**ĐẠI HỌC QUỐC GIA TP. HỒ CHÍ MINH**
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA**
**KHOA KHOA HỌC ỨNG DỤNG**

**----------o0o----------**

**LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC**

# NGHIÊN CỨU PHỔ HẤP THỤ VÀ TÁN XẠ CỦA ÁNH SÁNG TRONG MÔ HÌNH DA

**TRẦN THỊ THANH THƠ**
**LÊ NGUYỄN NGỌC TUYẾT**
**GVHD: PGS.TS HUỲNH QUANG LINH**

**TP. Hồ Chí Minh, Tháng 6/2019**

**ĐẠI HỌC QUỐC GIA TP. HỒ CHÍ MINH**
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA**
**KHOA KHOA HỌC ỨNG DỤNG**

**----------o0o----------**

# LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC

# NGHIÊN CỨU PHỔ HẤP THỤ VÀ TÁN XẠ CỦA ÁNH SÁNG TRONG MÔ HÌNH DA

**Sinh viên 1: Trần Thị Thanh Thơ**
**MSSV: 1513318**
**Sinh viên 2: Lê Nguyễn Ngọc Tuyết**
**MSSV: 1513901**
**GVHD: PGS.TS HUỲNH QUANG LINH**

**TP. Hồ Chí Minh, Tháng 06/2019**

# MỤC LỤC

NHIỆM VỤ LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP .....**Error! Bookmark not defined.**
LỜI CẢM ƠN .....**Error! Bookmark not defined.**
TÓM TẮT LUẬN VĂN .....**Error! Bookmark not defined.**
MỤC LỤC ..... i
DANH SÁCH HÌNH ẢNH..... iv
DANH SÁCH BẢNG BIỂU..... vii
DANH SÁCH THUẬT NGỮ VIẾT TẮT ..... viii
1. GIỚI THIỆU ..... 1
1.1 Đặt vấn đề..... 1
1.2 Tình hình nghiên cứu ..... 1
1.3 Nhiệm vụ luận văn ..... 1
2. TỔNG QUAN ..... 3
2.1 Tương tác ánh sáng – mô ..... 3
2.1.1 Tính chất quang học của da..... 3
2.1.1.1 Hấp thụ ..... 3
2.1.1.2 Tán xạ - Hệ số dị hướng ..... 7
2.1.1.3 Phản xạ - Khúc xạ ..... 15
2.1.1.4 Bảng thông số quang học của da ..... 16
2.2 Phản xạ khuếch tán..... 24
2.3 Các hiệu ứng của da ..... 29
2.3.1.1 Hiệu ứng kích thích sinh học..... 29
2.3.1.2 Hiệu ứng nhiệt ..... 29
2.3.1.3 Huỳnh quang ..... 30
3. ỨNG DỤNG ..... 32
3.1 OCT [27] ..... 32
3.1.1 Giới thiệu..... 32
3.1.2 Ứng dụng PS-OCT ..... 33
3.1.2.1 PS-OCT trong nhãn khoa ..... 33
3.1.2.2 PS-OCT trong mô da và mô mắt..... 36
3.1.2.3 PS-OCT trong mô ung thư ..... 37
3.1.2.4 PS-OCT trong Cơ bắp, Gân, Sụn và Xương ..... 38

3.2 Photoacoustic [28] ..... 39
3.3 Huỳnh quang [29] ..... 45
3.4 DOT-FNIRS ..... 54
3.4.1 DOT ..... 55
3.4.2 fNIRS ..... 56
3.5 Phương pháp đa bước sóng [35] ..... 62
4. MÔ PHỎNG ..... 66
4.1 Phương pháp Monte Carlo ..... 67
4.1.1 Tệp đầu vào ..... 69
4.1.2 Khởi tạo Photon ..... 70
4.1.3 Tạo khoảng cách truyền ..... 70
4.1.4 Di chuyển photon ..... 70
4.1.5 Phản xạ bên trong ..... 71
4.1.6 Hấp thụ photon ..... 71
4.1.7 Thay đổi hướng photon – Tán xạ ..... 71
4.1.8 Photon chấm dứt ..... 72
4.1.9 Tính số lượng quan sát được ..... 72
4.1.10 Kết luận ..... 73
4.2 Mô phỏng bằng MCML ..... 74
4.2.1 Giới thiệu ..... 74
4.3 Mô phỏng bằng MOSE ..... 76
4.3.1 Giới thiệu [39] [40] ..... 76
4.4 Mô phỏng bằng ValoMC ..... 78
4.4.1 Giới thiệu ..... 78
5. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN ..... 80
5.1 Mô hình các lớp da ..... 80
5.2 Mô phỏng và kết quả MCML ..... 80
5.2.1.1 Mô hình thứ nhất: ..... 81
5.2.1.2 Mô hình thứ hai: ..... 84
5.3 Mô phỏng và kết quả MOSE ..... 89
6. KẾT LUẬN VÀ HƯỚNG PHÁT TRIỂN ..... 95
6.1 Kết luận ..... 95
6.2 Hạn chế ..... 96
6.3 Hướng phát triển ..... 96

