

ОПТИЧЕСКОЕ МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЕ И ТЕХНОЛОГИЯ

УДК 535.361; 610.849.19; 618.723

ОСОБЕННОСТИ КИНЕТИКИ ИММЕРСИОННОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНИ

© 2013 г. **Е. С. Букарева***, аспирант; **Г. В. Симоненко***, доктор физ.-мат. наук;
В. В. Тучин,**** доктор физ.-мат. наук

* Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского (СГУ), г. Саратов

** Институт проблем точной механики и управления РАН, г. Саратов

*** Университет Оулу, г. Оулу, Финляндия

E-mail: simonenko@optics.sgu.ru

Предложена модель, адекватно описывающая поведение оптических характеристик биологических образцов при их иммерсионном просветлении. Показано, что наличие осцилляций в кинетике иммерсионного просветления образца связано с фибриллярной структурой ткани. Исследовано влияние геометрических параметров образца биоткани на кинетику процесса иммерсионного просветления биоткани.

Ключевые слова: оптические свойства, иммерсионное просветление, модель биоткани.

Коды OSIC: 170.0170, 170.3660.

Поступила в редакцию 13.07.2012.

Введение

Биологические ткани относятся к сильно рассеивающим средам, которым свойственны все эффекты, имеющие место в мутных системах [1, 2]. Известно, что мутность дисперсной физической системы может быть изменена при использовании иммерсионного эффекта, заключающегося в выравнивании показателей преломления рассеивателей и окружающего их вещества. Одним из важных направлений современной биомедицинской оптики является развитие методов зондирования биотканей излучением видимого и ближнего ИК диапазонов, позволяющих осуществлять визуализацию ее внутренней структуры [1]. Большинство биотканей являются сильно рассеивающими, поэтому для повышения контраста изображения и увеличения глубины зондирования в оптической томографии используют метод введения иммерсионных жидкостей в образец [1–4]. Поэтому актуальным является детальное исследование кинетики процесса иммерсионного просветления раз-

личных типов биотканей таких как мышечная ткань, склера, соединительная ткань, хрящевая ткань. Ранее было обнаружено, что кинетика иммерсионного просветления имеет немонотонный характер [3, 5], но объяснение этому явлению в полной мере не дано. Заметим, что немонотонный характер кинетики иммерсионного просветления биоткани выражается в наличии осцилляций в зависимости пропускания образца от времени иммерсионного просветления. В связи с этим целью настоящей статьи является решение следующих задач:

- объяснение наличия осцилляций в зависимости пропускания образца биоткани от времени иммерсионного просветления;
- построения физической модели кинетики процесса иммерсионного просветления биоткани, которая хотя бы качественно будет описывать это явление;
- исследование влияния физических параметров образца биоткани (размеров структурных элементов биоткани таких как длина фибрилл, их диаметр и межфибриллярное рас-

стояние) на кинетику иммерсионного просветления биоткани.

В настоящей работе предложена модель, которая описывает эффект осцилляций просветления, а также представлены результаты математического моделирования кинетики иммерсионного просветления различных типов биотканей в зависимости от ряда физических параметров.

Математическая модель

Математическая модель строится в два этапа. На первом этапе вычисляется пространственно-временное распределение концентрации иммерсионной жидкости в биологическом образце, на втором этапе вычисляется (на основе данных, полученных при решении предыдущей задачи) пропускание коллимированного пучка света сквозь образец.

