

## РОЗДІЛ 6

### ДОСЛІДЖЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ФОТОМЕТРИЧНОЇ СИСТЕМИ З ЕЛІПСОЇДАЛЬНИМИ РЕФЛЕКТОРАМИ

У даному розділі розглядаються особливості світлорозсіяння в системі «ДВ + БС + ВЗ» для різних профілів розподілу енергії в лазерному пучку та їх вплив на відносний розподіл освітленості фотометричних зображень при їх зонному аналізі для різних шарів шкіри людини. Розглядають засади впливу параметрів еліпсоїдальних рефlectorів на граничні геометричні властивості розсіяного оптичного випромінювання в прямому та зворотному напрямку, а також обґрунтовано вплив діаметру та потужності падаючого променя в задачах раманівської спектроскопії еліпсоїдальними рефlectorами.

#### **6.1 Вплив профілю розподілу енергії в центральній поперечній моді лазерного пучка на формування фотометричних зображень**

Як було зазначено в попередніх розділах, клас сучасних оптичних інформаційно-вимірювальних засобів, що використовуються для неінвазивної та малоінвазивної діагностики різноманітних показників, станів та захворювань, використовує світлодіодне або лазерне зондуюче випромінювання відповідних енергетичних характеристик та довжини хвилі. Пульсоксиметрія, глюкометрія, хроаметрія, мексаметрія, лазерна доплерівська флуометрія, оптична профілометрія [1] – невелика за номенклатурою, проте найчисленніша за виготовленими виробами група оптичних методів, що широко використовується в клінічній та лабораторній практиці. Враховуючи, що зазначені методи реалізовані у відбитому та/або у пропущеному світлі, а основним світлорозсіювальним органом при цьому є шкіра людини, то оцінити вплив її оптичних властивостей на показники зареєстрованого світла є важливою та актуальною задачею.

Навіть більш складні системи оптичної неінвазивної діагностики, як то оптична дифузна або когерентна томографія, конфокальна мікроскопія, дерматоскопія, в процедурі медичної візуалізації [2] враховують світлорозсіювальні та світло-поглинальні властивості шкіри. Кожен з перерахованих методів дозволяє проводити оцінку структури шкірних покривів в нормі і при патологічних станах на різній глибині та з різною

роздільною здатністю. Переваги неінвазивних методів дослідження перед традиційною біопсією полягають не тільки в можливості швидкого отримання зображення клітин, тканин і рельєфу шкіри в режимі реального часу, але і в об'єктивізації спостереження в динаміці й оцінки ефективності світлової терапії. Як відмічають автори [1, 3] через багат шарові і багатокомпонентні структури шкіри взаємодія світла з нею виявляється доволі складною. Роговий шар відбиває близько 5 – 7 % падаючого випромінювання. Колімований пучок світла перетворюється в дифузний за рахунок мікроскопічних неоднорідностей на межі «повітря – роговий шар». Значна частина відбитого шкірою світла утворюється за рахунок розсіювання назад різними шарами тканини (роговий шар, епідерміс, дерма і мікросудинна система). Поглинання розсіяного світла пігментами шкіри дає кількісну інформацію про концентрацію білірубіну, меланіну, води, про насичення гемоглобіну киснем, реальний зміст різних поглиначів в тканини і крові, що є основою ряду зазначених вище діагностичних методів [1, 4]. Значне проникнення видимого та ближнього інфрачервоного світла через шкіру всередину організму людини, в області довжин хвиль так званого «терапевтичного вікна» (650 – 900 нм), є основою ряду методів фототерапії [5].

За параметрами вимірювання та технічною сутністю прилади та системи, що реалізують ці методи, відносяться до класу фотометрів. Конструкції таких пристроїв з точки зору використаних оптичних систем є доволі типовими. Проте достовірність та точність вимірювальних величин досі залишається проблемною. По-перше це пояснюється втратами корисного оптичного сигналу внаслідок неможливості повної реєстрації розсіяного БТ випромінювання приймальною апертурою. А по-друге – математична модель поширення оптичного випромінювання, що забезпечує взаємозв'язок результатів вимірювання з фізіологічними показниками, не завжди враховує особливості вимірювальної системи фотометру. З огляду на загальні принципи функціонування зазначених біомедичних фотометрів, останні оснащуються вимірювальним ядром у вигляді (ЕР) для підвищення питомої ваги зареєстрованого оптичного сигналу [6]. Як показує практика реального і модельного експериментів, належний підбір параметрів рефлектора, а також джерела та приймача оптичного випромінювання [7] дозволяє обрати необхідну конфігурацію вимірювального засобу для різноманітних задач біомедичного експерименту. Як у багатьох методах

біофотоніки, так і в методі еліпсоїдальної фотометрії зокрема, однією з необхідних умов розгляду взаємодії оптичного випромінювання з біологічним середовищем є колімованість падаючого випромінювання. Тому профіль розподілу енергії джерела випромінювання в поперечному напрямку до поширення світла і його вплив на особливості рей-трейсингу [8] в системі «біологічне середовище + еліпсоїдальний рефlector» та на просторовий розподіл розсіяного світла представляє практичний інтерес. Оцінимо вплив профілю розподілу енергії в поперечному перетині лазерного пучка на світлорозсіання шкірою людини при фотометрії еліпсоїдальними рефlectорами.

### **6.1.1 Вихідні положення фотометрії**

Вихідні параметри лазерного джерела випромінювання, як то спектральні характеристики, діаграма спрямованості, середня або імпульсна потужність, ступінь когерентності та модовість [3] суттєво впливають на оптичні властивості, що описують взаємодію такого випромінювання з БС. Оскільки визначення оптичних параметрів БС та БТ вирішується в рамках інверсних методів біомедичного аналізу, то належне врахування параметрів джерела при вирішенні прямої задачі, дозволить суттєво підвищити її точність. З огляду на переваги, сформульовані в [9, 10] для фотометрів з еліпсоїдальними рефlectорами, серед прямих методів моделювання поширення світла в БС автори виділяють метод Монте-Карло. При його реалізації цілком можливо врахувати такі параметри джерела як потужність та розподіл енергії в поперечних модах. У свою чергу, спектральні характеристики лазерного випромінювання закладені в оптичних коефіцієнтах розсіання та поглинання, факторі анізотропії розсіання, а також у показнику заломлення, що характеризують БС. З огляду на конструкцію фотометрів з ЕР та їх призначення, повздовжній профіль лазерного пучка (діаграма спрямованості, розбіжність), що традиційно вважається Гаусовим, не несе діагностично значущої інформації і тому в даній роботі не розглядається.

Оскільки розподіл потужності в лазерному пучку визначається властивостями активного резонатора, у якому можуть існувати різноманітні стаціонарні конфігурації електромагнітного поля (моди або типи коливань), то зміна напрямків поля в ортогональній січній пучка по кожній із координат [11] може бути врахована для конкретного типу лазеру визначеної потужності. Для одномодового лазеру поперечна мода  $TEM_{00}$

нижчого порядку підпорядкована закону гаусового розподілу інтенсивності навколо центрального максимуму (6.1). Ця поперечна мода дозволяє сфокусувати лазерний промінь в мінімальну пляму з високою щільністю потужності.

$$\frac{I(r)}{I_0} = e^{\left(-2\frac{r^2}{r_0^2}\right)}. \quad (6.1)$$

де  $I_0$  - інтенсивність в центрі гаусового пучка, а  $r_0$  - радіус лазерного пучка.

Далі здійснено аналіз впливу профілю основної поперечної моди з гаусовим розподілом. Також розглянуті випадки нескінченно тонкого пучка та пучка кінцевого діаметру з рівномірним розподілом (рис. 6.1).

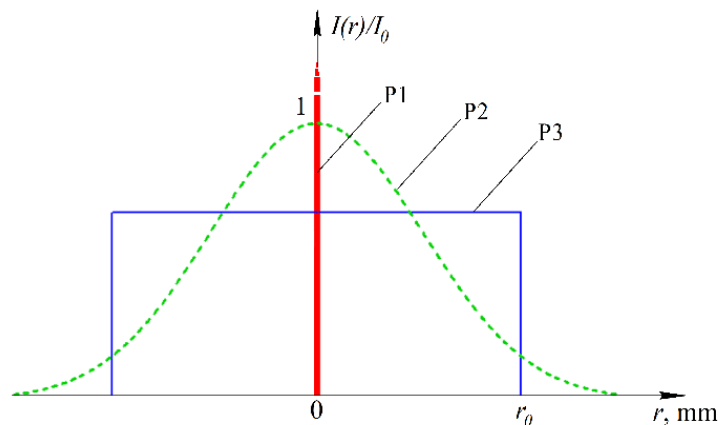


Рис. 6.1 Поперечний розподіл потужності лазеру:

P1 – нескінченно тонкий пучок; P2 – пучок гаусового перетину;

P3 – пучок з рівномірною інтенсивністю

На практиці до нескінченно тонкого пучка можна наблизитись шляхом використання однієї, а подекуди, двох послідовно встановлених діафрагм, з отвором малого діаметру. У цьому випадку діаметр лазерного пучка прямує до нуля. Гаусів профіль основної поперечної моди відповідає параметрам реальних лазерних джерел без використання передаточної оптики, причому радіус пучка визначається максимальним значенням інтенсивності в центрі пучка зменшеним в  $e^2$  разів. Практично рівномірний розподіл є результатом використання тонкої пластинки молочного скла з коліматорною оптичною системою, величина кутового збільшення якої відповідає за діаметр вихідного пучка, а також відповідної діафрагми, що виконує функцію просторового фільтра. При цьому як граничні випадки

розподілу інтенсивності, так і гаусів поперечний профіль вважаються вісесиметричними і центрованими по відношенню до приймальної площини фотодетектора.

Перехід до величин потужності лазерного джерела (у випадку безперервного випромінювання) та енергії (у випадку імпульсного випромінювання) можливий тільки в контексті конкретного типу лазера та методу вимірювання зазначених енергетичних параметрів. У рамках чисельного експерименту, представленого нижче вважатимемо номінальну потужність лазерного випромінювання підінтегральною функцією графіків, зображених на рис. 6.1. При цьому випромінювання, що падає на досліджуваний зразок, вважається однаковим для трьох розглянутих випадків поперечного профілю його розподілу.

Як і анатомічно, так і оптично, шкіру людини можна представити як одношаровим органом, так і багатошаровим з кількістю шарів, що може досягати 10 [12 – 14]. При цьому окремі з цих шарів є спорідненими з незначними відмінностями в оптичних коефіцієнтах розсіювання та поглинання і однаковим показником заломлення [15]. Тому для дослідження в даній роботі було обрано чотирьох-шарову структуру, оптичні властивості якої наведено в таблиці 6.1. При цьому діапазон товщин зазначених шарів відповідає [16]. Аналіз оптичних властивостей дозволяє віднести роговий шар та епідерміс у цій структурі до сильно розсіювальних шарів. Порівняно з якими дерма та жирова тканина вважатимуться слабо розсіювальними.

*Таблиця 6.1*

**Оптичні властивості шарів шкіри людини**

<b>Шари шкіри людини</b>	<b><math>n</math></b>	<b><math>\mu_a</math></b>	<b><math>\mu_s</math></b>	<b><math>g</math></b>	<b><math>d</math>, мм</b>
Роговий шар	1.5	0.1	100	0.8	0.02 ... 0.62
Епідерміс	1.34	0.15	45	0.8	0.035 ... 0.726
Дерма	1.39	0.073	20	0.76	0.66 ... 4,76
Жирова тканина	1.44	0.068	15	0.8	0.03 ... 8,38

Алгоритмізація поширення світла в багатошаровому БС методом Монте-Карло передбачає покроковий розгляд актів взаємодії падаючого фотона з початковою вагою з розсіювальним (поглинальним) центром в окремому шарі (розділ 4). Результатами моделювання є координати виходу

фотона зі зменшеною вагою та направляючі косинуси, що з урахуванням механізму рей-трейсингу в системі «БС + ЕР» формують просторовий розподіл розсіяного випромінювання у фотоприймальній площині вимірювальної системи. При цьому враховуються френелівські втрати на межах розподілу розглянутих шарів шкіри людини. Модельна багатошаровість шкіри передбачає сталість як оптичних властивостей, так і товщин рогового шару, епідермісу, дерми та жирової тканини. Тому реальна варіативність товщин шарів не може бути врахована і оцінити вплив профілю падаючого пучка променів на таку структуру є вкрай часовитратним процесом. Тому в даному дослідженні було розглянуто вплив поперечного перетину розподілу енергії в лазерному пучку для окремих шарів шкіри людини у вперед на назад розсіяному світлі з використанням методу дзеркальних еліпсоїдів обертання, що працюють одночасно у світлі, що відбилось і пройшло крізь зразок. У якості інформаційно-вимірювальної системи була використана модельна конфігурація фотометру (рис. 6.2), аналогічна експериментальному зразку, застосованому в [7, 8], а також алгоритм симуляції Монте-Карло в системі «БС + ЕР».

У випадку, коли координатний приймач мав би розміри, що відповідають діаметру робочого вікна рефлектора (подвоєному фокальному параметру) і розміщувався своєю чутливою площиною безпосередньо в його другій фокальній площині, то у формуванні фотометричного зображення брали б участь всі промені, що вийшли зі зразка БС. Оскільки розміри матриці ПЗЗ камери набагато менші робочого вікна, то у фотометрі використовується узгоджувальна оптична система, що проектує фотометричне зображення, сформоване в другій фокальній площині у фотоприймальну площину матриці. Тобто фактично у цьому випадку у формуванні фотометричного зображення беруть участь лише промені, що взаємодіяли з рефлектором.

Тому для порівняння зображень, отриманих реальним фотометром та побудованим у ході симуляції в модельному фотометрі необхідно застосувати відповідну фільтрацію і виокремити у фотометричних зображеннях лише частину випромінювання, що відбилась від внутрішньої дзеркальної поверхні рефлектору, адже інша частина випромінювання не потрапляє на ПЗЗ матрицю.

