

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики  
Российской академии наук»  
(ИПФ РАН)

На правах рукописи

ПЕРЕКАТОВА Валерия Владимировна

РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ОПТИКО-  
АКУСТИЧЕСКОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

Специальность: 01.04.03      Радиофизика  
01.04.21      Лазерная физика

диссертация на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Научные руководители:

к.ф.-м.н. И.В. Турчин

к.ф.-м.н. П.В. Субочев

Нижний Новгород

2019

## Оглавление

Введение .....	4
<b>ГЛАВА 1. Восстановление распределения поглощающих неоднородностей по оптико-акустическим измерениям для сферически фокусируемого датчика.....</b>	<b>27</b>
1.1. Введение.....	27
1.2. Прямая задача оптико-акустической визуализации.....	28
1.3. Разработка метода решения обратной задачи оптико-акустической микроскопии.....	34
1.4. Демонстрация возможностей метода восстановления в ходе численного моделирования.....	38
1.5. Анализ устойчивости разработанного метода .....	42
1.6. Выводы.....	46
<b>ГЛАВА 2. Восстановление распределения поглощающих неоднородностей по оптико-акустическим измерениям с учетом функции размытия точки ультразвуковой антенны и распределения освещенности в биоткани .....</b>	<b>48</b>
2.1. Введение .....	48
2.2. Описание экспериментальной ОАМ системы, фантомных и <i>in vivo</i> исследований .....	49
2.3 Описание Монте-Карло моделирования освещенности .....	51
2.4 Оптические свойства фантома и кожи человека .....	54
2.5 Результаты Монте-Карло моделирования осевого распределения освещенности .....	56
2.6 Комбинация компенсации освещенности и метод синтеза апертуры, учитывающий функцию размытия точки ультразвуковой антенны .....	62
2.7. Апробация разработанного метода восстановления в модельном эксперименте .....	66
2.8. Апробация разработанного метода восстановления в <i>in vivo</i> эксперименте.....	74
2.9. Выводы.....	79
<b>ГЛАВА 3. Определение оксигенации крови двухволновым оптико-акустическим амплитудным методом.....</b>	<b>82</b>
3.1. Введение .....	82
3.2 Определение оксигенации крови в сосуде.....	82
3.3 Погрешность измерений оксигенации крови в сосуде.....	83
3.3.1 Погрешность определения оксигенации крови, связанная с шумами в измерении давления .....	84
3.3.2 Определение освещенности и погрешности определения отношения освещенностей на двух длинах волн.....	85
3.3.3 Учет изменения освещенности внутри кровеносного сосуда .....	90
3.4 Расчет оптимальных длин волн для определения оксигенации крови.....	92
3.4.1 Оптимальные длины волн для определения оксигенации крови при известных оптических параметрах среды.....	93
3.4.2 Влияние погрешности определения оптических параметров на оптимальные длины волн .....	95

3.4.3 Влияние измерительного шума давления на оптимальные длины волн .....	97
3.4.4 Влияние изменения освещенности внутри кровеносного сосуда на оптимальные длины волн .....	100
3.5. Выводы.....	101
<b>ГЛАВА 4. Экспериментальное исследование определения оксигенации крови спектральным оптико-акустическим методом .....</b>	<b>105</b>
4.1. Введение .....	105
4.2 Описание фантомного и <i>in vitro</i> эксперимента .....	107
4.3 Описание <i>in vivo</i> эксперимента.....	108
4.4 Результаты фантомного эксперимента.....	110
4.5 Результаты <i>in vitro</i> эксперимента .....	112
4.6 Результаты <i>in vivo</i> эксперимента .....	114
4.7 Анализ результатов определения оксигенации крови амплитудным оптико- акустическим методом в <i>in vivo</i> эксперименте.....	119
4.8. Выводы.....	124
Заключение. Основные результаты .....	128
Список литературы .....	130
Список публикаций автора по теме диссертации.....	147

## Введение

Методы биомедицинской визуализации находят свое применение как в экспериментальных исследованиях на лабораторных животных, так и в клинических условиях, и позволяют получать структурную и функциональную информацию об объекте исследования.

Пространственное разрешение чисто оптических методов диагностики ограничено эффектами рассеяния фотонов на глубинах более 1 мм [1] [2]. На таких глубинах исследования высокое пространственное разрешение может быть достигнуто только при использовании гибридных методов визуализации, сочетающих в себе чисто оптические и другие методы (ультразвуковые [3, 4], магнитно-резонансные [5], рентгеновские [6]), формирование изображений в которых слабо зависит от оптического рассеяния.

Биомедицинская оптико-акустическая или оптоакустическая (ОА) визуализация [7-10] это гибридный метод, сочетающий в себе преимущества ультразвуковых [3, 4] [11] и оптических [12-14] методов и, соответственно, позволяющий получать изображения биотканей с высоким контрастом [8, 10, 15] и субмиллиметровым пространственным разрешением на глубинах от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров. ОА диагностика основана на широкополосной регистрации ультразвуковых волн, возникающих в среде при поглощении наносекундных лазерных импульсов хромофорами биотканей [7]. Оптические импульсы вызывают нагрев и тепловое расширение светопоглощающих участков среды, что приводит к генерации акустических импульсов, регистрируемых ультразвуковой антенной на поверхности среды. Таким образом, поскольку интенсивность акустических импульсов пропорциональна коэффициенту оптического поглощения ткани, ОА обеспечивает высокий молекулярный контраст за счет большого различия в спектрах поглощения хромофоров. Высокое пространственное

разрешение в ОА реализуется за счет ультразвуковой локации хромофоров биоткани благодаря малому показателю рассеяния ультразвука в биологических тканях в сравнении с рассеянием фотонов при распространении в среде [16].

История открытия оптико-акустического эффекта восходит к 1880 году, когда Александр Белл впервые обнаружил эффект генерации звука за счет поглощения модулированного солнечного света [17]. В 1970е – 80е года оптоакустика зарекомендовала себя в качестве приложения для спектроскопии поглотителей оптического излучения и подповерхностной визуализации оптических неоднородностей. Однако, только в середине 90 годов 20 века с появлением импульсных лазеров с высокой энергией стало понятно, что оптико-акустическая визуализация может быть использована в биомедицинских приложениях. В настоящее время ОА диагностика развивается быстрыми темпами, что связано с появлением новых подходов, развитием элементной базы (лазеры с перестройкой длины волны, светодиодные источники с высокой пиковой мощностью, сверхширокополосные ультразвуковые детекторы с высокой чувствительностью, многоканальные высокочастотные аналого-цифровые преобразователи) и разработкой новых методик применения данного метода в биомедицине.

В последние годы оптико-акустическая диагностика достигла больших успехов, позволив визуализировать структурные и функциональные свойства биотканей [16, 18, 19]. ОА диагностика позволяет визуализировать анатомические особенности биологических тканей, содержащие такие эндогенные хромофоры как гемоглобин, жиры, меланин, коллаген и вода. Кровь, в основном состоящая из окси- и дезоксигемоглобина, является наиболее сильным поглотителем по сравнению с другими компонентами биологической ткани, что позволяет использовать ОА имиджинг для визуализации кровеносных сосудов *in vivo* [10, 20], и, соответственно, делает возможным *in vivo* диагностику новообразований, сопровождающихся ангиогенезом [21].

Хотя сильное поглощение оптического излучения гемоглобином позволяет получать трехмерные ОА изображения кровеносных сосудов [10, 22] [20, 23-26], большинство клеток и тканей являются слабыми поглотителями в видимом и ближнем инфракрасном диапазоне длин волн, и, как результат, неотличимыми при визуализации без использования дополнительных экзогенных маркеров. Разнообразные контрастные агенты [15, 27] (органические красители [28], белки [29], наночастицы [30, 31]), поглощающие в видимом и ближнем инфракрасном диапазоне длин волн, могут генерировать сильный ОА сигнал и служить дополнительным источником оптоакустического контраста. Неспецифическое окрашивание может использоваться, например, для визуализации лимфатической системы [32]. Экзогенные маркеры, которые могут специфически связываться с определенными молекулами или клетками-мишенями, в сочетании с ОА диагностикой находят клиническое применение, начиная от обнаружения раковых клеток до мониторинга лечения ряда онкологических заболеваний.

### ***Количественные ОА измерения.***

Поскольку оптическое поглощение различных эндогенных и экзогенных хромофоров по-разному зависит от длины волны, ОА спектроскопия позволяет разделять эти хромофоры при мультиспектральном зондировании. Таким образом, особую значимость в развитии оптоакустических биомедицинских приложений имеет использование перестраиваемых лазеров [33] для обеспечения максимальной контрастности оптического поглощения исследуемых биологических структур по отношению к окружающим тканям. В настоящее время метод мультиспектральной оптико-акустической визуализации [29] используется для нейровизуализации [34], диагностики рака [35], сердечно-сосудистых заболеваний [36]. При этом мультиспектральная ОА диагностика позволяет получать не только структурные изображения кровеносной системы, но и восстанавливать пространственное распределение концентраций отдельных хромофоров биологической ткани с известными

парциальными спектрами оптического поглощения.

Для проведения количественных оценок (концентраций отдельных хромофоров или их соотношения) по зарегистрированному ОА сигналу необходимо определить коэффициент поглощения среды, после чего, из измерений на разных длинах волн, можно определять локальные концентрации хромофоров. Локальный инкремент давления, возникающий в среде при поглощении импульсного лазерного излучения оптическими неоднородностями, определяется значениями трех физических величин в этой точке: параметром Грюнайзена [37], коэффициентом оптического поглощения и значением освещенности в данной точке среды [38]. Таким образом, решив задачи о пространственных распределениях ультразвукового давления и оптической освещенности в среде можно найти коэффициент поглощения. Для определения начального распределение давления по ультразвуковым сигналам, зарегистрированным на поверхности среды ультразвуковым датчиком используются алгоритмы решения обратной задачи акустики [39]. Данные алгоритмы, применяемые в оптоакустике, подробно описаны ниже в подразделе «Методы акустической реконструкции». Пространственное распределение освещенности в среде может быть рассчитано по начальному распределению поля лазерной засветки на поверхности объекта и оптическим характеристикам среды [38]. Учет освещенности при количественном ОА имиджинге заключается в вычислении отношения восстановленного ультразвукового давления и рассчитанного или измеренного распределения зондирующего оптического излучения в каждой точке полученного изображения [40], что фактически позволяет определить локальное значение коэффициента поглощения [41]. Однако, точное вычисление оптической освещенности внутри объекта при сложной геометрии засветки, труднодостижимо при использовании аналитических методов [42], особенно, если исследуемый объект оптически неоднороден. Таким образом, для количественной ОА визуализации требуется совместное решение акустической и оптической задач для каждой

длины волны.

### ***ОА томография и ОА микроскопия.***

Для ОА визуализации используются две технические реализации: ОА томография и ОА микроскопия.

В ОА томографии УЗ импульсы, приходящие от исследуемых объектов, как правило, регистрируются ансамблем не фокусируемых приемников с  $\frac{L}{\lambda} \sim 10$  (где  $L$ - апертура датчика,  $\lambda$ - длина волны), работающих в дальней зоне и способных принимать сигналы с различных направлений [43]. Таким образом, обеспечивается взаимное перекрытие диаграмм направленности различных датчиков. Для реализации такого подхода используют три основные геометрии расположения приемников: плоская, цилиндрическая и сферическая. Использование ОА томографии позволяет получать трехмерные изображения в режиме реального времени, что особенно важно для клинических применений. Однако одним из основных недостатков ОА томографии является высокая стоимость ОА томографа за счет использования дорогостоящих многоэлементной антенны и многоканального аналого-цифрового преобразователя, что усложняет проведение клинических испытаний и внедрение ОА томографов в клинику. Кроме того, ОА томографы, как правило, обладают низким пространственным разрешением, поскольку для достижения высокого пространственного разрешения требуется высокая «плотность» элементов антенны, что приводит к потере чувствительности из-за малости их апертуры.

В случаях, когда не требуется измерений в режиме реального времени, но требуется высокое пространственное разрешение, более эффективно использование ОА микроскопии [8] [44, 45] [46] [47]. ОА микроскопия (ОАМ), основанная на последовательном сканировании исследуемого объекта сферически фокусируемым ультразвуковым детектором с широкой полосой приема, определяющей продольное



пространственное разрешение, и большой числовой апертурой, определяющей поперечное пространственное разрешение [48], является одним из технологически простых реализаций трехмерной ОА визуализации. При этом область оптической засветки объекта совмещается с областью приема ультразвуковой антенны. Вследствие высокого поглощения крови в видимом диапазоне длин волн по сравнению с окружающими тканями ОА микроскопия эффективно применяется для *in vivo* ангиографии [49] с пространственным разрешением, составляющим десятки микрон на глубине до нескольких миллиметров. Высокая числовая апертура ультразвукового датчика с одной стороны позволяет достичь высокого поперечного разрешения и уменьшает артефакты, а с другой уменьшает эффективную глубину визуализации и усложняет технологию их изготовления.

Фокусируемый приемник для ОА микроскопии имеет конечную область фокусировки, что приводит к возникновению артефактов. Для улучшения разрешения трехмерной ОАМ возможно использование акустических алгоритмов реконструкции [50] [51-53]. Таким образом, для получения ОА изображений как в случае ОА томографии, так и в случае ОА микроскопии необходимо решение обратной задачи акустики.

Для восстановления распределения начального акустического давления в ОА томографии применяются алгоритмы реконструкции изображений по значениям акустического давления, регистрируемого ансамблем точечных детекторов [54-56] [57].

### ***Методы акустической реконструкции.***

В последние годы были разработаны различные методы решения обратной задачи акустики, позволяющие восстанавливать распределение источников в среде с хорошей точностью [57, 58]. Эти методы можно разделить на несколько категорий в зависимости от типа используемого алгоритма восстановления.

Метод обратных проекций [59] является классическим способом осуществления ОА реконструкции и обеспечивает точное восстановление в плоской [55], цилиндрической [55], а также в сферической геометриях [22, 60]. Метод основан на двумерной или трехмерной формулах обращения сигналов, являющихся аналогом преобразования Радона. Формулы обратных проекций существуют для нескольких конфигураций детектирования и реализуются либо в пространственно-временной области [55, 61] или в Фурье области [54]. Недостатком методов обратных проекций является то, что они не являются точными [55] и могут привести к возникновению артефактов в восстановленных изображениях, что существенно ограничивает возможности их применения.

Алгоритм Фурье-реконструкции [62] распределения начального акустического давления является классическим методом, осуществляющим восстановление двумерных ОА изображений в частотной области [10, 20, 54]. В случае, когда сбор ОА данных осуществляется эквидистантно расположенными приемниками, отображение В-скана в частотную область является выгодным с точки зрения скорости реконструкции.

Еще одним известным способом осуществления акустической ОА реконструкции является алгоритм обращения времени [63], находящийся в открытом доступе [64].

В модельно-ориентированных алгоритмах реконструкции (так называемых «Model-based algorithms») [56, 65] ОА изображение восстанавливается путем минимизации невязки между измеренными УЗ сигналами и сигналами, теоретически предсказанными моделью. Поэтому выбор подходящей модели является важным шагом в таких алгоритмах; например, различные модели могут быть точными, но привести к длительным временам работы метода, что является их главным недостатком для использования в практике. С другой стороны, если модель является приближенной или не описывает присущие исследуемой среде физические свойства, неточности реконструкции

будут также проявляться в восстановленных изображениях, и потребуют дополнительную регуляризацию. Хотя регуляризация может уменьшить количество ошибок реконструкции из-за неточности модели, она все равно приводит к снижению точности и большему времени вычисления. Кроме того, регуляризация зависит от конкретного полученного изображения, и, таким образом, должна быть выполнена отдельно для каждого набора данных. Длительное время вычисления накладывает жесткие ограничения на использование модельно-ориентированного метода реконструкции особенно для реконструкции трехмерного набора данных.

В Главе 1 Диссертации описан разработанный модельно-ориентированный алгоритм акустической реконструкции, основанный на моделировании импульсных откликов ультразвуковой сферически фокусируемой антенны. Разработанный алгоритм позволяет находить начальное распределение поглощенной энергии путем решения уравнения Фредгольма 1-го рода, связывающего нестационарную функцию размытия точки, сформированную из набора модельных А-сканов, измеренных одноэлементной сферически фокусируемой ультразвуковой антенной от протяженного ОА источника при всех возможных взаимных положениях датчика и источника, и принимаемые антенной сигналы на поверхности среды. Однако, поскольку вычисление нестационарной функции размытия точки ультразвуковой антенны для *in vivo* экспериментов требует большого времени вычисления, разработанный метод был протестирован лишь на данных численного моделирования и показал высокую эффективность восстановления истинных положений источников в среде и устойчивость к шуму в ОА изображении.

Для сокращения времени восстановления ОА изображения может быть применен один из наиболее распространенных алгоритмов акустической реконструкции – метод синтеза апертуры (SAFT – “synthetic aperture focusing technique”), который часто применяется в ультразвуковом имиджинге [66-68]. Первое удачное применение SAFT в ОА визуализации было описано в работе [69] для точечных детекторов. Концепция

виртуальных точечных детекторов (VPD – “virtual point detector”) [48] позволяет применить двумерный SAFT для ОАМ визуализации со сферически фокусируемыми детекторами с большой численной апертурой. В работе [70] 2D SAFT был применен в двух перпендикулярных сечениях, обеспечивая изотропное поперечное разрешение в ОАМ изображениях. Дальнейшее улучшение поперечного пространственного разрешения было достигнуто в работе [71] путем применения адаптированного 2D SAFT в одном из двух поперечных сечений, зависящих от пространственной ориентации восстанавливаемых кровеносных сосудов. Тем не менее, квази-3D реализации (реконструктивный алгоритм был последовательно применен к разным поперечным сечениям) [70, 71] SAFT [48] применительно к трехмерным наборам данных приводят к возникновению артефактов от сигналов из третьего измерения, которое было неучтено. Однако, реальная 3D реализация SAFT, недавно опубликованная в работе [72, 73], может привести к артефактам, связанным с движением объекта [74] во время сканирования, что характерно для ОАМ из-за длительного времени сканирования объекта.

Хотя традиционный SAFT [48, 70, 71] позволяет значительно улучшить поперечное разрешение выше и ниже VPD, основным его недостатком является низкое соотношение сигнал-шум на глубине VPD. Для повышения сигнала-к-шуму весовые коэффициенты, соответствующие пространственной чувствительности ультразвукового детектора, добавляются к традиционному SAFT [72]. Комбинация SAFT с трехмерной сверткой [73] также позволяет успешно исключать артефакты, обеспечивая дополнительное улучшение продольного разрешения в восстановленных изображениях.

В Главе 2 Диссертации описан разработанный метод реконструкции включающий в себя модифицированный SAFT [48, 73, 75, 76], учитывающий пространственный отклик [77] ультразвукового датчика [72]. Аккуратный учет функции размытия точки антенны (ASR – “antenna spatial response”) рассматривался наряду с предлагаемым упрощенным подходом, позволяющим значительно ускорить время обработки. Предлагаемый метод

реконструкции [78] был применен как к фантомным объектам, так и к *in vivo* данным, и продемонстрировал существенное улучшение качества изображения по сравнению с исходными ОА изображениями.

#### ***Учет оптической освещенности в среде.***

Другим важным аспектом количественной оптоакустической визуализации является учет оптической освещенности биоткани [38, 79], которая является существенно неоднородной, поскольку ткани являются сильно рассеивающими и поглощающими оптическое излучение объектами. К примеру, на длине волны 532 нм, часто используемой для ОАМ ангиографии, эффективный коэффициент оптического затухания для биоткани составляет около  $1 \text{ мм}^{-1}$ . Кроме того, в ОА освещенность в среде стараются сделать как можно более однородной в области чувствительности ультразвуковых детекторов, что достигается сложной геометрией засветки. Так, например, в ОАМ часто используют кольцевую засветку, что также необходимо учитывать при расчете освещенности в среде.

Традиционным методом для учета оптической освещенности является аппроксимация освещенности экспоненциальной зависимостью [42], что соответствует диффузионному приближению уравнения переноса излучения. Однако диффузионное приближение не применимо вблизи от источника излучения, особенно при сложной геометрии оптической засветки, а также в случае, когда коэффициент оптического поглощения сравним по величине с транспортным коэффициентом рассеяния. В этом случае аналитическое решение для учета освещенности не применимо, необходимо использование численных методов решения уравнения переноса излучения, таких как метод Монте-Карло моделирования [80].

Входными параметрами для численного моделирования освещенности являются геометрия оптической засветки и оптические параметры среды. Средние значения оптических параметров среды могут быть взяты из литературных данных [81], или восстановлены из дополнительных измерений методом оптической диффузионной

спектроскопии [82] [83].

Для учета освещенности в реальной биоткани может быть использована концепция многократного облучения [84]: амплитуды ОА сигналов от поглощающей структуры (например, кровеносного сосуда), записываются в виде функции от положения засветки, что позволяет восстановить коэффициент спада освещенности в среде. Данная методика не требует априорного знания об оптических свойствах биоткани, однако является технически трудно реализуемой.

В ОАМ ранее проводились количественные мультиспектральные ОА измерения, где для компенсации освещенности использовались ОА амплитуды на поверхности исследуемого объекта [85] или предположение об оптическом диффузионном режиме спада освещенности [86].

В Главе 2 Диссертации описан новый подход компенсации освещенности в *in vivo* ОАМ ангиографических измерениях [80, 87], основанный на том, что каждый А-скан трехмерного ОА изображения объекта, восстановленного разработанным модифицированным методом SAFT [78], нормируется на вычисленный на оси детектора одномерный глубинный профиль эффективного распределения освещенности, полученной из Монте-Карло моделирования с оптическими параметрами близкими к исследуемой среде с учетом сложной геометрии оптической засветки среды и диаграммы приема акустического датчика.

***Определение степени насыщения крови кислородом по спектральным ОА измерениям.***

Разработка совместного метода решения обратных задач оптики и акустики с учетом пространственного распределения освещенности в среде, позволяющего восстановить локальное значение коэффициента оптического поглощения в среде, позволяет перейти к количественным ОА измерениям.

В Диссертационной работе особое внимание уделено задаче количественного

определения степени насыщения крови кислородом (процентного отношения концентрации оксигемоглобина к полной концентрации гемоглобина), что является важным для целого ряда медико-биологических задач, например, для анализа гемодинамики мозга мелких лабораторных животных [88], оценки воздействия на опухоли химио- и лучевой терапии [89, 90] или мониторинга заживления ран [91]. Поскольку спектр показателя поглощения зависит от соотношения концентраций светопоглощающих хромофоров биоткани, возможно оценить концентрации этих хромофоров основываясь на известных парциальных спектрах и мультиспектральных измерениях показателя поглощения. Традиционным на сегодняшний день методом измерения оксигенации крови является метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС) [83]. Результатом ОДС измерений являются значения оксигенации (или концентрации отдельных хромофоров ткани), усредненные по объему биологической ткани. Однако для ряда биомедицинских задач требуется определять локальное значение оксигенации, например, в определенных кровеносных сосудах, что может быть осуществлено с помощью количественного ОА имиджинга [92-97].

#### ***ОА методы оценки оксигенации крови.***

В литературе описано два подхода к восстановлению значения степени насыщения крови кислородом по ОА измерениям, основанным на различиях в спектрах поглощения окси- и дезоксигемоглобина.

Основной подход основан на определении степени насыщения крови кислородом из ОА амплитуд сигналов в кровеносных сосудах, полученных на нескольких длинах волн [98]. Для количественной оценки локальных концентраций оксигенированных и дезоксигенированных форм гемоглобина в данном кровеносном сосуде необходимо определить спектр коэффициента оптического поглощения  $\mu_a(\lambda)$  внутри этого сосуда. Как уже было упомянуто выше, локальный инкремент давления, возникающий в среде при поглощении импульсного лазерного излучения оптическими неоднородностями,

пропорционален двум величинам: коэффициенту оптического поглощения и значению освещенности в данной точке среды. Локальное значение коэффициента оптического поглощения определяется локальной концентрацией хромофоров (в данном случае окси- и дезоксигемоглобина), парциальные спектры поглощения которых хорошо известны. Освещенность в некоторой точке внутри ткани определяется пространственным распределением хромофоров и рассеивателей, во всей области засветки оптическим излучением.

Неизвестное пространственное распределение освещенности значительно осложняет проведение количественных оценок коэффициента оптического поглощения  $\mu_a(\lambda)$  из ОА измерений [79] [99], особенно для сложных геометрий оптической засветки [80]. Предположение, что освещенность оказывает незначительное влияние на оценку соотношения концентраций хромофоров [18, 100], в общем случае не является оправданным, поскольку освещенность в некоторой точке исследуемой среды зависит от длины волны лазерной засветки, что связано с дисперсией оптических характеристик ткани – показателей рассеяния и поглощения. Таким образом, задача определения уровня насыщения крови кислородом по ОА амплитудам осложнена тем, что локальный инкремент давления пропорционален освещенности, которая в биологических тканях зависит от длины волны лазерной засветки.

В работе [101] авторы восстанавливают концентрации окси- и дезоксигемоглобина из ОА измерений амплитуды в диапазоне длин волн 740 – 1040 нм с шагом 10 нм путем наложения модели на экспериментальные данные. Используемая модель включает в себя расчет распределения поглощенной энергии с использованием уравнения переноса излучения, использование различных концентраций хромофоров, расчет начального распределения давления и подстановку этого начального давления в волновое уравнение. В работе [86] авторы применили подход для восстановления коэффициентов оптического поглощения из акустических спектров амплитуд ОА



сигналов, полученных на нескольких длинах волн, путем минимизации разности экспериментальных ОА спектров и теоретических спектров, полученных в предположении экспоненциального спада освещенности с коэффициентом экстинкции равным  $\mu_a$  крови.

Различные научные группы проводят ОА измерения степени насыщения крови кислородом на различных комбинациях длин волн [86, 92, 94, 97, 99, 102, 103] в зависимости от используемого источника(ов) лазерной энергии.

Для длин волн лазерного излучения, соответствующих окну прозрачности (650 - 1300 нм), рассеяние существенно превышает поглощение, и величина освещенности в тканях меняется плавно, однако, поглощение крови в этом диапазоне длин волн низкое, что приводит к ошибкам в определении оксигенации крови из-за низкого отношения сигнал-шум. Это означает, что существуют оптимальные длины волн лазерной засветки, при которых ошибка определения оксигенации крови минимальна. Следует отметить, что в различных ОА приложениях (ОА микроскопии [94, 104, 105] и ОА томографии [29, 106]) в зависимости от глубины исследования оптимальные длины волн могут принадлежать различным спектральным диапазонам.

Проблема выбора оптимальных длин волн для ОА-измерений степени насыщения крови кислородом поднималась в ряде работ [107-111].

В работе [107] предлагалось использовать число обусловленности матрицы поглощения как индикатор стабильности спектрального разделения методом наименьших квадратов. В итоге авторы [107] предложили выбирать длины волн из диапазонов около 650 нм, 700-750 нм, 800-920 нм и 900-960 нм для четырех-волновых ОА измерений. В [108] был предложен метод поиска оптимальных длин волн, основанный на анализе наименьшего сингулярного значения матрицы поглощения. В [109] алгоритм отбора оптимальных длин волн, основанный на условии нахождения нижней границы Крамера-

Рао, использует в качестве входных данных модель кожи, состоящей из эпидермиса и дермы, и начальные предположения о компонентном составе среды. Алгоритм предложенный в [109] дает пару оптимальных длин волн около 600 нм при низкой концентрации крови в коже, при увеличении концентрации крови в дерме дает пару 600 нм и 990 нм.

В большинстве работ [108, 109, 111, 112] распределение освещённости считается известным и рассчитывается, исходя из заданных параметров рассеяния и поглощения биоткани, которые принимаются однородными в исследуемой среде. Освещенность рассчитывается либо методом Монте-Карло моделирования [111], либо задаётся экспоненциально спадающей с глубиной функцией [109, 112], оптические параметры при этом берутся из литературных источников [113, 114]. Тем не менее, биологические ткани не являются однородно рассеивающими и поглощающими объектами, и большие вариации показателей рассеяния и поглощения среды не позволяют смоделировать освещённость с достаточной точностью, что приводит к погрешности в определении оксигенации крови.

Следует также отметить, что в кровеносных сосудах поглощение света, как правило, выше, чем в окружающих тканях, что приводит к сильному изменению освещенности внутри сосуда при зондировании на различных длинах волн. Предложенный в работе [109] метод выбирает оптимальные длины волн для определения уровня оксигенации крови в сосуде, находящемся на определенной глубине в биоткани. Однако предложенная модель не учитывает влияние размеров кровеносных сосудов на распределение освещенности и, как следствие, возникновение в погрешности определения уровня оксигенации дополнительного слагаемого, связанного с наличием кровеносных сосудов конечного размера.

В Главе 3 Диссертационной работы был предложен метод поиска оптимальных длин волн [79], в котором погрешность определения степени насыщения крови кислородом минимизируется с учетом измерительных шумов акустического давления и погрешности коэффициентов оптического рассеяния и поглощения, используемых при расчете освещенности. Было проанализировано влияние ослабления освещенности в кровеносных сосудах различных диаметров на пары оптимальных длин волн. Результаты, полученные в [79], показывают, что использование длин волн менее 600 нм неуместно для оценок оксигенации даже на малых глубинах из-за чрезвычайно высокого затухания сигнала. Было показано, что минимальная ошибка в определении степени насыщения крови кислородом на глубинах от 2 до 8 мм может быть достигнута на длинах волн 658 и 1069 нм при неизвестном (или частично известном) пространственном распределении освещенности.

Кроме основного подхода для определению степени насыщения крови кислородом, основанного на анализе амплитуд ОА сигналов, в литературе описан второй подход основанный на оценке спектра эффективного коэффициента оптического затухания  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  по спаду ОА сигнала в выбранном кровеносном сосуде [115]. Величина  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  зависит от  $\mu_a(\lambda)$  и транспортного коэффициента оптического рассеяния  $\mu'_s(\lambda)$ . Величина  $\mu'_s(\lambda)$  транспортного коэффициента оптического рассеяния слабо зависит от оксигенации [116], и зависимость  $\mu_a(\lambda)$  может быть получена из измеренного  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$ . Основное преимущество этого метода заключается в отсутствии необходимости учета оптической освещенности, поскольку  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  от нее не зависит. В связи с этим данный метод можно назвать бескалибровочным. Коротковолновый диапазон длин волн (<630 нм) обычно используется для ОА измерений  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  без калибровок в небольших и поверхностных кровеносных сосудах (<150 мкм в диаметре) [94, 99], так как кровь характеризуется большим значением коэффициента  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  в данном диапазоне длин волн. Терапевтический диапазон длин волн (630-1300 нм) используется для ОА измерения  $\mu_{\text{eff}}$

( $\lambda$ ) в более глубоких и больших кровеносных сосудах ( $> 150$  мкм в диаметре) [79, 92].

В работе [100] авторы применили два вышеупомянутых метода *in vitro* для измерений в диапазоне длин волн 740-1040 нм и определили как спектр амплитуды сигнала, так и спектр коэффициента эффективного затухания ОА сигналов в зависимости от длины волны. На первом этапе они восстанавливали  $\mu_s'(\lambda)$  из ОА измерений  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  для известных  $\mu_a(\lambda)$  в крови при разных значениях степени насыщения крови кислородом. На следующем этапе авторы определили из  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  относительные концентрации окси- и дезоксигемоглобина, и, следовательно, степень насыщения крови кислородом, используя прямые модели распределения поглощенной энергии на основе диффузионной теории и с учетом восстановленных  $\mu_s'(\lambda)$ .

В Главе 4 Диссертационной работы было проведено сравнение традиционных (основанных на амплитудах ОА сигналов) и бескалибровочных (на основе измерения  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$ ) методов определения степени насыщения крови кислородом при осуществлении как *in vitro*, так и *in vivo* ОА измерений. Впервые в ходе *in vivo* эксперимента спектры коэффициента оптического поглощения и эффективного коэффициента оптического затухания были восстановлены в одном и том же объекте.

### **Цель и задачи диссертационной работы**

Целью диссертационной работы является разработка и усовершенствование реконструктивных алгоритмов количественной оптико-акустической визуализации.

Для достижения этой цели, диссертационная работа была направлена на решение следующих задач:

1. Разработать алгоритм решения обратной задачи акустики на основе модели распространения акустических волн от протяженных источников в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением, имитирующим биологическую ткань, и с учетом

нестационарной функции размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны.

2. Разработать метод решения обратной задачи оптико-акустической визуализации с учетом функции размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны и распределения освещенности зондирующего лазерного излучения в среде. Провести апробацию данного алгоритма на оптико-акустических данных, полученных на модельных средах и в *in vivo* эксперименте.

3. Провести теоретическое исследование погрешности измерительной оптико-акустической системы в определении степени насыщения крови кислородом на различных глубинах с учетом зависимости пространственного распределения освещенности зондирующего лазерного излучения в сильно рассеивающей среде от оптической длины волны и с учетом затухания освещенности в кровеносном сосуде.

4. Найти оптимальные длины волн для определения степени насыщения крови кислородом двухволновым оптико-акустическим методом. Провести серию *in vitro* и *in vivo* экспериментов, в том числе с использованием оптимальных длин волн, по одновременному определению степени насыщения крови кислородом методами, основанными на измерении амплитуд и на определении коэффициента затухания оптико-акустических сигналов.

### **Научная новизна**

Научная новизна диссертационной работы определяется полученными в ней оригинальными результатами:

1. Разработан новый метод решения обратной задачи акустики в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением, моделирующей биологическую ткань, с учетом нестационарной функции размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой

антенны. Разработанный метод реконструкции продемонстрировал устойчивое к шуму восстановление положения протяженных источников в ходе апробации в численном эксперименте.

2. Разработан новый метод решения обратной задачи оптико-акустической визуализации с одновременным учетом функции размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны и распределения освещенности в среде. Разработанный метод совместного решения обратных задач оптики и акустики, экспериментально апробированный на модельных средах и в условиях *in vivo*, позволяет получать восстановленные изображения с меньшим временем обработки.

3. Впервые проведено теоретическое исследование погрешности измерительной оптико-акустической системы по отношению к определению степени насыщения крови кислородом на различных глубинах с учетом влияния пространственного распределения освещенности от лазерной длины волны и с учетом затухания освещенности в кровеносном сосуде. В условиях неизвестного пространственного распределения освещенности на глубинах от 2 до 8 мм минимальная погрешность в определении степени оксигенации крови достигается при использовании пары длин волн в диапазонах  $658 \pm 40$  нм и 900-1069 нм.

4. Впервые проведено сравнительное исследование двух методов оценки оксигенации: на основе измерения амплитуд оптико-акустических сигналов и на основе определения эффективного коэффициента затухания оптико-акустических сигналов. Проведение серии *in vitro* и *in vivo* экспериментов показало эффективность метода, основанного на амплитудах оптико-акустических сигналов, и доказало эффективность предложенной методики определения степени насыщения крови кислородом на найденных оптимальных длинах волн.

## **Практическая значимость**

Практическая значимость диссертационной работы обусловлена возможностью использования разработанных методов количественной реконструкции в медицине и экспериментальной биологии для получения ангиографических изображений биологических тканей с возможностью локального определения степени насыщения крови кислородом в каждом кровеносном сосуде. Разработанная методика точного определения степени насыщения крови кислородом на оптимальных длинах волн может быть применена в клинической практике для диагностики заболеваний периферических сосудов, для диагностики новообразований, для мониторинга заживления ран, а также в экспериментальной медицине для анализа гемодинамики мозга мелких лабораторных животных, для исследования механизмов действия новых антиангиогенных лекарственных препаратов, предназначенных для лечения онкологических заболеваний.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Разработанный метод решения обратной задачи акустики на основе модели распространения акустических волн в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением, моделирующей биологическую ткань, и с учетом нестационарной функции размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны обеспечивает устойчивое к шуму восстановление положений протяженных источников.

2. Разработанный алгоритм реконструкции оптико-акустических изображений биотканей с учетом функции размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны и распределения освещенности среды зондирующим лазерным излучением позволяет скомпенсировать неоднородность поля засветки на изображениях и повысить пространственное разрешение по сравнению с методом синтезирования апертуры SAFT в

условиях модельного и *in vivo* экспериментов.

3. В условиях неизвестного пространственного распределения освещенности сильно рассеивающей среды зондирующим лазерным излучением минимальная погрешность в определении степени оксигенации крови двухволновым оптико-акустическим методом в биотканях на глубинах от 2 до 8 мм достигается при использовании длин волн  $658\pm 40$  нм и 900-1069 нм.

4. Мультиспектральный оптико-акустический метод оценки оксигенации крови в кровеносных сосудах, основанный на измерении амплитуд оптико-акустических сигналов, обеспечивает лучшую точность по сравнению с методом, основанным на нахождении коэффициента затухания оптико-акустического сигнала в сосуде, и позволяет в *in vivo* эксперименте определять значение оксигенации крови внутри кровеносного сосуда со среднеквадратичным отклонением не более 5%.

### **Достоверность научных результатов**

Достоверность полученных результатов обеспечивается физически обоснованной постановкой обратной задачи оптоакустики, использованием общепринятых моделей при разработке алгоритмов и подтверждается численными, модельными, *in vitro* и *in vivo* экспериментами.

### **Публикации и апробация результатов работы**

Результаты диссертации изложены в 21 работе автора, из которых 9 статей опубликовано в рецензируемых российских и зарубежных журналах, входящих в перечень ВАК, и 12 работ в сборниках материалов конференций.

Изложенные в диссертации результаты обсуждались на семинарах в Институте



прикладной физики РАН (2014–2019 гг.), докладывались на конкурсах молодых ученых ИПФ РАН (2017 г., 2019 г.) и на Всероссийских и Международных конференциях:

1. IV International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (21 – 27 Июля, 2013, Нижний Новгород, Россия);
2. V International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (20 – 24 Июля, 2015 Нижний Новгород, Россия);
3. SPIE BiOS (Сан-Франциско, Калифорния, США, 2017);
4. II Всероссийская акустическая конференция, совмещенная с XXX сессией Российского акустического общества (Нижний Новгород, 6–9 июня 2017 г.);
5. 9th International Graduate summer school Biophotonics '19 (10-17 Июня 2017, Остров Вен, Швеция);
6. European Conferences on Biomedical Optics (ECBO) (Мюнхен, Германия, 25-29 Июня, 2017);
7. VI International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (28 Июля – 03 Августа, 2017, Санкт-Петербург – Нижний Новгород, Россия);
8. “Saratov Fall Meeting 2017” (26–29 Сентября, 2017, Саратов, Россия);
9. Clinical and Translational Biophotonics (2018, Флорида, США, 3–6 Апреля 2018);
10. 18th International Conference on Laser Optics (4-8 Июня, 2018, Санкт-Петербург, Россия);
11. 4th International Conference СТСТ-2018 - Current Trends in Cancer Theranostics and 3rd General Meeting of COST Action CM1403 (1-5 Июля, Тракай, Литва).
12. International Conference on Advanced Laser Technologies «ALT'18» (9–14 Сентября, Таррагона, Испания).
13. International Conference on Laser Applications in Life Sciences (LALS) (18 – 20

Ноября 2018, Израиль)

### **Личный вклад автора**

Все приведенные в диссертации результаты получены либо лично автором, либо при его непосредственном участии. Автор активно участвовал в теоретической разработке методов, их программной реализации и экспериментальной апробации.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка цитируемой литературы и списка публикаций автора по теме диссертации. Общий объем работы – 150 страниц, включая 43 рисунка, 12 таблиц и список литературы из 154 наименований.

# **ГЛАВА 1. Восстановление распределения поглощающих неоднородностей по оптико-акустическим измерениям для сферически фокусируемого датчика.**

## **1.1. Введение.**

Обратная задача оптоакустики о восстановлении распределения оптических поглотителей по акустическим импульсам, зарегистрированным ультразвуковым датчиком [38] может быть разбита на две части: оптическая обратная задача восстановления коэффициента оптического поглощения и акустическая обратная задача восстановления распределения начального акустического давления по ультразвуковым импульсам, зарегистрированным на поверхности среды. В Главе 1 детально рассмотрена вторая, акустическая часть.

Основной целью данной главы является исследование алгоритмов, предназначенных для уточнения формы и размеров восстанавливаемых объектов. Для восстановления начального распределения поглотителей в среде разработан модельно-ориентированный алгоритм акустической реконструкции изображений, полученных с помощью ОА микроскопии [8, 51], основанный на моделировании импульсных откликов ультразвуковой сферически фокусируемой антенны. В Главе 1 использована численная модель, описывающая оптоакустическую систему, генерирующую акустические волны, распространяющиеся в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением, моделирующей биологическую ткань, с заданным распределением поглотителей. Разработанный алгоритм позволяет находить начальное распределение поглощенной энергии путем решения уравнения Фредгольма 1-го рода, связывающего нестационарную функцию размытия точки сферически фокусируемой одноэлементной антенны и принимаемые антенной сигналы на поверхности среды.

## 1.2. Прямая задача оптико-акустической визуализации.

Рассмотрим прямую задачу оптикоакустической микроскопии, заключающуюся в нашем случае в установлении связи между неизвестным распределением поглощенной оптической энергии и значениями давления на поверхности среды.

Локальный нагрев среды лазерным импульсом на длине волны  $\lambda$  ведет к тепловому расширению среды, в результате чего в месте поглощения энергии возникает локальный инкремент давления [38]:

$$p_0(\vec{r}) = \Gamma H(\vec{r}), \quad (1.1)$$

где  $\Gamma$  – безразмерный параметр Грюнайзена, отвечающий за эффективность ОА преобразования тепла в давление,  $H(\vec{r})$  – поглощенная энергия в среде. Параметр Грюнайзена чаще всего полагается равным константе, так как практически не меняется для различных биологических тканей, в отличие от значительных пространственных вариаций коэффициента поглощения.

