

*В.И. Букатый, Т.К. Кронберг,*

*Я.В. Павлова, С.И. Сакович*

### **Интенсивность рассеянного лазерного излучения при прохождении через слой крови**

Рассеяние, наряду с поглощением, является основным процессом, определяющим распространение света в газообразных, жидких и твердых телах, в том числе и в биологических объектах. Методы упругого рассеяния обычно используют для исследования бактерий, форменных элементов крови, тканей глаза. Эти биообъекты характеризуются разнообразием форм и размеров. В видимой области спектра чаще всего исследуемые частицы, взвешенные в базовом веществе, имеют малое значение как действительной части относительного показателя преломления  $m$  (1,02 – 1,2), так и мнимой части  $\chi$  ( $10^{-5}$  –  $10^{-2}$ ),  $n = m + i\chi$  [1].

Рассмотренные ранее эффекты и результаты исследований оптики биотканей с различной структурной организацией показывают необходимость углубленного изучения их оптических характеристик. К настоящему времени качественная (а иногда и количественная) картина распространения света в биотканях может быть описана достаточно полно, что позволяет реализовывать ту или иную стратегию оптической диагностики, терапевтического или хирургического воздействия. Однако в ряде случаев количественные оценки дозы облучения или диагностического параметра оказываются затруднительными из-за отсутствия надежных данных для оптических параметров биотканей или их изменения в процессе взаимодействия света с объектом.

Рассеяние света кровью связано с ее структурой, которая состоит из большого числа случайно распределенных в объеме рассеивающих центров. Процесс рассеяния приводит к изменениям в пространственном распределении интенсивности света, поэтому одной из основных характеристик при изучении светорассеяния является индикатриса, определяющая интенсивность света как функцию угла рассеяния. Измерение индикатрисы рассеяния заключается в освещении слоя крови, помещенного в кювету, пучком света и регистрации интенсивности рассеянного веществом излучения под различными углами. Определение индикатрисы рассеяния, а также распределения интенсивности прошедшего света по сечению выходного пучка дает возможность ка-

чественно и количественно судить о размерах зоны влияния излучения на кровь.

Для большого класса задач, связанных с прохождением излучения через рассеивающие среды, актуальной является информация о трансформации светового пучка по угловой и радиальной переменным [2]. Наряду с экспериментальными исследованиями в данном направлении принимаются попытки построения строгой теории рассеяния света в биотканях, а также компьютерное моделирование данного процесса. Группой ученых МГУ имени М.В. Ломоносова подробно рассмотрены теория многократного рассеяния света для случая движущихся в сдвиговом потоке эритроцитов (модель крови) и компьютерное моделирование процесса светорассеяния биотканью, которые важны как для проведения реальных экспериментов, так и для правильной интерпретации получаемых экспериментальных результатов [3].

В плотноупакованной системе частиц, какую представляет собой кровь, индикатриса рассеяния может несколько отличаться от соответствующего значения для изолированной частицы. Такие отличия вызваны интерференционным взаимодействием рассеянного соседними частицами излучения. Из анализа формулы Тринкса следует, что в зависимости от расстояния между двумя малыми частицами и их размеров интенсивность рассеянного света может быть как больше, так и меньше по сравнению с интенсивностью света, рассеянного двумя независимыми частицами [4]. Свойства биологической среды подвержены случайным изменениям в пространстве и времени, в результате чего амплитуда и фаза распространяющихся в них волн также могут претерпевать пространственно-временные флуктуации. Эти флуктуации в рассеянии волн играют важную роль во многих проблемах, представляющих практический интерес. В частности, биологи могут использовать рассеяние волн в диагностических целях [5]. Однако в плотноупакованной системе расположение частиц не может быть совершенно случайным. В их расположении будет наблюдаться упорядоченность ближнего порядка, степень кото-

