

## Алгоритм измерения абсолютных концентраций гемоглобина с использованием ближней инфракрасной спектроскопии

### Аннотация

Разработан алгоритм неинвазивного определения изменения содержания оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина в тканях головного мозга и мышц. Алгоритм построен на основе модифицированного закона Бугера-Ламберта-Бера. Предложена оригинальная эмпирическая модель для абсолютных концентраций оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина. Предложено использование алгоритма для спектрального аппаратно-программного комплекса, предназначенного для неинвазивного определения анаэробного порога. Проведена апробация разработанных алгоритма и комплекса на модели сокращающихся мышц предплечья. Результаты работы важны для клинической медицины и исследовательской деятельности.

### Введение

Известно успешное использование ближней инфракрасной (БИК) спектрофотометрии для сканирования биотканей млекопитающих, включая головной мозг взрослого человека, за счет оценки степени насыщения кислородом гемоглобина и определения окислительно-восстановительного состояния [1]. Метод позволяет проводить неинвазивный мониторинг степени оксигенации ткани, в том числе тканей скелетных мышц, во время интенсивных сокращений. В основе метода лежит теория многократного рассеивания фотонов и поглощения излучения гемоглобином в зависимости от его насыщения кислородом. Спектр поглощения крови в БИК-диапазоне определяется уровнем насыщения гемоглобина кислородом и концентрацией гемоглобина в эритроцитах. Суммарное содержание гемоглобина (Hb) отражает кровенаполнение работающей мышцы, а изменение концентрации дезоксигемоглобина свидетельствует об изменении потребления кислорода мышцей при различной интенсивности сокращений.

Поскольку основными веществами, которые поглощают свет в БИК-диапазоне в перфузируемых кровью тканях, являются оксигемоглобин ( $\text{HbO}_2$ ), дезоксигемоглобин (Hb) и вода, их спектральные свойства хорошо изучены в диапазоне 390...1000 нм [2]. Находящиеся в биотканях миоглобин, цитохромоксидаза, меланин и билирубин также поглощают излучение в этом спектральном диапазоне, однако ввиду их низкой концентрации их вкладом в поглощение можно пренебречь. Для неинвазивного определения содержания гемоглобина используют диапазон 700...900 нм, в котором поглощение излучения водой минимально, благодаря чему излучение может проникать глубоко в ткань [3], [4]. Поскольку спектры поглощения оксигемоглобина и дезоксигемоглобина различаются, появляется возможность раздельного измерения содержания этих веществ в ткани. Для мышечной ткани такие измерения *in vivo* возможны при нахождении источника излучения и приемника в одной плоскости на поверхности кожи над мышцей. В результате многократного рассеяния в ткани фотоны достигают фотоприемника, при этом максимальная глубина определяется расстоянием между источником и детектором. Однако ввиду появления систематической погрешности измерений, связанной с различной толщиной подкож-

ного жира, необходимо использование мощных источников излучения, а также увеличенного расстояния между источником света и приемником.

В связи с вышесказанным целью рассматриваемой работы является разработка алгоритма, позволяющего рассчитывать изменение индекса оксигенации, оксигемоглобина и дезоксигемоглобина в биоткани и интегрирование алгоритма в программное обеспечение для спектрального аппаратно-программного комплекса.

### Материалы и методы

Предложено использование спектрального аппаратно-программного комплекса NIRS4 (рис. 1). Комплекс состоит из трехчастотного светодиодного излучателя в центре с длинами волн 770, 810 и 850 нм и четырех приемников, расположенных по периметру на гибких лепестках для плотного прижатия к окружностям черепа или конечностей.

Во время работы излучатель формирует импульсы ИК-светового потока последовательно трех длин волн, характерных для поглощения соответственно  $\text{HbO}_2$ , Hb и общего гемоглобина (HbT). Спектрометр и алгоритм были разработаны в соответствии со стандартом безопасности и основных характеристик для функциональной спектроскопии в БИК-диапазоне IEC 80601-2-71 [6].

Для определения абсолютных значений концентраций гемоглобина запишем модифицированный закон Бугера-Ламберта-Бера, описывающий оптическое ослабление излучения в среде:

$$I = I_0 e^{-\mu_a L - G}, \quad (1)$$

где  $I$  – интенсивность регистрируемого света;  $I_0$  – интенсивность падающего света;  $\mu_a$  – коэффициент поглощения;  $L$  – путь, который свет проходит в среде;  $G$  – фактор ослабления, учитывающий рассеяние. В геометрии обратного рассеяния уравнение можно записать как

$$L = r_{SD} DPF, \quad (2)$$

где  $r_{SD}$  – расстояние между источником света и приемником;  $DPF$  – дифференциальный фактор длины пути, учитывающий рост протяженности пути при миграции фотонов из-за рассеяния.