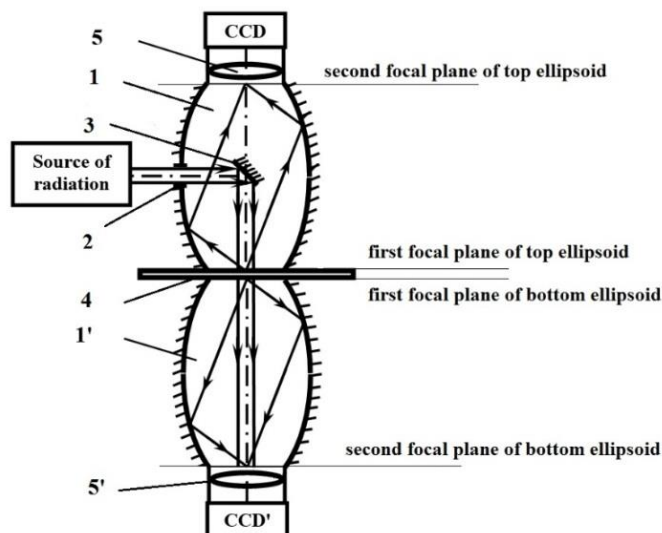


Рис. 6.2 Схема модельного фотометру:

1 – верхній ЕР; 1' – нижній ЕР; 2 – вхідне вікно; 3 – плоске дзеркало;  
5 та 5' – узгоджувальні оптичні системи

Таким чином можна врахувати дію об'єктивної оптичної системи реального фотометру в результатах чисельного моделювання. Плоске дзеркало 3, на яке світло від джерела випромінювання потрапляє через вхідне вікно 2, розташоване на малій осі еліпсоїда обертання. У модельному експерименті точкою запуску променів є центр плоского дзеркала, що співпадає з математичним центром еліпсоїда, а початкова вага фотонів зменшена на коефіцієнт відбиття дзеркала 3, що використане в реальному фотометрі.

### 6.1.2 Оцінка впливу профілю центральної поперечної моди на світлорозсіяння шарами шкіри людини

Моделювання здійснено з використанням спеціалізованого програмного забезпечення авторської розробки [17]. Воно показало свою адекватність як при чисельному порівнянні обчислених значень коефіцієнтів дифузного відбиття, поглинання та повного пропускання, так і при аналізі фотометричних зображень реального та модельного експериментів [18]. Кількість запущених фотонів була обраною 20 млн для наближення параметрів падаючого випромінювання до можливостей приймально-реєструючої системи, що використовує монохромну ПЗЗ камеру. Для всіх трьох розглянутих випадків розміри окремих фотонів були адаптовані до форми розмірів пікселя фотометричного зображення. Одинична вага фотонів моделювалась білим кольором, а менші значення –

відтінками сірого. У результаті моделювання була отримана серія фотометричних зображень другої фокальної площини верхнього та нижнього еліпсоїдів (рис. 6.2) для окремих шарів шкіри людини різних товщин (рис. 6.3) при розглянутих профілях падаючого лазерного пучка. Фотометричний просторовий розподіл у другій фокальній площині верхнього еліпсоїда відповідає за світло, розсіяне назад, а у другій фокальній площині нижнього еліпсоїда – за світло, розсіяне вперед.

На основі принципів зонного аналізу вісе-симетричних зображень при еліпсоїдальній фотометрії [18] отримані графіки залежності освітленості (інтенсивності в пікселях віднесеної до площі відповідних зон) для середнього та зовнішнього кільця фотометричних зображень (рис. 6.4 – рис.6.7).

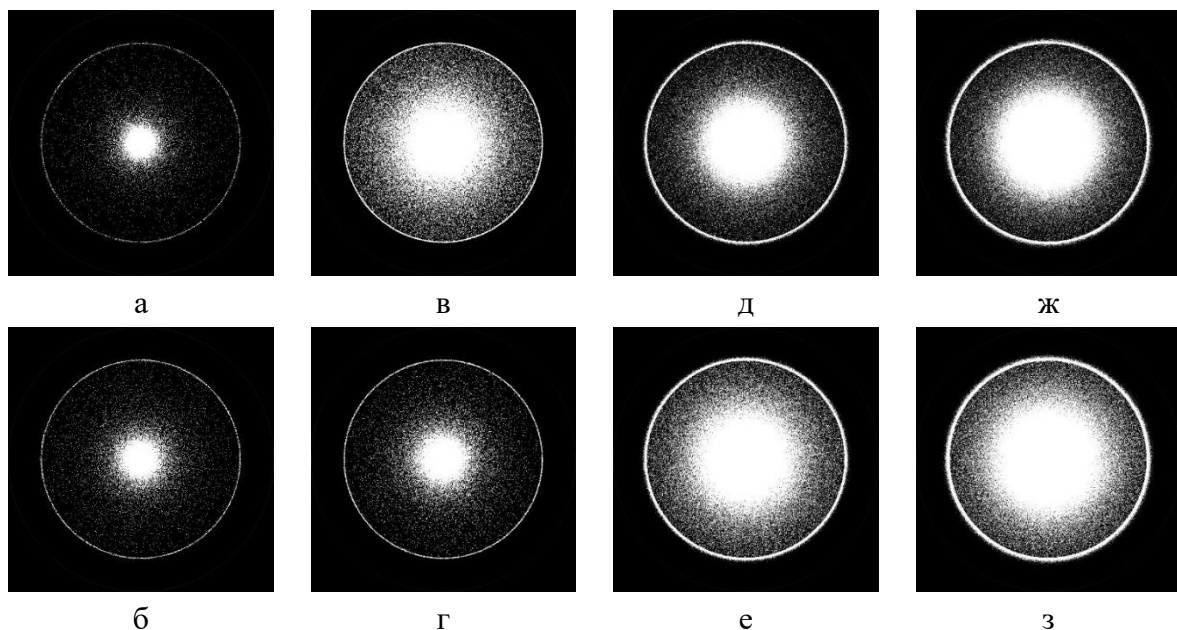


Рис. 6.3 Фотометричні зображення розсіяного вперед та назад світла для моделі рогового шару товщиною 0.02 мм (а, б) епідермісу товщиною 0.035 мм (в, г), дерми товщиною 1.56 мм (д, е) та жирової тканини товщиною 2.12 мм (ж. з) шкіри людини відповідно для падаючого пучка з рівномірним розподілом інтенсивності

При цьому похибка  $\alpha$  визначення освітленості в середньому кільці фотометричного зображення, що виражена відносним відхиленням рівня освітленості центрального кола в кожній серії модельних експериментів становить 0.02 % та 0.007 % для рогового шару, 0.015 % та 0.024 % для епідермісу, 0.004 % та 0.003 % для дерми, 0.01 % та 0.03 % для жирової тканини у світлі, розсіяному вперед та назад відповідно.



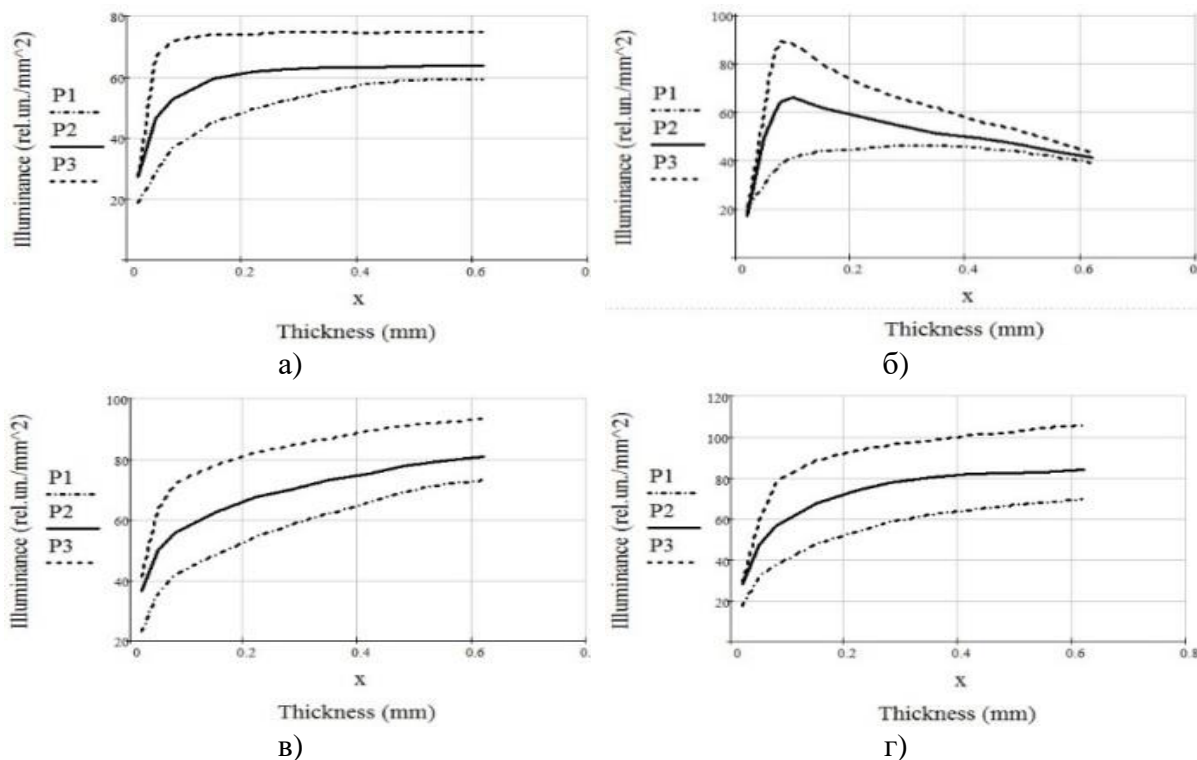


Рис. 6.4 Освітленість крайової зони та центрального кільця фотометричних зображень для моделі рогового шару різної товщини у розсіяному вперед (а, б) та назад світлі (в, г) відповідно

Рівень освітленості центрального кола є рівномірним і включає в себе колімовану складову, а також складову, що характеризує основну пелюстку «діаграми направленості» розсіяння вперед або назад. Зазначена похибка визначає точність визначення меж центрального кола фотометричного зображення, де освітленість рівномірна, і співвідноситься з величиною порогу чутливості, введеному в [18], як  $(100 - \alpha) \%$ . Параметри основної пелюстки та середнього кільця можуть бути використані для дослідження індикатриси розсіяння товщинними шарами БС, а відтак і для визначення фактору анізотропії однократного розсіяння [19, 20], проте в рамках даного дослідження не розглядались.

При аналізі графіків зазначимо, що реальний діапазон змін товщин розглянутих шарів шкіри людини знаходиться в межах величин, наведених в табл. 6.1.

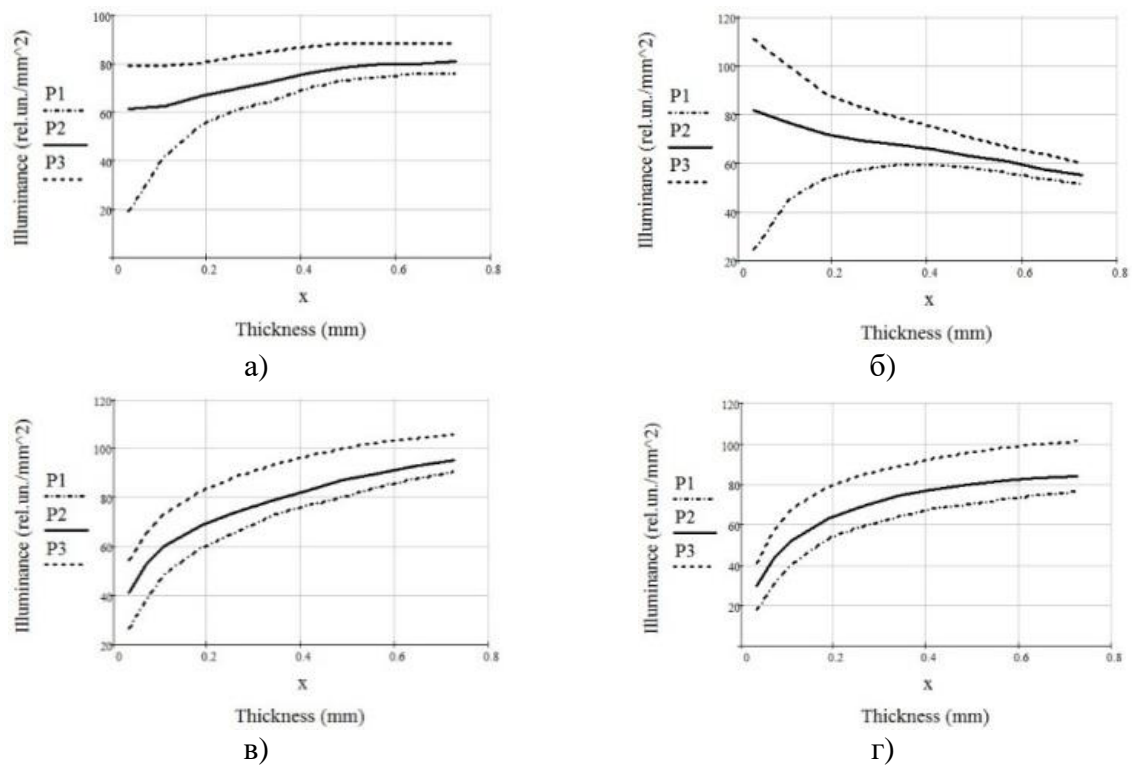


Рис. 6.5 Освітленість зовнішнього та центрального кільця фотометричних зображень для моделі епідермісу різної товщини у розсіяному вперед (а, б) та назад (в, г) світлі відповідно

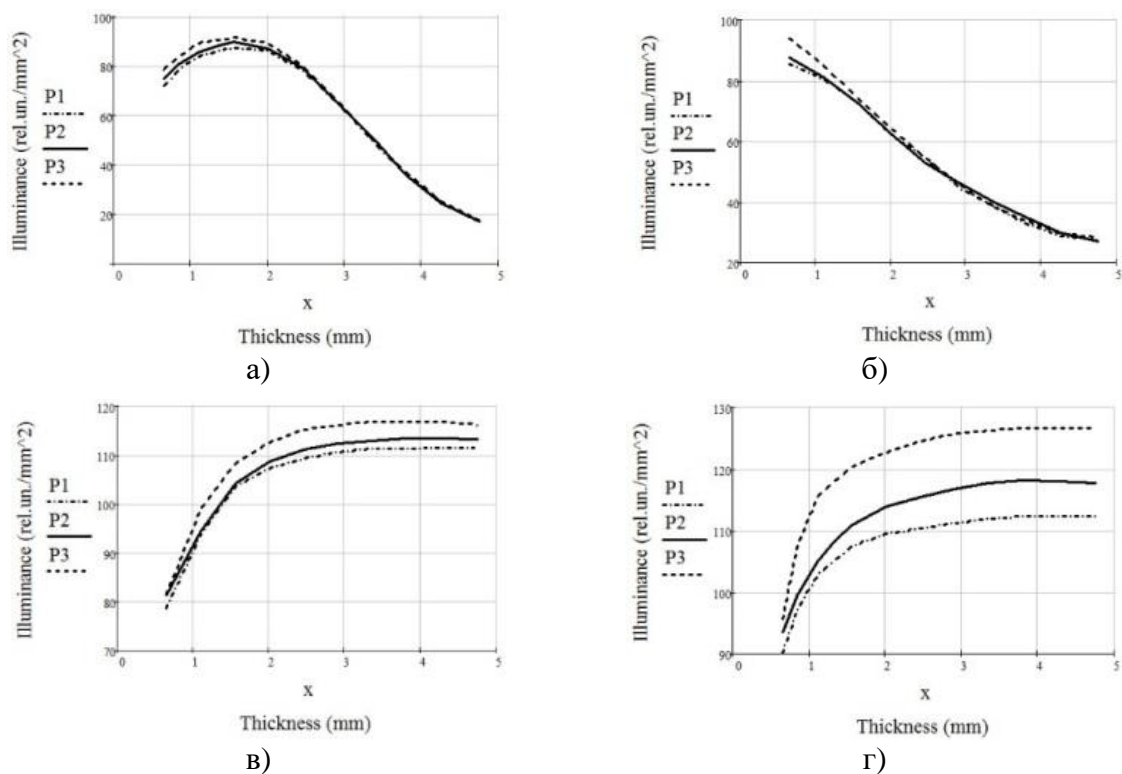


Рис. 6.6 Освітленість зовнішнього та центрального кільця фотометричних зображень для моделі дерми різної товщини у розсіяному вперед (а, б) та назад світлі (в, г) світлі відповідно

Тому оцінку впливу профілю падаючого пучка на просторовий розподіл розсіяного випромінювання у фотометричних зображеннях (рис. 6.3) окремих шарів доцільно було б вести в зазначеній комбінації товщин при багатошаровій структурі. Проте комбінація таких різновтовщинних шарів шкіри в одному модельному експерименті може мати скільки-завгодно багато варіацій.