Для решения задачи о диффузии иммерсионной жидкости в образец биоткани используем простую диффузионную модель, в которой учитывается различие скоростей диффузии иммерсионной жидкости в поперечном и продольном направлении. Пусть C – концентрация иммерсионной жидкости, которая теперь зависит от времени (t) и трех пространственных координат x (в глубину образца), y (поперек образца) и z (вдоль образца). Уравнение диффузии с тремя пространственными переменными имеет вид

$$\begin{aligned} \frac{\partial C(x, y, z, t)}{\partial t} = & v_x(x, y, z) \frac{\partial^2 C(x, y, z, t)}{\partial x^2} + \\ & + v_y(x, y, z) \frac{\partial^2 C(x, y, z, t)}{\partial y^2} + \\ & + v_z(x, y, z) \frac{\partial^2 C(x, y, z, t)}{\partial z^2}, \end{aligned} \quad (1)$$

где v_x, v_y, v_z – скорости диффузии иммерсионной жидкости по соответствующим координатам. Пусть при $t = 0$ начальное условие задано в виде

$$C(x, y, z, 0) = \varphi(x, y, z), \quad (2)$$

где $\varphi(x, y, z)$ – поверхностное распределение иммерсионной жидкости в начальный момент времени в месте введения просветляющего агента.

В данной модели рассматривается нестационарная неоднородная анизотропная диффузия иммерсионной жидкости в образец биоткани. Предположим, что иммерсионная жидкость

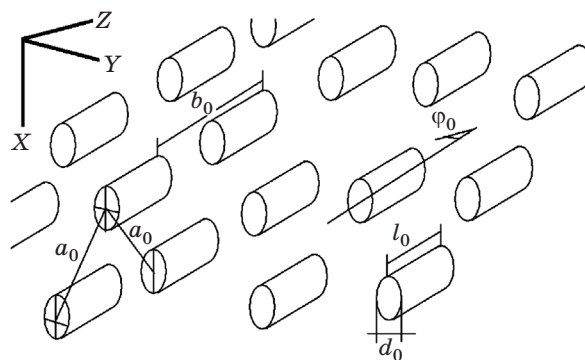


Рис. 1. Геометрия модели.

может поступать в образец с одной стороны со всей поверхности или только в центре образца, а область поступления имеет форму прямоугольника (поверхность образца) или круга с постоянной концентрацией. Систему представим в виде цилиндрических включений (коллаген), расположенных в базовом веществе. Размеры включений: l_0 – длина, d_0 – диаметр, a_0 – расстояние между включениями по оси X или Y , b_0 – расстояние по оси Z , φ – угол отклонения включения от оси Z , задаваемый произвольно для каждого конкретного включения (рис. 1). Максимально возможное отклонение от оси является входным параметром. Для подсчета скорости диффузии рассчитывается вероятность p того, что диффузия в данной точке пойдет в том или ином направлении. Внутри коллагеновых волокон вероятность берется близкой к нулю, поскольку их плотность оказывается более высокой по сравнению с межколлагеновым пространством и молекулярная диффузия затруднена. Если в расчетной точке находится базовое вещество, и по направлению движения также находится базовое вещество, то вероятность берется близкой к единице. Если за базовым веществом следует коллаген, то вероятность может изменяться от 0,2 до 0,8. Коэффициенты диффузии по каждому направлению пересчитываются в каждой точке. В зависимости от координаты коэффициент диффузии домножается на p .

Будем решать уравнение (1), используя метод сеток [6], считая скорости по оси x и по оси y постоянными или заданными в известной аналитической форме. Для этого введем сетку с ячейками в виде прямоугольных параллелепипедов, для чего проведем 4 семейства плоскостей: $x_i = ih_1$ ($i = 0, 1, \dots$), $y_j = jh_2$ ($j = 0, 1, \dots$), $z_m = mh_3$ ($m = 0, 1, \dots$), $t_k = kh_4$ ($k = 0, 1, \dots$),

где h_1 – шаг по оси x , h_2 – шаг по оси y , h_3 – шаг по оси z , h_4 – шаг по оси t . Значение сеточной функции в узлах (x_i, y_j, z_m, t_k) обозначим символом c_{ijm}^k . Используя данные значения, построим разностные схемы для уравнения (1).