TÀI LIỆU THAM KHẢO ..... 96
PHỤ LỤC.....**Error! Bookmark not defined.**
Phụ lục A: Chương trình MCML.....**Error! Bookmark not defined.**
Phụ lục B: Chương trình Create_MCML_input_file.....**Error! Bookmark not defined.**
Phụ lục C: Tệp đầu vào MCML. File input (*.mci).....**Error! Bookmark not defined.**
Phụ lục D: Tệp đầu ra. File output (*.mci) .....**Error! Bookmark not defined.**
Phụ lục E: Tệp thông số của MOSE (.mse) .....**Error! Bookmark not defined.**

# DANH SÁCH HÌNH ẢNH

**Hình 2.1**: Biểu diễn sơ đồ các chế độ khác nhau của tương tác ánh sáng với các mô [2] . 3

**Hình 2.2** Phổ hấp thụ (biểu diễn theo hệ số hấp thụ, $\mu_a$, $cm^{-1}$) của các chromophore mô chính..... 5

**Hình 2.3** Hệ số hấp thụ của máu theo bước sóng. Hình trên: máu oxy hoá. Hình dưới: máu khử oxy hoá [5] ..... 6

**Hình 2.4** Phạm vi phổ hấp thụ của da người và các tế bào mô khác..... 7

**Hình 2.5**: Sự tán xạ Rayleigh ..... 9

**Hình 2.6** Sơ đồ phân cực của các phân bố cường độ phụ thuộc góc (Hàm pha Mie) cho 5 quả cầu đẳng hướng đơn với đường kính trong phạm vi của các tế bào đặc trưng cho các bào quan tế bào, từ 0,05 đến 1,00 mm..... 9

**Hình 2.7** Hàm tán xạ pha Henyey-Greenstein (HG) thường được sử dụng trong các mô quang học; nó được tính toán cho các giá trị g điển hình đặc trưng cho các mô cứng (0,6-0,9) và mô mềm (0,8-0,95) và máu (0,995). ..... 10

**Hình 2.8** Biểu đồ cực của sơ đồ tán xạ hoặc hàm pha cho Henyey- Greenstein cho các giá trị dị hướng của g = 0,1, g = 0,5 và g = 0,8. Ánh sáng là tới từ bên trái. [3] ..... 11

**Hình 2.9** Hàm tán xạ theo góc p(θ) (sr-1) của tế bào tại bước sóng 633 nm. ..... 12

**Hình 2.10** Tiến trình đo $u_a$ và $u_s$ bằng cách đo T và R kết hợp với bảng tra [10] ..... 13

**Hình 2.11** Bố trí thí nghiệm cho tổng hệ số truyền (a) và độ tán xạ khuếch tán (b). [11] .....**Error! Bookmark not defined.**

**Hình 2.12** Độ xuyên sâu quang học của da [13] ..... 15

Hình 2.13 Tương tác ánh sáng với mô..... 16

**Hình 2.14** RTE và Monte Carlo [3]..... 26

**Hình 2.15** Phản xạ khuếch tán để đáp ứng với sự cố chùm tia bút chì trên môi trường tán xạ bán vô hạn. Đường cong A là từ mô phỏng Monte Carlo, đường cong D là từ Thuyết khuếch tán. [22] ..... 27

**Hình 2.16** Phổ phản xạ khuếch tán của (a) ác tính (ung thư biểu mô ống xâm lấn) và (b) mô mỡ lấy từ cùng bệnh nhân [24] ..... 28