Як показали попередні оціночні тести пошук рішення для таких задач потребує додаткового аналітичного базису. Тому в рамках даного дослідження проаналізовано вплив окремих шарів шкіри людини на просторовий розподіл при фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами.

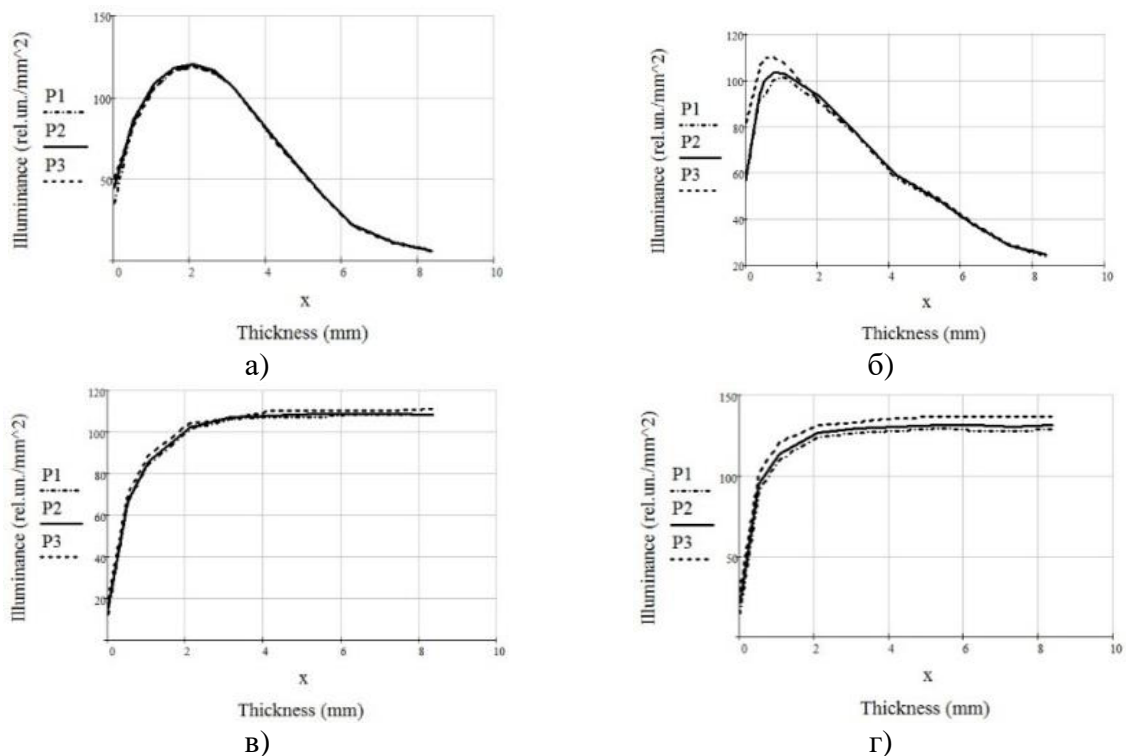


Рис. 6.7 Освітленість крайової зони та центрального кільця фотометричних зображень для моделі жирової тканини різної товщини у розсіяному вперед (а, б) та назад (в, г) світлі відповідно

Порівняємо графіки для рогового шару (рис. 6.4) та епідермісу (рис. 6.5) з залежністю різних зон в фотометричних зображеннях для дерми (рис. 6.6) та жирової тканини (рис. 6.7). З рисунків видно, що і у відбитому світлі, і у світлі, що пройшло крізь зразок БС, профіль поперечного перетину лазерного колімованого пучка суттєво впливає на розподіл освітленості як крайової зони, так і середнього кільця [18] фотометричного зображення рогового шару та епідермісу. Таким чином, профіль падаючого пучка для цих світлорозсіювальних тканин матиме вирішальний вплив на

світлорозсіяння багат шарової структури шкіри людини незалежно від товщини зазначених шарів. У той же час для жирової тканини вплив профілю лазерного пучка в прикладних задачах біомедичної фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами не матиме суттєвого впливу на світлорозсіяння. А це значить, що вклад просторового розподілу розсіяного світла жировою тканиною при розгляді багат шарової структури шкіри може бути представлений постійною складовою при визначеній товщині. Нетиповим для даного розгляду є світлорозсіяння дермою (рис. 6.6). Причому залежність для освітленості у розсіяному вперед світлі від профілю падаючого пучка незначна практично для всіх розглянутих товщин. Це також дозволяє при побудові аналітичної моделі світлорозсіяння вперед врахувати ефекти поширення випромінювання в дермі постійною складовою. Тобто вплив профілю падаючого пучка на світлорозсіяння дерми в напрямку вперед нагадує аналогічне світлорозсіянню і вперед і назад для жирової тканини. У той же час вплив профілю лазера на світлорозсіяння дерми в напрямку назад більш схожий з характером розсіяння в епідермісі та роговому шарі. Причому вплив профілю на світлорозсіяння вперед для рогового шару занадто великий для малих товщин даного БС, що особливо впливатиме при дослідженні зразків шкіри людини, взятих від губ, чола, носа, грудей, статевих органів, живота, спини, плеча, передпліччя та стегна [16].

Зазначимо, що освітленість середнього кільця та крайової зони графіків для різних профілів падаючого пучка можна вважати типовою, оскільки спостерігається властива кореляція у взаємо-розміщенні відповідних кривих. А саме нескінченно малий профіль падаючого лазерного пучка створює меншу освітленість відповідних зон фотометричних зображень ніж гаусів профіль. Рівномірний розподіл інтенсивності випромінювання в поперечному перетині призводить до найбільшого рівня освітленості.

## **6.2 Обґрунтування вибору параметрів еліпсоїдальних рефлекторів з огляду на об'єкт дослідження**

Використання ЕР в рамках чисельного моделювання методом інверсного Монте-Карло дозволяє отримати прийнятні результати при визначенні оптичних параметрів біологічних тканин [21, 22]. У той же час, прямий метод МК є, мало не єдиним методом, який дозволяє графічно

інтерпретувати характеристики розсіяного світла в прямому і зворотному напрямку. Як було зазначено вище параметри реального джерела оптичного випромінювання враховуються шляхом коригування кількості фотонів, що беруть участь у моделюванні, а також діаметром і профілем лазерного випромінювання. Правильний вибір конструктивних параметрів еліпсоїдального дзеркала пов'язаний з питомою вагою оптичного випромінювання, що реєструється фотоприймачем, і є одним з істотних факторів, що впливають на точність визначення коефіцієнтів розсіяння  $\mu_s$  та поглинання  $\mu_a$ , а також фактору анізотропії розсіяння  $g$ .

Далі проаналізуємо конструктивні параметри дзеркального еліпсоїда обертання, ортогонально усіченого по фокальним площинам (рис. 6.8). Зазначимо, що еліпсоїд, призначений для формування падаючого на об'єкт оптичного випромінювання, містить отвір діаметром  $D$ , центрований по малій напів-осі, для введення випромінювання в порожнину рефлектора (рис. 6.8.б) і використовується для роботи у відбитому світлі. Рефлектор, що призначений для реєстрації розсіяного вперед випромінювання показаний на рис. 6.8.а.

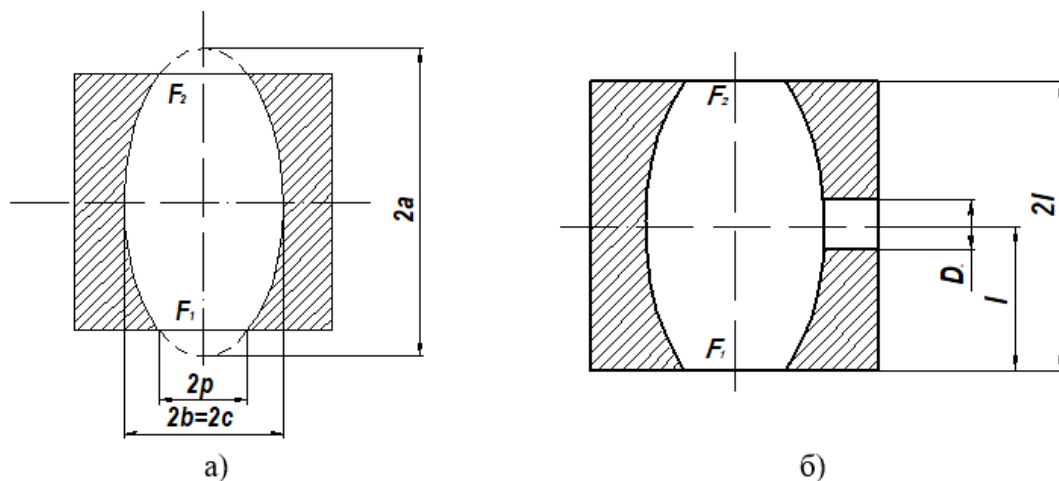


Рис. 6.8 Конструктивні параметри еліпсоїдального рефлектора:  
для роботи у пропущеному (а) та відбитому (б) світлі

До основних конструктивних параметрів, що визначають роботу фотометричних біомедичних систем з використанням еліпсоїдального рефлектора, можна віднести його ексцентриситет  $e$ , який обчислюється відповідно до виразу (6.2) та фокальний параметр  $p$ , отриманий виходячи з (6.3).

$$e = \sqrt{1 - \frac{b^2}{a^2}}, \quad (6.2)$$

$$p = \frac{b^2}{a} = a(1 - e^2) = b\sqrt{1 - b^2}. \quad (6.3)$$

де  $b=c$  - малі напів-оси еліпсоїда;  $a$  - велика напів-ось ЕР заданої конфігурації.

Величина ексцентриситету впливає на витягнутість еліпсоїда, при цьому коефіцієнт стиснення  $m$  визначається з (6.4):

$$m = \frac{b}{a}. \quad (6.4)$$

Таким чином, можна виділити два ключові параметри еліпсоїдального рефлектора: коефіцієнт стиснення  $m$  і фокальний параметр  $p$ , які задають конфігурацію фотометричної головки з внутрішньою відбиваючою поверхнею з коефіцієнтом відбиття  $\rho$ .

### 6.2.1 Обґрунтування вибору фокального параметру ЕР

Розглянемо обґрунтування вибору фокального параметра  $p$ . Очевидно, що його величина – це розмір вхідного вікна фотометричної системи, яка має контакт з біологічним середовищем. Його основне завдання – зібрати максимальне, а по можливості все, оптичне випромінювання, яке вийшло з біологічної тканини в прямому або зворотному напрямку, в межах тілесного кута  $2\pi$ .

При проведенні досліджень в умовах *in vitro* величина зразка БТ обумовлює величину фокального параметра  $p$ . Оскільки область взаємодії оптичного випромінювання з тканиною фізично обмежена її розмірами, достатньо забезпечити перевищення фокального параметра над найбільшим розміром зразка біологічної тканини для забезпечення збору всього розсіяного випромінювання. Найчастіше, зразок поміщають між двома скляними пластинами (п.п. 4.3.1), які, внаслідок заломлення, відхиляють розсіяні в тканини промені на деяку величину, що залежить від товщини пластин і показника заломлення, яку також необхідно врахувати при виборі

параметра  $p$ . У клінічній практиці часто використовують вимірювальні інструменти різного «калібру» для різних геометричних розмірів об'єктів дослідження, так надходять, наприклад, при виборі датчика для електромагнітного витратоміра крові [23]. Тому, при проведенні досліджень *in vivo*, доцільно або використовувати універсальну фотометричну головку, розмір вхідного вікна якої гарантовано забезпечить реєстрацію всього розсіяного світла, незалежно від характеристик поглинання і розсіювання в багатошарової біологічному середовищі, або мати набір еліпсоїдальних рефлекторів з однаковими коефіцієнтом стискання  $m$  і коефіцієнтом відбиття  $\rho$ , але з різними фокальними параметрами.

Очевидно, що кількість розсіяного біологічною тканиною світла безпосередньо залежить від величини падаючого на неї оптичного потоку. Тому керуючи потужністю джерела і площею опромінення також можна домогтися вибору оптимального фокального параметра, але це, в свою чергу, вимагає перебудови і калібрування фотометричної частини вимірювального засобу, що в умовах рутинного експерименту є неприйнятним.

У зв'язку з цим виникає ряд питань. Як правильно вибрати геометричні розміри зразка виходячи з особливостей проведення експерименту за допомогою еліпсоїдальних рефлекторів *in vitro*, і як вірно визначити фокальний параметр еліпсоїда для вимірювань *in vivo*, щоб при реєстрації розсіяного оптичного потоку корисна складова сигналу не вийшла за межі вимірювальних апертур. Тобто по суті, необхідно спрогнозувати максимально можливий розмір плями розсіювання на виході з БТ. Досить адекватно це можливо в рамках теорії прямого методу Монте-Карло, який описує взаємодію лазерного випромінювання з оптично мутним середовищем (розділ 4). Оцінка може бути проведена при врахуванні максимальних координат виходу фотона з БС. Модернізований алгоритм дозволяє провести оцінку координат точок виходу з середовища кожного окремого фотона, який бере участь у симуляції, в прямому і зворотному напрямку для нескінченно тонкого лазерного пучка або пучка кінцевого діаметра з рівномірним або гаусовим поперечним профілем (п. 6.1).

