



Math-Net.Ru

Общероссийский математический портал

Д. А. Зимняков, В. В. Тучин, Оптическая томография тканей, *Квантовая электроника*, 2002, том 32, номер 10, 849–867

Использование Общероссийского математического портала Math-Net.Ru подразумевает, что вы прочитали и согласны с пользовательским соглашением

<http://www.mathnet.ru/rus/agreement>

Параметры загрузки:

IP: 3.145.186.60

27 сентября 2024 г., 03:45:48



Оптическая томография тканей

Д.А.Зимняков, В.В.Тучин

Рассмотрены методы оптической томографии биотканей: импульсно-модуляционная и частотно-модуляционная томография, диффузионная томография с применением непрерывных источников излучения, оптическая когерентная томография, спекл-корреляционная томография нестационарных сред, оптоакустическая томография. Метод управления оптическими свойствами биотканей исследован с точки зрения увеличения глубины зондирования в оптической когерентной томографии. Обсуждаются современное состояние и перспективы развития оптической томографии.

Ключевые слова: оптическая томография, биоткань, уравнение переноса излучения, коэффициент рассеяния.

1. Введение

Одним из направлений современной биомедицинской оптики является развитие методов зондирования биотканей излучением видимого и ближнего ИК диапазонов, позволяющих осуществлять визуализацию их структуры. Интерес к подобным исследованиям вызван следующими причинами:

- возможностью создания биологически безопасных средств диагностики биотканей;
- потенциальной возможностью получения изображений исследуемых структур с пространственным разрешением, сравнимым с длиной волны зондирующего излучения;
- возможностью многофункциональной диагностики исследуемых объектов;
- уникальной особенностью оптических свойств биотканей в плане существования так называемого окна прозрачности в диапазоне длин волн 650–1200 нм.

Совокупность оптических методов визуализации структуры биотканей, использующих различные эффекты взаимодействия света с рассеивающими средами, в настоящее время носит название оптической томографии (ОТ). По сравнению с традиционными методами (рентгеновская томография, ультразвуковая томография и др.) ОТ характеризуется некоторыми особенностями. Среди них следует отметить многообразие подходов к получению информации о структуре объекта исходя из характеристик детектируемого излучения. В настоящее время развиваются такие методы ОТ, как оптическая когерентная томография (ОКТ), модуляционная томография, ОТ нестационарных сред на основе спекл-корреляционных методов и др., а также методы на основе преобразования зондирующего светового излучения в поля другой природы (например, оптоакустическая томография). Сравнивая принципы ОТ и других методов визу-

ализации структуры биотканей, необходимо отметить отсутствие кардинальных различий в схемах получения информации о структуре объекта, основанных на серии последовательных измерений характеристик прошедшего или отраженного зондирующего излучения при различных положениях источника и детектора.

Основная проблема ОТ связана с особенностями распространения света в биотканях как неоднородных средах с масштабами неоднородностей порядка длины волны. В результате прошедшее через объект световое поле характеризуется значительным преобладанием многократно рассеянных составляющих над нерассеянной (баллистической) составляющей. Это усложняет применение традиционных методов реконструкции изображения на основе регистрации нерассеянной составляющей излучения, прошедшего через объект (рентгеновская томография) или отраженного границами слоев с различными волновыми импедансами (ультразвуковая томография).

В настоящее время можно выделить два основных направления в развитии ОТ. Первое, называемое оптической диффузионной томографией (ОДТ), связано с визуализацией крупномасштабных объектов (томография мозга, маммография) с целью выявления новообразований (гематом, опухолей и т. д.). Второе направление – морфологические исследования относительно тонких (~1 мм) слоев биотканей на основе когерентных и поляризационных методов. Интенсивное развитие данного направления в последнее десятилетие, связанное с совершенствованием и внедрением в практику ОКТ, стимулировано малой эффективностью методов оптической микроскопии для исследования структуры слоев тканей толщиной 0.5–1 мм и более. В то же время методы ОДТ и томографии на основе детектирования баллистической составляющей прошедшего излучения характеризуются временным и пространственным разрешениями, недостаточными для морфологического анализа подобных объектов. Кроме того, стандартная ОКТ-система может быть модернизирована для проведения эндоскопических исследований на реальных объектах в процессе их жизнедеятельности.

С точки зрения разработки оптических методов диагностики биоткани характеризуются интенсивным рассеянием излучения видимого и ближнего ИК диапазонов и в ряде случаев – селективным поглощением, обусловленным наличием в составе тканей естественных хромофоров (в первую очередь гемоглобина и меланина) [1–3]. В видимом диапазоне поглощение света связано с существованием полос поглощения гемоглобина. Меланин характеризуется значительным поглощением в коротковолновой области видимого спектра, монотонно убывающим с ростом длины волны. Рассеяние света в биотканях обусловлено пространственной неоднородностью их структуры на клеточном и субклеточном уровне, выраженной в существовании флуктуаций показателя преломления dn . Такие элементы клеточной структуры биотканей, как клеточные мембраны, ядра клеток, митохондрии и другие органеллы, а также гранулы меланина рассматриваются в качестве основных типов рассеивателей.

Соотношение между размерами рассеивателей и значениями dn приводит к анизотропному рассеянию зондирующего излучения. Степень анизотропии рассеяния, выражаемая через среднее значение косинуса угла рассеяния $g = \langle \cos \theta \rangle$, велика; она составляет 0.65–0.9 (преимущественное рассеяние вперед) и даже 0.96–0.98 для отдельных типов рассеивателей (эритроцитов) [4]. Для большинства биотканей человека вне полос поглощения хромофоров рассеяние преобладает над поглощением (типичные значения коэффициента рассеяния мягких биотканей μ_s находятся в интервале $10^2 - 10^4 \text{ см}^{-1}$, а коэффициента поглощения μ_a – в интервале $10^{-2} - 10 \text{ см}^{-1}$) [3]. Отсутствие выраженного поглощения в спектральной области 0.65–1.2 мкм является причиной существования так называемого окна прозрачности, в котором глубина проникновения излучения в ткань достигает 8–10 мм. Рис. 1 иллюстрирует существование окна прозрачности для биотканей. Вне его глубина проникновения ограничена поглощением ИК излучения водой как одним из основных составляющих биотканей ($\lambda > 1.5 \text{ мкм}$) и поглощением коротковолновых составляющих видимого света различными хромофорами, включая воду [3]. Существование окна прозрачности является благоприятным фактором развития оптической диагностики в связи с многообразием лазерных источников излучения, перекрывающего эту область.

В обзоре рассмотрены различные методы оптической томографии с использованием некогерентного и когерентного зондирующего излучения.



Рис. 1. Спектры коэффициентов поглощения различных биотканей, иллюстрирующие эффект существования окна прозрачности в видимом диапазоне (ВД) и ближнем ИК диапазоне.

2. Физические основы оптической томографии

Закономерности, определяющие распространение света в биотканях, могут быть описаны на основе представлений о переносе излучения в случайных средах. Известны два подхода к описанию этого явления [5, 6]: теория переноса излучения, рассматривающая эволюцию потока энергии излучения, распространяющегося в случайной среде, и теория многократного рассеяния, описывающая волновые свойства рассеянных световых полей в случайных средах. Хотя, в отличие от теории многократного рассеяния, теория переноса излучения не позволяет описать эффекты интерференции при рассеянии когерентного излучения, между этими подходами существует фундаментальная взаимосвязь, которая определяется соотношением между угловым спектром лучевой интенсивности, получаемым в рамках теории переноса, и пространственной корреляционной функцией флуктуаций рассеянного поля, получаемой в теории многократного рассеяния [6]. Подобная взаимосвязь позволяет ввести универсальную характеристику для описания распространения света в случайной среде – плотность распределения оптических путей составляющих рассеянного поля $\rho(s)$ [7–10]. Ее универсальность заключается в возможности получения параметров рассеянного поля как интегральных преобразований $\rho(s)$ с соответствующими ядрами [7, 8, 11–13], в то время как функция $\rho(s)$ может быть получена в рамках теории переноса излучения.

Наиболее строгий подход к анализу распространения света в случайной среде заключается в решении уравнения переноса излучения, скалярная форма которого для монохроматического света имеет вид [5, 14]

$$\frac{s\nabla I(\mathbf{r}, s, t)}{\mu_t} + t_f \frac{\partial I(\mathbf{r}, s, t)}{\partial t} = -I(\mathbf{r}, s, t) + \frac{\mu_s}{4\pi\mu_t} \times \int_{4\pi} \left[\int_{4\pi} I(\mathbf{r}, s', t) p(s', t', s, t) dt' \right] d\Omega + \frac{S(\mathbf{r}, s, t)}{\mu_t}, \quad (1)$$

где $I(\mathbf{r}, s, t)$ – лучевая интенсивность света, рассеянного в момент времени t в точке \mathbf{r} в направлении s ; $p(s', t', s, t)$ – зависящая от времени фазовая функция рассеяния, которая характеризует угловое распределение потока излучения, рассеянного элементарным объемом; Ω – телесный угол; $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ – коэффициент экстинкции; $S(\mathbf{r}, t)$ – функция источника; $t_f = l/\mu_t c$ – характерное время распространения излучения в среде между последовательными актами взаимодействия с локальными неоднородностями; c – скорость света в среде. В общем случае решение уравнения (1) с произвольными граничными условиями в аналитической форме невозможно, и поэтому удобным подходом для анализа переноса излучения в средах со сложной геометрией является моделирование транспорта «фотонов» в среде методом Монте-Карло (МК) [15–17]. Метод МК при условии адекватного выбора модели рассеяния, в частности – фазовой функции $p(s', t', s, t)$, позволяет получить точное решение задачи о транспорте фотонов, макроскопическая форма которой соответствует уравнению (1) с заданными граничными условиями. Это используется при проверке адекватности приближений уравнения переноса, когда аналитическое решение сравнивается с результатами моделирования по методу МК [18, 19].

Когда направленной составляющей $I(\mathbf{r}, s, t)$ можно пренебречь по сравнению с изотропной составляющей, уравнение (1) преобразуется в уравнение диффузии [5, 6]

$$\nabla \left(\frac{1}{3\mu_{tr}} \nabla U(\mathbf{r}, t) \right) - \mu_a U(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{c} \frac{\partial U(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = - \frac{S_d(\mathbf{r}, t)}{3\mu_{tr}}, \quad (2)$$

где $U(\mathbf{r}, t)$ – диффузная составляющая лучевой интенсивности; $\mu_{tr} = \mu_a + (1 - g)\mu_s$; $S_d(\mathbf{r}, t)$ – функция источника диффузного излучения.

Функция $U(\mathbf{r}, t)$, полученная в результате решения уравнения (2), ассоциируется с плотностью фотонов в точке с координатами \mathbf{r} в момент времени t , получаемой с использованием метода МК. Вне рассеивающей среды $U(\mathbf{r}, t) = 0$. Условие применимости приближения (2) к описанию распределений интенсивности рассеянного излучения в случайной среде может быть сформулировано как $L \gg [(1 - g)\mu_s]^{-1}$, где L – расстояние между источником и приемником. Параметр $l^* = (\mu'_s)^{-1} = [\mu_s(1 - g)]^{-1}$, называемый транспортной длиной, играет важную роль в описании переноса излучения, определяя расстояние распространения света в среде, на котором направленный поток излучения преобразуется в диффузный. Другим условием применимости диффузионного приближения является малое поглощение рассеивающей среды, что выражается условием $l^* \ll \mu_a^{-1}$.

При нарушении данных условий (например, в случае детектирования рассеянного излучения вблизи источников или излучения, прошедшего через тонкий рассеивающий слой с анизотропным рассеянием) диффузионное приближение приводит к существенным расхождениям с экспериментальными данными или с результатами моделирования по методу МК (имеет место «кризис диффузионного приближения» [20, 21]).

Несмотря на эти ограничения, данный подход применим к ряду задач о распространении света в биообъектах (например, в мозге), что позволяет использовать аппарат решения краевых задач диффузии и теплопроводности в ОДТ. Решение (2) при заданных граничных условиях связано с плотностью вероятности $\rho(s)$. В простейшем случае изотропного импульсного точечного источника $I_0 \delta(\mathbf{r}) \times \delta(t')$, погруженного в безграничную среду, и детектирования рассеянного излучения точечным детектором функция $\rho(s)$ может быть найдена из функции Грина уравнения (2) путем замены $s \rightarrow c(t - t')$.

Решение уравнения диффузии (2) для сред с ограниченной геометрией требует, чтобы граничные условия и функции источника задавались с учетом следующих ограничений [22–24].

1. При зондировании среды направленным пучком излучения источник диффузной составляющей локализован не на поверхности среды, а на некоторой глубине $z_0 \sim l^*$, поскольку преобразование направленной составляющей в диффузную осуществляется на глубине порядка l^* . Таким образом, функция источника должна иметь вид $I_0 \delta(z - z_0) \varphi(x, y) \psi(t)$. Возможно также использование не локализованного, а экспоненциально распределенного по глубине источника, что соответствует преобразованию направленной составляющей в диффузную в поверхностном слое.

2. Граничное условие для классической диффузионной задачи записывается как $U(\mathbf{r}, t)|_{r=\Omega} = 0$ (Ω – поверхность, ограничивающая область пространства, где происходит диффузия). Применительно к случаю диффузии

излучения это условие должно быть модифицировано с целью учета влияния отражения света на границе. Например, в случае диффузии света в полубесконечной среде, представляющем интерес с точки зрения диагностических приложений, когда осуществляется детектирование обратнорассеянного излучения, это приводит к граничному условию в виде $U(\mathbf{r}, t)|_{z=-z_p} = 0$ (z_p – длина экстраполяции), т. е. интенсивность диффузной составляющей обращается в нуль не на геометрической границе, а на некотором расстоянии z_p от нее. Отношение z_p/l^* зависит от отражательной способности границы.

Решение задачи о диффузии излучения в ограниченных областях пространства может быть получено с помощью стандартной техники решения краевых задач; например, для областей в форме полупространства или слоя используется метод источников [9].

Важным является вопрос о влиянии поглощения на транспортные свойства рассеивающей среды. В диффузионной теории коэффициент диффузии излучения есть $D = c/3[\mu_a + (1 - g)\mu_s]$. Вместе с тем в работах [25–28] показано, что лучшее соответствие между экспериментом и диффузионной теорией достигается, если D принимается не зависящим от μ_a (т. е. $D = c/3(1 - g)\mu_s$). Это позволяет проанализировать статистику оптических путей в случае поглощающей среды путем вычисления плотности вероятности $\rho(s)$ для непоглощающей среды с заданными значениями μ_s и g , а затем учесть поглощение введением бугеровского множителя $\exp(-\mu_s s)$ в выражение для $\rho(s)$.

