

ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПТИЧЕСКОЙ ОКСИМЕТРИИ

Д.А. Рогаткин

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва

В статье рассматриваются физические принципы метода медицинской оптической оксиметрии – неинвазивного диагностического метода, предназначенного для оценки процентного содержания оксигемоглобина в крови испытуемого. Показано, как на основе базовых принципов фотометрии по регистрируемым потокам излучения можно методами абсорбционной спектроскопии и спектроскопии упругого рассеяния вычислять соотношение оксигенированных и неоксигенированных фракций гемоглобина в крови. Приведены все необходимые термины и определения. Обсуждаются вопросы точности и метрологии таких измерений, а также проблемы построения вычислительных алгоритмов и методик измерений для многокомпонентных биологических тканей и сред в условиях наличия светорассеяния в среде.

Ключевые слова: свет, длина волны, поглощение, рассеяние, спектроскопия, медицина, диагностика, оксигенация, сатурация, оксигемоглобин

Предмет исследования в оксиметрии

Одной из главных функций крови является ее газотранспортная функция, в частности – доставка кислорода к внутренним тканям и органам. Поэтому в медицине очень важным показателем для крови в живом организме является количество гемоглобина в эритроцитах, переносящее кислород. Методы диагностики, позволяющие оценить это количество гемоглобина, носят в медицине обобщенное название методов оксиметрии. Они могут базироваться на разных принципах, биохимических, масс-спектрометрических и т.д., но в последние 20–25 лет наибольшее распространение стали получать оптические спектрофотометрические методы ввиду простоты их реализации, дешевизны, достаточно высокой точности, особенно *in vitro*, а также возможности проводить и прижизненные неинвазивные измерения *in vivo*.

Исторически начало всем методам оптической оксиметрии дали экспериментальные исследования собственно газотранспортной функции крови и связанные с этим исследова-

ния спектральных оптических свойств оксигенированной и восстановленной форм гемоглобина [1–3]. Было установлено, что основное красящее вещество крови – сложный белок гемоглобин (Hb) с молекулярной массой 68000. Он состоит из белка глобина и простетической группы гема (4 молекулы) и входит в класс химических соединений, называемых хромопротеидами. Функциональное назначение гемоглобина – составление молекулярной основы дыхательной функции крови, т.е. транспортировка различных газов (или лигандов) – O_2 , CO и CO_2 [4]. У взрослого человека в крови одновременно присутствуют несколько разновидностей гемоглобинов – A1, A2, A3 и F, из которых каждый может быть представлен, по крайней мере, двумя вариантами или подтипами (за исключением A3) [5]. Однако в методах оптической оксиметрии они функционально не различаются. Гемоглобин составляет около 95 % сухого вещества эритроцита и 13–15 % общей массы нашей крови (в норме около 140–160 г/л) [4]. Т.к. в основном гемоглобин определяет цвет нашей крови, то, разделив количество гемоглобина на число эритроцитов, можно вычислить

некий *цветовой показатель крови*, который в норме принято считать за 1 [5].

В процессе циркуляции в сосудистой системе легких гемоглобин отдает присоединенный CO_2 и практически полностью насыщается кислородом. Присоединение кислорода к гемоглобину происходит приблизительно в 1000 раз быстрее, чем его отдача [6]. При присоединении кислорода молекула O_2 присоединяется к атому железа гемма Hb. Одна молекула Hb может транспортировать до четырех молекул O_2 , но при этом не происходит потери железом электрона, как в обычных реакциях окисления (например, при переходе гемоглобина в метгемоглобин). Таким образом, в эритроцитах происходит своеобразное обратимое связывание кислорода, которое в отличие от реакции окисления (оксидации) носит специальное название процесса *оксигенации гемоглобина* [7], т. е. говорят о переходе дезоксигемоглобина (Hb) в оксигемоглобин (HbO_2).

Помимо указанных выше фракций гемоглобина в крови человека всегда присутствуют и другие его фракции – *метгемоглобин* (metHb), *карбоксигемоглобин** (HbCO) и др. При этом оксид углерода (угарный газ, CO) обладает гораздо большим сродством к гемоглобину, чем кислород, что обуславливает его сильное токсическое действие. Даже при низких концентрациях CO вытесняет кислород из соединения с гемоглобином, а гемоглобин теряет способность к переносу O_2 . Скорость соединения CO с Hb в 160 тысяч раз больше, чем скорость его отдачи. При наличии в воздухе CO происходит накопление в крови HbCO и нарушается транспорт кислорода по сосудам вследствие затрудненной отдачи гемоглобином CO и, соответственно, невозможностью присоединения к нему O_2 [5].

В норме же в капиллярах тканей HbO_2 теряет O_2 , а основная часть восстановленного гемоглобина присоединяет к себе CO_2 , т.е. HbO_2 переходит в Hb и карбогемоглобин. Эффективное отщепление O_2 при относительно высоком его парциальном давлении возможно из-за сигмоидной (S-образной) формы кривой диссоциации кислорода (рис. 1), описываемой уравнением

* Транспорт CO_2 осуществляется гемоглобином не напрямую, не в виде молекулы HbCO_2 , а через образование и накопление в эритроцитах ионов бикарбоната HCO_3^- . Гемоглобин, связанный таким образом с CO_2 , называется *карбаминогемоглобином* или, упрощенно, *карбогемоглобином* [5]

Хилла [4]. Сродство гемоглобина к кислороду определяется тремя основными факторами (концентрациями в среде): ионов водорода (pH), двуокиси углерода и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ). К дополнительным факторам, влияющим на положение кривой на координатной плоскости, относится также температура [6]. Увеличение значения кислотности (pH) плазмы или снижение температуры и уровня 2,3-ДФГ способствует увеличению сродства гемоглобина к кислороду (сдвиг кривой влево) и относительному уменьшению высвобождения кислорода при переходе от артериального парциального давления кислорода P_{O_2} , равного, примерно, 95 мм рт. ст., до венозного P_{O_2} , равного порядка 40 мм рт. ст. [5]. Напротив, уменьшение значения pH или повышение температуры и уровня 2,3-ДФГ сопровождаются уменьшением сродства гемоглобина к кислороду (сдвиг кривой вправо) и относительным увеличением его высвобождения [4].

Процентное содержание HbO_2 на фоне общего суммарного количества гемоглобина в крови называется *фракционным насыщением крови оксигемоглобином* ($f_r\text{SO}_2$) или *степенью оксигенации крови* (*oxygenation of blood*) [8]. В англоязычной литературе этот параметр часто называют также *фракционной сатурацией оксигемоглобина* в крови, или просто *сатурацией* (*saturation, SO_2*) [9, 10] (все три названия эквивалентны). Согласно кривой диссоциации гемоглобина, этот параметр функционально однозначно связан с парциальным давлением кислорода в крови как растворенного газа, поэтому в качестве сленга практикующие врачи иногда говорят о сатурации кислорода в крови,

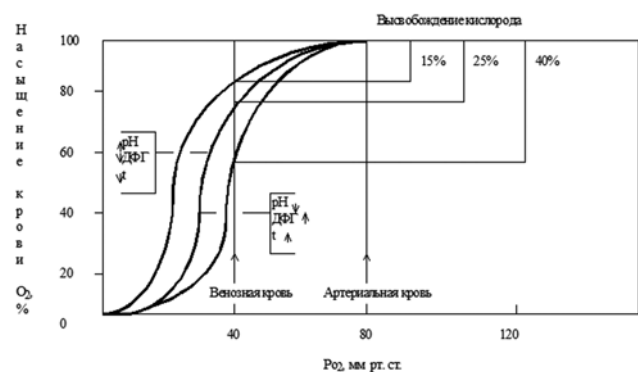


Рис. 1. Кривая диссоциации оксигемоглобина крови здорового человека [4]. Устанавливает однозначную связь между степенью оксигенации и парциальным давлением кислорода в крови

понимая под этим, тем не менее, именно фракционное насыщение крови оксигемоглобином, т.е. параметр SO_2 , а не PO_2 .

Если обозначить молярную концентрацию HbO_2 в крови как C_{HbO_2} , а общую (суммарную) молярную концентрацию всех фракций гемоглобина в крови, включая и HbO_2 , как $C_{Hb\Sigma}$, то математически параметр $frSO_2$ может быть записан в виде:

$$frSO_2 = \frac{C_{HbO_2}}{C_{Hb\Sigma}} \cdot 100 \% \quad (1)$$

Помимо фракционной сатурации на практике часто выделяют еще функциональную сатурацию оксигемоглобина в крови ($funSO_2$), которую определяют как процентное содержание оксигемоглобина на фоне суммы только оксигемоглобина и восстановленного гемоглобина (дезоксигемоглобина) [8]:

$$funSO_2 = \frac{C_{HbO_2}}{C_{HbO_2} + C_{Hb}} \cdot 100 \% \quad (2)$$

Эти два параметра равны в предположении отсутствия в крови других фракций гемоглобина кроме HbO_2 и Hb , поэтому часто передние индексы “fr” и “fun” в обозначениях сатурации оксигемоглобина в формулах опускают. Важность параметров сатурации для оценки тканевого дыхания и клеточного метаболизма в тканях не нуждается в пояснении в медицинской аудитории. Они отражают потенциал клеточного дыхания, и именно на их определение и нацелены сегодня все современные методы оптической оксиметрии.

