



УДК 53.082.5:611.018.51

С.А. Лысенко, М.М. Кугейко

Белорусский государственный университет,
220030, Минск, просп. Независимости, 4; e-mail: Kugeiko@bsu.by

РЕГРЕССИОННЫЕ МЕТОДЫ ОПТОЭЛЕКТРОННОЙ ДИАГНОСТИКИ КРОВИ И БИОТКАНЕЙ

Рассматривается способ оперативного измерения комплекса биофизических параметров крови по данным фотометрических измерений капилляра с кровью. Способ учитывает поглощение света гемоглобином, его производными и продуктами распада, а также рассеяние форменными элементами крови. Предложен регрессионный подход к интерпретации спектров отражения света от сетчатки относительно ее биофизических параметров. Установлен набор наиболее информативных длин волн рассеянного излучения для определения концентрации гемоглобина и степени насыщения крови кислородом. Получены уравнения регрессий между спектральными значениями коэффициента отражения и искомыми параметрами сетчатки.

ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ, ГЕМАТОКРИТ, КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЕМОГЛОБИНА, СТЕПЕНЬ НАСЫЩЕНИЯ КИСЛОРОДОМ, БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕТЧАТКИ, МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ, РЕГРЕССИОННЫЕ УРАВНЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

Содержание производных гемоглобина в крови, объемная концентрация и распределение по размерам форменных элементов крови – важнейшие диагностические параметры, определяющие жизнедеятельность всего организма человека. Для их определения необходима предварительная обработка крови и привлечение целого комплекса методов. Концентрация гемоглобина определяется фотометрированием крови, предварительно обработанной в трансформирующем растворе, с целью разрушения эритроцитов и получения необходимых оптических параметров пробы. Фотометрирование продукта распада гемоглобина – билирубина требует получение плазмы крови путем ее центрифугирования. Объемное содержание в крови эритроцитов (гематокрит) также определяется путем центрифугирования крови в стандартном капилляре и ее разделения на плазму и эритроциты. О размерах элементов крови судят по результатам кондуктометрических измерений.

Неинвазивные измерения концентрации гемоглобина $C_{\text{Нб}}$ и степени насыщения кислородом крови S в сетчатке необходимы для обнаружения на ранней стадии таких заболеваний как глаукома и диабетическая ретинопатия. Однако, несмотря на большое количество публикаций, посвященных определению данных параметров из измерений спектров отражения света от сетчатки $R(\lambda)$, их количественная интерпретация сводится либо к использованию ряда упрощающих предположений о характере распространения излучения в слоистой дисперсной среде (закон Ламберта-Бера, диффузное приближение, метод потоковых моделей и т. п.), значительно снижающих ценность получаемых на их основе результатов, либо к использованию методов, требующих больших вычислительных затрат и

практически не реализуемых для измерений в реальном времени. Кроме того, в большинстве методик не принимаются во внимание возможные вариации толщин слоев сетчатки и ее рассеивающих характеристик.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ

В докладе рассматривается способ определения абсолютных концентраций общего гемоглобина tHb, оксигемоглобина HbO₂, метгемоглобина MetHb и билирубина Bil, а также эффективного размера эритроцитов r_{eff} и гематокрита H , основанный на фотометрировании тонкой кюветы или капилляра с цельной кровью (не разбавленной и не гемолизированной) на длинах волн $\lambda = 490, 523, 630, 660, 700, 805$. Длина волны 490 нм находится на склоне спектральной кривой поглощения билирубина (т.к. производить фотометрирование для меньших λ невозможно из-за сильного поглощения и рассеяния кровью); 523 нм – изобестическая точка производных гемоглобина (в которой поглощение кровью зависит только от tHb); 630 нм – максимум поглощения метгемоглобина; 660 нм – соответствует максимальному различию молярных коэффициентов поглощения гемоглобина и оксигемоглобина, а 700 нм – оксигемоглобина и карбоксигемоглобина; 805 нм – изобестическая точка в которой коэффициенты поглощения и рассеяния не зависят от насыщения крови кислородом S .

