

ISPITIVANJA HEMODINAMIKE POMOĆU LASERSKIH TEHNIKA

Jelena Ilić, Mašinski fakultet, Beograd
Slavica Ristić, VTI, Žarkovo
Dragan Družijanić, "Moma Stanojlović", Batajnica

Sadržaj – U radu su analizirane primene laserskih tehnika u ispitivanju protoka krvi u ljudskom organizmu. Posebna pažnja je posvećena merenju lokalne prokrvljenosti tkiva i lokalne koncentracije oksihemoglobina i dezoksihemoglobina korišćenjem lasera sa talasnim dužinama u vidljivoj i bliskoj infracrvenoj oblasti. Data je analiza prostiranja laserskog zračenja na površinskim tkivima organizma uzimajući u obzir njihovu složenu strukturu i procese apsorpcije, jednostrukog i višestrukog rasejanja.

1. UVOD

Hemodinamička istraživanja se mogu podeliti na istraživanja tokova krvi u srcu i većim krvnim sudovima (čiji su prečnici reda 1mm i veći) i istraživanja tokova krvi u arteriolama, venulama i kapilarima (čiji su prečnici manji i najčešće mnogo manji od 1mm). U prvoj grupi istraživanja koristi se tehnika laser Doppler anemometrije, kojom se u modelima krvnih sudova [1][2] ili u realnim krvnim sudovima *in vivo*, ubacivanjem laserskih snopova pomoću optičkih kablova kateterom, snima brzinsko polje krvi ili bar raspodela brzine duž ose krvnog suda. Na osnovu tih podataka se mogu proračunati ili bar oceniti tangencijalni naponi i raspodele pritiska i gradijenta pritiska u krvnim sudovima, što zajedno sa snimanjem električnih signala na samom srcu i nervima u vezi sa krvnim sudaovima daje kompletnu sliku o funkcionisanju krvnih sudova.

U drugoj grupi istraživanja, kojima će u ovom radu biti posvećena pažnja, primena laserskog zračenja se zasniva na snimanju uticaja tkiva, čija se prokrvljenost ispituje, na prostiranje laserskog snopa (apsorpciju, rasejanje, pomeraj frekvencije usled Doppler-ovog efekta). U ovom radu su opisane dve tehnike koje se koriste u ispitivanju prokrvljenosti tkiva – tehnika zasnovana na Doppler – ovom efektu i tehnika spektroskopije u bliskoj infracrvenoj oblasti. Obe tehnike se primenjuju na kožu, koja je najveći i najpristupačniji organ, a cirkulacija krvi u njoj igra značajnu ulogu u regulaciji toplote, metabolizma i hemodinamike u organizmu. Najznačajnija uloga krvnih sudova kože je učestvovanje u regulaciji temperature tela i krvnog pritiska. Značajna je i njihova uloga u metabolizmu ćelija kože, a posebno u ishranjivanju neovaskularizovanog spoljnog sloja kože – epidermisa. Step prokrvljenosti kože može da bude pouzdan pokazatelj oštećenja i oboljenja perifernih krvnih sudova. Osim toga, posmatranjem promena prokrvljenosti kože se može ocenjivati uticaj hemijskih ili fizičkih agenasa cirkulaciju krvi.

Osim na kožu ove tehnike su primenljive i na ispitivanja drugih lako prisupačnih tkiva kao što su sluzokoža, ili tkiva oka – sudovnjača.

2. MERENJE PROKRVLJENOSTI POMOĆU LASER DOPPLER TEHNIKE

Pri proceni prokrvljenosti tkivo se osvetljava koherentnim snopom niske snage. Fotoni snopa se rasejavaju na nepokretnim strukturama tkiva, ali i na pokretnim ćelijama krvi – najčešće na crvenim krvnim zrnima. Crvena krvna zrnca su ćelije u obliku diska udubljenog na sredini, prečnika 6,5 – 8 μ m i debljine od 2 μ m, ali se prilikom prolaska kroz kapilare deformišu i prilagođavaju obliku kapilara [3]. Prilikom rasejavanja fotona na pokretnoj ćeliji, usled Doppler – ovog efekta, dolazi do promene njegove frekvencije. Promena frekvencije je proporcionalna projekciji brzine ćelije [4] na pravac razlike talasnih vektora upada i rasejanja fotona, što znači da je maksimalna u slučaju kretanja ćelije u pravcu kretanja fotona pre interakcije, a foton samo menja smer. Međutim, zbog složenosti strukture okolnog nepokretnog tkiva, foton će, pre interakcije sa pokretnim krvnim zrcem, jednom ili više puta promeniti pravac kretanja usled elastičnog rasejanja. Zbog toga je, bez obzira na pravac krvnih sudova u ispitivanom tkivu, vrednost ugla između pravca upada fotona i pravca kretanja krvne ćelije stohastičke prirode. To znači da će u spektru svetlosti reflektovane na tkivu postojati kontinualan skup frekvencija različitih od frekvencije upadnog snopa, odnosno doći će do proširenja linije polaznog snopa.