В основе всех, как лабораторных (*in vitro*), так и неинвазивных (*in vivo*), методов оптической оксиметрии в медицине лежит разница в оптических свойствах, а, точнее, разница в коэффициентах поглощения света разных длин волн разными фракциями гемоглобина. Оптические свойства практически всех форм гемоглобина в той или иной степени различны. Сегодня они изучены достаточно хорошо, особенно спектры поглощения их суспензий в растворе гепарина с NaCl [11]. Спектры поглощения оксигемоглобина (HbO_2) и дезоксигемоглобина (Hb) для гемолизованной крови в видимом диапазоне спектра (рис. 2) сегодня входят практически во все учебники по физиологии [5]. Например, на длинах волн 340, 410, 430, 450, 500, 569, 586 и 805 нм поглощение света этими формами гемоглобина практически оди-

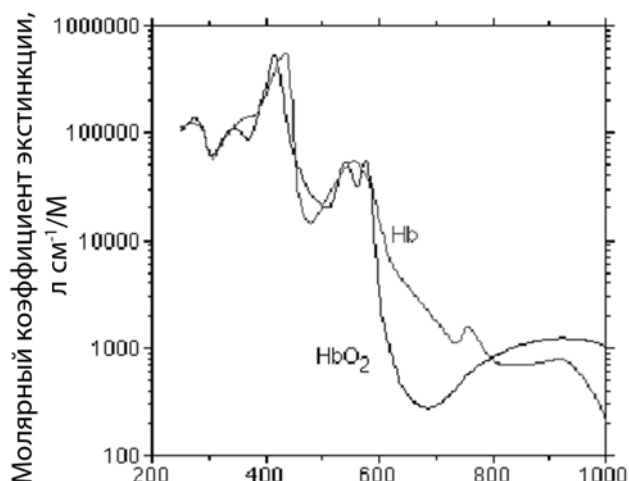


Рис. 2. Спектры поглощения гемоглобина и оксигемоглобина гемолизованной крови [7]

наково. Это – так называемые изобестические точки, которые выгодно использовать в качестве реперных, когда необходимо исключить разницу в измерениях, связанных с неодинаковым пропусканием света венозной и артериальной кровью. На длинах волн 470, 670 и 980 нм наблюдаются наибольшие различия в коэффициентах молярной экстинкции (см. ниже) для Hb и HbO_2 . Проводя измерения, например, одновременно на двух длинах волн 670 и 980 нм, можно попытаться сразу по разнице поглощений определить процент оксигенированной крови в пробе.

Соответствующий раздел физики, на котором базируются такие оптические измерения, называется фотометрией, или спектрофотометрией, если речь идет о разных длинах волн или разных спектральных диапазонах длин волн.

Фотометрия – основа методов оптической оксиметрии

В целом фотометрия в переводе с греческого (φωτοζ – свет и μετροω – измеряю) – наука об измерении энергии света, или, более строго, оптического излучения*. Она изучает основные закономерности в изменении энергетических характеристик света (мощности, энергии)

* Напомним, что оптическим считается диапазон длин волн от 200 нм до $1 \cdot 10^6$ нм, т.е. до 1 мм

при отражении излучения от границы раздела сред, при поглощении света различными веществами, при рассеянии света средой в разные стороны и т.д. [12]. Это один из наиболее старых и устоявшихся разделов физики, появившийся на свет в XVII–XVIII веках благодаря фундаментальным исследованиям таких классиков физики как Кеплер, Бугер, Ламберт, Бир и др. [13–15]. Однако первые фотометрические методы диагностики непосредственно в клиниках, в том числе и методы оксиметрии, стали появляться лишь в конце XIX – начале XX века, когда появились первые электронные приборы регистрации излучения, и удалось разработать принципы оптической денситометрии, флуориметрии, цветиметрии, нефелометрии и т.д. [16–22]. Именно с этого момента начинается систематическое изучение медицинских аспектов применения оптического излучения в целях медико-биологической диагностики и, в частности, оксиметрии. И именно фотометрические методы, подчеркнем еще раз, лежат сегодня в основе большинства лабораторных методов медицинской диагностики *in vitro*.

Чтобы понять физические принципы методов оптической оксиметрии, о которых идет речь, необходимо, прежде всего, вспомнить основные законы и уравнения фотометрии. Основным энергетическим уравнением фотометрии является простейшее уравнение баланса энергии при падении света на какую-либо поверхность или среду [12]:

$$\Phi_{0\lambda} = \Phi_{a\lambda} + \Phi_{r\lambda} + \Phi_{\tau\lambda}, \quad (3)$$

где: $\Phi_{0\lambda}$ – поток излучения (лучистый поток) с длиной волны света* λ , падающий на поверхность исследуемого объекта, а индексами a , r и τ обозначены соответственно поток, поглощаемый средой, отраженный ею в полупространство источника и пропущенный насквозь. Нормировка (3) на $\Phi_{0\lambda}$ приводит к определению основных фотометрических параметров среды распространения излучения и уравнению связи между ними:

$$1 = a_{\lambda} + r_{\lambda} + \tau_{\lambda}, \quad (4)$$

где: $a_{\lambda} = \Phi_{a\lambda} / \Phi_{0\lambda}$, $r_{\lambda} = \Phi_{r\lambda} / \Phi_{0\lambda}$ и $\tau_{\lambda} = \Phi_{\tau\lambda} / \Phi_{0\lambda}$ носят соответственно названия спектральных коэффициентов поглощения, отражения и пропус-

кания для материала среды. В общем случае эти коэффициенты являются функцией длины волны λ , характеризуют оптико-физические свойства материала (вещества), из которого состоит исследуемый объект, и именно их определению для различных биологических тканей и сред и были в первую очередь посвящены все первые работы по биологической фотометрии (биофотометрии) [22].

При этом классическая фотометрия не разделяет терминологически отраженный поток $\Phi_{1r\lambda}$ от внешней граничной поверхности среды и обратно рассеянный поток $\Phi_{2r\lambda}$ (рис. 3), образовавшийся от внутренних многократных переотражений света на неоднородностях внутренней структуры среды. Оба потока в ней объединяются в единое понятие отраженного потока $\Phi_{r\lambda}$ что иногда приводит к досадным недоразумениям, касающимся напрямую и вопросов врачебной трактовки результатов оптической *in vivo* диагностики. Между тем, понятие рассеянного потока весьма важно в биологической оптике. Большинство мягких клеточных тканей, а также кровь и лимфа (лимфа – в меньшей степени) являются средами, обладающими сильным светорассеянием, подобно молоку или снегу. С одной стороны, сильное рассеяние мешает измерениям, усложняя расчетные модели и схемы, а, с другой, – делает принципиально возможными все *in vivo* измерения с передней поверхности биоткани, широко используемые сегодня в методах неинвазивной оптической оксиметрии (например, тканевой оксиметрии), лазерной доплерографии, оптической когерентной томографии и других неинвазивных оптических диагностических методах, за счет образования обратно рассеянного потока $\Phi_{2r\lambda}$ из глубины биоткани.

Это же в общем случае можно сказать и о прошедшем биоткань насквозь потоке $\Phi_{\tau\lambda}$. Он

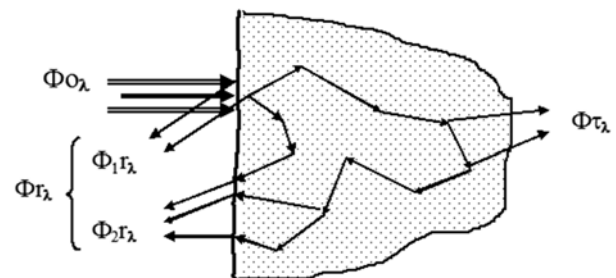


Рис. 3. Общая схема взаимодействия оптического излучения с веществом

* Точнее в фотометрии – однородный световой поток в узком спектральном интервале длин волн в окрестности λ

тоже, как правило, представляет собой два разных потока: поток света, прошедший насквозь объект практически без рассеяния (на рис. 3 не показан), и поток света, многократно рассеянный в биоткани, но вышедший из нее в том же направлении, что и поток без рассеяния. Поток в среде без рассеяния распространяется прямолинейно и ослабляется средой по известному всем со школьной скамьи экспоненциальному закону Бугера–Ламберта–Бира [12, 13], так что суммарный коэффициент поглощения излучения в среде без рассеяния определяется уравнением (4), записанным в следующей форме [12]:

$$a_{\lambda} = 1 - r_{\lambda} - e^{-\mu_a(\lambda) \cdot x}, \quad (5)$$

$$\text{где } \mu_a(\lambda) = C \cdot \varepsilon(\lambda) \quad (6)$$

называется погонным (транспортным) коэффициентом поглощения излучения, являющимся функцией длины волны λ , $\varepsilon(\lambda)$ – коэффициент молярной (погонной) экстинкции вещества (также зависит от выбранной λ); C – молярная (погонная) концентрация вещества на единице длины пути луча; x – длина пути излучения в образце вещества. Это уравнение в части определения концентрации вещества C в кюветах с растворами используется сегодня повсеместно в клинической лабораторной диагностике и дает врачам основную массу биохимических анализов (показателей) на основе изучения характерных спектров поглощения ряда органических и неорганических веществ. Главной целью такой диагностики является определение наличия и концентрации того или иного вещества в представленном биоптате, например, гемоглобина крови. Измерения в большинстве случаев проводятся в проходящем свете и определяют сначала либо оптическую плотность вещества в кювете $D(\lambda)$ для выбранной длины волны λ в сравнении со стандартными образцами оптической плотности, а затем по соотношению:

$$D(\lambda) = \lg(1 / \tau(\lambda)) \quad (7)$$

вычисляют коэффициент пропускания света $\tau(\lambda)$ через слой биоптата, либо сразу измеряют $\tau(\lambda)$ по отношению исходного и прошедшего кювету насквозь потоков излучения, а уже на основе классического экспоненциального закона:

$$\tau(\lambda) = e^{-\mu_a(\lambda) \cdot x} \quad (8)$$

и соотношения (6) при $x=1$ см (размер стандартной фотометрической кюветы), а также известном табличном значении $\varepsilon(\lambda)$ искомого

вещества, определяют молярную (погонную) концентрацию C этого вещества в кювете.

Однако классические соотношения (5), (6) и (8) справедливы только для достаточно прозрачных сред без внутреннего светорассеяния. Наличие рассеяния в среде, когда среда становится мутной, существенно усложняет все расчетные формулы и делает нецелесообразным их рассмотрение в этой статье-лекции. Этому посвящены отдельные монографии*, достаточно серьезные, причем далеко еще не все проблемы в этих теориях решены до конца. К счастью, для понимания базовых физических принципов оптической оксиметрии, включая и все методы неинвазивных (*in vivo*) измерений (оптической пульсоксиметрии и тканевой оксиметрии), приведенных выше сведений и соотношений вполне достаточно. Надо их только обобщить на случай многокомпонентной биологической среды, когда в среде присутствует не одно, а несколько определяемых веществ, и добавить к ним некоторые дополнительные и принципиально важные замечания по поводу понятия “глубины проникновения излучения” в биоткань.