Hình 2.17 Tương tác nhiệt bên trong tế bào mô [26] ..... 30

**Hình 3.1** Các sơ đồ cơ bản cho PS-OCT..... 33

**Hình 3.2** PS-OCT ở mắt sau..... 35

**Hình 3.3** PS-OCT của mắt trước ..... 36

**Hình 3.4** PS-OCT của da..... 37

**Hình 3.5** PS-OCT của mô ung thư ..... 38

**Hình 3.6** PS-OCT của gân và sụn ..... 39

**Hình 3.7** Hình ảnh quang-âm .....**Error! Bookmark not defined.**

**Hình 3.8** Hình ảnh PA theo dõi khối u ác tính .....**Error! Bookmark not defined.**

**Hình 3.9** Các kỹ thuật hình ảnh quang học và siêu âm khác nhau có thể được kết hợp với PAI để cung cấp các đặc tính cấu trúc, chức năng và cơ học của mô**Error! Bookmark not defined.**

**Hình 3.10** Phổ hấp thụ (a) và phát xạ huỳnh quang (b) của nhiều loại fluorophores chiếm ưu thế có trong các thành phần mô phổ biến. (Adapted from Wagnières, G.A.S. et al., *Photochem. Photobiol*., 68, 603, 1998.) ..... 47

**Hình 3.11** Nghiên cứu các dấu ấn sinh học huỳnh quang định lượng in vivo của những thay đổi tiền ung thư biểu mô. Hình này cho thấy khả năng phân biệt giữa các loại mô khác nhau, in vivo, dựa trên phân tích huỳnh quang đa nhân ..... 52

**Hình 3.12** Phát hiện in vivo trong tân sinh bằng miệng bằng phương pháp quang phổ huỳnh quang. ..... 53

**Hình 3.13** Hình ảnh DOT về tổng nồng độ Hb của não ở trẻ sơ sinh cực kỳ nhẹ cân trong điều kiện giãn dioxide huyết. [19] ..... 56

**Hình 3.14** Các kỹ thuật hình ảnh quang học khuếch tán [31] ..... 57

**Hình 3.15** Hình ảnh cộng hưởng từ của (a) hình ảnh trục giải phẫu của cả hai vú với độ phân giải tương phản động để hiển thị vị trí của khối u. (b) Xem xét tăng cường độ tương phản trước trong mặt phẳng của khối u và (c) hình ảnh trừ của tiêm tăng cường tương phản sau trước. [33] ..... 58

**Hình 3.16** Nồng độ chromophore được tái cấu trúc của tổng hemoglobin (HbT), độ bão hòa oxy (SO2) và hàm lượng nước ($H_2O$) sử dụng 6 tái tạo bước sóng đơn kết hợp hiển thị phía trước và trục dọc [33] ..... 59

**Hình 3.17** Tái tổ hợp nồng độ chromophore của tổng hemoglobin (HbT), bão hòa oxy ($SO_2$), hàm lượng nước ($H_2O$), biên độ tán xạ và năng lượng tán xạ bằng cách sử dụng tái tạo quang phổ hiển thị phía trước và trục dọc [33] ..... 60

**Hình 3.18** Ánh sáng từ nguồn sáng được dẫn đến đầu bằng một ống quang. Một máy dò ảnh sẽ thu thập ánh sáng rời khỏi đầu ở khoảng cách vài cm. Các photon đi theo một con đường hình quả chuối từ nguồn sáng đến máy dò. ..... 61