рой тем выше, чем выше плотность рассеивающих центров и чем уже их распределение по размерам. Имея дело с волной в облаке из множества частиц, следует рассмотреть два предельных случая: разреженные и плотные облака [5]. Если плотность частиц мала, можно использовать приближение однократного рассеяния. В этом приближении предполагается, что излученная волна приходит к приемному устройству, встретившись лишь с очень небольшим числом частиц. При этом считается, что рассеянная волна порождается однократным рассеянием на какой-либо частице, а рассеяние более высоких кратностей считается пренебрежимо малым. Результаты такого приближения чрезвычайно просты и широко используются в приложениях. При увеличении концентрации частиц уже нельзя считать, что распространяющаяся в прямом направлении волна не отличается от падающей, и возникает необходимость учитывать затухание волны из-за рассеяния и поглощения вдоль пути распространения. В таком приближении по-прежнему считается, что рассеянная волна обусловлена однократным рассеянием на частице, но здесь уже учитывается затухание из-за рассеяния и поглощения как падающей, так и рассеянной волн при их распространении. Такой подход частично учитывает многократное рассеяние, и поэтому его называют первым приближением теории многократного рассеяния. Разграничение различных приближений должно зависеть от таких величин, как оптический путь и альбедо, которые зависят от длины волны, размера частиц и их характеристик рассеяния, а также от свойств излучателя и приемника. Указанные выше два приближения – однократное рассеяние и первое приближение многократного рассеяния – пригодны для описания большинства встречающихся на практике задач. Относительная простота этих методов обусловила их чрезвычайно широкое использование. Однако оба этих приближения пригодны лишь для разреженных облаков частиц. В противоположном случае, когда плотность частиц велика, оказывается полезным другой подход, который называется диффузионным приближением. Существует еще промежуточная область концентраций частиц, лежащая между областями малых плотностей (когда применимо однократное рассеяние и первое приближение теории многократного рассеяния) и больших плотностей (когда справедливо диффузионное приближение), где многократное рассеяние играет важную роль. Для изучения закономерностей прохождения излучения че-

рез среды с плотной упаковкой удобно выбрать кровь. С одной стороны, распространение излучения через кровь представляет интерес для клинической медицины в качестве диагностики заболеваний, с другой стороны, отработанные методики расчета многократного рассеяния могут быть применены к другим плотноупакованным средам со схожими оптическими свойствами.

Основной целью данной работы стало выявление зависимости углового распределения света от концентрации рассеивающих частиц – эритроцитов, а также от толщины слоя крови, а затем по экспериментально полученным данным построение их графического изображения и сравнение с теоретическими расчетами.

Оптический квантовый генератор (гелий-неоновый лазер с длиной волны излучения 630 нм) в качестве осветителя выбран из следующих соображений:

- малая угловая расходимость лазерного пучка позволяет обойтись без сложной оптической системы, которая необходима при использовании в качестве осветителей других источников;

- благодаря высокой удельной плотности энергии лазерного луча при исследовании можно ограничиться сравнительно небольшим объемом крови;

- монохроматичность источника существенно упрощает теоретические расчеты индикатрисы в малых углах, которые необходимы для сопоставления результатов эксперимента с теорией.

Эксперименты по получению индикатрисы рассеяния проводились по следующей методике. Световой пучок лазера проходит через кювету с кровью и попадает на фотоэлектронный умножитель (ФЭУ-68), перед которым расположена система из трех диафрагм (угол поля зрения  $1^0$ ). Данная система пропускает лучи в малом телесном угле. Сигнал с ФЭУ идет на регистрирующий прибор (милливольтметр цифровой постоянного тока Щ 1516). Перемещая диафрагму совместно с ФЭУ перпендикулярно осевому лучу, можно регистрировать свет, рассеянный под разными углами. Измерения интенсивности проводились через каждые пять градусов.

Эксперименты по определению угловой зависимости светорассеяния проводились при двух различных концентрациях крови. В ходе работы использовалась цельная кровь и разбавленная в 25 раз при сохранении всех прочих условий эксперимента неизменными. Подсчет количества эритроцитов проводился

с использованием сетки Горяева [6]. Кровь разбавлялась плазмой. Количество эритроцитов в одном микролитре крови составляло  $3,70 \cdot 10^6$  штук/мкл и  $0,15 \cdot 10^6$  штук/мкл для цельной и разбавленной проб крови, соответственно. Также были проведены опыты с использованием набора кювет различной толщины. Толщина слоя крови изменялась в интервале 0,1–1,08 мм. При этом концентрация крови считалась постоянной величиной и была равна  $3,70 \cdot 10^6$  штук/мкл. Зависимости интенсивности лазерного излучения от угла рассеяния для различных концентраций крови приведены на рисунке 1.

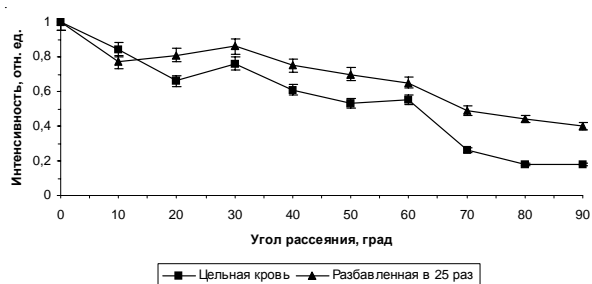


Рис. 1. Зависимость углового распределения лазерного излучения для различных концентраций крови