Рис. 1. Изображение спектрального аппаратно-программного комплекса NIRS4 [5]

Коэффициент поглощения определяется как

$$\mu_a = \varepsilon c, \quad (3)$$

где  $\varepsilon$  – молярная экстинкция,  $(\text{мкмоль/л})^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;  $c$  – концентрация поглотителя,  $\text{мкмоль/л}$ .

В простейшей модельной расчетной схеме среда распространения излучения может быть представлена как двухкомпонентная среда жидкость-раствор, содержащая не поглощающий свет растворитель-основу и две растворенные в нем основные фракции  $\text{HbO}_2$  и  $\text{Hb}$ :

$$\mu_a = \varepsilon_{\text{HbO}_2} c_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\text{Hb}} c_{\text{Hb}}. \quad (4)$$

В разработанной модели предлагается учесть поглощение всеми остальными биологическими веществами помимо двух фракций гемоглобина. Пусть

$$\mu_a = \varepsilon_{\text{HbO}_2} c_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\text{Hb}} c_{\text{Hb}} + \mu_a^0, \quad (5)$$

где  $\mu_a^0$  – суммарный коэффициент поглощения всеми остальными биологическими веществами помимо двух фракций гемоглобина. Будем считать, что при изменении концентрации оксигемоглобина и дезоксигемоглобина  $\mu_a^0$  остается неизменным. Тогда, с учетом уравнений (1) и (4),

$$I = I_0 e^{-(\varepsilon_{\text{HbO}_2} c_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\text{Hb}} c_{\text{Hb}} + \mu_a^0) r_{SD} DPF - \tilde{G}},$$

где  $\tilde{G} = \mu_a^0 r_{SD} DPF + G$  – модифицированный фактор ослабления, учитывающий, кроме рассеяния, также поглощение всеми остальными биологическими веществами помимо двух фракций гемоглобина.

Из уравнения (5) следует:

$$\varepsilon_{\text{HbO}_2} c_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\text{Hb}} c_{\text{Hb}} = \left( -\ln \frac{I}{I_0} - \tilde{G} \right) \frac{1}{r_{SD} DPF}.$$

Для нахождения концентраций  $c_{\text{HbO}_2}$  и  $c_{\text{Hb}}$  должны быть проведены измерения на двух длинах волн: 770 и 850 нм. Отсюда следует

$$\begin{cases} \left( \varepsilon_{\text{HbO}_2}^{770} c_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\text{Hb}}^{770} c_{\text{Hb}} \right) = \left( -\ln \frac{I^{770}}{I_0^{770}} - \tilde{G}^{770} \right) \frac{1}{r_{SD} DPF}; \\ \left( \varepsilon_{\text{HbO}_2}^{850} c_{\text{HbO}_2} + \varepsilon_{\text{Hb}}^{850} c_{\text{Hb}} \right) = \left( -\ln \frac{I^{850}}{I_0^{850}} - \tilde{G}^{850} \right) \frac{1}{r_{SD} DPF}, \end{cases} \quad (6)$$

где  $\varepsilon_{\text{HbO}_2}^{770}$ ,  $\varepsilon_{\text{Hb}}^{850}$  – молярные экстинкции на длинах волн 770 и 850 нм соответственно;  $I^{770}$ ,  $I^{850}$ ,  $I_0^{770}$ ,  $I_0^{850}$  – интенсивности регистрируемого и падающего излучения соответствующей длины волны;  $\tilde{G}^{770}$ ,  $\tilde{G}^{850}$  – модифицированные факторы ослабления для соответствующих длин волн.

Отсюда получаем выражения для абсолютных концентраций оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина:

$$\begin{cases} c_{\text{Hb}} = \frac{1}{r_{SD} DPF} \times \\ \times \frac{\varepsilon_{\text{HbO}_2}^{770} \left( -\ln \frac{I^{850}}{I_0^{850}} - \tilde{G}^{850} \right) - \left( -\ln \frac{I^{770}}{I_0^{770}} - \tilde{G}^{770} \right) \varepsilon_{\text{HbO}_2}^{850}}{\varepsilon_{\text{HbO}_2}^{770} \varepsilon_{\text{Hb}}^{850} - \varepsilon_{\text{Hb}}^{770} \varepsilon_{\text{HbO}_2}^{850}}; \\ c_{\text{HbO}_2} = \frac{1}{r_{SD} DPF} \frac{\left( -\ln \frac{I^{770}}{I_0^{770}} - \tilde{G}^{770} \right) - \varepsilon_{\text{Hb}}^{770} c_{\text{Hb}}}{\varepsilon_{\text{HbO}_2}^{770}}. \end{cases} \quad (7)$$