**Hình 3.19** Trình tự quét tìm khối máu tụ não. [34] ..... 61

**Hình 3.20** So sánh giữa hình ảnh hypercube và RGB [35] ..... 62

**Hình 3.21** Sơ đồ của một hệ thống hình ảnh siêu âm quét đường (pushbroom) [35] ..... 62

**Hình 3.22** Ví dụ về sơ đồ mặt cắt ngang ..... 64

**Hình 3.23** Bản đồ bão hoà không gian ..... 65

**Hình 4.1** Chuyển động của một photon đơn lẻ trong một mô tán xạ ánh sáng. ..... 68

**Hình 4.2** Sơ đồ của chương trình Monte Carlo ..... 69

**Hình 4.3** Mô phỏng 2 lớp mỡ - cơ với bước sóng 1064nm ..... 76

**Hình 4.4** Kết quả mô phỏng demo một lớp cơ với bước sóng 1100 nm ..... 78

**Hình 4.5** Kết quả mô phỏng lớp cơ ở 1100 nm ..... 79

**Hình 5.1** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) và bán kính (r) của mô hình có lớp mỡ ..... 81

**Hình 5.2** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) của mô hình có lớp mỡ ..... 82
**Hình 5.3** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) của mô hình có lớp mỡ ..... 83
**Hình 5.4** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính r và góc a của mô hình có lớp mỡ ..... 84
**Hình 5.5** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) và bán kính (r) của mô hình có lớp máu tĩnh mạch ..... 84
**Hình 5.6** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) của mô hình có lớp máu tĩnh mạch..... 85
**Hình 5.7** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) của mô hình có lớp máu tĩnh mạch 85
**Hình 5.8** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính r và góc a của mô hình có lớp máu tĩnh mạch ..... 86
**Hình 5.9** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) và bán kính (r) của mô hình có lớp máu động mạch ..... 87
**Hình 5.10** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) của mô hình có lớp máu động mạch..... 88
**Hình 5.11** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) của mô hình có lớp máu động mạch ..... 88
**Hình 5.12** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) và góc a của mô hình có lớp máu động mạch ..... 89
**Hình 5.13** Bản đồ hấp thụ của kết quả mô phỏng ba chiều..... 90
**Hình 5.14** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp mỡ ở 400 nm ..... 90
**Hình 5.15** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp mỡ ở 800 nm ..... 91
**Hình 5.16** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp mỡ ở 1100 nm ..... 92
**Hình 5.17** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 400 nm..... 92
**Hình 5.18** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 600 nm..... 93
**Hình 5.19** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 800 nm..... 94
**Hình 5.20** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 1100 nm..... 95

# DANH SÁCH BẢNG BIỂU

**Bảng 2.1** Hệ số hấp thụ của da ở một số bước sóng ..... 18
**Bảng 2.2** Hệ số hấp thụ của da ở một số bước sóng (tiếp theo) ..... 20
**Bảng 2.3** Hệ số tán xạ giảm của da ở một số bước sóng ..... 22
**Bảng 2.4** Hệ số hấp thụ D [20] ..... 26
**Bảng 2.5** Tóm tắt ứng dụng của HSI trong y tế, từ Lu and Fei [35], lấy 3 cột..... 63
**Bảng 4.1** Các phần mềm môi trường ảnh phân tử [38] ..... 66
**Bảng 4.2** Các thông số quang học của da người theo bước sóng từ 400 – 1100 nm..... 80
**Bảng 4.3** Chỉ số khúc xạ và độ dày tương đối của các lớp..... 80

# DANH SÁCH THUẬT NGỮ VIẾT TẮT

ATP - Adenosin triphosphat

CCD - charge-coupled device

CT - Computed Tomography: Chụp cắt lớp vi tính

CW-TD-FD - Continuous wave - time domain - frequency domain: sóng liên tục – miền thời gian – miền tần số

DA - Diffusion approximation: xấp xỉ khuếch tán

DE - Diffusion equation: phương trình khuếch tán

DNA/RNA - Deoxyribonucleic acid / Ribonucleic acid

DOT - Diffuse optical tomography: chụp cắt lớp quang học khuếch tán

DRS - Diffuse reflectance spectroscopy: quang phổ phản xạ khuếch tán

FAD - Flavin adenin dinucleotide

FMN - Flavin mononucleotide

fNIRS - Functional near-infrared spectroscopy: quang phổ cận hồng ngoại chức năng

FOV - Field of view: trường xem

Hb - Hemoglobin

HbO2 - Oxyhemoglobin

HSI/MSI - hyperspectral imaging/multispectral imaging: hình ảnh siêu phổ/đa phổ

MC - Monte Carlo

MCML - Monte Carlo Multi-Layered: Monte Carlo đa lớp

MRI - Magnetic resonance imaging: hình ảnh cộng hưởng từ

MRS - Magnetic Resonance Spectroscopy: quang phổ cộng hưởng từ

NADH - Nicotinamide adenine dinucleotide

OCT - Optical Coherence Tomography: chụp cắt lớp quang học

PA – Photoacoustic: quang âm

PAI - Photoacoustic imaging: hình ảnh quang âm

PET - Positron Emission Tomography: chụp cắt lớp phát xạ positron

PS-OCT - Polarization sensitive optical coherence tomography: chụp cắt lớp quang học phân cực