Если среда является многокомпонентной, и в ней содержится не одно, а целый набор веществ, и каждое вещество вносит свой отдельный вклад в общее поглощение излучения средой (биотканью) на выбранной длине волны λ , то в этом случае транспортный коэффициент поглощения $\mu_a(\lambda)$ биоткани будет уже представлять собой, в отличие от (6), не простую, а достаточно сложную функцию – сумму вкладов от поглощения света каждым отдельным компонентом среды:

$$\mu_a(\lambda) = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \cdot C_i, \quad (9)$$

где $\varepsilon_i(\lambda)$ – коэффициент погонной (молярной) экстинкции для i -го биохимического компонента среды, а C_i – погонная (молярная) концентрация i -го компонента внутри тестируемой области. Вычленив отсюда каждое отдельное C_i по результатам измерений (вычислений) только одного $\mu_a(\lambda)$ на одной длине волны уже не представляется возможным. Необходимо уже иметь определенный набор (массив) данных измерений, например, на разных длинах волн λ_j

* Один из разделов математической физики, занимающийся вопросами математического моделирования линейного взаимодействия излучения и вещества в условиях светорассеяния, называется *линейной теорией переноса излучения* [23]

($j=1,2,\dots,i$), для того чтобы получить замкнутую систему независимых линейных уравнений и решить ее относительно всех присутствующих веществ и их концентраций C_i .

Именно такой подход реализуется сегодня в подавляющем большинстве случаев в разных методах оптической оксиметрии. В простейшей модельной расчетной схеме среда распространения излучения, скажем, чистая кровь в кювете, может быть представлена как 2-компонентная жидкость-раствор, содержащая в себе непоглощающий свет растворитель-основу и только две растворенные в ней основные фракции гемоглобина – оксигенированную фракцию (HbO_2) и восстановленную (Hb), т.е. деоксигенированную. В этом случае для двух разных длин волн λ_1 и λ_2 мы будем иметь систему из двух линейных алгебраических уравнений:

$$\begin{cases} \mu_a(\lambda_1) = \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_1) \cdot C_{\text{Hb}} + \varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_1) \cdot C_{\text{HbO}_2} \\ \mu_a(\lambda_2) = \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_2) \cdot C_{\text{Hb}} + \varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_2) \cdot C_{\text{HbO}_2} \end{cases}, \quad (10)$$

которая при экспериментально измеренных* $\mu_a(\lambda_1)$ и $\mu_a(\lambda_2)$ и известных из литературы $\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_j)$ и $\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_j)$ легко решается относительно двух неизвестных концентраций C_{Hb} и C_{HbO_2} . Это позволяет легко найти процент оксигенированной фракции гемоглобина в крови, который соответствует, в общем случае, функциональной сатурации по формуле (2).

Оптические измерения в неинвазивной оксиметрии, направленные на определение $\mu_a(\lambda_1)$ и $\mu_a(\lambda_2)$ по (10), можно проводить как в отраженном, так и в прошедшем свете (рис. 4). В общем случае в приборе (оксиметре) излучение от источников света 1, доставляется к обследуемому органу 2 через оптическое волокно 3. С помощью приемного оптического жгута 4 регистрируемые световые потоки доставляются в блок регистрации излучения 5. Этот блок содержит, как

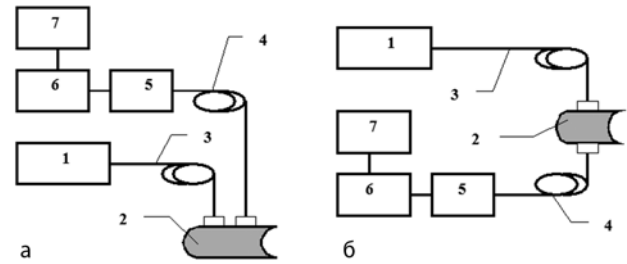


Рис. 4. Реализация методов неинвазивной оптической оксиметрии в отраженном (а) и прошедшем (б) свете [25]. Пояснения в тексте

правило, оптические фильтры и набор фотоприемников на разные длины волн. Далее полезный электрический сигнал проходит аналоговую обработку (усиление, фильтрацию) в электронном блоке 6, оцифровывается и передается в компьютер 7 для дальнейшей математической обработки (реализации вычислений).

В ряде случаев, как, например, в пульсоксиметрах с пальцевым датчиком-прищепкой (см. ниже), источники излучения (светодиоды) и фотоприемник (фотодиод) располагаются непосредственно на поверхности обследуемой биоткани. В этом случае световоды для транспортировки излучения не используются, а жгуты 3 и 4 представляют собой один электрический кабель. По результатам измерений блоком регистрации мощности излучений на разных длинах волн в программном обеспечении прибора реализуется вычисление транспортных коэффициентов $\mu_a(\lambda_1)$ и $\mu_a(\lambda_2)$, по которым на основании (10) и (2), например, для 2-компонентной среды, вычисляется SO_2 в тестируемом объеме биоткани.

Следующий вопрос – вопрос о глубине проникновения излучения в биоткань. Если для случая “б”, скажем, для пальца руки почему-то не возникает обычно вопроса, что свет может проходить сквозь палец толщиной примерно 1 см (как и сквозь кювету с кровью), и регистрироваться фотоприемным устройством, то для случая “а” практически каждый раз этот вопрос требует пояснений для врачей. Дело в том, что в современной медицинской литературе, особенно в многочисленных публикациях по модной сегодня лазерной терапии, часто можно встретить всевозможные таблицы и схемы, “разъясняющие” врачам, на какую глубину в живые биологические ткани, например, в кожу проникает лазерное излучение разных длин

* Строго говоря, напрямую измерить параметр $\mu_a(\lambda)$ нельзя. Прямыми измерениями в фотометрии определяют только мощность или энергию излучения. Все остальные фотометрические параметры определяются косвенно на основе математических вычислений по результатам измерений мощности или энергии потоков излучений. Вычисление же $\mu_a(\lambda)$ для среды распространения света в условиях сильного светорассеяния – отдельная и достаточно нетривиальная задача математической физики со своими спорными моментами [24]. Ее рассмотрение выходит за рамки данной лекции, однако в той или иной степени алгоритмы решения этой задачи используются сегодня практически во всех моделях оптических тканевых оксиметров

волн в видимом и ближнем инфракрасном (ИК) диапазоне спектра. И в этих публикациях часто делается вывод, что свет, скажем, синего или зеленого диапазонов видимого спектра проникает в кожу или кровь на глубину лишь в доли миллиметра. Соответственно, реализация измерений по схеме рис. 4б не позволяет эффективно диагностировать микроциркуляторное русло в коже, которое залегает глубже. Но это заблуждение. Авторы подавляющего большинства всех этих публикаций исходят из предположения об отсутствии рассеяния света в среде и используют классическое определение глубины проникновения x излучения в какую-либо среду на основе простого соотношения:

$$x = 1/\mu_a(\lambda), \quad (11)$$

взятого из курса теоретической физики по теории электромагнитного поля*. В этом курсе весьма условно (подчеркиваем: *условно*) за глубину проникновения излучения в любой однородный материал или среду (глубину скин-слоя) принимается глубина, на которой падающее (исходное) излучение ослабляется в "е" раз [27]. Т.е. это глубина, на которой первичное излучение уменьшилось по мощности всего примерно в 2,7 раза по сравнению с падающим излучением, но не исчезло полностью! На этой глубине его осталось еще около 37 %, да и гораздо глубже излучение еще существует, и, вообще говоря, оно может проникать в ткани очень глубоко, практически до бесконечности, если, например, оценивать уровень ослабления излучения не по уровню "е", а по уровню 10, 100, 1000 (ослабление, соответственно, в 10, 100, 1000 раз) и т.д. Одним словом, вопрос здесь надо задавать не о глубине проникновения как таковой, а о том, какая часть исходного излучения проникает на такую-то, заранее заданную глубину.

* Иногда при попытке учета рассеяния в среде это соотношение записывают в виде $x=1/(\mu_a(\lambda)+\mu_s(\lambda))$, где $\mu_s(\lambda)$ – погонный (транспортный) коэффициент рассеяния, аналогичный $\mu_a(\lambda)$, что в общем случае верно лишь в приближении однократного рассеяния [26]. Для реального же случая многократного рассеяния это совершенно неверно, т.к. многократное рассеяние не только уменьшает, но и одновременно увеличивает глубину проникновения излучения в биоткань, что описывается более сложными соотношениями, а не одной экспонентой [24]. Эта ошибка – типичное следствие упрощенного (интуитивного) подхода к физико-математическому моделированию основных процессов распространения света в среде с рассеянием

Наличие же рассеяния в среде вообще меняет все основные уравнения фотометрии так, что, скажем, выражение для экспоненциального ослабления излучения в среде (8) просто становится неверным. В правой части этого выражения меняется показатель экспоненты (увеличивается за счет рассеяния), но одновременно в правую часть добавляется и еще одно слагаемое в виде аналогичной экспоненты, с таким же показателем экспоненты, но с положительным по знаку, что физически означает одновременное увеличение мощности излучения в среде по мере его распространения за счет многократного рассеяния [24]. "Игра" этих двух экспонент с разными весовыми коэффициентами, стоящими перед ними, и определяет, сколько излучения по мощности и куда дойдет. При сильном светорассеянии, например, и слабом поглощении (когда мало крови, скажем, в ткани), экспоненциальное ослабление в среде уменьшается и стремится к линейному ослаблению.