Предпринимались различные попытки модификации диффузионного приближения и использования иных подходов к приближенному решению уравнения (1) с целью получения аналитического описания переноса излучения вблизи границ рассеивающей среды, а также для случаев сильного поглощения и анизотропного рассеяния. Определенные результаты были получены с помощью P_N -приближения [29], основанного на представлении потока излучения в среде в форме разложения по сферическим функциям с целью учета анизотропии рассеяния (диффузионное приближение эквивалентно P_1 -приближению).

В [30] рассмотрено описание переноса излучения с использованием трехмерного телеграфного уравнения. В соответствии с этим подходом производная $\partial^2 U(\mathbf{r}, t)/\partial t^2$ в правой части данного уравнения позволяет учесть эволюцию «баллистической» составляющей, поскольку в области малых пространственно-временных масштабов поведение решения телеграфного уравнения аналогично поведению решения волнового уравнения. Для больших времен и расстояний решение телеграфного уравнения асимптотически стремится к решению уравнения (2).

Наличие в рассеивающем объеме областей с отличающимися от средних по объему значениями μ_a и μ_s приводит к отличиям функции $\tilde{U}(\mathbf{r}, t)$ и, следовательно, плотности вероятности оптических путей $\tilde{\rho}(s)$, от $U(\mathbf{r}, t)$ и $\rho(s)$ для однородной среды при аналогичных условиях освещения и детектирования:

$$\tilde{U}(\mathbf{r}, t) = U(\mathbf{r}, t) + \Delta U(\mathbf{r}, t), \quad \tilde{\rho}(s) = \rho(s) + \Delta \rho(s), \quad (3)$$

где $\Delta U(\mathbf{r}, t)$, $\Delta \rho(s)$ – возмущения функций, обусловленные наличием неоднородностей. Задача ОТ может быть определена как восстановление распределений $\mu_a(\mathbf{r})$ и $\mu_s(\mathbf{r})$ по значениям интенсивности рассеянного излучения или плотности вероятности $\tilde{\rho}(s)$, измеренным в конечном числе точек на границе рассеивающего объема.

3. Импульсно-модуляционная оптическая томография

На рис.2,а иллюстрируется принцип зондирования рассеивающих сред короткими световыми импульсами, реализуемый в импульсно-модуляционной томографии [31–38]. При детектировании излучения, прошедшего через объект в направлении распространения зондирующего пучка, импульсу диффузно рассеянного излучения предшествует баллистический предвестник, обусловленный нерассеянной составляющей и задержанный по отношению к моменту прихода зондирующего импульса в рассеивающую среду на время $\tau \approx L/c$ (L – толщина рассеивающей среды). Амплитуда баллистического предвестника при зондировании протяженных объектов (например, головного мозга) существенно меньше амплитуды импульса диффузно рассеянной составляющей. В частности, для типичных значений коэффициента экстинкции биотканей $\mu_t = \mu_s + \mu_a \approx 10 - 100 \text{ см}^{-1}$ для длин волн в окне прозрачности и при $L \approx 0.2 \text{ м}$ нерассеянная составляющая будет равна только около $10^{-90} - 10^{-900}$ от интенсивности зондирующего импульса, что предъявляет особые требования к технике детектирования. Форма импульса диффузно рассеянной составляющей определяется функцией плотности вероятности $\rho(s)$ для заданных условий наблюдения: $I(t - t_0) \sim \rho[c(t - t_0)]$, где t_0 – время прихода в среду зондирующего импульса.

На рис.2,б, в приведены формы импульсов диффузно рассеянного излучения при зондировании полубесконечной среды коротким импульсом, поступающим в среду из локализованного источника (например, из оптического волокна), рассчитанные в соответствии с диффузионным приближением. Кривые на рис.2,б соответствуют детектированию рассеянного излучения детектором с малой площадью, расположенным на разных расстоя-

ниях от источника, кривая на рис.2,в – детектированию рассеянного излучения со всей поверхности среды; величина $R(t) = I(t)/I_0$ может быть интерпретирована как зависящий от времени коэффициент диффузного отражения среды. Измерения характеристик импульса диффузно рассеянного излучения могут использоваться для определения оптических параметров рассеивающих сред.

Реконструкция томографических изображений рассеивающих объектов может быть реализована путем детектирования как баллистической составляющей прошедшего излучения, так и диффузно рассеянной составляющей. Выбор метода зондирования накладывает определенные ограничения на характеристики используемых источников и приемников. При детектировании баллистической составляющей реализуется принцип абсорбционной томографии, заключающийся в формировании «теневых» проекций структуры исследуемого объекта. Яркость получаемого изображения в данной точке определяется интегральным поглощением прошедшей через объект нерассеянной составляющей вдоль выбранного направления. Это позволяет осуществлять реконструкцию изображений с использованием традиционных методов абсорбционной томографии на основе преобразования Радона.

При практической реализации данного метода предъявляются высокие требования к источникам и приемникам излучения. Выделение баллистического предвестника требует стробирования детектируемого сигнала с временным окном, согласованным с длительностью зондирующего импульса. При увеличении ширины окна возрастает вероятность вклада в детектируемый сигнал малократно рассеянных составляющих и составляющих, испытавших большое число актов рассеяния, но распространяющихся преимущественно вдоль направления зондирующего пучка. Это приводит к снижению контраста изображения объекта. Стробирование баллистического предвестника необходимо осуществлять временным окном шириной порядка $(\mu_s c)^{-1}$, т.е. порядка времени распространения света между двумя последовательными актами рассеяния. Оценка ширины окна для типичных значений μ_s биотканей в окне прозрачности дает значение порядка 1 пс. В работах [39–41] проведены исследования возможности разделения баллистической и диффузной составляющих прошедшего через объект излучения, в частности найдено соотношение между характеристиками среды и параметрами зондирующего импульса [40], позволяющее получить реально наблюдаемую бимодальную форму детектируемого импульса, первый всплеск которого соответствует нерассеянной составляющей (см. рис.2,а).

Другое обстоятельство, играющее важную роль при построении томографических систем на основе детектирования первопришедших фотонов, – это необходимость детектирования импульсов малой амплитуды. Данная проблема решается путем применения ФЭУ в режиме счета фотонов с последующей корреляционной обработкой последовательности фотоотсчетов. При значительной оптической толщине объектов и биологически безопасных плотностях энергии зондирующих импульсов это приводит к необходимости накопления большого числа реализаций детектируемого сигнала.

Дискриминация диффузной составляющей с целью выделения баллистического предвестника может быть осуществлена с помощью как электронных средств, так

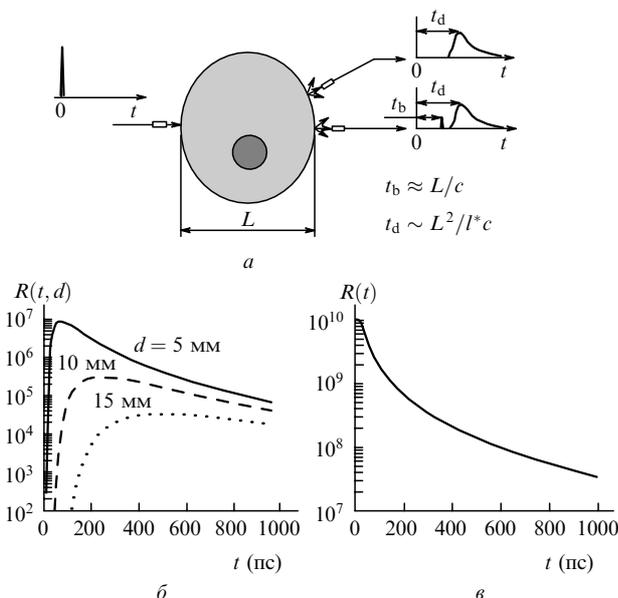


Рис.2. Импульсно-модуляционный метод зондирования (t_b и t_d – времена запаздывания баллистической и диффузной составляющих) (а), а также формы импульсов диффузно рассеянного излучения при зондировании полубесконечной среды локализованным источником: при детектировании точечным детектором (б) и детектировании излучения, обратнорассеянного всей поверхностью (в); параметры среды: $\mu_s = 6 \text{ см}^{-1}$, $\mu_a = 0.004 \text{ см}^{-1}$, $g = 0.7$, $n = 1.4$, d – расстояние источник – детектор, $R(t) = I(t)/I_0$.

и оптических эффектов. В частности, возможно использование интерференции между нерассеянной составляющей и специально сформированным опорным пучком, в том числе и в нелинейных оптических средах [42, 43]. В работе [44] рассмотрено применение метода гетеродина интерферометрии для детектирования баллистической составляющей. Дополнительные возможности в плане увеличения отношения сигнал-шум при выделении нерассеянной составляющей дает поляризационная дискриминация детектируемого излучения [45, 46], поскольку при зондировании рассеивающих сред линейно поляризованным излучением состояние поляризации баллистического компонента соответствует состоянию поляризации зондирующего излучения, а диффузная составляющая практически полностью деполаризована.

Другим подходом к оптическому стробированию баллистического предвестника является использование управляемых светом оптических затворов на основе эффекта Керра. Впервые подобный метод был использован группой Альфано в США [47–49]. На образце биотканей *in vitro*, содержащем аномальную область с высоким значением μ_s , которая состояла из раковых клеток, было показано, что детектирование первопришедших фотонов позволяет получить более контрастные проекции томографируемого объекта по сравнению со случаем детектирования диффузной составляющей. Возможно также селективное усиление баллистического предвестника (например, с использованием эффекта комбинационного рассеяния [50, 51] или на основе параметрического преобразования света [52]).

Импульсно-модуляционный метод зондирования на основе детектирования диффузной составляющей также может быть использован для получения томографических изображений рассеивающих сред. Подобная возможность была впервые продемонстрирована в работе [53]. В данном случае к оптической схеме импульсно-модуляционного томографа не предъявляются столь высокие требования по временному разрешению и чувствительности, поскольку длительность импульса диффузной составляющей может достигать сотен пикосекунд, а его амплитуда на несколько порядков больше амплитуды баллистического предвестника. Основные проблемы при использовании данного подхода связаны с разработкой алгоритмов реконструкции изображений по измеренным в разных точках функциям импульсного отклика системы источник–объект–приемник. Процедура реконструкции включает в себя следующие основные этапы:

- разбиение исследуемого объекта на набор конечных элементов и задание исходных значений μ_a и μ'_s для каждого элемента;
- выбор оптимальной конфигурации нахождения источников и приемников на поверхности объекта, позволяющей осуществлять зондирование всех элементов;
- измерения функций импульсного отклика для каждого положения;
- вычисления функций импульсного отклика для каждого положения, исходя из заданных значений μ_a и μ'_s для каждого элемента объекта;
- сравнение вычисленных и измеренных функций импульсного отклика и (при необходимости) коррекция исходного набора значений μ_a и μ'_s .

Последние два этапа повторяются до нахождения минимума отклонений вычисленных значений функций импульсного отклика рассеивающей среды от измеренных

значений. При вычислении функций импульсного отклика могут быть использованы подходы, основанные на численном решении нестационарного уравнения диффузии или на моделировании методом МК. В последнее десятилетие было разработано большое число эффективных алгоритмов решения обратной задачи импульсно-модуляционной ОДТ, включая вычислительные схемы на основе инверсного метода МК.

В качестве источников в импульсно-модуляционных системах применяются диодные лазеры, излучающие в диапазоне 600–1500 нм пикосекундные импульсы (~ 50 пс) при энергии порядка 10 пДж, твердотельные лазеры в режиме модуляции добротности (широко используется титан-сапфировый лазер, перестраиваемый в диапазоне 690–980 нм), а также лазеры на красителях. Приемниками служат лавинные фотодиоды, ФЭУ и электронно-оптические преобразователи с усилителями яркости (стрик-камеры).

В настоящее время в мировой практике существует общепринятый подход к разработке подобных систем, определяющий основные принципы их построения: наличие многоканальной системы ввода излучения в исследуемый объект, наличие нескольких источников зондирующего излучения с различными длинами волн и наличие многоканальной системы сбора и детектирования рассеянного излучения.

В одной из таких систем излучение, генерируемое тремя диодными лазерами, через оптический демультиплексор последовательно поступает в 64 точки ввода, равномерно распределенные по поверхности объекта [54]. Подключение источника излучения к соответствующей точке ввода осуществляется с помощью коммутатора 1×64 . Рассеянное излучение детектируют одновременно 64 приемника (ФЭУ в режиме счета фотонов). Последовательности фотоотчетов подвергаются одновременной корреляционной обработке по каждому из 64 каналов. Время получения изображения объекта, восстанавливаемого по набору из 63×64 реализаций детектируемых сигналов, составляет приблизительно 30 мин.

В импульсно-модуляционной томографической системе, описанной в [55], также использован принцип многоканального зондирования и детектирования. Источником служит титан-сапфировый лазер, что позволяет увеличить энергию зондирующих импульсов по сравнению с диодными лазерами одновременно с возможностью перестройки в широком спектральном диапазоне. Лазерное излучение через волоконно-оптический переключатель и 32 световода доставляется к объекту. Регистрация рассеянного света осуществляется системой детектирования из 32 волоконно-оптических жгутов и многоанодных микроканальных ФЭУ. Суммарное время накопления информации при реконструкции изображения составляет приблизительно 10–20 мин и определяется временем сбора данных для каждого положения источника излучения и временем переключения каналов осветительной системы. В результате испытаний были выявлены следующие проблемы, типичные для импульсно-модуляционных многоканальных систем:

- необходимость учета различий в задержках при распространении зондирующего импульса по световодам от источника к объекту и от объекта к фотодетекторам;
- наличие временных дрейфов (для разработанного образца – приблизительно 5 пс/ч) даже в случае длительного простоя оборудования;

– межканальная интерференция измеряемых сигналов;
– наличие отражений от торцов световодов, искажающих детектируемые импульсы.

После сбора данных осуществляется восстановление изображения с помощью программы TOAST (Temporal Optical Absorption and Scattering Tomography) [56].

Фактором, существенно ограничивающим применение импульсно-модуляционной ОДТ в реальном времени, является характер зондирования объекта – цикл последовательных переключений источника между световодами, осуществляющими доставку излучения к различным участкам объекта. В работе [57] предложен иной принцип, который заключается в использовании осветительной системы, состоящей из световодов различной длины. Длина световодов подобрана так, чтобы обеспечить заданную задержку при распространении импульсов в соседних волокнах. При засветке световодов объект зондируется последовательностью импульсов, и в детектируемых детекторами последовательностях импульсов рассеянного излучения положение каждого импульса соответствует определенной паре источник – детектор. В качестве источников использованы лазеры на красителях с длинами волн 750 и 820 нм, накачиваемые азотным лазером. Длительность зондирующих импульсов составляет 500 пс при частоте следования 40 МГц. Авторы отмечают, что при зондировании сильно рассеивающих объектов время реконструкции увеличивается за счет необходимости накопления реализаций детектируемых сигналов.