RTE - Radiative Transfer Equation: phương trình truyền bức xạ

SPECT - Single Photon Emission Computed Tomography: chụp cắt lớp phát xạ đơn photon

THb - Total hemoglobin: tổng hemoglobn

UV-VIS-IR - Ultraviolet - visible – infrared radiation: tử ngoại – nhìn thấy – hồng ngoại

# 1. GIỚI THIỆU

## 1.1 Đặt vấn đề

Việc sử dụng ánh sáng trong y học hiện đại bắt đầu từ thế kỷ 19 với những cải tiến nhanh chóng trong sự hiểu biết về cả bản chất vật lý của ánh sáng và các tương tác vật chất ánh sáng cơ bản. Trong mô, các photon tương tác với vật chất sinh học thông qua các quá trình khác nhau, có thể được phân loại thành phân tán và hấp thụ. Sự tán xạ có thể làm thay đổi đường truyền, sự phân cực và phổ của ánh sáng tán xạ. Các trạng thái của ánh sáng tán xạ có thể được phân tích và lập bản đồ để chẩn đoán và sử dụng trong chẩn đoán hình ảnh. Trong sự hấp thụ ánh sáng, năng lượng của photon được chuyển đổi thành năng lượng điện tử hoặc rung động trong phân tử hấp thụ. Một phần năng lượng đó có thể được phát lại thông qua phát quang (ví dụ, huỳnh quang), tán xạ không đàn hồi hoặc sóng âm. Phát xạ như vậy từ mô mang thông tin về cấu trúc vi mô và nội dung phân tử của nó, và làm cơ sở cho chẩn đoán quang học và hình ảnh. Mặt khác, sự quang hợp của các phân tử nội tại hoặc các tác nhân nhạy cảm với ánh sáng ngoại sinh được đưa vào cơ thể có thể tạo ra các hiệu ứng khác nhau cho các mô và tế bào bên trong nó, thông qua việc tạo ra nhiệt (quang nhiệt), phản ứng hóa học (quang hóa) và quá trình sinh học (ảnh sinh học). Vì vậy việc nghiên cứu quá trình hấp thụ và tán xạ trên mô da đang được quan tâm rộng rãi. Nhiều ứng dụng dựa trên cơ sở hấp thụ, tán xạ như OCT, hình ảnh quang âm, kính hiển vi huỳnh quang, fNIRS, hay việc sử dụng ánh sáng LED, laser trong điều trị chẩn đoán các bệnh da liễu, thần kinh,.. đang được sử dụng rộng rãi và dần thay thế cho các phương pháp trị liệu bằng dược học giúp hạn chế tối đa những tác động có hại lên cơ thể.

## 1.2 Tình hình nghiên cứu

Việc nghiên cứu sự hấp thụ và tán xạ của ánh sáng với các mô như biểu bì, hạ bì ở da, lớp mỡ cơ, hay sự hấp thụ của máu đã được các nhà khoa học Jacquest và cộng sự (1987), hay Prahl (1988) là những nhà khoa học đi đầu trong việc nghiên cứu phổ tán xạ hấp thụ ở da. Sau đó viêc triển khai các thí nghiệm để nghiên cứu được mở rộng ra hơn ở máu, mỡ, cơ…như Chan (1996), Simpson và cộng sự (1998) và gần đây là Salomatina (2006). Dựa trên kết quả nghiên cứu, sau này nhiều nhà khoa học cũng bắt tay vào làm thực nghiệm để khảo sát các thông số trên Svaasand (1995), Meglinski (2002),…Tuy nhiên có một vấn đề được đặt ra là các chỉ số giữa thực nghiệm với nghiên cứu có sự chênh lệch đáng kể. Đã có vài bài báo giải thích sự chệnh lệch này là do việc tách lấy mô từ các bộ phận khác nhau, hay cách thực hiện khác nhau dẫn đến có sự chênh lệch này. Riêng thông số hấp thụ của máu có oxy và không oxy thì hầu như không có sự chênh lệch đáng kể Moaveni (1970), Schmitt (1986), Takatani và Graham (1987) hay phổ đầy đủ nhất do Gratzer và Kollias (1999) thực hiện. Máu là thành phần chính để có thể nghiên cứu được phổ hấp thụ hay tán xạ ở các lớp mô nêu trên. Việc so sánh các thông số giúp ta phát hiện được mô bệnh so với mô bình thường. Điều này đặt ra một cuộc cách mạng lớn cho việc phát triển các thiết bị dùng ánh sáng để tầm soát hay chữa bệnh trong tương lai.