Для решения этого уравнения используем явную схему решения [6]. Для этого аппроксимируем в (1) вторые производные отношениями конечных разностей. Получаем следующее сеточное уравнение:

$$\begin{aligned} \frac{c_{ijm}^{k+1} - c_{ijm}^k}{h_4} = v_x \frac{c_{i+1,jm}^k - 2c_{ijm}^k + c_{i-1,jm}^k}{h_1^2} + \\ + v_y \frac{c_{i,j+1,m}^k - 2c_{ijm}^k + c_{i,j-1,m}^k}{h_2^2} + \\ + v_z \frac{c_{ij,m+1}^k - 2c_{ijm}^k + c_{ij,m-1}^k}{h_3^2}. \end{aligned} \quad (3)$$

Это уравнение можно записать в виде системы линейных алгебраических уравнений относительно значений сеточной функции на каждом слое. На нулевом слое решение находится из начального условия (2), представленного в виде

$$c_{ijm}^0 = \varphi(x_i, y_j, z_m). \quad (4)$$

Таким образом, решая систему уравнений (3) с начальными условиями (4) получаем пространственно-временную зависимость концентрации иммерсионной жидкости в образце.

На втором этапе на основе пространственно-временного распределения концентрации иммерсионной жидкости в образце биоткани производится вычисление пропускания T коллимированного пучка света сквозь образец. Вычисления производятся по схеме, подробно описанной в работе [7].

Результаты и обсуждение

В настоящей работе рассматривается трехмерная модель иммерсионного просветления биоткани, так как одномерная модель имеет следующие недостатки: 1) в рамках одномерной модели диффузии просветляющего вещества в биоткани для объяснения немонотонного поведения пропускания в зависимости от времени просветления кроме процесса диффузии необходимо привлекать и другие физические механизмы, которые могли бы происходить в биоткани, но не известны; 2) определяя коэффициенты диффузии просветляющей жидкости в биоткани в рамках одномерной моде-

ли возможно занижение значений скоростей диффузии, так как в трехмерном случае всегда необходимо время на диффузию жидкости в трех направлениях, а в одномерном случае считается, что диффузия происходит только вглубь образца. Поэтому одномерная модель не может использоваться для корректного описания процесса диффузии просветляющей жидкости в биоткани. Рассмотрим две возможные трехмерные модели структуры биоткани. Первая модель – модель А характеризуется хаотическим расположением коллагеновых волокон в биоткани. При этом, как было описано в предыдущем разделе, модель характеризуется диаметром коллагена, длиной и такими величинами как среднее расстояние между волокнами и средний угол отклонения волокон от некоторого выбранного направления. Вторая модель – модель Б характеризуется периодическим расположением волокон. В этом случае модель также описывается такими же параметрами, но коллаген внутри биоткани расположен в виде периодической структуры. На рис. 2 представлены результаты моделирования кинетики иммерсионного просветления биоткани для обеих моделей. Как видно из рисунка, зависимости пропускания от времени просветления $T = T(t)$ имеют осцилляции, наличие которых, как показали наши расчеты, связано с волокнистой структурой биоткани. Анализ этого рисунка показывает, что в периодической структуре процесс просветления идет быстрее, чем в биоткани с хаотической ориентацией волокон коллагена. Кроме этого для периодической структуры биоткани осцилляции в зависимости пропускания биоткани от времени просветления наблюдаются на этапе насыщения, в то время как для биоткани с хаотической ориентацией волокон коллагена осцилляции на такой же зависимости наблюдаются на всем участке кривой. Глубина осцилляций зависимости $T = T(t)$ для обоих случаев максимальна для тонких срезов биоткани и практически равна нулю для толстых образцов. Как показывает моделирование, осцилляции зависимости $T = T(t)$ возникают только для случая, когда скорость диффузии вглубь образца равна или меньше чем скорости диффузии в двух других направлениях, и глубина модуляции осцилляций максимальна для случая, когда скорость диффузии вглубь образца существенно ниже, чем в поперечных направлениях. В случае, когда скорость диффузии вглубь образца превышает скорость диффузии в поперечных на-