Поглощенная энергия в среде определяется коэффициентом оптического поглощения  $\mu_a(\vec{r})$  и освещенностью  $\Phi(\vec{r}, \mu_a, \mu_s')$ :

$$H(\vec{r}) = \mu_a(\vec{r})\Phi(\vec{r}, \mu_a, \mu_s'). \quad (1.2)$$

Благодаря эластичной природе биологических тканей начальное распределение акустического давления:

$$p_0(\vec{r}) = \Gamma \mu_a(\vec{r})\Phi(\vec{r}, \mu_a, \mu_s') \quad (1.3)$$

рождает акустическую волну, которая регистрируется ультразвуковой антенной, расположенной на поверхности среды, в виде разрешенного во времени электрического сигнала  $p_a(\vec{r}, t)$ , где  $\mu_a$  [см<sup>-1</sup>] – коэффициент оптического поглощения на заданной глубине  $z$ ,  $\mu_s'$  [см<sup>-1</sup>] – транспортный коэффициент рассеяния среды,  $\Phi$  [мДж/см<sup>2</sup>] – освещённость на заданной глубине  $z$ ,  $\Gamma$  – безразмерный параметр Грюнайзена, характеризующий эффективность ОА преобразования поглощенного света в звук. В результате ОА данные для реконструкции изображения представляют собой набор таких

сигналов, регистрируемых в различных точках пространства.

Для описания распространения оптико-акустических волн в среде выберем сферический элемент с равномерным распределением оптических свойств. Поместим этот сферический элемент внутри среды, оптические свойства которой считаются однородными. Также считаем, что световой импульс мгновенно (в сравнении со скоростью распространения звука) распространяется сквозь среду и равномерно засвечивает сферический элемент. Часть световой энергии поглощается элементом и превращается в тепло. Последующее тепловое расширение генерирует волну давления, которая распространяется с поверхности сферы.

Для того, чтобы описать давление от неоднородного распределения поглощенной энергии в среде в точке  $\vec{r}$  и в момент времени  $t$  вне сферы запишем следующие уравнения. Уравнение, описывающее избыток распределения тепла  $T(\vec{r}, t)$ , который преобразуется в источник тепла  $H(\vec{r}, t)$ , определяемый поглощаемой в единицу времени единицей объема энергией:

$$\rho c_p \frac{\partial}{\partial t} T(\vec{r}, t) = \lambda \nabla^2 T(\vec{r}, t) + H(\vec{r}, t), \quad (1.4)$$

где  $c_p$ - теплоемкость при постоянном давлении,  $\rho$ - плотность вещества,  $\lambda$ - теплопроводность среды, а  $H(\vec{r}, t)$  описывает выделение тепла и оптическое поглощение в исследуемой среде.

Волновое уравнение, связывающее давление с инкрементом температуры:

$$\nabla^2 p(\vec{r}, t) - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\vec{r}, t) = \frac{\beta}{\kappa} \frac{\partial^2}{\partial t^2} T(\vec{r}, t), \quad (1.5)$$

где  $\beta$ - коэффициент изобарического расширения,  $c$  - скорость звука. Учитывая, что оптическая энергия доставляется за достаточно короткий по времени импульс, то главным членом в уравнении (1.4) можно пренебречь. Тогда:

$$\frac{\partial}{\partial t} T(\vec{r}, t) = \frac{H(\vec{r}, t)}{\rho c_p}. \quad (1.6)$$

После подстановки уравнения (1.6) в уравнение (1.5), получаем, что давление

$p(\vec{r}, t)$  в точке  $\vec{r}$  и в момент времени  $t$  в акустически однородной среде в ответ на тепловой источник  $H(\vec{r}, t)$  подчиняется следующему уравнению [117-119]:

$$\nabla^2 p(\vec{r}, t) - \frac{1}{c_p^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\vec{r}, t) = -\frac{\beta}{c_p} \frac{\partial}{\partial t} H(\vec{r}, t). \quad (1.7)$$

Источник тепла  $H(\vec{r}, t)$  может быть представлен как произведение пространственной функции поглощения и временной функции подсветки:  $H(\vec{r}, t) = A(\vec{r})I(t)$ . Короткий импульс может быть представлен в виде дельта функции Дирака:  $I(t) = \delta(t)$ .

Тогда уравнение (1.7) будет выглядеть следующим образом:

$$\nabla^2 p(\vec{r}, t) - \frac{1}{c_p^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\vec{r}, t) = -\eta \frac{\partial}{\partial t} A(\vec{r})\delta(t). \quad (1.8)$$

После преобразования Фурье для переменной  $\bar{t} = ct$  к уравнению (1.8), получаем:

$$(\nabla^2 + k^2)\tilde{p}(\vec{r}, k) = ik\eta c^2 A(\vec{r}). \quad (1.9)$$

Где уравнение (1.9) является неоднородным уравнением Гельмгольца для Фурье-образа давления  $\tilde{p}(\vec{r}, k)$ . Где  $\eta = \frac{\beta}{c_p}$  и следующие Фурье-преобразования имеют место:

$$\tilde{p}(\vec{r}, k) = \int_{-\infty}^{+\infty} p(\vec{r}, \bar{t}) e^{ik\bar{t}} d\bar{t}$$

$$p(\vec{r}, \bar{t}) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{p}(\vec{r}, k) e^{-ik\bar{t}} dk,$$

где  $k = \frac{\omega}{c}$ ,  $\omega$ -циклическая частота. Полагая, что термоакустические сигналы измеряются на поверхности  $S_0$ , которая окружает исследуемый образец, частотный спектр термоакустического давления в точке  $\vec{r}_0$  на поверхности  $S_0$  может быть получен свёрткой с функцией Грина:

$$\tilde{p}(\vec{r}_0, k) = -ikc^2\eta \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \tilde{G}_k(\vec{r}, \vec{r}_0, k), \quad (1.10)$$

где  $\tilde{G}_k(\vec{r}, \vec{r}_0)$  - функция Грина неоднородного уравнения Гельмгольца для точечных приёмников и источника, подчиняющаяся уравнению:

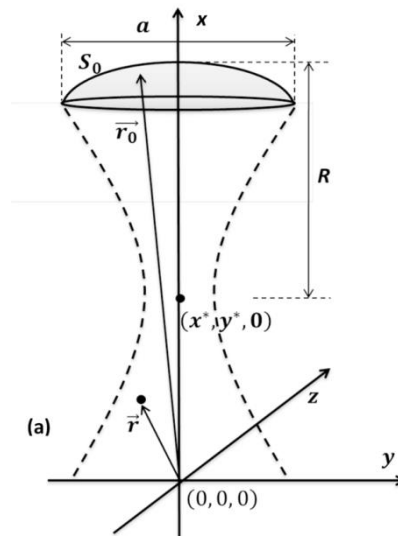
$$(\nabla^2 + k^2)\tilde{G}_k(\vec{r}, \vec{r}_0, k) = -\delta(\vec{r} - \vec{r}_0). \quad (1.11)$$

Функция Грина в трех измерениях может быть записана так:

$$\tilde{G}_k(\vec{r}, \vec{r}_0, k) = \frac{\exp(ik|\vec{r}-\vec{r}_0|)}{4\pi|\vec{r}-\vec{r}_0|}. \quad (1.12)$$

Давление  $\tilde{p}(\vec{r}_0, k)$ , определяемое по формуле (1.10), регистрируется точечным датчиком. В диссертационной работе в Главе 1 рассматривается сферически фокусируемая одноэлементная антенна (Рис. 1.1), поэтому антенна регистрирует давление (1.10), дополнительно проинтегрированное по поверхности датчика:

$$\iint_{S_0} \tilde{p}(\vec{r}_0, k) dS_0 = -ikc^2\eta \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \iint_{S_0} dS_0 \tilde{G}_k(\vec{r}, \vec{r}_0, k). \quad (1.13)$$



**Рисунок 1.1** Схема сферически фокусируемой ультразвуковой антенны. Исследуемый объект, нить, ориентирована вдоль оси Z

С учётом (1.12) получаем:

$$\iint_{S_0} \tilde{p}(\vec{r}_0, k) dS_0 = -ikc^2\eta \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \iint_{S_0} dS_0 \frac{\exp(ik|\vec{r}-\vec{r}_0|)}{4\pi|\vec{r}-\vec{r}_0|}. \quad (1.14)$$

Где производится интегрирование по поверхности  $S_0$  сферического датчика (Рис. 1.1).

Предположим, что исследуемый тепловой источник представляет собой бесконечно тонкую нить, ориентированную вдоль оси Z (Рис. 1.1). Для описания поверхности сферического датчика введем сферическую систему координат, где точка  $(x_0, y_0, z_0)$  – произвольная точка, принадлежащая поверхности  $S_0$  антенны:

$$\begin{cases} x_0 = x^* + R\cos\theta \\ y_0 = y^* + R\cos\varphi\sin\theta \\ z_0 = R\sin\varphi\sin\theta \\ \theta \in \left[0; \arccos\frac{a}{R}\right], \varphi \in [0; 2\pi], \end{cases}$$

где  $R$ - радиус приемника (фокусное расстояние сферического датчика). Точка  $\vec{r}^* = (x^*, y^*, z^* = 0)$ - центр сферы (точка фокуса сферического приёмника) (Рис. 1.1). Уточнение изображения в зоне фокусной перетяжки датчика является нашей основной задачей, поэтому при описании датчика точка  $\vec{r}^*$  была выбрана в качестве параметра. Так как исследуемый источник в виде нити имеет цилиндрическую симметрию вдоль оси  $Z$ , то без нарушения общности полагаем  $z^* = 0$ .

Элемент площади поверхности датчика  $dS_0 = R\sin\theta d\varphi d\theta$ . Тогда левая часть формулы (1.14) преобразуется к виду:

$$\int_0^{2\pi} \int_0^{\arccos\frac{a}{R}} d\theta d\varphi \tilde{p}(x^* + R\cos\theta, y^* + R\cos\varphi\sin\theta, R\sin\varphi\sin\theta, k) R\sin\theta = \tilde{p}_0(x^*, y^*, k)$$

Правая часть формулы (1.14) с точностью до коэффициента  $-ikc^2\eta$  будет:

$$\begin{aligned} \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \int_0^{2\pi} \int_0^{\arccos\frac{a}{R}} d\theta d\varphi \tilde{G}_k(\vec{r}, x^* + R\cos\theta, y^* + R\cos\varphi\sin\theta, R\sin\varphi\sin\theta, k) R\sin\theta = \\ = \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \bar{G}_k(\vec{r}, x^*, y^*, k) \end{aligned}$$

В результате получаем:

$$\tilde{p}_0(x^*, y^*, k) = -ikc^2\eta \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \bar{G}_k(\vec{r}, x^*, y^*, k). \quad (1.15)$$

После взятия обратного преобразования Фурье от обеих частей уравнения (1.15), получаем:

$$\frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{p}_0(x^*, y^*, k) e^{-ik\bar{t}} dk = \frac{c^2\eta}{2\pi} \iiint_V d^3r A(\vec{r}) \int_{-\infty}^{+\infty} \bar{G}_k(\vec{r}, x^*, y^*, k) (-ik) e^{-ik\bar{t}} dk. \quad (1.16)$$

$$p_0(x^*, y^*, \bar{t}) = c^2\eta \iiint_V d^3r A(\vec{r}) G(\vec{r}, x^*, y^*, \bar{t}). \quad (1.17)$$



Основной задачей акустической реконструкции является восстановление распределения поглощенной энергии  $A(\vec{r})$  по значениям акустического давления  $p_0(x^*, y^*, \bar{t})$ , регистрируемого датчиком. Для нахождения функции поглощенной энергии  $A(\vec{r})$  необходимо определить функцию  $G(\vec{r}, x^*, y^*, \bar{t})$ . Функция  $G(\vec{r}, x^*, y^*, \bar{t})$  представляет собой импульсный отклик системы на единичный точечный источник, поочередно помещенный в различные точки пространства. В результате компьютерного моделирования были получены значения давления  $p_g(x^*, y^*, \vec{r}_s, \bar{t})$ , приходящие на поверхность сферического приёмника, от теплового источника в виде нити (Рис. 1.1), поочередно помещенной в каждую из точек области расчетов. Иными словами, численно была получена функция, в которой в качестве тепловых источников было взято распределение  $A(\vec{r}) = \delta(\vec{r} - \vec{r}_s)$ , где  $\vec{r}_s$  - радиус вектор точки положения источника,  $\vec{r}$  - произвольная точка исследуемой среды. С учетом формулы (1.17), получаем:

$$p_g(x^*, y^*, \vec{r}_s, \bar{t}) = c^2 \eta \iiint_V d^3 r \delta(\vec{r} - \vec{r}_s) G(\vec{r}, x^*, y^*, \bar{t}) = c^2 \eta G(\vec{r}_s, x^*, y^*, \bar{t}). \quad (1.18)$$

Численно полученную функцию  $p_g(x^*, y^*, \vec{r}_s, \bar{t})$  назовем нестационарной функцией размытия точки  $G_{\text{eff}}(\vec{r}_s, x^*, y^*, \bar{t})$  для исследуемой системы. Поскольку в настоящей работе производится уточнение изображения в области фокуса сферического датчика, при вычислении нестационарной функцией размытия точки источники помещались в ограниченную область пространства  $V_{\text{foc}}$ , отвечающую области  $40 \times 20$  точек расчетной сетки или  $6 \times 3$  мм, соответствующую области вблизи фокусной перетяжки приемника (Рис. 1.1). Тогда формула (1.17) с учетом (1.18) преобразуется к виду:

$$p_0(x^*, y^*, \bar{t}) = \iiint_{V_{\text{foc}}} d^3 r_s A(\vec{r}_s) G_{\text{eff}}(\vec{r}_s, x^*, y^*, \bar{t}). \quad (1.19)$$

В силу линейности источников, ориентированных вдоль оси  $Z$  (сканирование среды вдоль оси  $Z$  не производилось), можно проинтегрировать по координате  $Z$ . Тогда с точностью до постоянного множителя, отвечающего линейному размеру вдоль оси  $Z$ , получаем:

$$p_0(x^*, y^*, \bar{t}) = \iint_{S_{\text{foc}}} dx_s dy_s A(x_s, y_s) G_{\text{eff}}(x_s, y_s, x^*, y^*, \bar{t}). \quad (1.20)$$

Формула (1.20) показывает, что оптоакустические сигналы  $p_0(x^*, y^*, \bar{t})$ , измеренные сферически фокусируемой антенной, распределение поглощенной энергии  $A(x_s, y_s)$  и нестационарная функция размытия точки  $G_{\text{eff}}(x_s, y_s, x^*, y^*, \bar{t})$  для нашей задачи связаны друг с другом посредством уравнения Фредгольма 1-го рода.

### **1.3. Разработка метода решения обратной задачи оптоакустической микроскопии**

#### *Численная модель эксперимента по оптоакустической микроскопии*

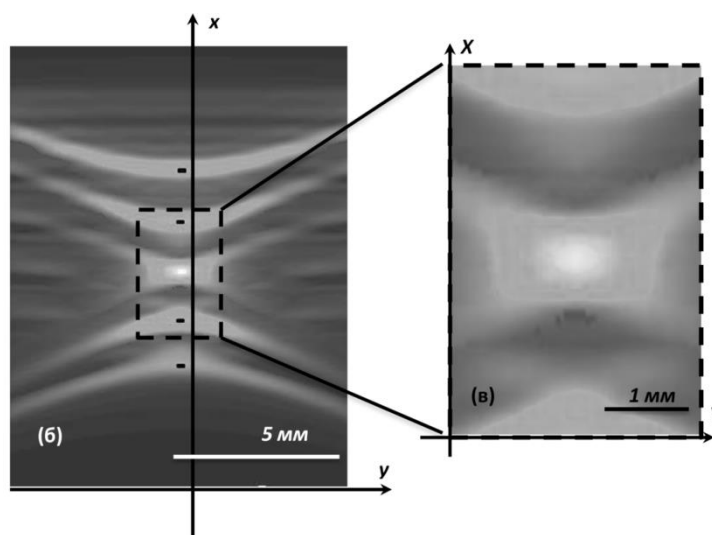
В ходе работы была сконструирована численная модель эксперимента по оптоакустической микроскопии. В качестве приемника, регистрирующего акустические волны, была использована сферически фокусируемая одноэлементная антенна с фокусным расстоянием  $F = 8$  мм, апертурой детектора  $a = 6$  мм и численной апертурой приемника  $NA = \sin\theta = 0.56$ , где  $\theta$  - половина угла раскрытия конуса сферически фокусируемого датчика (Рис. 1.1). Максимальная частота импульса, принятого в численном моделировании, была взята равной 5.25 МГц, что соответствует акустической длине волны 0.3мм. Для тестирования численных алгоритмов восстановления в целях сокращения времени вычислений центральная частота импульса датчика была выбрана довольно низкой по сравнению с реальными частотами, используемыми в ОА микроскопии.

Для моделирования ОА сигналов, приходящих на датчик, было использовано приложение k-Wave [64], разработанное для моделирования оптоакустических систем с произвольным распределением источников и приемников. Использование приложения [64] позволяет моделировать системы с приемниками и источниками произвольных форм и размеров, позволяет задавать расчетные сетки любых размеров, насколько позволяет мощность имеющихся компьютеров. Все вычисления проводились на расчетной сетке

126x126x126 точек, что соответствовало размеру 18x18x18 мм<sup>3</sup>, с числом временных точек – 351, что соответствовало 10мкс.

Для получения модельного изображения оптоакустического сигнала, были смоделированы ОА источники в виде ориентированных вдоль оси  $Z$  бесконечно тонких нитей, помещенных в различные положения, определяемые координатами  $(X, Y)$ . Затем, перемещая детектор вдоль оси  $Y$  с шагом, равным одной точке вычислительной сетки (соответствует расстоянию 140мкм), были получены независимые А-сканы для каждого из положений приемника.

На (Рис. 1.2а) показаны ОА изображения (В-сканы), полученные добавлением тепловых источников в виде бесконечно тонких нитей, ориентированных вдоль оси  $Z$  и расположенных над и под зоной фокусной перетяжки в  $x = 7$  мм,  $x = 8$  мм,  $x = 10$  мм,  $x = 11$  мм, в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением 1дБ/см/МГц<sup>3/2</sup>, близким к поглощению в биологических тканях [120]. ОА изображение теплового источника в  $x = 9$  мм размыто, несмотря на то, что тепловой источник был помещен в область фокуса сферического датчика. Форма ОА изображения точечного теплового источника в фокусе датчика напоминает форму бабочки (Рис. 1.2а). Однако изображение объекта, расположенного в фокусной перетяжке приёмника, является наиболее четким; при удалении источника из зоны фокусировки форма восстановленного изображения вытягивается (Рис. 1.2а), что связано с формой фокусной перетяжки сферического датчика.



**Рисунок 1.2** Модельные В-сканы, измеренные фокусируемой антенной: а) В-скан бесконечно тонкой нити, ориентированной вдоль оси Z и расположенной в зоне фокуса сферического датчика в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением  $1 \text{ дБ/см/МГц}^{3/2}$  б) область вблизи фокуса сферического датчика, в которой производится корректировка ОА изображений

В полученном изображении (Рис. 1.2а) выделим наиболее информативную область (вокруг фокуса сферического датчика), в которой мы попытаемся восстанавливать истинные положения светопоглощающих тепловых источников с использованием уточняющих алгоритмов (Рис. 1.2б). Очевидно, что без использования таких уточняющих алгоритмов, надежное восстановление более чем одного источника в области фокуса (Рис. 1.2б) не представляется возможным.

***Нестационарная функция размытия точки фокусируемой ультразвуковой антенны для корректировки оптико-акустических изображений.***

Численное моделирование нестационарной функции размытия точки фокусируемой ультразвуковой антенны проводилось на расчетной сетке 126 на 126 на 126 точек (соответствующей размеру 18 на 18 на 18 мм). Для вычислений была использована 64-битная серверная платформа с процессором Intel Xeon CPU E5-2620 @2GHz и объемом оперативной памяти 192ГБ. Конечность расчетной сетки в численном моделировании

сводит интегрирование в (1.20) к конечному суммированию. Таким образом, уравнение (1.20) Фредгольма 1-го рода может быть записано в виде системы линейных алгебраических уравнений. Размерность полученной системы алгебраических уравнений определяется размерами расчетной сетки, принятой в численном моделировании. При вычислении  $G_{\text{eff}}(x_s, y_s, x^*, y^*, \bar{t})$  ОА сигналы моделировались от тепловых источников в виде нитей, ориентированных вдоль оси  $Z$ , помещенных поочередно в каждую из точек расчетной области  $40 \times 20$  точек, соответствующей размеру  $6 \times 3$  мм. Для подробного описания ограниченной области вблизи фокуса введем вспомогательную систему координат  $(X, Y)$  (Рис. 1.2б), отличающуюся от системы координат на рисунке 1.2а тем, что  $(X, Y)$  – это дискретная область меньших размеров, со смещенным на 1.5 мм относительно рисунка 1.2а центром. Система координат  $(X, Y)$  будет использоваться в дальнейшем при рассмотрении корректирующих алгоритмов.

Одновременно с перемещением источников, датчик перемещался по расчетной сетке в плоскости  $(X, Y)$  (Рис.1.2б) таким образом, чтобы организовать перебор всех  $40 * 20 * 40 * 20 = 640000$  возможных взаимных положений источника и детектора. В каждом из взаимных положений моделировался процесс измерений А-скана фокусируемым детектором. Количество временных точек в А-скане задавалось равным  $\bar{t} = 0 \dots 351$  с шагом  $dt = 30$ нс. Заметим, что при дальнейшем рассмотрении уточняющих алгоритмов будет рассматриваться именно область вблизи фокуса сферического датчика; координаты восстановленных источников будут задаваться в координатах  $(X, Y)$ , соответствующих точкам расчетной сетки. В частности, центральному положению будут соответствовать координаты  $(X, Y) = (20, 10)$ .

Численное моделирование оптоакустических сигналов  $p_0(x^*, y^*, \bar{t})$  и вычисление функции  $G_{\text{eff}}(x_s, y_s, x^*, y^*, \bar{t})$  для рассматриваемой системы датчик-среда позволяет представить (1.20) в матричном виде:

$$GA = P. \quad (1.21)$$

Где матрица  $G = (g_{ij}, i = 1 \dots M, M = 351 * 40 * 20; j = 1 \dots N, N = 40 * 20)$  была получена из  $G_{\text{eff}}(x_s, y_s, x^*, y^*, \bar{t})$ , вектор  $P = (p_i, i = 1 \dots M, M = 351 * 40 * 20)$  был сформирован из значений  $p_0(x^*, y^*, \bar{t})$ . Вектор  $A = (a_j, j = 1 \dots N, N = 40 * 20)$ , полученный из  $A(x_s, y_s)$ , характеризует распределение поглощенной энергии в среде. Причем каждому  $i$  отвечает тройка  $(x^*, y^*, \bar{t})$ , каждому  $j$  соответствует пара  $(x_s, y_s)$ . Отличительной особенностью системы линейных алгебраических уравнений (1.21) является требование неотрицательности элементов вектора  $A = (a_j \geq 0, j = 1 \dots N)$  (далее это условие будет записываться в виде  $A \geq 0$ ), так как положительность поглощенной энергии отвечает за диссипацию энергии в среде. В изложенных выше условиях мы получаем систему:

$$\begin{cases} GA = P \\ A \geq 0 \end{cases} \quad (1.22)$$

Трудность решения системы (1.22) заключается в том, что даже если система линейных алгебраических уравнений (1.21) совместна, то точное решение системы (1.22) при условии неотрицательности вектора  $A$  не всегда существует. И, если система линейных алгебраических уравнений является переопределенной, то точное решение системы, в общем случае, не существует.

Поэтому, под решением системы (1.22) будем подразумевать вектор  $A^*$ , минимизирующий функционала  $f(GA, P)$ , показывающего степень близости  $GA$  к  $P$  (в некой метрике):

$$f(GA^*, P) = \min_A f(GA, P) \quad (1.23)$$

#### **1.4. Демонстрация возможностей метода восстановления в ходе численного моделирования**

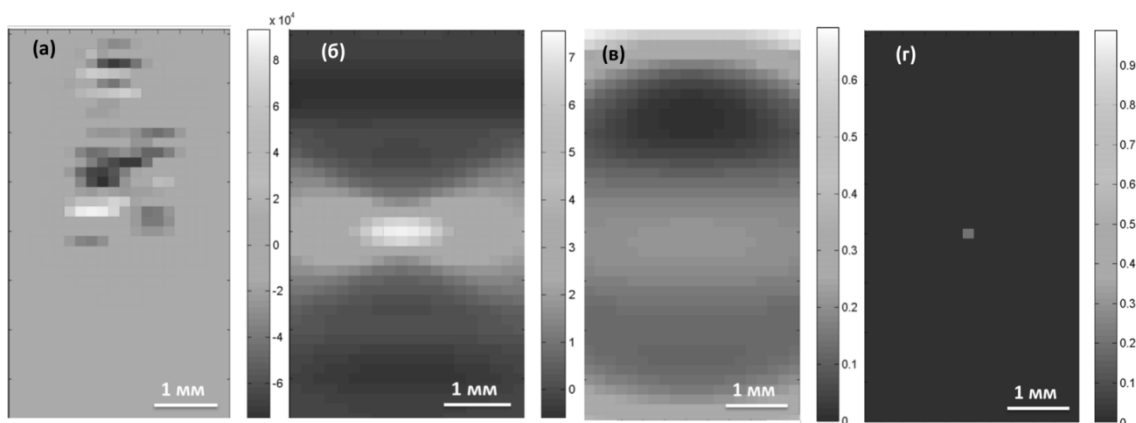
Для решения систем линейных алгебраических уравнений с требованиями неотрицательности (1.21) и без (1.22) были протестированы несколько численных

методов: стандартный алгоритм псевдообращения матриц, метод регуляризации Тихонова, итерационный метод MER и итерационный метод NNLS.

### ***Псевдообращение матриц***

Стандартный алгоритм псевдообращения матриц позволяет вычислить вектор  $A^* = G^+P$ , где  $G^+$  – псевдообратная матрица [121], который является решением задачи (1.20) для  $f(GA, P) = \|GA - P\|_2$ .

На (Рис.1.3а) можно увидеть, что восстановление источника в виде бесконечно тонкой нити ориентированной вдоль оси  $Z$  в сечении плоскостью  $(X, Y)$  обращением матриц не дало результатов.



**Рисунок 1.3** Восстановленные ОА изображения точечного теплового источника в точке (20, 10): а) метод псевдообращения матриц б) регуляризация Тихонова в) метод максимума энтропии г) метод NNLS

Таким образом, даже простейшие точечные источники невозможно восстановить при помощи псевдообращения матриц.

### ***Регуляризация Тихонова***

Регуляризация Тихонова [121-125] позволяет найти решение (1.23) для  $f(GA, P) = \|GA - P\|_2 + \alpha \|A\|_2$ , где  $\alpha > 0$  – параметр регуляризации, при этом,  $A^* = (G^T G + \alpha I)^{-1} G^T P$ .

При восстановлении параметр регуляризации  $\alpha$  был выбран исходя из построенной L-кривой [126] и был равен 0.1.

На рисунке (Рис.1.3б) продемонстрировано восстановленное изображение источника в виде тонкой нити, ориентированной вдоль Z, в сечении плоскостью (X,Y) расположенного в центре области уточнения. По сравнению с методом псевдообращения матриц регуляризация Тихонова обеспечила лучшее качество восстановления, что обусловлено наличием параметра регуляризации.

Между тем, по восстановленной картине (Рис.1.3б) определить истинные положения источников затруднительно. Уровень размытия изображения точечного источника, полученного с применением алгоритма регуляризации Тихонова даже выше, чем исходное изображение. В итоге, можно сделать вывод, что регуляризация Тихонова не применима для коррекции ОА изображений.

### ***Итерационный алгоритм MER***

Итерационный алгоритм MER (регуляризация с максимальной энтропией) [127] позволяет найти решение (1.22) для  $f(GA, P) = \|GA - P\|_2 + \alpha \sum_{j=1}^N a_j \ln a_j$ , при этом, полученное решение  $A^*$  будет удовлетворять условию  $A^* \geq 0$ . Итерационная процедура, основанная на градиентном методе, описана в [128]. При восстановлении параметр  $\alpha$  был равен 0.1.

На (Рис.1.3в) представлено восстановленное изображение источника, представляющего точку в поперечном сечении плоскостью (X,Y), расположенную в центре области расчетов. Как видно из рисунка - метод MER не сходится к решению.

Таким образом, можно сделать вывод, что метод MER при таком численном моделировании не позволяет восстановить реальное положение тепловых источников в исследуемой среде.

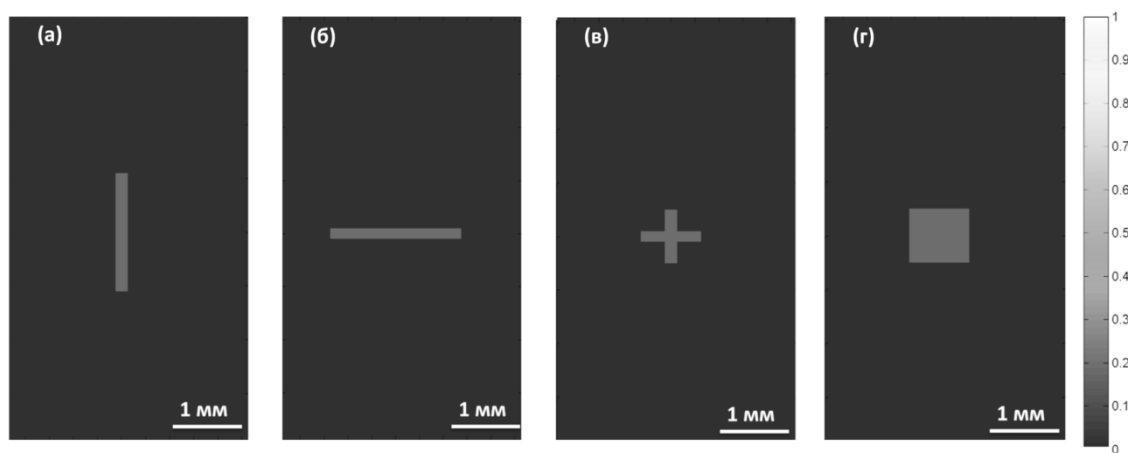
### ***Итерационный алгоритм NNLS***



Метод NNLS [129] (неотрицательные наименьшие квадраты) позволяет найти решение (1.23) при условии  $A \geq 0$  для  $f(GA, P) = \|GA - P\|_2$ . Метод, основанный на определении и соответствующем вычеркивании отрицательных компонент вектора  $A$ , описан в [129].

В результате восстановления в области вблизи фокуса (Рис.1.2б), размером 40 на 20 точек сетки (6 на 3 мм), мы получили идеальные изображения источника в виде точки в центре области сканирования (Рис.1.3г). Таким образом, алгоритм NNLS может рассматриваться как перспективный метод решения задачи корректировки ОА изображений, полученных ОА микроскопией. Был протестирован алгоритм NNLS для восстановления более сложного распределения тепловых источников в исследуемой среде.

При восстановлении протяженных источников в виде нитей, ориентированных вдоль осей  $X$  и  $Y$ , метод NNLS идеально восстанавливает распределение источников (Рис.1.4а, б).



**Рисунок 1.4** Восстановленные ОА изображения, полученные методом NNLS: а) источник в виде нити вдоль  $X$  длиной 1,5 мм б) источник в виде нити вдоль  $Y$  длиной 1,5 мм в) источник в виде крестика г) источник в виде кубика 0,7 на 0,7 мм

Восстановление методом NNLS крестика, размером 5 на 5 точек расчетной сетки (0.7 на 0.7 мм), показало, что алгоритм точно восстанавливает распределение тепловых источников (Рис.1.4в).

При восстановлении источника в виде кубика методом NNLS, размером 5 на 5 точек расчетной сетки, что соответствует 0.7 на 0.7 мм, мы получили идеально восстановленное изображение (Рис. 1.4г).

Как видно, алгоритм NNLS идеально восстанавливает источники в виде точки, протяженные источники и распределенные источники в виде кубиков.

### 1.5. Анализ устойчивости разработанного метода

Для проверки эффективности разработанных алгоритмов восстановления было проведено сравнение близости исходного распределения поглотителей и восстановленного. Для каждого из предложенных алгоритмов была вычислена абсолютная погрешность восстановления (Евклидова норма разности вектора исходного распределения источников в среде  $A$  и восстановленного  $A^*$ ):

$$\Delta(A) = \|A - A^*\|_2. \quad (1.24)$$

Была посчитана относительная погрешность метода восстановления:

$$\delta(A) = \frac{\|A - A^*\|_2}{\|A^*\|_2}. \quad (1.25)$$

Рассмотрим решения системы (1.22) для восстановления исходного распределения источников методами псевдообращения матрицы, регуляризации Тихонова, методами MER и NNLS. Погрешности восстановления точечного источника в центре расчетной области в точке с координатами  $(X, Y) = (20, 10)$  представлены в (Таб.1.1). Видно, что только метод NNLS отлично восстанавливает истинное положение реального теплового источника.

**Таблица 1.1** Погрешности методов восстановления точечного источника в центре области расчетов с координатами (20, 10)

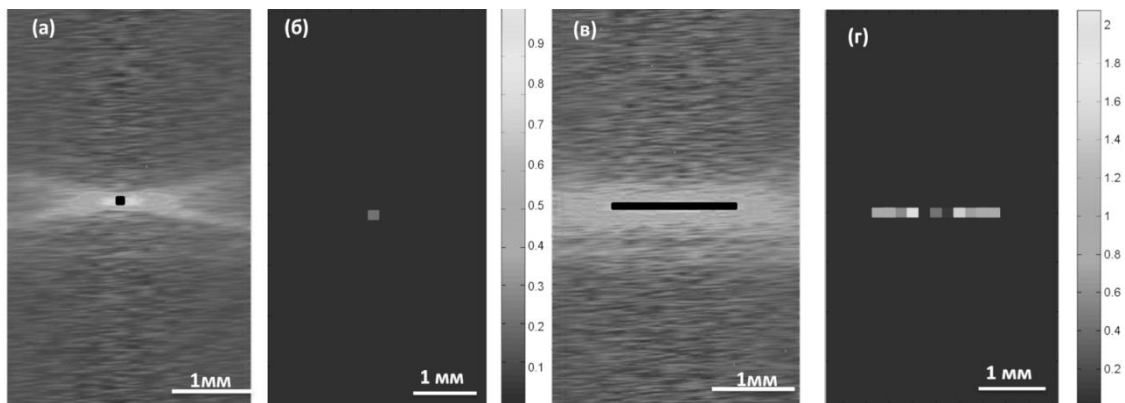
Метод решения	$\Delta(A)$	$\delta(A)$
Обращение матрицы	$\sim 10^6$	$\sim 10^6$
Регуляризация Тихонова	0,99	0,99

NNLS	0	0
MER	5,96	5,96

В итоге, можно сделать вывод, что метод NNLS является наиболее перспективным для решения задачи корректировки ОА изображения, поэтому дальнейшее тестирование (анализ устойчивости метода при добавлении шума к исходным изображениям) будет проведено только с использованием данного алгоритма.

Для анализа устойчивости алгоритма восстановления, был добавлен шум к ОА сигналам  $p_0(x^*, y^*, \bar{t})$ , для более достоверного моделирования ОА измерений в реальных физических экспериментах. К ОА сигналам добавлялся равномерно распределенный шум  $\delta P$  и вычислялась величина относительного зашумления  $\varepsilon = \frac{\|\delta P\|}{\|P\|} \cdot 100\%$ .

Были получены идеальные изображения источника в виде точки в центре расчетной сетки в (20, 10) даже при 50% зашумления исходных сигналов (Рис.1.5б).



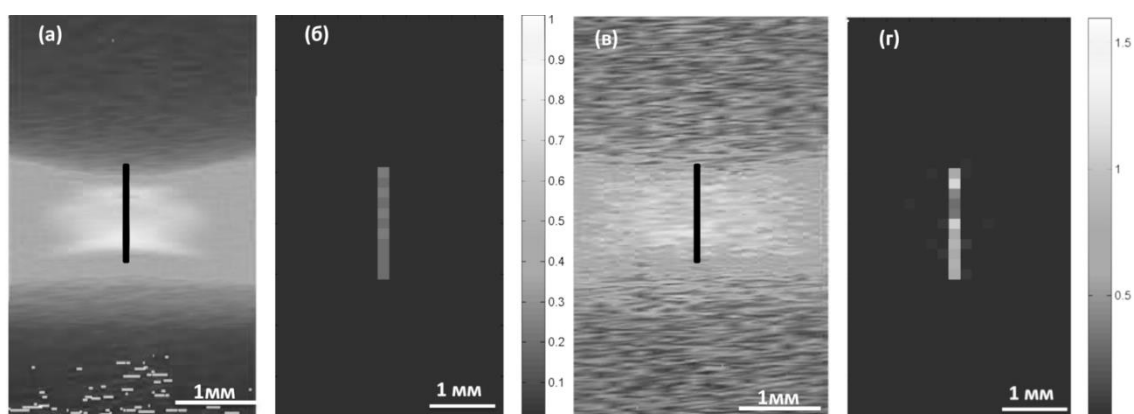
**Рисунок 1.5** Восстановленные ОА изображения, полученные методом NNLS: а) В-скан точечного источника с координатами (20, 10) в среде с частотно-зависимым акустическим поглощением  $1 \text{ дБ/см/МГц}^{3/2}$  с 50% шума б) восстановленное ОА изображение с 50% зашумления в) В-скан нити вдоль оси  $Y$  с добавлением 50% шума к ОА сигналам г) восстановленное ОА изображение с 50% зашумления

Погрешности метода восстановления точечного источника представлены в (Таб.1.2).

**Таблица 1.2** Погрешности восстановления точечного источника с координатами (20, 10) методом NNLS с добавлением шума к ОА сигналам

$\Delta(A)$	$\delta(A)$	Относительное зашумление, $\varepsilon$
$3 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	5 %
$7 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-4}$	10 %
$3 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	50 %

При восстановлении протяженных источников в виде нитей, ориентированных вдоль осей  $X$  и  $Y$ , метод NNLS с высокой точностью восстанавливает распределение источников вдоль оси  $Y$ , даже при добавлении шума вплоть до 50% от ОА сигналов (Рис.1.5г), и отлично восстанавливает распределение вдоль оси  $X$  (Рис.1.6). При добавлении 5% шума восстановленное изображение нити вдоль  $X$  начинает размываться (Рис.1.6б), хотя даже при 50% зашумления восстановленное изображение по форме представляет собой нить (Рис.1.6г).



**Рис.1.6** Восстановленные ОА изображения, полученные методом NNLS: а) В-скан нити вдоль  $X$  с добавлением 5% шума к ОА сигналам б) восстановленное ОА изображение с 5% шума в) В-скан нити вдоль  $X$  с добавлением 50% шума к ОА сигналам г) восстановленное ОА изображение с 50% зашумления.

Абсолютная и относительная погрешности восстановления протяженных

источников представлены в (Таб.1.3, 1.4).

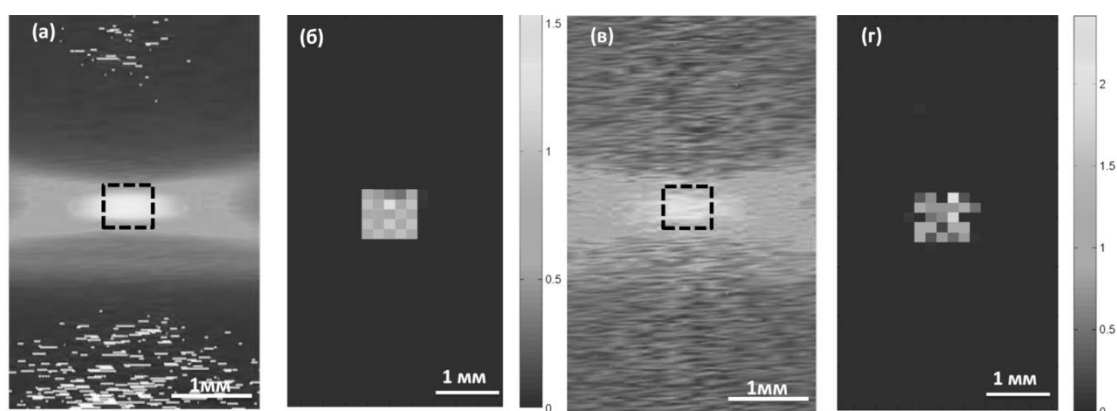
**Таблица 1.3** Погрешности методов восстановления источника в виде нити вдоль X методом NNLS с добавлением шума с добавлением шума к ОА сигналам

$\Delta(A)$	$\delta(A)$	Относительное зашумление, $\varepsilon$
0,13	0,039	5 %
0,26	0,08	10 %
1,32	0,39	50 %

**Таблица 1.4** Погрешности методов восстановления источника в виде нити вдоль Y методом NNLS с добавлением шума с добавлением шума к ОА сигналам

$\Delta(A)$	$\delta(A)$	Относительное зашумление, $\varepsilon$
2,06	0,62	5 %
2,07	0,62	10 %
2,05	0,61	50 %

При восстановлении источника в виде кубика, размером 5 на 5 точек расчетной сетки (что соответствует 0.7 на 0.7 мм) с добавлением шума от 5 до 50% появляются погрешности в восстановлении, однако, источник в виде куба виден при восстановлении (Рис. 1.7).