Анализ полученных результатов показывает, что при уменьшении концентрации крови в 25 раз значения интенсивности излучения меняются менее скачкообразно. Как видно из рисунка 1, кривая, описывающая угловую зависимость разбавленной крови, расположена выше кривой, описывающей угловую зависимость лазерного излучения при прохождении через цельную кровь. Это хорошо согласуется с теорией о том, что основными центрами рассеяния в крови являются эритроциты. Цельную кровь рассматривают как среду с плотной упаковкой, с увеличением плотности которой уменьшается коэффициент рассеяния, а значит, и интенсивность рассеянного света. В пределе, когда плотность упаковки крови достигает своего максимального значения, коэффициент рассеяния стремится к нулю. С уменьшением количества эритроцитов вклад рассеяния лазерного излучения вперед существенно повышается, а рассеяние в обратном направлении уменьшается. В целом качественный вид индикатрисы рассеяния не изменяется. На рисунке 1 приведены индикатрисы, нормированные на единицу.

Изучение угловой зависимости интенсивности лазерного излучения при прохождении

через различные толщины слоя крови проводилось на этой же установке, с использованием методики, описанной в предыдущем опыте. В данных экспериментах использовалась цельная кровь с концентрацией частиц  $N = 3,70 \cdot 10^6$  штук/мкл. По полученным данным были построены индикатрисы рассеяния.

Для сравнения экспериментальных данных с теорией были получены индикатрисы рассеяния при помощи компьютерного моделирования. При моделировании процесса методом Монте-Карло были получены следующие результаты. Расчеты проводились при длине волны  $\lambda = 630$  нм. За толщину слоя крови принимали одно из значений, взятое из диапазона 0,1–1,08 мм. Число статистических испытаний  $N' = 50000$ . На различных глубинах производится подсчет фотонов, попавших в кольцевые зоны шириной 10 мкм, на которые разбиваются плоскости, перпендикулярные оси пучка лазерного излучения. За исключением начального участка трассы полный нормированный поток энергии убывает по экспоненте в зависимости от координаты по закону Бугера–Ламберта. Вблизи от точки падения излучения на слой крови потери энергии, связанные с поглощением и обратным рассеянием, малы, поэтому убыль энергии пропорциональна пройденному пути. Как показали численные расчеты, при толщине слоя порядка 0,25 мм около 10% световой энергии рассеивается в обратном направлении, и столько же поглощается. При глубине проникновения 0,85 мм доля поглощенной энергии составляет 39%, доля энергии, рассеянной в обратном направлении, — 25% от падающей энергии. На увеличение обратного рассеяния указывает уменьшение среднего косинуса угла рассеяния  $\langle \cos\theta \rangle$  с ростом толщины  $h$ . Зависимость  $\langle \cos\theta \rangle$  от  $h$  приведена на рисунке 2. Из данного рисунка видно, что с увеличением толщины косинус угла рассеяния уменьшается по зависимости, близкой к линейной. Это означает, что доля излучения, рассеянного вперед, уменьшается пропорционально толщине слоя крови. Энергия

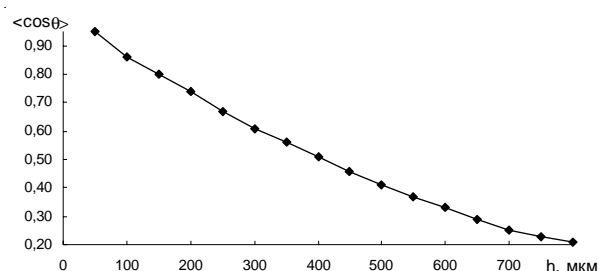


Рис. 2. Зависимость среднего косинуса угла рассеяния от толщины слоя крови

переносится преимущественно в узкой приосевой области. Многократное рассеяние выносит энергию с оси пучка в приосевую область и перераспределяет ее по поперечному сечению.

Согласно закону Бугера-Ламберта отношение интенсивности прошедшего излучения  $I_d$  к интенсивности падающего излучения  $I_0$  зависит от толщины поглощающего слоя  $h$  по экспоненциальному закону, поэтому удобно данную зависимость изображать в координатах  $\ln(I_d/I_0)$  от  $h$ , где она является линейной.

Такой график позволяет определить коэффициент ослабления  $\alpha$  по тангенсу угла наклона прямой. Определенный графическим методом коэффициент ослабления составляет  $\alpha=8,6 \text{ мм}^{-1}$ , экспериментально определенный коэффициент  $\alpha$  изменяется в пределах  $7,91 \div 8,99 \text{ мм}^{-1}$ . Таким образом, полученное численным моделированием значение попадает в интервал значений коэффициента ослабления, полученного экспериментальным путем. Данное обстоятельство подтверждает правильность выбора методики для определения коэффициента ослабления лазерного излучения кровью человека. Зависимость интенсивности прошедшего света от толщины  $h$  представлена на рисунке 3.