## 1.3 Nhiệm vụ luận văn

Là một trong số ít đề tài quan tâm đến nghiên cứu sự truyền ánh sáng trong mô ứng dụng trong điều trị, chẩn đoán, thẩm mỹ, đề tài dặt ra mục tiêu tìm hiểu và nghiên cứu sự tương tác giữa ánh sáng với mô sinh học, điều đó thể hiện ở sự thống nhất trong số liệu thống kê là cần thiết cho việc nghiên cứu sau này. Vì vậy luận văn tập trung tạo ra một bộ dữ liệu được tổng hợp từ các bài báo, biểu đồ hay các nghiên cứu từ trước đến nay với dãy bước sóng được mở rộng nhiều hơn so với bài báo trước đây cho phép việc thực hiện các nghiên cứu được thực hiện dễ dàng hơn. Cũng như cho thấy tiềm năng trong việc ứng dụng các bước sóng dài trong chuẩn đoán, điều trị. Việc mô hình hóa lại các thông số cũng cho ta cách nhìn khách quan hơn, dễ dàng đánh giá được mức

độ của từng bước sóng thông qua sử dụng các chương trình MCML, MOSE, ValoMC cho ra các mô hình 2D hoặc 3D mô tả mức độ hấp thụ tán xạ giữa các lớp mô. Mỗi chương trình đều có ưu nhược điểm riêng, tuy nhiên tùy vào mục đích mà chúng ta sẽ lựa chọn chương trình nào tối ưu nhất cho việc nghiên cứu.

Đề tài đặt ra các nhiệm vụ như sau:

- Tìm hiểu sự tương tác giữa ánh sáng với mô
- Lập ra bảng thông số quang học của da theo bước sóng
- Tìm hiểu ứng dụng của các phương pháp chẩn đoán quang học
- Tìm hiểu sự truyền ánh sáng bằng phương pháp Monte Carlo
- Mô phỏng sự truyền ánh sáng vào mô hình da bằng một số phần mềm
- So sánh kết quả giữa các phần mềm, đối chiếu kết quả với thực nghiệm

# 2. TỔNG QUAN

## 2.1 Tương tác ánh sáng – mô

Ánh sáng được mang và vận chuyển bởi photon. Photon là một thuật ngữ được sử dụng bởi các nhà vật lí để biểu hiện khả năng điện từ của ánh sáng. Nó là hạt vận chuyển của tất cả các bước sóng bức xạ điện từ bao gồm tia gamma, tia X, tia cực tím ánh sáng, vi sóng và sóng vô tuyến. Photon di chuyển với vận tốc ánh sáng và không có khối lượng.

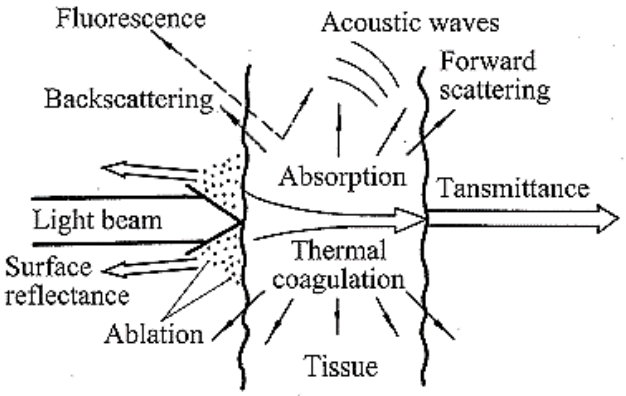
Để hiểu được các hình thức tương tác khác nhau giữa mô và ánh sáng, chúng ta cần có cái nhìn tổng quát về cách mà các photon tương tác với mô cũng như tính chất vật lý hình thành nên các tương tác đó.