**Рисунок 1.7** Восстановленные ОА изображения, полученные методом NNLS: а) В-скан кубика 0.7 на 0.7 мм с добавлением 5% шума к ОА сигналам б) восстановленное ОА

изображение с 5% шума в) В-скан кубика 0.7 на 0.7 мм с добавлением 50% шума к ОА сигналам г) восстановленное ОА изображение с 50% шумом

Погрешности восстановления источника в виде куба в поперечном сечении плоскостью  $(X, Y)$ , размером 0.7 на 0.7 мм, представлены в (Таб. 1.5). Можно заметить, что алгоритм NNLS с высокой точностью восстанавливает распределение источников в виде кубика.

**Таблица 1.5** Погрешности методов восстановления источника в виде кубика методом NNLS с добавлением шума с добавлением шума к ОА сигналам

$\Delta(A)$	$\delta(A)$	Относительное зашумление, $\varepsilon$
1,42	0,28	5 %
2,5	0,5	10 %
3,73	0,74	50 %

Как видно, предложенный метод NNLS является устойчивым к шуму; даже большой процент зашумления ОА сигналов не портит восстановление распределения источников.

## 1.6. Выводы

Основной целью Главы 1 являлось исследование численных алгоритмов, предназначенных для коррекции оптоакустических изображений, полученных с помощью ОА микроскопии.

На первом этапе прямая задача оптоакустической микроскопии была представлена в виде уравнения Фредгольма 1-го рода, содержащего неизвестное пространственное распределение поглощенной энергии в среде, измеренные фокусируемым акустическим датчиком сигналы из среды, а также нестационарную функцию размытия точки фокусируемой ультразвуковой антенны.

Была построена численная модель ОА микроскопии, включающая произвольное распределение поглощенной оптической энергии и приемный акустический датчик произвольной геометрии. На основе разработанной модели было произведено моделирование нестационарной функции размытия точки фокусируемой ультразвуковой антенны, представляющее собой набор модельных А-сканов, измеренных фокусируемым датчиком от точечного ОА источника при всех возможных взаимных положениях датчика и источника.

На втором этапе была сформулирована обратная задача ОА микроскопии по восстановлению начального распределения поглощенной энергии (истинных положений произвольных оптоакустических источников) путем решения уравнения Фредгольма 1-го рода, связывающего нестационарную функцию размытия точки фокусируемой ультразвуковой антенны и принимаемые антенной сигналы на поверхности среды. Для решения обратной задачи интегральное уравнение Фредгольма было сведено к системе линейных алгебраических уравнений. В качестве численных методов решения системы линейных алгебраических уравнений были рассмотрены метод псевдообращения матрицы, регуляризация Тихонова, и методы MER и NNLS для нахождения вектора решения с условием неотрицательности. Было показано, что метод NNLS позволяет восстанавливать реальные положения протяженных объектов даже при добавлении шума, амплитуда которого сравнима с амплитудой реальных ОА сигналов. Устойчивость предложенного метода к шуму говорит о перспективности использования данного метода реконструкции применительно к данным реального эксперимента. Однако, поскольку вычисление нестационарной функции размытия точки фокусируемой ультразвуковой антенны требует большого времени, разработанный метод был протестирован лишь на данных численного моделирования.

## **ГЛАВА 2. Восстановление распределения поглощающих неоднородностей по оптико-акустическим измерениям с учетом функции размытия точки ультразвуковой антенны и распределения освещенности в биоткани**

### **2.1. Введение**

В Главе 2 описан разработанный метод оптоакустической реконструкции изображений, включающий в себя модифицированный SAFT [48, 73, 75, 76], учитывающий как пространственный отклик [77] акустического датчика [72], так и пространственное распределение оптической освещенности [80, 87]. Для точных вычислений сильного затухания лазерного излучения с глубиной было применено трехмерное Монте-Карло моделирование распространения света в биоткани, предварительно адаптированное к сложной геометрии засветки ОАМ системы в среде с оптическими свойствами, типичными для биологических тканей. [80]. На первом этапе реконструкции применяется SAFT с учетом функции размытия точки сферически фокусируемой антенны (ASR – “antenna spatial response”). Точный учет ASR рассматривался наряду с предлагаемым упрощенным подходом, позволяющим значительно ускорить время обработки. На втором этапе реконструкции применяется новый подход компенсации освещенности, заключающийся в том, что каждый А-скан результирующего трехмерного ОА изображения нормируется на вычисленный на оси детектора глубинный профиль эффективного распределения освещенности, полученный из Монте-Карло моделирования распространения света в биоткани с учетом сложной геометрии оптической засветки среды и диаграммы приема акустического датчика. В Главе 2 проведены исследования результатов компенсации оптической освещенности для различных геометрий засветки, диаграммы приема ультразвукового датчика и различных положений фокуса ультразвуковой антенны. Также в Главе 2 было проведено исследование влияния выбранных оптических параметров среды, используемых для



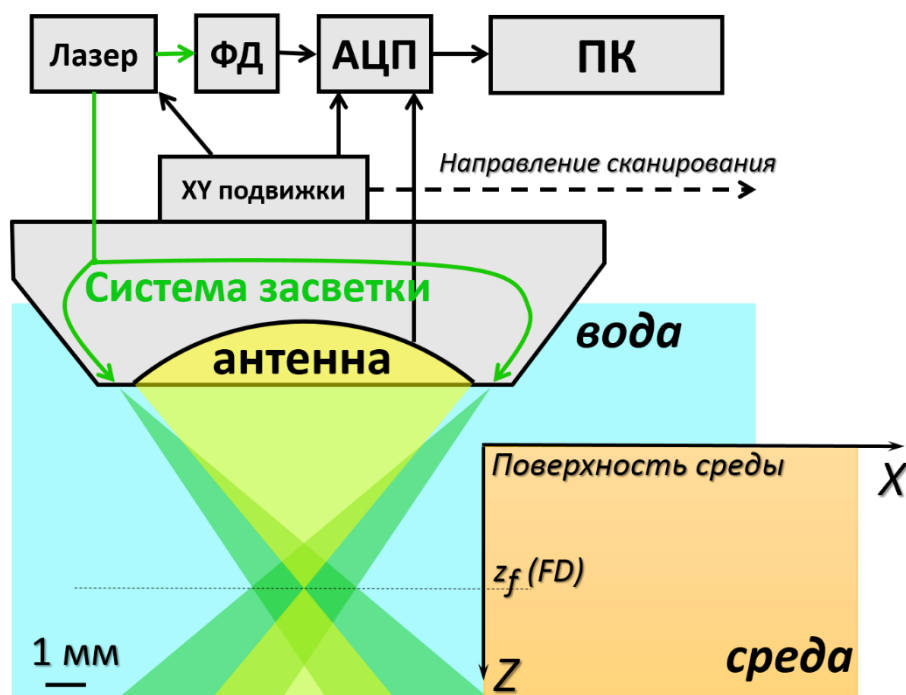
расчёта освещенности в среде на результат реконструкции ОА изображений фантома. Для оценки эффекта вариации оптических свойств на качество компенсированного изображения, было проведено Монте-Карло моделирование для 50 % вариаций  $\mu_a$  и  $\mu_s$  выше и ниже истинных оптических параметров, используемых для реконструкции.

Разработанный метод реконструкции был применен как к фантомным объектам, так и к *in vivo* данным исследования сосудистой сети в тканях, и продемонстрировал существенное улучшение качества изображения по сравнению с исходными ОА изображениями и изображениями, восстановленными традиционным методом SAFT.

## **2.2. Описание экспериментальной ОАМ системы, фантомных и *in vivo* исследований**

### ***Экспериментальная ОАМ система***

На рисунке 2.1 представлена схема ОАМ системы для *in vivo* визуализации [130]. Геометрические параметры сканирующей головки обеспечивают конфокальную лазерную засветку и ультразвуковую регистрацию (Рис. 2.1). Система волоконной засветки состоит из 77 оптических волокон с 100 мкм наружным диаметром и 0.12 численной апертурой: 70 из них ориентированы под углом 37 градусов к оси Z и 7 из них используются для калибровки. Изготовленный в ИПФ РАН сферически фокусируемый ПВДФ детектор с центральной частотой 35 МГц, шириной полосы 30 МГц, фокусным расстоянием  $F = 6.7$  мм, и численной апертурой 0.6 обеспечивает 50 мкм поперечное пространственное разрешение в фантомных экспериментах.



**Рисунок 2.1:** Схема ОАМ системы и геометрия сканирующей головки

Во всех фантомных и *in vivo* экспериментах был использован лазер Wedge HB 532 (BrightSolutions, Италия), обеспечивающий импульсы длительностью 1 нс с частотой повторения 2 кГц на длине волны 532 нм, соответствующей высокому показателю поглощения крови  $20 \text{ мм}^{-1}$ . Каждый лазерный импульс (засвечивающий среду при фиксированном положении ОА головки по оси X и Y) одновременно производит ультразвуковой и ОА А-сканы [131]. Излучение на поверхности объекта поддерживалась на уровне меньше  $7.5 \text{ мДж/см}^2$ , не превышающего максимально допустимого уровня  $20 \text{ мДж/см}^2$ , согласно стандарту лазерной безопасности ANSI Z136.1. В результате последовательного сканирования среды, осуществляемого системой двухкоординатных подвижек M-664 (PI Miccos, Германия), А-сканы, соответствующие дискретным позициям XY сканирующей головки, оцифрованные при помощи 200 МГц 16-битного АЦП Razor16 (GaGe, США), формируют трехмерное ОА изображение.

Для того, чтобы минимизировать ошибки в компенсации освещенности, возникающие из-за неровностей поверхности биоткани, граница среды была автоматически определена для каждого В-скана, соответствующего сканированию вдоль

оси X с фиксированным положением по оси Y. Трехмерные наборы ОА данных были восстановлены с использованием известного алгоритма реконструкции [62] при разработке метода компенсации освещенности, и с использованием разработанного метода, учитывающего функцию размытия точки антенны [78]. Затем каждый А-скан, начиная от найденной границы, был скомпенсирован на вычисленное распределение пробного излучения внутри среды.

### ***Описание фантомных экспериментов***

Все фантомные эксперименты проведены на фантоме, состоящем из 14 медных проволок с диаметром 30 мкм, помещенных в 2% водный раствор Интралипида. ОА В-сканы фантома получены путем механического сканирования 7 мм области в направлении оси X с шагом 5 мкм и составлены их 1400 А-сканов. Изображения фантома были получены при расположении фокуса антенны на трех различных глубинах  $z_f = 2.21$  мм,  $z_f = 1.1$  мм,  $z_f = 1.7$  мм.

### ***Описание in vivo экспериментов***

Все *in vivo* эксперименты проведены на ладони здорового волонтера европейской расы из группы исследователей: женщина в возрасте 24 года. Ладонь была зафиксирована в положении вверх и прижата кюветой, заполненной водой. Квадратное отверстие в дне кюветы обеспечивало ОАМ сканирование области размером 7.5 мм на 7.5 мм в плоскости XY. Шаг сканирования в 25 мкм был использован в *in vivo* экспериментах. Все изображения получены для глубины фокуса  $z_f = 1.5$  мм.

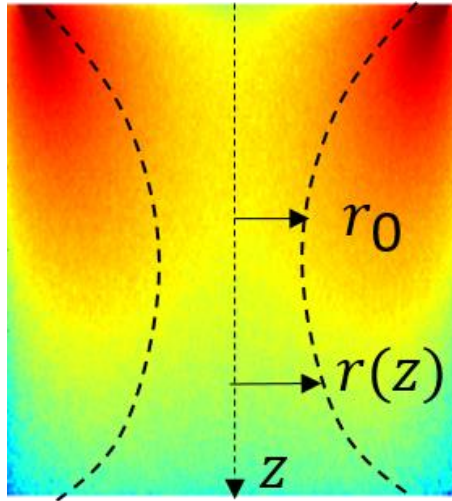
## **2.3 Описание Монте-Карло моделирования освещенности**

Для моделирования распределения освещенности биоткани при засветке ОАМ системы был модифицирован разработанный ранее программный код метода Монте-Карло [132, 133]. Падающие на объект фотоны предполагались равномерно распределенными в бесконечно тонком кольце с радиусом 4,6 мм, соответствующим

радиальному распределению оптических волокон в пучке засветки (Рис. 2.1). Конечной 125 мкм толщиной кольца пренебрегали, поскольку оно мало по сравнению с миллиметровыми расстояниями рассматриваемой геометрии (Рис. 2.1). Кроме того, предполагалось, что система засветки создает в фокальной плоскости равномерно освещенный круг с радиусом 1.28 мм, который соответствует профилометрии экспериментального зондирующего пучка.

Монте-Карло моделирование было произведено в среде толщиной 6 мм, шаг в направлении оси  $Z$  составлял 7.5 мкм, что соответствует временному шагу в ОА А-скане. Число запущенных в среду фотонов в каждом прогоне Монте-Карло моделирования было равно  $10^7$ .

Поскольку полученные А-сканы отвечают независимым положениям сканирующей головки, их удобно нормировать на одномерный профиль освещенности. При нормировке следует учитывать диаграмму приема используемой сфокусированной акустической антенны, для которой область приема сигналов сильно зависит от расстояния от фокальной плоскости антенны. Поскольку распределение освещенности при кольцевой геометрии засветки в ткани не является осесимметричным (Рис. 2.2), не корректно усреднять освещенность по равным площадям в плоскости  $Z$  на разных глубинах диагностики. Для получения одномерного профиля освещенности для нормировки ОА А-сканов, освещенность на данной глубине усреднялась по области, равной поперечному сечению диаграммы приема антенны (Рис. 2.2 пунктирные линии).



**Рисунок 2.2.** Двумерная карта освещенности при оптической конической засветке ОАМ системы. Пунктирные линии показывают диаграмму приема, определяющую область усреднения на данной глубине  $Z$  с переменным радиусом в соответствии с формулой (2.1)

Форма области усреднения в поперечном направлении принимается равной Гауссу (Рис. 2.2):

$$r(z) = r_0 \sqrt{1 + \left( \frac{\lambda z}{\pi r_0^2} \right)^2}, \quad (2.1)$$

где  $z$  - расстояние от фокальной плоскости,  $r$  - радиус соответствующего сечения,  $r_0$  - радиус перетяжки диаграммы антенны, и  $\lambda$  - эффективная длина волны приема. В моделировании параметры были выбраны исходя из характеристик используемой антенны:  $r_0 = 25$  мкм, и  $\lambda = 62$  мкм.

В результате для восстановления пространственного распределения коэффициента оптического поглощения  $\mu_a(\mathbf{r}, z)$  применяется новый подход компенсации освещенности, заключающийся в том, что каждый А-скан  $p(\mathbf{r}, z)$  результирующего трехмерного ОА изображения нормируется на вычисленный на оси детектора глубинный профиль эффективного распределения освещенности  $\Phi(z)$ , полученный из Монте-Карло

моделирования распространения света в биоткани с учетом сложной геометрии оптической засветки среды и диаграммы приема ультразвуковой антенны:

$$\mu_a(\mathbf{r}, z) = \frac{p(\mathbf{r}, z)}{\Phi(z)}, \quad (2.2)$$

Отметим, что поскольку пространственные распределения освещенности и акустического давления восстанавливались с точностью до постоянных множителей, коэффициент  $\mu_a$  на ОА изображении также определяется с точностью до постоянного множителя. Таким образом, задача реконструкции ОА изображений сводилась к поиску пространственного распределения  $\mu_a$  с точностью до постоянного множителя, или, другими словами – к поиску сбалансированного изображения.

## 2.4 Оптические свойства фантома и кожи человека

Важной частью компенсации освещенности является выбор правильных оптических параметров исследуемой среды. Они могут быть легко получены в модельном эксперименте с средой с калиброванными оптическими свойствами, однако, в условиях *in vivo* измерений распределение оптических параметров внутри среды является сложным, и, даже знание точной геометрии среды может привести к несоответствию истинной и расчетной освещенности из-за неточности при выборе конкретных значений оптических свойств. Целесообразно в качестве оптических свойств среды взять усредненные значения оптических параметров по литературным данным. Оптические свойства кожи в диапазоне 500-600 нм из нескольких обзорных статей представлены в Таблице 2.1.

**Таблица 2.1:** Оптические свойства кожи человека в спектральном диапазоне 500-600 нм, взятые из [81, 134]

Тип кожи	$\lambda$ , нм	$\mu_a$ , $\text{см}^{-1}$	$\mu_s$ , $\text{см}^{-1}$	$\mu_s'$ , $\text{см}^{-1}$	g
Дерма	500	0.837	9.224	-	0.715
	550	0.786	7.722	-	0.715

	600	0.694	6.309	-	0.715
Дерма	500	0.336 (0.43)	-	4.62 (4.6)	-
	514	0.31 (0.4)	-	4.32 (4.1)	-
	520	0.30 (0.4)	-	4.20 (3.9)	-
	570	0.22 (0.3)	-	3.50 (3.1)	-
	600	0.172 (0.24)	-	3.22 (2.9)	-
Дерма европеоидного типа	500	0.345	11.99	-	0.120
	550	0.228	10.81	-	0.288
	600	0.181	9.738	-	0.410
Дерма	514	0.3	25	58	0.77
	585	0.3	19.6	41	0.79
Дерма	517	0.22	21	-	0.787
	585	0.22	20.5	-	0.790
	590	0.22	20	-	0.800
	595	0.22	20	-	0.800
	600	0.22	20	-	0.800

Таким образом, входные параметры для Монте-Карло моделирования освещенности для кожи человека были выбраны средними по значениям, представленным в Таблице 2.1. Оптические параметры фантома из 2% Интралипида [135] были получены из спектрофотометрических измерений на приборе Specord 250 Plus (Analytik Jena, Германия), оборудованным интегрирующей сферой. Оптические свойства для *in vivo* были взяты типичными для человеческой кожи [81, 134]. Входные параметры для Монте-Карло моделирования указаны в Таблице 2.2.

**Таблица 2.2** Оптические свойства фантома кожи и кожи *in vivo* на длине волны 532 нм

	Фантом кожи	Кожа <i>in vivo</i>
$\mu_a, \text{мм}^{-1}$	0.057	0.3
$\mu_s, \text{мм}^{-1}$	5.37	10
$g$	0.631	0.8

Результат компенсации освещенности зависит от выбранных оптических параметров среды. Для оценки эффекта вариации оптических свойств на качество компенсированного изображения, было проведено Монте-Карло моделирование для 50 % вариаций  $\mu_a$  и  $\mu_s$  выше и ниже истинных оптических параметров, используемых для реконструкции. Выбранные наборы оптических параметров, заданных на входе в Монте-Карло, представлены в Таблице 2.3: истинные оптические параметры, восстановленные по данным спектроскопических измерений указаны жирным.

**Таблица 2.3** Оптические свойства, используемые в Монте-Карло моделировании фантома

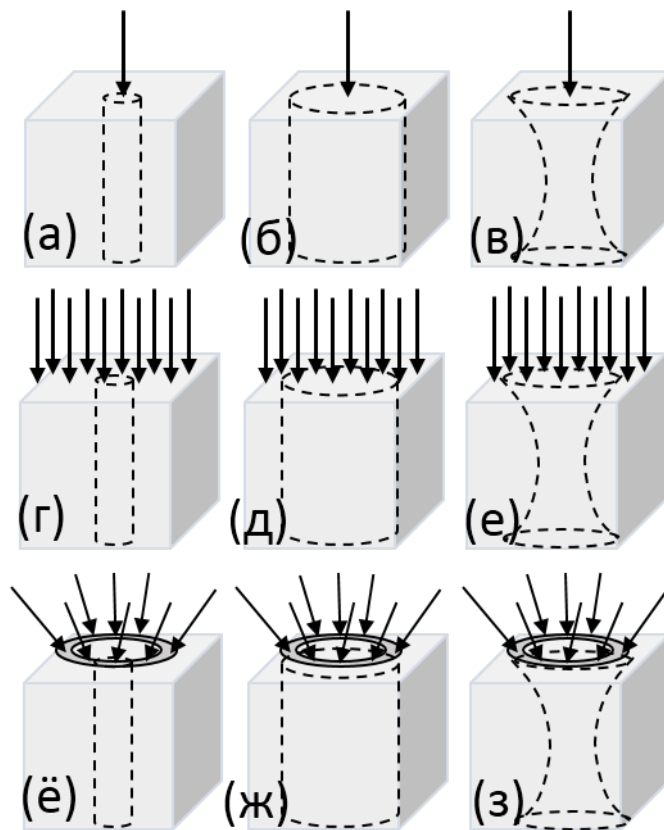
	<b>Случай 1</b>	Случай 2	Случай 3	Случай 4	Случай 5
$\mu_a$ , мм <sup>-1</sup>	<b>0.057</b>	0.0285	0.114	0.057	0.057
$\mu_s$ , мм <sup>-1</sup>	<b>5.37</b>	5.37	5.37	2.685	10.74
$g$	<b>0.631</b>	0.631	0.631	0.631	0.631

Монте-Карло

## 2.5 Результаты Монте-Карло моделирования осевого распределения освещенности

Моделирование эффективного распределения освещенности (2.2) было проведено для различных положений фокуса, используемых в ходе *in vivo* экспериментов. Для демонстрации важности введенных особенностей разработанного подхода, было проведено сравнение полученных одномерных профилей освещенности с упрощенными подходами, часто используемыми в литературе [42] и соответствующими засветке в виде точечного мононаправленного пучка, плоской засветке и ситуации, когда усреднение освещенности выполняется по равным областям для всех рассматриваемых глубин. Рассмотренные комбинации геометрии оптической засветки и областей усреднения, определяемые диаграммой акустической антенны, показаны на Рис. 2.3.

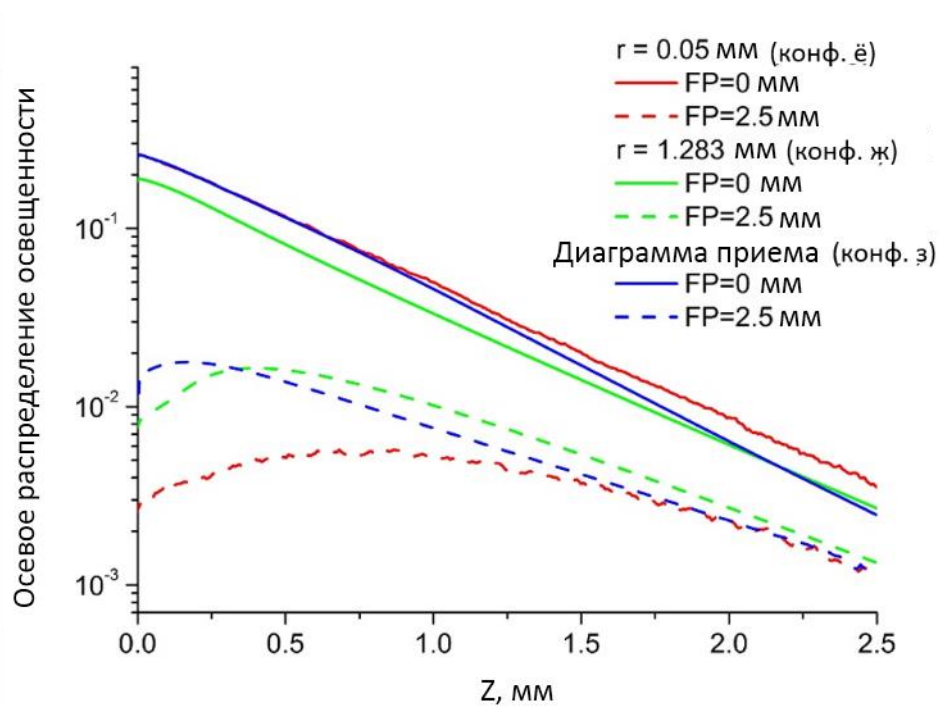




**Рисунок 2.3.** Рассмотренные комбинации геометрии оптической засветки исследуемой среды. Стрелками показано направление оптического потока (точечный мононаправленный источник (а-в), плоская волна (г-е), и коническая засветка ОАМ системы (ë-з)), пунктирные линии показывают диаграмму приема, определяющую область усреднения на данной глубине (цилиндрическая область радиуса 0.05 мм (радиус перетяжки диаграммы антенны) (а, г, ë), с радиусом 1.28 мм (перетяжка пучка системы засветки ОА микроскопа) (б, д, ж) и с переменным радиусом в соответствии с формулой (1) (Гауссова форма диаграммы) (в, е, з))

Рисунок 2.4 демонстрирует осевое распределение освещенности внутри модельной среды для конфигураций ë-з из Рис. 2.3 для двух положений фокуса: фокус на поверхности среды и фокус на глубине 2.5 мм под поверхностью среды. В данном случае, когда оптический фокус сканирующей системы расположен на поверхности объекта,

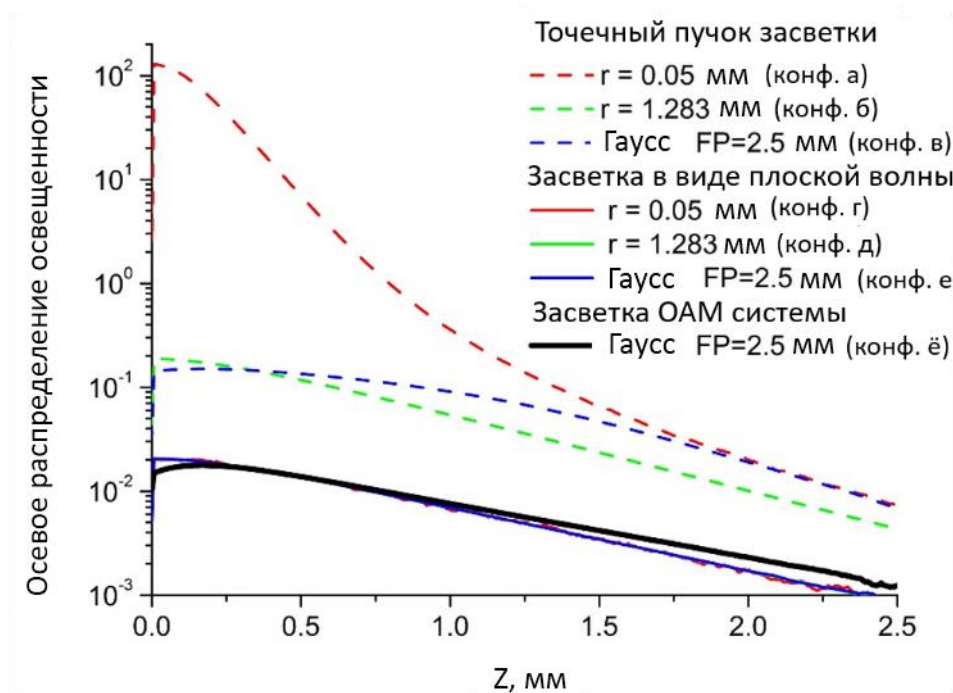
затухание освещенности с глубиной очень близко к экспоненциальному, которое обычно используется для компенсации освещенности [136]. Однако, когда фокус объекта располагается внутри объекта, распределение освещенности кардинально отличается от экспоненциального. Также очевидно, что область усреднения (2.1) существенно влияет на результат, когда фокус располагается на глубине 2.5 мм под поверхностью, следовательно, учет формы диаграммы антенны важен в этой ситуации.



**Рисунок 2.4:** Осевое распределение освещенности для различных положений фокуса при усреднении по области с радиусом 0.05 мм (Рис.2.3 ё), 1.28 мм (Рис.2.3 ж), и по переменной области согласно диаграмме приема (Рис.2.3 з)

Распределение освещенности, вычисленное для конфигурации Рис.2.3з (далее будет обозначаться как распределение ОАМ засветки), было также сравнено с освещенностью, вычисленной для точечного мононаправленного пучка (конфигурации а-в Рис. 2.3) и для плоского распределения интенсивности зондирующего излучения, эквивалентного зондированию плоской волной (конфигурация г-е). Результаты,

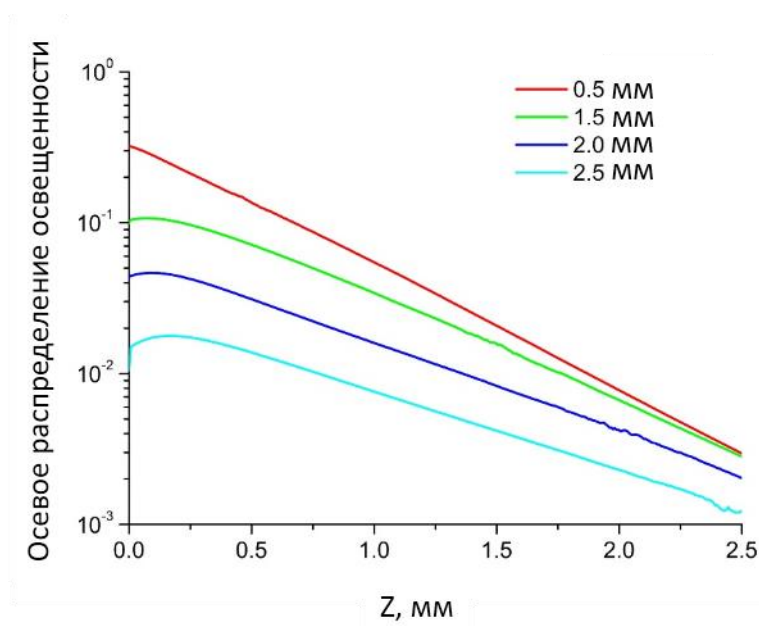
демонстрирующие эффект влияния геометрии засветки, показаны на Рис. 2.5. Точечный пучок, как и ожидалось, создает чрезвычайно высокие значения освещенности вблизи поверхности, особенно когда выполняется усреднение по небольшой площади, концентрической с осью пучка (конфигурация, а). В общем результаты для точечной засветки строго зависят от усреднения и существенно отличаются от засветки ОАМ системы. Распределение освещенности для засветки плоской волной (конфигурация г-е) не зависит от усреднения и более близко к распределению ОАМ, однако, оно по-прежнему отличается, указывая на то, что применение компенсации на освещенность с учетом сложной засветки важно для количественных оценок.



**Рисунок 2.5:** Осевое распределение освещенности для точечного пучка засветки (конфигурация а-в) и плоской засветки (конфигурация г-е) в сравнении со сложной геометрией засветки ОАМ системы (конфигурация ё-з)

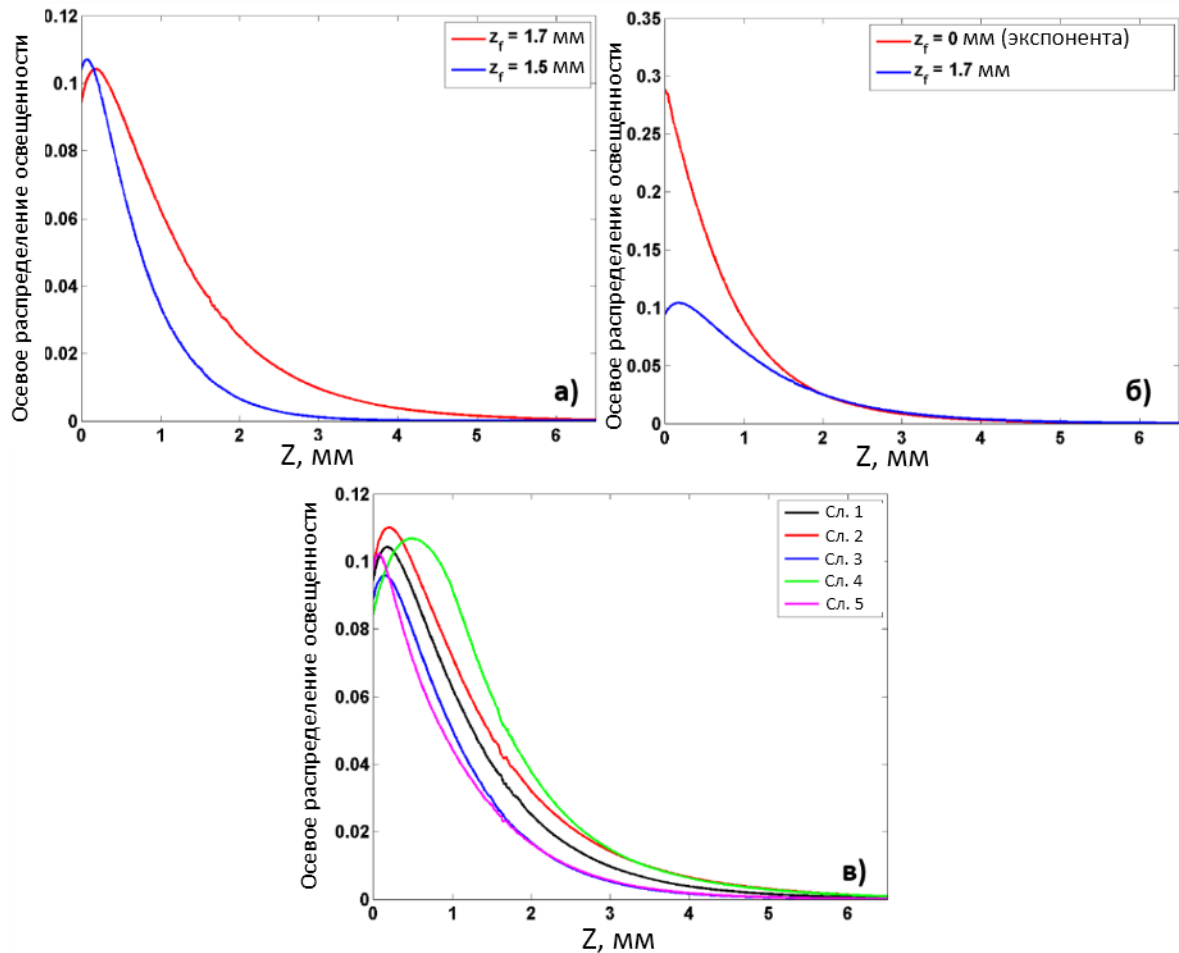
Рисунок 2.6 демонстрирует распределение освещенности при конической геометрии засветки (конфигурация ё) для различных положений фокуса засветки. Как уже

демонстрировалось ранее, когда фокус располагается на поверхности, зависимость очень близка к экспоненциальной, однако, начиная с глубины фокуса от 1.5 мм распределение значительно отличается от экспоненциальной для малых глубин под поверхностью. Кроме того, наклон распределения на больших глубинах также отличается для разных положений фокуса.



**Рисунок 2.6:** Осевое распределение освещенности для сложной геометрии засветки (конфигурация ё) для различных положений фокуса

Для компенсации освещенности в модельном и *in vivo* экспериментах было проведено моделирование освещенности для кольцевой засветки ОАМ системы, описанной в разделе 2.2, методом, описанным в подразделе 2.3. Входные параметры для Монте-Карло моделирования освещенности в фантомном объекте и *in vivo* объекте указаны в Таблице 2.2. При этом моделирование освещенности проводилось для глубины залегания фокуса 1.7 мм для фантома и 1.5 мм для *in vivo* экспериментов. Результаты Монте-Карло моделирования для фантома (красная линия) и *in vivo* (синяя линия) изображены на Рис. 2.7а.



**Рисунок 2.7** Монте-Карло моделирование распределения по глубине освещенности, нормированной на число фотонов: а) для фантома кожи ( $z_f = 1.7$  мм) (красная линия) и кожи *in vivo* ( $z_f = 1.5$  мм) (синяя линия); б) для разных положений акустического фокуса в фантоме кожи:  $z_f = 0$  мм (красная линия);  $z_f = 1.7$  мм (синяя линия); в) для варьированных параметров оптических свойств фантома, указанных в Таблице 2.2

Кроме того, для сравнения традиционного метода экспоненциальной компенсации освещенности с предложенной компенсацией на распределение освещенности, полученной из Монте-Карло для сложной геометрии засветки, моделирование было проведено для двух положений фокуса:  $z_f = 0$  мм (Рис. 2.7б (красная линия), что соответствует экспоненциальной зависимости), и  $z_f = 1.7$  мм (Рис. 2.7б (синяя линия)).

Также было проведено Монте-Карло моделирование для 50 % вариаций  $\mu_a$  и  $\mu_s$  выше и ниже истинных оптических параметров, используемых для реконструкции. Результаты Монте-Карло моделирования для фантома с наборами оптических свойств, представленных в Таблице 2.3 представлены на Рис. 2.7в.

## 2.6 Комбинация компенсации освещенности и метод синтезирования апертуры, учитывающий функцию размытия точки ультразвуковой антенны

В данном подразделе описан метод, включающий в себя предложенную в подразделе 2.5 компенсацию освещенности, учитывающую сложную геометрию засветки [80] и метод синтезирования фокуса (SAFT), дополнительно учитывающий функцию размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны (ASR). ASR была получена методом, изложенном в Главе 1 и описанном в статье [137], состоящем в вычислении импульсных откликов акустической антенны в приложении k-Wave для среды Matlab [64].

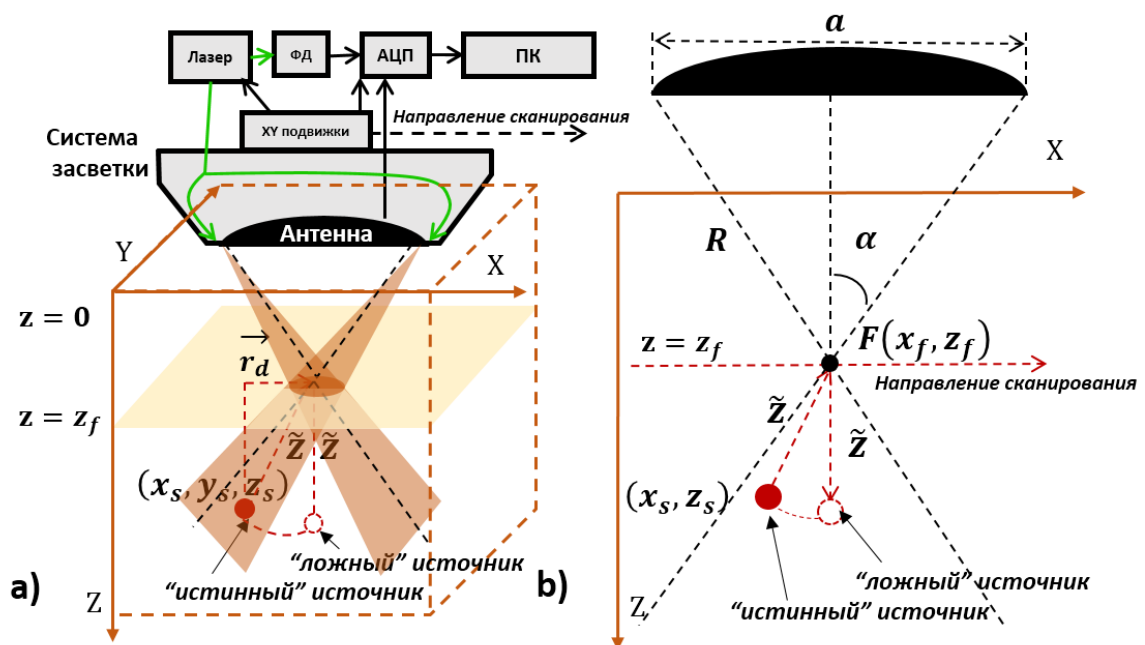


Рисунок. 2.8. а) Схема OAM системы, геометрии сканирующей головки и трехмерного SAFT; б) схема двумерного SAFT

Первый шаг реконструкции ОА изображения заключается в применении алгоритма акустической реконструкции SAFT. В традиционном SAFT фокус рассматривается как виртуальный точечный детектор (VPD). Традиционная концепция VPD состоит в вычислении соответственных задержек сигнала [48], относительно VPD для соседних А-сканов, а затем в суммировании задержанных сигналов. Применительно к реконструкции двумерных изображений SAFT, восстановленное изображение вычисляется по формуле (Рис. 2.8 б):

$$Bscan^{rec}(x_s, z_s) = \sum_{x_f} Bscan^{raw}(x_f, z_f + \text{sgn}(z_s - z_f) \cdot \sqrt{(z_s - z_f)^2 + (x_s - x_f)^2}), \quad (2.3)$$

для трехмерных изображений реконструкция изображения методом SAFT осуществляется по формуле (Рис. 2.8 а):

$$Bscan^{rec}(x_s, y_s, z_s) = \sum_{r_d} Bscan^{raw}(r_d, z_f + \text{sgn}(z_s - z_f) \cdot \sqrt{(z_s - z_f)^2 + (r_d)^2}), \quad (2.4)$$

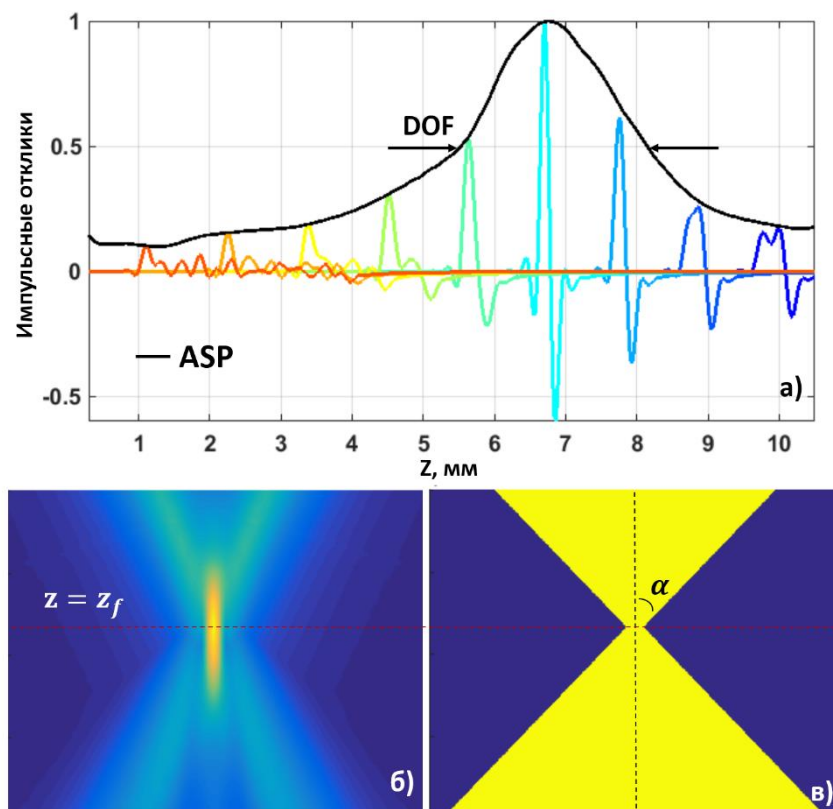
где  $Bscan^{raw}$  - исходный ОА В-скан,  $Bscan^{rec}$  - восстановленный ОА В-скан,  $(x_s, y_s, z_s)$  - координаты восстановленного изображения,  $(x_f, y_f, z_f)$  - координаты фокуса,  $r_d$  - расстояние от фокуса антенны до проекции истинного источника на фокальную плоскость,  $\text{sgn}(z_s - z_f)$  - кусочно-постоянная функция действительного аргумента, условие  $z_s > z_f$  соответствует источникам, расположенным под точкой фокуса, условие  $z_s < z_f$  соответствует точкам фокуса, расположенным над зоной фокуса. Для ОА источников, расположенных в фокусе ( $z_s = z_f$ ) исходный сигнал остается без изменений [72, 73].