Следует отметить, что фирмами IDS (США) и Philips (Голландия) в 1995–1996 гг. были выпущены промышленные образцы импульсно-модуляционных систем для диагностики рака молочной железы [58]. В томографе фирмы IDS используется титан-сапфировый лазер в режиме модуляции добротности, а детектирование прошедшего через объект света осуществляется с помощью матрицы лавинных фотодиодов. В процессе клинических испытаний данной системы были выявлены технические проблемы, связанные с нестабильностью лазерного излучения и потерями в волоконно-оптических световодах. Фирма Philips также недавно прекратила выпуск своего томографа.

Тем не менее есть данные об успешном клиническом применении импульсно-модуляционных систем для диагностики рака молочной железы и томографии мозга новорожденных [58–60]. Перспективы развития этого направления связаны с совершенствованием элементной базы (появление надежных и недорогих быстродействующих источников и приемников, увеличение скорости обработки данных), а также с созданием мультифункциональных систем для многофакторного биохимического анализа биотканей в реальном времени.

4. Частотно-модуляционная оптическая томография

Другой метод модуляционной ОТ основан на использовании СВЧ-модулированного зондирующего излучения и анализе амплитудно-фазовых характеристик рассеянного излучения для различных положений источника и приемника относительно объекта. При диффузионном распространении модулированного излучения в рассеивающей среде, описываемом уравнением (2), данное

уравнение в частотной области принимает вид, эквивалентный уравнению Гельмгольца [9, 61]:

$$(\nabla^2 + K^2)U(\mathbf{r}, \omega) = -\frac{S_0(\mathbf{r}, \omega)}{D}, \quad (4)$$

где $K^2 = (i\omega - c\mu_a)/D$. Рассматривая случай распространения излучения в изотропной бесконечной среде от точечного источника, расположенного в точке $\mathbf{r} = 0$ и характеризующего спектром $P(\omega)$, легко получить, что при гармонической модуляции источника $P(\omega) = P_{DC}\delta(\omega) + P_{AC}\delta(\omega - \omega_0)$ ($P_{DC} \geq P_{AC}$) решение уравнения (6) имеет вид сферической волны, амплитуда которой описывается выражением [61]

$$U_{AC}(\mathbf{r}, \omega_0) = \frac{P_{AC}}{4\pi D} \times \exp \left\{ -r \left(\frac{c\mu_a}{2D} \right)^{0.5} \left[\left(1 + \frac{\omega_0^2}{c^2\mu_a^2} \right)^{0.5} + 1 \right]^{0.5} \right\} r^{-1}, \quad (5)$$

а фаза волны

$$\varphi(r, \omega_0) = r \left(\frac{c\mu_a}{2D} \right)^{0.5} \left[\left(1 + \frac{\omega_0^2}{c^2\mu_a^2} \right)^{0.5} - 1 \right] + \varphi_0, \quad (6)$$

где φ_0 – начальная фаза волны, задаваемая источником.

Это дает основание рассматривать перенос гармонически модулированного излучения в среде с использованием представлений о затухающих волнах фотонной плотности, характеризующимся значением волнового числа $[c\mu_a/(2D)]^{0.5} \{ [1 + \omega_0^2/(c^2\mu_a^2)]^{0.5} - 1 \}^{0.5}$. Параметр $c\mu_a$ можно рассматривать как критическую частоту модуляции, определяющую характер затухания волн фотонной плотности в среде. Так, при $\mu_a = 0.1 \text{ см}^{-1}$ и показателе преломления среды $n = 1.4$ критическая частота $\omega_{cr} = 2.14 \text{ ГГц}$. При $\omega_0 \ll \omega_{cr}$ коэффициент затухания фотонных волн слабо зависит от частоты и может быть приближенно оценен как $\{3\mu_a[\mu_a + (1-g)\mu_s]\}^{0.5}$.

Исходя из общих соображений относительно свойств решения скалярного волнового уравнения, можно сделать вывод о существовании ряда геометрооптических и волновых эффектов для волн фотонной плотности, таких как отражение и преломление на границе раздела двух сред с различающимися характеристиками, интерференция волн от двух источников и дифракция на локальных неоднородностях [62–65].

Частотные зависимости волнового числа и коэффициента затухания волн фотонной плотности определяют взаимосвязь между разрешением частотно-модуляционного метода и максимальной толщиной зондируемого слоя, типичную для методов зондирования рассеивающих сред с использованием волновых полей. Для большинства приложений в медицинской диагностике оптимальная частота зондирующего излучения находится в диапазоне 50–500 МГц. При зондировании неоднородной среды с ограниченной геометрией схема реконструкции изображения аналогична описанной в данном разделе, а в качестве характеристик, измеряемых при различных положениях источника и детектора [65–72], используются амплитуда и фаза детектируемого сигнала. Возможности метода могут быть расширены, например, при зондировании объекта на двух различных длинах волн и при разности фаз зондирующих сигналов, равной 180° .

Основные направления клинического применения частотно-модуляционной ОТ связаны с томографией мозга (обнаружение внутричерепных гематом, функциональная диагностика мозга, в частности – анализ гемодинамики) и диагностикой рака молочной железы (оптическая маммография). На рис.3 представлена схема оптического томографа, разработанного фирмой Siemens AG (Германия) [73]. В качестве источников используются четыре лазерных диода с длинами волн 690 нм (частота модуляции 69.50 МГц), 750 нм (69.80 МГц), 788 нм (70.20 МГц) и 856 нм (70.45 МГц). Доставка излучения к объекту и прием рассеянного излучения осуществляются с помощью световодов. Синхронное механическое сканирование объекта передающим и приемным световодами позволяет получить двумерные проекции внутренней структуры объекта. Время сканирования, необходимое для получения одного двумерного изображения, составляет 2 мин. Сравнение рентгеновских и оптических томограмм одного и того же объекта позволяет сделать вывод о том, что при достаточно высоком контрасте последних, позволяющих с уверенностью диагностировать наличие новообразований, они характеризуются меньшим пространственным разрешением, что обусловлено диффузионным характером распространения света в объекте. Несмотря на это оптическая диффузионная томография остается весьма перспективным направлением клинической диагностики, прежде всего благодаря биологической безопасности зондирующего ИК излучения.

Одно из перспективных направлений развития частотно-модуляционной томографии связано с использованием многоэлементных фазированных излучателей (метод амплитудно-фазовой компенсации) [74–76]. Данный подход позволяет увеличить пространственное разрешение за счет эффекта интерференции волн фотонной плотности от различных источников. При использовании двух источников, испускающих волны фотонной плотности одинаковой амплитуды и частоты с фазовым сдвигом 180° , и детектора, расположенного в зоне, где разность хода волн от источников равна нулю, ампли-

туда детектируемого сигнала для изотропной рассеивающей среды также равна нулю. Наличие неоднородности в области распространения волн фотонной плотности приводит к нарушению фазового согласования. Эксперименты с модельными средами показали, что пространственное разрешение в случае локализации поглощающей неоднородности достигает 1 мм; аналогичное значение ожидается и в случае рассеивающих неоднородностей.

На рис.4 приведена схема частотно-модуляционной системы с использованием амплитудно-фазовой компенсации [77]. При формировании зондирующего излучения и детектировании рассеянного света использован принцип гетеродинной обработки сигналов, что позволяет осуществлять точные фазовые измерения в низкочастотном диапазоне с высокой точностью. Источниками служили восемь лазерных диодов с длиной волны 780 нм. Несущая частота равна 50 МГц, выделяемая частота – 1 кГц. В качестве приемников использованы четыре ФЭУ. Излучатели и приемники объединены в блок размером 9×4 см. Циклы измерений, соответствующих 16 различным комбинациям источников и приемников, повторяются с периодичностью 16 с.

Использование вместо каждого излучателя в блоке нескольких источников с различными длинами волн позволяет расширить функциональные возможности системы. В работе [78] обсуждается система для функциональной диагностики мозга новорожденных, аналогичная описанной выше, в которой вместо каждого лазерного диода в блоке излучателей применялся набор из двух лазеров с длинами волн 750 и 830 нм. Использование длины волны 750 нм вместо 780 нм дает более чем двукратное увеличение амплитуды детектируемого сигнала вследствие уменьшения затухания зондирующего излучения. В [79] описана двухволновая (750 и 830 нм) система с компенсацией, состоящая из девяти лазерных диодов и 21 кремниевого фотодиода. Система предназначена для диагностики рака молочной железы и позволяет получить высококачественное изображение объекта при времени выборки порядка 8 с.

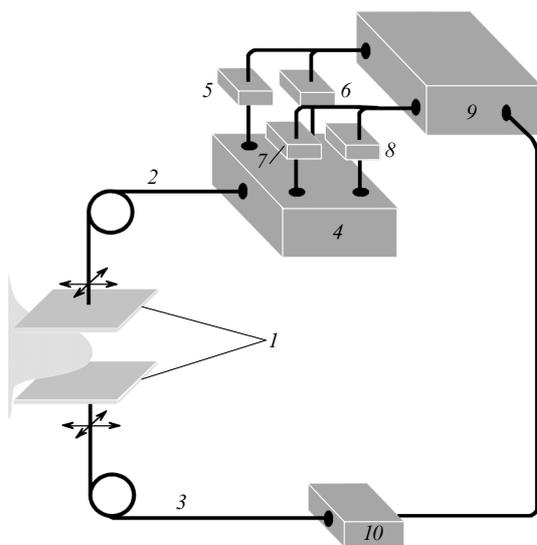


Рис.3. Схема оптического маммографа фирмы Siemens AG: 1 – устройство фиксации объекта; 2 – световод для передачи излучения к объекту; 3 – световод для приема рассеянного излучения; 4 – волоконно-оптический мультиплексор 4×1 ; 5–8 – набор лазерных диодов; 9 – блок управления и обработки; 10 – детектор (ФЭУ).

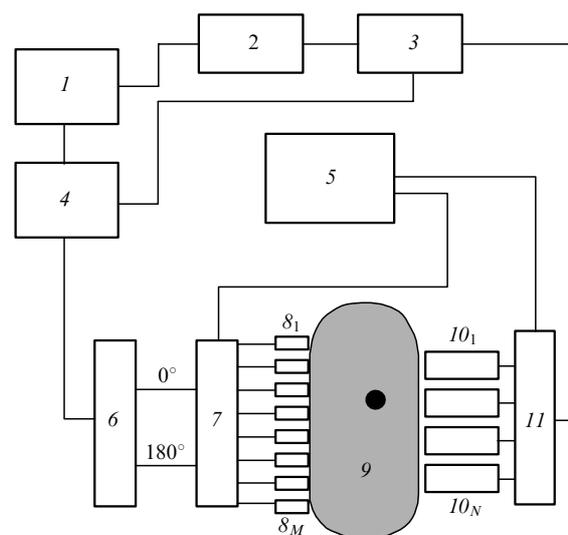


Рис.4. Схема оптического томографа с фазовой компенсацией: 1 – генератор; 2 – фазовый детектор; 3 – гетеродин; 4 – модулятор; 5 – блок обработки; 6 – фазорасщепитель; 7, 11 – коммутаторы; $8_1, \dots, 8_M$ – лазерные диоды; 9 – объект; $10_1, \dots, 10_N$ – фотоумножители.

В работах [80, 81] описан образец частотно-модуляционного томографа, позволяющего осуществлять визуализацию протяженных (размером до 140 мм) рассеивающих объектов с параметрами, типичными для биотканей в окне прозрачности. Источниками служили диодные лазеры с длинами волн генерации 775, 808 и 818 нм, с мощностью зондирующего излучения 15–30 мВт и частотой модуляции 100 МГц. Для ввода излучения в объект и приема рассеянного света использована система световодов диаметром 600 мкм (12 световодов для ввода и 32 для приема). Детектирование рассеянного излучения осуществлялось ФЭУ (Hamamatsu R636-10) в режиме счета фотонов. Для обработки последовательностей фотоотчетов применен метод времязадержанного счета фотонов, позволяющий получить гистограммы распределений фотоотчетов по периоду модуляции, в результате анализа которых находятся амплитудно-фазовые характеристики детектируемого сигнала. Для восстановления изображений разработан быстрый проекционный алгоритм; время реконструкции для объекта размером до 140 мм составляло 5–10 мин.

5. Оптическая диффузионная томография с помощью непрерывных источников излучения

Данный метод диагностики не предполагает использования модулированного зондирующего излучения, а основан на измерениях интенсивности диффузно рассеянного излучения при различных положениях источника непрерывного излучения и детектора. Распределение интенсивности в точках детектирования для заданных положений источника может быть получено путем решения стационарного уравнения диффузии с соответствующими граничными условиями либо с использованием метода МК. Визуализация структуры объекта сводится к нахождению распределений $\mu_a(\mathbf{r})$ в результате решения обратной задачи диффузии излучения по измеренным в конечном числе точек значениям интенсивности. Первые попытки получения изображений биообъектов с использованием этого подхода датируются 1984–1991 гг. [82–85], но поскольку диффузный характер распространения излучения затрудняет получение изображений с приемлемым для медицинской диагностики разрешением и контрастом, то дальнейший прогресс ОДТ был связан в основном с развитием модуляционных методов.

Тем не менее в настоящее время метод ОДТ с использованием непрерывного излучения в диапазоне длин волн 650–1200 нм применяется в медицине для функциональной диагностики и визуализации структуры объекта. Несомненное достоинство данного метода – простота реализации диагностических устройств, не требующих быстродействующих источников и приемников излучения, а также высокочастотных устройств обработки сигналов. Одно из применений данного метода в лабораторной и клинической практике – мониторинг активности коры головного мозга, не требующий высокого разрешения и осуществляемый по уровню оксигенации путем измерения поглощения зондирующего излучения на нескольких длинах волн [86–89]. В [89] описана система, в которой источники излучения (лампы накаливания) и приемники (фотодиоды) объединены в блок размером 9 × 4 см. В блоке используются девять источников и восемь детекторов, объединенных попарно. В каждой

паре осуществляется детектирование рассеянного света на длинах волн 760 и 850 нм с помощью интерференционных фильтров с полушириной пропускания $\Delta\lambda_f = 9$ нм.

В работе [90] рассмотрена простая система с использованием непрерывного источника излучения (He–Не-лазера) и ПЗС-камеры в качестве детектора рассеянного излучения, предназначенная для работы в диффузно отраженном от объекта свете. Система позволяет осуществлять визуализацию неоднородностей в сильно рассеивающей среде на глубине до 1.5 см. Разработан быстродействующий алгоритм реконструкции квазитрехмерных изображений оптических неоднородностей.