Охарактеризувавши результати взаємодії оптичного випромінювання з БС в рамках симуляції Монте-Карло, можна виділити наступні значущі параметри, які будуть впливати на розміри плями розсіювання в прямому і зворотному напрямку. Перш за все це координати виходу фотона з БС; по-

друге – направляючі косинуси, які характеризують напрямок поширення променів (фотонів) і точку їх перетину з еліпсоїдальною поверхнею рефлектора біомедичного фотометра; і по-третє – це вага фотона на виході з БС, яка характеризує інтенсивність випромінювання в площині контакту БС і фокальній площині ЕР. Провівши моделювання для БС з різними, умовно граничними, оптичними властивостями можна зробити аналіз зазначених параметрів і оцінити їх вплив на величини фокального параметра та коефіцієнту стискання ЕР. Розглянемо особливості світлорозсіяння в БС при фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами на прикладі одношарових модельних структур тканин людського мозку (таблиця 6.2), які імітують експеримент в умовах *in vitro* для трьох довжин хвиль видимого діапазону: 405 нм, 532 нм і 650 нм, а також багатшарової структури шкіри людини, що імітує експеримент в умовах *in vivo* (таблиця 6.3) для різних ділянок тіла на довжині хвилі 632 нм. Показник заломлення для тканин мозку у видимому діапазоні мало змінюється і становить для *white matter* 1.467, *gray matter* 1.395, *cerebellum* 1.47 [24].

Таблиця 6.2

Оптичні властивості тканин мозку людини [25]

БС	405 нм			532 нм			650 нм		
	$\mu_a$ , см <sup>-1</sup>	$\mu_s$ , см <sup>-1</sup>	$g$	$\mu_a$ , см <sup>-1</sup>	$\mu_s$ , см <sup>-1</sup>	$g$	$\mu_a$ , см <sup>-1</sup>	$\mu_s$ , см <sup>-1</sup>	$g$
White matter	0.31	40.2	0.76	0.1	41	0.815	0.08	40.1	0.852
Gray matter	2.33	126.7	0.862	0.45	102.2	0.89	0.09	86.2	0.898
Cerebellum	0.44	28.1	0.806	0.12	29.9	0.864	0.07	28.3	0.876

Таблиця 6.3

Оптичні властивості шарів шкіри людини [26]

БТ	$n$	$\mu_a$ , см <sup>-1</sup>	$\mu_s$ , см <sup>-1</sup>	$g$
Роговий шар	1.5	0.1	100	0.8
Епідерміс	1.34	0.15	45	0.8
Дерма	1.39	0.073	20	0.76
Жирова тканина	1.44	0.068	15	0.8
М'язова тканина	1.37	2	215	0.9



Слід зазначити, що шари шкіри людини на різних ділянках тіла мають незмінні оптичні властивості, а лише змінну товщину, усереднені значення якої наведено у таблиці 6.4. При цьому вибір товщини м'язової тканини пояснюється створенням при моделюванні умов напів-нескінченного БС.

Таблиця 6.4

**Товщина шарів шкіри людини, см [16]**

Ділянка тіла	Роговий шар	Епідерміс	Дерма	Жирова тканина	М'язова тканина
Груди	0.002	0.00595	0.24	0.075	1
Живіт	0.0025	0.00945	0.198	1.05	1
Спина	0.0031	0.01	0.371	0.083	1
Плече	0.0035	0.0107	0.246	0.072	1
Стегно	0.004	0.011	0.243	0.097	1
Долоні	0.039	0.0473	0.128	0.181	1

Вибір біологічних тканин для модельного експерименту, обумовлений достатнім «розкиданням» їх розсіювальних та поглинальних властивостей, не обмежує можливостей інформаційно-вимірювальної системи біомедичного фотометру, а лише окреслює принципи ефективного підбору конструктивних параметрів еліпсоїдальних рефлекторів, що входять до їх складу.

Визначення оптимального, в застосовності до конкретного об'єкту біологічного дослідження, фокального параметра еліпсоїдального рефлектора має вестися з урахуванням показника ефективності його роботи, під яким розуміється питома вага фотонів, які вийшли з БС в прямому або зворотному напрямку з координатами, вписаними в коло радіусом  $p$ . З урахуванням того, що в модельному експерименті коефіцієнтами, які визначають оптичні властивості середовища в рамках симуляції Монте-Карло, є коефіцієнти повного пропускання  $T$ , поглинання  $A$ , дифузного  $Rd$  і дзеркального  $Rs$  відбиття, показники ефективності ЕР в прямому  $K_T$  і зворотному напрямках  $K_R$  відповідно визначаються наступним чином:

$$K_T = \frac{W_T}{T \cdot N_0}, \quad (6.5)$$

$$K_R = \frac{W_R}{R_d \cdot N_0}, \quad (6.6)$$

де  $N_0$  - загальна кількість фотонів запущених в БС;  $W_T$ ,  $W_R$  - сумарна вага фотонів, які вийшли з середовища в прямому і зворотному напрямку відповідно, з координатами, що знаходяться в межах вхідного вікна ЕР з діаметром  $2p$ .

На рис. 6.9 представлені коефіцієнти повного пропускання, поглинання і дифузного відбиття в залежності від товщини модельованих моно-шарів, які були отримані шляхом симуляції Монте-Карло поширення світла в досліджуваних біологічних середовищах. Для кожного запуску симуляції було задіяно 10 000 фотонів для окремої товщини досліджуваної БТ. Для побудови адекватних фотометричних зображень при фотометрії ЕР цього замало (п.п. 4.3.3), проте для оцінки значень оптичних коефіцієнтів дифузного відбиття, поглинання та повного пропускання цілком достатньо.

На рис. 6.10 показане ті ж самі значення оптичних коефіцієнтів, згруповані таким чином, аби побачити їх відносність для окремої тканини для різних довжин хвиль в залежності від товщини досліджуваного зразка.

Як було зазначено в п. 4.2.2 найбільш «яскраві» фотометричні зображення формуються при товщинах, на яких значення оптичних коефіцієнтів змінюються найбільш динамічно. З огляду на це, а також на необхідність відносного порівняння ефективності роботи ЕР різних БС діапазон товщин був обраний однаковий для досліджуваних тканин головного мозку людини і становив 0.005 – 1 см.

На рис. 6.11 наведені графіки залежності коефіцієнтів ефективності роботи еліпсоїдального рефлектора в прямому  $K_T$  і зворотному напрямках  $K_R$ .

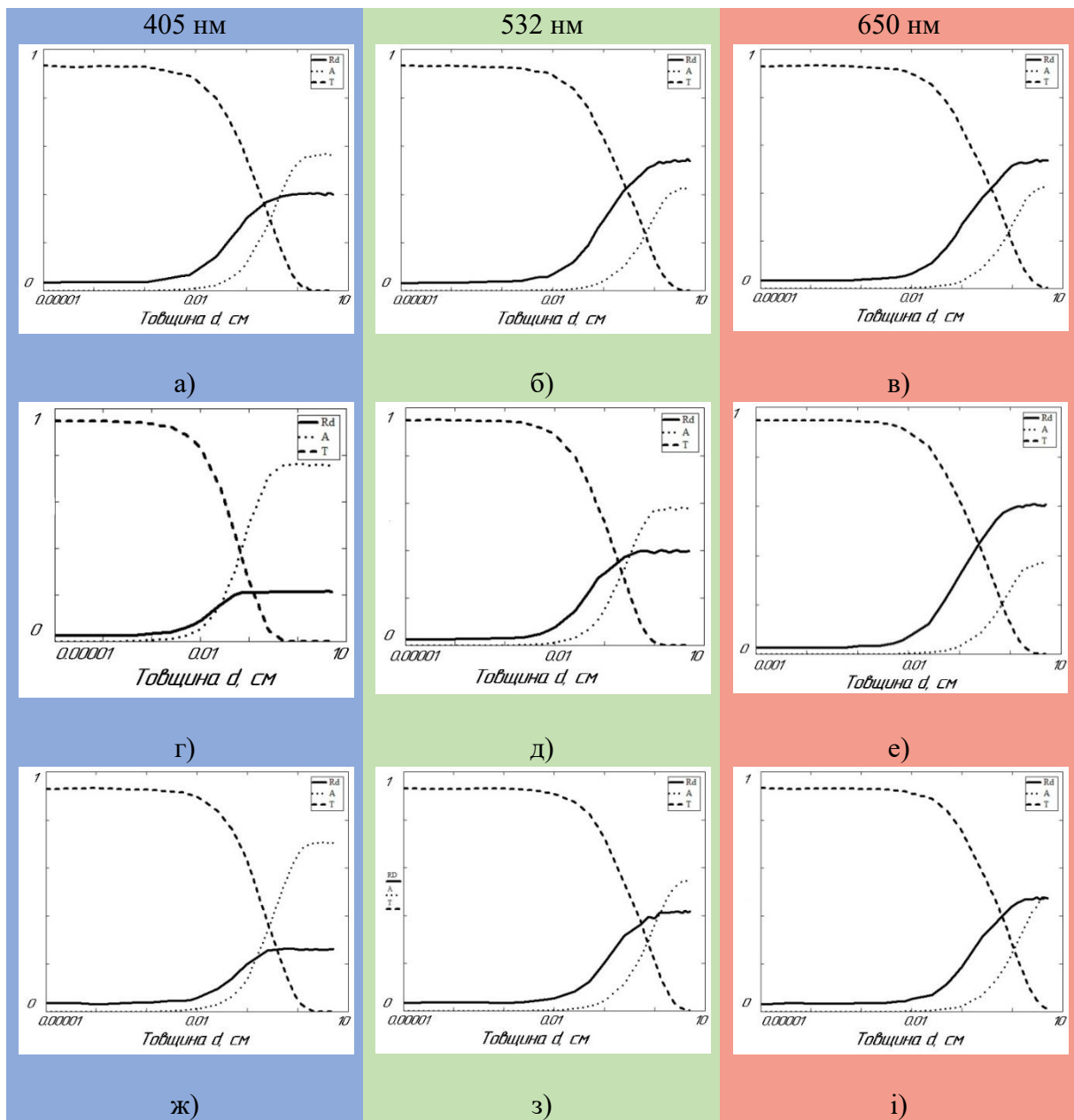


Рис. 6.9 Оптичні коефіцієнти (дифузного відбиття  $R_d$  – суцільна лінія; поглинання  $A$  – точкова лінія; повного пропускання  $T$  – пунктирна лінія) для тканин головного мозку людини: *white matter* (а, б, в); *gray matter* (г, д, е); *cerebellum* (ж, з, і) для довжин хвиль 405 нм (а, г, ж); 532 нм (б, д, з); 650 нм (в, е, і) відповідно

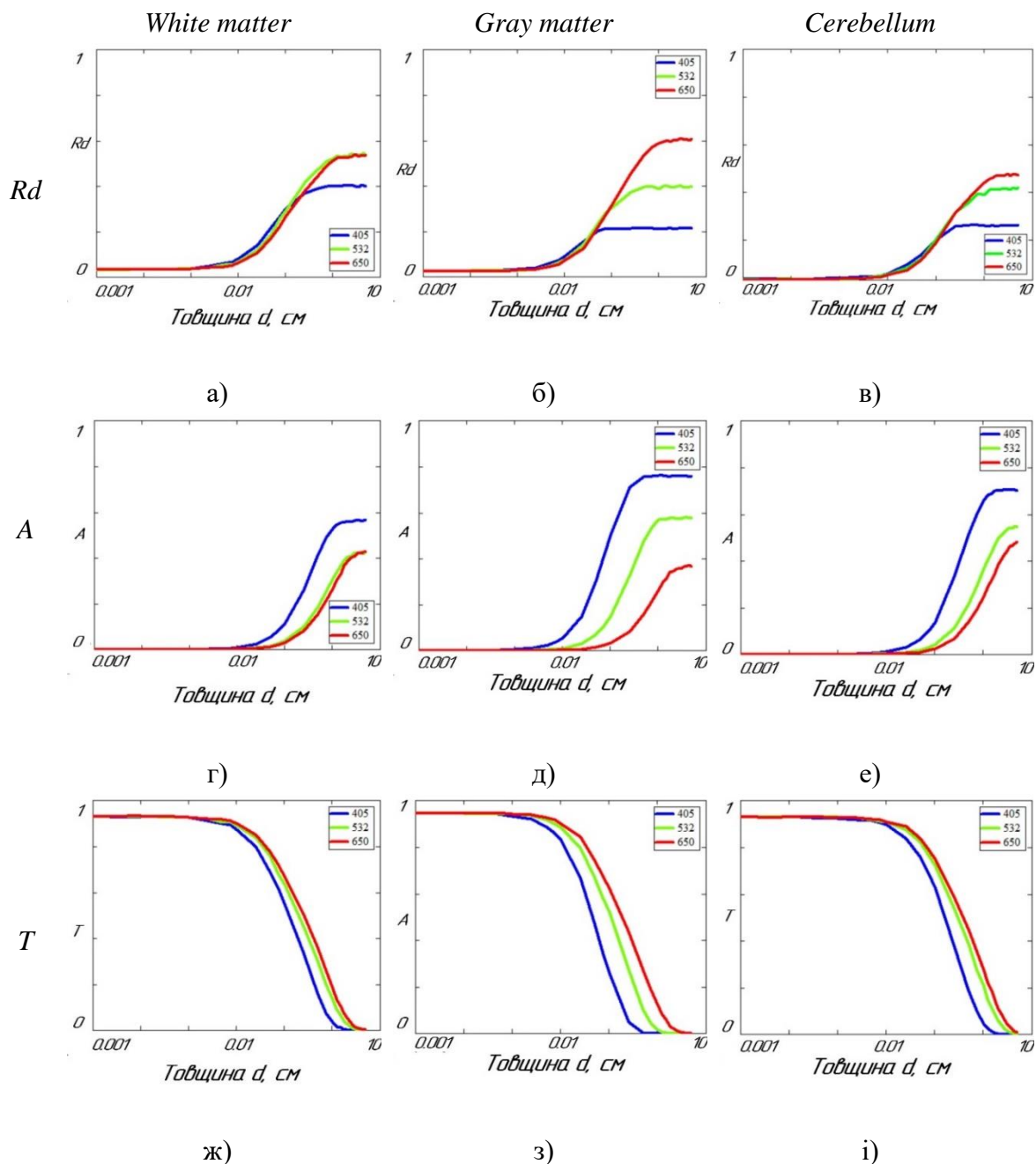


Рис. 6.10 Оптичні коефіцієнти дифузного відбиття  $Rd$  (а, б, в), поглинання  $A$  (г, д, є), повного пропускання  $T$  (ж, з, і) для тканин головного мозку людини: *white matter* (а, г, ж); *gray matter* (б, д, з); *cerebellum* (в, е, і) для довжин хвиль 405 нм (синя лінія), 532 нм (зелена лінія), 650 нм (червона лінія)