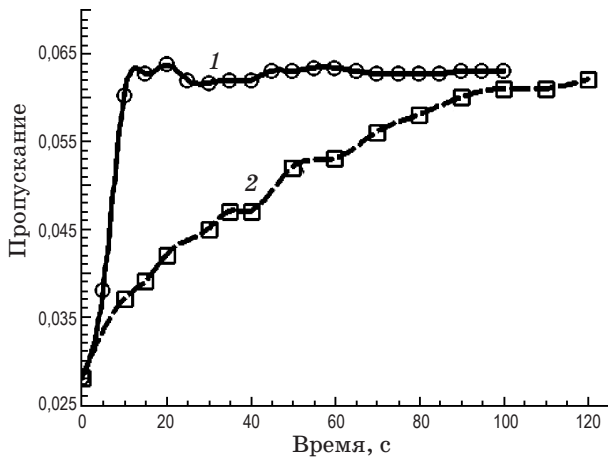


Рис. 2. Кинетика иммерсионного просветления биоткани. 1 – периодическая структура, 2 – хаотическая структура.

правлениях, осцилляции в зависимости пропускания биоткани от времени просветления не возникают. Кроме этого, глубина модуляции осцилляций при соосном положении источника иммерсионной жидкости и приемника излучения максимальна и убывает при удалении приемника от этого положения.

Геометрические параметры биоткани (диаметр волокна d , межволоконное расстояние a_0 и b_0 , длина волокна l_0) слабо влияют на глубину осцилляций в кинетике процесса просветления, в то же время, оказывая существенное влияние на контраст изображения при просветлении биоткани и уровни пропускания в состоянии насыщения при просветлении. Кроме этого существенное влияние параметры биоткани оказывают на скорость просветления образцов, но это вопрос отдельного исследования, которому будет посвящена другая статья. Это относится как к модели А, так и к модели Б. Заметим, что биоткани в большинстве своем по строению ближе к модели А, поэтому дальнейшее рассмотрение оптических свойств биоткани мы будем описывать с помощью модели А.

Рассмотрим влияние геометрических параметров биоткани на оптические характеристики кинетики иммерсионного просветления образцов, в качестве которых мы рассмотрим контраст изображения при просветлении и уровень пропускания в состоянии насыщения. Под уровнем пропускания образца в состоянии насыщения T_{\max} понимается значение пропускания образца для бесконечно большого момента времени при иммерсионном просветлении.

В этом случае образец биоткани в начальный момент времени характеризуется минимальным пропусканием T_{\min} . Тогда контраст изображения K в этом случае вычисляется как

$$K = \frac{T_{\max}}{T_{\min}}.$$

Для выяснения влияния геометрических размеров структурных элементов биоткани на кинетику процесса просветления образца следует разделить между собой два фактора, которые определяют рассеяние света в неоднородной среде. Первый – размер неоднородности структурного элемента, и второй – различие показателей преломления структурных элементов. В процессе иммерсионного просветления биоткани размер структурных элементов образца оказывает сильное влияние на значение показателя преломления базового вещества и наша задача исследовать это влияние. Пропускание биоткани определяется коэффициентом ослабления, который в общем случае является суммой коэффициентов поглощения и рассеяния среды. Для зондирования биоткани используются источники с длиной волны, соответствующей красному диапазону видимого спектра или ближнему ИК диапазону, где поглощение света чрезвычайно мало [2]. Поэтому в дальнейшем будем считать, что поглощение в среде отсутствует и коэффициент ослабления света в среде равен коэффициенту рассеяния μ_s . Тогда коэффициент ослабления однородного слоя биоткани, находящегося в точке с координатами (x, y, z) в момент времени t имеет вид [10]

$$\begin{aligned} \mu_s(x, y, z, t) = & v(\psi, \lambda) \cdot r^2 (m(x, y, z, t)^2 - 1)^2 \times \\ & \times \left(\frac{2}{(m(x, y, z, t)^2 + 1)^2} + 1 \right), \end{aligned} \quad (5)$$

$$m(x, y, z, t) = n_c / n_i(x, y, z, t),$$

$$n_i(x, y, z, t) = (1 - C(x, y, z, t)) \cdot n_b + C(x, y, z, t) \cdot n_{im},$$