6. Алгоритм решения обратных задач ОДТ

В настоящее время разработано значительное количество алгоритмов решения обратных задач ОДТ [91–103], подробное рассмотрение которых выходит за рамки данного обзора, поэтому принципы решения обратных задач, применимые к различным модификациям ОДТ, рассмотрим на отдельных примерах, характеризующих оригинальностью используемых подходов. В частности, применительно к частотно-модуляционной томографии в работе [96] предложен метод реконструкции изображений по измеренному набору значений амплитуды и фазы рассеянного излучения. В основе алгоритма лежат методы теории возмущений, в соответствии с которыми пространственные распределения μ_a и μ'_s в зондируемом объеме представляются в следующем виде:

$$\mu_a(\mathbf{r}) \Rightarrow \mu_a^0 + \Delta\mu_a(\mathbf{r}); \quad \mu'_s(\mathbf{r}) \Rightarrow \mu_s^0 + \Delta\mu_s(\mathbf{r}). \quad (7)$$

Уравнение Гельмгольца должно быть заменено уравнением для возмущенных значений интенсивности диффузной составляющей:

$$[\nabla^2 + K^2]U(\mathbf{r}) = \frac{\delta(\mathbf{r})}{D_0} + \lambda A(\mathbf{r})U(\mathbf{r}), \quad (8)$$

где λ – параметр; K и D_0 соответствуют невозмущенным параметрам объекта; функция $A(\mathbf{r})$ определяется возмущениями μ_a и μ'_s . Комплексное значение амплитуды волны фотонной плотности представляется как разложение в ряд по степеням λ :

$$U_{AC}(\mathbf{r}) = U_{AC0}(\mathbf{r}) + \lambda U_{AC1}(\mathbf{r}) + \lambda^2 U_{AC2}(\mathbf{r}) + \dots, \quad (9)$$

где член порядка N определяется рекуррентным соотношением

$$U_{ACN}(\mathbf{r}_d) = \int G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_d) A(\mathbf{r}) U_{ACN-1}(\mathbf{r}) d^3\mathbf{r}; \quad (10)$$

\mathbf{r}_d определяет положение приемника; $G(\mathbf{r}, \mathbf{r}_d)$ – функция Грина для уравнения Гельмгольца.

Для многих приложений коэффициент μ'_s можно считать постоянным по объему, а флуктуации μ_a – малой и плавно изменяющейся величиной. В данном случае $A(\mathbf{r}) \approx c\Delta\mu_a(\mathbf{r})/D_0$, и только линейный член в разложении (9) может рассматриваться при определении амплитуды и фазы волны фотонной плотности. Разбивая зондируемый объем на n элементов размером h , можно свести задачу восстановления $\mu_a(\mathbf{r})$ к решению системы линейных уравнений

$$\begin{pmatrix} U_1(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)_1 \\ U_1(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)_2 \\ \dots \\ U_1(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)_m \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T_{11} \dots T_{1n} \\ T_{21} \dots T_{2n} \\ \dots \\ T_{m1} \dots T_{mn} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \Delta\mu_a(\mathbf{r}_1) \\ \Delta\mu_a(\mathbf{r}_2) \\ \dots \\ \Delta\mu_a(\mathbf{r}_n) \end{pmatrix}, \quad (11)$$

где матричные элементы T_{km} могут быть представлены следующим образом:

$$T_{km} = G(\mathbf{r}_{dk}, \mathbf{r}_m) U_0(\mathbf{r}_{sk} - \mathbf{r}_m) \frac{h^3}{cD_0}.$$

В работах [97–100] рассмотрены эффективные алгоритмы решения обратных задач ОДТ с использованием метода «средних траекторий». Метод базируется на фундаментальном свойстве решения уравнения диффузии, выражающемся во взаимосвязи функций $U(\mathbf{r}, t)$ и $U(\mathbf{r}_l, \tau)$ в форме интегрального преобразования с функцией Грина диффузионного уравнения в качестве ядра. Эта взаимосвязь позволяет представить относительное изменение оптического сигнала $\Delta I/I$, обусловленное наличием неоднородности в объекте, в форме криволинейного интеграла по траектории, описывающей положение центра фотонного облака, распространяющегося в среде от источника к детектору:

$$-\ln\left(1 - \frac{\Delta I}{I}\right) = \frac{c}{n} \int_0^{L_{ph}} \frac{\langle \delta\mu_a \rangle(l)}{v(l)} dl, \quad (12)$$

где L_{ph} – длина средней траектории фотонов в среде; $v(l)$ – мгновенное значение скорости распространения облака вдоль траектории; $\langle \delta\mu_a \rangle(l)$ – изменение коэффициента поглощения вдоль траектории. Здесь могут быть рассмотрены аналогии между диффузионной томографией и абсорбционной томографией, когда затухание сигнала обусловлено поглощающими включениями вдоль траектории зондирующего пучка.

В работах [80, 81, 101, 102] рассмотрены нелинейные статистические алгоритмы решения обратных задач ОДТ, способные работать в режиме реального времени. В основе алгоритмов лежит гипотеза о взаимосвязи вероятности P'_{ij} нахождения неоднородности по результатам ij -измерения и по разности детектируемых потоков фотонов при наличии и в отсутствие неоднородности в объекте: $P'_{ij} \sim \Phi'_{ij} - \Phi_{ij}$. Пространственное распределение P'_{ij} определяется плотностью вероятности $p'_{ij}(\mathbf{r}) \sim P'_{ij} f'_{ij}(\mathbf{r})$, где $f'_{ij}(\mathbf{r})$ – трехмерное распределение вероятности прохождения фотонов, зарегистрированных в ij -измерении, через точку объекта с координатой \mathbf{r} . Реконструкция изображения структуры объекта сводится к нахождению полного трехмерного распределения вероятности нахождения неоднородностей в различных точках объекта, определяемого через произведение $\prod_{ij} P'_{ij} f'_{ij}(\mathbf{r})$. Необходимые для этой процедуры значения $\Delta\Phi_{ij} = \Phi'_{ij} - \Phi_{ij}$ получаются в результате эксперимента, а значения $f'_{ij}(\mathbf{r})$ определяются с использованием моделирования МК или приближенных аналитических методов. Эксперименты с модельными объектами с поглощающими неоднородностями продемонстрировали высокое быстродействие алгоритма при приемлемом качестве восстанавливаемых изображений.

7. Оптическая когерентная томография

Метод исследования структуры биотканей, известный как оптическая когерентная томография, в котором

используется принцип низкокогерентной интерферометрии, впервые был предложен в работах [104, 105]. В настоящее время известны сотни работ, посвященных вопросам применения ОКТ для морфологического анализа и визуализации структуры биотканей, среди которых следует выделить работы, имеющие принципиальное значение. Это – работы группы Венского университета (Австрия) [104–107], группы Массачусетского технологического института (США) [108–110], а также группы Института прикладной физики РАН (Россия, Н. Новгород) [111–115].

На рис.5 приведена схема волоконно-оптического интерферометра с низкокогерентным источником, применяемая для визуализации структуры объектов. Сканирование объекта по глубине (в z -направлении) производится путем движения отражателя в опорном плече интерферометра, при этом амплитуда детектируемого сигнала пропорциональна локальному значению коэффициента отражения среды на глубине зондирования. В поперечном сечении сканирование осуществляется путем последовательного перемещения оси зондирующего пучка с помощью, например, электромеханической сканирующей системы.

Наличие в исследуемом объеме локальных областей с оптическими характеристиками, отличающимися от средних значений, приводит к изменениям амплитуды детектируемого сигнала. Таким образом, зависимость амплитуды сигнала от времени в течение одного цикла продольного сканирования может быть использована для восстановления распределения значений коэффициента отражения по глубине при заданном положении зондирующего пучка. На практике с целью увеличения отношения сигнал-шум осуществляется усреднение локальных значений коэффициента отражения, полученных из последовательности реализаций детектируемого сигнала в результате периодического сканирования данной области образца. На рис.6 в качестве примера представлено распределение выходного сигнала ОКТ-системы, полученное для модельных сред (гелевой основы с наполнителем – полистироловыми микрочастицами).

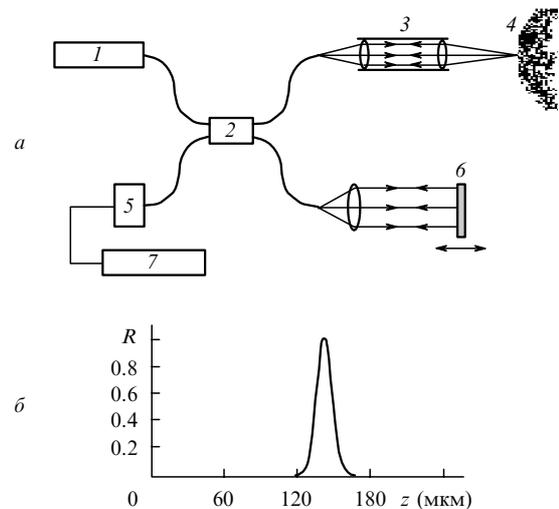


Рис.5. Схема волоконно-оптического интерферометра с частично когерентным источником излучения как базового устройства ОКТ (1 – источник; 2 – волоконно-оптический интерферометр; 3 – объектный канал; 4 – объект; 5 – детектор; 6 – опорный канал; 7 – блок обработки) (а) и типичная функция импульсного отклика ОКТ-системы (б).

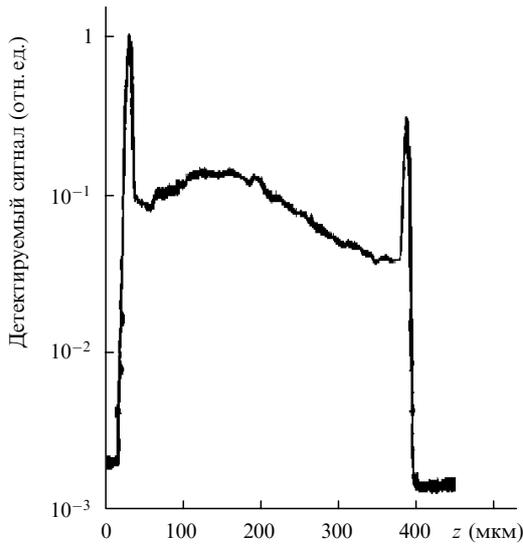


Рис.6. Форма выходного сигнала низкокогерентного интерферометра при зондировании модельного объекта.

Всплески детектируемого сигнала на начальной и заключительной стадиях цикла продольного сканирования обусловлены отражениями от стенок кюветы с образцом. Убывание сигнала по глубине определяется распределением μ_t .

Предельная глубина зондирования рассеивающих сред невелика и сопоставима с транспортной длиной l^* , т. е. для биотканей составляет порядка миллиметра. Поэтому основная область применения ОКТ в медицине сегодня – это оптическая биопсия поверхностных слоев тканей *in vivo*. Специфической областью является визуализация внутренней структуры глаза человека. Ткани глаза, за исключением склеры и сетчатки, характеризуются малым коэффициентом экстинкции, поэтому высокое отношение сигнал-шум достигается при зондировании по всей глубине. Различным аспектам применения ОКТ в офтальмологии посвящено значительное число работ [104–107, 109, 116–121].

Важнейшим параметром ОКТ-системы является разрешение по глубине, зависящее от ширины спектра источника и определяемое следующим выражением:

$$\Delta z = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_c^2}{\Delta \lambda}, \quad (13)$$

где λ_c – центральная длина волны; $\Delta \lambda$ – полуширина спектра излучения. Таким образом, если использовать в качестве источника суперлюминесцентный диод с $\lambda_c = 820$ нм и $\Delta \lambda = 20$ нм, то Δz составит приблизительно 15 мкм. Улучшение разрешающей способности ОКТ-систем достигается путем применения широкополосных источников и приемников. В качестве первых используются либо непрерывные диодные излучатели (суперлюминесцентные диоды или лазеры в подпороговом режиме), либо импульсные лазеры, работающие в режиме периодической генерации ультракоротких импульсов. В последнем случае для получения приемлемого разрешения по глубине необходимо использовать зондирующие импульсы пико- и субпикосекундной длительности.

В работе [122] сообщается о создании ОКТ-системы с микронным разрешением. Источником служил титан-

сапфировый лазер в режиме модуляции добротности с $\Delta \lambda \sim 350$ нм и $\lambda_c = 800$ нм, что позволило получить $\Delta z \sim 1$ мкм. Столь широкая полоса достигнута благодаря применению специально изготовленных зеркал резонатора и внутррезонаторных компенсаторов дисперсии. Конструкция волоконно-оптического интерферометра была оптимизирована (рис.7) с целью уменьшения дисперсионных искажений оптического сигнала, для чего использовались волоконно-оптические поляризационные элементы и компенсаторы фазовых искажений. Полуширина функции импульсного отклика для подобной системы равна 1.5 мкм, что обеспечивает визуализацию структуры биотканей с внутриклеточным разрешением. В частности, в [122] приведены томографические изображения клеточных структур головастика африканской лягушки, полученные с разрешением 1×3 мкм и позволяющие идентифицировать различные органеллы внутри клеток, а также анализировать динамику развития клеточной структуры (на изображении зафиксированы различные стадии митоза для нескольких клеток). Однако в данном случае речь идет скорее о демонстрации возможностей метода; использование подобных систем в клинической практике ограничивается сложностью и высокой стоимостью источников излучения и оптических элементов интерферометра.

Использование дополнительных устройств, включая волоконно-оптические эндоскопы и катетеры, позволяет расширить область применения ОКТ в клинической практике. В работах [123–125] описаны волоконно-оптические эндоскопы и катетеры, разработанные для задач ОКТ-диагностики, в том числе и для внутриартериальной эндоскопии. В случае внутриартериального зондирования [123, 124] поперечное сканирование участка поверхности сосуда осуществляется путем осевого вращения световедущей системы одномодовое волокно – микропризма с помощью шагового двигателя через редуктор. В работе [125] описаны различные варианты волоконно-оптических инструментов для ОКТ-систем. Поперечное сканирование исследуемого участка осуществ-

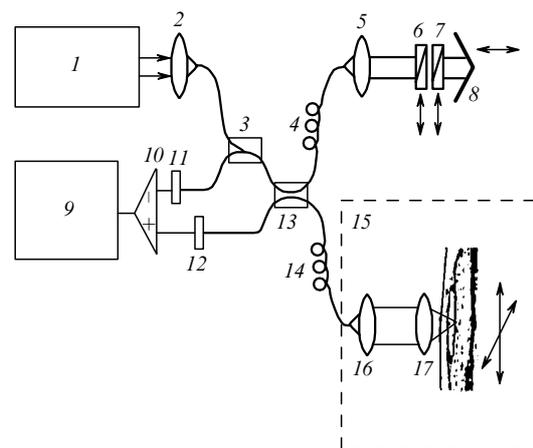


Рис.7. ОКТ-система с высоким разрешением на основе фемтосекундного лазера:

1 – титан-сапфировый лазер; 2, 5, 16, 17 – линзы с компенсацией дисперсионных искажений; 3, 13 – волоконно-оптические разветвители; 4, 14 – волоконно-оптические поляризаторы; 6, 7 – компенсаторы дисперсионных искажений; 8 – опорное зеркало; 9 – блок обработки; 10 – усилитель; 11, 12 – детекторы; 15 – система поперечного сканирования образца.