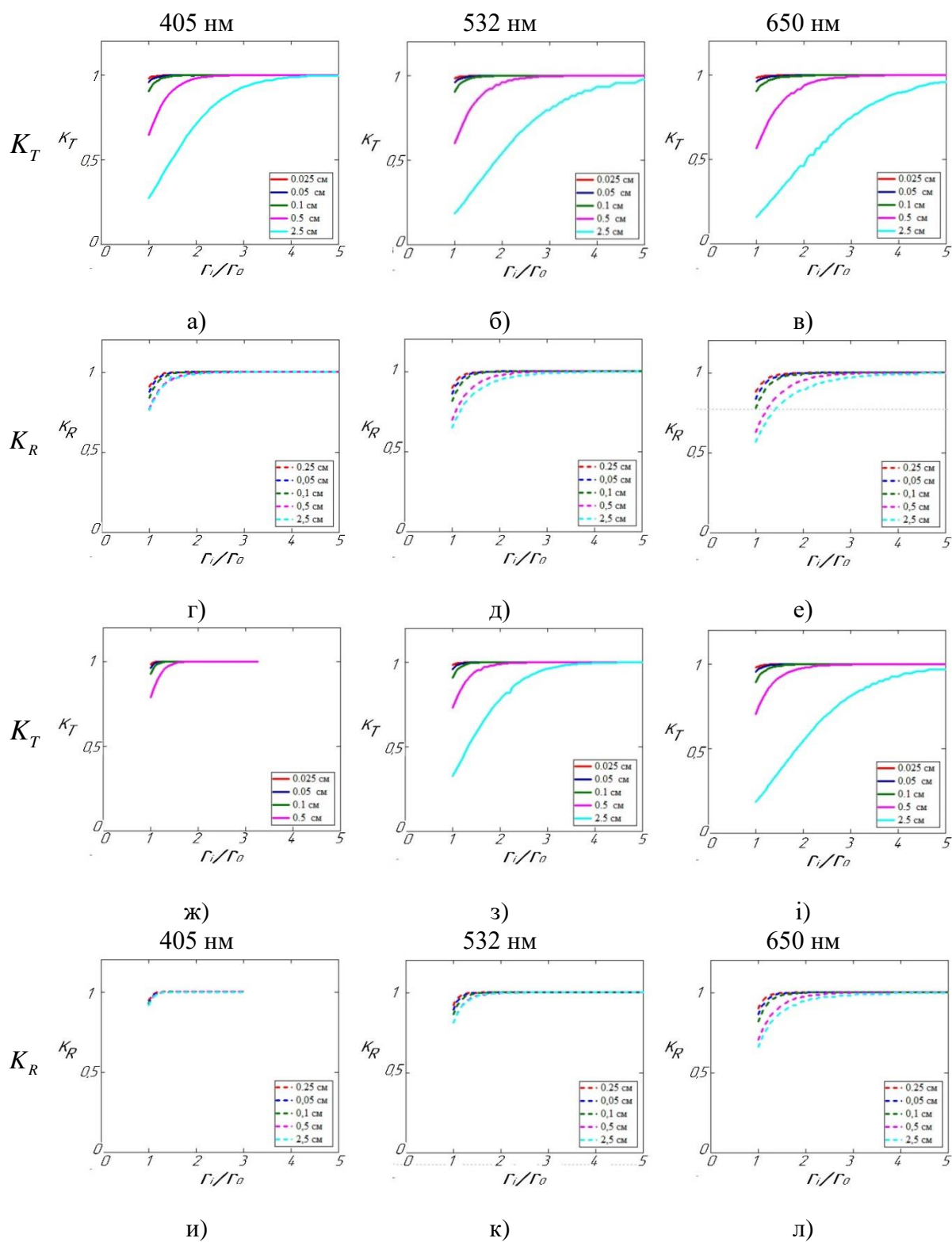


Рис. 6.11 (початок) Показники ефективності функціонування еліпсоїдальних рефлекторів

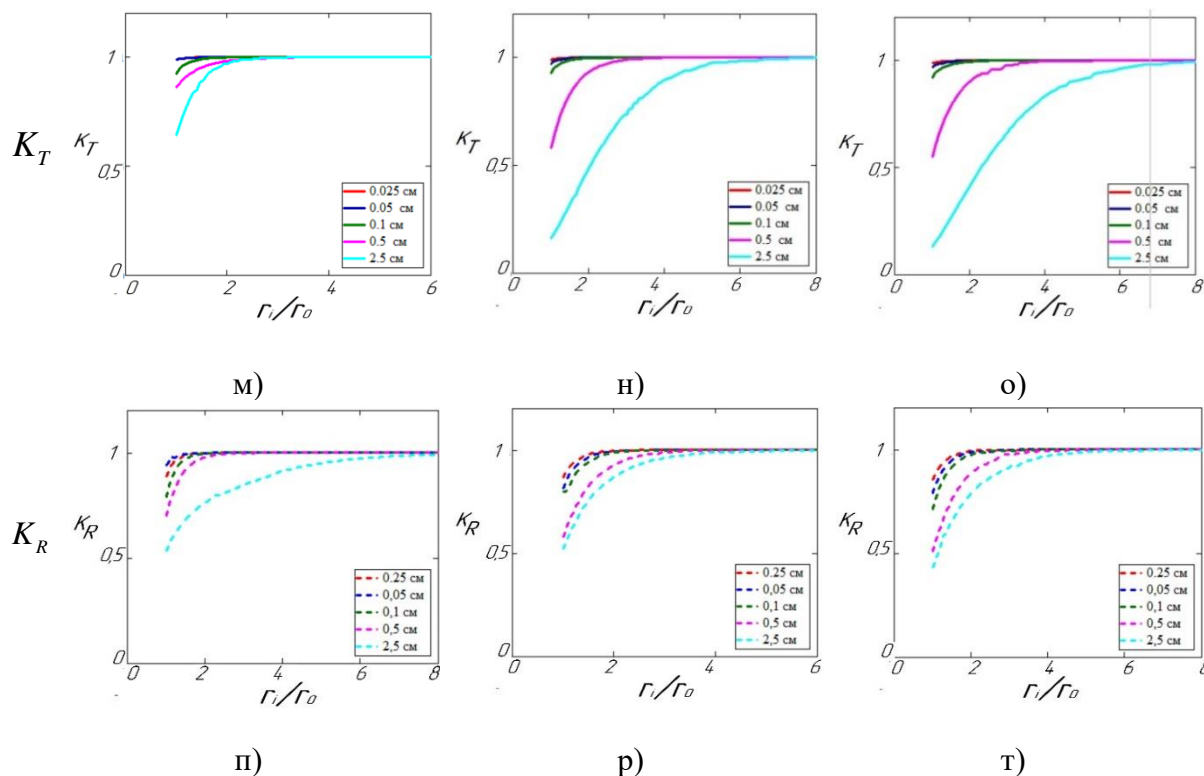


Рис. 6.11 (продовження) Показники ефективності функціонування еліпсоїдальних рефлекторів у пропущеному (а, б, в, ж, з, і, м, н, о) та відбитому (г, д, є, и, к, л, п, р, т) світлі для тканин головного мозку людини: *white matter* (а, б, в, г, д, є); *gray matter* (ж, з, і, и, к, л); *cerebellum* (м, н, о, п, р, т) для довжин хвиль 405 нм (а, г, ж, и, м, п), 532 нм (б, д, з, к, н, р), 650 нм (в, е, і, л, о, т) відповідно

Як видно з рис. 6.11 для всіх досліджуваних тканин головного мозку простежується тенденція до збільшення величини фокального параметру  $p$ , що забезпечує досягнення максимальних значень коефіцієнтів ефективності ЕР у відбитому  $K_R$  та пропущеному  $K_T$  світлі, при збільшенні товщини зразка БТ. На рис. 6.11.ж для зразку сірої речовини мозку товщиною 2.5 см на довжині хвилі 405 нм відсутній графік для  $K_T$ , що пояснюється нульовим значенням коефіцієнту пропускання  $T$  для даної товщини зразка. Для зразків досліджуваних тканин товщиною 2.5 см на окремих довжинах хвиль як для пропущеного, так і для відбитого світла (рис. 6.11) коефіцієнти ефективності роботи ЕР сходяться в одиниці при значеннях фокального параметру, що перевищує діаметр падаючого променя у 5 та більше разів. Це означає, що товщина досліджуваного зразка, яка суттєво впливає на розмір плями розсіяння у відбитому та/або пропущеному світлі, також є одним з визначальних параметрів, що впливатиме на ефективність роботи відповідного еліпсоїдального рефлектора. З огляду на експоненціальний

характер графіків, показаних на рис. 6.11, залежність ефективності роботи ЕР оцінимо на прикладі однієї тканини на одній з довжин хвиль. На рис. 6.12 показані показники максимальної ефективності застосування ЕР у відбитому та пропущеному світлі  $Q_R$  та  $Q_T$ , відповідно, для різновтовщинних зразків мозочку на довжини хвилі 405 нм. Зазначимо, що максимальна ефективність  $Q$  означає наближення коефіцієнтів  $K_R$  та  $K_T$  до одиниці з певною точністю.

$$Q_T = \left. \frac{r_0}{r_i} \right|_{K_T \rightarrow 1}, \quad (6.7)$$

$$Q_R = \left. \frac{r_0}{r_i} \right|_{K_R \rightarrow 1}. \quad (6.8)$$

Для побудови графіків на рис. 6.12 використане наближення коефіцієнтів на рівні 0.001 (0.1 %).

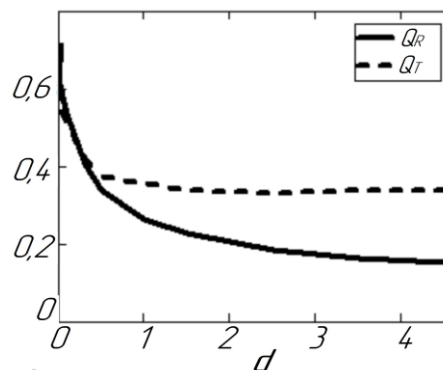


Рисунок 6.12 Показники максимальної ефективності функціонування еліпсоїдальних рефлекторів у пропущеному  $Q_T$  (пунктирна крива) та відбитому  $Q_R$  (суцільна крива) світлі для мозочку головного мозку людини на довжині хвилі 650 нм в залежності від товщини зразка

Очевидно, що крива  $Q_R$  зі збільшенням товщини не буде зазнавати подальших змін, оскільки коефіцієнт дифузного відбиття досягаючи певного значення залишається сталим (рис. 6.9 та рис. 6.10) при скільки-завгодно подальшому збільшенні товщини  $d$  досліджуваного зразка БС. При цьому показник  $Q_T$  при досягненні певної критичної товщини, при якій коефіцієнт пропускання наблизиться до нуля, почне стрімке зростання. Оскільки пропускання буде відсутнє, то і радіус  $r_i$  фотонів, які залишили БС

у прямому напрямку буде відсутнім як фізично значуща величина. Це свідчитиме про настання математичної невизначеності, при якій у знаменнику (6.7) буде нульова (неіснуюча) величина.

Для білої та сірої речовин головного мозку людини на обраних довжинах хвиль ефективність роботи еліпсоїдального рефлектору для збирання дифузно відбитого (розсіяного назад) світла наближається до 1 коли фокальний параметр рефлектора перевищує діаметр падаючого пучка променів щонайменше в три рази. У той же час для пропущеного (розсіяного вперед) світла таке перевищення повинно бути більш ніж шестикратним. Для тканин мозочка головного мозку людини у пропущеному світлі для довжин хвиль 532 нм та 650 нм, а також у відбитому світлі для довжини хвилі 405 нм таке перевищення повинне складати не менш як вісім разів.

Таким чином, обираючи еліпсоїдальні рефлектори для реєстрації пропущеного і відбитого зразком БС світла з однаковими конструктивними параметрами, що забезпечують максимальну ефективність роботи ЕР, уніфікують обчислювальний алгоритм та процес визначення оптичних властивостей досліджуваних середовищ на підставі зареєстрованого максимального сигналу. Оскільки фокальні параметри ЕР, виготовлення яких описане в розділі 5, перевищують діаметр лазерного пучка, що використовується при фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами (п. 4.1), більш ніж у 10 разів, то їх практичне застосування при оптичній біометрії тканин мозку людини у видимому діапазоні є можливим і доцільним.

## 6.2.2 Обґрунтування вибору коефіцієнту стискання еліпсоїдального рефлектора

Розглянемо вплив величини коефіцієнту стискання ЕР на формування фотометричних зображень та освітленості їх зон для зразку тканини печінки свині на довжині хвилі 405 нм, оптичні властивості якої наведені у табл. 6.5.

Таблиця 6.5

**Оптичні властивості тканини печінки свині [27]**

Довжина хвилі, нм	$\mu_a$ (1/см)	$\mu_s$ (1/см)	$g$	$n$	$d$ , см
405	0.66	1.22	0.76	1.39	0.1



Скориставшись характерною залежністю освітленості різних зон фотометричних зображень від товщини зразка [7, 18, 28] зафіксуємо його значення на величині 1 мм. Моделювання проводилося при запуску 20 млн фотонів з рівномірним профілем падаючого лазерного пучка [28] радіусом 0.75 мм для діапазону значень коефіцієнтів стискання еліпсоїдального рефлектора 0.3 – 0.95 і фокальних параметрів 11 мм, 16.875 мм і 22.75 мм. Конструктивні параметри використаних при моделюванні еліпсоїдальних рефлекторів наведені в табл. 6.6.

Таблиця 6.6

**Конструктивні параметри еліпсоїдальних рефлекторів**

Коефіцієнт стискання	Фокальний параметр					
	<i>p=11 мм</i>		<i>p=16.875 мм</i>		<i>p=22.75 мм</i>	
	велика піввісь	мала піввісь	велика піввісь	мала піввісь	велика піввісь	мала піввісь
	<i>a, мм</i>	<i>b, мм</i>	<i>a, мм</i>	<i>b, мм</i>	<i>a, мм</i>	<i>b, мм</i>
0.93675	12.5356	11.7427	19.2308	18.0144	25.9259	24.2861
0.9165	13.0952	12.002	20.0893	18.4121	27.0833	24.8223
0.893	13.7931	12.3176	21.1599	18.8964	28.5266	25.4751
0.866	14.6667	12.7017	22.5	19.4856	30.3333	26.2694
0.8352	15.7706	13.1711	24.1935	20.2056	32.6165	27.2401
0.8	17.1875	13.75	26.3672	21.0938	35.5469	28.4375
0.76	19.0476	14.4749	29.2208	22.2059	39.3939	29.9368
0.714	21.5686	15.4031	33.0882	23.6297	44.6078	31.8564
0.68875	23.1884	15.971	35.5731	24.5009	47.9578	33.0309
0.6614	25.1429	16.6304	38.5714	25.5126	52	34.3948
0.6	30.5556	18.3333	46.875	28.125	63.1944	37.9167
0.5268	39.6396	20.8815	60.8108	32.0341	81.982	43.1867
0.436	57.8947	25.2357	88.8158	38.7139	99.2947	47.5285
0.31225	112,8205	35,2282	173,077	54,0432	233,333	72,8583

У результаті симуляції була отримана серія фотометричних зображень, характерний вигляд яких для розсіяного вперед і назад світла показаний на рис. 6.13.