Для успешной реализации алгоритма SAFT необходимо учесть, что сигнал от источника, расположенного отдельно от оси А-скана (оси Z), будет зарегистрирован только в том случае, если источник находится в пределах пространственной чувствительности антенны.

Аналогично работе [72], каждая линия А-скана из исходного В-скана была помножена на весовую маску ASR, соответствующей текущему положению антенны. Поскольку двумерный SAFT применяется к каждому В-скану, вычисления ASR [137]

были проведены аналогично вычислениям функции Грина, описанным в Главе 1, в программном пакете k-Wave на двумерной вычислительной сетке для того, чтобы сократить время вычислений. Моделирование проводилось на пространственно-временной сетке  $(7.75 \text{ на } 10.7 \text{ мм}) \times (8.8 \text{ мкс})$  с шагом  $\Delta x = \Delta z = 50 \text{ мкм}$  и  $\Delta t = 10 \text{ нс}$ . Максимальная частота сигнала, которую может зарегистрировать антенна равна 15 МГц. Модельные ОА сигналы от точечного источника регистрировались аркой с фокусным расстоянием  $R = 6.7 \text{ мм}$  и апертурой  $a = 5 \text{ мм}$  (что соответствует используемому в экспериментах сферически фокусируемому детектору (Рис. 2.8 б), описанному в разделе 2.2).

На двумерной вычислительной сетке для текущего положения  $x_f$  акустического детектора, точечный источник располагался в точке  $(x_s, z_s)$  и сигналы от этого источника регистрировались детектором, представляющим собой арку (Рис. 2.8 б). Рисунок 2.8 а представляет импульсные отклики акустического детектора на точечные источники, расположенные на разной глубине ниже и выше фокуса  $(x_f, z_s)$ .





**Рисунок 2.9** а) Импульсные отклики акустического детектора (разные цвета соответствуют разным глубинам источника) и осевой профиль чувствительности (ASP) (черная линия), вычисленный как максимум импульсных откликов; б) матрица ASR для текущего положения детектора; в) схема маски детектирования (DCM) сферически фокусируемого детектора. DOF – зона чувствительности фокуса антенны

Матрица ASR ( $x_f, x_s, z_s$ ) была сформирована из максимумов импульсных откликов, полученных в соответствующих точках ( $x_f, x_s, z_s$ ) и представляет собой функцию размытия точки одноэлементной ультразвуковой сферически фокусируемой антенны. Следует отметить, что матрица ASR сформирована только как амплитудная матрица, в отличие от нестационарной функции размытия точки, использованной при модельно-ориентированной реконструкции в Главе 1. Результирующая матрица ASR для текущего положения детектора представлена на Рис. 2.9б. Модифицированный двумерный SAFT с весовой матрицей ASR, применительно к В-скану:

$$Bscan^{rec}(x_s, z_s) = \sum_{x_f} Bscan^{raw}(x_f, z_f + \text{sgn}(z_s - z_f) \cdot \rho) \otimes ASR(x_f, x_s, z_f + \text{sgn}(z_s - z_f) \cdot \rho), \quad (2.5)$$

где  $\rho = \sqrt{(z_s - z_f)^2 + (x_s - x_f)^2}$  расстояние от точки фокуса до точки восстанавливаемого изображения (Рис. 2.8 б) и символ “ $\otimes$ ” означает поэлементное умножение матриц.

Поскольку учет пространственной чувствительности в SAFT был реализован в матричной форме (2.5), его недостаток — это большое время вычислений. Чтобы преодолеть это ограничение, было предложено использовать комбинацию двух процедур: применить бинарную коническую маску детектирования (DCM), соответствующую геометрической форме функции размытия точки ASR (Рис. 2.9в) и нормировку изображения на осевой профиль чувствительности (ASP) антенны (Рис. 2.9а). Обе эти характеристики были взяты из модельной ASR (Рис. 2.9б): профиль чувствительности DCM определяется угловой апертурой ( $2\alpha$  на Рис. 2.8б) акустической антенны и

перетяжкой ASR в области фокуса, в то время как профиль ASP является профилем ASR по оси z в центре детектора. Уменьшение числа элементов суммирования приводит к значительному уменьшению времени счета.

Для сравнения традиционного SAFT с предложенным методом реконструкции, было предложено ввести величину контраста изображения, вычисляемую как отношение ОА сигналов, проинтегрированного по области главного максимума  $\sigma$  [130] и по области, содержащей артефакты  $\Sigma$ :

$$Contrast = 10 \log_{10} \left( \frac{\iint_{\sigma} Bscan(x_s, z_s) d\sigma}{\iint_{\Sigma} Bscan(x_s, z_s) d\sigma} \right), \quad (2.6)$$

На втором шаге реконструкции проводится компенсация освещенности, состоящая в нормировке исходного ОА сигнала в данной точке на локальное значение освещенности в данной точке (2.2). Для данной процедуры компенсации каждый А-скан финального трехмерного ОА изображения нормируется на одномерный массив распределения освещенности, полученного из трехмерного Монте-Карло моделирования сложной геометрии засветки (Рис. 2.8а) среды с оптическими параметрами, характерными для визуализируемого объекта.

## 2.7. Апробация разработанного метода восстановления в модельном эксперименте

### *Применение разработанного алгоритма реконструкции к фантомным ОА изображениям*

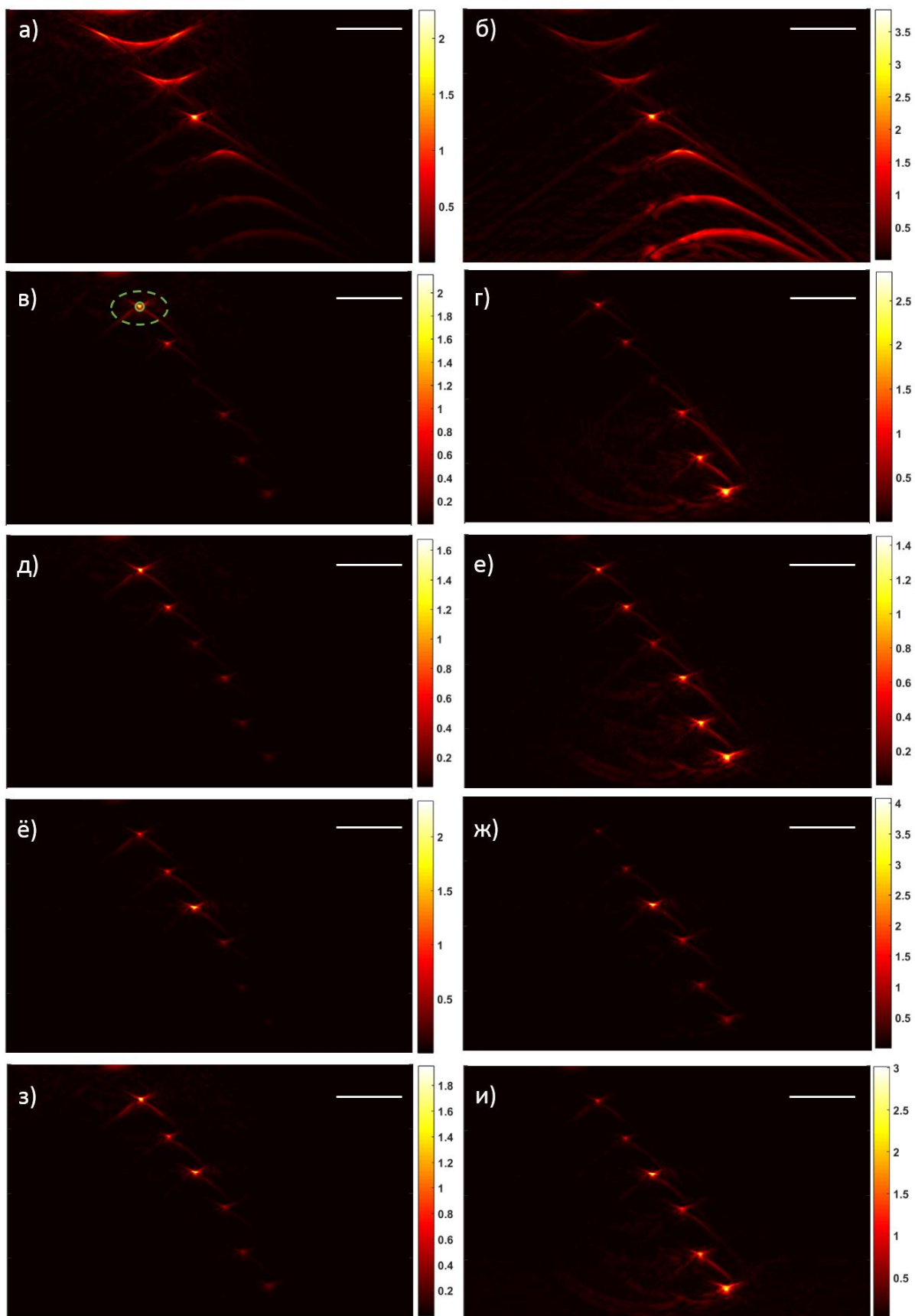
Разработанный подход был применен к ОА данным, полученным на фантоме, состоящем из раствора Интралипида с погруженными в него медными проволоками. Все фантомные эксперименты проведены на фантоме, описанном в Главе 2, Пункт 2.4. Изображения фантома получены при расположении фокуса антенны на глубине  $z_f = 1.7$  мм.

Как уже отмечалось в разделе 2.6, разработанная методика реконструкции ОА изображений состоит из двух частей: акустической и оптической реконструкций. Исходный В-скан фантома при положении фокуса  $z_f = 1.7$  мм под поверхностью показан на Рис. 2.10а, то же изображение после компенсации на освещенность показано на Рис. 2.10б. Следует отметить, что все изображения фантома были отнормированы на интенсивность сигнала от второй проволоки. Как видно из рисунка, компенсация освещенности позволяет повысить уровень сигнала от нижних проволок. Изображения после применения двумерного традиционного метода SAFT, при котором восстановленное изображение получается из исходного согласно (2.4), показаны на Рис. 2.10в и Рис. 2.10г без и с компенсацией, соответственно. Из рисунка видно, что применение традиционного метода SAFT позволяет уменьшить артефакты, связанные с природой детектирования акустического сигнала, в то время как компенсация освещенности существенно увеличивает сигнал с больших глубин. Однако наибольший недостаток традиционного SAFT это низкий уровень сигнала в области фокуса ОА датчика. Учет функции размытия точки ASR антенны имеет большой потенциал для устранения этого недостатка. Результаты применения двумерного SAFT с учетом ASR, изображенной на Рис. 2.9б, показаны на Рис. 2.10д и Рис. 2.10е, соответственно. Из рисунка видно существенное повышение уровня сигнала в зоне фокуса, однако, точный учет ASR является очень время затратным. Соответствующие времена работы алгоритма на 64-битной серверной платформе с процессором Intel Xeon CPU E5-2620 @2GHz и объемом оперативной памяти 192ГБ представлены в Таблице 2.4.

**Таблица 2.4** Время обработки, продольное и поперечное пространственные разрешения различных модификаций метода SAFT, примененных к компенсированным ОА В-сканам фантома

Метод	Время реконструкции, сек	Контраст изображения в фокусе, дБ	Контраст изображения на 3.5 мм глубине, дБ	Продольное разрешение в фокусе, мкм	Продольное разрешение на 3.5 мм глубине, мкм	Поперечное разрешение в фокусе, мкм	Поперечное разрешение на 3.5 мм глубине, мкм
SAFT	160	3.8	8.7	74	90	75	95
SAFT+ASR	2700	6.2	8.4	62	85	75	80
SAFT+DCM	77	9.9	8.9	38	80	86	85
SAFT+DCM+ASP	80	9.8	8.8	35	75	95	85

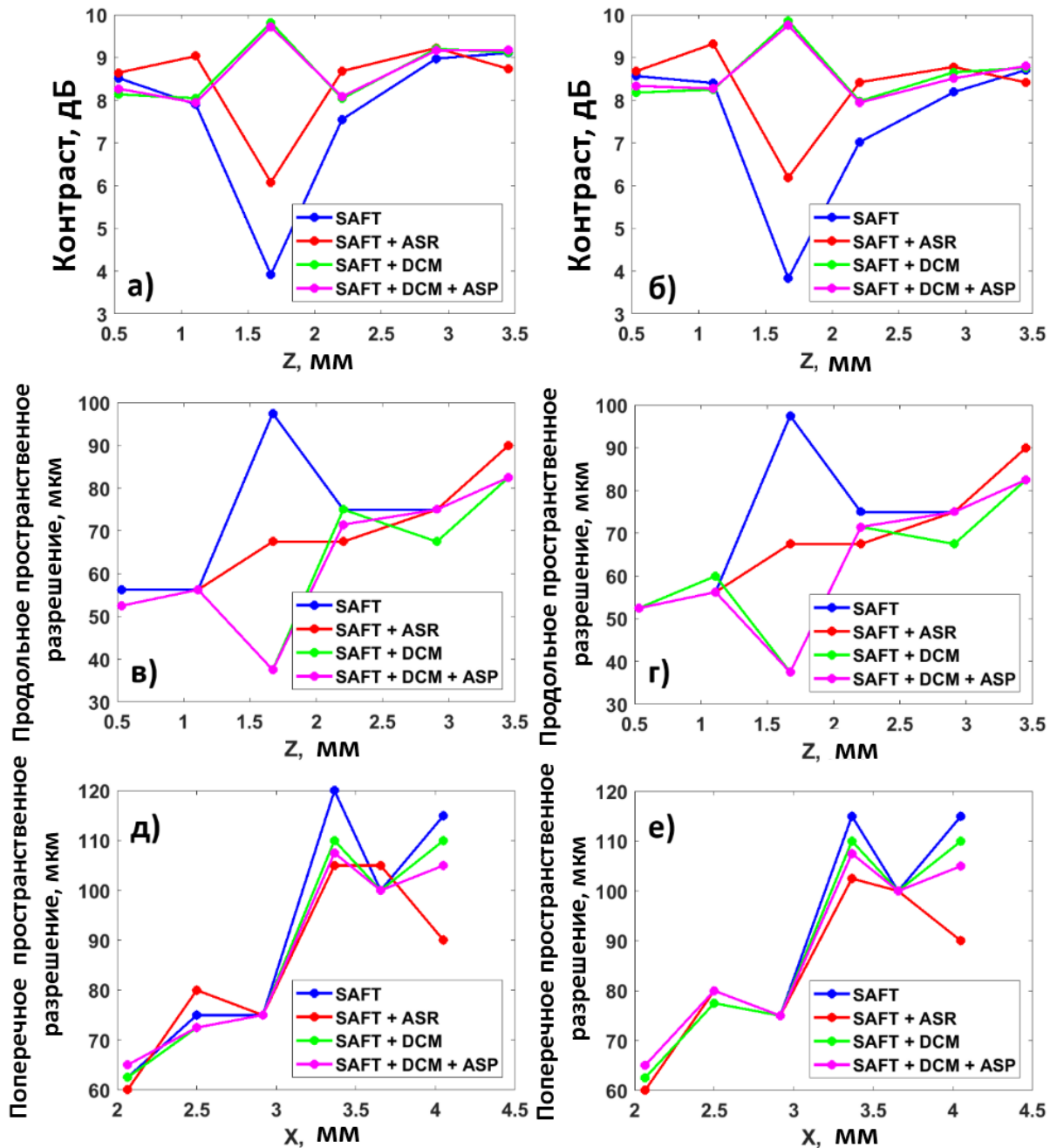
Для сокращения времени реконструкции, учет ASR был заменен на комбинацию DCM (Рис. 2.9в), определяющую геометрическую форму ASR, и деление на ASP (рис. 2.9а). Применение только бинарной маски DCM, которая учитывает лишь вклад только от источников, попадающих в угловую апертуру, продемонстрировано на Рис. 2.10ё и Рис. 2.10ж, соответственно. Данный подход позволяет существенно повысить сигнал в зоне фокуса, однако, приводит к несбалансированному уровню сигнала вне зоны фокуса. Чтобы убрать этот эффект, был использован учет профиля чувствительности ASP. Комбинация этих двух подходов для некомпенсированного и компенсированного изображений показана на Рис. 2.10з и Рис. 2.10, соответственно. Итоговое изображение – применение бинарной маски DCM с нормировкой на ASP (Рис. 2.10и) - демонстрирует сбалансированное изображение для объектов, расположенных на поверхности, в зоне фокуса и на глубине, с высоким пространственным разрешением, одновременно обеспечивая в 35 раз уменьшенное время реконструкции по сравнению с точным учетом ASR (Таблица 2.4). Время вычисления может быть дальше улучшена путем реализации предложенного метода реконструкции SAFT в Фурье области [62].



**Рисунок 2.10.** Двумерная реконструкция ОА изображений фантома из проволок: исходные В-сканы, полученные ОА микроскопом (а, б); двумерный SAFT (в, г); двумерный SAFT + ASR (д, е); двумерный SAFT + DCM (ё, ж); двумерный SAFT +

DCM + ASP (з, и) с (б, г, е, ж, и) и без (а, в, д, ё, з) компенсации освещенности. Все шкалы равны 1 мм. Слитный и пунктирный эллипсы обозначают области интегрирования  $\sigma$  и  $\Sigma$  в (2.4), соответственно

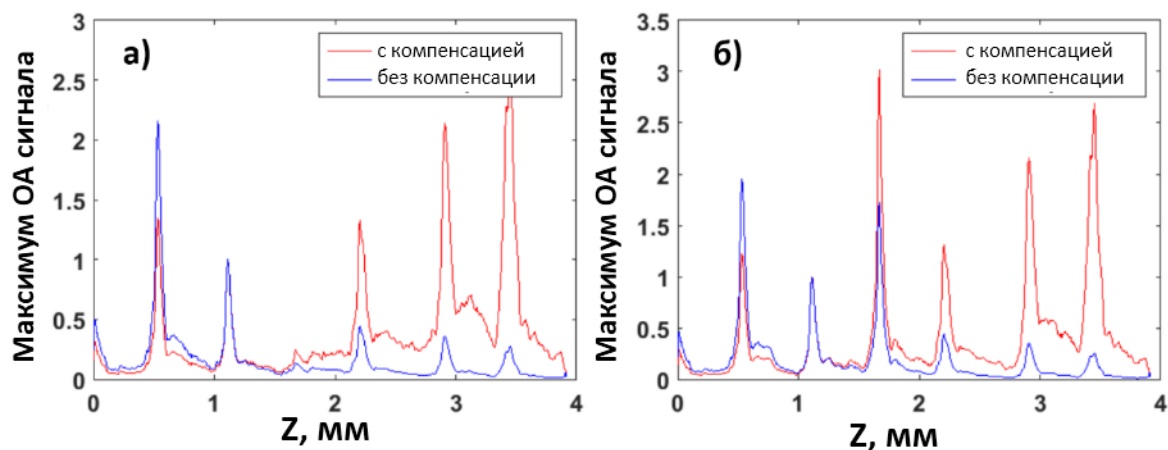
Для сравнения эффективности примененных алгоритмов, был рассчитан контраст изображения по формуле 2.6 (области  $\sigma$  и  $\Sigma$  изображены на Рис. 2.10в и равны 0.008 и 0.44 мм<sup>2</sup>, соответственно) для традиционного SAFT, для компенсации на ASR, и для предложенного ускоренного метода, учитывающего DCM и ASP. Для каждой из 6 проволок, расположенных на разных глубинах от 0.5 мм до 3.5 мм в направлении Z, был вычислен контраст изображения (без и с компенсацией освещенности – Рис. 2.11а, 2.11б, соответственно), продольное (Рис. 2.11в, г), и поперечное (Рис. 2.11д, е) разрешения. Учет ASR обеспечивает двукратное увеличение контраста в фокусе по сравнению с традиционным SAFT (Рис. 2.11а, б). Применение SAFT только с DCM существенно увеличивает контраст в зоне фокуса, однако, приводит к несбалансированному контрасту всего изображения. Комбинация DCM и ASP выравнивает разницу в контрастах во всем изображении. Метод SAFT с DCM (зеленые линии) и ASP (пурпурные линии) в два раза улучшают продольное разрешение восстановленного изображения в области фокуса в сравнении с традиционным SAFT (синие линии) (Рис. 2.11в, г). Предложенные методы реконструкции существенно не влияют на поперечное пространственное разрешение, вычисленное как ширина на полувысоте профиля по оси X (акустические артефакты, возникающие из-за сферической формы детектора, не влияют на результат вычисления данного значения, поскольку они локализованы в других направлениях). Полученные значения контраста изображения, продольного и поперечного пространственных разрешений для компенсированных ОА В-сканов для проволок, расположенных в области фокуса и на глубине 3.5 мм, представлены в Таблице 2.4.



**Рисунок 2.11** Сравнение контраста (а, б), продольного (в, г) и поперечного (д, е) пространственных разрешений для ОА изображений, восстановленных 2D SAFT (голубые линии), 2D SAFT + ASR (красные линии), 2D SAFT + DCM (зеленые линии) и 2D SAFT + DCM + ASP (пурпурные линии) с (б, г, е) и без (а, в, д) компенсации освещенности

Применение традиционного метода SAFT (Рис. 2.10в, г) обеспечивает восстановление показателя поглощения (2.2) с высоким контрастом сигналов от провололочек, расположенных выше и ниже фокуса, однако, сигнал от поглотителя в зоне фокуса восстанавливается некорректно – его значение существенно меньше истинного.

Этот эффект заметен и на проекциях В-сканов на ось Z (Рис. 2.12а). Предложенный метод реконструкции (SAFT+ DCM +ASP) позволяет увеличить сигнал в фокусе, в то же время компенсация освещенности увеличивает сигнал с глубины (Рис. 2.12б (красная линия)).



**Рисунок 2.12** Сравнение максимальных значений ОА сигналов от поглощающих нитей с и без компенсации освещенности в проекции на ось Z для двух методов реконструкции: традиционный 2д SAFT (а) и 2д SAFT + DCM + ASP (б)

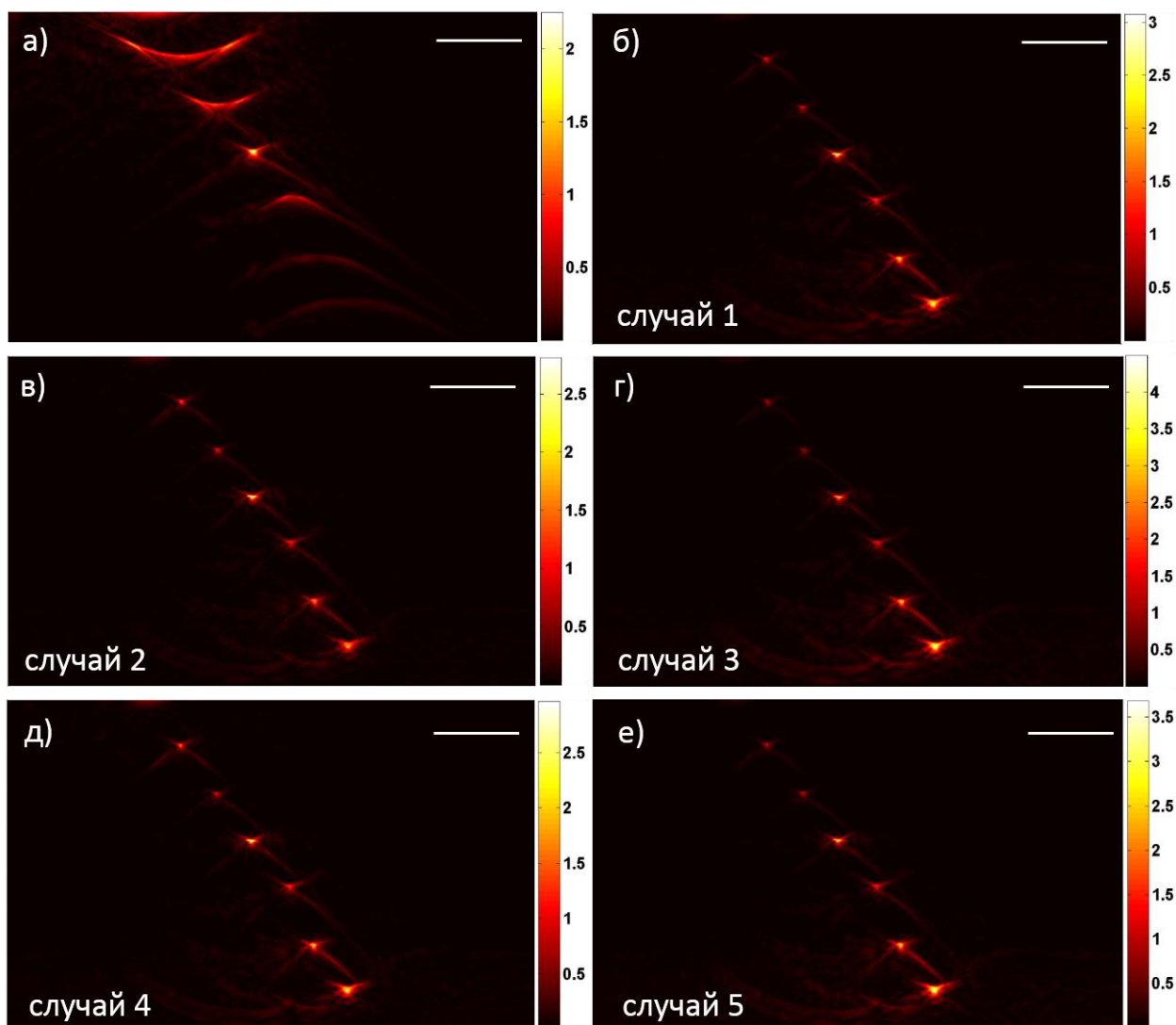
***Исследование влияние вариации оптических параметров среды, используемых для расчета освещенности, на результат реконструкции***

Как можно увидеть из Рис. 2.10 и и Рис. 2.12, компенсация освещенности может сбалансировать сигналы от нитей, расположенных на глубине, по сравнению с некомпенсированным изображением, однако, качество компенсации зависит от выбранных оптических параметров среды. Чтобы проанализировать эффективность компенсации освещенности в зависимости от выбранных параметров среды, освещенность в среде, применяемая для компенсации, моделировалась методом Монте-Карло для 50% вариаций  $\mu_a$  и  $\mu_s$  выше и ниже истинных значений для фантома (Таблица 2.3).

Из Рис. 2.13 можно увидеть, что освещенность, полученная из Монте-Карло моделирования, позволяет улучшить контраст глубоко расположенных проволок, даже если выбранные оптические параметры отличаются от истинных, однако, сильное повышение  $\mu_a$  (Рис. 2.13г) или  $\mu_s$  (Рис. 2.13е) немного нарушает баланс в изображении



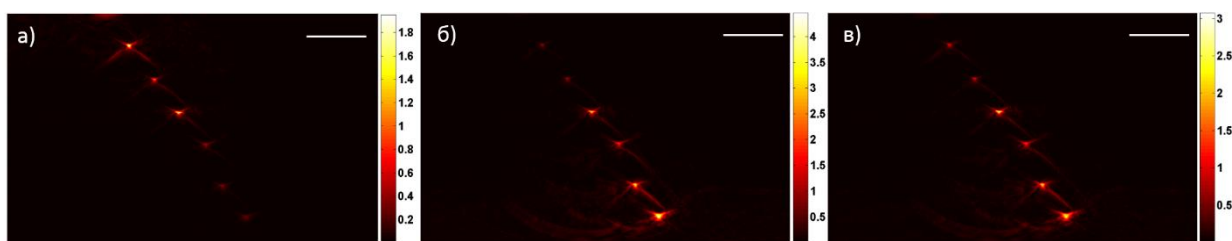
проволок, расположенных близко к поверхности. Между тем, освещенность, полученная из Монте-Карло для истинных значений оптических параметров, позволяет получить сбалансированное изображение как поверхностных, так и глубинных источников (Рис. 2.136).



**Рисунок 2.13** В-сканы фантома из проволочек до (а) и после 2д SAFT + DCM + ASP реконструкции с компенсацией на полученную из Монте-Карло зависимость освещенности для различных оптических параметров (б-е), указанных в Таблице 2.3. Все шкалы равны 1 мм

*Сравнительное исследование результатов реконструкции с использованием компенсаций освещенности в виде экспоненты и полученной из Монте-Карло моделирования*

В отличие от работы [42], где зависимость освещенности от глубины предполагалась экспоненциальной, в данной работе была учтена сложная форма засветки. Для сравнения результатов компенсации, была проведена реконструкция с последующей компенсацией на экспоненциальную зависимость освещенности (Рис. 2.7б (красная линия)) и полученную из Монте-Карло освещенность (Рис. 2.7б (синяя линия)). Рисунок 2.14б демонстрирует изображение, компенсированное на экспоненту, что соответствует Монте-Карло моделированию для  $z_f = 0$  мм. Данный рисунок демонстрирует, что компенсация на экспоненциальную зависимость, значительно улучшает контраст проволочек, расположенных на глубинах от 2 мм до 3.5 мм, хотя они были неразличимы на некомпенсированных изображениях (Рис. 2.14а). Однако, данная компенсация существенно снижает сигнал от поверхностных слоев, приводя к практически полному исчезновению проволочек, расположенных близко к поверхности (Рис. 2.14б), по сравнению с некомпенсированным изображением Рис. 2.14а. Рисунок 2.14в демонстрирует компенсированное на Монте-Карло освещенность, полученную для фокуса антенны  $z_f = 1.7$  мм (Рис. 2.14в), доказывая, что такая компенсация обеспечивает лучший результат по сравнению с экспоненциальной зависимостью за счет более сбалансированного изображения.



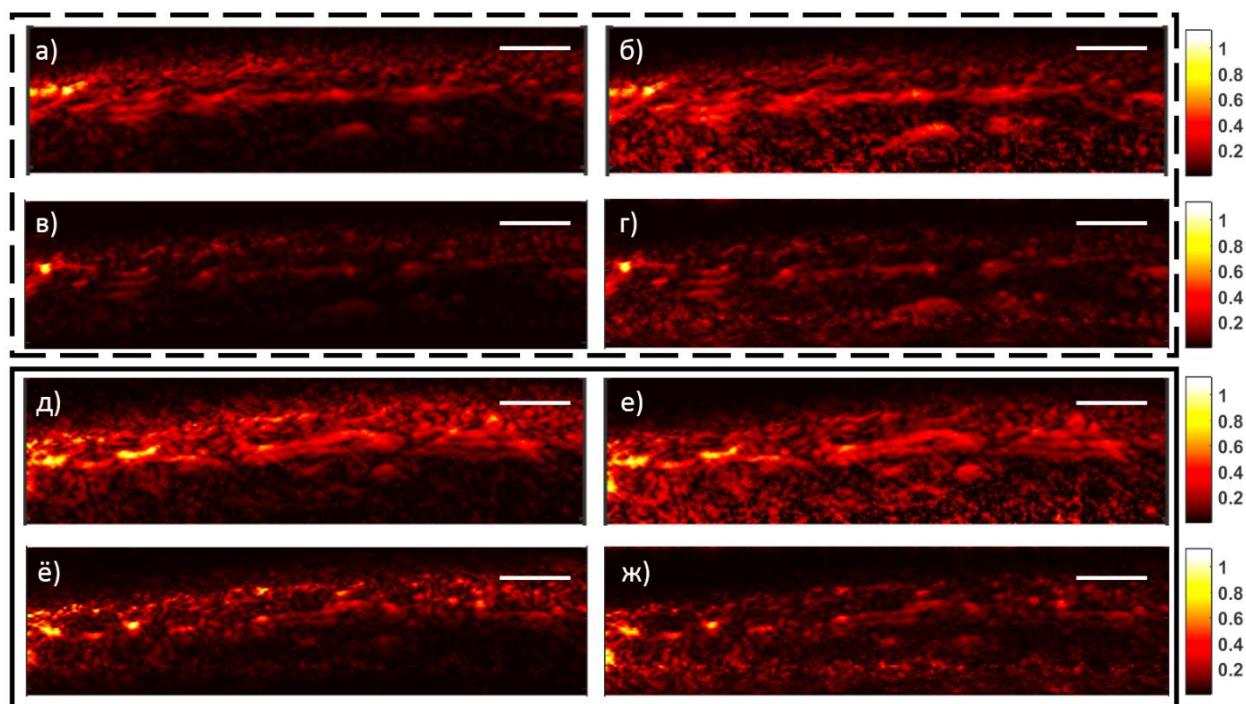
**Рисунок 2.14** Восстановленные В-сканы 2D методом SAFT + DCM + ASP без (а) и с компенсацией освещенности в виде экспоненты (б), и в виде намоделированной методом Монте-Карло зависимости (в). Все шкалы равны 1 мм

## 2.8. Апробация разработанного метода восстановления в *in vivo* эксперименте

Разработанный метод SAFT с учетом DCM и ASP с компенсацией освещенности, полученной методом Монте-Карло, был применен к *in vivo* ОА изображениям человеческой руки. Шаг сканирования в *in vivo* экспериментах был равен 25 мкм. Все изображения получены при глубине фокуса  $z_f = 1.5$  мм. Исходные данные были проинтерполированы для достижения шага 5 мкм с последующей высокочастотной фильтрацией. Все *in vivo* эксперименты проведены на ладони волонтера европейской расы женского пола в возрасте 24 года из группы исследователей.

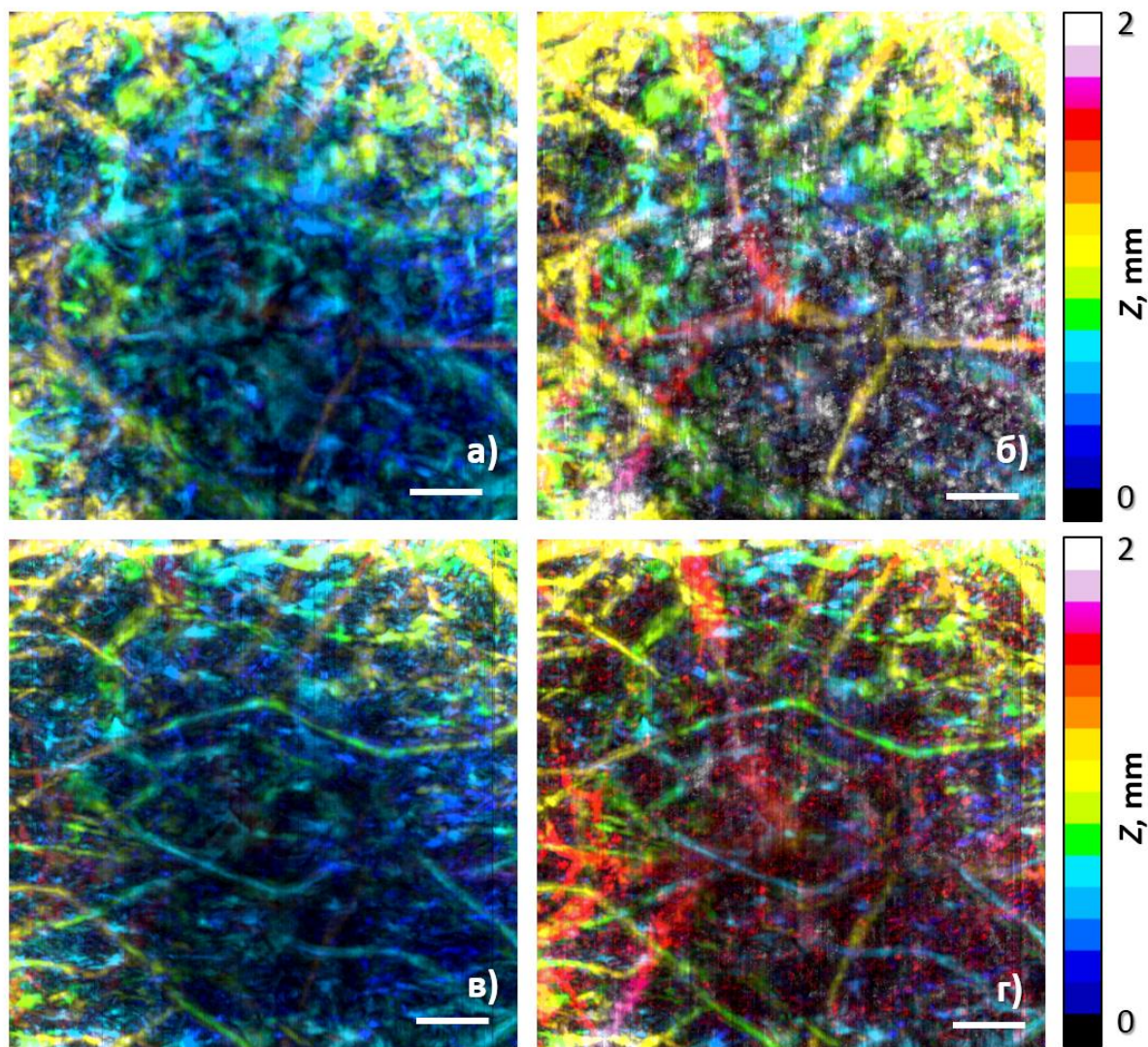
К каждому В-скану из трехмерного массива (соответствует фиксированному положению по оси Y) был применен двумерный метод SAFT, учитывающий маску приема DCM и нормированный на профиль ASP. На втором этапе, к каждому А-скану из трехмерного массива была применена компенсация на полученную из Монте-Карло освещенность для положения фокуса  $z_f = 1.5$  мм (Рис. 2.7а (синяя линия)). Трехмерное восстановленное изображение было сформировано из набора восстановленных В-сканов, поскольку истинная трехмерная реконструкция приводит к возникновению артефактов, связанных с движением исследуемого объекта при сканировании.

На рисунке 2.15 можно увидеть два исходных (Рис. 2.15а, д), два компенсированных (Рис. 2.15 б, е) В-сканов и восстановленные В-сканы методом SAFT + DCM + ASP (Рис. 2.15 в, г, ё, ж) для двух разных положений по оси Y (пунктирная и сплошная рамки, соответственно) без (Рис. 2.15 в, ё) и с (Рис. 2.15 г, ж) компенсацией освещенности.