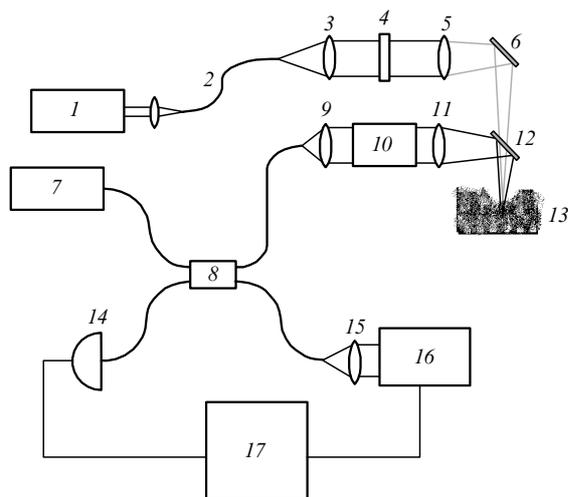


Рис.8. Система лазерной абляции биотканей с ОКТ-мониторингом: 1 – аргонный лазер; 2 – световод для передачи излучения аргонного лазера; 3, 5, 9, 11, 15 – коллимирующие линзы; 4 – прерыватель пучка; 6 – зеркало; 7 – суперлюминесцентный диод; 8 – волоконно-оптический интерферометр; 10 – двухкоординатное сканирующее устройство; 12 – дихроичное зеркало; 13 – образец; 14 – детектор; 15 – волоконно-оптическая линия задержки; 16 – блок обработки.

ляется с помощью пьезоэлектрического микросканера путем смещения выходного торца одномодового световода в предметной плоскости однолинзовой или двухлинзовой оптической системы. Размеры зоны сканирования при этом определяются поперечным увеличением используемой линзовой системы и могут меняться в зависимости от решаемых задач.

Широкие диагностические возможности ОКТ-систем в стоматологии, урологии, отоларингологии, гастроэнтерологии продемонстрированы в работе [126]. В [127–129] показаны возможности мониторинга процессов лазерного воздействия на биоткани (лазерная модификация, лазерная абляция) с использованием ОКТ. В работе [130] также показана возможность контроля процесса лазерной абляции биотканей в реальном времени с применением этой системы. На рис.8 приведена схема установки для лазерной абляции тканей с ОКТ-системой в качестве устройства обратной связи. Локальная абляция осуществляется с использованием излучения аргонного лазера мощностью от 1 до 3 Вт. Доставка лазерного излучения к объекту осуществляется с помощью световода; затем излучение фокусируется в пятно диаметром 0.8 мм на поверхности объекта. В качестве источника излучения в ОКТ-системе используется суперлюминесцентный диод с длиной волны 1.3 мкм. Ширина спектра соответствует продольному разрешению 18 мкм (в свободном пространстве), отношение сигнал-шум составляет 115 дБ при мощности источника 5 мВт. Эксперименты по абляции проводились на мышечной ткани крысы при 10-секундном воздействии излучения мощностью 3 Вт. После этого образец смещался с помощью сканирующего устройства с целью получения трехмерного изображения абляционного кратера. Для реконструкции изображения зоны абляции использовались 60 сечений, полученных с интервалом в 100 мкм между отдельными сечениями. Последовательности изображений зоны позволяют идентифицировать разные стадии лазерного воздействия на ткань вплоть до обугливания ткани внутри абляционного кратера.

8. Различные модификации метода ОКТ

Успехи, достигнутые в использовании ОКТ для морфологического анализа биотканей, стимулировали дальнейшее развитие метода; в результате были разработаны некоторые модификации ОКТ с дополнительными функциональными возможностями.

1. Многоволновая, или спектрально-чувствительная, ОКТ. Потенциальные возможности низкокогерентной интерферометрии с двумя источниками излучения (830 и 1285 нм) для неинвазивного морфологического анализа и визуализации структуры *in vivo* биотканей рассматривались в работе [131]. В схеме использованы два волоконно-оптических интерферометра Майкельсона, в опорных каналах которых находится общий отражатель; пространственное совмещение зондирующих пучков осуществляется с помощью дихроичного зеркала. Двухволновая система была использована в [132] для анализа локальных значений концентрации воды в модельных средах на основе интралипида. В работе [133] рассмотрена возможность анализа ОКТ-изображений для длин волн в интервале 650–1000 нм с фемтосекундным титан-сапфировым лазером в качестве источника. Метод детектирования в ОКТ-системе с использованием спектральной селекции излучения описан в работе [134]. Система детектирования рассеянного излучения состоит из телескопа – расширителя пучка, дифракционной решетки и ПЗС-камеры. Камера регистрирует зависящую от длины волны интенсивность интерференционной картины, формируемой в результате суперпозиции объектного и опорного пучков. Оконное фурье-преобразование интерферограмм использовано для анализа спектров поглощения объектов на различной глубине. Таким образом, спектрально-зависимое низкокогерентное зондирование биотканей позволяет расширить функциональные возможности традиционного ОКТ-метода.

2. Поляризационно-чувствительная ОКТ. Она также обладает дополнительными возможностями по сравнению с классической ОКТ. В работе [135] показано, что поляризационная селекция детектируемого излучения в низкокогерентном интерферометре при формировании интерференционного сигнала с использованием кополяризованной либо кроссполяризованной составляющей может быть применена для дискриминации рассеивающих центров в зондируемом объеме по размерам при построении изображения объекта. Эта возможность обусловлена различиями степени остаточной поляризации рассеянного излучения для рассеивающих сред, состоящих из крупных и мелких частиц.

В [136] рассмотрен иной подход к анализу структурных изменений кожи в результате ожога с использованием поляризационно-чувствительной ОКТ. Метод основан на анализе изменений двулучепреломления коллагена кожи вследствие его термической денатурации. В системе использована модуляция поляризации излучения источника с длиной волны 1310 нм и полушириной спектра 75 нм. Детектирование интерференционных сигналов для ортогонально поляризованных составляющих детектируемого излучения при различных состояниях поляризации освещающего пучка позволяет определить параметры Стокса рассеянного света и тем самым измерить оптическую анизотропию биоткани в зависимости от глубины. Визуализация структуры осуществляется путем реконструкции распределений разности фаз двух ор-

тогонально поляризованных составляющих рассеянного излучения. Анализ наклона зависимости разности фаз от глубины позволяет определить толщину пораженного ожогом слоя.

В работах [137, 138] рассмотрен аналогичный подход к низкокогерентной диагностике различных *in vitro* биотканей (зубной эмали и дентина человека, свиной и куриной сердечной мышцы и др.), также предполагающий измерения оптической анизотропии на различных глубинах. Используемые здесь схемы ОКТ-систем отличаются по способу анализа состояния поляризации рассеянного излучения от системы из работы [136]. В них применяется зондирующее излучение с круговой поляризацией и осуществляется детектирование двух ортогонально поляризованных составляющих рассеянного объектом излучения, причем анализируется не только огибающая сигнала, как в обычной ОКТ-системе, но и амплитудно-фазовые характеристики заполнения для обоих каналов детектирования. В работе [139] также рассмотрено применение поляризационно-чувствительной ОКТ для диагностики ожоговых поражений с использованием измерений оптической анизотропии термически денатурированного коллагена по глубине.

3. Доплеровская ОКТ. Объединение принципов ОКТ и доплеровской диагностики позволяет создать многофункциональные системы для визуализации как морфологических особенностей биотканей, так и гемодинамики в биотканях на различных глубинах. Впервые данный метод был рассмотрен в [140], где продемонстрирована возможность измерения скорости потоков жидкости в модельных средах с разрешением 5 мкм и погрешностью определения скорости 7%. Физические основы зондирования нестационарных рассеивающих сред с динамикой рассеивающих центров, существенно различающейся на разных глубинах, с использованием частично когерентного излучения рассматривались в работе [141]. Исследуемыми объектами служили водные суспензии полистироловых сфер с различными диаметрами, находящиеся в двухсекционной ювенте, которая была разделена стеклянной перегородкой. Выбор зондируемого объема на различных глубинах осуществлялся путем настройки низкокогерентного интерферометра, а исследование динамики рассеивающих центров проводилось с помощью спектрального анализа флуктуаций детектируемого интерференционного сигнала (без сканирования по глубине).

В работе [142] рассмотрена возможность низкокогерентной доплеровской томографии биотканей с использованием пикосекундных зондирующих импульсов лазерного излучения. Установка представляет собой интерферометр Майкельсона, в качестве детектора использован ФЭУ, сигнал которого после низкочастотной фильтрации и усиления подается на вход спектроанализатора. Источниками излучения служили лазерный диод (длина волны $\lambda_c = 675$ нм, длительность импульса $\tau_p = 300$ нс, частота следования импульсов $f_p = 700$ кГц, мощность $P = 0.5$ мВт), вторая гармоника неодимового лазера с модуляцией добротности ($\lambda_c = 527$ нм, $\tau_p = 35$ пс, $f_p = 76$ МГц, $P = 1 - 3$ мВт) и лазер на красителе, накачиваемый неодимовым лазером ($\lambda_c = 578$ нм, $\tau_p = 5 - 8$ пс, $f_p = 3.8$ МГц, $P = 205$ мВт). Для всех источников показана возможность определения скорости рассеивающей среды с точностью, приемлемой для анализа гемодинамики в биотканях. Селекция доплеровского сигнала по глубине

может быть осуществлена сканированием отражателя в опорном канале.

Существенный вклад в развитие данного направления в последнее время сделан группой из Beckman Laser Institute (Университет Калифорнии, США) [143–148], а также другими группами [149]. К числу оригинальных решений при создании новых методов доплеровской ОКТ следует отнести разработку фазочувствительной доплеровской ОКТ-системы [146], а также дальнейшее развитие данного подхода с использованием оптического гильберт-процессора на основе интерференции поляризованных световых пучков [147].

4. Оригинальная модификация ОКТ-метода, называемая авторами «photon horizon technique», рассмотрена в работах [150, 151]. Основная идея иллюстрируется рис.9. Исследуемый объект используется как диффузный отражатель в одном из плеч интерферометра Маха–Цендера. Распределение интенсивности, получаемое в результате суперпозиции рассеянного излучения и опорного пучка, регистрируется ПЗС-камерой. При разности хода рассеянного излучения и опорного пучка менее длины когерентности источника будет наблюдаться спекл-модуляция регистрируемого изображения; в противном случае стохастическая интерференционная модуляция изображения подавляется. Меняя длину опорного плеча, можно выделять составляющие рассеянного света с заданным временем распространения в среде. Для исключения фоновой некогерентной составляющей производится последовательная запись двух изображений при длинах опорного плеча, различающихся на $\lambda/2$ (зеркало в опорном плече установлено на пьезокерамическом трансляторе). Вследствие вычитания изображений локализуется область спекл-модуляции, соответствующая заданному времени распространения излучения в объекте (рис.10). Результаты применения метода для визуализации неоднородностей в биотканях (коже человека) показали возможность его использования для диагностики опухолей кожи (в частности, меланомы).

5. Метод оптической томографии с использованием анализа контраста спеклов при частично когерентном освещении. Этот метод, предложенный в [152], также может быть рассмотрен как специфическая разновидность

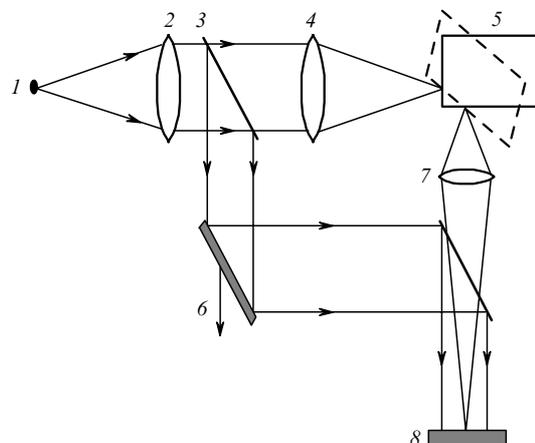


Рис.9. Схема низкокогерентного интерферометра [150, 151]: 1 – частично когерентный источник (лазерный диод в подпороговом режиме); 2 – коллимирующая линза; 3 – светоделительная пластина; 4 – фокусирующая линза; 5 – объект; 6 – подвижное зеркало интерферометра; 7 – объектив; 8 – ПЗС-матрица.

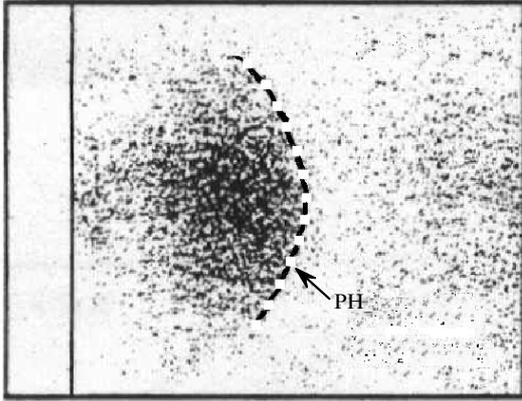


Рис.10. Локализация зоны зондирования по области спекл-модуляции на изображении объекта (PH – photon horizon).

ОКТ, в которой измерение контраста спекл-полей в условиях многократного рассеяния зондирующего квази-монохроматического излучения в зависимости от условий освещения объекта и детектирования рассеянного света может быть использовано для визуализации неоднородностей. Влияние ширины спектра источника на контраст спеклов, наблюдаемых в рассеянном свете, обусловлено подавлением интерференции составляющих рассеянного светового поля при условии, что разность хода этих составляющих превышает длину когерентности излучения. Поскольку распределение путей составляющих зависит от распределений характеристик рассеивающей среды (μ_a и μ'_s) в зондируемом объеме, то измерения контраста спеклов при разных положениях источника и детектора могут быть использованы для восстановления изображения объекта.

6. Оптическая томография с использованием свипирования частоты излучения. Данный метод [153] отличается от традиционной ОКТ применением зондирующего излучения с длиной когерентности, превышающей максимальную разность хода между интерферирующими опорным и объектным пучками. Селекция по глубине достигается за счет перестройки частоты зондирующего излучения по линейному закону в течение цикла сканирования. Обратное фурье-преобразование зависимости выходного сигнала детектора от мгновенной частоты зондирующего излучения позволяет получить автокорреляционную функцию распределения коэффициента отражения по глубине. Свипирование частоты обеспечивается применением управляемого лазерного диода (область перестройки по длинам волн до 0.8 нм около 852 нм) или полупроводникового лазера с дифракционной решеткой в качестве внешнего зеркала резонатора (диапазон перестройки 771–791 нм). Эксперименты с модельными средами продемонстрировали возможность анализа различий в оптических характеристиках (в частности, g) по глубине; предельная глубина зондирования при этом составляет приблизительно $2.4l^*$. Дополнительные возможности в части анализа биотканей (например, параметров кровотока) могут быть получены путем формирования последовательности зондирующих импульсов с чередующимися от импульса к импульсу формами частотных зависимостей (каждый четный импульс имеет постоянную частоту для измерения доплеровских сдвигов, а каждый нечетный – линейно изменяющуюся частоту для визуализации структуры).