где $v(\psi, \lambda)$ – коэффициент пропорциональности, который зависит от объемной доли рассеивателей ψ (в нашем случае $\psi = 0,3$), r – радиус эффективной рассеивающей частицы, n_c – показатель преломления коллагеновых волокон, n_b – показатель преломления базового вещества, n_{im} – показатель преломления иммерсионной жидкости, λ – длина волны света, n_i – коэффициент преломления базового вещества при просветлении.

Выражение (5) можно использовать при выполнении следующих условий: в ходе взаимо-

действия биоткани с иммерсионной жидкостью размер рассеивателей не изменяется, что подтверждается данными, приведенными в работе [11]; биоткани характеризуются плотной упаковкой, что учитывается фактором упаковки рассеивателей [10, 12]; биоткань представляет собой систему диэлектрических цилиндров, расположенных параллельно друг другу [10]. Как видно из выражения (5) коэффициент рассеяния зависит явным образом: от геометрических размеров структурных элементов (размерная составляющая (r, ψ)), от соотношения показателей преломления базового вещества в условиях иммерсионного просветления и показателя преломления коллагена (иммерсионная составляющая $m(x, y, z, t)$). Для кинетики иммерсионного просветления биоткани наиболее важным фактором является зависимость $\mu_s = m(x, y, z, t)$, то есть иммерсионная составляющая.

Для того чтобы выяснить вклад только иммерсионной составляющей в зависимость контраста изображения при просветлении от геометрических параметров биоткани, предположим, что коэффициент рассеяния биоткани зависит только от изменения коэффициента преломления базового вещества n_i (см. выражение (5)) при просветлении и не зависит от изменения геометрических характеристик биоткани. В расчетах в качестве исходных значений для геометрических параметров биоткани были взяты данные, приведенные в работе [13], и относительно средних значений этих параметров производилась вариация изменяемого параметра.

На рис. 3 представлена зависимость контраста изображения при просветлении биоткани от длины коллагенового волокна. На этом рисунке в качестве варьируемого параметра выступает отношение $l = l_0/l'_0$ (l'_0 – среднее значение длины волокна коллагена [13], l_0 – текущее значение длины волокна коллагена). Как видно из этого рисунка, контраст изображения с ростом длины волокна коллагена падает, но с другой стороны, как показывает расчет, пропускание в состоянии насыщения, при таком же изменении аргумента возрастает. Такое поведение K при изменении длины волокна объясняется тем, при малых значениях l на единицу объема приходится большее число рассеивателей. Поэтому уровни пропускания T_{\min} и T_{\max} минимальны, но одновременно с этим при малых l процесс иммерсионного просветления более эффективен, что и приво-

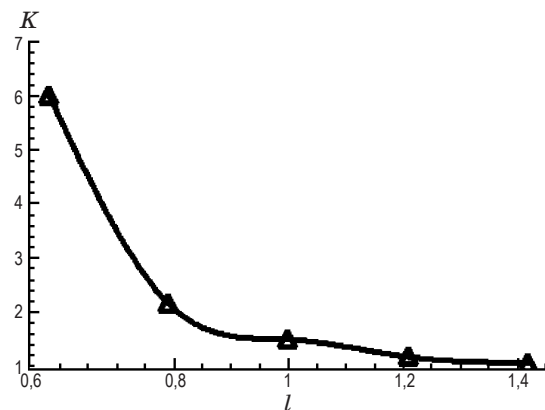


Рис. 3. Зависимость контраста изображения при иммерсионном просветлении биоткани от длины волокна коллагена.