**Рисунок 2.15** Двумерная реконструкция ОА В-сканов руки человека: исходные В-сканы руки человека, полученные на ОА микроскопе (а, б, д, е); результат 2д SAFT + DCM + ASP реконструкции (время реконструкции 41 сек) (в, г, ё, ж) с (правая колонка) и без (левая колонка) компенсации освещенности. Все шкалы равны 1 мм

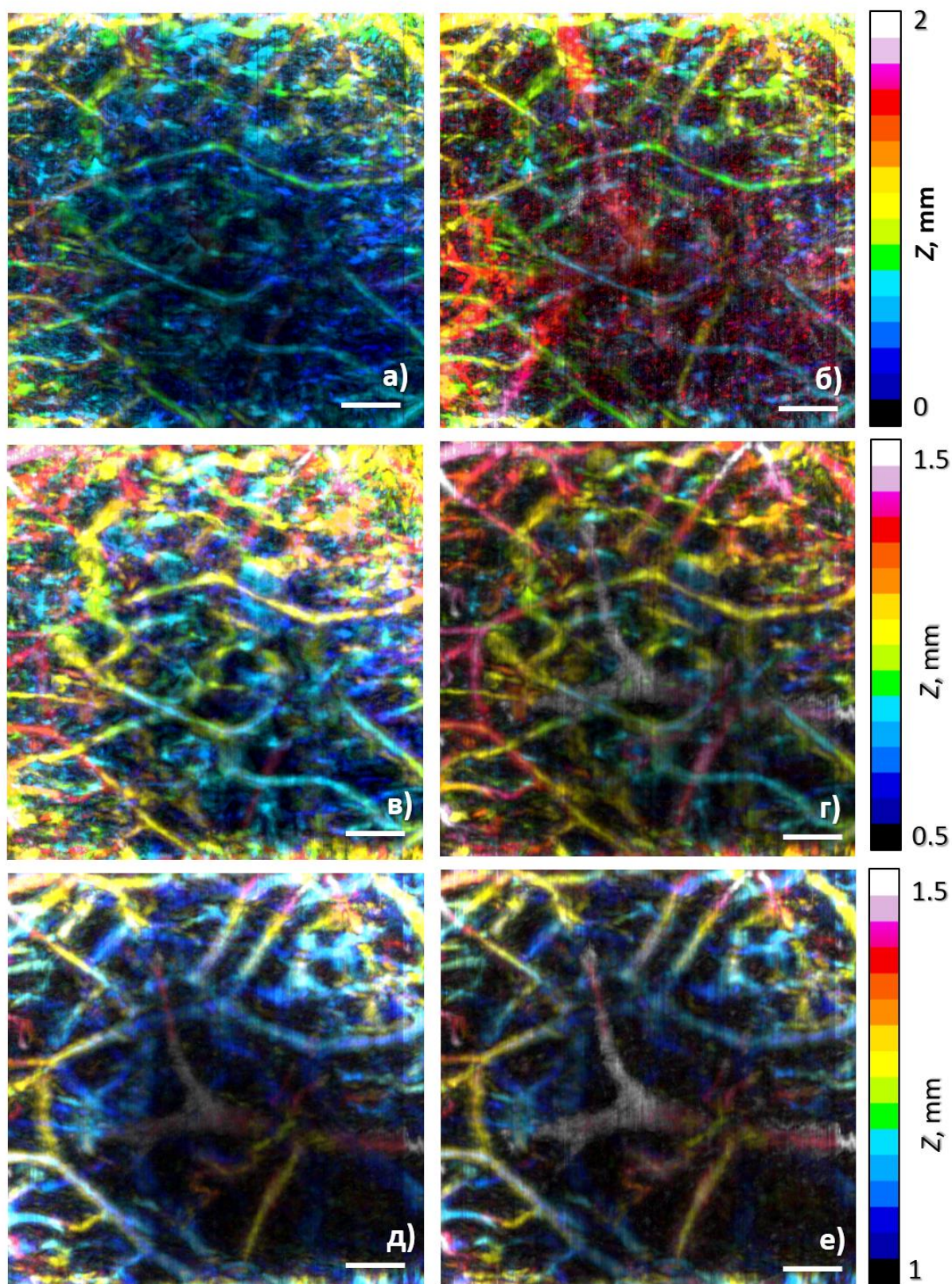
Рисунок 2.16 демонстрирует как исходные ОА изображения, закодированные цветом по глубине в приложении Fiji [138] для фокуса на глубине  $z_f = 1.5$  мм и полученные на ОА микроскопе без (Рис. 2.16 а) и с (Рис. 2.16 б) компенсацией освещенности, так и восстановленные методом SAFT+DCM+ASP без (Рис. 2.16 в) и с (Рис. 2.16 г) компенсации освещенности. Изображения демонстрируют повышения контраста ОА сигналов с больших глубин.



**Рисунок 2.16** ОА изображения кровеносных сосудов руки человека при фокусе антенны на глубине 1.5 мм; глубина сосуда кодируется цветом: исходные трехмерное ОА изображение (а, б) и восстановленные трехмерное ОА изображение двумерным методом SAFT + DCM + ASP (в, г) некомпенсированные (а, в), и компенсированные на Монте-Карло освещенность (б, г). Все шкалы равны 1 мм

Для наиболее наглядной демонстрации работы предложенного алгоритма компенсации, были отдельно построены изображения сосудистой сети ладони человека на фиксированных глубинах до и после компенсации освещенности для случая, когда положение фокуса составляет 1,5 мм. Закодированные цветом по глубине ОА изображения кровеносных сосудов ладони человека показаны во всем диапазоне глубин (Рис. 2.17 а, б), в диапазоне глубин 0,5–1,5 мм (Рис. 2.17 в, г) и в диапазоне глубин 1,0-1,5 мм (Рис. 2.17 д, е). Можно видеть, что при переходе к более глубокому диапазону

контраст более глубоких сосудов значительно усиливается, что дает дополнительную информацию обо всей сосудистой сети.



**Рисунок 2.17** Закодированные цветом ОА изображения сосудистой сети ладони человека для фокуса на глубине 1.5 мм на глубинах от 0 до 2.1 мм (а, б), на глубинах

от 0.5 до 1.5 мм (в, г) и на глубинах от 1 до 1.5 мм (д, е): некомпенсированные (левая колонка), скомпенсированные на Монте-Карло освещенность (правая колонка). Все шкалы равны 1 мм

## 2.9. Выводы

В Главе 2 была описана разработка нового алгоритма компенсации зондирующего распределения освещенности внутри исследуемой среды при осуществлении ОА ангиографии. Каждый А-скан компенсировался на одномерный профиль освещенности, полученный из Монте-Карло моделирования. Монте-Карло моделирование реализовано в трехмерной геометрии и учитывает точную геометрию сложной кольцевой засветки ОА системы и геометрию приема сигналов ультразвуковой антенны с большой численной апертурой. Моделирование проводилось для сред, имитирующих кожу человека.

Было проанализировано изменение профиля освещенности при изменении положения фокуса ОА системы. В случаях, когда фокус располагается на поверхности, зависимость очень близка к экспоненциальной, однако, начиная с глубины фокуса от 1.5 мм распределение значительно отличается от экспоненциального на малых глубинах под поверхностью, поэтому для корректной компенсации освещенности необходимо учитывать положение фокуса.

Предложенная комбинация компенсации освещенности с разработанным методом акустической реконструкции SAFT+DCM+ASP, учитывающим функцию размытия точки сферически фокусируемой ультразвуковой антенны, продемонстрировала лучшую эффективность по сравнению с традиционным SAFT, и обеспечивает в 3 раза улучшенное продольное пространственное разрешение, улучшенный в 2.5 раза контраст в зоне фокуса антенны, в то время как компенсация освещенности позволила повысить уровень сигнала с больших глубин. Применение алгоритма одновременной акустической реконструкции и компенсации освещенности к фантомным и *in vivo* изображениям доказало эффективность разработанного алгоритма.

Ухудшенное качество реконструкции вместе с ASR (Таблица 2.4) по сравнению с упрощенным методом SAFT+DCM+ASP может быть объяснено тем фактом, что ASR было построено как максимум импульсного отклика детектора в данной точке и не учитывало форму зависимости временного импульсного отклика. Действительно, если источник расположен вне зоны чувствительности фокуса DOF, форма сигнала сильно изменяется [139] (Рис. 2.11a). Учет разницы во временных профилях импульсного отклика детектора может быть осуществлен за счет применения дополнительных алгоритмов, например, деконволюции [73].

Учет временной зависимости импульсного отклика акустического детектора может служить дальнейшим усовершенствованием разработанного метода SAFT+DCM+ASP. Зависящий от глубины импульсный отклик может быть ответственен за ухудшение качества реконструкции, однако, поскольку *in vivo* эксперименты проводились в пределах DOF (Рис. 2.7a), учет конечности импульсного отклика привел бы к незначительным улучшениям качества изображения.

Разработанная методика SAFT+DCM+ASP продемонстрировала ускорение обработки изображений по сравнению с SAFT+ASR в 35 раз, при этом баланс в восстановленных сигналах от поверхностных слоев, зоны фокуса и глубоких слоев сохраняется. Наряду с сокращением времени работы алгоритма, предложенный метод обеспечивает в два раза улучшенное продольное пространственное разрешение для восстановленных изображений в области фокуса по сравнению с традиционным методом SAFT, что было продемонстрировано в фантомных экспериментах. Подобный способ был предложен другой группой, где SAFT учитывал весовую маску пространственной чувствительности [72], которая впоследствии была заменена на бинарную маску чувствительности и распределение освещенности [42]. Однако, в работе [42] распределение освещенности предполагается экспоненциальной, в то время как в данной работе было учтено влияние сложной геометрии засветки.



В фантомном эксперименте было продемонстрировано, что компенсация на экспоненциальную зависимость существенно улучшает изображения, повышая уровень сигнала с глубоких слоев, которые не видны на некомпенсированных изображениях. Однако, экспоненциальная компенсация существенно занижает сигнал от поверхностных слоев, поскольку не учитывает глубину оптического фокуса.

Поскольку оптические свойства даже фантомного объекта могут быть восстановлены с погрешностью, поскольку ошибка в реконструкции оптических параметров может достигать 20-30%, дальнейшее варьирование оптических параметров может улучшить результаты предложенного метода реконструкции ОА изображений. Тем не менее, компенсация работает хорошо и слабо зависит от вариации оптических параметров, поэтому она может быть эффективно реализована даже если оптические свойства исследуемого объекта известны примерно.

В ходе *in vivo* экспериментов было продемонстрировано, что применение компенсации освещенности позволило существенно повысить контраст кровеносных сосудов, расположенных на глубине, что обеспечивает лучшую визуализацию кровеносных сосудов во всем измерительном объеме. Было продемонстрировано, что даже простая структура моделируемой геометрии среды для оценок освещенности позволяет существенно повысить контраст изображений. Однако, учет локальных неоднородностей внутри среды имеет высокий потенциал к дальнейшему повышению контраста.

## **ГЛАВА 3. Определение оксигенации крови двухволновым оптико-акустическим амплитудным методом**

### **3.1. Введение**

В Главе 3 Диссертации был предложен метод поиска оптимальных длин волн для определения оксигенации крови двухволновым оптико-акустическим амплитудным методом. Метод основан на минимизации погрешности определения степени насыщения крови кислородом с учетом измерительных шумов акустического давления и погрешности коэффициентов оптического рассеяния и поглощения, используемых при расчете освещенности. Было проанализировано влияние ослабления освещенности в кровеносных сосудах различных диаметров на пары оптимальных длин волн.

### **3.2 Определение оксигенации крови в сосуде**

Локальный инкремент оптоакустического давления, рождающегося в результате засветки плоскослоистой среды лазерным импульсом широкой апертуры, определяется по формуле 1.3. В предположении о том, что поглощение крови определяется лишь присутствием окси/дезоксигемоглобина, можно представить  $\mu_a$  в виде линейной комбинации поглощений каждого из хромофоров:

$$\mu_a^{blood}(\lambda) = \frac{P_0(z, \lambda)}{\Gamma\Phi(z, \lambda, \mu_a, \mu_s')} = C_{Hb} \cdot \mu_a^{Hb}(\lambda) + C_{HbO_2} \cdot \mu_a^{HbO_2}(\lambda), \quad (3.1)$$

где  $\mu_a^{Hb, HbO_2}$  – коэффициенты оптического поглощения окси/дезоксигемоглобина [ $\text{см}^{-1}$ ],  $C_{Hb, HbO_2}$  – относительные концентрации окси/дезоксигемоглобина. Двухволновые измерения позволяют определить  $C_{Hb}$  и  $C_{HbO_2}$ , путем обращения (1.3) и вычислить степень насыщения крови кислородом (оксигенацию)

$$StO_2 = \frac{C_{HbO_2}}{C_{HbO_2} + C_{Hb}}. \quad (3.2)$$

ОА измерения на двух длинах волн позволяют определить  $C_{HbO_2}$  и  $C_{Hb}$  из системы уравнений:

$$\begin{cases} p_1 = K \cdot \Gamma \cdot \Phi_1 \cdot [C_{Hb} \cdot \mu_a^{Hb}(\lambda_1) + C_{HbO_2} \cdot \mu_a^{HbO_2}(\lambda_1)] \\ p_2 = K \cdot \Gamma \cdot \Phi_2 \cdot [C_{Hb} \cdot \mu_a^{Hb}(\lambda_2) + C_{HbO_2} \cdot \mu_a^{HbO_2}(\lambda_2)] \end{cases} \quad (3.3)$$

где  $p_{1,2}$  акустическое давление на длине волны  $\lambda_{1,2}$  на различных глубинах, регистрируемое акустической антенной;  $\Phi_{1,2}$  освещённость на длине волны  $\lambda_{1,2}$  на различных глубинах;  $\Gamma$  – безразмерный параметр Грюнайзена,  $K$  – коэффициент усиления измерительной аппаратуры. Таким образом, из (3.2-3.3) получается формула для определения оксигенации крови:

$$StO_2 = \frac{\frac{p_1 \cdot \Phi_2}{p_2 \cdot \Phi_1} \mu_2 - \mu_1}{\frac{p_1 \cdot \Phi_2}{p_2 \cdot \Phi_1} \delta \mu_2 - \delta \mu_1}, \quad (3.4)$$

где  $\mu_{1,2}$  коэффициент оптического поглощения  $Hb$  на длине волны  $\lambda_{1,2}$ ;  $\delta \mu_{1,2} = \mu_a^{Hb}(\lambda_{1,2}) - \mu_a^{HbO_2}(\lambda_{1,2})$  разница коэффициентов оптического поглощения  $Hb$  и  $HbO_2$  на длине волны  $\lambda_{1,2}$ .

### 3.3 Погрешность измерений оксигенации крови в сосуде

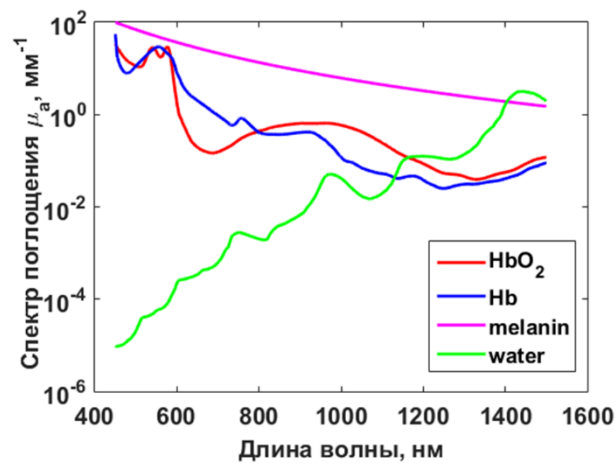
Используя соотношение (3.4), можем получить формулу для погрешности определения оксигенации крови. При этом погрешность  $\delta StO_2$  оптико-акустических измерений оксигенации крови на различных глубинах  $z$  определяется выражением:

$$\delta StO_2 = \left| \frac{\partial StO_2}{\partial \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \right)} \right| \cdot \Delta \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \right) + \left| \frac{\partial StO_2}{\partial p_1} \right| \cdot \Delta p_1 + \left| \frac{\partial StO_2}{\partial p_2} \right| \cdot \Delta p_2, \quad (3.5)$$

где первое слагаемое связано с погрешностью определения освещённости на различных длинах волн, а два других слагаемых определяют погрешность, связанную с шумами в измерении давления. Поскольку дисперсии шума при измерении давления не зависят от длины волны оптического зондирования, а определяется акустической антенной и шумами усилителя,  $\Delta p_1 = \Delta p_2 = \Delta p$ , по формуле (3.5) с учетом (3.4) получаем:

$$\delta StO_2 = \frac{|\delta\mu_2 \cdot \mu_1 - \delta\mu_1 \cdot \mu_2|}{\left(\frac{p_1 \cdot \Phi_2}{p_2 \cdot \Phi_1} \delta\mu_2 - \delta\mu_1\right)^2} \cdot \left( \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot \frac{1}{p_2} + \frac{p_1}{p_2} \cdot \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot \frac{1}{p_2} \right) \cdot \Delta p + \frac{p_1}{p_2} \cdot \Delta \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \right) \right). \quad (3.6)$$

Величины  $\mu_{1,2}$ , входящие в выражение (3.6), хорошо известны и могут быть взяты из литературных данных (Рис. 3.1). Определение величин  $\Delta p$ ,  $\frac{\Phi_2}{\Phi_1}$ , и  $\Delta \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \right)$  описано в следующих подразделах.



**Рисунок 3.1** Коэффициенты оптического поглощения окси- $(HbO_2)$  (красная линия) и дезоксигемоглобина  $(Hb)$  (синяя линия) [140], меланина (розовая линия) [7] и воды (зеленая линия) [140] в диапазоне длин волн 450 – 1500 нм

### 3.3.1 Погрешность определения оксигенации крови, связанная с шумами в измерении давления

Погрешность измерения давления  $\Delta p$  в выражении 3.6 можно определить по значению отношения сигнал-шум ( $SNR_a = \frac{p}{\Delta p}$ ) для акустического сигнала. Характерное значение  $SNR_a$  было измерено для оптико-акустического микроскопа описанного в работе [130], предназначенного для оптико-акустического биоимиджинга и являющегося разработкой ИПФ РАН. Измерения, проводившиеся на лазерной длине волны 531 нм (соответствует изобестической точке пересечения кривых поглощения  $HbO_2$  и  $Hb$ ), позволили получить  $SNR_a = 30$  дБ на глубине 3 мм [141]. Зная  $SNR_a$  на фиксированной глубине и длине волны, можно оценить слагаемые  $\frac{\Delta p}{p(\lambda)}$  в (3.6) по формуле:

$$\frac{\Delta p}{p(\lambda)} = \frac{\Phi(531 \text{ нм}) \cdot [C_{Hb} \cdot \mu_a^{Hb}(531 \text{ нм}) + C_{HbO_2} \cdot \mu_a^{HbO_2}(531 \text{ нм})]}{SNR_a(531 \text{ нм}, 3 \text{ мм}) \cdot \Phi(\lambda) \cdot [C_{Hb} \cdot \mu_a^{Hb}(\lambda) + C_{HbO_2} \cdot \mu_a^{HbO_2}(\lambda)]} \quad (3.7)$$

Таким образом, характерная величина погрешности, связанная с шумами в измерении давления может быть вычислена по формуле (3.7).

### 3.3.2 Определение освещённости и погрешности определения отношения освещённостей на двух длинах волн

Для определения характерных значений величины  $\frac{\Phi_2}{\Phi_1}$ , входящей в выражение для погрешности оксигенации (3.6), в зависимости от глубины исследования  $z$  и длин волн  $\lambda_{1,2}$ , были проведены *in vivo* эксперименты методом просветной оптической спектроскопии на человеческой ладони одного из исследователей. В качестве источника была использована ксеноновая лампа, в качестве спектрометра QE65000 (Ocean Optics, США). В результате измерений был получен спектр освещённости  $\Phi_\lambda(z)$  в диапазоне длин волн 450-1000 нм на глубинах от 2 до 8 мм, изображенный на Рис. 3.2а. Полученные экспериментальные данные (Рис. 3.2а точки) были аппроксимированы экспоненциальной

зависимостью (Рис. 3.2а пунктирная линия) в приближении однородно рассеивающей и поглощающей среды [142]:

$$\Phi_{\lambda}(z) = \Phi_0 k(\lambda) e^{-\alpha(\lambda) \cdot z}, \quad (3.8)$$

где  $\Phi_0$  – освещённость среды на поверхности;  $k$  – коэффициент обратного рассеяния среды;  $\alpha$  – коэффициент затухания освещённости в среде. Согласно [142], инкремент ослабления может быть выражен через оптические параметры среды посредством:

$$\alpha(\lambda) = \sqrt{3 \cdot \mu_a(\lambda) \cdot (\mu_a(\lambda) + \mu'_s(\lambda))}, \quad (3.9)$$

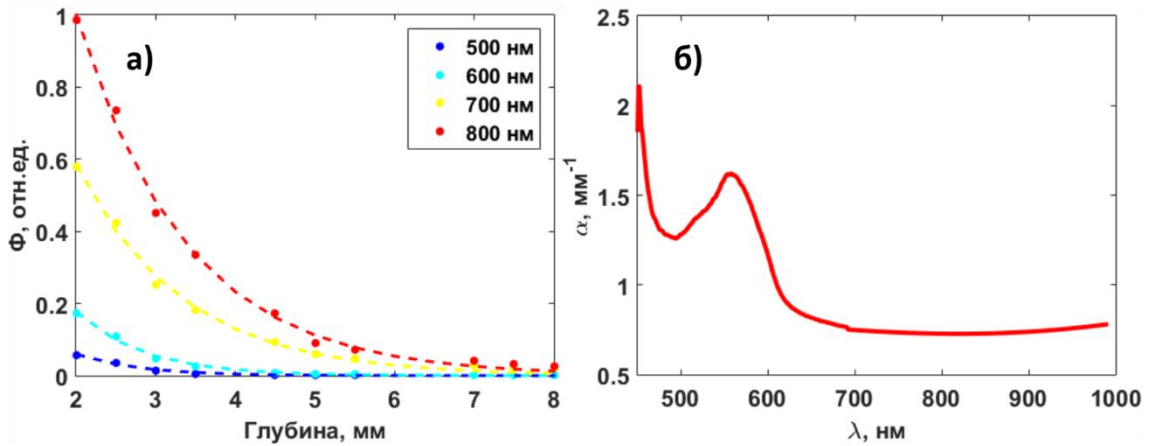
где  $\mu_a$  – коэффициент поглощения, в который вносят вклад все хромофоры, входящие в состав среды,  $\mu'_s$  – транспортный коэффициент рассеяния среды. Коэффициент обратного рассеяния  $k$ , входящий в формулу(3.8), выражается следующим образом:

$$k = 3 + 5.4 \cdot R_d - 2 \cdot e^{-R_d}, \quad (3.10)$$

где  $R_d$  – полный коэффициент диффузного отражения, который определяется коэффициентами поглощения и рассеяния:

$$R_d = e^{-8/\sqrt{3 \cdot (1 + \mu'_s/\mu_a)}}. \quad (3.11)$$

На основании экспериментальных данных, была получена зависимость инкремента  $\alpha(\lambda)$  ослабления освещённости в среде [143] от длины волны лазерной засветки, изображенная на Рис. 3.2б.



**Рисунок 3.2** а) Зависимость освещённости  $\Phi$  от глубины на разных длинах волн,

полученная в *in vivo* эксперименте: точки – экспериментальные данные, пунктирные линии

– аппроксимация экспоненциальной зависимостью; б) зависимость инкремента  $\alpha(\lambda)$

ослабления освещенности от длины волны

Зависимость инкремента затухания  $\alpha$  и коэффициента обратного рассеяния  $k$  от  $\mu_a$  и  $\mu'_s$  позволяет выразить величину  $\Delta\left(\frac{\Phi_2}{\Phi_1}\right)$  через погрешности определения оптических свойств среды. С учетом (3.8), получаем:

$$\frac{\Phi_2}{\Phi_1} = \frac{k_2}{k_1} e^{-(\alpha_2 - \alpha_1) \cdot z}, \quad (3.12)$$

где  $\alpha_{1,2} = \alpha(\lambda_{1,2})$  – инкремент затухания освещённости в среде на длине волны  $\lambda_{1,2}$ .

Тогда погрешность изменения  $\frac{\Phi_2}{\Phi_1}$ :

$$\Delta\left(\frac{\Phi_2}{\Phi_1}\right) = \frac{k_2}{k_1} e^{-(\alpha_2 - \alpha_1) \cdot z} \cdot \left(\frac{\Delta k_1}{k_1} + \frac{\Delta k_2}{k_2} + z \cdot (\Delta \alpha_1 + \Delta \alpha_2)\right), \quad (3.13)$$

где  $\Delta \alpha_{1,2}$  – погрешность определения инкремента затухания  $\alpha$  на длинах волн  $\lambda_{1,2}$ ,  $\Delta k_{1,2}$  – погрешность определения коэффициента обратного рассеяния на длинах волн  $\lambda_{1,2}$ , связанные с погрешностью определения оптических параметров среды. С учетом

аппроксимации  $\alpha$  формулой (3.9), а также с учетом зависимости  $k$  от оптических параметров среды, перейдем к погрешностям измерений коэффициентов  $\mu'_s$  и  $\mu_a$ . Тогда

$$\Delta\alpha = \frac{1}{2\sqrt{3\mu_a \cdot (\mu_a + \mu'_s)}} \cdot [(6\mu_a + 3\mu'_s) \cdot \mu_a \cdot \delta\mu_a + 3\mu_a \cdot \mu'_s \cdot \delta\mu'_s], \quad (3.14)$$

$$\Delta k = \frac{12R_d \cdot (5.4R_d + 34e^{-R_d})}{(3 \cdot (1 + \mu'_s/\mu_a))^{3/2}} \cdot \frac{\mu'_s}{\mu_a} [\delta\mu_a + \delta\mu'_s], \quad (3.15)$$

где  $\delta\mu_a$  – относительная погрешность измерения  $\mu_a$ ,  $\delta\mu'_s$  – относительная погрешность измерения  $\mu'_s$ .

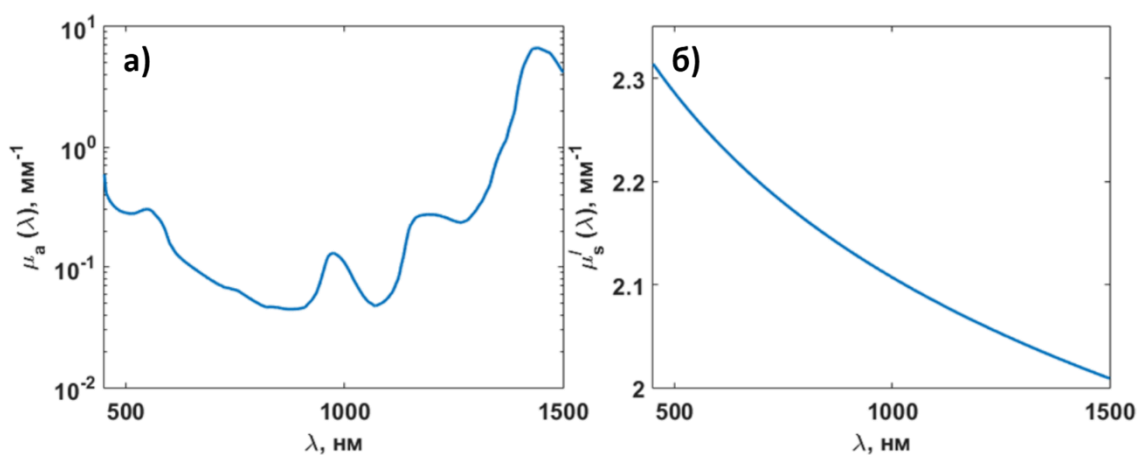
Таким образом, формулы (3.13)-(3.15) позволяют выразить величину  $\Delta\left(\frac{\Phi_2}{\Phi_1}\right)$  через погрешности определения показателей поглощения  $\mu_a$  и рассеяния  $\mu'_s$ , определяющих пространственное распределение освещенности в биоткани.

### ***Моделирование освещенности для расширения спектрального диапазона***

Освещенность измерялась в диапазоне от 450 до 1000 нм, как было описано в подразделе 3.3.2. Верхняя граница измерений (1000 нм) определялась характеристиками используемого спектрометра, основанного на кремниевом регистраторе. Поскольку оптимальные длины волн измерения оксигенации могут находиться и в более длинноволновом диапазоне (более 1000 нм), а технической возможности проведения измерений в этом диапазоне не было, для поиска значений оптимальных длин волн в расширенном спектральном диапазоне 450-1500 нм, было проведено моделирование освещенности. Исходя из экспериментальных данных (Рис. 3.2б), были определены концентрации отдельных компонент среды путем аппроксимации спектра  $\alpha$  по формуле (3.9) в диапазоне длин волн от 450 до 1000 нм, что позволило продлить спектр в область длин волн от 1000 нм. Аппроксимация проводилась в предположении о том, что вклад в

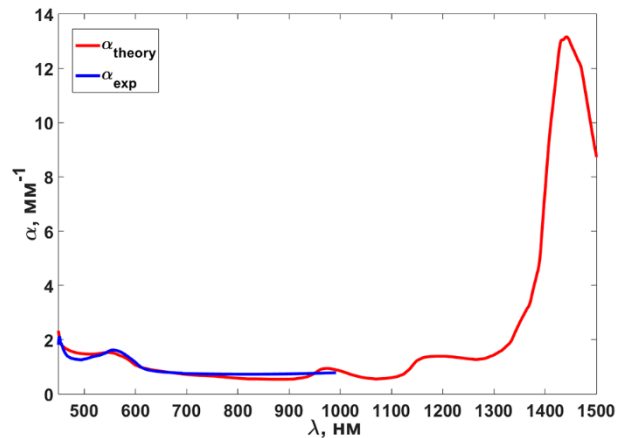


коэффициент поглощения  $\mu_a$  вносят кровь, вода и меланин, оптические спектры поглощения которых (Рис. 3.1) были взяты из литературных данных. При этом полученные относительные концентрации меланина, воды и крови соответственно равны 0.003, 2.1, 0.005. Транспортный коэффициент рассеяния был смоделирован (Рис. 3.3б) с использованием формулы  $\mu'_s = a \left(\frac{\lambda}{450}\right)^{-b}$ , в которой средневзвешенные значения констант  $a$  и  $b$  взяты из [144] для кожи, молочной железы и мышц и равны  $a = 2.3 \text{ мм}^{-1}$ ,  $b = 0.1 \text{ мм}^{-1}$ .



**Рисунок 3.3** Оптические параметры среды, восстановленные по экспериментальным данным: а) коэффициент оптического поглощения среды; б) транспортный коэффициент рассеяния среды

На Рис. 3.4 изображены экспериментально полученная зависимость инкремента затухания  $\alpha$  и результат аппроксимации с продолжением в область длин волн от 1000 до 1500 нм.



**Рисунок 3.4** Аппроксимации экспериментальной зависимости инкремента  $\alpha(\lambda)$

затухания освещённости от длины волны: эксперимент (синяя линия), результат аппроксимации (красная линия)

Полученные значения  $\mu_a$  и  $\mu'_s$  были использованы для вычисления величин  $R_d$  по формуле (3.11) и  $k$  по формуле (3.10). Проведенная аппроксимация позволила расширить результаты измерения освещённости на диапазон от 1000 до 1500 нм и, соответственно, находить оптимальные длины волн для минимизации погрешности определения  $StO_2$  в диапазоне от 450 до 1500 нм.

### 3.3.3 Учет изменения освещённости внутри кровеносного сосуда

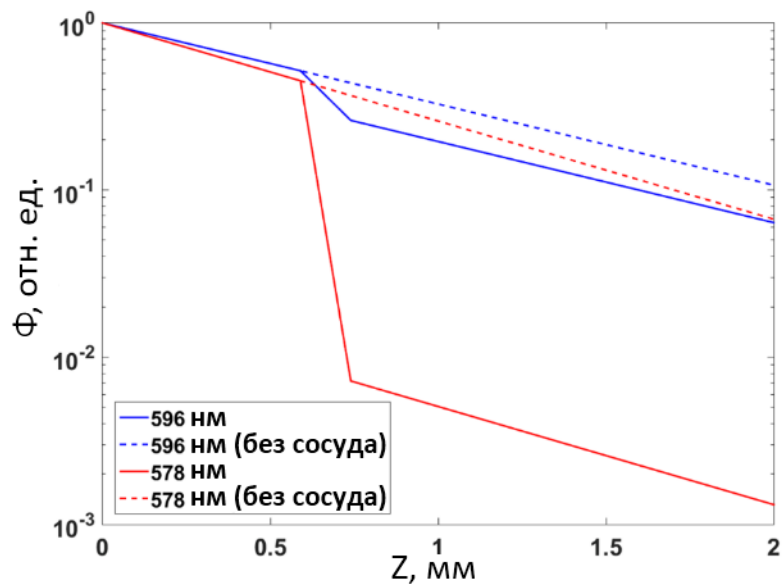
В подразделе 3.3.2 был рассмотрен вклад ошибки нахождения отношения освещенностей на глубине  $z$  в погрешность определения оксигенации крови в приближении однородно рассеивающей и поглощающей среды. При оценке уровня оксигенации крови, необходимо учитывать, что скорость ослабления освещенности в сосуде с глубиной существенно выше, чем в окружающих тканях, что приводит к

сильному спадаению освещённости в самом кровеносном сосуде и, следовательно, к дополнительной ошибке в определении  $StO_2$  из-за разницы освещенностей на двух длинах волн.

При наличии на глубине  $z$  кровеносного сосуда толщины  $d_v$  в приближении плоскослоистой среды ослабление освещённости определяется формулой:

$$\Phi_\lambda(z) = \Phi_0 k(\lambda) e^{-\alpha(\lambda) \cdot z} e^{-(\mu_a^{blood}(\lambda) - \alpha(\lambda)) \cdot d_v}, \quad (3.16)$$

где  $\mu_a^{blood}(\lambda)$  – коэффициент поглощения крови, определяемый по формуле (3.1),  $d_v$  – толщина кровеносного сосуда. На Рис. 3.5 представлена зависимость освещенности от глубины для длин волн 578 и 596 нм при наличии на пути распространения света кровеносного сосуда диаметром 150 мкм.



**Рисунок 3.5** Зависимость освещённости  $\Phi$  от глубины на двух длинах волн с учетом затухания в кровеносном сосуде (сплошные линии) и без учета затухания в сосуде (пунктирные линии)

Таким образом, изменение освещённости может быть оценено не только в случае распространения в однородно рассеивающей и поглощающей среде (как было рассмотрено выше), но и для затухания в кровеносном сосуде. После объединения (3.8) и (3.16) ошибка, связанная с изменением освещённости, будет выражаться следующей формулой:

$$\Delta \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \right) = \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot \left( \frac{\Delta k_1}{k_1} + \frac{\Delta k_2}{k_2} + (z - d_v) \cdot (\Delta \alpha_1 + \Delta \alpha_2) - d_v \cdot (\mu_a^k(\lambda_2) - \mu_a^k(\lambda_1) - \alpha_2 + \alpha_1) \right) \quad (3.17)$$

### 3.4 Расчет оптимальных длин волн для определения оксигенации крови

С учетом (3.13-3.15) получаем формулу для расчета погрешности определения оксигенации крови через погрешности определения показателей рассеяния и поглощения среды и значение отношения сигнал/шум:

$$\delta StO_2 = \frac{|\delta \mu_2 \cdot \mu_1 - \delta \mu_1 \cdot \mu_2|}{\left( \frac{p_1 \cdot \Phi_2}{p_2 \cdot \Phi_1} \cdot \delta \mu_2 - \delta \mu_1 \right)^2} \cdot \left[ \left( \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot \frac{1}{p_2} + \frac{p_1}{p_2} \cdot \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot \frac{1}{p_2} \right) \cdot \Delta p + \frac{p_1}{p_2} \cdot \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot \left( \frac{\Delta k_1}{k_1} + \frac{\Delta k_2}{k_2} + z \cdot (\Delta \alpha_1 + \Delta \alpha_2) \right) \right] \quad (3.18)$$

где величины  $\Delta \alpha_{1,2}$ ,  $\Delta k_{1,2}$  определяются по формулам (3.14-3.15), а  $\frac{\Delta p}{p(\lambda)}$  – по формуле (3.6).

Соотношение (3.18) позволяет исследовать влияние измерительного шума давления и погрешности определения отношения освещённостей на погрешность вычисления оксигенации крови, путем варьирования нескольких параметров: отношения сигнал-шум на определенной глубине и длине волны, а также погрешности определения оптических параметров в среде.

Разница освещенностей на двух длинах волн при сильном спадении освещённости в кровеносном сосуде (3.17) приводит к дополнительной ошибке в определении  $StO_2$ . Тогда погрешность определения  $StO_2$  примет вид:

$$\delta StO_2^{with\ ves} = \delta StO_2 + \delta StO_2^{ves}, \quad (3.19)$$

где  $\delta StO_2^{ves}$  дополнительное слагаемое к погрешности нахождения оксигенации крови, возникающее из-за ослабления освещенности в кровеносном сосуде и определяемое по формуле:

$$\delta StO_2^{ves} = \frac{|\delta\mu_2 \cdot \mu_1 - \delta\mu_1 \cdot \mu_2|}{\left(\frac{p_1 \cdot \Phi_2}{p_2 \cdot \Phi_1} \delta\mu_2 - \delta\mu_1\right)^2} \cdot \left(\frac{p_1}{p_2} \cdot \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \cdot (d_v \cdot (\Delta\alpha_1 + \Delta\alpha_2) - d_v \cdot (\mu_a^k(\lambda_2) - \mu_a^k(\lambda_1) - \alpha_2 + \alpha_1))\right) \quad (3.20)$$

Влияние погрешности, связанной с учетом ослабления освещенности в кровеносном сосуде, на оптимальные длины волн будет рассмотрено в разделе 3.5.

В данном разделе будет проведен анализ погрешности определения оксигенации крови в двух случаях: без учета (3.18) и с учетом (3.20) ослабления освещенности в кровеносном сосуде. Минимизация вычисленной погрешности определения оксигенации крови  $\delta StO_2$  для каждой пары  $\lambda_{1,2}$  позволяет определить оптимальные длины волн для ОА исследований. В подразделах 3.4.1-3.4.3 будет описан поиск оптимальных длин волн, которые будут найдены путем минимизации погрешности определения оксигенации крови (3.18):

$$\lambda_{1,2}^{opt} = \arg(\min_{\lambda_{1,2}} \delta StO_2). \quad (3.21)$$

В подразделе 3.4.4 будет проанализировано влияние затухания освещенности в кровеносном сосуде на пары оптимальных длин волн, которые будут соответствовать минимуму (3.20):

$$\lambda_{1,2}^{opt\ ves} = \arg(\min_{\lambda_{1,2}} \delta StO_2^{ves}). \quad (3.22)$$

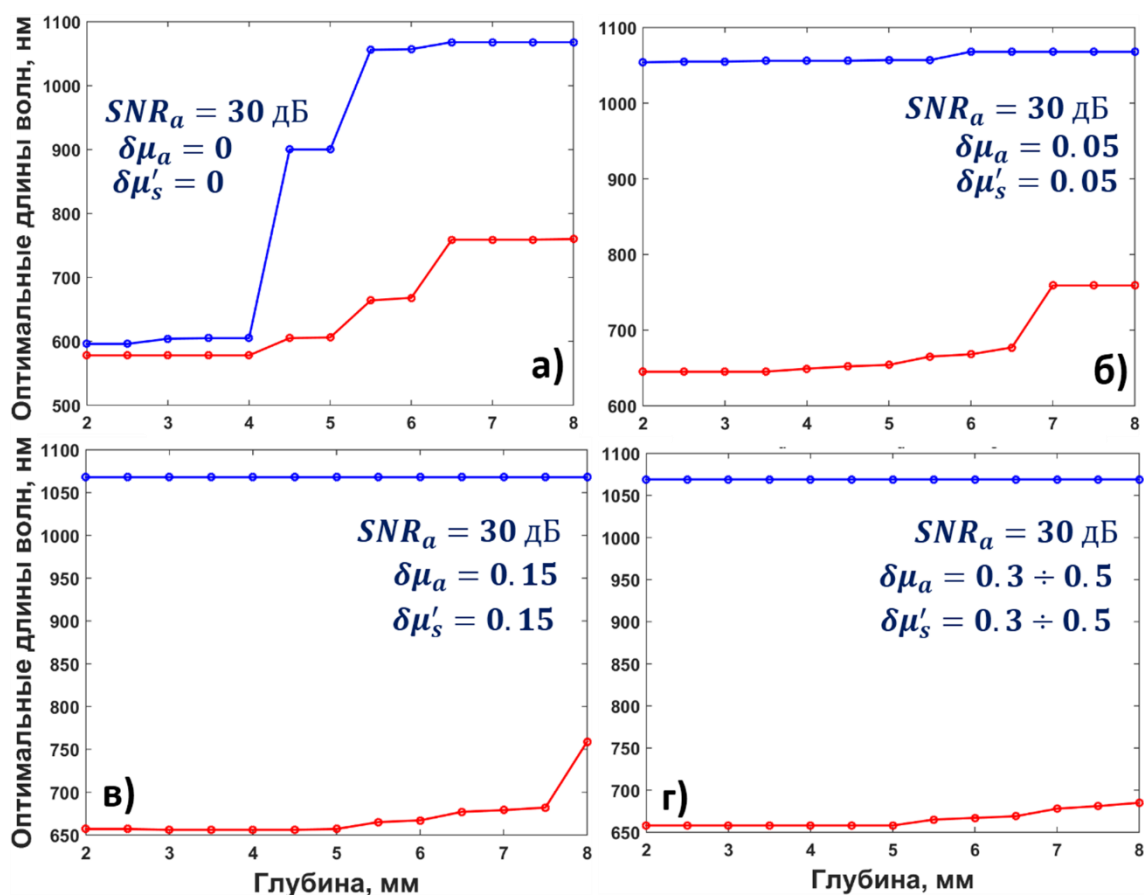
### 3.4.1 Оптимальные длины волн для определения оксигенации крови при известных оптических параметрах среды

Для каждой пары длин волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  из диапазона 450-1500 нм с шагом 1 нм были проведены вычисления погрешности  $\delta StO_2(z)$  по формуле (3.18). При этом величина

оксигенации крови полагалась равной 0.8, а величина  $SNR_a$  была зафиксирована на уровне 30 дБ.

Рассмотрим случай точно известных оптических параметров среды, то есть  $\delta\mu_a = \delta\mu'_s = 0$ . Для каждой из глубин методом перебора осуществлялся поиск пар оптимальных значений длин волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$ , отвечающих минимальной погрешности  $\delta StO_2$ , по формуле (3.21). Из полученных результатов, представленных на рисунке 3.6а, следует, что при известном распределении освещенности для точного определения оксигенации крови на глубинах вплоть до 4 мм необходимо проводить измерения на  $\lambda_1 = 578$  нм и  $\lambda_2 = 596$  нм. Предложенный алгоритм поиска оптимальных длин волн на малых глубинах дает оптимальные значения длин волн  $\lambda_1 = 578$  нм и  $\lambda_2 = 596$  нм, поскольку на указанных длинах волн коэффициенты поглощения крови большие, что обеспечивает большое отношение сигнал-шум принимаемого акустического сигнала. При этом на полученных оптимальных длинах волн достигается наибольшая разница в показателях поглощения окси- и дезоксигемоглобина (Рис. 3.1).