Расчет искомым биофизических параметров крови (БФП) осуществляется на основе уравнений полиномиальных множественных регрессий:

$$\ln \text{БФП} = a_p + \sum_{i=1}^6 \sum_{k=1}^m b_{ik} \ln [T(\lambda_i)]^k, \quad (1)$$

где T – полное пропускание (как прямого, так и рассеянного) излучения капилляром. Коэффициенты регрессий предварительно рассчитываются на основе разработанной авторами оптической модели крови с варьируемыми БФП (характерными как для нормы, так и при патологиях) и рассчитанных методом Монте-Карло значений $T(\lambda)$ на вышеуказанных λ . Для расчета регрессионных коэффициентов и оценок погрешностей определения авторами разработан пакет компьютерных программ, позволяющий задавать диапазоны вариаций БФП, геометрическую схему измерения (включающую толщину кюветы или диаметр капилляра; диаметр и распределение интенсивности в сечении падающего светового пучка; положение и размеры ПЗС-матрицы регистрации отраженного кровью и(или) пропущенного через кровь излучения), степень полиномов в (1) и погрешности оптических измерений.

При моделировании преломление фотона на границах раздела сред (кровь-стекло-воздух) в методе Монте-Карло используется векторная форма закона преломления:

$$q' = N + (n' \cdot \cos \varepsilon' - n \cdot \cos \varepsilon) \cdot q, \quad (2)$$

где $q = (n \cdot \mu_x; n \cdot \mu_y; n \cdot \mu_z)^T$ – оптический лучевой вектор, n и n' – показатели преломления сред, ε и ε' – углы падения и преломления; N – вектор нормали к границе раздела в точки падения фотона.

Для моделирования процесса однократного рассеяния фотона индикатриса рассеяния $P(\mu)$ (μ – косинус угла рассеяния) предварительно задавалась в виде таблицы с линейной интерполяцией, а нахождение направления рассеяния осуществлялось из решения уравнения (сводящегося к квадратному):

$$\frac{1}{2} \int_{-1}^{\mu} P(x) dx = \xi, \quad \xi \in [0, 1]. \quad (3)$$

Эритроциты, определяющие рассеивающие свойства крови, моделируются хаотически ориентированными эллипсоидами вращения. Для расчета характеристик рассеяния сфероидальных частиц используется гибридная аппроксимация, основанная на соотношениях Релея-Ганса-Дебая и условиях эквивалентности объема и площади поверхности хаотически ориентированного сфероида и полидисперсного ансамбля сферических частиц с функцией распределения последних по дифракционному параметру, зависящей от отношения полуосей сфероида. Расчет светорассеяния от шарообразных частиц ведется по формулам теории Ми. Достоверность получаемых с использованием разработанных программ результатов подтверждена их хорошим соответствием точным расчетам по алгоритму метода Т-матриц.

Действительная n и мнимая k части комплексного показателя преломления эритроцитов определяются в соответствии с объемными содержаниями гемоглобина и его производных в составе эритроцитов:

$$n = n_0(\lambda) + \beta(\lambda) \cdot \text{FtHb},$$

$$k = \frac{\lambda}{4\pi} \left\{ \alpha_{\text{COHb}} \text{FCOHb} + \alpha_{\text{MetHb}} \text{FMetHb} + (1 - \text{FCOHb} - \text{FMetHb}) \left(\alpha_{\text{HbO}_2} S + \alpha_{\text{HbO}_2} (1 - S) \right) \right\}, \quad (4)$$

где n_0 – показатель преломления межклеточной жидкости, спектральная зависимость коэффициента β известна из литературы.

Распределение эритроцитов по размерам $f(a)$ при фиксированном параметре формы $\varepsilon = a/b$ (где a и b – полуоси эллипсоида) описывается обобщенной гамма-функцией, достаточно хорошо соответствующей многочисленным экспериментальным исследованиям образцов крови:

$$f(a) = A a^\xi \exp(-\xi a/a_0), \quad (5)$$

где N – счетная концентрация эритроцитов, a – модальный размер, ξ – параметр полуширины распределения.