Таким образом, точно вычислить глубину проникновения излучения в биоткань при наличии рассеяния становится достаточно сложно. Эта глубина (даже по уровню 10) может меняться от тех же долей миллиметра для разных длин волн и сред, например, для ультрафиолетового (УФ) излучения с длиной волны 250 нм и чистой крови, до сантиметра и более для красного и ближнего ИК диапазона длин волн и кожи пальцев рук. В целях же оксиметрии необходимо себе еще и четко представлять, что современные фотоприемники могут регистрировать излучение в доли милливатта, т.е., скажем, в 1 микроватт (10^{-6} Вт) и менее. Это означает, что в диагностических целях глубина проникновения излучения в биоткань должна оцениваться по уровню 100, как минимум. Именно при таких оценках она более или менее точно определяет так называемый *эффективный диагностический объем* биоткани, с которого при оптической оксиметрии "на отражение" (рис. 4а), да и при любых других аналогичных оптических методах диагностики, регистрируется основной полезный оптический сигнал [28, 29].

Ориентировочно, для не очень больших расстояний (в пределах 5–10 мм) между излучателем и приемником излучения (фотоприемником) по схеме измерений рис. 4а, эффективный диагностический объем в коже по уровню 100 может оцениваться, исходя из глубины зондирования, равной удвоенному расстоянию между излучающим и приемным оптическими волокнами, расположенными

на поверхности зондируемого объекта. Это как раз та глубина, где локализуется система микроциркуляции крови.

Типичное значение глубины зондирования *in vivo* в видимом диапазоне длин волн для оптоволоконного зонда и кожи при таких оценках – 1–3 мм. Поскольку в этой области локализованы сосуды самой разной иерархии с разным процентным содержанием оксигемоглобина циркулирующей в них крови (венулы, артериолы, капилляры), то в общем случае, если это не оговаривается отдельно, прибор-оксиметр регистрирует некое среднее значение сатурации, усредненное по всему диагностическому объему. В этом случае говорят о *сатурации смешанной крови* или о *тканевой сатурации оксигемоглобина* и обозначают этот параметр через S_tO_2 .

Однако, поскольку для большинства анатомо-топографических точек поверхностных биотканей объем венозной и капиллярной крови, обедненной кислородом, в несколько раз превышает объем артериальной крови, богатой кислородом (примерно в 4–5 раз [5, 30]), а капиллярная сеть микроциркуляторного русла биоткани находится еще и ближе к оптическому датчику прибора, чем более крупные артериолы и вены, показания такого оксиметра ближе к показателям *венозной* S_vO_2 или *капиллярной* S_cO_2 сатурации. Это позволяет, зная параметр сатурации оксигемоглобина в артериальной крови (S_aO_2)*, косвенно определять потребление кислорода в ткани, например, по разнице показателей S_aO_2 и S_tO_2 [31].

В клиниках параметр S_aO_2 определяется сегодня достаточно точно приборами-оксиметрами, носящими общее название пульсоксиметры. Именно метод пульсоксиметрии стал исторически одним из первых методов оптической оксиметрии *in vivo*, доведенным до практической реализации. Сегодня пульсоксиметры встраиваются буквально во все модели прикроватных мониторов пациента и являются уже определенным стандартом в оценке параметра

* Для здоровых испытуемых и подавляющего большинства больных при нормальных условиях дыхания показатель S_aO_2 колеблется в пределах нормы в 95...98 %. Поэтому при ориентировочных оценках в расчетах можно с погрешностью не более 5 % принимать значение S_aO_2 равным 100 %. Снижение этого показателя, главным образом, наблюдается лишь в случаях тяжелых бронхолегочных патологий или при дыхании смесью воздуха, обедненной кислородом

оксигенации артериальной крови [8]. Вычисление одного отдельного параметра S_aO_2 без учета вклада венозной сатурации достигается в этих приборах тем, что они регистрируют динамику сатурации в такт с пульсовой волной кровотока [32–34 и др.], которая есть только в артериальном русле, и реализуют методику вычислений, основанную не на прямом решении системы уравнений (10), а на анализе отношений мощностей регистрируемых оптических сигналов на двух разных длинах волн для пульсирующей и непрерывной составляющих этих сигналов, образующихся вследствие наличия в системе кровообращения кардиоритма [16].

Это позволяет отстроиться от большинства фоновых помех, не учитывать оптические свойства других клеточных мягких тканей и других жидкостей, попадающих в зону обследования (см. далее), а определять процент HbO_2 только в той части крови, которая превышает средний уровень кровенаполнения органа в момент максимума систолической волны давления, т.е. упрощенно определять *функциональную сатурацию оксигемоглобина в артериальной крови* (S_aO_2). Иногда, чтобы подчеркнуть отличие измеренной упрощенной функциональной сатурации по этому методу от реальной фракционной сатурации оксигемоглобина в крови, в приборах и научных публикациях на эту тему используют дополнительное понятие *пульсовой сатурации* и обозначают ее S_pO_2 . Но это значение, всегда надо помнить, – значение, очень близкое к функциональной сатурации оксигемоглобина именно в артериальной крови.

Как указано выше, пульсовую сатурацию в таких упрощенных пульсоксиметрах вычисляют не на основе решения системы уравнений (10), а на основе метода прямой калибровки отношения регистрируемых сигналов в процентах S_aO_2 . Для этого сначала в приборе определяется некий относительный приборный параметр спектральных пульсаций R для выбранных двух длин волн, как правило, для длин волн 660 и 940 нм, наиболее дешевых в реализации с технической точки зрения [33] и дающих наибольшие и разнонаправленные (вокруг изобестической точки 805 нм) различия в спектральных свойствах Hb и HbO_2 (рис. 2). Этот параметр определяется по формуле:

$$R = \frac{Ua_{660} / Ud_{660}}{Ua_{940} / Ud_{940}}, \quad (12)$$

где: Ua и Ud – переменная и постоянная составляющие напряжений с фотоприемников по выбранному спектральному каналу, указанному цифрами. Далее при производстве и настройке прибора параметр R непосредственно калибруется в процентах S_aO_2 на основе прямых данных газового анализа пробы крови. По результатам калибровки строится калибровочная кривая, а затем, при измерениях, на основе результата вычисления параметра R по формуле (12) с использованием этой калибровочной кривой прибор сам уже легко вычисляет искомую S_pO_2 .

В небольших пределах, примерно от 80 до 100 % величины S_aO_2 , параметр R с большой точностью линеен, если его рассматривать как функцию S_aO_2 (калибровочная кривая является, по сути, прямой линией). Поэтому в этих диапазонах все пульсоксиметры легко калибруются (достаточно иметь два опорных измерения) и имеют достаточно высокую точность. Их погрешность при отчетливо регистрируемой пульсации крови обычно не превосходит $\pm 2\%$ от измеряемой величины S_aO_2 [8], т.е. при измерениях величины $S_aO_2=95\%$ разные пульсоксиметры на одном и том же пациенте покажут значения, не выходящие по [8] из диапазона 93...97 %. При более же низких значениях измеряемой сатурации S_aO_2 , меньше 80 %, эти приборы, к сожалению, имеют большую погрешность из-за неучета нелинейности кривой диссоциации гемоглобина и применяемых в них простейших калибровочных алгоритмов [34]. Кроме того, при отсутствии пульсации крови (при окклюзии сосудов), они вообще перестают работать и давать какие-либо показания.

Тканевые же оксиметры, в отличие от пульсоксиметров, опираются непосредственно на решение системы уравнений типа (10), работают в любых условиях стаза сосудов, теоретически позволяют в качестве промежуточных результатов вычислений определять отдельно абсолютные значения концентраций C_{Hb} и C_{HbO_2} , поэтому, в каком-то смысле, они потенциально и более информативны. Правда, в реальности система уравнений (10) – тоже своеобразное упрощение. Она не учитывает наличие в крови других фракций гемоглобина (metHb, HbCO и т.д.) и не учитывает неизбежное присутствие в диагностическом объеме кроме крови еще и других клеточных структур и жидкостей биоткани, также имеющих ненулевые значения спектральных коэффициентов

молярной экстинкции $\varepsilon_i(\lambda_j)$, влияющих на оцениваемые общие коэффициенты поглощения $\mu_a(\lambda_j)$.

Если ввести в рассмотрение сторонние клеточные структуры и биохимические компоненты биоткани, система (10) может быть переписана в виде:

$$\begin{cases} \mu_a(\lambda_1) = \varepsilon_{Hb}(\lambda_1) \cdot C_{Hb} + \varepsilon_{HbO_2}(\lambda_1) \cdot C_{HbO_2} + \varepsilon_{other}(\lambda_1) \cdot C_{other} \\ \mu_a(\lambda_2) = \varepsilon_{Hb}(\lambda_2) \cdot C_{Hb} + \varepsilon_{HbO_2}(\lambda_2) \cdot C_{HbO_2} + \varepsilon_{other}(\lambda_2) \cdot C_{other} \end{cases}, \quad (13)$$

где: $\varepsilon_{other}(\lambda_j)$ – суммарная молярная экстинкция света на разных длинах волн всеми сторонними клеточными структурами, а C_{other} – их содержание (молярная концентрация) в зоне обследования (в диагностическом объеме биоткани). Эта система, вообще говоря, в таком виде становится абсолютно неразрешимой относительно C_{Hb} и C_{HbO_2} . Она не только вводит третье, необходимое для определения неизвестное – концентрацию C_{other} (эту сложность можно было бы преодолеть введением третьего уравнения в систему для третьей длины волны и решить систему относительно всех трех неизвестных концентраций), но и вводит в уравнения неизвестные в общем случае $\varepsilon_{other}(\lambda_j)$, разные не только для разных длин волн, но и для разных пациентов, разных анатомио-топографических точек на теле пациента и т.д.* Таким образом, количество неизвестных N в системе типа (13) будет для системы из j уравнений (для системы j длин волн) всегда равно $N=j+3$, т.е. всегда больше на 3, чем число уравнений в системе, что принципиально не позволяет ее решить относительно неизвестных. Выходом из создавшегося положения могут быть только какие-то упрощения системы (13) или принятие каких-то дополнительных определяющих соглашений, относительно как минимум трех каких-либо неизвестных параметров.