На глубинах больше 4 мм оптимальные значения длин волн смещаются в длинноволновую область, при этом на глубинах от 5 до 8 мм оптимальное значение  $\lambda_1$  переходит от 596 до 760 нм, а оптимальное значение  $\lambda_2$  – от 900 до 1068 нм (Рис. 3.6а). Оптимальные значения длин волн для глубин больше 4 мм смещаются в длинноволновую область вследствие сильного затухания освещенности на длинах волн  $< 630$  нм и, соответственно, быстрого падения уровня ОА сигнала с глубиной.



**Рисунок 3.6** Оптимальные длины волн для определения оксигенации крови в

зависимости от глубины диагностики при фиксированном значении  $SNR_a = 30$  дБ и при

а) известных параметрах среды  $\delta\mu_a = 0$ ,  $\delta\mu'_s = 0$ ; б)-г) различных значениях

относительной ошибки в измерениях оптических параметров  $\delta\mu_a$  и  $\delta\mu'_s$  от 0.05 до 0.5

### 3.4.2 Влияние погрешности определения оптических параметров на оптимальные длины волн

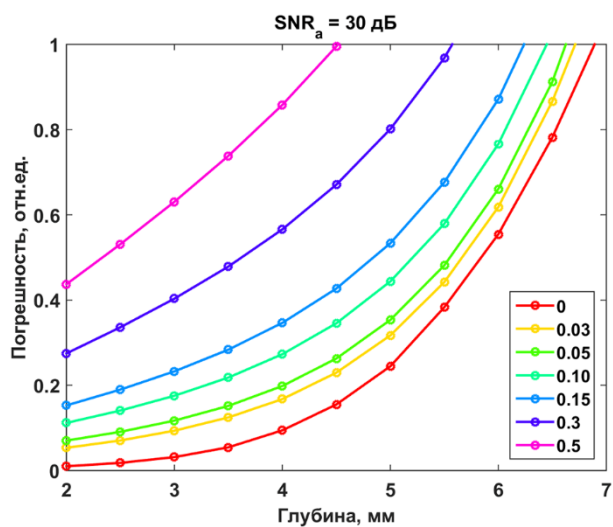
Был проведен анализ влияния ошибки в определении отношения освещенностей на значения оптимальных длин волн. Для этого были найдены пары значений оптимальных длин волн по формуле (3.21) при фиксированном значении  $SNR_a = 30$  дБ и различных значениях относительной погрешности определения оптических параметров среды  $\delta\mu_a$  и  $\delta\mu'_s$  от 0 до 0.5. Как видно из Рис. 3.6, небольшая погрешность в определении

$\mu_a$  и  $\mu'_s$  приводит к тому, что даже на небольших глубинах (порядка 2 мм) измерение оксигенации крови необходимо проводить на длинах волн  $\lambda_1 = 645$  нм и  $\lambda_2 = 1054$  нм (Рис. 3.6б). На глубинах 7–8 мм при значении ошибки  $\delta\mu_a = 0.05$ ,  $\delta\mu'_s = 0.05$  оптимальными являются длины волн 759 и 1068 нм. Постепенное увеличение относительной погрешности в определении оптических параметров до 0.5 приводит к смещению оптимального значения  $\lambda_2$  с 759 до 658 нм (Рис. 3.6г) для диагностики на больших глубинах. Алгоритм поиска минимума выдает такие пары длин волн, которые обеспечивают хороший оптический контраст в поглощении крови. Как видно из рисунка 3.1, на одной оптимальной длине волны  $\lambda_1 = 658$  нм поглощение дезоксигемоглобина больше чем оксигемоглобина, а на второй оптимальной длине волны  $\lambda_2 = 1069$  нм наоборот, что обеспечивает высокий контраст, минимизируя при этом множитель перед скобкой в выражении 3.8. При этом разница в освещенностях на оптимальных длинах волн минимальна, что объясняется близостью значений коэффициентов экстинкции  $\alpha$ , следовательно, и вклад в погрешность слагаемых, связанных с погрешностью определения показателей рассеяния и поглощения биоткани в выражении 3.8, минимален.

Увеличение относительной ошибки  $\delta\mu_a$ ,  $\delta\mu'_s$  приводит к возрастанию погрешности определения оксигенации крови.

Результаты зависимости величины погрешности от относительной ошибки определения оптических параметров при диагностике на оптимальных длинах волн представлены на Рис. 3.7. При  $\delta\mu_a = 0.15$ ,  $\delta\mu'_s = 0.15$  оксигенация крови может быть определена с погрешностью 30% лишь на глубинах до 3.5 мм. Дальнейшее повышение относительной ошибки  $\delta\mu_a$ ,  $\delta\mu'_s$  приводит к большой неопределенности в измерениях оксигенации крови даже на глубине 2 мм.



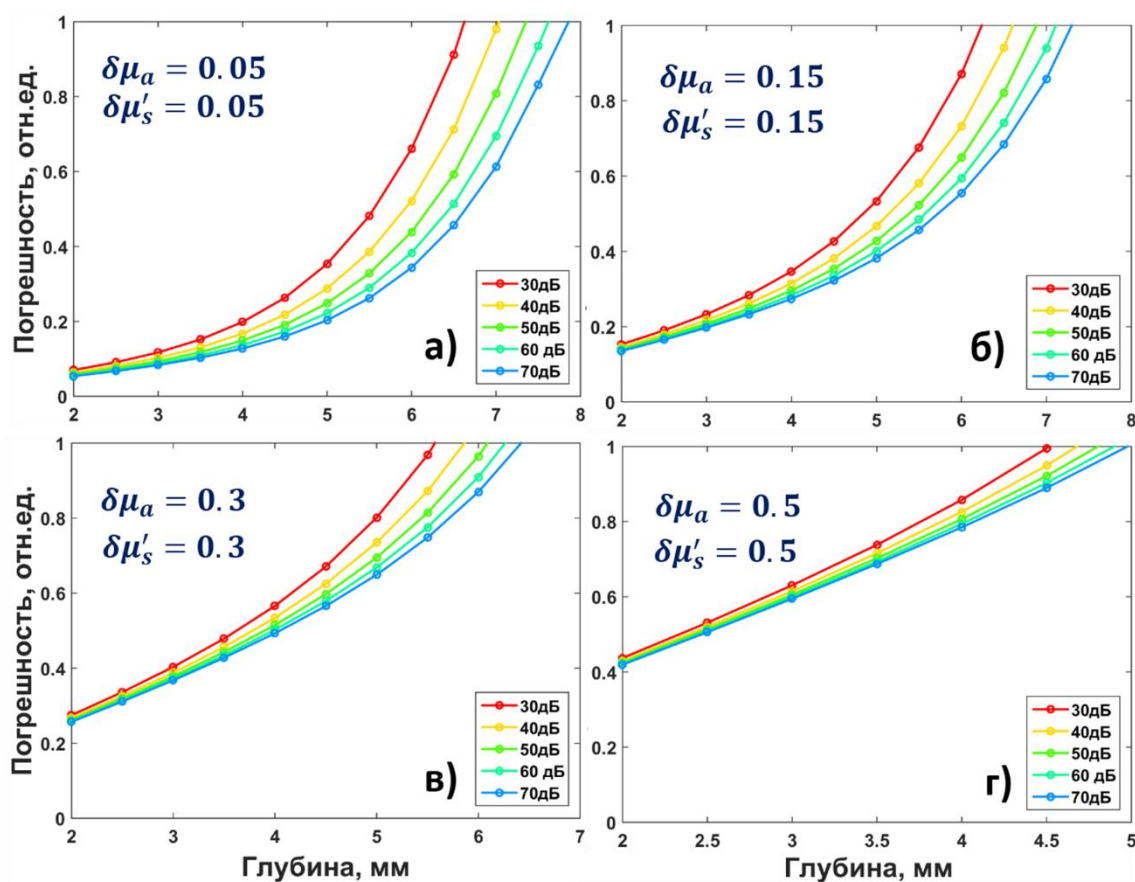


**Рисунок 3.7** Зависимость величины погрешности от глубины при различных значениях относительной ошибки в оптических параметрах при диагностике на оптимальных длинах волн при фиксированном значении  $SNR_a = 30$  дБ

### 3.4.3 Влияние измерительного шума давления на оптимальные длины волн

Был проведен анализ влияния измерительного шума давления на величину погрешности  $\delta StO_2$  определения оксигенации крови на различных глубинах, а также на пары значений оптимальных длин волн. При этом варьировалось значение  $SNR_a$  от 30 до 70 дБ. Значения оптимальных длин волн не меняются при повышении отношения сигнал-шум, однако, погрешность  $\delta StO_2$  уменьшается при увеличении  $SNR_a$  от 30 дБ до 70 дБ (Рис. 3.8). При небольшой относительной ошибке в определении оптических параметров повышение  $SNR_a$  позволяет уменьшить погрешность  $\delta StO_2$  на 20% (Рис. 3.8а). Погрешность в определении оптических параметров приводит к большой погрешности в определении оксигенации крови. Таким образом, при неизвестном распределении

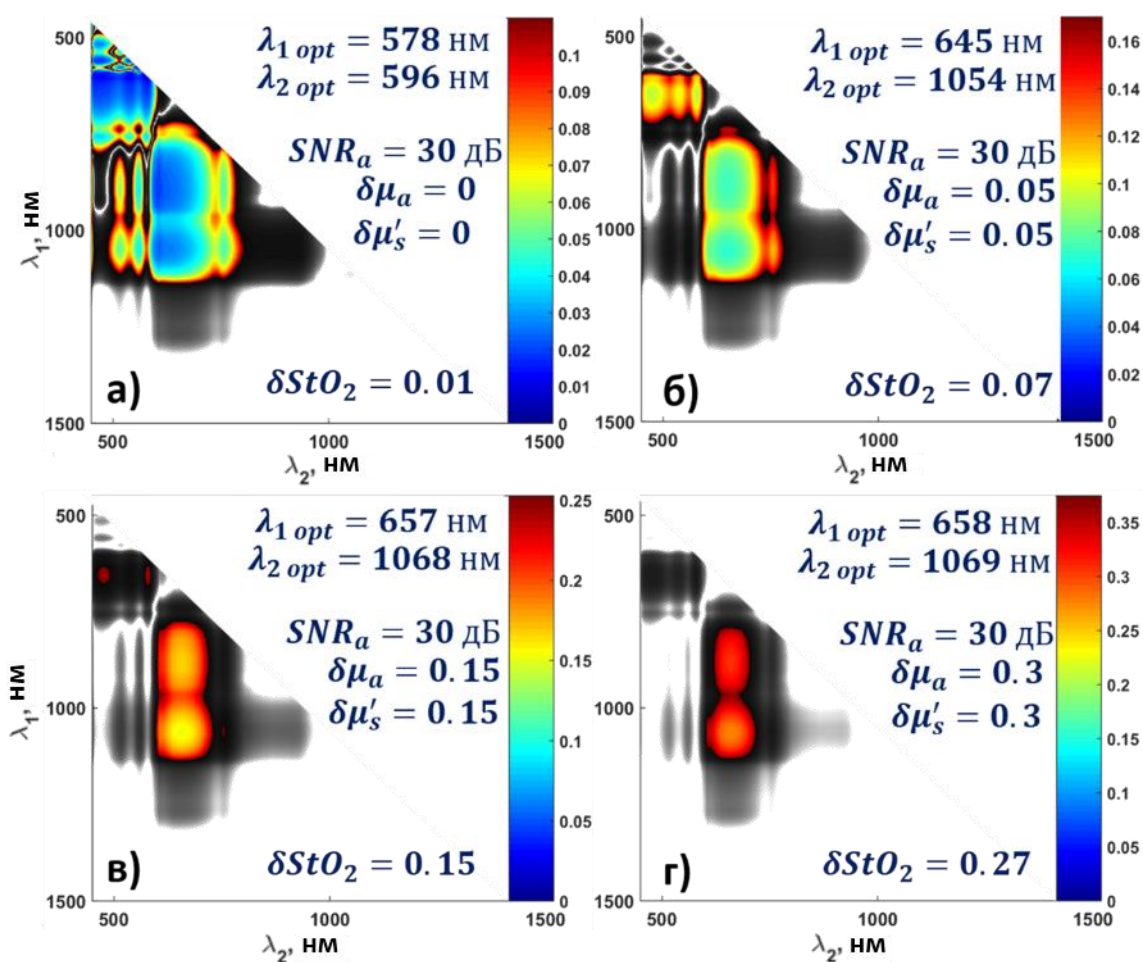
освещённости ( $\delta\mu_a = 0.5$ ,  $\delta\mu'_s = 0.5$ ) погрешность определения степени оксигенации крови сразу же достигает 40%.



**Рисунок 3.8** Зависимость погрешности определения оксигенации крови  $\delta StO_2$  от глубины при различных значениях относительной ошибки в оптических параметрах и различных значениях  $SNR_a$  от 30 до 70 дБ при диагностике на оптимальных длинах волн, полученных в разделе 3.3 и изображенных на Рис. 3.6

Актуален также вопрос о доверительных интервалах найденных оптимальных длинах волн, т.е. о том, насколько можно отстроиться от оптимальной длины волны, не теряя при этом точности в вычислении оксигенации крови. На Рис. 3.9(а-г) показаны погрешности на глубине 2 мм при фиксированном значении отношения сигнал-шум и при

разных величинах относительной погрешности в оптических параметрах от 0 до 0.3. При этом цветом выделены доверительные интервалы длин волн, в которых цветом показано отклонение погрешности от минимального значения. Белым и черным цветом показаны области длин волн, на которых погрешность определения оксигенации  $>1$ . При известном распределении освещённости внутри среды могут быть проведены измерения оксигенации крови с точностью до 10% как в области длин волн около 600 нм, так и на длинах волн 700 и 1060 нм. Однако незначительная погрешность ( $\delta\mu_a = 0.15$ ,  $\delta\mu'_s = 0.15$ ) в определении оптических свойств биоткани сокращает доверительные области оптимальных длин волн лазерной засветки до  $658\pm 40$  нм и 900-1069 нм.



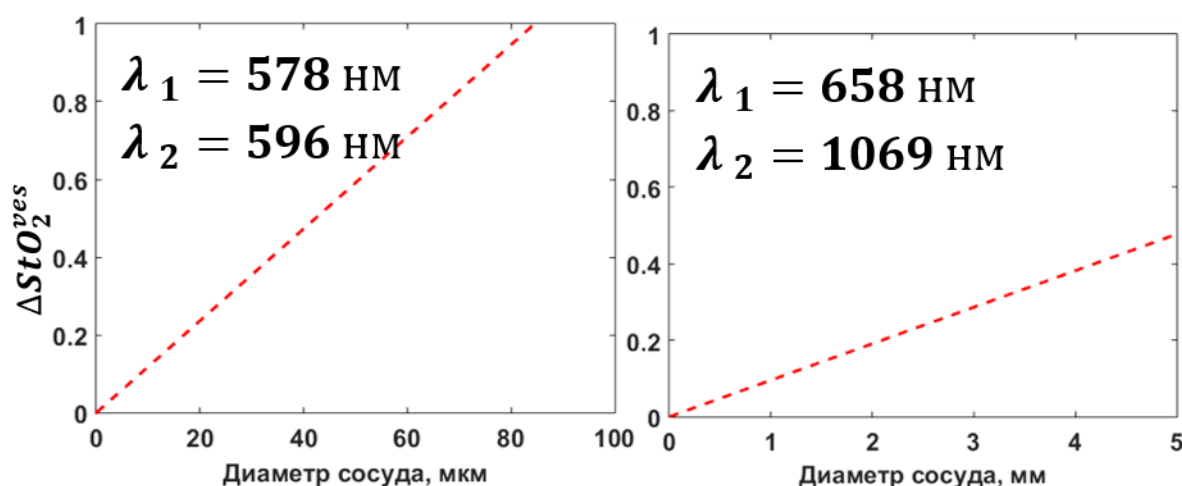
**Рисунок 3.9** Доверительные интервалы длин волн для определения погрешности степени насыщения крови кислородом на глубине 2 мм при фиксированном значении  $SNR_a = 30$  дБ и различных значениях относительной ошибки в оптических параметрах от

0 до 0.3. Белым и черным цветом показаны области длин волн, на которых погрешность определения оксигенации  $>1$ .

#### **3.4.4 Влияние изменения освещенности внутри кровеносного сосуда на оптимальные длины волн**

Представленные выше результаты показали, что при известных оптических параметрах среды для наиболее точного определения оксигенации крови на глубинах до 4 мм оптимальными длинами волн являются  $\lambda_1 = 578$  нм и  $\lambda_2 = 596$  нм. Однако поглощение крови на указанных длинах волн достаточно велико, что приводит к сильному изменению освещенности в кровеносном сосуде при наличии такового на пути распространения света, что было показано в подразделе 3.3.4, и, следовательно, к дополнительной ошибке в определении  $StO_2$ .

Для анализа влияния затухания освещенности в кровеносном сосуде было рассмотрено слагаемое (3.20), связанные с конечной толщиной кровеносного сосуда, для 2 пар оптимальных длин волн для двух разных случаев. Из Рис. 3.10а следует, что двухволновые измерения на длинах волн  $\lambda_1 = 578$  нм и  $\lambda_2 = 596$  нм ведут к чрезмерной неопределенности в вычислении оксигенации крови даже в сосуде диаметром 30 мкм. В то же время при диагностике на длинах волн  $\lambda_1 = 658$  нм и  $\lambda_2 = 1069$  нм возможно определение  $StO_2$  с хорошей точностью (Рис. 3.10б), даже если на пути распространения света до глубины  $z$  встретится сосуд, толщиной порядка миллиметра.



**Рисунок 3.10** Зависимость вклада в погрешность измерения оксигенации крови слагаемых, связанных с конечной толщиной кровеносного сосуда, от диаметра сосуда для найденных оптимальных длин волн: а)  $\lambda_1 = 578$  нм и  $\lambda_2 = 596$  нм; б)  $\lambda_1 = 658$  нм и  $\lambda_2 = 1069$  нм

### 3.5. Выводы

В работе предложен метод нахождения пар оптимальных длин волн, обеспечивающих минимальную погрешность оптоакустического определения оксигенации крови на разных глубинах с учетом погрешности определения оптических параметров среды, отношения сигнал/шум измеряемого акустического давления и толщины сосуда, в котором проводятся измерения оксигенации крови. Показано, что погрешность определения степени насыщения крови кислородом растет с глубиной, что вызвано уменьшением отношения сигнал-шум и увеличением разницы в освещённых. Ограничения предложенной методики связаны с рассмотренной в работе моделью, предполагающей оптоакустическое зондирование плоскостлой среды с изолированным кровенаполненным слоем. Если в области оптоакустического зондирования будут находиться дополнительные хромофоры, также дающие вклад в принимаемый

акустический сигнал, то описанная в работе методика контроля погрешности измерения оксигенации крови потребует соответствующей корректировки.

При известном спектре освещённости оптимальные длины волн, позволяющие определять степень насыщения крови кислородом на глубинах до 4 мм, равны 578 нм и 596 нм, поскольку на указанных длинах волн коэффициенты поглощения крови большие, что обеспечивает большое отношение сигнал-шум принимаемого акустического сигнала. При этом на полученных оптимальных длинах волн достигается наибольшая разница в показателях поглощения окси- и дезоксигемоглобина (Рис. 3.1). Полученная пара длин волн при известном распределении освещенности в среде согласуется с результатами других авторов [109]. Однако, предложенная в работе [109] модель не учитывает влияние размеров кровеносных сосудов на распределение освещенности.

Из-за затухания в кровеносном сосуде в освещенностях на длинах волн 578 и 596 нм накапливается большая разница. Это приводит к недопустимо большим погрешностям в определении оксигенации крови даже в мельчайших капиллярах диаметром 30 мкм. Полученные результаты говорят о нецелесообразности использования длин волн менее 600 нм для измерений даже на небольших глубинах.

Пара длин волн  $658 \pm 40$  нм и 900 – 1069 нм обеспечивает приемлемый оптический контраст в поглощении. К примеру, на оптимальной длине волны 658 нм коэффициент поглощения дезоксигемоглобина больше, чем оксигемоглобина, а на длине волны 1069 нм наоборот. Это позволяет различать окси-/дезоксигемоглобин. При этом на указанных длинах волн разница в освещенностях мала, и, следовательно, вклад в погрешность слагаемого, связанного с погрешностью определения показателей рассеяния и поглощения биоткани, минимален.

Точность определения оксигенации крови возможно увеличить, повысив отношение сигнал-шум. Увеличение  $SNR_a$  от 30 до 70 дБ увеличивает предельную

глубину точного измерения оксигенации крови на 1 мм, при этом значения оптимальных длин волн не меняются.

Точность определения оксигенации крови также может быть повышена на счет уменьшения погрешности определения отношения освещенностей. Для этого необходимо уметь точно рассчитывать показатели рассеяния и поглощения среды для различных длин волн и геометрий лазерной засветки. Для сложной геометрии засветки, к примеру, кольцевой, целесообразно использовать метод Монте-Карло моделирования, поскольку приближение равномерной засветки в виде падающей плоской волны, которое было учтено в данной работе, не подходит. Тем не менее, как известно из литературы, показатели поглощения и рассеяния биотканей имеет очень большой разброс. Уменьшить погрешность в определении этих показателей можно только с использованием дополнительных измерений.

Для независимых измерений освещенности в биоткани некоторые авторы [145, 146] предлагают совмещать ОА-спектроскопию с оптической диффузионной томографией (ОДТ), позволяющей оценивать показатели поглощения и рассеяния, которые определяют оптическое поле внутри среды. Однако, такой подход требует дополнительных измерений, что усложняет конструкцию прибора и увеличивает геометрические размеры сканирующей части. Решение было представлено в работе [147], где обратно рассеянный биотканью свет регистрируется акустической антенной, используемой для приема ультразвуковых импульсов. Тем не менее, чтобы воспользоваться полученной информацией для расчёта оптического поля, необходимо решать задачу трехмерной реконструкции ОДТ.

Измерения на нескольких (более двух) длинах волн также могут повысить точность определения оксигенации. Кроме того, эти измерения позволяют учесть вклад в формирование оптоакустического сигнала других хромофоров ткани, находящихся в

исследуемой области среды, однако данный вопрос является предметом дальнейших исследований.



## **ГЛАВА 4. Экспериментальное исследование определения оксигенации крови спектральным оптико-акустическим методом**

### **4.1. Введение**

В данной главе проведено сравнение традиционных (основанных на амплитудах ОА сигналов) и бескалибровочных (на основе измерения  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$ ) методов определения степени насыщения крови кислородом при осуществлении как *in vitro*, так и *in vivo* ОА измерений.

Амплитудный метод определения оксигенации крови описан в Разделе 3.2. Поскольку ОА давление пропорционально  $\mu_a(\lambda)$  и оптической освещенности в данной точке (1.3), которая зависит от длины волны лазерной засветки, восстановление величины  $\mu_a(\lambda)$  требует учета оптической освещенности в биоткани [79]. Так как величина  $\mu_a(\lambda)$  восстанавливается из ОА изображения по формуле 3.1, алгоритмы акустической и оптической реконструкции, а также точная калибровка всей измерительной системы, применяются до проведения оценок степени насыщения крови кислородом.

Бескалибровочный метод оценки оксигенации крови основан на принципиальной возможности ОА метода определять эффективный коэффициент затухания  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  в данном кровеносном сосуде, основываясь на временных [100, 148] или спектральных [86] характеристиках ОА сигналов от данного сосуда. Предполагая, что биологическая ткань однородна и освещается плоской волной, оптическая освещенность может быть аппроксимирована экспоненциальной моделью затухания (3.8) [142]. В отличие от амплитудного метода оценки оксигенации данный подход не требует оценки оптической освещенности, поскольку  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  может быть восстановлено по форме акустического сигнала. Учитывая экспоненциальную зависимость освещенности от глубины, регистрируемый ОА сигнал в сосуде имеет аналогичную зависимость:

$$p_0(z, \lambda) = \Gamma \mu_a(\lambda) \Phi_0 \cdot k(\lambda) \cdot \exp(-\mu_{eff}(\lambda) \cdot z), \quad (4.1)$$

В данной работе ОА сигналы на каждой длине волны были аппроксимированы экспоненциальной зависимостью для получения  $\mu_{eff}(\lambda)$ . Зависимость  $\mu_a(\lambda)$  может быть количественно оценена из следующей оптической модели:

$$\mu_{eff}(\lambda) = \sqrt{3 \cdot \mu_a(\lambda) \cdot (\mu_a(\lambda) + \mu_s'(\lambda))} \quad (4.2)$$

Поскольку спектральная зависимость  $\mu_s'(\lambda)$  слабо зависит от оксигенации [116],  $\mu_a(\lambda)$  может быть восстановлено из  $\mu_{eff}(\lambda)$ .

Для корректного сравнения двух разных подходов они должны быть проведены в одинаковых условиях. Тем не менее, из-за больших различий в объектах исследования (цельная кровь и живой объект), *in vitro* и *in vivo* эксперименты проводились в различных конфигурациях, используя, соответственно, различные ОА системы. Для *in vitro* измерений применяли одноэлементный ультраширокополосный (0,1-50 МГц) ультразвуковой детектор на основе поливинилидендифторида (ПВДФ), расположенный на дне кюветы с кровью, при этом лазерная засветка осуществлялась сверху. Для *in vivo* измерений была использована ОА томографическая система, описанная в [149], в которой в качестве ультразвуковой антенны используется L25-1 линейка из 64 цилиндрически-сфокусированных детекторов, а лазерная засветка осуществляется со стороны детекторов.

Другой важной целью данной главы являлась экспериментальное подтверждение результатов об оптимальных длинах волн лазерной засветки для определения оксигенации крови, полученных в Главе 3. Для *in vivo* оценок оксигенации крови были вычислены карты степени насыщения крови кислородом по формуле 3.4 на разных парах длин волн, в том числе и на оптимальных, найденных ранее [79] и описанных в Главе 3.

## 4.2 Описание фантомного и *in vitro* эксперимента

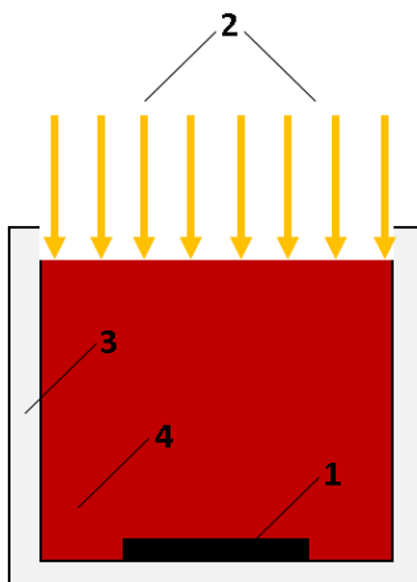
До проведения *in vitro* экспериментов с кровью, были проведены ОА измерения  $\mu_{\text{eff}}$  в фантоме с целью демонстрации возможности определения  $\mu_{\text{eff}}$  по ОА данным. Фантом состоял из 0.36 объемных % черной туши и 9.06 объемных % интралипида (липофундина) 20%, что имитирует оптические свойства биологической ткани. Для определения систематической погрешности измерений было проведено три независимых измерения на одном и том же образце.

*In vitro* измерения были проведены на образце с венозной цельной кровью с  $Hct = 51\%$ ,  $StO_2 = 1$ . Шесть миллилитров венозной крови было взято у здорового добровольца из группы исследователей. После чего образец был оставлен на открытом воздухе для достижения необходимой оксигенации, контролируемой кислородным микродатчиком на основе электрода Кларка ОХ-N (Unisense, Дания) и пикоамперметра А2-4 (МНИПИ, Беларусь) для измерений степени насыщения крови кислородом. Чтобы избежать коагуляции, к образцу было добавлено 10,8 мг  $K_3EDTA$ . Были проведены три эксперимента для различной толщины образца крови: 2,76, 3,28 и 4,96 мм.

Кроме того, были проведены независимые спектрофотометрические измерения как фантома, так и образца крови на спектрофотометре Specord 250 PLUS (Analytik Jena, Germany), оснащенным интегрирующей сферой, а значения  $\mu_s(\lambda)$  и  $\mu_a(\lambda)$  были восстановлены с использованием инверсного метода Монте-Карло [150] для сравнения с результатами ОА измерений. Также ОА результаты были сравнены с литературными данными [121] для  $Hct = 45\%$ , которые были пересчитаны для  $Hct = 51\%$  в соответствии с зависимостями, представленными в [116].

Схема геометрии измерительной ОА системы в конфигурации на просвет, использованной для фантомных и *in vitro* экспериментов, представлена на Рис. 4.1 и эквивалентна системе, описанной в [100]. Образец освещался сверху лазерными импульсами с длительностью импульса 16 нс, обеспечиваемой твердотельным лазером

LT-2214-PC (LOTIS ТП, Белоруссия) с частотой повторения импульсов 10 Гц. Для определения энергии каждого отдельного лазерного импульса на поверхности образца использовался специально изготовленный сплиттер 10:90 с калиброванным пьезоэлектрическим датчиком ES111С (Thorlabs, США). Фантомные и *in vitro* измерения были проведены на 21 длине волны в диапазоне 532-1100 нм (532, 560, 565, 570, 575, 578, 584, 590, 596, 630, 640, 650, 658, 700, 760, 805, 850, 885, 900, 1064, 1069). Для измерения  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  использовался сверхширокополосный (0,1-50 МГц) ультразвуковой детектор на основе поливинилидендифторида (ПВДФ).

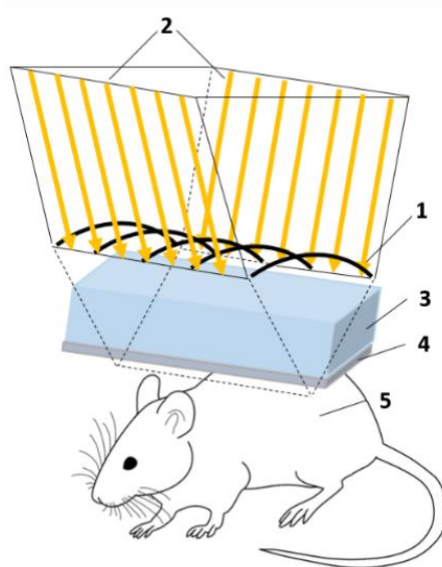


**Рисунок 4.1.** Схема конфигурации ОА системы для фантомных и *in vitro* экспериментов: 1–ультразвуковой ПВДФ детектор; 2–оптическая засветка в виде плоской волны; 3–кювета; 4–образец

### 4.3 Описание *in vivo* эксперимента

ОА *in vivo* измерения проводились на сосудистой сетке крысы. Перед исследованием 4-дневную крысу анестезировали интраперитонеальной инъекцией 50 мг/кг Золетила 100 и зафиксировали в положении лежа на животе.

В ходе *in vivo* измерений были получены двумерные ОА томографические наборы данных (В-сканы) сосудистой сети крысы назад *in vivo* на 9 длинах волн в диапазоне 658-1100 нм (658, 700, 760, 805, 850, 885, 900, 950, 1069). Конфигурация ОА измерительной системы, используемой для *in vivo* экспериментов, показана на Рис. 4.2.



**Рисунок 4.2.** Схема конфигурации ОА системы для *in vivo* экспериментов: 1— широкополосная многоэлементная антенна L 25-1; 2—оптические волокна, обеспечивающие доставку оптического излучения в среду; 3—кювета с водой; 4— ультразвуковой гель; 5—исследуемый объект

Лазерные импульсы с длительностью 16 нс обеспечивались твердотельным лазером LT-2214-PC (LOTIS ТП, Белоруссия) с частотой повторения импульсов 10 Гц. Лазерное излучение было подключено к пучку волокон (Ceram Optec, Германия) с шестнадцатью выходными плечами. Каждое волокно было 2,5 мм в диаметре с числовой апертурой 0,17 в воде. Одно выходное волокно было направлено на калиброванный пирозлектрический датчик ES111C (Thorlabs, USA) для оценки энергии каждого отдельного лазерного импульса. Энергии лазерных импульсов, зарегистрированные пирозлектрическим датчиком, на разных длинах волн зондирования приведены в Таблице 4.1 для сравнения.

**Таблица 4.1.** Энергии лазерного импульса на разных длинах волн зондирования.

$\lambda$ , нм	658	700	760	805	850	885	900	950	1069
E, мкДж	450	300	297	207	128	97	126	86	50

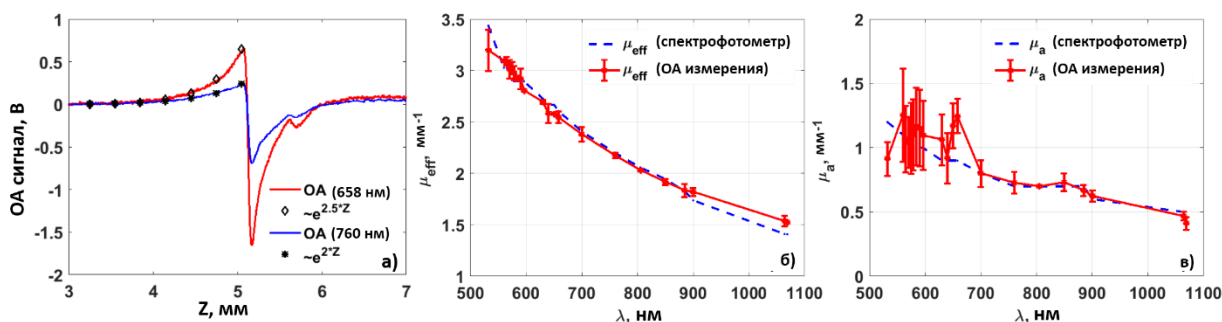
Четырнадцать выходных волокон (Ceram Optec, Германия) были размещены на каждой из двух сторон блока ультразвуковой антенны и были направлены на центр фокуса антенны (Рис. 4.2). Шестнадцать каналов АЦП на основе четырех 14-разрядных адаптеров NI5761 (National Instruments, США) были мультиплексированы с 64 антенными элементами с использованием 16 коммутаторов ADG711 (Analog Devices). Частота дискретизации А-сканов составляла 125 MS/s. Ультразвуковые сигналы регистрировались на самодельной ультра широкополосной ультразвуковой антенне L25-1, в деталях описанной в работе [149] и состоящей из 64 элементов, с 0,3 мм шагом между элементами и 25 мм фокусом.

К каждому томографическому В-скану был применен метод реконструкции [78], описанный в Главе 2 и учитывающий как пространственный отклик акустической антенны, так и пространственное распределение оптической освещенности. Для учета освещенности была использована предложенная в Главе 2 методика нормировки ОА-сигнала в каждой точке изображения на оптическую освещенность в этой точке (2.2). При этом освещенность была рассчитана для типичных оптических свойств биоткани в диффузном режиме [79].

#### **4.4 Результаты фантомного эксперимента**

На рисунке 4.3а представлены типичные ОА А-сканы, измеренные в фантоме. В фантомном эксперименте были произведены измерения как  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$ , так и  $\mu_a(\lambda)$ . ОА

сигналы давления на каждой оптической длине волны (Рис. 4.3а) были аппроксимированы экспоненциальной зависимостью (Рис. 4.3а черные штриховые линии). Полученные на основе бескалибровочной ОА оценки  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$ , усредненные по трем эквивалентным ОА измерениям (Рис. 4.3б красная линия) в фантоме, хорошо согласуются со спектрофотометрическими измерениями (Рис. 4.3б синяя линия), выполненными устройством Specord 250 PLUS, оборудованного интегрирующей сферой.



**Рисунок 4.3.** ОА сигналы в фантоме на двух оптических длинах волн 658 и 760 нм с наложением экспоненциальной аппроксимации (а); сравнение усредненных результатов ОА измерений  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  (б) and  $\mu_a(\lambda)$  (в) с данными спектрофотометрических измерений в фантоме

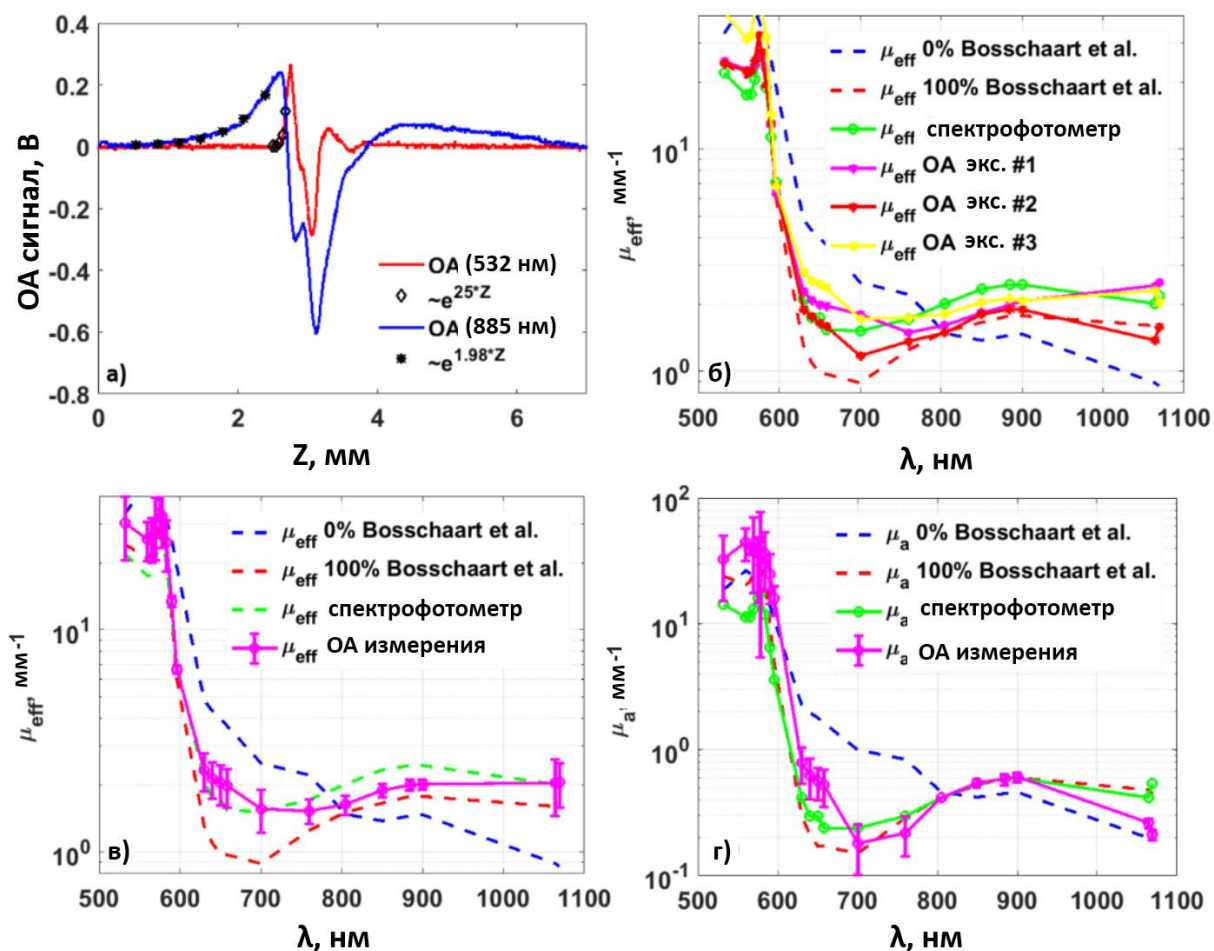
Из уравнения 3.1 был посчитан  $\mu_a$ , где амплитуды ОА сигналов на поверхности фантома (максимумы ОА сигналов (Рис. 4.3а)) были нормированы на коэффициент лазерной энергии и коэффициент обратного рассеяния (уравнения 4.2 и 4.3). Этот коэффициент был рассчитан по формуле 3.10, используя оптические свойства, восстановленные из спектрофотометрических измерений на разных длинах волн в диапазоне 532-1100 нм. На Рис. 4.3в показано хорошее согласие значений  $\mu_a$ , усредненных для трех независимых ОА измерений (Рис. 4.3в красная линия) со значениями, восстановленными из спектрофотометрических измерений (Рис. 4.3в синяя линия), за исключением области 500-650 нм, где ОА амплитуды сигнала значительно варьируются от одного эксперимента к другому.

## 4.5 Результаты *in vitro* эксперимента

На Рис. 4.4а представлены типичные ОА А-сканы, измеренные на двух разных длинах волн в цельной крови здорового добровольца ( $Hct = 51\%$ ,  $StO_2 = 1$ ). На Рис. 4.4б можно увидеть результаты оценки  $\mu_{eff}$  крови для трех экспериментов для различной толщины образца крови (2,76 мм, 3,28 мм и 4,96 мм) (Рис. 4б пурпурная, красная и желтая линии соответственно). На Рис. 4.4б показано, что спектр  $\mu_{eff}$  слабо изменяется от одного эксперимента к другому; в связи с этим результирующий  $\mu_{eff}$ , усредненный по восстановленным значениям для трех ОА измерений, представлен на Рис. 4.4с (пурпурная линия). Это допустимая операция, поскольку все толщины образца крови намного больше характерного масштаба затухания ОА сигнала.