Зная  $c_{\text{Hb}}$  и  $c_{\text{HbO}_2}$  из выражений (7), можно вычислить функциональную сатурацию оксигемоглобина в крови [7]:

$$\text{StO}_2 = \frac{c_{\text{HbO}_2}}{c_{\text{HbO}_2} + c_{\text{Hb}}} 100 \%. \quad (8)$$

Для расчета абсолютных концентраций оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина используются значения  $r_{SD} = 2,5$  см. В таком случае значения показателей поглощения в соответствии с [8]:  $\varepsilon_{\text{HbO}_2}^{770} = 650$   $(\text{моль/л})^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;  $\varepsilon_{\text{Hb}}^{770} = 1311,88$   $(\text{моль/л})^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;  $\varepsilon_{\text{HbO}_2}^{850} = 1058$   $(\text{моль/л})^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;  $\varepsilon_{\text{Hb}}^{850} = 691,32$   $(\text{моль/л})^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Дифференциальный фактор длины пути рассчитывается по формуле (9) в приближении полубесконечной среды:

$$DPF = \frac{\sqrt{3\mu_s}}{2\sqrt{\mu_a}} \cdot \frac{r_{SD} \sqrt{3\mu_a \mu_s}}{r_{SD} \sqrt{3\mu_a \mu_s} + 1}, \quad (9)$$

где  $\mu_a$  – коэффициент поглощения;  $\mu_s'$  – редуцированный (приведенный) коэффициент рассеяния. Для расчета использовались типичные значения  $\mu_a$  и  $\mu_s'$  для биологической ткани предплечья:  $\mu_a = 0,23$   $\text{см}^{-1}$ ;  $\mu_s' = 6,8$   $\text{см}^{-1}$ . Таким образом, дифференциальный фактор длины пути DPF, учитывающий рост протяженности пути миграции фотонов из-за рассеяния, составил 3,97. Из литературных данных экспериментальных измерений DPF можно видеть, что для биологических тканей в ближнем ИК-диапазоне значение DPF находится в пределах от 3 до 6 [9]. Таким образом, рассчитанное значение находится в хорошем соответствии с аналогичным экспериментальным значением. Значение DPF необходимо учитывать и при измерении относительных величин изменения концентрации оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина.

Для подтверждения работоспособности разработанного алгоритма был проведен эксперимент по измерению параметров оксигенации гемоглобина в тканях предплечья при сжатии кисти руки. Протокол эксперимента включал в себя следующую последовательность действий: прибор закрепляли на внутренней стороне предплечья, вблизи поверхностного сгибателя пальцев. Далее проводили измерение в состоянии покоя, после чего выполняли последовательные сжимания и разжимания резинового мячика в течение ~ 1,5 мин, затем проводили измерение еще в течение 2 мин.

## Результаты

Зависимости абсолютных значений концентрации фракций гемоглобина и значений сатурации, рассчитанных с использованием разработанного алгоритма, от времени представлены на рис. 2. Динамика полученных графиков эксперимента отражала быстрое снижение сатурации оксигемоглобина сразу после начала нагрузки, стабильную зависимость значения в течение нагрузки, быстрое повышение сразу после прекращения нагрузки и длительный (относительно периода нагрузки) период гиперкомпенсации. Левая пунктирная линия соответствует началу нагрузки, правая – окончанию.

При этом изменение концентрации обеих фракций гемоглобина и, как следствие, сатурации оксигемоглобина является более выраженным, что может быть связано с различным типом гемодинамики для разных мышц, а также с различной толщиной подкожного жирового слоя.

Проведенное сопоставление полученных результатов с известными из литературы результатами аналогичных экспериментов с использованием стационарных спектральных комплексов позволило установить хорошее соответствие значений [10].

## Заключение

Разработан алгоритм измерения абсолютных концентраций оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина на основе модифицированного закона Бугера-Ламберта-Бера с использованием спектрального аппаратно-программного комплекса NIRS4. Предложена оригинальная эмпирическая модель для определения абсолютных концентраций оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина. Проведена интеграция алгоритма в спектрометр NIRS4 для неинвазивного определения анаэробного порога. Проведена апробация разработанных алгоритма и комплекса на модели

сокращающихся мышц предплечья. Результаты работы важны для клинической медицины и исследовательской деятельности.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 075-03-2020-216 от 27.12.2019).*