2 Квантовая электроника, т.32, № 10

9. Спекл-корреляционная оптическая томография

В случае рассеяния когерентного излучения нестационарными средами имеет место динамическая спекл-модуляция рассеянного света с корреляционными характеристиками флуктуаций интенсивности, зависящими от динамических и оптических параметров среды, а также от геометрии рассеяния. Флуктуации интенсивности обусловлены стохастической интерференцией составляющих рассеянного поля со случайными частотными сдвигами, накопленными в результате последовательных актов рассеяния на движущихся рассеивателях. При известных параметрах среды для данной геометрии рассеяния динамические характеристики рассеивающей системы могут быть определены исходя из измерений времени корреляции флуктуаций интенсивности. Данный подход к исследованию рассеивающих нестационарных сред, получивший название диффузионно-волновой спектроскопии (diffusing-wave spectroscopy, DWS), впервые рассмотрен в работах [7, 154]. Модели, используемые для описания квазиупругого рассеяния света, позволяют установить связь динамических характеристик рассеивающей системы с корреляционной функцией флуктуаций рассеянного поля $G_1(\tau) = \langle E(t)E^*(t+\tau) \rangle$, в то время как в экспериментах обычно измеряется корреляционная функция флуктуаций интенсивности $G_2(\tau) = \langle I(t)I(t+\tau) \rangle$. Взаимосвязь между нормированными корреляционными функциями $g_1(\tau) = G_1(\tau)/G_1(0)$ и $g_2(\tau) = G_2(\tau)/G_2(0)$ дается формулой Зигерта [155] $g_2(\tau) = 1 + \beta|g_1(\tau)|^2$ (коэффициент β определяется условиями детектирования), справедливой для многих рассеивающих систем.

При зондировании рассеивающей среды с динамическими неоднородностями (областями, в которых подвижность рассеивателей отличается от средней по образцу) анализ корреляционных характеристик сигнала при разных положениях источника и приемника может быть использован для реконструкции изображения объекта с помощью диффузионной модели переноса корреляции в динамической рассеивающей среде [156]. В рамках этого подхода пространственно-временная эволюция $G_1(\mathbf{r}, \tau)$ в нестационарной оптически плотной среде описывается диффузионным уравнением

$$[D\nabla^2 - c\mu_a - \gamma^2(\tau)]G_1(\mathbf{r}, \tau) = -cS(\mathbf{r}), \quad (14)$$

где член $\gamma^2(\tau)$, определяемый динамическими свойствами среды, описывает дополнительный эффект «поглощения» корреляции в нестационарной среде. При использовании непрерывного источника когерентного излучения проблема восстановления распределения динамических характеристик, описываемых параметром $\gamma^2(\mathbf{r}, \tau)$, сводится к решению стандартной проблемы ОДТ.

В работе [157] продемонстрирована возможность использования подобного подхода для получения томограмм рассеивающего объекта с динамической неоднородностью. Модельным объектом служил цилиндр из полимерного материала с наполнителем на основе двуокиси титана. Сферическая полость внутри цилиндра была заполнена водным раствором интралипида (рис.11). Оптические параметры (μ'_s и μ_a) цилиндра и раствора выбирались одинаковыми, что исключало возможность визуализации полости с помощью, например, методов модуляционной ОТ. Коэффициент диффузии рассеивате-

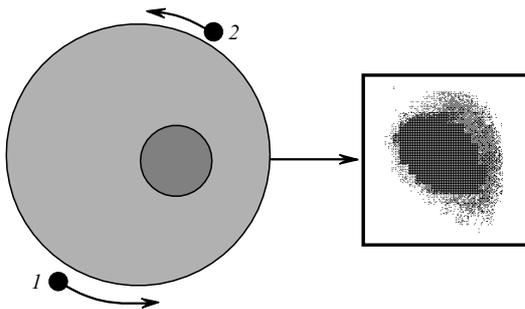


Рис.11. Томограмма динамической неоднородности в модельном объекте: 1 – источник когерентного излучения; 2 – детектор; стрелками показано направление сканирования объекта.

лей для нестационарной среды составлял $1.5 \times 10^{-8} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$. Лазерное излучение вводилось в объект при помощи световода, регистрация рассеянного излучения осуществлялась в точках, равномерно распределенных (через 30°) по поверхности образца. Детектором служил ФЭУ в режиме счета фотонов. Изображение динамической неоднородности восстанавливалось с использованием вычисленных значений коэффициента диффузии как параметра визуализации (рис.11).

При оценке возможности использования метода корреляционной томографии для диагностики в медицине следует учитывать, что примеры его применения связаны прежде всего с анализом гемодинамики в биотканях на глубинах зондирования порядка 1–2 мм. В частности, была показана возможность диагностики ожогов с целью определения толщины некротического слоя [158]. Принцип диагностики иллюстрируется на рис.12. Клинические эксперименты с животными продемонстрировали эффективность метода при зондировании ожогов кожи на глубину до 1.5 мм; в качестве диагностического параметра выбрано среднее значение наклона корреляционной функции в заданном интервале τ .

Специфической разновидностью спекл-корреляционной функциональной диагностики биотканей с выраженной динамикой рассеивателей (например, эритроцитов в микроциркуляторном русле) является метод на основе локальных оценок контраста усредненных по времени спекл-модулированных изображений объекта, отличающийся простотой реализации. Принцип метода, предложенного в работах [159–162] (рис.13) и получившего название LASCA (laser speckle contrast analysis), заключается в применении эргодической гипотезы к ограниченным областям динамических спекл-полей, для которых пространственные распределения мгновенных значений интенсивности являются статистически однородными. Оценки статистических моментов флуктуаций интенсивности, получаемые при обработке временных реализаций детектируемого сигнала в фиксированной точке, эквивалентны оценкам, получаемым по пространственным реализациям значений интенсивности (при условии локальной стационарности флуктуаций в течение времени анализа). Это позволяет установить взаимосвязь между контрастом $V(T) = \sigma_1(T)/\langle I \rangle$ динамической спекл-картины, регистрируемой с заданным временем экспозиции T ($\sigma_1(T)$ – зависящее от времени экспозиции среднеквадратичное значение флуктуаций яркости регистрируемого спекл-модулированного изображения; $\langle I \rangle$ – средняя яр-

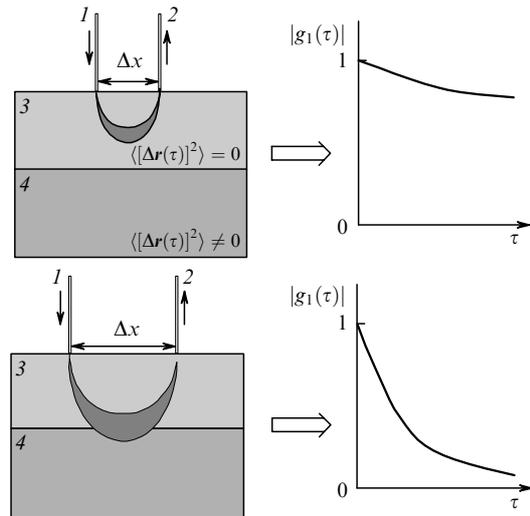


Рис.12. Принцип спекл-корреляционного зондирования пораженных ожогом биотканей:

1 – световод-источник зондирующего когерентного излучения; 2 – световод-приемник рассеянного излучения; 3 – пораженный ожогом некротический слой ткани (движение рассеивающих центров (эритроцитов) отсутствует, $\langle [\Delta r(\tau)]^2 \rangle = 0$ – дисперсия смещений рассеивающих центров за время τ); 4 – глубокий слой здоровой ткани с выраженной динамикой эритроцитов ($\langle [\Delta r(\tau)]^2 \rangle \neq 0$). Увеличение глубины зондирования при возрастании расстояния Δx между источником и приемником приводит к проникновению зондирующего излучения в слой здоровой ткани и к более быстрому спаду автокорреляционной функции флуктуаций амплитуды рассеянного поля с ростом τ .

кость изображения), и временем декорреляции [162], определяемым средним смещением рассеивающих центров на расстояние порядка длины волны излучения.

В ряде работ, посвященных исследованиям динамики эритроцитов в микроциркуляторном русле с использованием данного метода, применяется модель динамического рассеяния с лоренцевским спектром флуктуаций интенсивности и соответственно экспоненциальной фор-

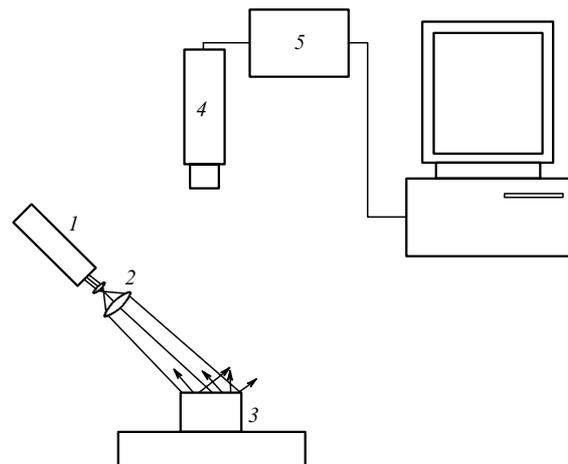


Рис.13. Визуализация нестационарных рассеивающих сред с использованием локальных оценок контраста усредненных по времени спекл-модулированных изображений:

1 – лазер; 2 – телескопическая система (расширитель пучка); 3 – исследуемый объект; 4 – ПЗС-камера; 5 – плата ввода видеосигнала в компьютер.

мой $g_2(\tau)$. Данная модель качественно верно описывает спад корреляции флуктуаций интенсивности для рассматриваемого случая. Между временем экспозиции T_d , соответствующим заданному спаду контраста усредненного по времени спекл-модулированного изображения и таким параметром системы, как средняя по зондируемому слою скорость эритроцитов $\langle v \rangle$, устанавливается простая взаимосвязь: $T_d = K\lambda/\langle v \rangle$, где K – нормировочный коэффициент. Время экспозиции T_d определяется в результате записи последовательности изображений поверхности объекта с различными значениями T . Актуальным вопросом является измерение абсолютных значений $\langle v \rangle$, что требует знания коэффициента K , сложным образом зависящего от оптических характеристик биоткани. Калибровка системы с использованием моделей не всегда приводит к адекватным результатам при переходе на реальные объекты. К источникам погрешностей измерения $\langle v \rangle$ данным методом относятся [163]:

- депolarизация рассеянного излучения, уменьшающая измеряемое значение контраста;
- отличие от нуля контраста для значений T , существенно превышающих время декорреляции, что обусловлено наличием в зондируемом объеме не только подвижных, но и неподвижных рассеивателей (это приводит к существенному остаточному контрасту);
- инструментальные составляющие систематической погрешности, связанные с темновым сигналом и шумами ПЗС-камеры, нелинейностью ее передаточной характеристики и т. д.

В связи с этим в подобных системах диагностики гемодинамики в поверхностных слоях биотканей анализируются, как правило, относительные изменения скорости $\langle v \rangle$ в объеме. Метод позволяет осуществить функциональную визуализацию исследуемого участка путем реконструкции двумерных распределений локальных оценок $V(T)$ при фиксированном T . Размеры пространственного окна для локальных оценок $V(T)$ должны существенно превышать средний размер спеклов в плоскости изображения. Важным условием, определяющим качество формируемого изображения, является выбор оптимального размера спекла, обеспечивающего минимальные искажения статистики флуктуаций интенсивности при заданных пространственном разрешении, чувствительности и динамическом диапазоне применяемой ПЗС-камеры. С использованием цветовой или яркостной кодировки изображения могут быть получены двумерные распределения уровня микроциркуляции крови в поверхностных слоях биотканей. Примеры использования систем LASCA для функциональной диагностики и визуализации различных тканей и органов обсуждались рядом исследователей. С точки зрения внедрения в клиническую практику систем мониторинга в церебральной хирургии представляет интерес сравнение обсуждаемого метода с другими методами контроля гемодинамики в коре мозга, выполненными на мозге крысы [164]. В [165] обсуждается методика диагностики ожогов на основе модифицированного метода LASCA с использованием локализованного источника излучения (сфокусированного лазерного пучка).

10. Оптоакустическая томография

Оптотермический или оптоакустический отклик биоткани на лазерное импульсное воздействие является ос-

новой томографии, сочетающей достоинства оптического, теплового и акустического зондирования ткани [166–168]. Импульсный нагрев биоткани приводит к изменению ее собственного теплового излучения, что лежит в основе импульсной оптотермической радиометрии (ОТР). Максимум теплового излучения живых объектов находится в спектральной области 10 мкм. ОТР-сигнал определяется распределением температуры по объекту, теплопроводностью среды, коэффициентами поглощения на длинах волн зондирования μ_a и теплового излучения μ'_a (10 мкм). По измеренному ОТР-сигналу определяют пространственное распределение μ_a [169].

Время термического отклика τ_T объекта размером h приблизительно равно h^2/a_T . Для многих биотканей типичное значение коэффициента температуропроводности $a_T \approx 1.2 \times 10^{-7} \text{ м}^2/\text{с}$ [166, 167], поэтому время тепловой релаксации, определяемое размерами объекта, составляет, например, для клетки около 10^{-3} с , а для мелкой артерии – приблизительно $3 \times 10^{-2} \text{ с}$. При воздействии короткими импульсами света (значительно меньшими по длительности, чем τ_T) в биоткани создается распределение температуры, отражающее ее структуру.

Регистрация поверхностной температуры (ОТР-сигнала) в зависимости от времени позволяет восстановить распределение температуры в объеме и тем самым визуализировать скрытые неоднородности, обусловленные локальными изменениями коэффициента поглощения на длине волны зондирующего излучения [169]. Основным недостатком этого метода является значительная сложность реконструкции распределения температуры по глубине.

Напротив, импульсный оптоакустический (ОА) метод позволяет получать надежные результаты в случае значительного рассеяния света [167, 168, 170]. Метод основан на тепловом механизме генерации звуковых колебаний в среде за счет поглощения импульсного лазерного излучения и регистрации временного профиля индуцированных волн давления. ОА сигнал пропорционален коэффициенту поглощения и локальной интенсивности света. При длительности лазерного импульса, значительно меньшей времени распространения акустических волн в среде, профиль индуцированного временного распределения давления в среде отображает профиль пространственного распределения оптического поглощения среды [170].

Принцип действия ОА томографа показан на рис.14. На рис.15 приведены результаты *in vivo* диагностики модельной карциномы ткани молочной железы [170]. Возбуждаемый за счет поглощения короткого лазерного импульса на макронеоднородности ткани (опухоли) акустический импульс регистрируется детектором. По скорости распространения акустического импульса и его форме судят о характере, размерах и глубине залегания макронеоднородности.