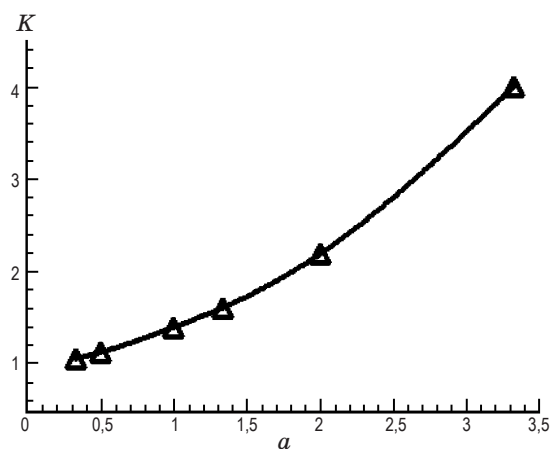


Рис. 4. Зависимость контраста изображения при иммерсионном просветлении биоткани от расстояния между волокнами коллагена по X или Y.

дит к максимальному контрасту изображения при иммерсионном просветлении.

В противоположность этому зависимость контраста изображения при просветлении от плотности упаковки коллагена (расстояния между волокнами по X или Y) имеет обратную зависимость (рис. 4). Под плотностью упаковки мы понимаем расстояние между волокнами коллагена по глубине образца. На рис. 4 в качестве независимой координаты выступает отношение $a = a_0/a'_0$ (a'_0 – среднее значение расстояния между волокнами коллагена [13], a_0 – текущее значение расстояния между волокнами коллагена). Это объясняется тем, что при более плотной упаковке коллагена (малая величина a) значения пропускания в состоянии насыщения имеют меньшую величину,

чем при менее плотной упаковке. Это объясняется тем, что при плотной упаковке волокна процесс иммерсионного просветления механически более затруднен, чем в случае разреженной системы волокон. По сравнению с другими параметрами межволоконное расстояние b_0 по оси Z оказывает малое влияние на процесс иммерсионного просветления.

Такой же вид имеет зависимость контраста изображения от угла разориентации волокон коллагена φ_0 (рис. 5). Под углом разориентации волокон коллагена понимается средний угол ориентации волокна относительно некоторого выбранного направления. Например, нулевой угол разориентации означает, что все волокна коллагена ориентированы вдоль одного направления, а значение угла $\varphi_0 = 90^\circ$ означает, что волокна коллагена равновероятно распределены по направлению от 0° до 90° . Объяснение вида зависимости $K = K(\varphi_0)$ сводится к следующему. При любых значениях φ_0 пропускание в начальный момент времени T_{\min} одинаково, но процесс диффузии идет легче в случае хаотической ориентации волокон коллагена и поэтому значения пропускания в состоянии насыщения T_{\max} для $\varphi_0 = 90^\circ$ больше, чем T_{\max} для $\varphi_0 = 0^\circ$. Поэтому в процессе иммерсионного просветления контраст изображения минимален при малой разориентации волокон коллагена и максимален при максимальной разориентации. Однако изменения контраста изображения при этом невелики.

Заключение

В работе предложена трехмерная модель, описывающая кинетику иммерсионного просветления биоткани с учетом ее коллагеновой структуры. В результате выполненных исследований показано, что кинетика иммерсионного просветления биоткани имеет осциллирующий характер, который определяется волокнистым строением биоткани. Глубина модуляции осцилляций в зависимости $T = T(t)$ максимальна для тонких срезов биоткани и практически равна нулю для толстых об-

* * * * *

ЛИТЕРАТУРА

1. Chance B., Liu H., Kitai T. et al. Effects of solutes on optical properties of biological materials: models, cells and tissues // Anal. Biochem. 1995. V. 227. P. 351–362.
2. Оптическая биомедицинская диагностика. Под редакцией В.В. Тучина Т. 1 // М.: Физматлит. 2007. 560 с.