Da bi se detektovala promena frekvencije rasejanih fotona, na fotodetektoru dolazi do interferencije talasa različitih frekvencija. Na izlazu fotodetektora se, usled toga javlja signal čija je frekvencija jednaka razlici frekvencija talasa koji interferišu. Pošto su brzine kretanja krvnih ćelija male (reda 1m/s), razlika frekvencija upadnog i reflektovanog talasa, a time i signala na fotodetektoru spada u oblast niskih odnosno audio frekvencija. Kao i u spektru svetlosti reflektovane na tkivu, tako i u signalu – fotostruji na izlazu fotodetektora, postojaće kontinualan skup frekvencija. Amplituda svake frekvencije u spektru je proporcionalna koncentraciji krvnih ćelija koje su dovele do te promene frekvencije laserske svetlosti. Znači, spektralna gustina snage fotostruje je određena srednjom brzinom i koncentracijom ćelija krvi u mernoj zapremini tj. osvetljenom tkivu.

Mera prokrvljenosti je fluks ćelija krvi, odnosno proizvod broja ćelija krvi u ispitivanom tkivu i njihove srednje brzine. Na osnovu prethodnog opisa signala na fotodetektoru, iz frekventnog spektra signala se može izračunati veličina proporcionalna fluksu ćelija krvi, što je i izlazni signal laser Doppler merača prokrvljenosti (laser Doppler protokometra – LDF). Brza obrada signala, dakle, daje vrednost koja je pokazatelj fluksa ćelija krvi odnosno prokrvljenosti. Snimanje te vrednosti omogućava praćenje promena prokrvljenosti tkiva. Međutim, zbog velike složenosti i raznovrsnosti mikrovaskularnih struktura, kao i zbog

raznovrsnosti optičkih karakteristika i strukture okolnih statičkih tkiva, malo ima smisla porediti rezultate merenja na različitim delovima tela istog čoveka, a još manje rezultate merenja na različitim pojedincima. Zbog toga je ova metoda, za sada, ograničena na posmatranje hemodinamičkih reakcija na fiziološke stimulanse na jednom delu tela. I mada je i kao takva našla dosta praktičnih primena, danas, iako je praktično nemoguća apsolutna kalibracija, postoje pokušaji da se rezultati ove metode učine međusobno uporedivim čak iako potiču od različitih pojedinaca. Naime, utvrđeno je da je, za konstantnu koncentraciju i srednju brzinu pokretnih čestica, izlazni signal laser Doppler merača prokrvljenosti proporcionalan dužini puta fotona kroz tkivo [5]. Zbog toga se danas razvija tehnika lokalne procene dužine puta fotona i optičkih karakteristika tkiva [6]. Ona će omogućiti poređenje rezultata laser Doppler merača prokrvljenosti sa različitim pojedincima (interindividualno), kao i sa različitim mesta na jednom organizmu (intraindividualno). Sa tim ciljem i u ovom radu je, u odeljku 4. analizirano prostiranje fotona kroz tkivo.

3. MERENJE KONCENTRACIJE HEMOGLOBINA SPEKTROSKOPIJOM U BLISKOJ INFRACRVENOJ OBLASTI

Kod ove tehnike, kojom se takođe ocenjuje prokrvljenost tkiva, ispitivano tkivo se istovremeno osvetljava snopovima dve talasne tužine bliske infracrvene oblasti, a meri se intenzitet reflektovanog zračenja. Pošto suoksi- i dezoksi-hemoglobin daleko najznačajniji apsorberi u tkivu u bliskoj infracrvenoj oblasti, sa povećanjem koncentracije u tkivu dolazi do povećanja apsorpcije upadnog zračenja u istoj meri. Uticaj povećanja koncentracije hemoglobina na koeficijent rasejanja svetlosti se može smatrati zanemarljivim, jer je on prevashodno određen okolnim nepokretnim tkivom. Zbog toga su promene intenziteta reflektovanog zračenja, praktično, posledica promene koeficijenta apsorpcije ispitivanog tkiva koja se na taj način i meri – merenjem promerene intenziteta reflektovanog zračenja. Promena koeficijenta apsorpcije, na određenoj talasnoj dužini, je povezana sa promenama koncentracija hemoglobina sledećom jednačinom [7]