* Напомним, что спектральные коэффициенты $\varepsilon_i(\lambda_j)$ для разных фракций гемоглобина известны, описаны в литературе в виде подробных спектральных таблиц и графиков [11, 19 и др.] и считаются с очень большой точностью одинаковыми для всех пациентов как константы данного конкретного биохимического вещества (гемоглобина). Для других клеточных структур биохимический состав, плотность и другие параметры могут сильно различаться для разных пациентов и областей обследования, поэтому $\varepsilon_{other}(\lambda_j)$ становятся неизвестными

Одним из таких упрощений является отказ от попытки определения абсолютных значений всех трех неизвестных концентраций для системы (13), и постановка более простой задачи определения лишь двух неизвестных относительных величин. Первая относительная неизвестная величина в этом случае, например, по формуле (2) нами уже рассматривалась – это функциональная тканевая сатурация S_tO_2 , а вторая, наиболее часто используемая величина, определяется по формуле:

$$V_b = \frac{C_{Hb} + C_{HbO_2}}{C_{Hb} + C_{HbO_2} + C_{other}} \cdot 100\% \quad (14)$$

и носит обобщающее название *объемного кровенаполнения* биоткани. Она определяет в процентах долю фракции крови (суммы оксигенированного и восстановленного гемоглобина) в диагностическом объеме биоткани. В англоязычной литературе этот параметр еще называют *суммарным тканевым гемоглобином* или *тканевым гематокритом* (*tissue's hematokrit*), т.к. содержание всего гемоглобина крови выражается здесь в долях от общей концентрации других компонент биоткани по аналогии со столбиком осевших эритроцитов на фоне общего объема плазмы крови в пробирке при анализе на гематокрит.

Введение в рассмотрение такого параметра оказывается весьма эффективно в плане оценки тканевого дыхания и верификации наличия ишемии. С помощью V_b становится возможной оценка относительного удельного потребления кислорода в ткани по формуле:

$$U = \frac{S_aO_2 - S_tO_2}{V_b}, \quad (15)$$

где U – относительное (в относительных единицах) удельное потребление кислорода, показывающее расход кислорода на единицу объема циркулирующей в ткани крови. При исследовании процессов утилизации кислорода в клеточных тканях в случае обнаружения пониженного потребления кислорода и гипоксии этот параметр может дополнительно косвенно указать на причину такого положения – недостаточное кровоснабжение или снижение собственно интенсивности газового обмена при нормальной гемодинамике.

Другим упрощающим соглашением часто сегодня становится “насильственное” принятие известными всех или части неизвестных $\varepsilon_{other}(\lambda_j)$, или, даже, всех их произведений

$\varepsilon_{other}(\lambda_j) \cdot C_{other}$. Многочисленные экспериментальные исследования показывают, что в своей основной массе представляющие интерес для *in vivo* оксиметрии обескровленные ткани (кожа, слизистые оболочки полости рта и пр.) слабо поглощают свет. Доминирующим явлением в них является не поглощение, а рассеяние света, поэтому произведение $\mu_a(\lambda_j)_{other} = \varepsilon_{other}(\lambda_j) \cdot C_{other}$ достаточно мало в любом спектральном диапазоне длин волн УФ, видимого и ближнего ИК участков спектра по сравнению с транспортным коэффициентом рассеяния $\mu_s(\lambda_j)_{other}$ и по сравнению с $\mu_a(\lambda_j)$ для крови. Соответственно, ошибки в определении $\mu_a(\lambda_j)_{other}$ при последующих вычислениях не сильно отразятся на значениях параметров S_tO_2 и V_b для достаточно кровенаполненных тканей ($V_b > 4...5\%$).

Реализацию этого упрощающего соглашения в силу ряда технических особенностей оптико-физических измерений и особенностей конструкции оптических приборов (наличие источников излучения с неидеальной стабилизацией их мощности во времени) наиболее эффективно можно выполнить не заданием констант параметров $\varepsilon_{other}(\lambda_j)$ в расчетных алгоритмах (программном обеспечении) приборов, а проведением предварительной преддиагностической калибровки прибора по рабочим имитационным светорассеивающим мерам с оптическими свойствами $\mu_a(\lambda_j)_{other} \ll \mu_s(\lambda_j)_{other}$, близкими к оптическим свойствам обескровленной биоткани [29, 31, 35]. В результате такой калибровки в разных используемых спектральных диапазонах длин волн прибор определяет и запоминает исходный оптический сигнал, имитирующий некий усредненный сигнал с живой биоткани, лишенной крови (своеобразный “уровень нуля”). Впоследствии, этот запомненный сигнал (уровень сигнала) используется при расчетах для определения изменений в оптических свойствах исследуемого объекта, вызванных его кровенаполнением.

При медицинской интерпретации результатов измерений параметра V_b следует, однако, обязательно учитывать, что вклад кровенаполнения микроциркуляторного русла биоткани в суммарный оптический сигнал от ткани в общем случае зависит как от собственно объема циркулирующей в зоне обследования крови, так и от степени раскрытия поверхностных капилляров. Поэтому индицируемый оксиметром уровень кровенаполнения V_b по (14) является своеобразным интегральным параметром, характе-

ризующим в совокупности и общий циркулирующий объем крови в зоне обследования, и раскрытие сети поверхностных капилляров.

Также следует иметь в виду, что тканевые оксиметры, работающие по указанному принципу, не приспособлены определять реальный гематокрит и общий гемоглобин крови, которые также могут при сильных их отклонениях от нормы влиять на регистрируемые показатели. Обычно при заводских настройках приборов исходят из значений гематокрита и гемоглобина крови, соответствующих средним нормальным показателям, усредненным по известным стандартным данным для здоровых мужчин и женщин. В случае если обследуемый пациент по данным лабораторного анализа крови имеет существенные отклонения гематокрита от нормы, существенно повышенный (или пониженный) общий гемоглобин крови (более 10 % от нормы), то это следует учитывать при клиническом анализе ситуации и интерпретации данных диагностики, корректируя пропорционально в сторону увеличения (уменьшения) регистрируемые показатели V_b и S_tO_2 .

Вопросы метрологии и методик измерений

Вообще говоря, когда речь идет об измерениях, правомерно сразу же ставить вопрос и о возможных ошибках и погрешностях измерений.* Этот же вопрос, безусловно, в полной мере может быть сегодня адресован и к любым методам оптической оксиметрии, особенно тканевой. Поскольку в общем случае оптические свойства клеточной биоткани зависят от очень многих параметров, таких как ее плотность, содержание в ней различных сторонних хромофоров, например, меланина, перфузии ткани кровью, анатомо-морфологических осо-

бенностей ее внутреннего строения, включая строение ее микрососудистого русла, и т.д., а методы измерений в оптической оксиметрии с точки зрения метрологической классификации относятся к достаточно сложным косвенным совокупным или совместным измерениям [29], точное трансдермальное (или через слизистые ткани) определение параметров V_b и S_tO_2 весьма затруднительно. Соответственно, все методы неинвазивной оксиметрии в медицине, так или иначе, сопряжены с ошибками и погрешностями в измерениях. Обычно ошибки в измерениях соотносят с неправильными (ошибочными) действиями оператора прибора, или сбоями в работе самого прибора, что сложно поддается статистическому учету и анализу. Однако при просмотре результатов многократных или длительных во времени измерений ошибочные измерения, как правило, достаточно легко выявляются по явно выпадающим из общей тенденции результатам. Погрешности же измерений, напротив, практически невозможно выявить по результатам измерений. Они могут быть лишь статистически оценены и минимизированы правильным выбором комплекса мероприятий по калибровке, настройке и тестированию прибора, а также применением специальных методов обработки и анализа результатов. Не последнюю роль играет здесь и разработка специальных практических приемов (методик) работы с прибором для повышения точности и достоверности результатов измерений.

Как правило, в метрологии погрешности измерений оцениваются проведением контрольных измерений на государственных аттестованных эталонных мерах или сравнением результатов измерений тестируемым прибором с результатом измерений того же объекта образцовым (эталонным, первичным) средством измерений. Однако в области оптической *in vivo* и лазерной диагностики в медицине сегодня на государственном уровне еще нигде в мире нет аттестованных и утвержденных эталонных средств измерений. Даже для наиболее широко применяемых оптических пульсоксиметров по [8], не говоря уже о тканевых оксиметрах, сегодня не существует еще на государственном уровне стандартизованного прямого метода их калибровки и стандартизованных методов их метрологической аттестации и проверки.

Единственными методами, применяемыми на практике, являются косвенные методы

* В последнее десятилетие, в связи с переходом на международные стандарты в области метрологии, понятие погрешности измерений предлагается исключить из обихода и заменить его на понятие неопределенности результата измерений, что вызывает сегодня бурные дискуссии [29, 36]. Безусловно, когда речь идет о результатах натуральных измерений, всегда существует некая неопределенность (область разброса) в этих результатах. Однако когда речь идет о точности прибора или метода измерений, правильное, все же, по мнению автора [36], говорить о присущих прибору или методу погрешностях. Мы также здесь будем придерживаться этого мнения и терминологии погрешностей для метода и/или прибора

калибровки с использованием проб крови, взятых у добровольных испытуемых, и методы проверки приборов с использованием различных (не аттестованных) рабочих имитационных мер (имитаторов оптических свойств биотканей). Поскольку согласно [8] включение в стандарты и любую другую техническую документацию на прибор методов испытаний с использованием человеческого материала недопустимо, эти методы прямой калибровки по пробам крови мало описаны в литературе. Соответственно, вопросы существующих погрешностей измерений для оптических тканевых оксиметров также в литературе освещены сегодня недостаточно.