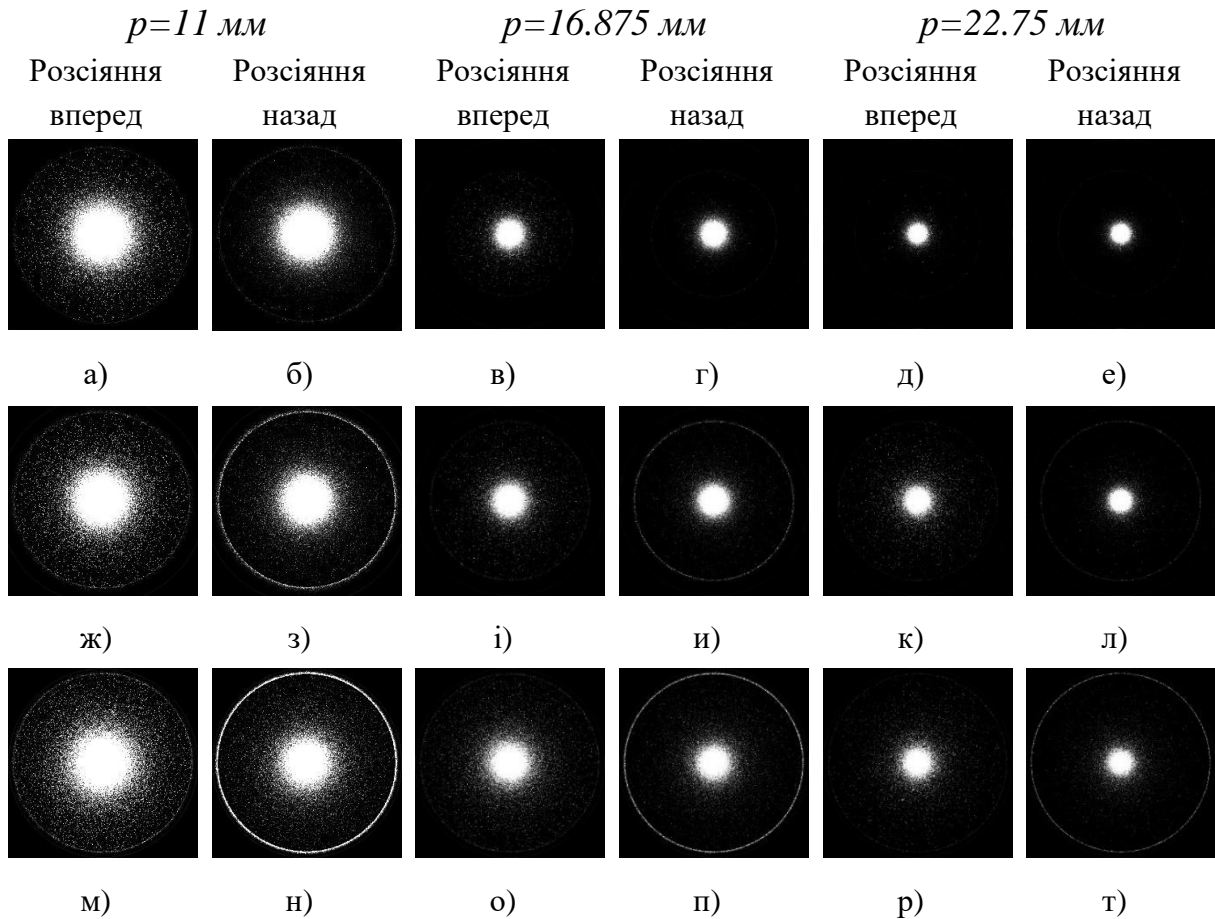


Рис. 6.13 Фотометричні зображення вперед (а, в, д) та назад розсіяного світла (б, г, е) на довжині хвилі 405 нм для тканини печінки свині товщиною 1 мм при фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами з різними фокальними параметрами та коефіцієнтами стискання 0.93675, 0.8352 та 0.6614

При аналізі фотометричних зображень (рис. 6.13) видна суттєва залежність як загальної освітленості по полю, так і окремих його зон, від коефіцієнту стискання ЕР при різних значеннях фокального параметра. Ця обставина підтверджує геометричний зміст впливу конструктивних параметрів рефлектора на його функціональні особливості та дозволяє припускати можливість їх (параметрів) оптимізації для дослідження конкретного біологічного середовища.

На підставі принципів зонного аналізу фотометричних зображень при фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами [18] нижче наведені графіки освітленості зовнішнього і середнього кільця від коефіцієнту стискання ЕР для розсіяного назад (рис. 6.14) та вперед (рис. 6.15) світла.

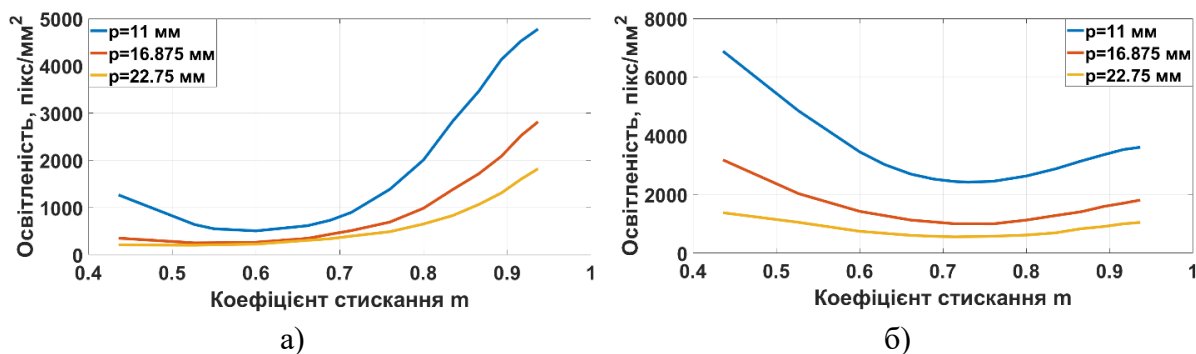


Рис. 6.14 Освітленість зовнішнього (а) і середнього (б) кільця фотометричних зображень розсіяного назад світла на довжині хвилі 405 нм для зразків тканини печінки свині товщиною 1 мм при значеннях фокального параметру еліпсоїдального рефлектора 11 мм, 16.875 мм та 22.75 мм

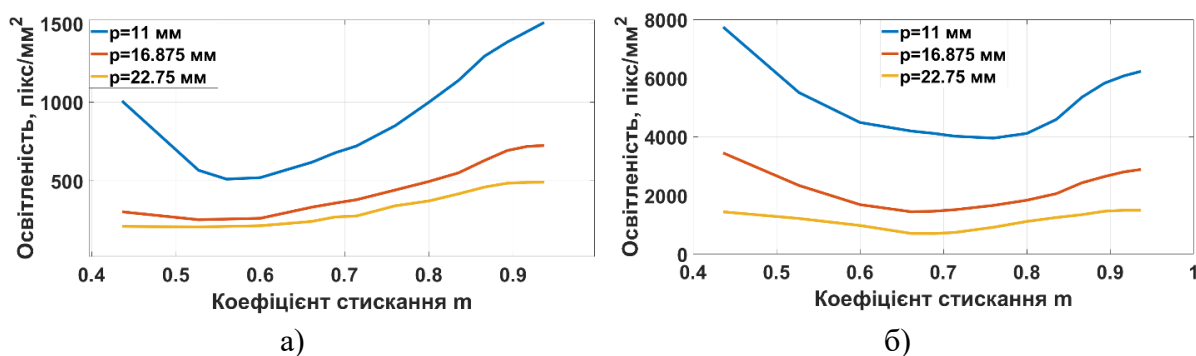


Рис. 6.15 Освітленість зовнішнього (а) і середнього (б) кільця фотометричних зображень розсіяного вперед світла на довжині хвилі 405 нм для зразків тканини печінки свині товщиною 1 мм при значеннях фокального параметру еліпсоїдального рефлектора 11 мм, 16.875 мм та 22.75 мм

Графіки на рис. 6.14 та рис. 6.15 мають однотипну залежність освітленості зони зовнішнього і середнього кільця фотометричних зображень від коефіцієнту стискання еліпсоїдального рефлектора і спадають приблизно до значення коефіцієнту стискання 0.6, а далі досить стрімко зростають. При цьому спостерігається великі значення рівня освітленості для ЕР з меншим значенням фокального параметра для всього діапазону розглянутих коефіцієнтів стискання. Таким чином, зменшення робочого отвору ЕР дозволяє сконцентрувати зібране випромінювання на площині з меншою площею, що може мати сенс, наприклад, при обмежених розмірах фотоприймачів, які розташовуються в другій фокальній площині ЕР біомедичних фотометрів. Зменшуючи величину фокального параметра слід пам'ятати про властивості досліджуваного об'єкта і враховувати ефективність роботи ЕР в відбитому та пропущеному світлі (рис. 6.11). Також варіюють профілем [28] і діаметром [11] зонduючого лазерного

пучка. Слід зазначити, що вид графіків освітленості схожий із залежністю *RMS* (рис. 2.20) від ексцентриситету як для координати *X*, так і для координати *Y*. Відмінність становить положення кривих для різних фокальних параметрів. Освітленість фотометричних зображень вище для ЕР з меншим фокальним параметрів, в той час як *RMS* більше для ЕР з великим значенням *p*. Це може бути використано при підборі оптимальних параметрів ЕР для оптичної біометрії середовищ.

### **6.3 Обґрунтування впливу діаметру та потужності падаючого променю в задачах раманівської спектроскопії еліпсоїдальними рефлекторами**

Дослідження БС на молекулярному рівні, зокрема структури молекул та оточуючого їх середовища, а також міжмолекулярного зв'язку базується на непружному розсіянні, що виникає під час обміну енергією між фотоном та молекулою [29 – 31]. Таке розсіяння може бути флуоресцентним або раманівським (комбінаційним). Методи, що базуються на флуоресцентному розсіянні (наприклад, оптична флуоресцентна мікроскопія), мають досить високу чутливість. Однак при цьому зразки БС піддаються збудженню шляхом інтрузивного маркування флуоресцентними зондами і антитілами, виникають деструктивні процеси, такі як фіксація клітин або лізис [29 – 31], а дослідження можуть проводитись переважно в умовах експерименту *in vitro*. Проведення *in vivo* вимірювань, в основі яких лежить раманівська спектроскопія, дозволяють досліджувати як атомарну, так і молекулярну структуру БС, використовуючи при цьому результати неінвазивних досліджень з стабільною хімічною специфічністю [32, 33]. Для аналізу молекул БС використовують наступні методи, що базуються на раманівському розсіянні: ІЧ ближнього діапазону (NIR Raman) [34 – 36], Фур'є перетворення комбінаційного розсіяння (FT-Raman) [36, 37], поверхневий раманівський метод (SERS) [38, 39] та розсіювальна УФ спектроскопія (UVR) [40 – 42]. А також більш новітні методи, що базуються на стимульованому розсіянні, розвіянні з підсиленням піку та когерентному анти-стоксовому раманівському розсіянні [43 – 45]. Однак не всі методи раманівської спектроскопії придатні для неінвазивних досліджень. Це пов'язано, зокрема, з тривалим часом накопичення (FT-Raman) [36], зі складністю введення функціональних нано-часток в організм людини та відстеження їх руху та кількості (SERS), виникненням фото-лізису в зразках

БС та подальшого його (БС) руйнування, послабленням результуючого сигналу емісію флуоресценції [38], а також з мутагенністю УФ випромінювання [41] (UVR). Слід зазначити, що застосування нелінійних процесів для опису та підвищення рівня сигналу може мати суттєві обмеження, пов'язані з необхідністю використання ультра швидких лазерних скануючих систем. А це, в свою чергу, поставить під сумнів доцільність клінічних *in vivo* в режимі реального часу [32]. З огляду на вище сказане, можна зробити висновок, що для неінвазивних досліджень найбільше підходить NIR Raman. Також суттєвою перевагою NIR Raman спектроскопії є те, що при використанні ІЧ діапазону відсутнє внутрішньо-тканинне флуоресцентне розсіяння, яке має більшу інтенсивність та перекриває комбінаційне розсіяння. Як показав аналіз авторів [29 – 33], найбільш оптимальними є довжини хвиль після 800 нм. Обмеженням є падіння ефективності роботи кремнієвих ПЗЗ детекторів на довжинах хвиль 1000 – 1100 нм, що відповідає раманівському відгуку для збудження на довжині хвилі 850 нм.

Оскільки тільки один з  $10^8$  фотонів зазнає раманівського зсуву, то основною задачею методів NIR Raman спектроскопії є підвищення чутливості приймального каналу для реєстрації сигналу та методів його обробки. Фізичне збільшення числа фотонів може призвести до деструктивних змін молекул. Проте визначення граничної кількості таких фотонів (потужності падаючого випромінювання) можливе лише в контексті функціонування конкретного вимірювального засобу та мети діагностики.

NIR Raman спектроскопія вже стала потужним інструментом при визначенні оптичних властивостей та біохімічного складу БС та БТ [30]. Вона може бути використана для мінімально інвазивної діагностики тканин у реальному часі *in vivo*, у випадках, коли біопсію виконати неможливо, наприклад, захворювання коронарних артерій і при хворобі Альцгеймера, або де висока частота помилкових позитивних скринінгових тестів призводить до непотрібних процедур біопсії, як при раку молочної залози [30].

У сучасних клінічних дослідженнях раманівська спектроскопія *in vivo* використовується у різних напрямках, зокрема при моніторингу розвитку катаракти [46, 47], при молекулярній діагностиці атеросклеротичних уражень коронарних судин [48, 49], при діагностиці захворювань в

тканинах людини [50], діагностики раку шкіри [51] та порожнистих органів з використанням ендоскопічного обладнання (шийка матки, стравохід, пряма кишка та ін.) [52], для моніторингу газового складу периферійної крові та її аналітів [53].

На рис. 6.16 наведена структурно-функціональної схеми вимірювальної установки для раманівської спектроскопії з використанням ЕР.