$$\Delta\mu_a(\lambda) = \Delta[O_2Hb]\varepsilon_{O_2Hb}(\lambda) + \Delta[HHb]\varepsilon_{HHb}(\lambda), (1)$$

gde su ε_{O_2Hb} i ε_{HHb} koeficijenti ekstinkcije oksii- i dezoksi-hemoglobina, redom. Ako se napiše sistem jednačina (1) za dve različite talasne dužine, rešenje tog sistema jednačina je

$$\Delta[\varepsilon_{O_2Hb}] = \frac{\Delta\mu_a(\lambda_1)\varepsilon_{HHb}(\lambda_2) - \Delta\mu_a(\lambda_2)\varepsilon_{HHb}(\lambda_1)}{\varepsilon_{O_2Hb}(\lambda_1)\varepsilon_{HHb}(\lambda_2) - \varepsilon_{O_2Hb}(\lambda_2)\varepsilon_{HHb}(\lambda_1)}$$

$$\Delta[HHb] = \frac{\Delta\mu_a(\lambda_2)\varepsilon_{O_2Hb}(\lambda_1) - \Delta\mu_a(\lambda_1)\varepsilon_{O_2Hb}(\lambda_2)}{\varepsilon_{O_2Hb}(\lambda_1)\varepsilon_{HHb}(\lambda_2) - \varepsilon_{O_2Hb}(\lambda_2)\varepsilon_{HHb}(\lambda_1)}$$

Vidi se da se merenjem promene koeficijenta apsorpcije, putem merenja promene intenziteta reflektovanog zračenja, mogu pratiti promene koncentracija oksii- i dezoksi-hemoglobina, što je i osnova ove nove tehnike *in vivo* praćenja prokrvljenosti površinskih tkiva [7].

4. PROSTIRANJE LASERSKOG SNOPIA U POVRŠINSKOM SLOJU KOŽE

Interakcija laserskog zračenja sa tkivom se grubo može podeliti na rasejanje i apsorpciju fotona. I rasejanje i apsorpcija svetlosti zavise od njene talasne dužine.

Rasejanje svetlosti na tkivu zavisi od rasporeda njegovih strukturnih komponenti odnosno rastojanja između centara rasejanja, koje tipično iznosi približno 100 μ m [4]. Parametri kojima se opisuje rasejanje svetlosti na tkivu su indeks prelamanja n , koeficijent rasejanja μ_s , koji je probabilističke prirode i srednja vrednost kosinusa ugla između pravca prostiranja upadnog i rasejanog fotona, koji se naziva i faktorom anizotropije g . Pošto su za proces rasejanja svetlosti na tkivu približno jednako značajni i koeficijenta rasejanja μ_s i faktor anizotropije g , za njih se često definiše redukovani koeficijenta rasejanja $\mu'_s = \mu_s(1-g)$ [6].

Apsorpcija svetlosti u tkivu je određena sadržajem hemoglobina (koji se nalazi u eritrocitima), melanina i vode u njemu. Opisuje se pomoću koeficijenta apsorpcije μ_a . Koncentracija crvenih krvnih zrnaca u umereno prokrvljenom tkivu je 0,5-4% zapremine, dok je u čistoj krvi ona mnogo veća i iznosi 40% zapremine.

Dakle, poznavanje optičkih karakteristika tkiva doprinosi proceni i strukturnog rasporeda u tkivu i hemijskog sastava. Oba svojstva mogu da budu pokazatelji patološkog tkiva, što se može koristiti u dijagnostici [8].

Biološka tkiva uopšte, pa tako i koža se ponašaju se kao izraziti rasejavači svetlosti; koeficijent rasejanja μ_s je mnogo veći od koeficijenta apsorpcije μ_a . Zbog toga se na opisivanje propagacije laserskog snopa transportnom teorijom može primeniti difuziona aproksimacija [9], pod uslovom da je proizvod dužine puta fotona i redukovano koeficijenta rasejanja $\rho\mu_s > 10$ [6].

Na česticama veličine eritrocita, svetlost se rasejava izrazito unapred (srednji ugao rasejanja je 5,4°). Zbog toga u povratnoj svetlosti se nalaze uglavnom fotoni koji su bar jednom rasejani na nepokretnim tkivima pre ili posle rasejanja na eritrocitu. Vrlo mali broj fotona u povratnoj svetlosti (<0,1%) je rasejan samo na pokretnom crvenom krvnom zrcu [4]. Osim toga moguća su i dva (ili više) uzastopna rasejanja na pokretnim eritrocitima, što se dešava u većim krvnim sudovima (prečnika većeg od 50 μ m). Sve ove pojave usložnjavaju analizu verovatnoće određene vrednosti Doppler – ovog frekventnog pomeraja.