Бескалибровочные ОА измерения  $\mu_{eff}(\lambda)$  хорошо согласуются с  $\mu_{eff}(\lambda)$ , восстановленными из спектрофотометрических измерений для образца разбавленной крови (Рис. 4.4б зеленая линия), однако было обнаружено несоответствие измеренных  $\mu_{eff}(\lambda)$  с литературными данными для  $StO_2 = 1$  [151] (Рис. 4.4в красная пунктирная линия). Так как в работе [151] спектр крови представлен для  $Hct = 45\%$ , для сравнения данные литературы были пересчитаны для  $Hct = 51\%$  согласно зависимости оптических параметров крови от гематокрита, представленной в работе [116]. Кроме того, пересчитанный спектр дезоксигенированной крови ( $StO_2 = 0$ ) также показан на Рис. 4в (синяя пунктирная линия). Видно, что в диапазоне 500-600 нм доверительный интервал для восстановленных значений  $\mu_{eff}$  для трех экспериментов перекрывается с литературными данными для  $\mu_{eff}$  как для  $StO_2 = 1$ , так и для  $StO_2 = 0$ . В этой связи этот диапазон не может быть использован для точных оценок оксигенации крови. Измерения в диапазоне 630-750 нм имеют высокий потенциал в определении  $StO_2$ .





**Рисунок 4.4.** OA сигналы, полученные в образце из цельной крови на длинах волн 532 and 885 нм с наложенными экспоненциальными зависимостями для определения  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  по OA сигналу (а); сравнение результатов трех независимых OA измерений  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  (б), усредненных результатов  $\mu_{\text{eff}}(\lambda)$  (в) и усредненных результатов  $\mu_a(\lambda)$  (г) для образца из цельной крови с данными спектрофотометрических измерений и с литературными данными [151]

Значение  $\mu_a$  крови, которое используется для расчета оксигенации амплитудным методом, было рассчитано по формуле 3.1, используя максимальное значение OA сигнала (Рис. 4.4а). Поскольку в конфигурации на просвет максимум сигнала соответствует поверхности объекта, вычисление  $\mu_a$  крови по формуле 3.1 не требует нормировки на

освещенность, зависящей от глубины, и требуется только нормализация на энергию лазерного импульса и коэффициент обратного рассеяния  $k$  (уравнение 4.2 и 4.3) для каждой длины волны:

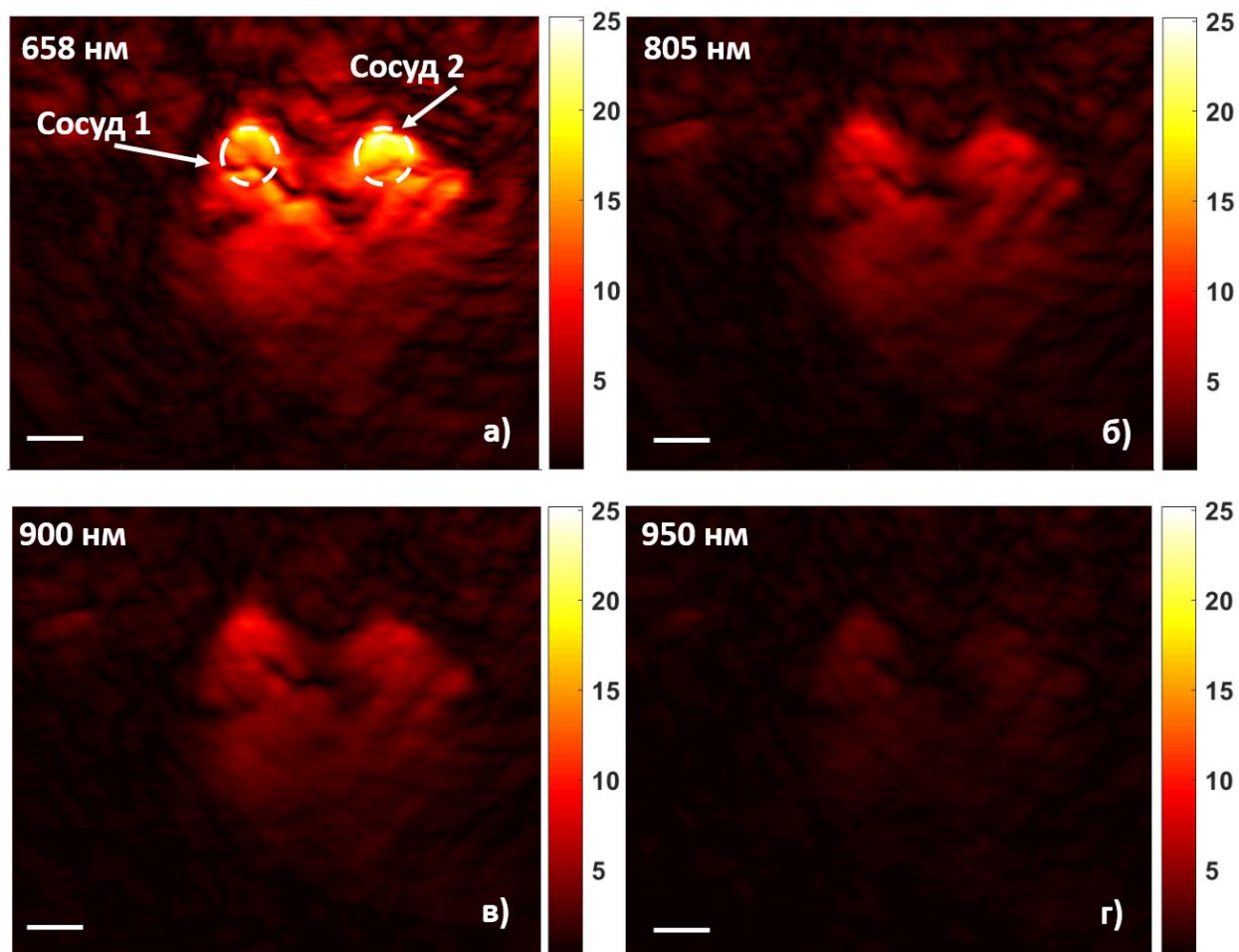
$$\mu_a^{blood}(\lambda) = \frac{p_0(z=0,\lambda)}{\Gamma k \Phi(z=0,\lambda)}. \quad (4.3)$$

Коэффициент обратного рассеяния  $k$  был вычислен по формуле 3.10 с оптическими параметрами взятыми из работы [79] на различных длинах волн из диапазона 532-1100 нм. На Рис. 4.4г представлены результаты оценки  $\mu_a$  крови, усредненные по трем ОА измерениям для различных толщин образца крови (Рис. 4.4г пурпурная линия). Полученные результаты демонстрируют хорошую согласованность как со спектром  $\mu_a$ , взятым из литературных данных [151] для  $StO_2 = 1$  (Рис. 4.4г красная пунктирная линия), так и с данными спектроскопических измерений (Рис. 4.4г зеленая линия). Спектр  $\mu_a$  для деоксигенированной крови ( $StO_2 = 0$ ) показан для сравнения (Рис. 4.4г синяя пунктирная линия). Наилучшее совпадение теоретического спектра  $\mu_a$  с экспериментальным наблюдается в диапазоне длин волн 650-900 нм. Однако, как и при оценке  $\mu_{eff}$ , в диапазоне длин волн 500-600 нм восстановленные значения  $\mu_a$  перекрываются как с  $\mu_a$  дезоксигенированной, так и оксигенированной крови, поэтому данный диапазон не может быть использован для точных оценок оксигенации крови.

#### 4.6 Результаты *in vivo* эксперимента

На Рис. 4.5 представлены ОА томографические В-сканы сосудов грудного отдела позвоночника крысы, восстановленные по методу SAFT+ DCM [78], изложенному в Главе 2, с интерполяцией на разных зондирующих длинах волн. На изображениях можно выделить два специфических кровеносных сосуда, и, судя по анатомической информации, они представляют собой две вены грудного отдела позвоночника (сосуд 1 и сосуд 2 на Рис. 4.5а). Низкое отношение сигнал-шум на длинах волн более 950 нм (Рис. 4.5г)

объясняется малой энергией лазерного зондирующего импульса на этих длинах волн (Таблица 4.1).



**Рисунок 4.5.** OA томографические В-сканы, восстановленные методом SAFT+ DCM на разных длинах волн: а) 658 нм; б) 805 нм; в) 900 нм; г) 950 нм. Белая пунктирная линия показывает область кровеносных сосудов. Все бары равны 1 мм

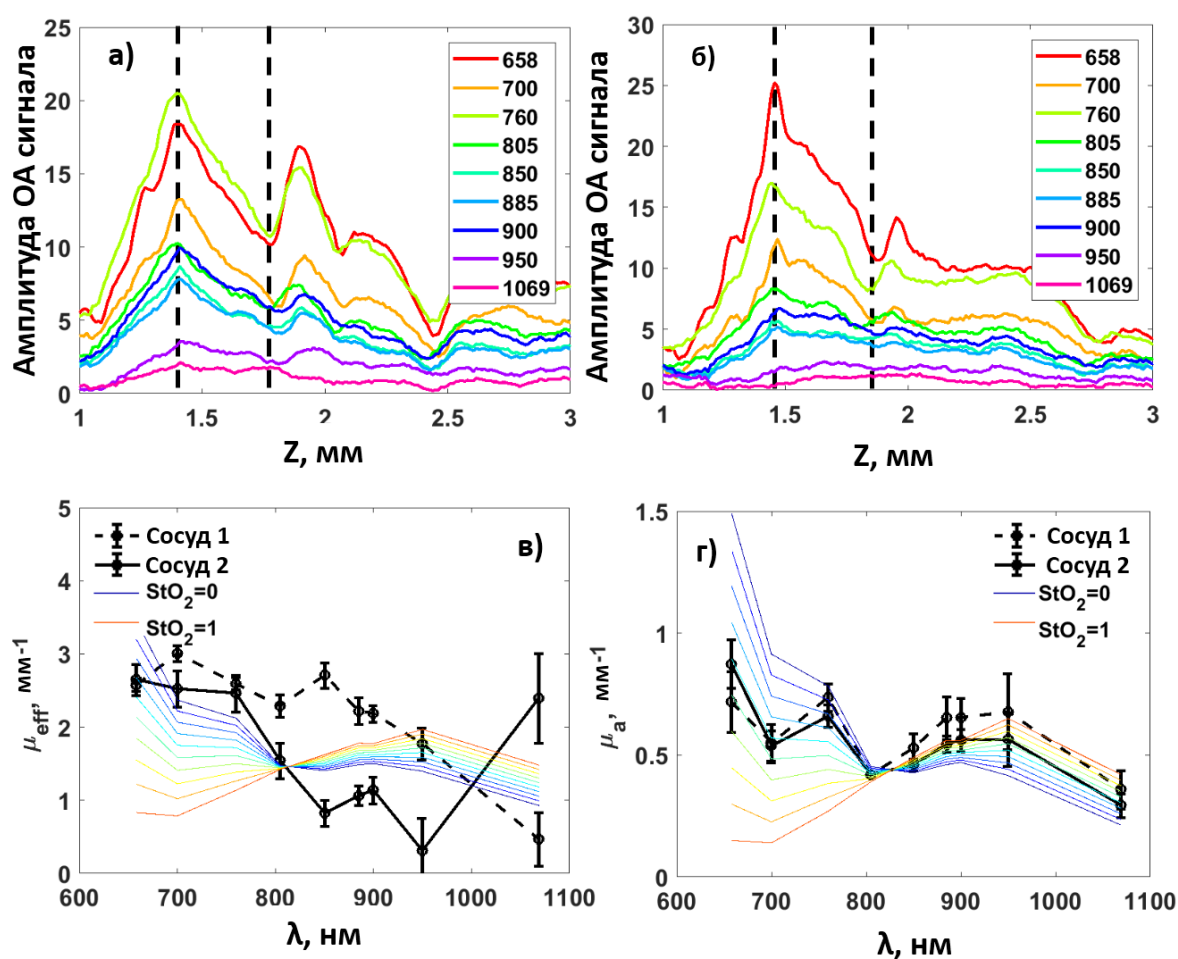
Из А-сканов в центральных поперечных сечениях кровеносных сосудов 1 (Рис. 4.6а) и 2 (Рис. 4.6б) был получен эффективный коэффициент оптического затухания  $\mu_{\text{eff}}$  в выбранной области (между черными пунктирными линиями) как показатель экспоненты на каждой из 9 длин волн (Рис. 4.6в, черные линии). Для сравнения зависимости  $\mu_{\text{eff}}$

вычисленные по литературным данным [151] для различных значений оксигенации крови в диапазоне от 0 до 1 с шагом 0.1 изображены на Рис. 4.6в. Доверительные интервалы для  $\mu_{\text{eff}}$  при экспоненциальной аппроксимации спада ОА сигналов показаны на Рис. 4.6в. Из рисунка 4.6 можно видеть, что вид реконструированных зависимостей не согласуется с литературными данными практически во всем диапазоне длин волн. Наибольшее несоответствие имеет место на длинах волн в диапазоне 950-1100 нм, где отношение сигнал-шум очень мало из-за низкой энергии лазерного импульса (Таблица 4.1). Совпадение значений  $\mu_{\text{eff}}$  для обоих сосудов - 0.44 и 0.41 для сосуда 1 и 2 соответственно, и их соответствие физиологическим данным оксигенации венозной крови для крыс, наблюдается на длине волны 658 нм, когда энергия лазерного импульса максимальна (Таблица 4.1).

Применение метода, основанного на амплитудах ОА сигнала, требует учета зависимости освещенности от глубины и длины волны. Поэтому ОА амплитуды в каждом из кровеносных сосудов были нормированы на освещенность на данной глубине и на энергию лазерного импульса на данной длине волны (Таблица 4.1). Оптическая освещенность была вычислена по формуле 3.8 с коэффициентом затухания освещенности  $\alpha$ , взятым из статьи [79] для равномерно рассеивающей и поглощающей среды.

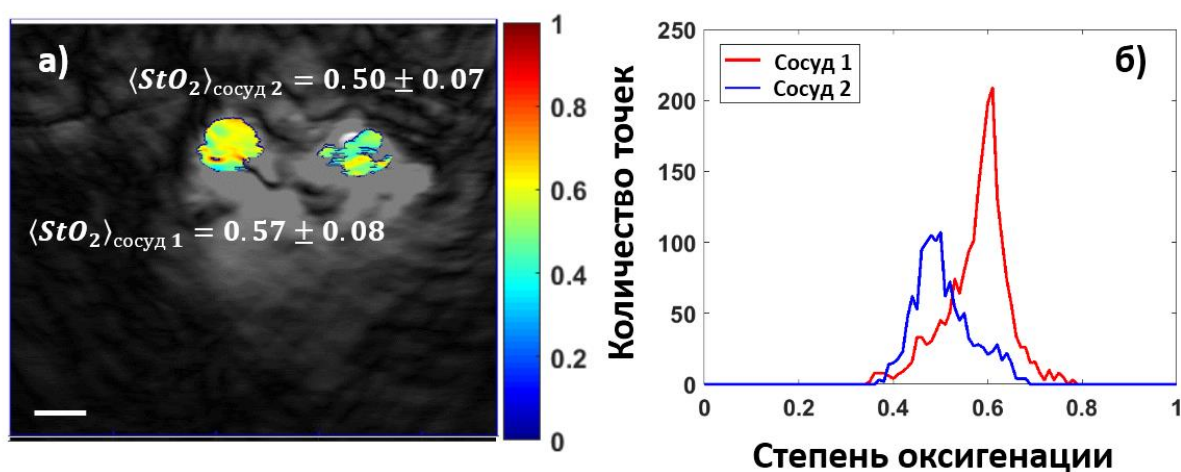
Для восстановленных ОА изображений (Рис. 4.5) была построена маска, включающая в себя пиксели, в которых отношение сигнал-шум превышает 10, чтобы исключить из расчёта оксигенации области с низким отношением сигнал/шум. Данная маска рассчитывалась для каждого ОА изображения, полученного на определенной длине волны. Далее, из этой маски были выбраны области, соответствующие кровеносным сосудам 1 и 2 на Рис. 4.5а. Чтобы оценить степень насыщения крови кислородом в каждом сосуде, были вычислены спектры  $\mu_a$ , полученные из ОА амплитуд в каждой точке маски по формуле 3.1. Для сравнения полученных результатов были вычислены спектры  $\mu_a$  по литературным данным для различных значений оксигенации от 0 до 1 с шагом 0.1,

аналогичным спектрам  $\mu_{\text{eff}}$  для бескалибровочного подхода (Рис. 4.6г, цветные линии). Рассчитанные спектры  $\mu_a$ , усредненные по маске (пунктирная линия для сосуда 1 и сплошная линия для сосуда 2), показаны на Рис. 4.6г с доверительными интервалами, соответствующими дисперсии величины оксигенации крови по маске сосуда. Видно, что вид зависимостей соответствует виду зависимости, полученной по литературным данным, во всем диапазоне длин волн.



**Рисунок 4.6.** OA A-сканы в центральном поперечном сечении сосуда 1 (а) и сосуда 2 (б) в крысе, полученные на разных длинах волн; сравнение спектров  $\mu_{\text{eff}}$  (в) и  $\mu_a$  (г) для различных значений оксигенации (от 0 до 1 с шагом 0.1) взятых из литературных данных [27] со спектром  $\mu_{\text{eff}}$  (в), полученным из экспоненциальной аппроксимации спада OA сигнала, и спектром  $\mu_a$  (г), полученным из амплитуд OA сигналов по формуле 3.1 и усредненным по области кровеносных сосудов (Рис. 4.5а белая пунктирная линия)

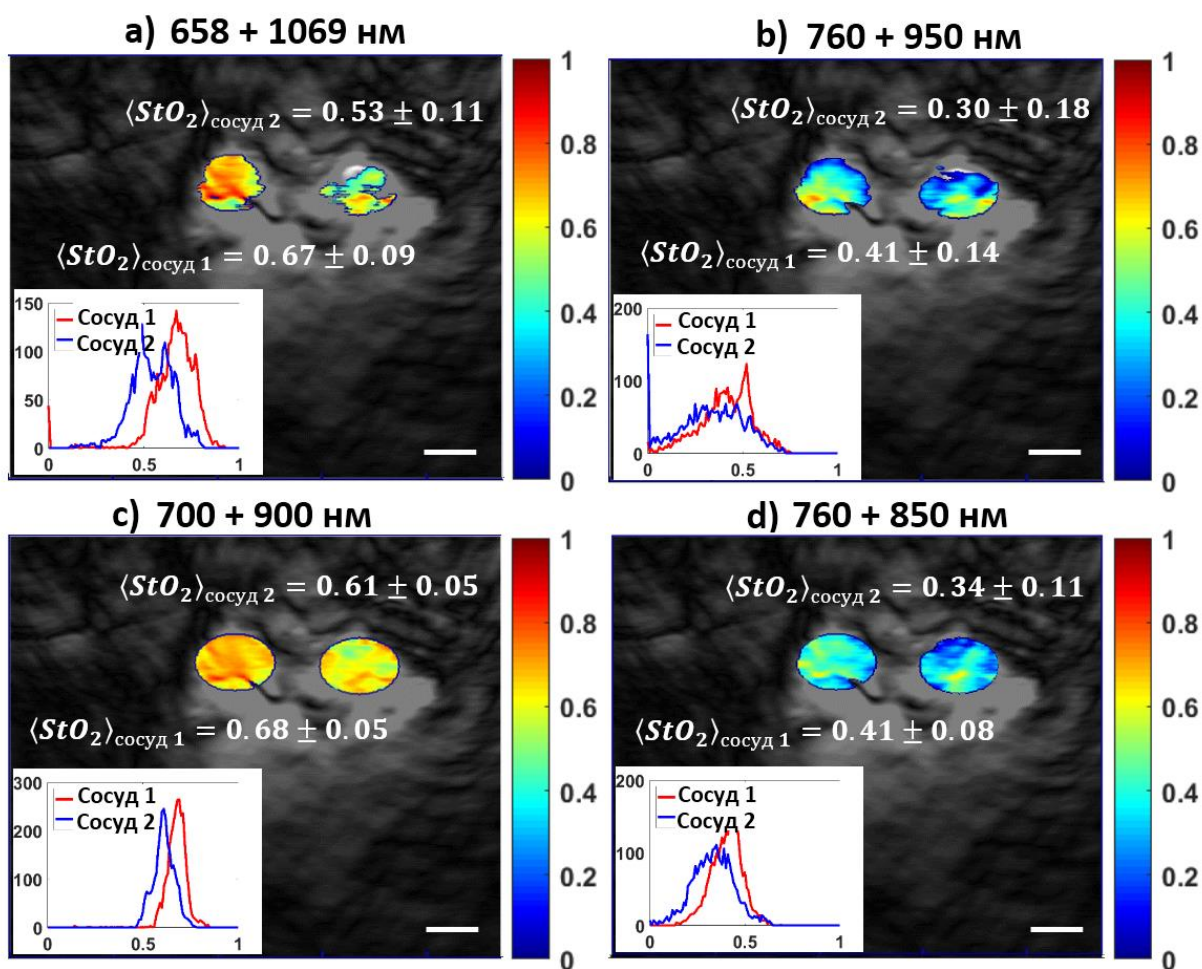
Значение степени насыщения крови кислородом было определено в каждой точке кровеносных сосудов путем сравнения экспериментального спектра со спектром, вычисленным на основе литературных данных для значений оксигенации от 0 до 1 с шагом 0.01. Полученная карта степени насыщения крови кислородом показана на Рис. 4.7а. Значения оксигенации крови, усредненные по площади кровеносного сосуда, составляют 0.57 и 0.50 в сосуде 1 и сосуде 2, соответственно. Стандартное отклонение между значениями оксигенации внутри каждого из сосудов составляет соответственно 0.08 и 0.07 в сосуде 1 и сосуде 2. Полученные результаты хорошо согласуются с физиологическими значениями оксигенации венозной крови у крыс [152], что равняется  $0.57 \pm 0.02$ .



**Рисунок 4.7.** *In vivo* определение степени насыщения крови кислородом: а) карта степени насыщения крови кислородом полученная путем сравнения измеренного спектра  $\mu_a$  с литературным спектром  $\mu_a$  для различных значений оксигенации крови; б) гистограмма полученных значений оксигенации в сосуде 1 (красная линия) и сосуде 2 (синяя линия)

#### 4.7 Анализ результатов определения оксигенации крови амплитудным оптико-акустическим методом в *in vivo* эксперименте

Поскольку для *in vivo* исследований время сбора данных критичным является, актуальной задачей является использование минимального количества длин волн для определения оксигенации крови. В связи с этим значение степени насыщения крови кислородом было посчитано по формуле 3.4, используя все доступные пары длин волн из набора зондирующих длин волн (Таблица 4.1). Следует отметить, что значения оксигенации были рассчитаны только в тех точках, где отношение сигнал-шум превышает 10 на обеих длинах волн в выбранной паре; далее средние значения насыщения были рассчитаны для каждого сосуда на каждой паре длин волн. Полученные карты степени насыщения крови кислородом, наложенные на серые ОА В-сканы, изображены на Рис. 4.8.



**Рисунок 4.8.** *In vivo* карты степени насыщения крови кислородом в сосудах грудного отдела позвоночника, посчитанные по формуле 8 на парах длина волн а) 658 и 1069 нм; б) 760 и 950 нм; в) 700 и 900 нм; г) 760 и 850 нм. Вложения на каждом рисунке показывают соответствующие гистограммы значений оксигенации в сосуде 1 (красная линия) и сосуде 2 (синяя линия)

Вычисленные значения оксигенации  $StO_2^{1,2}(\lambda_1, \lambda_2)$ , усредненные по области кровеносного сосуда, для сосуда 1,2 на каждой паре длин волн представлены в Таблице 4.2. Поскольку *in vivo* значения оксигенации в этих сосудах не могут быть независимо измерены другим методом, критерии адекватности полученных результатов включают физиологические значения, типичные для венозной крови крысы, составляющие  $0.57 \pm 0.02$  [152]. Другим критерием является согласование значения, полученного на паре длин волн, со значением, полученным из всего спектра (см. Рис. 4.7). В таблице 4.2 показано, что несколько пар длин волн [658 нм и 1069 нм, 700 нм и 1069 нм, 700 нм и 900 нм, 700 нм и 850 нм] обеспечивают значения, близкие к значениям, полученным из всего спектра.

**Таблица 4.2.** Значения степени насыщения крови кислородом, полученные на разных парах длин волн. Содержимое ячеек составлено как  $[StO_2^1(\lambda_1, \lambda_2); StO_2^2(\lambda_1, \lambda_2)]$ .

$\lambda_1 \backslash \lambda_2$	700	760	805	850	885	900	950	1069
658	[0.94 0.69]	[0.90 0.77]	[0.68 0.57]	[0.71 0.56]	[0.75 0.58]	[0.74 0.60]	[0.68 0.49]	[0.67 0.53]
700	–	[0.87]	[0.57]	[0.64]	[0.68]	[0.68]	[0.60]	[0.61]



			0.83]	0.58]	0.56]	0.59]	0.61]	0.49]	0.53]
<b>760</b>	-	-	[0.16	[0.41	[0.50	[0.49	[0.41	[0.44	
			0.28]	0.34]	0.40]	0.42]	0.30]	0.40]	
<b>805</b>	-	-	-	[0.92	[1.13	[1.14	[0.71	[0.70	
				0.46]	0.62]	0.70]	0.36]	0.47]	
<b>850</b>	-	-	-	-	[3.28	[8.45 -	[0.50	[0.53	
					1.90]	61.45]	0.29]	0.41]	
<b>885</b>	-	-	-	-	-	[1.26	[0.16	[0.35	
						1.39]	0.08]	0.31]	
<b>900</b>	-	-	-	-	-	-	[0.20	[0.36	
							0.01]	0.29]	
<b>950</b>	-	-	-	-	-	-	-	[-1.04	
								0.87]	

Однако значения оксигенации сильно изменяются внутри одного кровеносного сосуда для некоторых пар длин волн (см., например, Рис. 4.8б), тем самым обеспечивая большую дисперсию значений в пределах одного сосуда. Очевидно, что такое явление указывает на некорректность использования данной длины волны зондирования, а дисперсия значений, наблюдаемых при реконструкции по всему спектру (Рис. 4.7б), может служить еще одним критерием адекватности результатов. Вкладки на Рис. 4.8 демонстрируют гистограммы значений оксигенации в каждом сосуде на каждой паре длин волн. Можно видеть, что как пара [658 нм, 1069 нм], так и пара [700 нм, 900 нм] обеспечивают физиологические значения (Рис. 4.8 а, в) и близки друг к другу, однако стандартное отклонение для пары [700 нм, 900 нм] значительно меньше, что делает эту

пару более предпочтительной для измерений с заданными энергиями лазерных импульсов (Таблица 4.1). Для демонстрации потенциала использования каждой из пар длин волн, стандартные отклонения величин степени насыщения крови кислородом  $\sigma_1(\lambda_1, \lambda_2)$  и  $\sigma_2(\lambda_1, \lambda_2)$  внутри каждого сосуда для каждой пары длин волн представлены в Таблице 4.3, построенной аналогично Таблице 4.2.

**Таблица 4.3.** Стандартное отклонение значений степени насыщения крови кислородом в кровеносном сосуде. Содержимое ячеек составлено как  $[\sigma_1(\lambda_1, \lambda_2); \sigma_2(\lambda_1, \lambda_2)]$ .

$\lambda_1 \backslash \lambda_2$	700	760	805	850	885	900	950	1069
<b>658</b>	[1.09 23.62]	[0.04 0.07]	[0.08 0.08]	[0.06 0.07]	[0.06 0.06]	[0.06 0.06]	[0.07 0.13]	[0.09 0.11]
<b>700</b>	–	[0.07 0.10]	[0.11 0.11]	[0.05 0.08]	[0.05 0.07]	[0.05 0.05]	[0.09 0.13]	[0.09 0.12]
<b>760</b>	–	–	[0.15 0.10]	[0.08 0.11]	[0.09 0.12]	[0.09 0.12]	[0.14 0.18]	[0.13 0.15]
<b>805</b>	–	–	–	[0.42 0.28]	[0.44 0.31]	[0.42 0.38]	[0.38 0.42]	[0.29 0.36]
<b>850</b>	–	–	–	–	[2.13 1.57]	[75.26 3418]	[30.48 3418]	[30.48 3418]
<b>885</b>	–	–	–	–	–	[24.77 33.59]	[0.75 0.95]	[0.70 0.98]
<b>900</b>	–	–	–	–	–	–	[0.75	[0.70

								0.86]	0.90]
									[81.19
950	-	-	-	-	-	-	-		2.19]

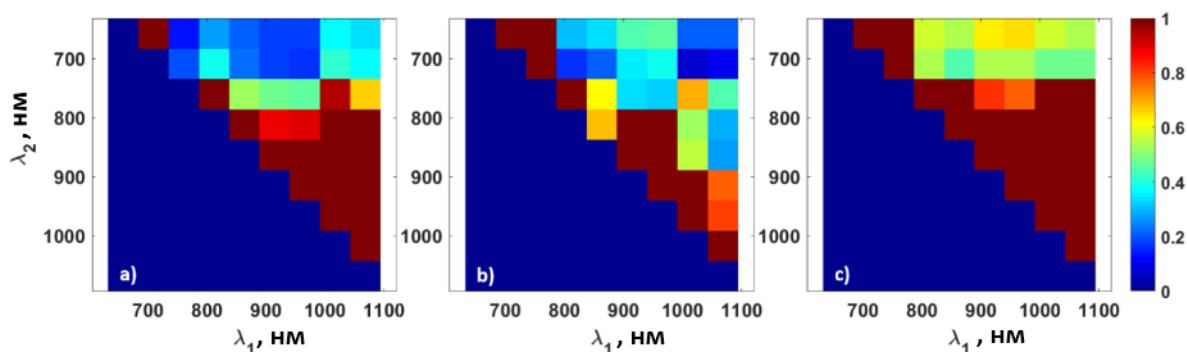
Чтобы охарактеризовать каждую пару длин волн и найти оптимальную, которая соответствует всем вышеперечисленным критериям, было предложено ввести число, рассчитанное как суммарный вклад двух критериев, отвечающих за отклонение значений оксигенации внутри каждого из сосудов и отвечающих за отличие значения оксигенации на паре длин волн от значения, полученного по всему спектру:

$$S = S_1 + S_2 = \left[ \frac{|\sigma_1(\lambda_1, \lambda_2)|}{StO_2^1(\lambda_1, \lambda_2)} + \frac{|\sigma_2(\lambda_1, \lambda_2)|}{StO_2^2(\lambda_1, \lambda_2)} \right] + \left[ \frac{|StO_2^1(\lambda_1, \lambda_2) - \overline{StO_2^1}|}{\overline{StO_2^1}} + \frac{|StO_2^2(\lambda_1, \lambda_2) - \overline{StO_2^2}|}{\overline{StO_2^2}} \right], \quad (4.4)$$

где  $\sigma_{1,2}(\lambda_1, \lambda_2)$  стандартные отклонения значений оксигенации крови,  $\overline{StO_2^{1,2}}$  усредненные по кровеносному сосуду значения оксигенации крови, полученные по полному спектру,  $StO_2^{1,2}(\lambda_1, \lambda_2)$  значения оксигенации крови в сосуде 1,2, соответственно, для выбранной пары длин волн.

На Рис. 4.9 показаны диаграммы распределения отдельных оценок  $S_1$  и  $S_2$  (Рис. 4.9а и 4.9б, соответственно), а также  $S$ , рассчитанной как сумма  $S_1$  и  $S_2$  (Рис. 4.9в). Диаграммы для обоих критериев показывают, что при выборе пары длин волн первую длину волны следует взять 658 нм или 700 нм, а вторую следует взять из диапазона 850 – 1069 нм. Суммарная оценка  $S$  подтверждает этот диапазон длин волн, указывающий, что наиболее оптимальные пары длин волн составляют 700 нм и длина волны из диапазона 850 – 1069 нм. Использование пары [700 нм, 900 нм] в *in vivo* эксперименте дает значения  $0.68 \pm 0.05$  и  $0.61 \pm 0.05$  для сосуда 1 и сосуда 2, соответственно. Эти результаты хорошо

согласуются с результатами расчета оптимальных длин волн, полученных в Главе 3, в которых было показано, что использование пары длин волн [700 нм, 900 нм] дает ошибку 5% в определении оксигенации крови в случае, когда оптические свойства известны приблизительно.



**Рисунок 4.9.** Диаграммы для различных пар длин волн значений  $S_1$ , отвечающие за отклонение значений оксигенации внутри каждого из сосудов (а); значений  $S_2$ , отвечающие за отличие значения оксигенации на паре длин волн от значения, полученного по всему спектру (б); и значений  $S$ , рассчитанных как сумма  $S_1$  и  $S_2$  (в)

#### 4.8. Выводы

В данном исследовании были сравнены два подхода к реконструкции степени насыщения крови кислородом из мультиспектральных ОА измерений, основанные на различиях в спектрах поглощения окси- и дезоксигемоглобина: метод бескалибровочной оценки эффективного коэффициента ослабления, полученного из затухания ОА-сигнала, и метод расчета коэффициента оптического поглощения по ОА амплитудам. Оба подхода были протестированы в фантомном, *in vitro* и *in vivo* экспериментах. Эксперимент с фантомом, имитирующим оптические свойства биоткани, показал хорошее согласие фантомных оптических свойств, восстановленных обоими подходами, со значениями, полученными из независимых спектрофотометрических измерений, подтверждающих

применимость обоих методов (Рис. 4.3). Тем не менее, в ходе *in vitro* эксперимента с образцом цельной человеческой крови метод, основанный на спаде ОА сигнала (Рис. 4.4в), продемонстрировал гораздо меньший потенциал по сравнению с амплитудным методом (Рис. 4.4г) из-за большой разницы между экспериментально полученными спектрами  $\mu_{\text{eff}}$  и литературными данными [151], хотя это расхождение может быть объяснено разницей в оптических свойствах образцов крови в сравниваемых экспериментах. Последнее предположение частично подтверждается совпадением спектра  $\mu_{\text{eff}}$ , полученного из ОА измерений, со спектрофотометрическими измерениями. Напротив, спектры  $\mu_a$ , полученные из ОА амплитуд, хорошо согласуются как со спектрофотометрическими измерениями, так и с литературными данными (Рис. 4.4г), что показывает, что использование восстановленных значений  $\mu_a$  для определения оксигенации крови является более предпочтительным по сравнению с значениями  $\mu_{\text{eff}}$ .

Как и результаты *in vitro*, при *in vivo* измерениях восстановленная зависимость  $\mu_{\text{eff}}$  значительно отличается от литературных данных во всем диапазоне длин волн (Рис. 4.6в). Более того, значения  $\mu_{\text{eff}}$  для двух одинаковых вен отличаются друг от друга, что противоречит физиологическим принципам. Это расхождение не может быть объяснено различием в оптическом коэффициенте рассеяния крови, взятом из литературных данных, поскольку наблюдаемые кровеносные сосуды являются одинаковыми венами. Наибольшее несоответствие имеет место на длинах волн в диапазоне 950-1100 нм, где отношение сигнал-шум очень мало из-за низкой энергии лазерного импульса (Таблица 4.1). Совпадение значений  $\mu_{\text{eff}}$  для обоих сосудов - 0.44 и 0.41 для сосуда 1 и 2 соответственно, и их соответствие физиологическим данным оксигенации венозной крови для крыс, наблюдается на длине волны 658 нм, когда энергия лазерного импульса максимальна (Таблица 4.1). Таким образом, можно сделать вывод о том, что для определения оксигенации крови по эффективному затуханию ОА сигнала в сосуде требуется высокое отношение сигнал/шум.

Кроме того, метод, основанный на спаде ОА сигнала, дает значение  $\mu_{\text{eff}}$ , усредненное по глубине затухания сигнала, в то время как метод, основанный на ОА амплитудах дает карту степени насыщения крови кислородом, обеспечивающее значение  $\mu_a$  в каждой точке по глубине, где регистрируются амплитуды ОА сигнала. Вышеупомянутые недостатки подхода, основанного на спаде ОА сигнала, делают амплитудный метод более предпочтительным для *in vivo* оценок насыщения крови, хотя последний и требует учета оптической освещенности.

Расчеты спектров  $\mu_a$  из ОА амплитуд сигналов по *in vivo* и *in vitro* экспериментам показали, что вид зависимости соответствует литературным данным. Наилучшее совпадение для *in vitro* измерений (Рис. 4.4г) наблюдается в диапазоне длин волн 650-900 нм, однако, как и при оценке  $\mu_{\text{eff}}$ , в диапазоне длин волн 500-600 нм восстановленные значения  $\mu_a$  перекрываются с литературными данными как для дезоксигенированной, так и для оксигенированной крови, поэтому этот диапазон длин волн не может использоваться для точных измерений степени насыщения крови кислородом.

Основываясь на *in vivo* амплитудах ОА сигналов, оксигенация крови кислородом может быть определена путем близости экспериментально измеренного спектра  $\mu_a$  с литературными данными спектра для конкретного значения оксигенации. Полученные значения степени насыщения крови кислородом составляют  $0.57 \pm 0.08$  и  $0.50 \pm 0.07$  для двух вен грудного отдела позвоночника, наблюдаемых в полученном ОА В-скане (Рис. 4.7а). Значения оксигенации для двух вен близки друг к другу и находятся в хорошем согласии с физиологическими значениями для оксигенации венозной крови у крыс [152], которая равна  $0.57 \pm 0.02$ . Полученные результаты так же лежат в интервале физиологических значений оксигенации венозной крови [153, 154].

Из Рис. 4.6г видно, что измеренный спектр  $\mu_a$  для сосуда 1 отличается от всех кривых, полученных из литературных данных, тем не менее разница между

восстановленными спектрами  $\mu_a$  в двух сосудах лежит в пределах погрешности измеренного значения. Скорее всего, вариации ОА сигнала для конкретных длин волн связаны с недостаточно точной нормировкой на энергию лазерного импульса, возникающей из-за изменения формы лазерного луча на выходе ОПО-лазера в результате перестройки длины волны. Изменение формы импульса может влиять на распределение интенсивности на входе как контрольного волокна, по которому измеряется энергия импульса для нормировки на энергию, так и пучка волокон, которые доставляют излучение исследуемому объекту. Устранение этого недостатка (использование лазеров с более стабильной формой выходного импульса, использование оптического гомогенизатора и так далее), скорее всего, повысит точность полученного значения оксигенации крови. Другая возможная причина неточности заключается в дыхании лабораторного животного, что также может привести к изменению степени насыщения крови кислородом в вене при измерении одного спектра  $\mu_a$ .

Чтобы повысить экономическую эффективность предлагаемого метода, для измерения ОА можно использовать пару зондирующих длин волн вместо мультиспектральных измерений, обеспечивающих весь спектр  $\mu_a$ . Было продемонстрировано, что оптимальные пары длин волн составляют 700 нм и длина волны от диапазона 850 – 1069 нм. К сожалению, используемый в работе лазерный источник обеспечивает низкую энергию зондирующего импульса на длине волны 1069 нм, поэтому более короткие длины волн являются предпочтительными для измерений. Использование пары [700 нм, 900 нм] дает значения  $0.68 \pm 0.05$  и  $0.61 \pm 0.05$  для сосуда 1 и сосуда 2, соответственно. Эти результаты хорошо согласуются с предыдущими оценками [79], в которых было показано, что использование этой пары длин волн дает ошибку 5% в определении оксигенации крови в случае когда оптические свойства известны приблизительно.

## **Заключение. Основные результаты**

1. Разработан метод решения обратной задачи акустики на основе теоретической модели распространения акустических волн в среде и с учетом нестационарной функции размытия точки единичной сферически фокусируемой антенны. Исследовано влияние шума на устойчивость метода решения обратной задачи. Проведена апробация данного алгоритма в ходе численного эксперимента.

2. Разработан алгоритм реконструкции оптико-акустических (ОА) изображений, основанный на решении обратной задачи акустики, с одновременным учетом функции размытия точки ультразвуковой антенны и распределения освещенности сильно рассеивающей среды зондирующим лазерным излучением. Результаты тестирования данного алгоритма на ОА данных, полученных для модельных сред и живых объектов, продемонстрировали улучшенное пространственное разрешение и сбалансированность изображения.

При этом разработанный метод реконструкции обеспечивает в 3 раза улучшенное продольное пространственное разрешение, в 2.5 раза улучшенный контраст и в 2 раза уменьшенное время работы алгоритма по сравнению с методом синтезирования апертуры (SAFT), используемым в реконструкции ОА изображений.

3. Было проведено теоретическое исследование погрешности измерительной оптико-акустической системы по отношению к определению степени насыщения крови кислородом (степени оксигенации крови) на различных глубинах с учетом влияния пространственного распределения освещенности сильно рассеивающей среды зондирующим лазерным излучением от лазерной длины волны и с учетом затухания освещенности в кровеносном сосуде. Показано, что для минимизации погрешности экспериментального определения степени насыщения крови кислородом при двухволновом зондировании объекта в условиях неизвестного распределения



освещенности необходимо использовать длины волн  $658\pm 40$  нм и 900-1069 нм.

Проведение серии *in vivo* экспериментов по двухволновому определению степени насыщения крови кислородом амплитудным методом показало, что оптимальные пары длин волн составляют 700 нм и длина волны из диапазона 850 – 1069 нм. Эти результаты хорошо согласуются с теоретическими оценками погрешности определения оксигенации в случае, когда оптические свойства известны приближенно.

4. Была проведена серия фантомных, *in vitro* и *in vivo* экспериментов, в том числе с использованием оптимальных длин волн, по одновременному определению степени насыщения крови кислородом методами, основанными на амплитуде и на затухании сигнала в сосуде. Метод оценки оксигенации крови в кровеносных сосудах, основанный на амплитуде ОА сигнала, обеспечивает лучшую точность определения степени насыщения крови кислородом по сравнению с методом, основанным на спаде ОА сигнала. Показано, что в зависимости от пары используемых оптических длин волн метод оценки оксигенации, основанный на амплитудах ОА сигналов, позволяет определять степень насыщения крови кислородом в *in vivo* эксперименте со среднеквадратичным отклонением оксигенации внутри кровеносного сосуда не более 5%.