*Список литературы:*

1. Тарасов А.П., Егоров А.И., Дроздов Д.В. Оптическая тканевая оксиметрия: проблемы применения в функциональной диагностике // Медицинский алфавит. 2017. Т. 2. № 22. С. 48-52.
2. Дунаев А.В., Жеребцов Е.А. Применение методов неинвазивной спектродетекции для исследования системы микроциркуляции крови при низкоинтенсивной лазерной терапии // Биотехносфера. 2009. № 6. С. 40-44.
3. Tuchin V. Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis. – SPIE Press Book, 2007. 840 p.
4. Gerasimenko A. Y. et al. The study of the interaction mechanism between bovine serum albumin and single-walled carbon nanotubes depending on their diameter and concentration in solid nanocomposites by vibrational spectroscopy // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2021. Vol. 227. PP. 1-10.
5. Buyanov D., Zabodaev S. Continuous Cerebral and Tissue Oximetry by Three-Wave NIRS Device / 2020 IEEE Conference of Russian Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering (EConRus). St. Petersburg and Moscow, Russia, 2020. PP. 2469-2472.
6. IEC 80601-2-71:2015 Medical electrical equipment – Part 2-71: Particular requirements for the basic safety and essential performance of functional near-infrared spectroscopy (NIRS) equipment / <https://www.iso.org/standard/61105.html>.
7. Рогаткин Д.А. Физические основы оптической оксиметрии // Медицинская физика. 2012. № 2. С. 97-114.
8. Kollias N., Gratzler W. Tabulated molar extinction coefficient for hemoglobin in water / <http://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.html>.

9. Scholkmann F., Wolf M. General equation for the differential pathlength factor of the frontal human head depending on wavelength and age // J. Biomed. Opt. 2013. Vol. 18. № 10. PP. 105004-1–105004-6.
10. Agbangla N.F., Audiffren M., Albinet C.T. Assessing muscular oxygenation during incremental exercise using near-infrared spectroscopy: Comparison of three different methods // Physiological Research. 2017. Vol. 66. № 6. PP. 979-985.

Дмитрий Анатольевич Буянов,  
аспирант,  
Институт биомедицинских систем,  
ФГБОУ ВПО «Национальный  
исследовательский университет «МИЭТ»,  
руководитель отдела регистрации  
и сертификации медицинских изделий,  
ООО «Медицинские Компьютерные Системы»,  
Павел Владимирович Шалаев,  
руководитель отдела разработки,  
ООО «Айвок»,  
Станислав Викторович Забодаев,  
гл. специалист в области разработки  
и проектирования оборудования  
для электроэнцефалографии,  
ООО «Медицинские Компьютерные Системы»,  
г. Москва, г. Зеленоград,  
Александр Юрьевич Герасименко,  
канд. физ.-мат. наук, доцент,  
Институт биомедицинских систем,  
ФГБОУ ВПО «Национальный  
исследовательский университет «МИЭТ»,  
г. Москва, г. Зеленоград,  
начальник лаборатории,  
ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова  
Минздрава России (Сеченовский Университет),  
г. Москва,  
e-mail: buyancik@gmail.com

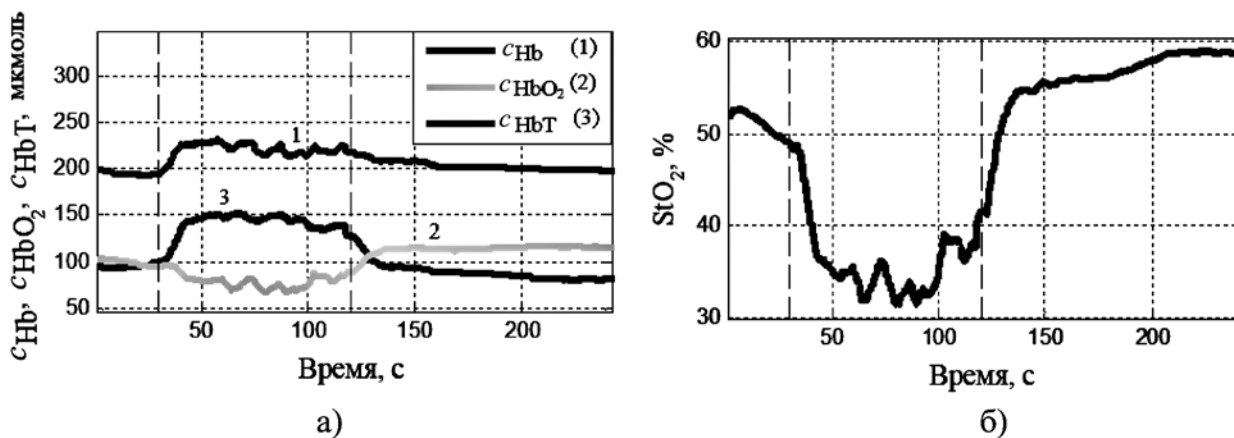


Рис. 2. Зависимости абсолютных значений концентрации фракций дезоксигенированного, оксигенированного, общего гемоглобина (а) и значений сатурации (б) от времени, рассчитанных с использованием разработанного алгоритма