В докладе приводятся уравнения регрессий (1) соответствующие конкретной геометрии фотометрирования и диапазонам вариаций БФП, охватывающих как нормальные, так и патологические состояния крови. Оцениваются погрешности определения БФП во всем диапазоне их изменений при различных погрешностях оптических измерений.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕТЧАТКИ

В докладе рассматривается метод оперативной интерпретации измерений спектров отражения света от сетчатки $R(\lambda)$ в спектральном диапазоне 450–805 нм, основанный на установленных регрессиях между $R(\lambda)$ и параметрами S_{Hb} и S_{pO_2} . Для получения регрессий использовалась оптическая модель сетчатки, включающая четыре слоя с различающимися геометрическими параметрами и биофизическими характеристиками: нейронная сетчатка (НС), пигментный эпителий (ПЭ), сосудистая оболочка (СО) и склера. Согласно модели [1], считаем, что поглощающими свет компонентами НС являются гемоглобин и оксигемоглобин с переменной S , а также макулярный пигмент, находящийся в центре так называемого желтого пятна (макулы). Оптические свойства ПЭ обусловлены присутствием в нем в большом количестве меланина. Сосудистая оболочка содержит хаотически распределенные кровеносные сосуды и меланин. Коэффициенты поглощения слоев сетчатки определяются через соответствующие коэффициенты α ее компонент и их концентрации:

$$\begin{aligned}
k_1(\lambda) &= 2.303D_{mac}\omega(\lambda)L_1^{-1} + [S_1k_{HbO_2}(\lambda) + (1-S_1)k_{Hb}(\lambda)]CHb_1, \\
k_2(\lambda) &= C_{m,2}k_m(\lambda), \\
k_3(\lambda) &= C_{m,3}k_m(\lambda) + [S_3k_{HbO_2}(\lambda) + (1-S_3)k_{Hb}(\lambda)]CHb_3,
\end{aligned} \tag{6}$$

где $\omega(\lambda) = D(\lambda)/D(460 \text{ нм})$ – нормированная оптическая плотность макулярного пигмента; k_{HbO_2} , k_{Hb} и k_m – коэффициенты молярного поглощения окси-, деоксигемоглобина и меланина; индексы 1, 2 и 3 относятся к НС, ПЭ и СО.

Спектры объемных коэффициентов рассеяния элементарных объемов слоев взяты из работы [2]. Однако, учитывая, что данные спектры получены экспериментально для мертвой ткани, то в используемой оптической модели сетчатки они умножались на коэффициенты $0,22 \leq c_1 \leq 1,0$, $0,45 \leq c_2 \leq 1,0$, $1,0 \leq c_3 \leq 3,0$ [1]. Средние косинусы индикатрисы рассеяния g принимались в расчетах неизменными и равными 0,97, 0,84 и 0,94 для НС, ПЭ и СО соответственно.

Спектр коэффициента отражения света от склеры рассчитывался с использованием эмпирической зависимости [3]:

$$R_{scl} = 0.5 \exp(-0.00261(\lambda - 675)). \tag{7}$$

Таким образом, модель определяется десятью биофизическими параметрами – D_{mac} , S_1 , S_3 , CHb_1 , CHb_3 , $C_{m,2}$, $C_{m,3}$, c_1 , c_2 , c_3 и тремя геометрическими параметрами – толщинами слоев L_1 , L_2 , L_3 . Для превращения её в статистическую, необходимо задать модели вариаций указанных параметров. Концентрация гемоглобина в НС в m раз меньше чем СО ($5 \leq m \leq 10$). Вариации других параметров полагаем независимыми друг от друга. Параметрам модели приписаны свойства случайных величин с равномерными функциями распределения, требующими лишь задания диапазонов их возможных вариаций. Пределы изменений параметров выбраны из литературных данных. Расчет $R(\lambda)$ для каждого набора параметров осуществлялся на основе метода Монте-Карло для многослойных сред. Рассчитанные $R(\lambda)$ дополнительно корректировались на двойное пропускание глазной линзы t (включающей роговицу, внутриглазную жидкость и стекловидное тело), зависящее от возраста человека, и френелевское отражение r_s между слоями воздух, линза, сетчатка.