Практична реалізація вимірювання забезпечується шляхом спрямування випромінювання лазерного джерела необхідної потужності та діаметру, який регулюється оптичним коліматором, в порожнину оптичного блоку з ЕР. У порожнині рефлектора в геометричному його центрі розміщене плоске дзеркало під кутом  $45^0$  по відношенню до великої та малої напів-осі еліпсоїда обертання таким чином, аби зламати оптичну вісь на  $90^0$  і спрямувати випромінювання на досліджувану ділянку БС. Взаємодія оптичного випромінювання на атомарному та молекулярному рівні призводить до фото-збудження молекул окремих компонентів та проявляється у вигляді розсіяного назад раманівського сигналу. Як правило, ЕР площиною, що містить його перший фокус, розміщується впритул до поверхні об'єкту дослідження [6]. Завдяки цьому, а також правильному підбору параметрів рефлектора та діаметру падаючого випромінювання, забезпечується збирання практично всього випромінювання, що внаслідок розсіювання назад залишило БС. Оптичні властивості еліпсоїда обертання з внутрішньою відбиваючою поверхнею дозволяють передати пляму розсіювання, що знаходиться у площині БТ, у площину, що містить другий фокус еліпсоїда і за допомогою узгоджувальної оптики направити у вхідну щілину спектрографа. Фільтр, що знаходиться на виході з оптичного блоку може відсікати або виділяти необхідну компоненту раманівського спектру для якісної та/або кількісної ідентифікації речовини, яку діагностують. ПЗЗ камера застосовується для зручної фіксації спектру зсуву та подальшого, наприклад, регресивного аналізу.

З урахуванням геометричних розмірів вхідного вікна ЕР, через яке лазерне випромінювання вводиться в порожнину ЕР, а також функціональну залежність раманівського сигналу від потужності та ширини падаючого пучка [29], оцінімо їх граничні значення при фотометрії еліпсоїдальними рефлекторами у відбитому світлі на прикладі приладу для контролю рівня цукру (див. п. 7.3) в тканинах плеча та пальця людини. Для

цього оцінимо просторовий розподіл розсіяного випромінювання у другій фокальній площині ЕР, яке може аналізуватись інтегрально за допомогою спектрографа (рис. 6.16) або диференційно при розміщені ПЗЗ камери після фільтра [6, 7, 18, 54].

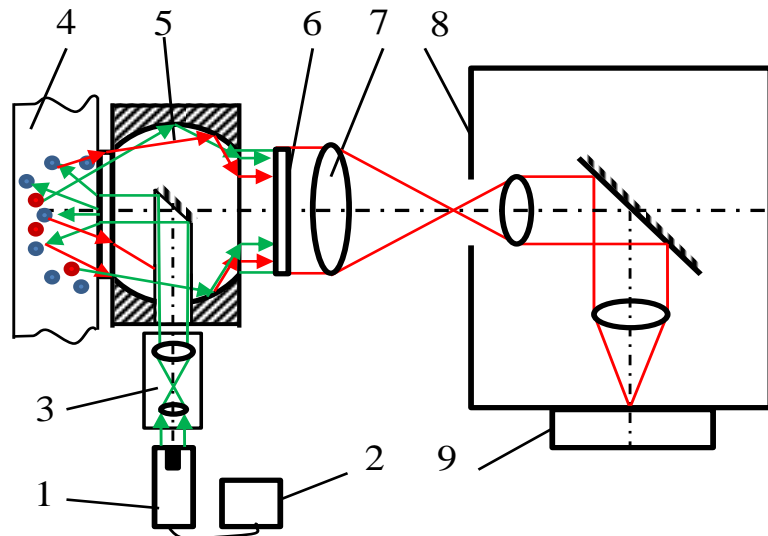


Рис. 6.16 Структурно-функціональна схема установки для раманівської спектроскопії еліпсоїдальним рефлектором: зелений колір – падаюче випромінювання; червоний колір – раманівське розсіяння; 1 – лазерне джерело світла; 2 – регулятор потужності; 3 – оптичний коліматор; 4 – біологічне середовище; 5 – оптичний блок з ЕР; 6 – фільтр; 7 – лінза; 8 – спектрограф; 9 – ПЗЗ-камера

Оптичні властивості (показник заломлення  $n$ , коефіцієнти поглинання  $\mu_a$  та розсіяння  $\mu_s$ , фактор анізотропії розсіяння  $g$ ) та геометричні розміри шарів шкіри людини та м'язової тканини наведені у таблиці 6.7. Вони ілюструють відносну варіативність властивостей багатошарового біологічного середовища на довжині хвилі 980 нм і з позицій модельного експерименту окреслюють основні принципи вибору параметрів джерела випромінювання для забезпечення ефективної раманівської спектроскопії еліпсоїдальними рефлекторами [55 – 59].

Слід зазначити, що шари шкіри людини на різних ділянках тіла мають незмінні оптичні властивості, а лише змінну товщину. При цьому вибір товщини м'язової тканини пояснюється створенням при моделюванні умов напів-нескінченного БС, а відтак неінвазивності модельного експерименту.

**Оптичні властивості шарів шкіри людини [28, 26]**

Шар шкіри	n	$\mu_a$ , см <sup>-1</sup>	$\mu_s$ , см <sup>-1</sup>	g	Товщина шару, см	
					Плече	Палець
Роговий шар	1.5	0.1	100	0.8	0.0035	0.039
Епідерміс	1.34	0.15	45	0.8	0.0107	0.0473
Дерма	1.39	0.073	20	0.76	0.246	0.128
Жирова тканина	1.44	0.068	15	0.8	0.072	0.181
М'язова тканина	1.37	2	215	0.9	1	1

Залежність освітленості, що створюється у фото-приймальній площині фотометру з ЕР, від профілю поперечного перетину лазерного пучка центральної моди TEM<sub>00</sub> розглянута в п. 6.1. Вона носить експоненціальний характер в залежності від товщини шару шкіри людини, а рівень освітленості різних зон при апертурній ПЗЗ фотометрії збільшується по мірі зміни профілю поперечного перетину лазерного пучка від напів-нескінченного (властивого багатьом практичним реалізаціям Монте-Карло симуляції поширення оптичного випромінювання в біологічних тканинах) до рівномірного (що найчастіше має місце у реальних вимірювальних засобах внаслідок дії передавальних оптичних елементів). Тому при симуляції при виконанні даного дослідження використовувалось рівномірний профіль падаючого пучка, що найбільш відповідає умовам реального експерименту, а з урахуванням результатів [28] легко може бути екстрапольований на інші профілі лазерного пучка. Параметри еліпсоїдального рефлектора: фокальний параметр 7.5 мм та ексцентриситетом 0.66. На рис. 6.17 наведений розподіл розсіяного випромінювання по площині фотоприймача при роботі з еліпсоїдальним рефлектором у відбитому світлі в залежності від діаметру падаючого пучка.

Як видно з рис. 6.17 відмінність у фотометричних зображеннях для розсіяного назад світла тканинами плеча та пальця стає малопомітною при збільшенні діаметру падаючого пучка. У той же час, при діаметрах лазерного пучка, що наближаються до умов нескінченно-тонкого, вплив діаметру більш помітний. Це створює необхідність для більш точного аналізу просторового розподілу розсіяного світла, що може бути зареєстроване за допомогою ПЗЗ камери. На рис. 6.18 наведено графіки залежності відносної по відношенню до кількості падаючих фотонів



освітленості різних зон другої фокальної площини ЕР від діаметру падаючого лазерного пучка. Абсциса на рис. 6.18 характеризує відношення діаметру падаючого пучка  $2r$  променів до діаметру робочого вікна  $2p$  (подвійного фокального параметру) ЕР.

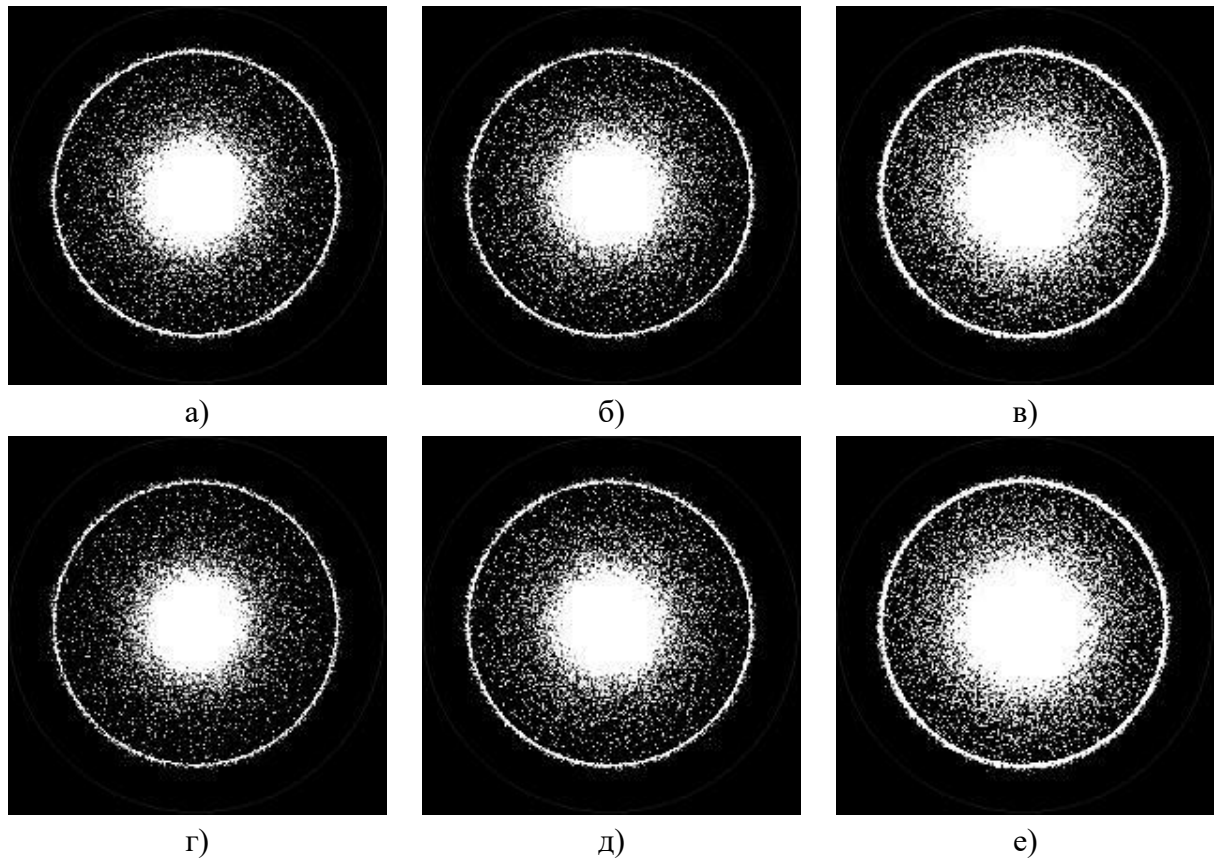


Рис. 6.17 Розподіл розсіяного випромінювання у другій фокальній площині еліпсоїдального рефлектора у відбитому світлі для багатшарової моделі тканини плеча (а, б, в) та пальця (г, д, е) людини для діаметрів падаючого лазерного променю 0.01 мм (а, г), 0.5 мм (б, д) та 1.25 мм (в, е)

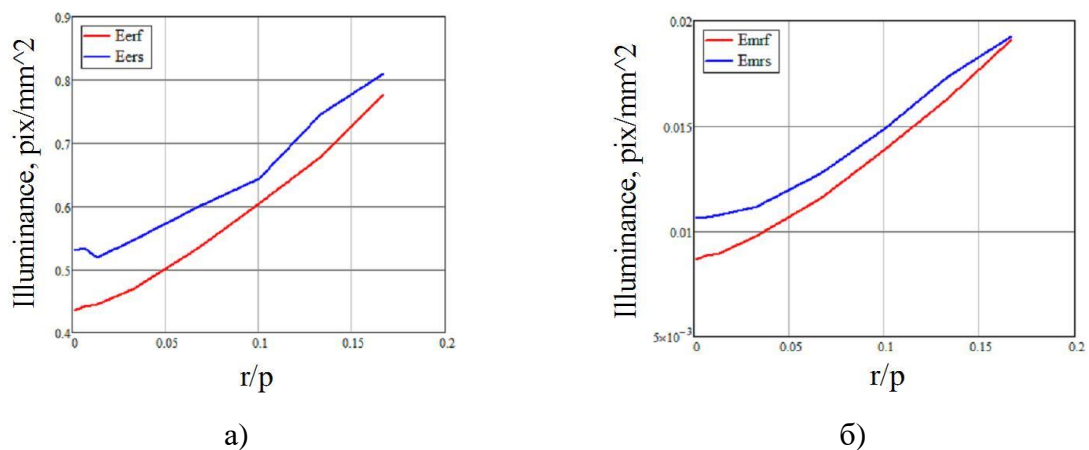


Рис. 6.18 Відносна освітленість зовнішнього (а) та середнього (б) кільця фотометричних зображень в розсіяному назад світлі для тканин плеча (синя лінія) та пальця (червона лінія) людини в залежності від діаметру падаючого променю

Освітленість як внутрішнього, так і середнього кільця фотометричних зображень зростає практично лінійно в залежності від діаметру падаючого променя. Як видно з рис. 6.18 при невеликих значеннях діаметру лазерного променя така залежність є нелінійною, проте таких діаметрів (менших за 0.1 мм) на практиці досягти доволі складно, тому з позицій прикладного застосування доцільно використовувати лінійну апроксимацію в діапазоні значущих для реального експерименту величин. Кількість світла, що збирається у зоні зовнішнього кільця (рис. 6.18.а) на порядок більша за випромінювання, зосереджене у внутрішньому кільці (рис. 6.18.б). Це свідчить про збільшення кількості фотонів, що зазнають багатократного відбиття стінками ЕР [7], а відтак і ефективності застосування рефлектора для збирання розсіяного випромінювання.

Розглянемо вплив потужності раманівського сигналу у дифузно відбитому світлі, що було зібране ЕР, за результатами симуляції Монте-Карло поширення оптичного випромінювання у системі «БС + ЕР + відсікаючий фільтр» на просторовий розподіл розсіяного світла у фото-приймальній площині ПЗЗ камери. Частка раманівського сигналу змінюється в діапазоні  $10^3 - 10^6$  фотонів, що відповідає потужності падаючого променя лазеру 0.2 мВт – 0.2 Вт. Лазер працює в безперервному режимі на довжині хвилі 980 нм, а час накопичення на комірці ПЗЗ камери складає 0.1 мс. Рис. 6.19 ілюструє залежність освітленості різних зон фотометричних зображень від потужності лазерного пучка, що падає на поверхню пальця та плеча людини.