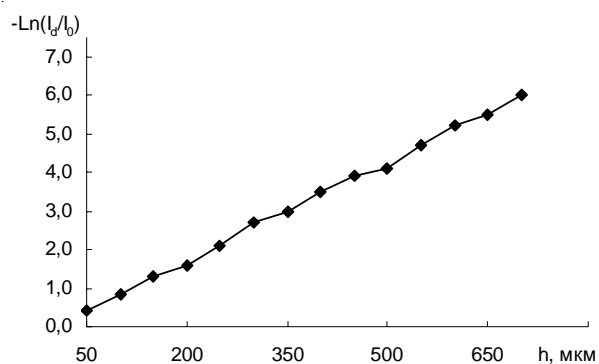


Рис. 3. Зависимость логарифма отношения интенсивностей от толщины слоя крови

В ходе экспериментов по определению индикатрисы рассеяния для различных слоев неразбавленной крови были получены следующие результаты, которые затем сравнивались с теорией. Качественный вид индикатрис рассеяния остается неизменным с ростом толщины кровяного слоя. Изменяется только пик индикатрисы, т.е. значение отношения интен-

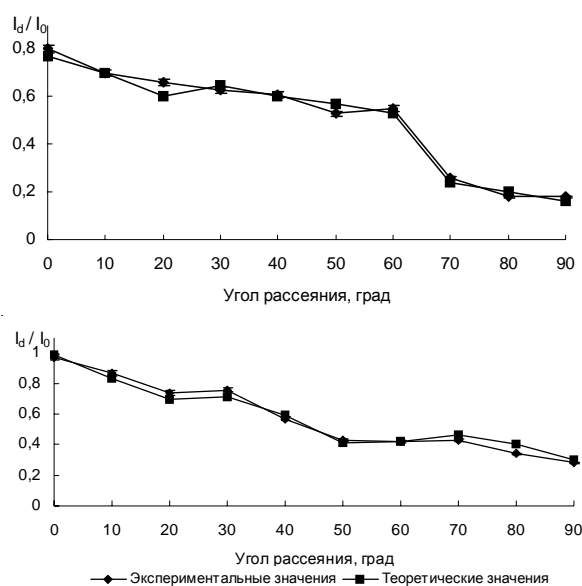


Рис. 4. Экспериментальные и теоретические зависимости интенсивности рассеянного излучения от угла рассеяния для различных толщин слоя крови: а)  $d = 25 \text{ мкм}$ , б)  $d = 100 \text{ мкм}$ , в)  $d = 500 \text{ мкм}$ , г)  $d = 850 \text{ мкм}$

сивностей при угле рассеяния  $\theta = 0^\circ$ . Уменьшение пика индикатрисы обусловлено ростом обратного рассеяния с ростом толщины  $h$ . Интенсивность излучения на оси пучка убывает по экспоненте с коэффициентом ослабления  $\alpha$ . Погрешность отношения интенсивностей складывается из погрешности в определении угла рассеяния и погрешности вольтметра, так как интенсивность излучения  $I$  пропорциональна напряжению, снимаемому с ФЭУ. Данная погрешность составляет около 2%. Для сравнения экспериментальных данных с теорией численным моделированием при помощи метода Монте-Карло были построены индикатрисы рассеяния для таких же слоев крови. Индикатрисы рассеяния были построены для слоев крови с толщинами 0,25, 100, 500, 850 мкм. Здесь, так же как и в эксперименте, было отмечено единство качественного характера угловой зависимости интенсивности лазерного излучения и уменьшение пика индикатрисы с ростом толщины слоя крови. На рисунке 4 представлены теоретические и экспериментальные индикатрисы рассеяния для каждого слоя крови. Из рисунка 4 видно, что результаты опыта хорошо согласуются с теоретическими данными.

## Литература

1. Борен К., Хафмен Д. Поглощение и рассеяние света малыми частицами. М., 1987.
2. Букатый В.И., Кронберг Т.К., Михеев Д.В. Пространственное и угловое распределение светового поля в ансамбле частиц с сильно вытянутой индикатрисой рассеяния // Оптика атмосферы и океана, 14, №3. 2001.
3. Лопатин В.В., Приезжев А.В., Федосеев В.В. Численное моделирование процесса распространения света в мутных биологических средах // Биомедицинская радиоэлектроника, №7. 2000.
4. Королевич А.Н., Хайруллина А.Я., Шубочкин Л.П. Матрица рассеяния монослоя оптически «мягких» частиц при их плотной упаковке // Оптика и спектроскопия, 1990. Т. 68.
5. Иссимару А. Распространение и рассеяние волн в случайно-неоднородных средах. М., 1981.
6. Козловская А.В., Николаев А.Ю. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. М., 1985.