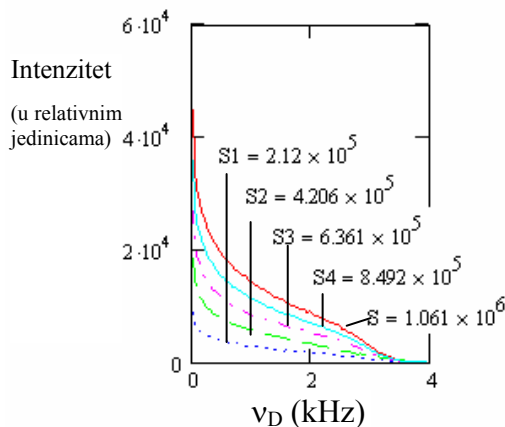
Frekvencija svetlosti rasejane na čestici koja se kreće brzinom v je data izrazom

$$v_r = v_0 \left(1 + \frac{\vec{v} \cdot (\vec{k}_u - \vec{k}_r)}{ck} \right)$$

gde ν_0 frekvencija upadnog fotona, a \mathbf{k}_u i \mathbf{k}_r talasni vektori upadnog i rasejanog fotona redom. Doppler – ov frekventni pomeraj u rasejanoj svetlosti je onda

$$\Delta \nu = \frac{\nu \cdot \sin \frac{\theta}{2} \cos \varphi \cdot}{\lambda}$$

gde je λ talasna dužina svetlosti, θ je ugao rasejanja (između pravca upadne i pravca rasejane svetlosti), a φ ugao između brzine eritrocita i vektora razlike talasnih brojeva upadnog i rasejanog fotona. I θ i φ su veličine stohastičke prirode, a u određenoj meri je takva i vrednost brzine ν . Na Sl.1 su dati rezultati Simulacije I frekventnog spektra za pet različitih vrednosti koncentracije eritrocita, odnosno pet različitih brojeva fotona koji su pretrpeli po jedno rasejanje na pokretnom eritrocitu i odgovarajuće izlazne vrednosti laser Dopple protokometra (u relativnim jedinicama): S1 je izlazna vrednost za $0,2 \cdot 10^6$ rasejanja, S2 za $0,4 \cdot 10^6$ rasejanja, S3 za $0,6 \cdot 10^6$ rasejanja, S4 za $0,8 \cdot 10^6$ rasejanja i S za $1 \cdot 10^6$ rasejanja. Raspodela vrednosti uglova θ i φ je smatrana ravnomernom, raspodela vrednosti brzine normalnom sa srednjom vrednošću 1m/s i standardnim odstupanjem od 0,1m/s. Vidi se da je izlazna vrednost proporcionalna koncentraciji eritrocita.



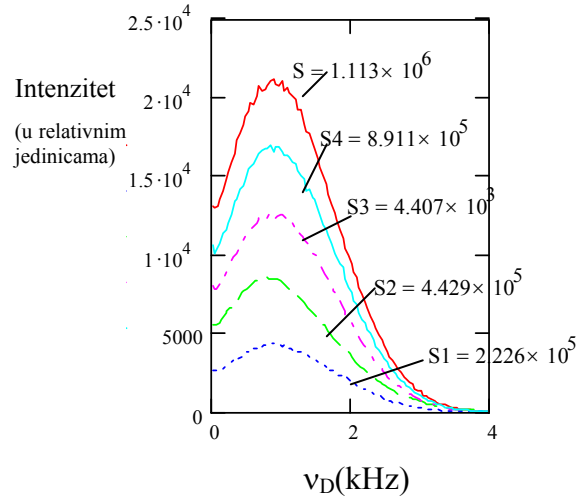
Sl.1. Rezultati Simulacije I

Na Sl.2 i Sl.3 su, takođe dati rezultati Simulacije II i Simulacije III frekventnih spektara i odgovarajuće izlazne vrednosti merača, za istih pet brojeva rasejanja kao i kod Sl.1. Za razliku od Simulacije I u Simulacijama II i III raspodela ugla φ je normalna sa srednjom vrednošću $\pi/4$ i standardnim odstupanjima $\pi/8$ i $\pi/6$, redom. Na ovim slikama se vidi da raspodela ugla između brzine eritrocita i razlike talasnih vektora upadnog i rasejanog fotona φ utiče u na oblik raspodele frekvencija u signalu na fotodetektoru, kao i na izlazne vrednosti laser Doppler protokometra, odnosno merača prokrvljenosti tkiva.