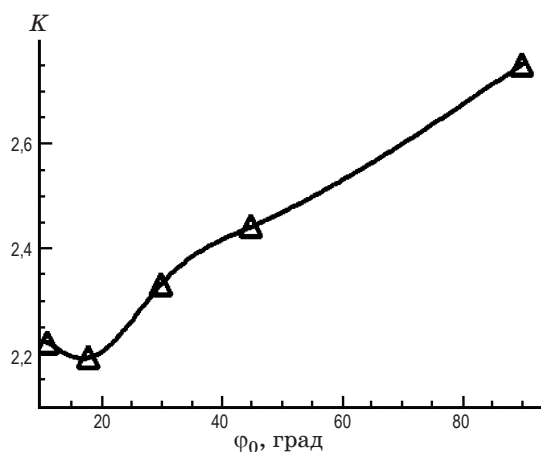


Рис. 5. Зависимость контраста изображения при иммерсионном просветлении биоткани от среднего угла ориентации коллагена.

разцов. Осцилляции в кинетике иммерсионного просветления возникают только для случая, когда скорость диффузии в глубь образца равна или меньше чем скорости диффузии в двух других направлениях. При этом глубина модуляции осцилляций стремится к максимуму, когда скорость диффузии вглубь образца оказывается существенно ниже, чем в поперечных направлениях. Глубина модуляции зависит и от взаимного расположения источника иммерсионной жидкости и приемника излучения и максимальна при их соосном положении. Установлено, что существенное влияние на контраст изображения при иммерсионном просветлении биоткани оказывают такие геометрические параметры образца как длина волокон коллагена, плотность их упаковки и угол разориентации волокон коллагена.

Работа выполнена при частичной поддержке следующими грантами: Президента РФ НШ-1177.2012.2, РФФИ 11-02-00560-а, 224014 PHOTONICS4LIFE, FP7-ICT-2007-2, 1.4.09 Минобрнауки РФ, госконтрактами РФ 02.740.11.0770, 02.740.11.0879 и 11.519.11.2035, а также FiDiPro, TEKES Program, Finland (40111/11) и SCOPES EC, Uzb/Switz/RF.

3. Тучин В.В., Башкатов А.Н., Генина Э.А. и др. In vivo исследование динамики иммерсионного просветления кожи человека // Письма в ЖТФ. 2001. Т. 27. № 12. С. 10–14.
 4. Зимняков Д.А., Тучин В.В. Оптическая томография тканей // Квантовая электроника. 2002. Т. 32. № 10. С. 849–867.
 5. Симоненко Г.В., Папаев А.В., Малинова Л.И. и др. Использование оптических методов исследования диффузии веществ в различных биологических тканях // Вестник АИН. 2007. № 3. С. 448–455.
 6. Корн Т., Корн Г. Справочник по математике для научных работников и инженеров. М.: Наука. 1974. 532 с.
 7. Симоненко Г.В., Кириллова Е.С., Тучин В.В. Математическая модель подавления рассеяния лазерного излучения в биотканях с помощью метода иммерсионного просветления // Успехи современной радиоэлектроники. 2008. № 9. С. 48–53.
 8. Huang Y., MEEK K.M. Swelling studies on the cornea and sclera: the effects of pH and ionic strength // Biophys. J. 1999. V. 77. P. 1655–1665.
 9. Schmitt J.M., Kumar G. Optical scattering properties of soft tissue: a discrete particle model // Appl. Opt. 1998. V. 37. № 13. P. 2788–2797.
 10. Башкатов А.Н. Управление оптическими свойствами биотканей при воздействии на них осмотически активными иммерсионными жидкостями: Дисс. канд. физ.-мат. наук / Саратов. ун-т, Саратов, 2002.
 11. Huang Y., MEEK K.M. Swelling studies on the cornea and sclera: the effects of pH and ionic strength // Biophys. J. 1999. V. 77. P. 1655–1665.
 12. Schmitt J.M., Kumar G. Optical scattering properties of soft tissue: a discrete particle model // Appl. Opt. 1998. V. 37. № 13. P. 2788–2797.
 13. Алмазов И.В., Сутулов Л.С. Атлас по гистологии и эмбриологии. М.: Медицина, 1978. 544 с.
-