На основе выборки $R(\lambda)$, соответствующей различным значениям параметров модели, с использованием метода наименьших квадратов рассчитываются коэффициенты полиномиальных регрессий

$$\ln C_{Hb} = a_0 + \sum_{i=1}^{N_\lambda} \sum_{k=1}^3 a_{ik} \ln [T(\lambda_i)]^k, \quad \ln S_{Hb} = a_0 + \sum_{i,j} a_{ik} \ln \left[\frac{T(\lambda_i)}{T(\lambda_j)} \right]^k. \tag{8}$$

Уравнения (1) используется в численных экспериментах по замкнутой схеме для восстановления S_{Hb} и S для выборки параметров модели. Для каждой реализации параметров для заданных значений λ и N_λ , с учетом добавления в расчетные значения $R(\lambda)$ заданных погрешностей измерения, рассчитываются значения S_{Hb} и S которые сравниваются с их заданными значениями. После перебора всех реализаций вычисляются средние погрешности восстановления S_{Hb} и S . Данный подход позволил установить наборы наиболее информативных измерений $R(\lambda)$, позволяющие определять искомые параметры с среднеквадратичными погрешностями $\delta S_{Hb} = 6.7 \%$ и $\delta S = 2.2\%$. Соответствующие этим измерениям уравнения регрессий (1) позволяют осуществлять оперативную диагностику S_{Hb} и S при широких диапазонах значений геометрических и биофизических параметров сетчатки, охватывающих как норму, так и патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотрен способ оперативного измерения комплекса биофизических параметров крови по данным фотометрических измерений капилляра с кровью. Способ учитывает поглощение света гемоглобином, его производными и продуктами распада, а также рассеяние форменными элементами крови. Предложен регрессионный подход к интерпретации спектров отражения света от сетчатки относительно ее биофизических параметров. Установлен набор наиболее информативных длин волн рассеянного излучения для определения концентрации гемоглобина и степени насыщения крови кислородом. Получены уравнения регрессий между спектральными значениями коэффициента отражения и искомыми параметрами сетчатки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Hammer, M.** Non-invasive measurements of the concentration of melanin, xanthophyll and hemoglobin in single fundus layers in vivo by fundus reflectometry / M. Hammer, D. Schweitzer, E. Thamm, A. Kolb // *Int. Ophthalmol.* 2001. V. 23. – P. 279–289.
2. **Hammer, M.** Optical properties of ocular fundus tissues – an in vitro study using the double-integrating-sphere technique and inverse Monte-Carlo simulation / M. Hammer, D. Schweitzer, G. Muller // *Phys. Med. Biol.* 1995. V. 40. P. 963–978.
3. **Delori, F.C.** Spectral reflectance of the human ocular fundus / F.C. Delori, K.P. Pflibsen // *Appl. Opt.* – 1989. V. 28. P. 1061–1077.

M. M. Kugeiko, S. A. Lisenko

Belarusian State University, Belarus

220030, Minsk, Nesavisimosti st. E-mail: kugeiko@bsu.by

REGRESSION METHODS OF OPTOELEKTRONIC DIAGNOSTIS OF TISSUES FND BLOOD

The method of measurements of the blood's biophysical parameters by data of photometric measurements of a capillary with blood is considered. Method takes into account the absorption of light by hemoglobin, its derivatives and degradation products, as well as the scattering of blood cells. The regression approach to determining of biophysical parameters of retina by measurements of it's reflectance spectra is proposed. A set of wavelengths of the scattered radiation, which are the most informative about concentration of haemoglobin and oxygen saturation of blood in retina, are established. The equations of regression between spectral values of reflectance and required parameters of retina are obtained.

BLOOS CEILS, HEMATOCRIT, CONCENTRATION OF HEMOGLOBIN, OXYGEN SATURATION, BIOPHUSICAL PARAMETERS OF RETING, MEASUREMENT METODS, REGRESSION EGUATION.