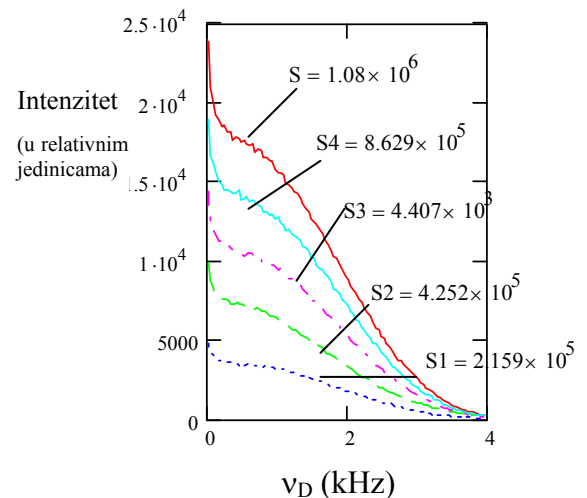
5. ZAKLJUČAK

U radu su predstavljene dve metode merenja prokrvljenosti tkiva zasnovane analizi reflektovanog laserskog zračenja. Analizirane su fizičke (nehemijske), netermalne interakcije laserskog zračenja sa tkivom. Na kraju

su predstavljeni rezultati simulacija frekventnih spektara reflektovane svetlosti za različite raspodele ugla između brzine eritrocita i razlike talasnih vektora upadnog i rasejanog fotona φ . Pokazano je da ova raspodela ima značajan uticaj na frekventni spektar reflektovane svetlosti i izlazne vrednosti merača prokrvljenosti.



Sl.2. Rezultati Simulacije II



Sl.3. Rezultati Simulacije III

LITERATURA

- [1] S.Ristić, J.Ilić, "Merenje brzine strujanja u modelu krvnog suda pomoću 1D LDA sistema", *Zbornik radova, XXXIX ETRAN*, Sveska 4, str. 174-178, Zlatibor, 1995.
- [2] S.Ristić, J.Ilić, "Primena LDA u ispitivanju protoka u deformisanim krvnim sudovima", *Zbornik radova, XLIII ETRAN*, Sveska 3, str. 212-214, Zlatibor, 1999.
- [3] Ured. D.Perović, *Histologija*, Gornji Milanovac, Dečije novine, 1990.
- [4] R.Bonner, R.Nossal, "Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue", *Appl. Opt.* vol. 20, pp. 2097-2107, 1981.

- [5] R.Nossal, R.F.Bonner, G.H.Weiss, "Influence of path length on remote on remote optical sensing of properties of biological tissue", *Appl. Opt.* vol. 28, pp. 2238-2244, 1989.
- [6] M.Larsson, H.Nilsson, T.Stoemberg, "In vivo determination of local skin optical properties and photon path length by use of spatially resolved diffuse reflectance with applications in laser Doppler flowmetry", *Appl. Opt.* vol. 42, pp. 124-134, 2003.
- [7] V.Toronov, A.Webb, "Study of local cerebral hemodynamics by frequency-domain near-infrared spectroscopy and correlation with simultaneously acquired functional magnetic resonance imaging", *Opt.Express*, vol. 9, pp. 417-427, 2001.
- [8] M.S.Patterson, J.D.Moulton, B.C.Wilson, K.W. Berndt, J.R.Lakowicz, "Frequency-domain reflectance for the determination of the scattering and absorption properties of tissue", *Appl. Opt.* vol. 30, pp. 4474-4476, 1991.
- [9] S.Fantini, M.A.Franceschini, E.Gratton, "Semi-infinite-geometry boundary problem for light migration in highly scattering media: a frequency-domain study in the diffusion approximation", *J. Opt. Soc. Am. B*, vol. 11, pp. 2128-2138, 1994.

Abstract – In the paper, the application of laser techniques in human blood flow research are analysed. Particularly, the measurements of local tissue perfusion and local oxy- and deoxyhemoglobin concentrations by lasers of wavelengths in visible and near infrared region, are considered. The analysis of laser radiation propagation in superficial tissues is exposed, taking into account its complex structure, absorption, scattering and multiple scattering.

**LASER TECHNIQUES IN HEMODYNAMICS
RESEARCH**

Ilić Jelena, Ristić Slavica, Družijanić Dragan