Регистрируя изменение во времени акустического сигнала, возбуждаемого лазерными импульсами, можно визуализировать локальные патологические изменения структуры биотканей на глубине до 2–3 мм с пространственным разрешением порядка 20 мкм.

Метод на основе взаимодействия лазерного излучения с биотканями, одновременно зондируемыми ультразвуком, также применим для медицинской томографии [171, 172].

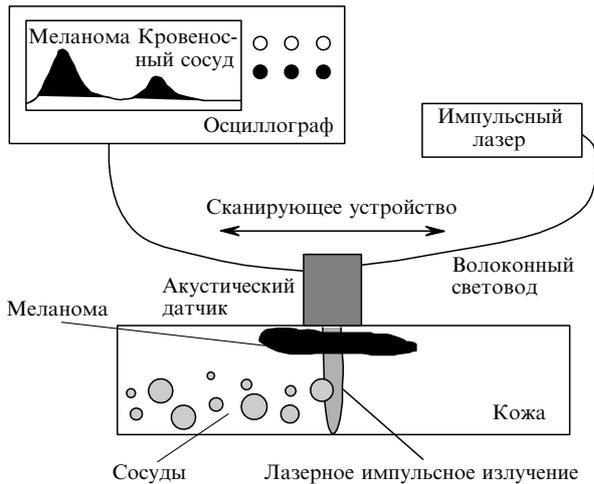


Рис. 14. Принципиальная схема импульсного ОА томографа [170].

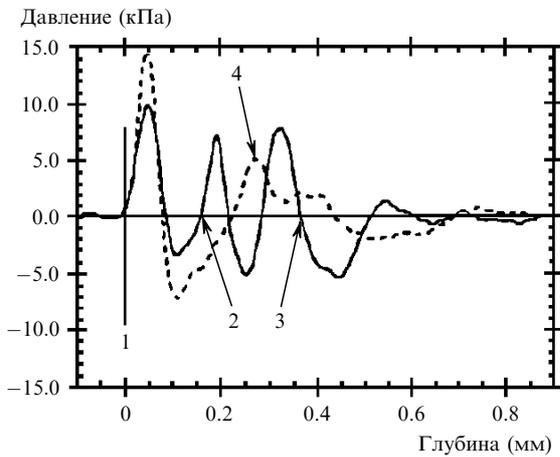


Рис. 15. Измеренный *in vivo* ОА сигнал для опухоли и здоровой ткани на модели карциномы молочной железы (мышь) [170]: 1 – поверхность кожи; 2 – передняя часть опухоли; 3 – задняя часть опухоли; 4 – здоровая ткань.

11. Методы управления оптическими свойствами биотканей применительно к проблеме оптической томографии

Традиционным методом улучшения качества изображений в абсорбционной томографии является использование контрастирующих агентов, обладающих способностью накапливаться в диагностируемых тканях. Данный метод может быть использован и в ОДТ путем введения в ткани поглотителей с максимумом поглощения на длине волны зондирующего излучения, а также флуоресцирующих препаратов [173–180].

Другой подход к управлению оптическими свойствами диагностируемых тканей может быть основан на контролируемом изменении коэффициента рассеяния биоткани. Уменьшение коэффициента рассеяния основного компонента ткани, внутри которого расположены неоднородности, может существенно расширить возможности оптической томографии, особенно при использовании когерентных методов [167, 181–191]. Коэффициент рассеяния μ_s определяется величиной $m = n_s/n_0$

[167] – относительным показателем преломления рассеивателей n_s и окружающего вещества n_0 : $\mu_s \propto (m - 1)^2$. При этом небольшие изменения m вызывают значительные изменения коэффициента рассеяния и соответственно интенсивности прошедшего через объект зондирующего пучка (числа баллистических фотонов) [181, 183]. Типичные значения показателя преломления компонентов клеток и биотканей в видимой и ближней ИК областях таковы: 1.35–1.36 (внеклеточная жидкость), 1.36–1.37 (цитоплазма), 1.46 (мембрана) 1.38–1.41 (ядро), 1.38–1.41 (митохондрии и другие органеллы), 1.47 (гидратированный коллаген), 1.6–1.7 (меланин) [167].

Существенное иммерсионное просветление склеры и кожи человека и животных было достигнуто в исследованиях *in vitro* и *in vivo* с помощью ряда биологически совместимых химических агентов (рентгеноконтрастных веществ на основе сахаров – верографина и тразографа, а также глюкозы, глицерина, пропиленгликоля и др.) [167, 181–186]. Иммерсионное просветление особенно важно для оптической когерентной томографии, когда удается существенно увеличить глубину зондирования и повысить контраст изображения [187–191]. На рис.16 приведены *in vitro* ОКТ-изображения ткани желудка человека до и после аппликации иммерсионного агента [188]. Видно, что оптическая иммерсия значительно повышает глубину и качество изображения. Без аппликации пропиленгликолем глубина зондирования составляет всего 0.4 мм, с аппликацией она достигает 1.4 мм. Существенное повышение контраста изображения при наочной аппликации глицерина демонстрируют *in vivo* изображения кожи крысы (рис.17) [186]. Глубинные профили ОКТ-сигнала, соответствующие изображениям для одной и той же точки поверхности, показывают появление новых деталей по мере действия агента.

После инъекции 40 %-ной глюкозы в кожу (дерму) добровольца в течение 13 мин затухание ОКТ сигнала μ_t на длине волны 820 нм уменьшается с 1.97 до 1.21 мм^{-1} , что соответствует более чем двукратному увеличению коэффициента пропускания ткани, $I/I_0 \exp(-\mu_t)$ [189].

Концепция иммерсионного просветления слоя движущейся или седиментирующей крови была успешно реализована применительно к ОКТ-диагностике [190, 191].

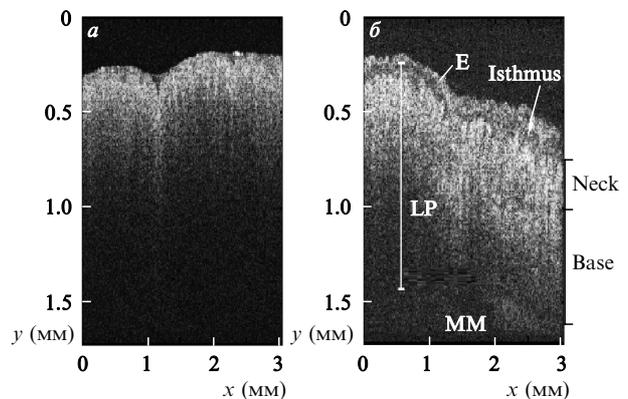


Рис. 16. *In vitro* ОКТ-изображения ткани дна желудка человека в норме (вертикальная ось – поперечное сканирование образца; горизонтальная ось – продольное сканирование) без аппликации (а) и с аппликацией иммерсионной жидкости (80 %-ный раствор пропиленгликоля) (б); E – эпителий, LP – lamina propria, isthmus – перешеек, MM – мышечная часть слизистой оболочки, Neck – сужение, Base – основание [188].

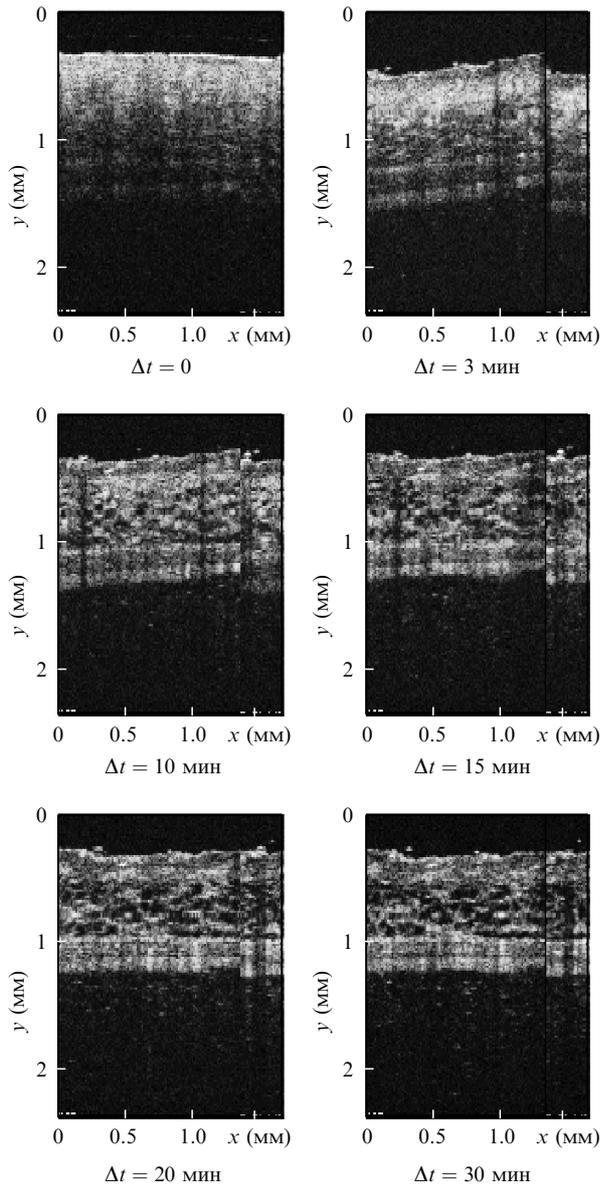


Рис.17. Динамические *in vivo* ОКТ-изображения кожи крысы в различные моменты времени ($\Delta t = 0 - 30$ мин) после кожной аппликации глицерина [186]; по вертикали – поперечное сканирование, по горизонтали – продольное.

Такое просветление важно для получения четких изображений стенки сосуда (атеросклеротической бляшки) через слой крови с помощью ОКТ-эндоскопов. Высокой эффективностью в данном случае обладают, например, глицерин и декстран [191].

12. Заключение

Таким образом, в настоящее время можно выделить две основные группы методов ОТ для медицинских приложений: некогерентные методы, используемые для зондирования тканей на глубинах порядка нескольких сантиметров и характеризуемые относительно невысоким пространственным разрешением (порядка 1 мм), и когерентные методы, позволяющие анализировать структуру биотканей и их динамику с пространственным разрешением до 1 мкм на глубинах порядка транспортной

длины, составляющей для биотканей приблизительно 0.5–1.5 мм. Оба подхода в настоящее время востребованы клинической медициной, о чем свидетельствует значительное число работ, посвященных диагностическим применениям различных модификаций как ОДТ, так и ОКТ. Общей тенденцией развития ОДТ- и ОКТ-технологий в медицине является создание многофункциональных диагностических систем, позволяющих контролировать различные характеристики тканей и органов в процессе их жизнедеятельности.

Оптоакустическая томография перспективна для локализации оптических неоднородностей в сравнительно толстых тканях (до 1 см) с пространственным разрешением на уровне размеров клетки (20–50 мкм).

Метод оптической иммерсии позволяет существенно (в несколько раз) увеличить глубину зондирования биотканей и значительно повысить качество (контраст) изображений.

Данный обзор подготовлен при поддержке РФФИ (гранты № 00-15-96667, 01-02-17493) и Американского фонда гражданских исследований и развития (грант REC-006).

1. Welch A.J., van Gemert M.C.J. (Eds). *Tissue optics* (N.Y.: Academic, 1992).
2. Muller G., Chance B., Alfano R., et al. (Eds). *Medical optical tomography: functional imaging and monitoring* (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 1993, v. IS11).
3. Тучин В.В. *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях* (Саратов: изд-во саратовского ун-та, 1998).
4. Yaroslavsky A.N., et al. In: *Handbook of optical medical diagnostics*. Ed. by Tuchin V.V. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2002, p. 369).
5. Ishimaru A. *Wave propagation and scattering in random media* (New York: Academic Press, 1978).
6. Исимару А. *Труды ИИЭР*, **65**, № 7, 46 (1977).
7. Maret G., Wolf P.E. *Z. Phys. B*, **65**, 409 (1987).
8. MacKintosh F.C., John S. *Phys. Rev. B*, **40**, 2382 (1989).
9. Arridge S.R., Cope M., Delpy D.T. *Phys. Med. Biol.*, **37**, 1531 (1992).
10. Perelman L.T., et al. *Phys. Rev. Lett.*, **72**, 1341 (1994).
11. Bicoût D., et al. *Phys. Rev. E*, **49**, 1767 (1994).
12. Зимняков Д.А., Тучин В.В. *Письма в ЖЭТФ*, **67**, № 7, 476 (1998).
13. Zimnyakov D.A. *Waves in Random Media*, **10**, 417 (2000).
14. Sobolev V.V. *A Treatise on Radiative Transfer* (Princeton, NJ: van Nostrand-Reinhold, 1963).
15. Hammersley J.M., Handscomb D.C. *Monte Carlo methods* (New York: J. Wiley & Sons, 1964).
16. Jacques S.L., Wang L. In: *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue* (New York: Plenum Press, 1995, p. 73).
17. Wang L., Jacques S.L. *Med. Phys.*, **21**, 1081 (1994).
18. Vera M.U., Lemieux P.-A., Durian D.J. *J. Opt. Soc. Am.*, **14**, 2800 (1997).
19. Feng S., Zeng F., Chance B. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **1888**, 78 (1993).
20. Yoo K.M., Liu F., Alfano R.R. *Phys. Rev. Lett.*, **64**, 2647 (1990).
21. Freund I., Kaveh M., Rosenbluh M. *Phys. Rev. Lett.*, **60**, 1130 (1988).
22. Zhu J.X., Pine D.J., Weitz D.A. *Phys. Rev. A*, **44**, 3948 (1991).
23. Vera M.U., Durian D.J. *Phys. Rev. E*, **53**, 3215 (1996).
24. Haskell R.C., et al. *J. Opt. Soc. Am. A*, **11**, 2727 (1994).
25. Durduran T., et al. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 3358 (1997).
26. Furutsu K., Yamada Y. *Phys. Rev. E*, **50**, 3634 (1994).
27. Furutsu K. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 267 (1997).
28. Bassani M., et al. *Opt. Lett.*, **22**, 853 (1997).
29. Case M.C., Zweifel P.F. *Linear transport theory* (New York: Addison-Wesley, 1967).
30. Lemieux P.-A., Vera M.U., Durian D.J. *Phys. Rev. E*, **57**, 4498 (1998).
31. Patterson M.S., Chance B., Wilson B.C. *Appl. Opt.*, **28**, 2331 (1989).
32. Andersson-Engels S., et al. *Opt. Lett.*, **15**, 1179 (1990).
33. Hebden J.C., Kruger R.A., Wong K.S. *Appl. Opt.*, **30**, 788 (1991).
34. Das B.B., Yoo K.M., Alfano R.R. *Opt. Lett.*, **18**, 1092 (1993).