### 2.1.1 Tính chất quang học của da

Các tính chất quang học của mô ảnh hưởng đến cả ứng dụng chẩn đoán và điều trị ánh sáng. Do đó, chỉ định tính chất quang của mô là bước đầu tiên hướng tới thiết kế đúng thiết bị, giải thích các phép đo chẩn đoán hoặc lập giao thức kế hoạch trị liệu. Bước tiếp theo là sử dụng các thuộc tính quang học trong mô hình vận chuyển ánh sáng để dự đoán sự phân bố ánh sáng và lắng đọng năng lượng. Có một số bảng các thuộc tính quang học được lập ra (hấp thụ, tán xạ, dị hướng, giảm tán xạ, chỉ số khúc xạ) của các mô khác nhau được đo tại một số (hoặc nhiều) bước sóng. Tuy nhiên, các giá trị được lập bảng có thể không chính xác do các sai số đo lường; và, mô sống của một người cụ thể có thể thay đổi về hàm lượng máu, hàm lượng nước, hàm lượng collagen và chất xơ. Các giá trị được lập bảng có thể không bao gồm các bước sóng quan tâm. Tuy nhiên, các số liệu này cho chúng ta một cái nhìn chung để ước tính các tính chất quang học của mô ở bước sóng quan tâm.

Các thông số quang học của mô bao gồm hệ số hấp thụ, hệ số tán xạ, hệ số dị hướng, chỉ số khúc xạ thực, hệ số tán xạ giảm.

Trên thực tế, trong mô, các quá trình tán xạ và hấp thụ có nhiệm vụ mở rộng chùm ánh sáng và phân rã khi nó truyền qua mô, trong khi tán xạ là nguyên nhân chính của sự phân tán của một lượng lớn bức xạ theo hướng ngược lại (xem Hình 2.1). [1] Do đó, sự lan truyền ánh sáng trong một mô phụ thuộc vào tính chất tán xạ và hấp thụ của các thành phần của nó: tế bào, bào quan tế bào và cấu trúc sợi khác nhau. Kích thước, hình dạng và mật độ của các cấu trúc này xác định chỉ số khúc xạ và trạng thái phân cực của tác nhân truyền ánh sáng trong mô.




**Hình 2.1**: Biểu diễn sơ đồ các chế độ khác nhau của tương tác ánh sáng với các mô [2]

#### 2.1.1.1 Hấp thụ

Hấp thụ là yếu tố giới hạn chính liên quan đến việc có thể tạo hình ảnh quang học sâu như thế nào, nhiều hơn so với tán xạ. Đa tán xạ không chuyển đổi năng lượng bức xạ, nó chỉ lây lan nó theo mọi hướng. Với suy nghĩ này, chọn các nguồn vào vùng hồng ngoại gần sẽ cải thiện sự thâm nhập độ sâu, độ nhạy và tín hiệu tỷ lệ nhiễu. [3]

Chromophores, còn được gọi là chất hấp thụ mô, là các nhóm phân tử chức năng hấp thụ ánh sáng, một số trong đó phát xạ ánh sáng sau khi hấp thụ, đó là fluorophores. Sự hấp thụ ánh sáng của chromophores phụ thuộc vào cả nồng độ và hệ số tuyệt chủng của chúng (độ mạnh hấp thụ). Chẳng hạn, nước chiếm tới 75% trọng lượng cơ thể, nhưng hệ số tuyệt chủng của nó rất thấp, việc tạo ra sự hấp thụ của nó không đáng kể trong vùng phổ điện từ này. Ngược lại, hệ số tuyệt chủng protoporhyrin IX rất cao trong vùng phổ này, nhưng nó nồng độ rất thấp cũng dẫn đến sự hấp thụ không đáng kể trong nhìn thấy. Hệ số tuyệt chủng thay đổi theo bước sóng theo cách đặc trưng sao cho mỗi chromophore có một tín hiệu quang phổ riêng biệt, theo cách tương tự như fluorophores có phổ huỳnh quang phát xạ đặc biệt. Ba chất hấp thụ chính được tìm thấy trong cơ thể là huyết sắc tố, nước và melanin. Protein và DNA hấp thụ trong tia cực tím (UV), nhưng không có trong vùng nhìn thấy. Melanin chỉ có trong da, mắt và tóc, và sự hấp thụ nước không đáng kể so với huyết sắc tố trong phạm vi nhìn thấy. Huyết sắc tố là chất hấp thụ chính trong phạm vi nhìn thấy. Do đó, huyết sắc tố là hợp chất hấp thụ chính trong phạm vi cơ thể. Nó hiện diện trong cơ thể ở hai dạng chính: deoxyhaemoglobin và oxyhaemoglobin. Do tầm quan trọng của nó, các đặc điểm huyết sắc tố được trình bày chi tiết hơn các chromophore khác. Một phân tử huyết sắc tố có thể lưu trữ bốn nguyên tử oxy để trở thành oxyhaemoglobin. Một khi nó giải phóng oxy, nó trở thành deoxyhaemoglobin. Trong quá trình này, màu của huyết sắc tố thay đổi từ màu đỏ tươi khi bão hòa hoàn toàn với oxy, đến màu đỏ thẫm cho deoxyhaemoglobin. Yếu tố chính chi phối oxy liên kết với hemoglobin là áp lực oxy trong máu. Các hệ số tuyệt chủng thường được sử dụng làm phổ cơ sở trong các quy trình phù hợp của phản xạ khuếch tán. Phổ được ghi lại từ mô để chiết xuất nồng độ oxyhaemoglobin và deoxyhaemoglobin, cho phép chẩn đoán các thông số hữu ích như độ bão hòa oxy mô. [4]