Для справки можно указать, что в 2004–2005 гг. в МОНИКИ для оптического тканевого оксиметра “Спектротест” проводилась подобная оценка погрешности измерений в сравнении с результатами прямого анализа проб крови по методике окклюзионных проб. Была определена суммарная основная инструментальная и методическая погрешность в вычислении параметров V_b и S_tO_2 для кожи пальцев рук. Она оказалась на уровне $\pm 10\%$ от измеряемой величины. Т.е. при показаниях прибора в “Z” процентов (%) с вероятностью 0,95 реальное значение регистрируемой величины лежит в диапазоне $Z \pm 0,1Z\%$, причем для параметра S_tO_2 погрешность возрастает с уменьшением величины V_b в сторону уменьшения параметра сатурации (чем меньше крови в диагностическом объеме, тем сложнее точно определить ее сатурацию, значение которой в этом случае систематически занижается) и возрастает с увеличением собственного значения параметра S_tO_2 при его приближении к 100 %. Последнее обстоятельство, видимо, связано с тем, что при повышенном насыщении крови кислородом, до 96.–98 %, погрешности любых, даже прямых измерений, на уровне даже в 2.–3 %, т.е. очень высокой точности измерения, могут, тем не менее, формально приводить к показаниям прибора, превышающим 100 %, что физиологически лишено смысла. А погрешности непрямых (трансдермальных) измерений для прибора “Спектротест”, как указано выше, находятся на еще более высоком уровне, порядка 10 %.

Еще один источник возникновения погрешности измерений в оптической оксиметрии – неучет в моделях типа (13) наличия в крови других фракций гемоглобина, кроме S_{Hb} и

S_{HbO_2} . Между тем, хоть и в небольшой степени, они часто присутствуют в крови и влияют на точность определения параметра сатурации оксигемоглобина. Особенно остро этот вопрос встает для ожоговых пациентов, получивших отравление угарным газом. Оптические свойства HbCO практически не отличаются от оптических свойств оксигемоглобина [11], поэтому даже очень точные современные пульсоксиметры не способны их точно разделить. В результате присутствующий в крови карбоксигемоглобин часто такими приборами воспринимается как оксигемоглобин, и показания приборов могут иметь значения нормы, в то время как налицо острое отравление пациента угарным газом.

Общая информативность и достоверность диагностических обследований с использованием оптических оксиметров зависит, во многом, и от грамотного выбора методик проведения измерений и связанных с ними подходов к анализу и интерпретации результатов обследований пациентов. В общем случае, при проведении дифференциальной диагностики (норма-патология), огромную роль в трактовке получаемых результатов играют выбранные области обследования и тщательный подбор статистического материала нормы для выбранных анатомо-топографических точек. Поскольку неинвазивные тканевые оксиметры являются сегодня относительно новым диагностическим оборудованием, реализующим новые диагностические технологии, на сегодняшний день полноценных статистических данных о значениях различных показателей для различных локализаций датчика на теле пациента в норме и, тем более, при различных патологиях, пока еще не собрано. В этом плане использование тканевой оксиметрии открывает врачу-ученому дополнительные возможности по постановке и проведению собственных уникальных научных исследований, но затрудняет ее применение сразу непосредственно в практических задачах.

Необходимо особо подчеркнуть, что для целей дифференциальной диагностики, вследствие наличия анатомо-морфологических особенностей в строении различных клеточных биотканей показатели нормы для каждой специфической области локализации датчика должны определяться отдельно. Отдельно следует обращать внимание и на выбор способа фиксации датчика на теле пациента. От этого тоже зависит точность диагностики. В качестве некоторых, наиболее информативных областей обследова-

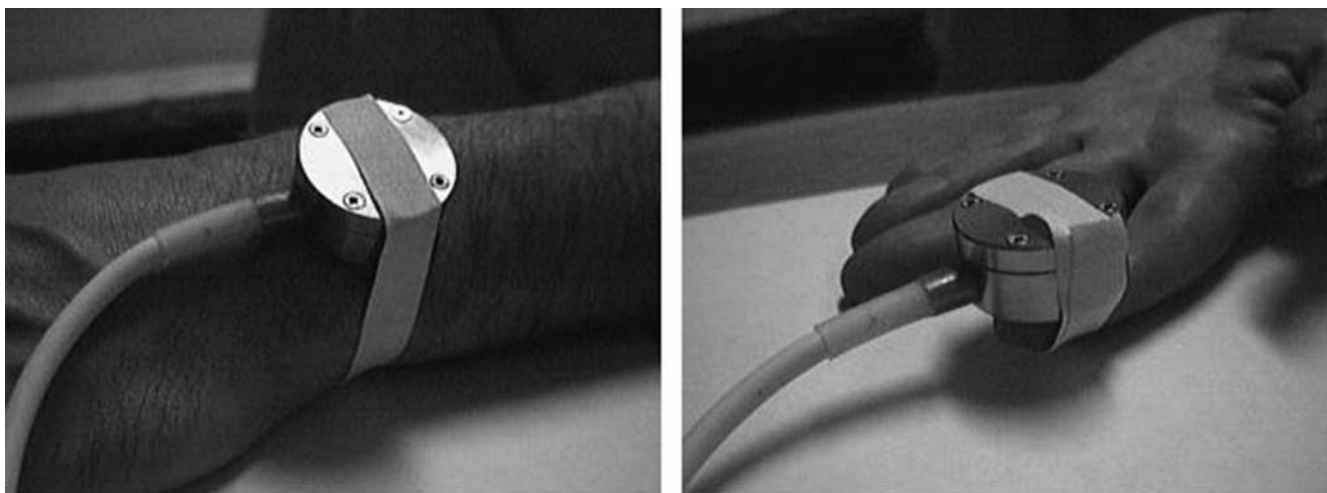


Рис. 5. Пример размещения и фиксации датчика оксиметра на руке пациента

ния, можно указать подушечки среднего и указательного пальцев рук, наружную поверхность предплечий в области, расположенной по срединной линии на 4 см выше оснований шиловидных отростков локтевой и лучевой костей (зона Захарьина-Геда сердца), подъем стопы по срединной линии, разные области лица и туловища.

При их выборе оптический датчик прибора должен располагаться и фиксироваться на теле пациента устойчиво, неподвижно, полностью прилегая к поверхности кожи, но с минимальным нажимом на кожу, т.к. даже небольшое сдавливание кожного покрова приводит к сдавливанию микрососудистого русла, выдавливанию из него крови (венозной, в первую очередь) и, соответственно, к изменению в показаниях прибора. Поэтому, при проведении обследований давление оптического датчика прибора на кожные покровы испытуемых желательно всегда выдерживать примерно одинаковым, как и в контрольной группе. Для примера, на рис. 5 показано крепление оптической головки оксиметра “Спектротест” на руке пациента с помощью обычного лейкопластыря. При небольшом навыке такой способ фиксации головки позволяет добиться достаточно равномерного и воспроизводимого давления на ткани пациента.

Другой важной особенностью, которую необходимо учитывать при проведении дифференциальной диагностики с использованием тканевых *in vivo* оксиметров, является наличие в системе микроциркуляции крови человека различных физиологических и нейрофизиологических колебательных процессов. Среди них можно выделить такие факторы, вызывающие

наибольшие колебания перфузии тканей кровью, как пульсовая волна со стороны артерий и “дыхательный насос” (дыхательный ритм микроциркуляции) со стороны вен. Модулируют поток крови в системе микроциркуляции со стороны сосудистых стенок и такие важнейшие активные факторы регуляции кровотока, как миогенный, нейрогенный и эндотелиальный механизмы регуляции тонуса и просвета сосудов. Поэтому значения параметров V_b и S_tO_2 в микроциркуляторном русле биоткани, вообще говоря, не являются константой даже на очень малых отрезках времени – секунды и доли секунд, не говоря уже о минутах. В качестве примера, на рис. 6 приведены данные измерений показателя S_tO_2 на коже подушечки указательного пальца руки добровольного здорового испытуемого в течение 4 минут.

Видимая четкая периодичность и низкая частота этих ритмов говорят об их объективности и физиологической природе, а не об ошибках прибора. Следовательно, любые единичные, т.е. разовые измерения, могут приходиться как на максимум, так и на минимум амплитуды колебаний измеряемых параметров, что существенно усложняет трактовку таких “разовых” показателей. В этом смысле при постановке задач дифференциальной диагностики правильнее использовать не единичные измерения, а запись показателей в течение определенного промежутка времени, например, в течение 1–2 минут, с последующей оценкой как среднего значения каждого показателя, так и частоты и амплитуды регистрируемых по ним частотных ритмов

микроциркуляции*. Среднее значение показателя сатурации (в данном примере – около 89 %) будет говорить о среднем процентном потреблении кислорода в тканях, т.к. артериальная оксигенация, как указывалось выше, составляет в норме 94–98 % (т.е. 0,94–0,98 в масштабе графика рис. 6). Частотные ритмы применительно к параметру сатурации крови изучены сегодня в существенно меньшей степени, но общие рекомендации по их интерпретации, видимо, должны также укладываться в рамки общих представлений о физиологических механизмах нервно-рефлекторной и гуморальной систем регуляции микроциркуляции крови [37].

Еще более информативными оказываются обследования с применением различных функциональных нагрузок на микроциркуляторное русло. Большинство из проб, известных в классической функциональной диагностике, применимы и в случае оптической оксиметрии *in vivo*: окклюзионная проба, постуральная, ортостатическая, холодовая и т.д. Их применение расширяет диагностическую информативность метода и позволяет оценивать такие важные дополнительные параметры, как резерв капиллярного кровотока и реактивность микроциркуляторного русла. В качестве примера можно привести описание применения окклюзионной пробы, достаточно наглядной, стандартизуемой, легко выполнимой в любых условиях и с любыми испытуемыми, а главное – дающей врачу дополнительную важную информацию о типе микроциркуляции крови у пациента.