35. Любимов В.В. *Оптика и спектроскопия*, **76**, 814 (1994).
36. De Haller E.V. *J. Biomed. Opt.*, **1**, 7 (1996).
37. Cubeddi R., et al. *Appl. Opt.*, **35**, 4533 (1996).
38. Cai W., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 13561 (1996).
39. Воробьев Н.С. и др. *Квантовая электроника*, **24**, 667 (1997).
40. Терещенко С.А. и др. *Квантовая электроника*, **25**, 853 (1998).
41. Воробьев Н.С. и др. *Квантовая электроника*, **28**, 181 (1999).
42. Hyde S.C.W., et al. *Opt. Commun.*, **122**, 111 (1996).
43. Hauger C., et al. *Opt. Commun.*, **131**, 351 (1996).
44. Inaba H. In: *Medical optical tomography: functional imaging and monitoring*. Ed. by Muller G., Chance B., et al. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 1993, v. IS11, p. 317).
45. Schmitt J.M., Gandjbakhche A.H., Bonnar R.F. *Appl. Opt.*, **31**, 6535 (1992).
46. Demos S.G., Alfano R.R. *Opt. Lett.*, **21**, 161 (1996).
47. Wang L., et al. *Science*, **253**, 769 (1991).
48. Wang L., et al. *Opt. Lett.*, **18**, 241 (1993).
49. Wang L.M., Ho P.P., Alfano R.R. *Appl. Opt.*, **32**, 535 (1993).
50. Duncan M.C., et al. *Opt. Lett.*, **16**, 1868 (1993).
51. Mahon R., et al. *Appl. Opt.*, **18**, 7425 (1993).
52. Le Tolguenes G., Devaus F., Lantz E. *Opt. Lett.*, **24**, 1047 (1999).
53. Benaron D.A., Stevenson D.K. *Science*, **259**, 1463 (1993).
54. Eda H., et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **70**, 3595 (1999).
55. Schmitt F.E.W., et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **71**, 256 (2000).
56. Schweiger M., Arridge S.R. In: *OSA trends in optics and photonics. Advances in optical imaging and photon migration*. Ed. by Altano R.R., Fujimoto G.G. (Washington DC, USA: Optical Society of America, 1996, v. 2, p. 263).
57. Rodriguez J., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **3659**, 375 (1999).
58. Rodriguez J., et al. In: *Handbook of optical medical diagnostics*. Ed. by Tuchin V.V. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2002, p. 357).
59. Grosenick D., et al. *Appl. Opt.*, **38**, 2927 (1999).
60. Hintz S.R., et al. *Pediatr. Res.*, **45**, 54 (1999).
61. Fantini S., Franceschini M.A., Gratton E. *J. Opt. Soc. Am. B*, **11**, 2128 (1994).
62. O'Leary M.A., et al. *Phys. Rev. Lett.*, **69**, 2658 (1992).
63. Schmitt J.M., Knuttel A., Knutson J.R. *J. Opt. Soc. Am. A*, **9**, 1832 (1992).
64. Tromberg B.J., et al. *Appl. Opt.*, **32**, 607 (1993).
65. Yodh A., Chance B. *Phys. Today*, **48**, 34 (1995).
66. Lakowicz J.R., Berndt K.W. *Chem. Phys. Lett.*, **166**, 246 (1990).
67. Berndt K.W., Lakowicz J.R. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **1431**, 149 (1991).
68. Gratton E., et al. *Bioimaging*, **1**, 40 (1993).
69. Knuttel A., Schmitt J.M., Knutson J.R. *Appl. Opt.*, **32**, 381 (1993).
70. Sevick E.M., et al. *Appl. Opt.*, **33**, 3562 (1994).
71. Li X.D., et al. *Opt. Lett.*, **22**, 573 (1997).
72. Yao Y.Q., et al. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 325 (1997).
73. Gotz L., et al. *Akt. Radiol.*, **8**, 31 (1998).
74. Chance B., et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **69**, 3457 (1998).
75. Chance B., et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **67**, 4324 (1996).
76. Erickson M.G., Reynolds J.S., Webb K.J. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 3083 (1997).
77. Chance B., et al. *Opt. Express*, **2**, 411 (1998).
78. *OSA trends in optics and photonics. Advances in optical imaging and photon migration*. Ed. by Fujimoto G.G., Patterson M.S. (Washington DC, USA: Optical Society of America, 1998, v. 21).
79. Chance B., et al. *OSA TOPS*, **21**, 218 (1998).?
80. Чурсин Д.А., Шувапов В.В., Шутлов И.В. *Квантовая электроника*, **29**, 83 (1999).
81. Маликов Е.В. и др. *Квантовая электроника*, **30**, 78 (2000).
82. Jarry G., et al. *J. Biomed. Eng.*, **6**, 70 (1984).
83. Jackson P.C., et al. *Brit. J. Radiol.*, **60**, 375 (1987).
84. Tamura M., Nomura Y., Hazeki O. *Rev. Laser Eng. (Jpn)*, **15**, 74 (1987).
85. Oda I., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **1431**, 284 (1991).
86. Luo Q., Nioka S., Chance B. In: *OSA trends in optics and photonics. Advances in optical imaging and photon migration*. Ed. by Altano R.R., Fujimoto G.G. (Washington DC, USA: Optical Society of America, 1996, v. 2, p. 155).
87. Luo Q., Nioka S., Chance B. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2979**, 84 (1997).
88. Chance B., et al. *Phil. Tran. R. Soc. Lond. B*, **352**, 707 (1997).
89. Luo Q., et al. In: *Handbook of optical medical diagnostics*. Ed. by Tuchin V.V. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2002, p. 455).
90. Cheng X., Boas D.A. *Opt. Express*, **3**, 118 (1998).
91. Arridge S.R. *Inverse Problems*, **15**, R41 (1999).
92. Boas D.A. *OSA Trends in Optics and Photonics*, **21**, 183 (1998).?
93. Markel V.A., Schotland J.C. *J. Opt. Soc. Am. A*, **18**, 1336 (2001).
94. Jong C., et al. *J. Opt. Soc. Am. A*, **16**, 2400 (1999).
95. Hielscher A.H., et al. *OSA Trends in Optics and Photonics*, **21**, 156 (1998).
96. Boas D.A., et al. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **91**, 4887 (1994).
97. Волконский В.Б. и др. *Оптика и спектроскопия*, **86**, 253 (1999).
98. Волконский В.Б. и др. *Оптика и спектроскопия*, **87**, 422 (1999).
99. Кравченко О.В., Любимов В.В. *Оптика и спектроскопия*, **89**, 107 (2000).
100. Kalintsev A.G., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **4242**, 275 (2001).
101. Третьяков Е.В., Шувапов В.В., Шутлов И.В. *Квантовая электроника*, **31**, 1095 (2001).
102. Shuvalov V.V., et al. *Laser Phys.*, **11**, 636 (2001).
103. Arridge S.R. In: *OSA Tech. digest on biomed. opt.* (Washington DC, USA: Optical Society of America, 1999, p. 206).
104. Fercher A.F., Roth E. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **658**, 48 (1986).
105. Fercher A.F., Mengedoh K., Werner W. *Opt. Lett.*, **13**, 186 (1988).
106. Fercher A.F., et al. *Am. J. Ophthalmol.*, **116**, 113 (1993).
107. Fercher A.F., et al. *Opt. Commun.*, **117**, 43 (1995).
108. Huang D., et al. *Science*, **254**, 1178 (1991).
109. Swanson E.A., et al. *Opt. Lett.*, **18**, 1864 (1993).
110. Swanson E.A., et al. *Opt. Lett.*, **17**, 151 (1992).
111. Sergeev A.M., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2328**, 144 (1994).
112. Геликонов В.М. и др. *Письма в ЖЭТФ*, **61**, 149 (1995).
113. Gladkova N.D., et al. *EULAR J.*, **24**, 256 (1995).
114. Sergeev A.M., et al. *Opt. Express*, **1**, 432 (1997).
115. Roper S.N., et al. *J. Neurosci. Meth.*, **80**, 91 (1998).
116. Fercher A.F. *J. Biomed. Opt.*, **1**, 157 (1996).
117. Walti R., et al. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 253 (1998).
118. Podoleanu A.G., et al. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 12 (1998).
119. Baumgartner A., et al. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 45 (1998).
120. Drexler W., et al. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 55 (1998).
121. DiCarlo C.D., et al. *J. Biomed. Opt.*, **4**, 450 (1999).
122. Drexler W., et al. *Opt. Lett.*, **24**, 1221 (1999).
123. Tearney G.J., et al. *Science*, **276**, 2037 (1997).
124. Tearney G.J., et al. *Opt. Lett.*, **21**, 543 (1996).
125. Boppart S.A., et al. *Opt. Lett.*, **22**, 1618 (1997).
126. Feldchtein F.I., et al. *Opt. Express*, **3**, 257 (1998).
127. Kamensky V., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2981**, 94 (1997).
128. Kamensky V., et al. *J. Biomed. Opt.*, **4**, 137 (1999).
129. Sobol E.N., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **3907**, 504 (2000).
130. Boppart S.A., et al. *J. Surgical Research*, **82**, 275 (1999).
131. Pan Y., Farkas D.L. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 446 (1998).
132. Schmitt J.M., Xiang S.H., Yung K.M. *J. Opt. Soc. Am.*, **15**, 2286 (1998).
133. Morgner U., et al. *Opt. Lett.*, **24**, 411 (1999).
134. Leitgeb R., et al. *Opt. Lett.*, **25**, 820 (2000).
135. Schmitt J.M., Xiang S.H. *Opt. Lett.*, **23**, 1060 (1998).
136. Park B.H., et al. *J. Biomed. Opt.*, **6**, 474 (2001).
137. Everett M.J., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **3251**, 184 (1998).
138. Hitzengerger C.K., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **4619–24**, (2002).
139. De Boer J.F., et al. *Opt. Express*, **3**, 212 (1998).
140. Wang X.J., Milner T.E., Nelson J.S. *Opt. Lett.*, **20**, 1337 (1995).
141. Boas D.A., Bizheva K.K., Siegel A.M. *Opt. Lett.*, **23**, 319 (1998).
142. Kolinko V.G., et al. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 187 (1998).
143. Chen Z., et al. *Opt. Lett.*, **22**, 64 (1997).
144. Chen Z., et al. *Opt. Lett.*, **22**, 1119 (1997).
145. Zhao Y., et al. *Opt. Lett.*, **25**, 1358 (2000).
146. Zhao Y., et al. *Opt. Lett.*, **25**, 114 (2000).
147. Zhao Y., et al. *Opt. Lett.*, **27**, 98 (2002).
148. Ren H., et al. *Opt. Lett.*, **27**, 409 (2002).
149. Barton J.K., Welch A.J., Izatt J.A. *Opt. Express*, **3**, 251 (1998).
150. Hausler G., et al. *Opt. Lett.*, **21**, 1087 (1996).
151. Eigensee A., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2925**, 169 (1996).

152. Thompson C.A., Webb K.J., Weiner A.M. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 2269 (1997).
153. Habelhand U.H.P., Blazek V., Schmitt H.J. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 259 (1998).
154. Pine D.J., et al. *Phys. Rev. Lett.*, **60**, 1134 (1988).
155. *Спектроскопия оптического смещения и корреляция фотонов*. Под ред. Г.Камминса и Э.Пайка (М.: Мир, 1978).
156. Ackerson B.J., et al. *Thermophys. and Heat Trans.*, **6**, 577 (1992).
157. Boas D.A., Campbell L.E., Yodh A.G. *Phys. Rev. Lett.*, **75**, 1855 (1995).
158. Boas D.A., Yodh A.G. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 192 (1997).
159. Fercher A.F., Briers J.D. *Opt. Commun.*, **37**, 326 (1981).
160. Briers J.D., Fercher A.F. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **369**, 22 (1982).
161. Briers J.D., Webster S. *Opt. Commun.*, **116**, 36 (1995).
162. Briers J.D., Webster S. *J. Biomed. Opt.*, **1**, 174 (1996).
163. Zimnyakov D.A., Briers J.D., Tuchin V.V. In: *Handbook of optical medical diagnostics*. Ed. by Tuchin V.V. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2002, p.987).
164. Dunn A.K., et al. *J. of Cerebral Blood Flow and Metabolizm*, **21**, 195 (2001).
165. Sadhwani A., et al. *Appl. Opt.*, **35**, 5727 (1996).
166. Braslavsky S.E., Heihoff K. In: *Handbook of organic photochemistry*. Ed. by Scaiano J.C. (Boca Raton: CRC Press, 1989).
167. Tuchin V.V. *SPIE tutorial texts in optical engineering* (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2000, TT38).
168. Karabutov A.A., Oraevsky A.A. In: *Handbook of optical medical diagnostics*. Ed. by Tuchin V.V. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2002, p. 585).
169. Sathyam U.S., Prahl S.A. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 251 (1997).
170. Oraevsky A.A. *IEEE/LEOS Newsletter*, **10**, 17 (1996).
171. Wang L. *Photochem. Photobiol.*, **67**, 41 (1998).
172. Kempe M., et al. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 1151 (1997).
173. Ho P.P., et al. *Appl. Opt.*, **28**, 2304 (1989).
174. Khused Yu.D., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2078**, 521 (1993).
175. Chance B., et al. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **90**, 3423 (1993).
176. Burns D.H. *Appl. Spectr.*, **48**, № 5, A12 (1994).
177. Podgaetsky V.M., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2326**, 153 (1994).
178. Li X., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2389**, 789 (1995).
179. Riefke B., et al. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **2927**, 199 (1996).
180. Воробьев Н.С. и др. *Квантовая электроника*, **29**, 261 (1999).
181. Зимняков Д.А., Максимова И.Л., Тучин В.В. *Оптика и спектроскопия*, **88**, 1026 (2000).
182. *Handbook of optical biomedical diagnostics*. Ed. by Tuchin V.V. (Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2002, PM107).
183. Максимова И.Л., Зимняков Д.А., Тучин В.В. *Оптика и спектроскопия*, **89**, 86 (2000).
184. Тучин В.В. и др. *Письма в ЖТФ*, **27**, 11 (2001).
185. Vargas G., et al. *J. Laser. Surg. Med.*, **24**, 138 (1999).
186. Wang R.K., et al. *J. Opt. Soc. Am. B*, **18**, 948 (2001).
187. Wang R.K., Elder J.B. *Laser Physics*, **12**, 611 (2002).
188. Wang R.K., Elder J.B. *Lasers in Surgery and Medicine*, **30**, 201 (2002).
189. Lakodina N.A., et al. In: *OSA Trends in Optics and Photonics (TOPS)*, **73**, 550 (2002).
190. Brezinski M., et al. *Circulation*, **103**, 1999 (2001).
191. Tuchin V.V., Xu X., Wang R.K. *Appl. Opt.*, **41**, 258 (2002).