результаты определения оптических показателей поглощения, рассеяния и фактора анизотропии для слизистой оболочки антрального отдела желудка в норме и при низкодифференцированной форме рака, рассчитанные методом Монте-Карло, позволяют сделать следующие выводы:

– для исследуемых биотканей с ростом длины волны наблюдается уменьшение показателя рассеяния до 2 раз и рост фактора анизотропии. В то же время спектр показателя поглощения достигает максимума в области длин волн 300–400 нм и монотонно снижается в сторону длинноволновой области спектра с минимумом на

рактическими характеристиками среды, что позволяет использовать методы диффузно-оптической спектроскопии в качестве инструмента дифференциации патологических состояний биологических тканей;

– используемый в работе алгоритм инверсного моделирования методом Монте-Карло для определения оптических показателей биотканей позволил по сравнению с известными моделями МК сократить до 100 раз затраты машинного времени на проведение численных расчетов и значительно увеличить их точность.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» (Мероприятие 5.2 – II очередь), ГК № 16.552.11.7051 и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», Госконтракт № П554.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оптическая биомедицинская диагностика / пер. с англ.; под ред. В.В. Тучина. М.: Физматлит, 2007. Т. 1. 560 с.; Т. 2. 368 с.
2. Richards-Kortum R., Sevick-Muraca E. Quantitative Optical Spectroscopy for Tissue Diagnosis // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1996. Vol. 47. P. 555–606.
3. Ramanujam N. Fluorescence Spectroscopy In Vivo. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. R.A. Meyers (Ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000. P. 20–56.
4. Камалов В.Ф., Степанов Н.В., Черняева Е.Б. и др. Избирательное воздействие лазерного излучения на раковые клетки лазерная спектроскопия клетки (обзор) // *Квант. электрон.* 1985. Т. 12. С. 1997–2023.
5. Лопатин В.И., Приезжев А.В., Анонасенко А.Д. и др. Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред. М.: Физматлит, 2004. 384 с.
6. Bashkatov A.N., Genina E.A. and Tuchin V.V. Optical properties of skin, subcutaneous and muscle tissues: a review // *Journal of innovative optical health sciences*. 2011. Vol. 4. P. 9–38.
7. Cheong W.-F., Prahl S.A., Welch A.J. Review of the Optical Properties of Biological Tissues // *IEEE J. Quantum Electron.* 1990. Vol. 26. P. 2166–2185.
8. Wang L.-H., Jacques S.L., Zheng L.-Q. MCML – Monte Carlo modeling of photon transport in multi-layered tissues // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 1995. Vol. 47. P. 131–146.
9. Wang L.-H., Jacques S.L., Zheng L.-Q. CONV – Convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 1997. Vol. 54. P. 141–150.
10. Prahl S.A. Inverse adding-doubling program. Официальный сайт Орегонского Центра Лазерной Медицины, 2007. URL: <http://omlc.ogi.edu/software/iad/index/html> (дата обращения 23.01.2011).
11. Karagiannes J.L., Zhang Z., Grossweiner B. et al. Applications of the 1-D diffusion approximation to the optics of tissues and tissues phantoms // *Appl. Optics*. 1989. Vol. 28. P. 2311–2317.
12. Van Gemert M.J.C., Jacques S.L., Sterenborg H.J.C.M. et al. Skin Optics // *IEEE J. Biomed. Eng.* 1989. Vol. 36. P. 1146–1154.
13. Van Gemert M.J.C., Schets G.A.C., Bishop M.S. et al. Optics of tissue in a multi-layer slab geometry // *Laser Life Sci.* 1988. Vol. 1. P. 1–18.
14. Yoon G., Welch A.J., Motamedi M. et al. Development and application of three-dimensional light distribution // *IEEE J. Quantum Electron.* 1987. Vol. QE-23. P. 1721–1733.
15. Prahl S.A., Van Gemert M.J.C., Welch A.J. Determining of the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method // *Appl. Optics*. 1993. Vol. 32. P. 359–568.
16. Henyey L.G., Greenstein J.L. Diffuse radiation in the galaxy // *Astrophys. J.* 1941. Vol. 93. P. 70–81.
17. Банди Б. Методы оптимизации. М.: Радио и связь, 1988. 372 с.
18. Магомедов М.А., Муртазаев М.А., Хизриев К.Ш. Численные методы в физике. Махачкала, 2007. 54 с.
19. Официальный сайт орегонского Центра Лазерной Медицины, 2007. URL: <http://omlc.ogi.edu/spectra/PhotochemCAD/html/index.html> (дата обращения 23.01.2011).
20. Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1976. 958 с.
21. Общая патология человека / под ред. А.И. Струкова, В.В. Серова, Д.С. Саркисова. М.: Медицина, 1982. 656 с.
22. Гираев К.М., Ашурбеков Н.А., Расулов М.Т., Шахназаров М.А. Влияние патологических процессов на излучательные и морфологические свойства биообъектов // *Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естественные науки*. 2011. № 2. С. 97–103.
23. Гираев К.М., Ашурбеков Н.А., Лахина М.А. Спектры поглощения и рассеяния света тканями желудка при патологии // *Журнал прикладной спектроскопии*. 2011. Т. 78. С. 109–118.

Поступила в редакцию 07.02.2012 г.

Принята к печати 26.06.2012 г.