Повышающийся в последнее время интерес к исследованию микроциркуляторного звена сердечно-сосудистой системы и появляющиеся постоянно новые сведения по этой проблематике все более активно обращают внимание клиницистов на существующие объективные различия в типах микроциркуляции у разных групп людей и на возможную зависимость эффективности действия тех или иных лечебных факторов (лекарственных, физиотерапевтических) от типа микроциркуляции, особенно при локальных патологиях. Тип микроциркуляции зависит от индивидуальных особенностей строения микрососудистого русла, от особенностей миогенной, нейрогенной и эндотелиальной регуляции кровообращения, от наличия различных орга-

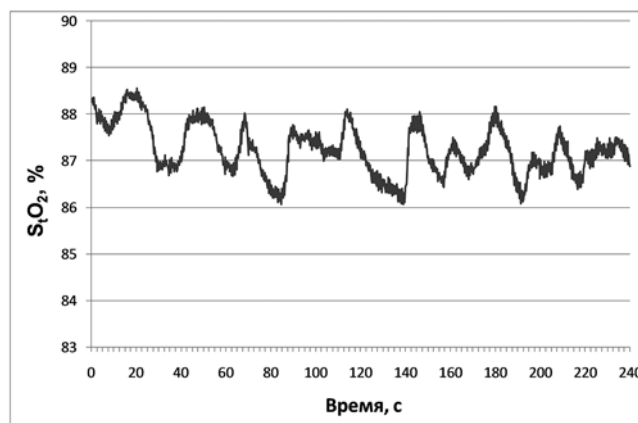


Рис. 6. Регистрируемые ритмы S_tO_2 в системе микроциркуляции крови

нических и функциональных нарушений в системе микроциркуляции. На сегодняшний день исследования в этой области еще, очевидно, далеки от завершения, поэтому в литературе нет пока полных и исчерпывающих сведений, позволяющих однозначно классифицировать разные типы микроциркуляции.

Среди наиболее широко представленных в популяции людей и разных по своим физиологическим проявлениям типов микрогемодинамики можно выделить так называемые *гиперемический тип микроциркуляции* (ГТМЦ), *нормоциркуляторный тип микроциркуляции* (НТМЦ) и *спастический (ангиоспастический) тип микроциркуляции* (СТМЦ) [37]. Иногда можно встретить в литературе классификацию патологических разновидностей СТМЦ в виде дополнительных *стазического* и *застойного* типов микроциркуляции. Четко определенных границ между всеми этими типами микрогемодинамики нет. Часто, особенно в условиях патологии, можно встретить и смешанные типы микроциркуляции с преобладанием того или иного типа. Можно, например, говорить о спастическо-стазическом типе микроциркуляции, или выделять еще какие-либо разновидности, типы или подтипы микроциркуляции, если это клинически, конечно, оправдано. Однако основные два или три типа микрогемодинамики (ГТМЦ, СТМЦ и, в ряде случаев, НТМЦ) достаточно наглядно и четко проявляют себя при анализе результатов оптической оксиметрии *in vivo* с использованием окклюзионного теста. Физиологические различия между ними заключаются в исходном уровне перфузии тканевой кровью и в величине резерва капиллярного

* Так же, как в методах лазерной доплеровской флоуметрии

кровотока, который и определяется в ответной реакцией на артериальную окклюзию.

Методика окклюзионного теста достаточно проста. При обследовании верхних конечностей измерения проводятся в области внутренней поверхности проксимальной фаланги 3-го пальца правой руки. Запись показателей осуществляется в положении сидя, кисть – на уровне сердца, рука лежит на столе, ладонью кверху. Температура окружающей среды +20–22°C. Перед закреплением датчика испытуемому надевают на плечо манжету от стандартного тонометра без нагнетания давления. Затем крепится на ладонной поверхности 3-го пальца правой руки датчик оксиметра и включается запись показателей. После записи в течение 60–90 секунд базового уровня параметров V_b и S_tO_2 быстро накачивается воздух в манжету до достижения давления 280–300 мм рт. ст., которое полностью перекрывает даже внутренний артериальный кровоток. При продолжающейся непрерывной записи показателей артериальная окклюзия поддерживается в течение 2,5–3 минут. По истечении этого времени давление в манжете резко сбрасывается, а запись показателей продолжают в течение еще 3–4 мин. Пример записи показателей по описанной методике для испытуемого с СТМЦ приведен на рис. 7.

В момент пережатия плечевой артерии поступление крови в конечность прекращается и наступает искусственно вызванная ишемия тканей конечности, степень выраженности которой можно наблюдать по постепенному снижению показателя S_tO_2 во время действия окклюзии. В большинстве случаев происходит и рефлекторное изменение в кровенаполнении в коже пальца руки. Для кожи проксимальных фаланг пальцев рук в большинстве случаев капиллярное кровенаполнение уменьшается, т.е. происходит отток крови из сосудов микроциркуляторного русла кожи. По окончании артериальной окклюзии (в момент декомпрессии) кровоток в артерии восстанавливается и в тканях развивается реактивная постокклюзионная гиперемия с максимальным заполнением свежей кровью всех работоспособных мелких сосудов и капилляров, что диагностически наглядно проявляется резким увеличением показателей V_b и S_tO_2 до значений, часто намного превышающих их исходный уровень. Изменение объемного кровенаполнения кожи от минимальных значений во время компрессии до максимальных в процессе реактивной гиперемии характеризует диапазон возможностей в

кровенаполнении тканей испытуемого, т.е. так называемый резерв капиллярного кровотока.

В приведенном примере наиболее отчетливо это проявляется в значениях показателя V_b . Кровенаполнение после декомпрессии почти в два раза превысило исходное среднее кровенаполнение, равное по графику 9 %, с быстрым последующим возвратом V_b в течение двух минут к первоначальному уровню.

Другой пример для пациента с ГТМЦ представлен на рис. 8.

Сравнение результатов рис. 7 и рис. 8 показывает, что отклик микроциркуляторного русла на окклюзионную ишемию и окклюзионный стресс не всегда одинаков. У разных испытуемых он может проявляться по-разному, в том числе, например, по показателю V_b может выявляться как большой, так и очень незначительный резерв кровотока. Увеличение этого показателя наблюдается при явлениях ангиоспазма, снижение – при явлениях застоя крови в системе микроциркуляции, в частности при

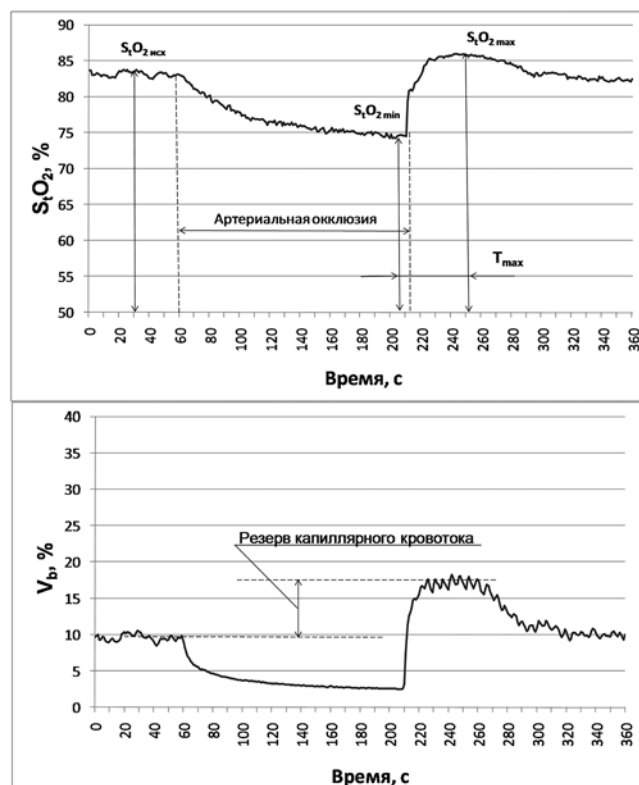


Рис. 7. Пример динамики показателей тканевой оксиметрии при окклюзионном тесте для испытуемого с СТМЦ. Окклюзия плечевой артерии с 60-й по 210-ю секунды

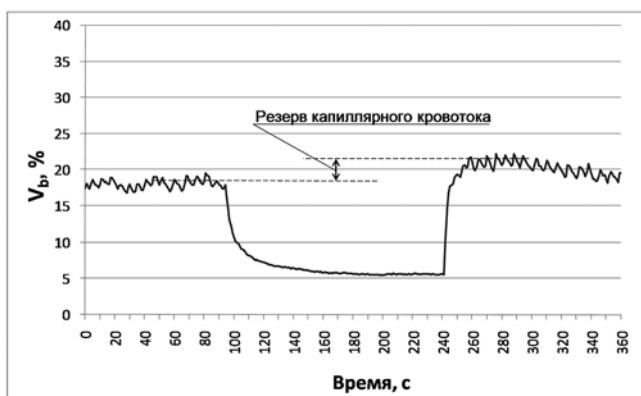


Рис. 8. Пример динамики показателя V_b при окклюзионном тесте для испытуемого с ГТМЦ. Окклюзия плечевой артерии с 90-й по 240-ю секунды

ангиодистоническом синдроме. Немаловажную роль играет здесь и исходное значение V_b . В последнем примере уже исходный уровень кровенаполнения в тканях был достаточно высоким, около 20 %, вследствие чего этот тип микроциркуляции и получил в литературе название гиперемического – ГТМЦ.

Таким образом, тип микроциркуляции, в первую очередь, проявляется при окклюзионном тесте отношением показателя $V_{b\max}$ при гиперемии к среднему значению V_b до начала компрессии, выраженным в процентах. Более высокие значения этого показателя (от 150 % и выше) соответствуют СТМЦ, средние (110–150 %) – НТМЦ, более низкие (90–110 %) – ГТМЦ. Причем по данным наших пилотных исследований на примере 35 испытуемых (здоровых добровольцев и пациентов разных клиник МОНИКИ), уже повышенное значение исходного среднего уровня V_b выше 15–18 % на проксимальной фаланге 3-го пальца правой руки (при нормальных комнатных условиях), может свидетельствовать о наличии у испытуемого ГТМЦ. Значения же V_b меньше 10 % свидетельствуют явно о наблюдаемом СТМЦ. Промежуточные и граничные из указанных значений V_b могут соответствовать НТМЦ или слабо выраженным ГТМЦ и СТМЦ.