## Список литературы

1. Тучин В. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2-х томах // Учебное издание. М.: Физматлит. – 2007.
2. Турчин И. В. Методы оптической биомедицинской визуализации: от субклеточных структур до тканей и органов // Успехи физических наук. – 2016. – Т. 186, № 5. – С. 550-567.
3. Wei C.-W., Nguyen T.-M., Xia J., Arnal B., Wong E., Pelivanov I., O'Donnell M. Real-time integrated photoacoustic and ultrasound (PAUS) imaging system to guide interventional procedures: ex vivo study // Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, IEEE Transactions on. – 2015. – Т. 62, № 2. – С. 319-328.
4. Хилл К. Бэмбер Дж., тер Хаар Г // Ультразвук в медицине. Физические основы применения. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Физматлит. – 2008.
5. Ogawa S., Lee T.-M., Kay A. R., Tank D. W. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1990. – Т. 87, № 24. – С. 9868-9872.
6. Chapman D., Thomlinson W., Johnston R., Washburn D., Pisano E., Gmür N., Zhong Z., Menk R., Arfelli F., Sayers D. Diffraction enhanced x-ray imaging // Physics in Medicine & Biology. – 1997. – Т. 42, № 11. – С. 2015.
7. Beard P. Biomedical photoacoustic imaging // Interface focus. – 2011. – С. rfs20110028.
8. Wang L. V. Multiscale photoacoustic microscopy and computed tomography // Nature photonics. – 2009. – Т. 3, № 9. – С. 503-509.
9. Ntziachristos V., Razansky D. Molecular imaging by means of multispectral optoacoustic tomography (MSOT) // Chemical reviews. – 2010. – Т. 110, № 5. – С. 2783-2794.
10. Zhang E., Laufer J., Pedley R., Beard P. In vivo high-resolution 3D photoacoustic imaging of superficial vascular anatomy // Physics in medicine and biology. – 2009. – Т. 54, № 4. – С. 1035.

11. Beard P. Biomedical photoacoustic imaging // *Interface focus*. – 2011. – T. 1, № 4. – C. 602-631.
12. Gibson A., Hebden J., Arridge S. R. Recent advances in diffuse optical imaging // *Physics in medicine and biology*. – 2005. – T. 50, № 4. – C. R1.
13. Ntziachristos V. Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology // *Nature methods*. – 2010. – T. 7, № 8. – C. 603-614.
14. Darne C., Lu Y., Sevick-Muraca E. M. Small animal fluorescence and bioluminescence tomography: a review of approaches, algorithms and technology update // *Physics in medicine and biology*. – 2013. – T. 59, № 1. – C. R1.
15. Luke G. P., Yeager D., Emelianov S. Y. Biomedical applications of photoacoustic imaging with exogenous contrast agents // *Annals of biomedical engineering*. – 2012. – T. 40, № 2. – C. 422-437.
16. Ntziachristos V., Ripoll J., Wang L. V., Weissleder R. Looking and listening to light: the evolution of whole-body photonic imaging // *Nature biotechnology*. – 2005. – T. 23, № 3. – C. 313-320.
17. Bell A. G. On the production and reproduction of sound by light // *American Journal of Science*. – 1880. № 118. – C. 305-324.
18. Wang X., Pang Y., Ku G., Xie X., Stoica G., Wang L. V. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain // *Nature biotechnology*. – 2003. – T. 21, № 7. – C. 803-806.
19. Razansky D., Vinegoni C., Ntziachristos V. Multispectral photoacoustic imaging of fluorochromes in small animals // *Optics letters*. – 2007. – T. 32, № 19. – C. 2891-2893.
20. Niederhauser J. J., Jaeger M., Lemor R., Weber P., Frenz M. Combined ultrasound and optoacoustic system for real-time high-contrast vascular imaging in vivo // *Medical Imaging, IEEE Transactions on*. – 2005. – T. 24, № 4. – C. 436-440.

21. Oraevsky A. A., Savateeva E. V., Solomatin S. V., Karabutov A. A., Andreev V. G., Gatalica Z., Khamapirad T., Henrichs P. M. Optoacoustic imaging of blood for visualization and diagnostics of breast cancer // International Symposium on Biomedical Optics –International Society for Optics and Photonics, 2002. – C. 81-94.
22. Kruger R. A., Lam R. B., Reinecke D. R., Del Rio S. P., Doyle R. P. Photoacoustic angiography of the breast // Medical physics. – 2010. – T. 37, № 11. – C. 6096-6100.
23. Deán-Ben X. L., Razansky D. Functional optoacoustic human angiography with handheld video rate three dimensional scanner // Photoacoustics. – 2013. – T. 1, № 3. – C. 68-73.
24. Lan B., Liu W., Wang Y.-c., Shi J., Li Y., Xu S., Sheng H., Zhou Q., Zou J., Hoffmann U. High-speed widefield photoacoustic microscopy of small-animal hemodynamics // Biomedical optics express. – 2018. – T. 9, № 10. – C. 4689-4701.
25. Rebling J., Estrada H., Gottschalk S., Sela G., Zwack M., Wissmeyer G., Ntziachristos V., Razansky D. Dual-wavelength hybrid optoacoustic-ultrasound biomicroscopy for functional imaging of large-scale cerebral vascular networks // Journal of biophotonics. – 2018. – C. e201800057.
26. Subochev P., Orlova A., Smolina E., Kirillov A., Shakhova N., Turchin I. Raster-scan optoacoustic angiography reveals 3D microcirculatory changes during cuffed occlusion // Laser Physics Letters. – 2018. – T. 15, № 4. – C. 045602.
27. Weber J., Beard P. C., Bohndiek S. E. Contrast agents for molecular photoacoustic imaging // Nature methods. – 2016. – T. 13, № 8. – C. 639.
28. Luo S., Zhang E., Su Y., Cheng T., Shi C. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging // Biomaterials. – 2011. – T. 32, № 29. – C. 7127-7138.
29. Razansky D., Distel M., Vinegoni C., Ma R., Perrimon N., Köster R. W., Ntziachristos V. Multispectral opto-acoustic tomography of deep-seated fluorescent proteins in vivo // Nature Photonics. – 2009. – T. 3, № 7. – C. 412-417.

30. De La Zerda A., Zavaleta C., Keren S., Vaithilingam S., Bodapati S., Liu Z., Levi J., Smith B. R., Ma T.-J., Oralkan O. Carbon nanotubes as photoacoustic molecular imaging agents in living mice // *Nature nanotechnology*. – 2008. – T. 3, № 9. – C. 557.
31. Galanzha E. I., Shashkov E. V., Tuchin V. V., Zharov V. P. In vivo multispectral, multiparameter, photoacoustic lymph flow cytometry with natural cell focusing, label-free detection and multicolor nanoparticle probes // *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*. – 2008. – T. 73, № 10. – C. 884-894.
32. Grootendorst D., Jose J., Wouters M., van Boven H., Van der Hage J., Van Leeuwen T., Steenbergen W., Manohar S., Ruers T. First experiences of photoacoustic imaging for detection of melanoma metastases in resected human lymph nodes // *Lasers in surgery and medicine*. – 2012. – T. 44, № 7. – C. 541-549.
33. Deán-Ben X. L., Fehm T. F., Gostic M., Razansky D. Volumetric hand-held optoacoustic angiography as a tool for real-time screening of dense breast // *Journal of biophotonics*. – 2015.
34. Hu S., Wang L. V. Neurovascular photoacoustic tomography // *Front. Neuroenergetics*. – 2010. – T. 2, № 10.
35. Laufer J., Johnson P., Zhang E., Treeby B., Cox B., Pedley B., Beard P. In vivo preclinical photoacoustic imaging of tumor vasculature development and therapy // *Journal of biomedical optics*. – 2012. – T. 17, № 5. – C. 0560161-0560168.
36. Taruttis A., Wildgruber M., Kosanke K., Beziere N., Licha K., Haag R., Aichler M., Walch A., Rummeny E., Ntziachristos V. Multispectral optoacoustic tomography of myocardial infarction // *Photoacoustics*. – 2013. – T. 1, № 1. – C. 3-8.
37. Yao D.-K., Zhang C., Maslov K. I., Wang L. V. Photoacoustic measurement of the Grüneisen parameter of tissue // *Journal of biomedical optics*. – 2014. – T. 19, № 1. – C. 017007.
38. Cox B., Laufer J. G., Arridge S. R., Beard P. C. Quantitative spectroscopic photoacoustic imaging: a review // *Journal of biomedical optics*. – 2012. – T. 17, № 6. – C. 0612021-0612022.

39. Rosenthal A., Ntziachristos V., Razansky D. Acoustic inversion in optoacoustic tomography: A review // *Current medical imaging reviews*. – 2013. – T. 9, № 4. – C. 318.
40. Bauer A. Q., Nothdurft R. E., Erpelding T. N., Wang L. V., Culver J. P. Quantitative photoacoustic imaging: correcting for heterogeneous light fluence distributions using diffuse optical tomography // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – T. 16, № 9. – C. 096016-096016-7.
41. Grashin P. S., Karabutov A. A., Oraevsky A. A., Pelivanov I. M., Podymova N. y. B., Savateeva E. V. e., Solomatn V. S. Distribution of the laser radiation intensity in turbid media: Monte Carlo simulations, theoretical analysis, and results of optoacoustic measurements // *Quantum Electronics*. – 2002. – T. 32, № 10. – C. 868.
42. Turner J., Estrada H., Kneipp M., Razansky D. Universal weighted synthetic aperture focusing technique (W-SAFT) for scanning optoacoustic microscopy // *Optica*. – 2017. – T. 4, № 7. – C. 770-778.
43. Wang L. V., Hu S. Photoacoustic tomography: in vivo imaging from organelles to organs // *Science*. – 2012. – T. 335, № 6075. – C. 1458-1462.
44. Aguirre J., Schwarz M., Soliman D., Buehler A., Omar M., Ntziachristos V. Broadband mesoscopic optoacoustic tomography reveals skin layers // *Optics letters*. – 2014. – T. 39, № 21. – C. 6297-6300.
45. Schwarz M., Omar M., Buehler A., Aguirre J., Ntziachristos V. Implications of ultrasound frequency in optoacoustic mesoscopy of the skin // *IEEE transactions on medical imaging*. – 2015. – T. 34, № 2. – C. 672-677.
46. Omar M., Soliman D., Gateau J., Ntziachristos V. Ultrawideband reflection-mode optoacoustic mesoscopy // *Optics letters*. – 2014. – T. 39, № 13. – C. 3911-3914.
47. Zhang H. F., Maslov K., Stoica G., Wang L. V. Functional photoacoustic microscopy for high-resolution and noninvasive in vivo imaging // *Nature biotechnology*. – 2006. – T. 24, № 7. – C. 848-851.

48. Li M.-L., Zhang H. F., Maslov K., Stoica G., Wang L. V. Improved in vivo photoacoustic microscopy based on a virtual-detector concept // *Optics letters*. – 2006. – T. 31, № 4. – C. 474-476.
49. Yao J., Wang L., Yang J.-M., Maslov K. I., Wong T. T., Li L., Huang C.-H., Zou J., Wang L. V. High-speed label-free functional photoacoustic microscopy of mouse brain in action // *Nature methods*. – 2015. – T. 12, № 5. – C. 407-410.
50. Ding L., Ben X. L. D., Razansky D. Efficient Three-dimensional Model-based Reconstruction Scheme for Arbitrary Photoacoustic Acquisition Geometries // *IEEE Transactions on Medical Imaging*. – 2017.
51. Subochev P., Katicheva A., Morozov A., Orlova A., Kamensky V., Turchin I. Simultaneous photoacoustic and optically mediated ultrasound microscopy: phantom study // *Optics letters*. – 2012. – T. 37, № 22. – C. 4606-4608.
52. Wang Y., Xing D., Zeng Y., Chen Q. Photoacoustic imaging with deconvolution algorithm // *Physics in Medicine & Biology*. – 2004. – T. 49, № 14. – C. 3117.
53. Burgholzer P., Roitner H., Berer T., Grün H., O'Leary D., Nuster R., Paltauf G., Haltmeier M. Deconvolution algorithms for photoacoustic tomography to reduce blurring caused by finite sized detectors // *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2013*. – T. 8581 –International Society for Optics and Photonics, 2013. – C. 858137.
54. Kornel P., Frenz M., Bebie H., Weber H. P. Temporal backward projection of photoacoustic pressure transients using Fourier transform methods // *Physics in medicine and biology*. – 2001. – T. 46, № 7. – C. 1863.
55. Xu M., Wang L. V. Universal back-projection algorithm for photoacoustic computed tomography // *Physical Review E*. – 2005. – T. 71, № 1. – C. 016706.
56. Paltauf G., Viator J., Prah S., Jacques S. Iterative reconstruction algorithm for photoacoustic imaging // *The Journal of the Acoustical Society of America*. – 2002. – T. 112, № 4. – C. 1536-1544.

57. Kuchment P., Kunyansky L. Mathematics of photoacoustic and thermoacoustic tomography // Handbook of Mathematical Methods in Imaging Springer, 2011. – C. 817-865.
58. Kuchment P., Kunyansky L. Mathematics of thermoacoustic tomography // European Journal of Applied Mathematics. – 2008. – T. 19, № 02. – C. 191-224.
59. Xu M., Wang L. V. Universal back-projection algorithm for photoacoustic computed tomography // Biomedical Optics 2005 –International Society for Optics and Photonics, 2005. – C. 251-254.
60. Lam R. B., Kruger R. A., Reinecke D. R., DelRio S. P., Thornton M. M., Picot P. A., Morgan T. G. Dynamic optical angiography of mouse anatomy using radial projections // BiOS –International Society for Optics and Photonics, 2010. – C. 756405-756405-7.
61. Wang X., Xu Y., Xu M., Yokoo S., Fry E. S., Wang L. V. Photoacoustic tomography of biological tissues with high cross-section resolution: reconstruction and experiment // Medical physics. – 2002. – T. 29, № 12. – C. 2799-2805.
62. Jaeger M., Schüpbach S., Gertsch A., Kitz M., Frenz M. Fourier reconstruction in optoacoustic imaging using truncated regularized inverse k-space interpolation // Inverse Problems. – 2007. – T. 23, № 6. – C. S51.
63. Treeby B. E., Zhang E. Z., Cox B. Photoacoustic tomography in absorbing acoustic media using time reversal // Inverse Problems. – 2010. – T. 26, № 11. – C. 115003.
64. Treeby B. E., Cox B. T. k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave fields // Journal of biomedical optics. – 2010. – T. 15, № 2. – C. 021314-021314-12.
65. Jiang H., Yuan Z., Gu X. Spatially varying optical and acoustic property reconstruction using finite-element-based photoacoustic tomography // JOSA A. – 2006. – T. 23, № 4. – C. 878-888.
66. Ramalli A., Scaringella M., Matrone G., Dallai A., Boni E., Savoia A. S., Bassi L., Hine G. E., Tortoli P. High dynamic range ultrasound imaging with real-time filtered-delay multiply and



- sum beamforming // Ultrasonics Symposium (IUS), 2017 IEEE International –IEEE, 2017. – C. 1-4.
67. Matrone G., Savoia A. S., Caliano G., Magenes G. Depth-of-field enhancement in filtered-delay multiply and sum beamformed images using synthetic aperture focusing // Ultrasonics. – 2017. – T. 75. – C. 216-225.
68. Synnevag J. F., Austeng A., Holm S. Adaptive beamforming applied to medical ultrasound imaging // IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control. – 2007. – T. 54, № 8.
69. Liao C.-K., Li M.-L., Li P.-C. Optoacoustic imaging with synthetic aperture focusing and coherence weighting // Optics letters. – 2004. – T. 29, № 21. – C. 2506-2508.
70. Deng Z., Yang X., Gong H., Luo Q. Two-dimensional synthetic-aperture focusing technique in photoacoustic microscopy // Journal of Applied Physics. – 2011. – T. 109, № 10. – C. 104701.
71. Deng Z., Yang X., Gong H., Luo Q. Adaptive synthetic-aperture focusing technique for microvasculature imaging using photoacoustic microscopy // Optics Express. – 2012. – T. 20, № 7. – C. 7555-7563.
72. Turner J., Estrada H., Kneipp M., Razansky D. Improved optoacoustic microscopy through three-dimensional spatial impulse response synthetic aperture focusing technique // Optics letters. – 2014. – T. 39, № 12. – C. 3390-3393.
73. Cai D., Li Z., Li Y., Guo Z., Chen S.-L. Photoacoustic microscopy in vivo using synthetic-aperture focusing technique combined with three-dimensional deconvolution // Optics express. – 2017. – T. 25, № 2. – C. 1421-1434.
74. Schwarz M., Garzorz-Stark N., Eyerich K., Aguirre J., Ntziachristos V. Motion correction in optoacoustic mesoscopy // Scientific reports. – 2017. – T. 7, № 1. – C. 10386.
75. Park J., Jeon S., Meng J., Song L., Lee J. S., Kim C. Delay-multiply-and-sum-based synthetic aperture focusing in photoacoustic microscopy // Journal of biomedical optics. – 2016. – T. 21, № 3. – C. 036010-036010.

76. Mozaffarzadeh M., Mahloojifar A., Orooji M., Adabi S., Nasiriavanaki M. Double Stage Delay Multiply and Sum Beamforming Algorithm: Application to Linear-Array Photoacoustic Imaging // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2017.
77. Khokhlova T., Pelivanov I., Karabutov A. Optoacoustic tomography utilizing focused transducers: the resolution study // *Applied Physics Letters*. – 2008. – T. 92, № 2. – C. 024105.
78. Perekatova V. V., Kirillin M. Y., Turchin I. V., Subochev P. V. Combination of virtual point detector concept and fluence compensation in acoustic resolution photoacoustic microscopy // *Journal of biomedical optics*. – 2018. – T. 23, № 9. – C. 091414.
79. Perekatova V., Subochev P., Kleshnin M., Turchin I. Optimal wavelengths for optoacoustic measurements of blood oxygen saturation in biological tissues // *Biomedical Optics Express*. – 2016. – T. 7, № 10. – C. 3979-3995.
80. Kirillin M., Perekatova V., Turchin I., Subochev P. Fluence compensation in raster-scan optoacoustic angiography // *Photoacoustics*. – 2017. – T. 8. – C. 59-67.
81. Tuchin V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis* //
82. Ranasinghesagara J. C., Zemp R. J. Combined photoacoustic and oblique-incidence diffuse reflectance system for quantitative photoacoustic imaging in turbid media // *Journal of biomedical optics*. – 2010. – T. 15, № 4. – C. 046016-046016-5.
83. Jakubowski D. B., Cerussi A. E., Shah N., Hsiang D., Butler J., Tromberg B. J. Monitoring neoadjuvant chemotherapy in breast cancer using quantitative diffuse optical spectroscopy: a case study // *Journal of biomedical optics*. – 2004. – T. 9, № 1. – C. 230-238.
84. Held K. G., Jaeger M., Rička J., Frenz M., Akarçay H. G. Multiple irradiation sensing of the optical effective attenuation coefficient for spectral correction in handheld OA imaging // *Photoacoustics*. – 2016.
85. Guo Z., Hu S., Wang L. V. Calibration-free absolute quantification of optical absorption coefficients using acoustic spectra in 3D photoacoustic microscopy of biological tissue // *Optics letters*. – 2010. – T. 35, № 12. – C. 2067-2069.

86. Guo Z., Favazza C., Garcia-Urbe A., Wang L. V. Quantitative photoacoustic microscopy of optical absorption coefficients from acoustic spectra in the optical diffusive regime // *Journal of Biomedical Optics*. – 2012. – T. 17, № 6. – C. 0660111-0660116.
87. Zhao L., Yang M., Jiang Y., Li C. Optical fluence compensation for handheld photoacoustic probe: An in vivo human study case // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2017. – T. 10, № 04. – C. 1740002.
88. Liao L.-D., Li M.-L., Lai H.-Y., Shih Y.-Y. I., Lo Y.-C., Tsang S., Chao P. C.-P., Lin C.-T., Jaw F.-S., Chen Y.-Y. Imaging brain hemodynamic changes during rat forepaw electrical stimulation using functional photoacoustic microscopy // *NeuroImage*. – 2010. – T. 52, № 2. – C. 562-570.
89. Menon C., Fraker D. L. Tumor oxygenation status as a prognostic marker // *Cancer letters*. – 2005. – T. 221, № 2. – C. 225-235.
90. Zhou C., Choe R., Shah N., Durduran T., Yu G., Durkin A., Hsiang D., Mehta R., Butler J., Cerussi A. Diffuse optical monitoring of blood flow and oxygenation in human breast cancer during early stages of neoadjuvant chemotherapy // *Journal of biomedical optics*. – 2007. – T. 12, № 5. – C. 051903-051903-11.
91. Tandara A. A., Mustoe T. A. Oxygen in wound healing—more than a nutrient // *World journal of surgery*. – 2004. – T. 28, № 3. – C. 294-300.
92. Petrov I., Petrov Y., Prough D., Cicenaitė I., Deyo D., Esenaliev R. Optoacoustic monitoring of cerebral venous blood oxygenation through intact scalp in large animals // *Optics express*. – 2012. – T. 20, № 4. – C. 4159-4167.
93. Gottschalk S., Fehm T. F., Deán-Ben X. L., Razansky D. Noninvasive real-time visualization of multiple cerebral hemodynamic parameters in whole mouse brains using five-dimensional optoacoustic tomography // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2015. – T. 35, № 4. – C. 531-535.

94. Zhang H. F., Maslov K., Sivaramakrishnan M., Stoica G., Wang L. V. Imaging of hemoglobin oxygen saturation variations in single vessels in vivo using photoacoustic microscopy // *Applied physics letters*. – 2007. – T. 90, № 5. – C. 053901-053901-3.
95. Laufer J., Delpy D., Elwell C., Beard P. Quantitative spatially resolved measurement of tissue chromophore concentrations using photoacoustic spectroscopy: application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration // *Physics in medicine and biology*. – 2007. – T. 52, № 1. – C. 141.
96. Lutzweiler C., Meier R., Rummeny E., Ntziachristos V., Razansky D. Real-time photoacoustic tomography of indocyanine green perfusion and oxygenation parameters in human finger vasculature // *Optics letters*. – 2014. – T. 39, № 14. – C. 4061-4064.
97. Chen Z., Yang S., Xing D. In vivo detection of hemoglobin oxygen saturation and carboxyhemoglobin saturation with multiwavelength photoacoustic microscopy // *Optics letters*. – 2012. – T. 37, № 16. – C. 3414-3416.
98. Guo Z., Favazza C. P., Garcia-Urbe A., Wang L. V. Quantitative photoacoustic microscopy of optical absorption coefficients from acoustic spectra in the optical diffusive regime // *Journal of Biomedical Optics*. – 2012. – T. 17, № 6. – C. 066011.
99. Sivaramakrishnan M., Maslov K., Zhang H. F., Stoica G., Wang L. V. Limitations of quantitative photoacoustic measurements of blood oxygenation in small vessels // *Physics in medicine and biology*. – 2007. – T. 52, № 5. – C. 1349.
100. Laufer J., Elwell C., Delpy D., Beard P. In vitro measurements of absolute blood oxygen saturation using pulsed near-infrared photoacoustic spectroscopy: accuracy and resolution // *Physics in medicine and biology*. – 2005. – T. 50, № 18. – C. 4409.
101. Laufer J., Delpy D., Elwell C., Beard P. Quantitative spatially resolved measurement of tissue chromophore concentrations using photoacoustic spectroscopy: application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration // *Physics in medicine and biology*. – 2006. – T. 52, № 1. – C. 141.

102. Ning B., Kennedy M. J., Dixon A. J., Sun N., Cao R., Soetikno B. T., Chen R., Zhou Q., Shung K. K., Hossack J. A. Simultaneous photoacoustic microscopy of microvascular anatomy, oxygen saturation, and blood flow // *Optics letters*. – 2015. – T. 40, № 6. – C. 910-913.
103. Petrova I., Petrov Y., Esenaliev R., Deyo D., Cicinaite I., Prough D. Noninvasive monitoring of cerebral blood oxygenation in ovine superior sagittal sinus with novel multi-wavelength optoacoustic system // *Optics Express*. – 2009. – T. 17, № 9. – C. 7285-7294.
104. Jiang Y., Forbrich A., Harrison T., Zemp R. J. Blood oxygen flux estimation with a combined photoacoustic and high-frequency ultrasound microscopy system: a phantom study // *Journal of biomedical optics*. – 2012. – T. 17, № 3. – C. 0360121-0360128.
105. Yao J., Wang L. V. Sensitivity of photoacoustic microscopy // *Photoacoustics*. – 2014. – T. 2, № 2. – C. 87-101.
106. Paltauf G., Nuster R., Haltmeier M., Burgholzer P. Photoacoustic tomography using a Mach-Zehnder interferometer as an acoustic line detector // *Applied optics*. – 2007. – T. 46, № 16. – C. 3352-3358.
107. Xiao J., Yuan Z., He J., Jiang H. Quantitative multispectral photoacoustic tomography and wavelength optimization // *Journal of X-ray science and technology*. – 2010. – T. 18, № 4. – C. 415-427.
108. Luke G. P., Nam S. Y., Emelianov S. Y. Optical wavelength selection for improved spectroscopic photoacoustic imaging // *Photoacoustics*. – 2013. – T. 1, № 2. – C. 36-42.
109. Modgil D., La Rivière P. J. Optimizing wavelength choice for quantitative optoacoustic imaging using the Cramer–Rao lower bound // *Physics in medicine and biology*. – 2010. – T. 55, № 23. – C. 7231.
110. Salehi H. S., Li H., Kumavor P. D., Merkulov A., Sanders M., Brewer M., Zhu Q. Wavelength optimization for in vivo multispectral photoacoustic/ultrasound tomography of hemoglobin oxygenation in ovarian cancer: clinical studies // *SPIE BiOS –International Society for Optics and Photonics*, 2015. – C. 932303-932303-5.

111. Hochuli R., Beard P. C., Cox B. Effect of wavelength selection on the accuracy of blood oxygen saturation estimates obtained from photoacoustic images // *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing* / Под ред. Oraevsky A. A., Wang L. V. – Т. 9323 – San Francisco, California, United States, 2015. –.
112. Maslov K., Zhang H. F., Wang L. V. Effects of wavelength-dependent fluence attenuation on the noninvasive photoacoustic imaging of hemoglobin oxygen saturation in subcutaneous vasculature in vivo // *Inverse Problems*. – 2007. – Т. 23, № 6. – С. S113.
113. Jacques S. L., Prahl S. Absorption spectra for biological tissues // Oregon Graduate Institute. – 2004.
114. Bashkatov A., Genina E., Kochubey V., Tuchin V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2005. – Т. 38, № 15. – С. 2543.
115. Laufer J., Elwell C., Delpy D., Beard P. In vitro measurements of absolute blood oxygen saturation using pulsed near-infrared photoacoustic spectroscopy: accuracy and resolution // *Physics in Medicine & Biology*. – 2005. – Т. 50, № 18. – С. 4409.
116. Roggan A., Friebel M., Dörschel K., Hahn A., Mueller G. J. Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400-2500 nm // *Journal of biomedical optics*. – 1999. – Т. 4, № 1. – С. 36-47.
117. Xu M., Xu Y., Wang L. V. Time-domain reconstruction algorithms and numerical simulations for thermoacoustic tomography in various geometries // *IEEE Transactions on biomedical engineering*. – 2003. – Т. 50, № 9. – С. 1086-1099.
118. Diebold G., Sun T., Khan M. Photoacoustic monopole radiation in one, two, and three dimensions // *Physical review letters*. – 1991. – Т. 67, № 24. – С. 3384.
119. Kruger R. A., Liu P., Fang Y. R., Appledorn C. R. Photoacoustic ultrasound (PAUS)—reconstruction tomography // *Medical physics*. – 1995. – Т. 22, № 10. – С. 1605-1609.

120. Krotov E., Reyman A., Subochev P. Account of frequency dependence of the acoustic absorption coefficient in solving problems of acoustic-brightness thermometry // Radiophysics and quantum electronics. – 2006. – Т. 49, № 6. – С. 432-441.
121. Тихонов А. Арсенин // ВЯ Методы решения некорректных з а д а ч. Н а у к а. – 1979.
122. Тихонов А. Н., Гончарский А., Степанов В., Ягола А. Численные методы решения некорректных задач // Book Численные методы решения некорректных задач / EditorМ.: Наука, 1990.
123. Некорректные задачи с априорной информацией. / Васин В., Агеев А.: Урал. издат. фирма" Наука" Екатеринбург, 1993.
124. Теория операторов и некорректные задачи. / Лаврентьев М., Савельев Л.: Изд-во Ин-та математики Новосибирск, 1999.
125. Некорректные задачи со случайными ошибками в данных. / Федотов А. М.: Наука. Сиб. отд-ние, 1990.
126. Maximum-Entropy and bayesian methods in inverse problems. / Smith C. R., Grandy Jr W. Т.: Springer Science & Business Media, 2013.
127. Practical methods of optimization. / Fletcher R.: John Wiley & Sons, 2013.
128. Илья F. A novel method based on the Tikhonov functional for non-negative solution of a system of linear equations with non-negative coefficients // International Journal of Computational Methods. – 2014. – Т. 11, № 05. – С. 1350071.
129. Solving least squares problems. / Lawson C. L., Hanson R. J.: Siam, 1995.
130. Subochev P. Cost-effective imaging of optoacoustic pressure, ultrasonic scattering, and optical diffuse reflectance with improved resolution and speed // Optics Letters. – 2016. – Т. 41, № 5. – С. 1006.
131. Subochev P., Orlova A., Mikhailova I., Shilyagina N., Turchin I. Simultaneous in vivo imaging of diffuse optical reflectance, optoacoustic pressure, and ultrasonic scattering // Biomedical optics express. – 2016. – Т. 7, № 10. – С. 3951-3957.

132. Gorshkov A. V., Kirillin M. Y. Acceleration of Monte Carlo simulation of photon migration in complex heterogeneous media using Intel many-integrated core architecture // *Journal of Biomedical Optics*. – 2015. – Т. 20, № 8. – С. 085002-085002.
133. Kirillin M. Y., Farhat G., Sergeeva E. A., Kolios M. C., Vitkin A. Speckle statistics in OCT images: Monte Carlo simulations and experimental studies // *Optics letters*. – 2014. – Т. 39, № 12. – С. 3472-3475.
134. Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2011. – Т. 4, № 01. – С. 9-38.
135. Loginova D. A., Sergeeva E. A., Krainov A., Agrba P. D., Kirillin M. Y. Liquid optical phantoms mimicking spectral characteristics of laboratory mouse biotissues // *Quantum Electronics*. – 2016. – Т. 46, № 6. – С. 528.
136. Kim S., Chen Y.-S., Luke G. P., Emelianov S. Y. In vivo three-dimensional spectroscopic photoacoustic imaging for monitoring nanoparticle delivery // *Biomedical optics express*. – 2011. – Т. 2, № 9. – С. 2540-2550.
137. Перекатова В., Фикс И., Субочев П. Корректировка изображений в оптоакустической микроскопии. Численное моделирование // *Известия вузов. Радиофизика*. – 2014. – Т. 57, № 1.
138. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden C., Saalfeld S., Schmid B. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // *Nature methods*. – 2012. – Т. 9, № 7. – С. 676.
139. Roitner H., Haltmeier M., Nuster R., O'Leary D. P., Berer T., Paltauf G., Grün H., Burgholzer P. Deblurring algorithms accounting for the finite detector size in photoacoustic tomography // *Journal of biomedical optics*. – 2014. – Т. 19, № 5. – С. 056011.
140. Nachabé R., Evers D. J., Hendriks B. H. W., Lucassen G. W., van der Voort M., Wesseling J., Ruers T. J. M. Effect of bile absorption coefficients on the estimation of liver tissue optical



properties and related implications in discriminating healthy and tumorous samples // *Biomedical Optics Express*. – 2011. – T. 2, № 3. – C. 600-614.

141. Subochev P., Orlova A., Shirmanova M., Postnikova A., Turchin I. Simultaneous photoacoustic and optically mediated ultrasound microscopy: an in vivo study // *Biomedical optics express*. – 2015. – T. 6, № 2. – C. 631-638.

142. Jacques S. L. How tissue optics affect dosimetry of photodynamic therapy // *Journal of biomedical optics*. – 2010. – T. 15, № 5. – C. 051608-051608-6.

143. *Biomedical optics: principles and imaging.* / Wang L. V., Wu H.-i.: John Wiley & Sons, 2012.

144. Jacques S. L. Optical properties of biological tissues: a review // *Physics in medicine and biology*. – 2013. – T. 58, № 11. – C. R37.

145. Xu C., Kumavor P. D., Alqasemi U., Li H., Xu Y., Zanganeh S., Zhu Q. Indocyanine green enhanced co-registered diffuse optical tomography and photoacoustic tomography // *Journal of biomedical optics*. – 2013. – T. 18, № 12. – C. 126006-126006.

146. Xi L., Li X., Yao L., Grobmyer S., Jiang H. Design and evaluation of a hybrid photoacoustic tomography and diffuse optical tomography system for breast cancer detection // *Medical physics*. – 2012. – T. 39, № 5. – C. 2584-2594.

147. Subochev P., Fiks I., Frenz M. Simultaneous triple-modality imaging of diffuse reflectance, optoacoustic pressure and ultrasonic scattering using an acoustic-resolution photoacoustic microscope: feasibility study // *Laser Physics Letters*. – 2016. – T. 13, № 2. – C. 025605.

148. Petrov Y. Y., Petrova I. Y., Patrikeev I. A., Esenaliev R. O., Prough D. S. Multiwavelength optoacoustic system for noninvasive monitoring of cerebral venous oxygenation: a pilot clinical test in the internal jugular vein // *Optics letters*. – 2006. – T. 31, № 12. – C. 1827-1829.

149. Subochev P., Prudnikov M., Vorobyev V., Postnikova A., Sergeev E., Perekatova V., Orlova A., Kotomina V., Turchin I. Wideband linear detector arrays for optoacoustic imaging

based on polyvinylidene difluoride films // Journal of biomedical optics. – 2018. – T. 23, № 9. – C. 091408.

150. Skobelkina A. V., Kashaev F. V., Kolchin A. V., Kaminskaya T. P., Zaboltnov S. V., Golovan L. A., Loginova D. A., Khilov A. V., Agrba P. D., Kirillin M. Y. Photoluminescence and optical properties of nanoparticles formed via laser ablation of porous silicon // Memoirs of the Faculty of Physics. – 2018. № 4. – C. 1841302.

151. Bosschaart N., Edelman G. J., Aalders M. C., van Leeuwen T. G., Faber D. J. A literature review and novel theoretical approach on the optical properties of whole blood // Lasers in medical science. – 2014. – T. 29, № 2. – C. 453-479.

152. Rohlicek C., Matsuoka T., Saiki C. Cardiovascular response to acute hypoxemia in adult rats hypoxemic neonatally // Cardiovascular research. – 2002. – T. 53, № 1. – C. 263-270.

153. Roddie I., Shepherd J., Whelan R. Evidence from venous oxygen saturation measurements that the increase in forearm blood flow during body heating is confined to the skin // The Journal of physiology. – 1956. – T. 134, № 2. – C. 444-450.

154. Li M., Tang Y., Yao J. Photoacoustic Tomography of Blood Oxygenation: A Mini Review // Photoacoustics. – 2018.

## Список публикаций автора по теме диссертации

### *Опубликованные статьи в реферируемых журналах*

1. Перекатова В., Фикс И., Субочев П. Корректировка изображений в оптоакустической микроскопии. Численное моделирование // Известия вузов. Радиофизика. – 2014. – Т. 57, № 1.
2. Perekatova V., Subochev P., Kleshnin M., Turchin I. Optimal wavelengths for optoacoustic measurements of blood oxygen saturation in biological tissues // Biomedical Optics Express. – 2016. – Т. 7, № 10. – С. 3979-3995.
3. Субочев П., Волков Г., Перекатова В., Турчин И. Сравнение реконструктивных алгоритмов для двумерной оптико-акустической томографии биологических тканей // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2016. – Т. 80, № 10. – С. 1378-1383.
4. Perekatova V., Subochev P., Kirillin M. Y., Turchin I. Fluence compensated optoacoustic measurements of blood oxygen saturation in vivo at two optimal wavelengths // Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2017. – Т. 10064 –International Society for Optics and Photonics, 2017. – С. 100645К.
5. Kirillin M., Perekatova V., Turchin I., Subochev P. Fluence compensation in raster-scan optoacoustic angiography // Photoacoustics. – 2017. – Т. 8. – С. 59-67.
6. Subochev P., Prudnikov M., Vorobyev V., Postnikova A., Sergeev E., Perekatova V., Orlova A., Kotomina V., Turchin I. Wideband linear detector arrays for optoacoustic imaging based on polyvinylidene difluoride films // Journal of biomedical optics. – 2018. – Т. 23, № 9. – С. 091408.
7. Perekatova V. V., Kirillin M. Y., Turchin I. V., Subochev P. V. Combination of virtual point detector concept and fluence compensation in acoustic resolution photoacoustic microscopy // Journal of biomedical optics. – 2018. – Т. 23, № 9. – С. 091414.

8. Turchin I., Perekatova V., Kirillin M. Y., Kurakina D., Orlova A., Subochev P. Analysis of different approaches for blood oxygenation determination from multispectral optoacoustic measurements // *Opto-Acoustic Methods and Applications in Biophotonics IV*. – Т. 11077 –International Society for Optics and Photonics, 2019. – С. 110770B.

9. Perekatova V., Subochev P., Kirillin M. Y., Sergeeva E., Kurakina D., Orlova A., Postnikova A., Turchin I. Quantitative techniques for extraction of blood oxygenation from multispectral optoacoustic measurements // *Laser Physics Letters*. – 2019. – Т. 16, № 11. – С. 116201.

### ***Публикации в трудах конференций***

1. Perekatova V.V., Subochev P.V., Fiks I.I. Point spread functions of focused ultrasonic detectors used in photoacoustic microscopy: numerical calculations // *Proceedings of the IV International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS, 21 – 27 July, 2013, Nizhny Novgorod, Russia*.

2. Perekatova V.V., Subochev P.V., Fiks I.I., Kleshnin M.S. and Turchin I.V. Sensitivity of optoacoustic microscope for estimations of blood oxygen saturation: phantom study // *Proceedings of the V International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS, 20 – 24 July, 2015 Nizhny Novgorod, Russia, p. 90*.

3. Перекатова В.В., Субочев П.В., Кириллин М.Ю., Турчин И.В. Определение степени насыщения крови кислородом оптико-акустическим методом // *II Всероссийская акустическая конференция, совмещенная с XXX сессией Российского акустического общества. Нижний Новгород, 6–9 июня 2017 г., сс. 155-156*.

4. Субочев П.В., Перекатова В.В., Михайлова И.С., Кириллин М.Ю., Орлова А.Г., Турчин И.В. Сканирующая оптико-акустическая микроскопия биологических тканей // *II Всероссийская акустическая конференция, совмещенная с XXX сессией Российского акустического общества. Нижний Новгород, 6–9 июня 2017 г., с. 156*.

5. Perekatova V.V., Subochev P.V., Kirillin M.Yu., Orlova A.G., and Turchin I.V. In vivo two-wavelength mapping of blood oxygen saturation by acoustic resolution photoacoustic microscopy // Proceedings of the VI International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS, 28 July – 03 August, 2017 St.-Petersburg – Nizhny Novgorod, Russia, p. 56.
6. Perekatova V.V., Kirillin M.Yu., Turchin I.V., and Subochev P.V. A combination of three-dimensional virtual point detector concept and fluence compensation in acoustic resolution photoacoustic microscopy // Proceedings of the VI International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS, 28 July – 03 August, 2017 St.-Petersburg – Nizhny Novgorod, Russia, p. 57.
7. Subochev P., Mihailova I., Kirillin M., Perekatova V., Jaeger M., Orlova A., and Turchin I. Image enhancement in acoustic resolution photoacoustic microscopy // Proceedings of the VI International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS, 28 July – 03 August, 2017 St.-Petersburg – Nizhny Novgorod, Russia, p. 63.
8. Subochev P., Mihailova I., Kirillin M., Perekatova V., Jaeger M., Orlova A., and Turchin I. Image enhancement in acoustic resolution photoacoustic microscopy // “Saratov Fall Meeting 2017”, September 26–29, 2017, Saratov, Russia.
9. Perekatova V., Turchin I., Kirillin M., Loginova D., Subochev P. Multiscale optoacoustic measurements of blood oxygen saturation in VIS-NIR wavelength range with the ultrawideband ultrasonic detector: an in vitro study // Optics and the Brain, Optical society of America, JW3A. 36, (2018).
10. Subochev P., Perekatova V., Kirillin M., Orlova A., Smolina E., Loginova D., Turchin I. Wideband optoacoustic detectors for multi-scale characterization of the vasculature // 5th International A.M. Prokhorov Symposium on Lasers in Medicine and Biophotonics, 18th International Conference on Laser Optics, 4-8 June, 2018, St.-Petersburg, Russia.
11. Perekatova V., Kirillin M., Loginova D., Orlova A., Turchin I., Subochev P. Quantitative techniques for extraction of blood oxygenation from multispectral optoacoustic

measurements // B-O-1, Book of abstracts of The 26th International Conference on Advanced Laser Technologies, ALT'18, 9-14September, 2018, Tarragona, Spain.

12. Subochev P., Perekatova V., Kirillin M., Orlova A., Smolina E., Loginova D., Turchin I. Wideband optoacoustic detectors for multi-scale characterization of the vasculature // Proceedings of the International Conference on Laser Applications in Life Sciences (LALS), 18 – 20 November 2018, Israel, Track A, pp. 42-43.