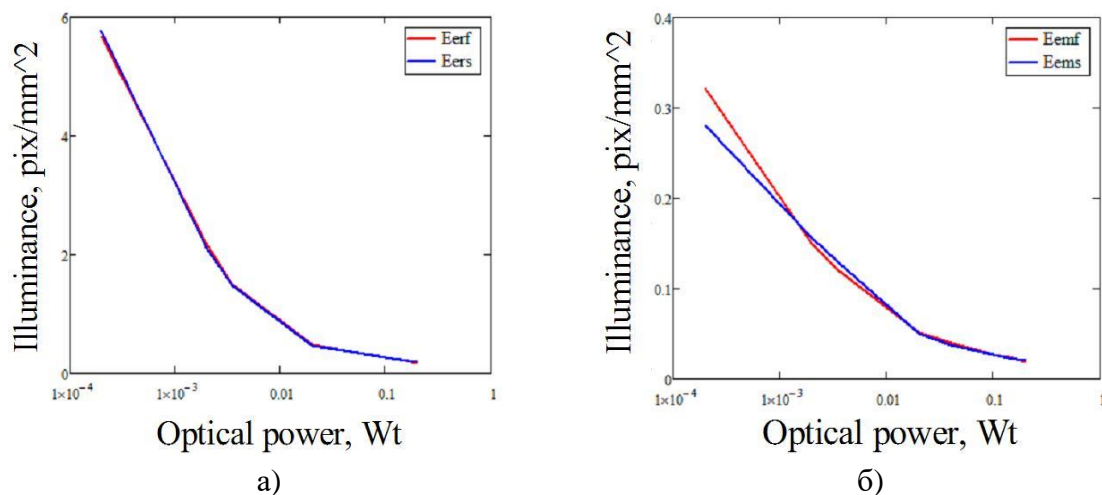


Рис. 6.19 Відносна освітленість зовнішнього (а) та середнього (б) кільця фотометричних зображень в розсіяному назад світлі для тканин плеча (синя лінія) та пальця (червона лінія) людини в залежності від потужності падаючого променя

Як видно з рис. 6.19 відносна освітленість як зовнішнього, так і внутрішнього кільця фотометричних зображень від величини падаючої потужності лазерного джерела практично співпадають для тканини плеча і пальця людини і експоненціально зменшується. Внаслідок невеликої освітленості, що створює раманівський сигнал, що пройшов крізь відсікаючий фільтр, фотометрія еліпсоїдальним рефлексором на рівнях сигналів 0.2 мВт – 0.02 мВт є недоцільною. У той же час, збільшення падаючої потужності призведе до засвічення всього поля фотометричного зображення, що також робить використання апертурної ПЗЗ-фотометрії недоречним. Таким чином, при виборі параметрів лазерного випромінювача, зокрема його діаметру та потужності, для підвищення ефективності раманівської спектроскопії еліпсоїдальними рефлексорами, перш за все, слід оперувати параметрами оптичної потужності, оскільки залежність від діаметру падаючого променя в значущому діапазоні параметрів лазерного випромінювача є лінійною.

## Список використаних джерел до розділу 6

1. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2 т. Т. 1 / пер. с англ. под ред. В. В. Тучина. Москва: Наука, Физматлит, 2007. 560 с.
2. Vo-Dinh Tuan. Biomedical Photonics Handbook II Vol. USA: CRC Press LLC, 2003. 889 p.
3. Baranoski G., Krishnaswamy A. An introduction to light interaction with human skin. *RITA*. 2004. №11 (1). P.33 – 62.
4. Пушкарева А.Е. Методы математического моделирования в оптике биоткани : Учебное пособие. СПб: СПбГУ ИТМО, 2008. – 103 с.
5. Генина Э.А. Методы биофотоники: Фототерапия. Саратов: Новый ветер, 2012. 119 с.
6. Bezuglyi M.A., Bezuglaya N.V. Ellipsoidal reflectors in biomedical diagnostic. *Biophotonics—Riga 2013* : proc. SPIE, 2013. 90320V.
7. Bezuglyi M.A., Bezuglaya N.V., Helich I.V. Ray tracing in ellipsoidal reflectors for optical biometry of media. *Appl Opt.* 2017. №56 (30). Pp. 8520–8526.
8. Bezuglyi M. A., Pavlovets N. V. Optical biometry of biological tissues by ellipsoidal reflectors, *Proc. OSA-SPIE*, 2013. 8798.

9. Meglinskii I.V. Monte Carlo simulation of reflection spectra of random multilayer media strongly scattering and absorbing light. *Quantum Electronics*. 2001. №31. P.1101–1107.
10. Prahl S.A., Keijzer M., Jacques S.L., Welch A.J. A Monte Carlo Model of Light Propagation in Tissue. *Dosimetry of Laser Radiation in Medicine and Biology. SPIE Institute Series*. 1989. №5. P.102–111.
11. Будаговский А.В. Дистанционное межклеточное взаимодействие : монография. Москва: НППЦ «Техника», 2004. 104 с.
12. Sudha G.F, Palnivalu T.G. Electronic biopsy for skin cancer detection. *Current science*. 2004. №87 (5). P. 645–649.
13. Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I. and Tuchin V.V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *J. Phys. D Appl. Phys.* 2005. №38(15). P. 2543–2555.
14. Cui W. Ostrander L.E. The relationship of surface measurements to optical properties of layered biological media. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1992. №39, P.194–201.
15. Кожем'яко В.П., Павлов С.В., Станчук К.І. Оптико-електронні методи і засоби для обробки та аналізу біомедичних зображень : монографія. Вінниця: УНІВЕРСУМ-Вінниця, 2006. 203 с.
16. Елисеєв Ю.Ю. Заболевания кожи: полный медицинский справочник для всей семьи. Москва : Эксмо, 2009. 608 с.
17. М.В.Павловець, М.О. Безуглий, «Комп'ютерна програма «Еліпсоїдальна фотометрія» (Ellipsoidal Photometry) ("BT Mod")», *Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 68440*, 02.11.2016.
18. Безуглый М.А., Безуглая Н.В., А.Б. Самиляк Обработка изображений при эллипсоидальной фотометрии. *Приборы и методы измерений*. 2016. Т. 7, №1. С. 67–76.
19. Jacques S. L. Optical properties of biological tissues: a review. *Phys. Med. Biol.* 2013. №58. P.R37–R61.
20. Hall G., Jacques S.L, Eliceiri K.W., Campagnola P.J. Goniometric measurements of thick tissue using Monte Carlo simulations to obtain the single scattering anisotropy coefficient. *Biomedical optics express*. 2012, №3 (11). P.2707–2719.

21. Bezuglyi M.A., Yarych A.V., Botvinovskii D.V. On the possibility of applying a mirror ellipsoid of revolution to determining optical properties of biological tissues. *Optics and Spectroscopy*. 2012. №113. Pp.101–107.
22. Bezuglyi M. A., Pavlovets N. V. Optical biometry of biological tissues by ellipsoidal reflectors, *Proc. OSA-SPIE*, 2013. 8798.
23. Gobbold R.S.C. Transducers for Biomedical Measurements: Principles and Applications. New York: Wiley, 1974. 486 p.
24. Handbook of Biological Confocal Microscopy / edited by J.B. Pawley. Springer Science and Business Media, 2010. 985 p.
25. Yaroslavsky, A. N., Schulze, P. C., Yaroslavsky, I. V. et al. 2002b. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range. *Phys. Med. Biol.* №47. P. 2059 – 2073.
26. Меглинский И.В., Башкатов А.Н., Генина Э.А., Чурмаков Д.Ю., Тучин В.В. Исследование возможности увеличения глубины зондирования методом отражательной конфокальной микроскопии при иммерсионном просветлении приповерхностных слоев кожи человека. *Квантовая электроника*. 2002. Т.32, №10. С. 875 – 882.
27. Ritz J.-P., Roggan A., Isbert Ch., Mueller G., Buhr H.J., Germer Ch.-T. Optical Properties of Native and Coagulated Porcine Liver Tissue Between 400 and 2400 nm. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2001. Vol. 29, №3. P. 205 – 212.
28. Bezuglyi M.A., Bezuglaya N.V., Kostuk S. Influence of laser beam profile on light scattering by human skin during photometry by ellipsoidal reflectors, *Devices and Methods of Measurements*. 2018. №9(1). P. 56-65
29. Chan J.W., Taylor D. S., Zwerdling Th., Lane S.M., Talley Ch.E., Hollars Ch.W., Huser Th. Raman spectroscopy: chemical analysis of biological samples. *Advances in Biophotonics* / edited by B.C. Wilson et al. IOS Press, 2005. P. 148-168.
30. Jansen A.M., Patil Ch.A., Pence I.J. Raman spectroscopy: from benchtop to bedside. *Biomedical Photonics Handbook vol.II: Biomedical Diagnostics* / edited by T. Vo-Din. USA: CRC PressTaylor & Francis Group, 2015. P. 759- 803.
31. Nafie L.A. Theory of Raman scattering. *Handbook of Raman spectroscopy* / edited by I.R. Lewis, H.G.M. Edwards. New York: Marcel Dekker, 2001. P.1-10.

32. Hanlon E.B., Manoharan R., Koo T-W., Shafer K.E., Motz J.T., Fitzmaurice M., Kramer J.R., Itzkan I., Dasari R.R., Feld M.S. Prospect for in vivo Raman spectroscopy *Phys. Med. Biol.* 2000. Vol. 45. P. R1–R59.
33. Ferraro J.R., Nakamoto K. Introductory Raman Spectroscopy. San Diego, CA: Academic Press, 1994. 435 p.
34. Xie Ch., Dinno M.A. Li Y. Near-infrared Raman spectroscopy of single optically trapped biological cells. *Optical letters.* 2002. Vol.27, №3. P. 249-251.
35. Colthup N.B., Daly L.H., Wiberley S.E. Introduction to infrared and Raman spectroscopy. New York, NY: Academic Press, 1990. 548 p.
36. Naumann D. FT-infrared and FT-Raman spectroscopy in biomedical research. *Applied spectroscopy reviews.* 2001. Vol. 36. №2-3. P. 239–298.
37. Caspers P., Lucassen G.W., Bruining H.A., Puppels G.J. Automated depth-scanning confocal Raman microspectrometer for rapid in vivo determination of water concentration profiles in human skin. *Journal of Raman Spectroscopy.* 2000. Vol. 31, №8–9. P. 813–818.
38. Cialla D., März A., Böhme R., Theil F., Weber K., Schmitt M., Popp J. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): Progress and trends. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 2012. Vol.403, №1. P. 27–54.
39. Szymanski H.A. Raman spectroscopy: theory and practice. New York: Plenum Publishing Corporation, 1967. 222 p.
40. Asher S.A., UV resonance Raman spectroscopy for analytical, physical, and biophysical chemistry. *Analytical Chemistry.* 1993. Vol. 65, №4. P. 201A–210A.
41. Schomacker K.T., Frisoli J.K., Compton C.C., Flotte Th.J., Richter J.M., Nishioka N.S., Deutsch Th.F. Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: basic biology and diagnostic potential. *Lasers in surgery and medicine.* 1992. №12. P. 63-78.
42. Feld M.S., Kramer J.R. Mutagenicity and the XeCl excimer laser: A relationship of consequence? *American Heart Journal.* 1991. Vol. 122, №6. P. 1803–1805.
43. Masihzadeh O., Ammar D.A., Kahook M.Y., Lei T.C. Coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy: A novel technique for imaging the retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2013. Vol. 54, №5, P. 3094–3101.

44. Bailo E., Deckert V., Tip-enhanced Raman scattering. *Chemical Society Reviews*. 2008. Vol. 37, №5. P. 921–930.
45. Saar B.G, Freudiger C.W., Reichman J., Stanley C.M., Holtom G.R., Xie X.S. Video-rate molecular imaging in vivo with stimulated Raman scattering. *Science*. 2010. Vol. 330, №6009. P. 1368–1370.
46. Zhuang Z., Zhu M., Huang Y., Guo J. Li, Zh., Xiong K., Chen N. Li, S., Qiu X. Study of molecule variation in various grades of human nuclear cataracts by confocal micro-Raman spectroscopy. *Applied Physics Letters*. 2012. Vol. 101, №17. P. 173701–173701-3.
47. Lin Ch.-Ch., Kuo M.-T., Chang H.-Ch. Review: Raman spectroscopy – a novel tool for noninvasive analysis of ocular surface fluid. *Journal of Medical and Biological Engineering*. Vol.30, №6. P. 343-354.
48. Mahadevan-Jansen A., Sowa M.G., Puppels G.J., Gryczynski Z., Vo-Dinh T., Lakowicz J.R., Diagnosis of atherosclerosis in human carotid artery by FT-Raman spectroscopy: Principal Components Analysis algorithm. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*. 2004. Vol. 5321. P.205-211.
49. Silveira L.Jr., Sathaiah S., Zangaro R.A., Pacheco M.T., Chavantes M.C., Pasqualucci C.A. Correlation between near-infrared Raman spectroscopy and the histopathological analysis of atherosclerosis in human coronary arteries. *Lasers Surg Med*. 2002. Vol.30, №4. P. 290-297.
50. Chen P., Shen A., Zhou X, Hu J. Bio-Raman spectroscopy: A potential clinical analytical method assisting in disease diagnosis. *Anal. Methods*. 2011. №3. P. 1257-1269.
51. Kong K., Kendall C.A., Stone N., Nottingher I. Raman spectroscopy for medical diagnostics — From in-vitro biofluid assays to in-vivo cancer detection. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2015. pp. 1-35.
52. Jeong S., Kim Y., Kang H., Kim G. et al. Fluorescence-Raman dual modal endoscopic system for multiplexed molecular diagnostics. *Scientific Reports*. 2015. Vol. №5:9455. P. 1-9.
53. Enejder A.M.K., Koo T.-W., Oh J., Hunter M., Sasic S., Feld M.S. Blood analysis by Raman spectroscopy. *Optics Letters*. 2002. Vol. 27, №22. P. 204-206.
54. Безугла Н.В., Безуглий М.О., Чмир Ю.В. Просторова потокова біометрія середовищ еліпсоїдальними рефлекторами. *Електроніка і зв'язок*. 2014. Том 19. №6(83). С. 87 – 93.

55. M. Bezuglyi, and N. Bezuglaya, "Raman spectroscopy principles for in vivo diagnostic by ellipsoidal reflectors", *Electrical, Control and Communication Engineering*, vol. 15, no.1, pp. 39 – 46, 2019.
56. M. Bezuglyi, N. Bezuglaya, O. Kuprii, and I. Yakovenko, "The non-invasive optical glucometer prototype with ellipsoidal reflectors", in *Proc. IEEE 59th International Scientific Conference Power and Electrical Engineering of Riga Technical University (RTUCON)*, Riga, 2018, p. 1-4.
57. М.О. Безуглий, Н.В. Безугла, «Особливості неінвазивної глюкометрії еліпсоїдальними рефлекторами», на *XVII Міжнародній науково-технічній конференції «Приладобудування: стан і перспективи»*; Київ, 2018, с.136 – 137.
58. А.И. Куприй, М.А. Безуглый, «Неинвазивный оптический глюкометр с эллипсоидальными рефлекторами», на *10-й Международной научно-технической конференции «Приборостроение–2017»*; Минск, 2017, с. 383-385.
59. А.С. Кондратюк, М.О. Безуглый, «ИК спектроскопия в медицинском приложении», на *10 Науковій-технічній конференції «Фізичні процеси та поля технічних і біологічних об'єктів»*, Кременчук, 2011, с. 89 – 90.