При анализе кривой сатурации крови (S_tO_2), в первую очередь, в окклюзионном тесте оценивается средний исходный уровень показателя – $S_tO_{2\text{исх}}$ (см. рис. 7). Этот параметр сильно зависит от количества крови, проходящей через капилляры и артериоло-венулярные шунты: чем больше крови проходит через шунты, тем регистрируемый уровень сатурации кро-

ви будет выше, т.к. снижается интенсивность газообмена крови с тканями, который происходит, главным образом, в капиллярах. Аналогично $S_tO_{2\text{исх}}$ меняется, но уже в сторону уменьшения, при застойных явлениях в отводящем колене микроциркуляторного русла за счет увеличения в тестируемом объеме биоткани доли венозной крови, обедненной кислородом. Дополнительно нами фиксировался и оценивался уровень $S_tO_{2\text{min}}$ на последних секундах окклюзии, показывающий в совокупности с $S_tO_{2\text{исх}}$ общее потребление кислорода тканями в условиях искусственно вызванной ишемии. По окончании теста рассчитывалась степень депрессии или элевации кривой после снятия окклюзии в процентах по отношению к базовому значению $S_tO_{2\text{исх}}$, а также определялось время T_{\max} максимального нарастания показателя $S_tO_{2\max}$ после снятия окклюзии.

Большинство этих параметров, по нашим данным, также различаются для разных типов микроциркуляции крови и могут быть использованы для уточнения типа микроциркуляции. Однако небольшой объем исследований и небольшая группа испытуемых не позволяют пока рекомендовать эти данные в качестве стандарта для использования в клинической практике. Более того, изменение локализации датчика оксиметра, например, перемещение его на область предплечья, может привести и к изменению в соотношениях между всеми этими показателями. Т.е. для каждой выбранной области обследования требуется свой набор статистического материала.

Тем не менее, как показано выше, всегда, видимо, можно получить четкие количественные критерии, позволяющие дифференцировать разные типы микрогемодинамики по результатам анализа графиков объемного кровенаполнения и сатурации крови в условиях окклюзионного теста. В каждом конкретном случае, на основе полученных цифр, возможно более точное определение компенсаторных возможностей микроциркуляторного русла, и оценки степени проявления различных патологических процессов (если обследуется пациент с тем или иным заболеванием) и т.п. Другие же тесты несут другую информацию об особенностях микрогемодинамики пациента. В этом смысле метод оксиметрии достаточно перспективен.

Заключение

Как видно, методы оптической оксиметрии могут быть достаточно информативны и перспективны в современной доказательной медицине. Они хорошо обоснованы, имеют прочный физико-математический фундамент и базируются на методах физических измерений, т.е. являются полноправным разделом современной медицинской физики. Однако для методов тканевой оксиметрии, бесспорно, остается еще много нерешенных вопросов по точности и воспроизводимости результатов таких измерений, по методике проведения измерений, по данным в норме и при различных патологиях. Многие эти вопросы являются предметом исследований сегодня в крупных научных центрах мира, так что это диагностическое направление в полном смысле этого слова является развивающимся научным направлением и лежит сегодня на переднем крае научных исследований во всем мире.

Список литературы

1. Stokes G.G. On the reduction oxygenation of the colouring matter of the blood. // *Philosoph. Mag.*, 1864, **28**, P. 391.
2. Hoppe-Seyler F. Uber die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs. // *Arch. Pathol. Anal. Physiol.*, 1864, **29**, S. 233–251.
3. Hufner G. Uber die Bedeutung der in der vorigen Abhandlung vorgetragenen Lehre fur die Spectroskopie und Photometrie des Blutes. // *Arch. Physiol.*, 1890, **31**, P. 28–30.
4. Иржак Л.И. Гемоглобины и их свойства. – М.: Медицина, 1975, 327 с.
5. Физиология человека. В 3-х томах. Пер. с англ. Под ред. Р.Шмидта и Г.Тевса. – М.: Мир, 1996.
6. Finch C.A., Lenfant C. Oxygen transport in man. // *New Eng. J. Med.*, 1972, **286**, P. 407–415.
7. Крепс Е. Оксигемометрия. – М.: Медицина, 1978, 212 с.
8. ГОСТ Р ИСО 9919-99: Оксиметры пульсовые медицинские. Технические требования и методы испытаний. – М.: Госстандарт РФ, 2000.
9. Pologue J.A. Puls oximetry: Technical aspects of machine design. // *Int. Anesthesiol. Clin.*, **25**, 1987, P. 142–153.
10. Mannheim P.D., Casciani J.R., Fein M.E., Nierlich S. L. Wavelength selection for low-saturation pulse oximetry. // *IEEE Trans. Biom. Eng.*, 1997, **44**, No. 3, P. 148–158.
11. Zijlstra W.G., Buursma A., Meeuwse-van der Roest W.P. Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin and methemoglobin. // *Clin. Chem.*, 1991, **37**, No. 9, P. 1633–1638.
12. Мешков В.В. Основы светотехники. Уч. пособие для ВУЗов. Ч.1. – М.: Энергия, 1979, 368 с.
13. Гуревич М.М. Введение в фотометрию. – Л.: Энергия, 1968.
14. Бугер П. Оптический трактат о градации света. – М.: Изд-во АН СССР, 1950.
15. Lambert J. Photometria, sive de mensura et gradibus luminis, colorum et mubrac. // *Ostwald's Klassiker den exakten, Wissenschaften*, 1892, Nr. 31–33, Lpz.
16. Мошкевич В.С. Фотоплетизмография. – М.: Медицина, 1970, 178 с.
17. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. – М.: Мир, 1965, 484 с.
18. Gordy E., Drabkin D. Determination of the oxygen saturation of blood by a simplified technique applicable to standard equipment. // *J. Biol. Chem.*, 1957, **227**, No. 7, P. 285–299.
19. Horecker B.L. The absorption spectra of hemoglobin and its derivatives in the visible and near infra-red regions. // *J. Biol. Chem.*, 1943, **148**, No. 4, P. 173–183.
20. Шифрин К.С. Рассеяние света в мутной среде. – М.-Л.: Изд-во технико-теоретической литературы, 1951, 288 с.
21. Arnold T., Newman E. Densitometres. // *Medical electronics in cardiovascular disease*. – New York – London, 1963, P. 221–237.
22. Рвачев В.П. Введение в биофизическую фотометрию (фотометрические измерения в биологии). – Львов: ЛГУ, 1966, 378 с.
23. Кейз К., Цвайфель П. Линейная теория переноса. – М.: Мир, 1972.
24. Рогаткин Д.А. Об особенностях в определении оптических свойств мутных биологических тканей и сред в расчетных задачах медицинской неинвазивной спектрофотометрии. // *Мед. техника*, 2007, № 2, С. 10–16.
25. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г. Перспективы развития неинвазивной спектрофотометрической диагностики в медицине. // *Мед. техника*, 2003, № 4, С. 31–36.
26. Дмитриев М.А., Рогаткин Д.А., Федукова М.В. Об одной задаче рассеяния в классической теории переноса и рассеяния света в мутных средах. // В сб. "Проблемы оптиче-

- ской физики". Кн.1. – Саратов, ГосУНЦ "Колледж", 2003, С. 157–167.
27. Стреттон Дж. Теория электромагнетизма. Пер. с англ. под ред. Рытова С.М. – М.–Л.: Изд-во технико-теоретической литературы, 1948.
28. Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Petritskaya E.N. Diagnostic volume phenomenon in noninvasive medical spectrophotometry and a simple theoretical definition of that. // Proc. of PIERS'2009 Symposium, August 18–21, Moscow, Russia, 2009, P. 1762–1765.
29. Рогаткин Д.А., Дунаев А.В., Лапаева Л.Г. Метрологическое обеспечение методов и приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии. // Мед. техника, 2010, № 2, С. 31–36.
30. Афанасьев А.И., Рогаткин Д.А., Сергиенко А.А., Шумский В.И. Методики и аппаратура неинвазивной оптической тканевой оксиметрии. // Материалы XXVI школы по когерентной оптике и голографии. Под. ред. Малова А.Н. – Иркутск: Изд-во "Папирус2", 2008, С. 505–513.
31. Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Petritskaya E.N. et al. Multifunctional laser noninvasive spectroscopic system for medical diagnostics and metrological provisions for that. // Proc. SPIE, **7368**, 2009. - 73681Y.
32. Гордеев В.А., Максимов Г.И., Стерлин Ю.Г., Цвик А.И. Пульсовой оксиметр ОКСИ-ПУЛЬС-01. // Мед. техника, 1994, № 1, С. 45–47.
33. Grace R.F. Pulse oximetry. Gold standard or false sense of security? // Med. J. Austral., 1994, **160**, P. 638–644.
34. Benoit H., Costes F., Feasson L. et al. Accuracy of pulse oximetry during intense exercise under severe hypoxic condition. // Eur. J. Appl. Physiol., 1997, **76**, P. 260–263.
35. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., Сидоров В.В. Устройство для калибровки медицинских диагностических спектрофотометрических приборов. Патент РФ на изобретение №2398232 от 21.08.2008. // Оpubл. Бюлл. №24 от 27.08.2010.
36. Миронов Э.Г. Краткий сравнительный анализ применения понятий "погрешность" и "неопределенность" измерений. // Измерительная техника, 2009, № 2, С. 70–71.
37. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. Под. ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2005, 256 с.

PHYSICAL FOUNDATIONS OF OPTICAL OXIMETRY

D.A. Rogatkin

Moscow regional research and clinical institute "MONIKI" named after M.F.Vladimirskiy, Moscow

In the paper the physical background for the methods of medical optic oximetry – noninvasive diagnostic technique to evaluate a relative content of oxyhaemoglobin in the blood of examinee – is described. It is shown, how on the basic principles of photometry the relative content of oxygenated and deoxygenated fractions of haemoglobin can be calculated with the use of methods of absorption spectroscopy and elastic scattering spectroscopy. All needed terms and definitions are presented. Problems of errors and metrology of such measurements as well as problems of development of calculation algorithms and diagnostics methodology in the conditions of multicomponent light-scattering biological tissues are discussed.

Key words: light, wavelength, absorption, scattering, spectroscopy, medicine, diagnostics, oxygenation, saturation, oxyhaemoglobin

E-mail: rogatkin@monikiweb.ru