Một môi trường hấp thụ ánh sáng sẽ hấp thụ một phần ánh sáng tới trên mỗi chiều tăng dần của đường đi trong môi trường. Hệ số hấp thụ $u_a$ ($cm^{-1}$ ) được định nghĩa là

$$\mu_a = -\frac{1}{T}\frac{\partial T}{\partial L}, \qquad (2.1)$$

Trong đó T (không thứ nguyên) là phần truyền hoặc tồn tại của ánh sáng tới sau một đường dẫn tăng dần $\partial$ L (cm).

Phổ kế đo sự truyền qua môi trường không tán xạ có chứa chromophore là $T = 10^{-\varepsilon CL}$, trong đó C là nồng độ ((mol $L^{-1}$) hoặc (M)) và ε là hệ số tuyệt chủng ($cm^{-1}$ $M^{-1}$ ) của chromophore. Hệ số hấp thụ $u_a$ của một mô là tổng của các thành phần từ tất cả các chromophore trong mô:

$$\mu_a = \ln(10) \sum_i C_i \varepsilon_i \qquad (2.2)$$

Có nhiều loại chromophore, cả tự nhiên và ngoại sinh. Thông thường, máu và nước sẽ chi phối sự hấp thụ. Đôi khi, melanin, chất béo, bilirubin, beta-carotene hoặc một chất phụ gia như indocyanine màu xanh lá cây phải được xem xét. Các chromophore khác cung cấp đóng góp khá nhỏ. Nếu muốn phát hiện quang phổ, thì những đóng góp nhỏ rất quan trọng. Nếu quan tâm đến sự thâm nhập của ánh sáng vào mô, thì các tác nhân nhỏ đó đóng góp không đáng kể. [5]

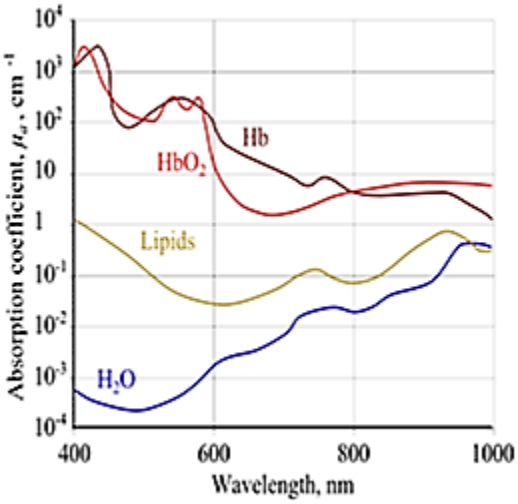
Sự hấp thu một photon chỉ xảy ra khi mà năng lượng của nó E= hn phải tương ứng với năng lượng khác biệt giữa các mức năng lượng. Quá trình hấp thụ ánh sáng là sự biến đổi năng lượng ánh sáng thành một dạng năng lượng khác, tức là nhiệt, âm thanh, huỳnh quang khi ánh sáng

truyền qua mô. Để mô tả sự hấp thụ của môi trường, hệ số hấp thụ $\mu_a$ được giới thiệu là nghịch đảo của khoảng cách d mà ánh sáng cường độ $I_0$ bị suy giảm $I(d) = \frac{I_o}{e} \approx 0{,}37 I_o$ (1.3), theo quy luật hàm mũ cho sự lan truyền ánh sáng trong lớp mô có độ dày d.

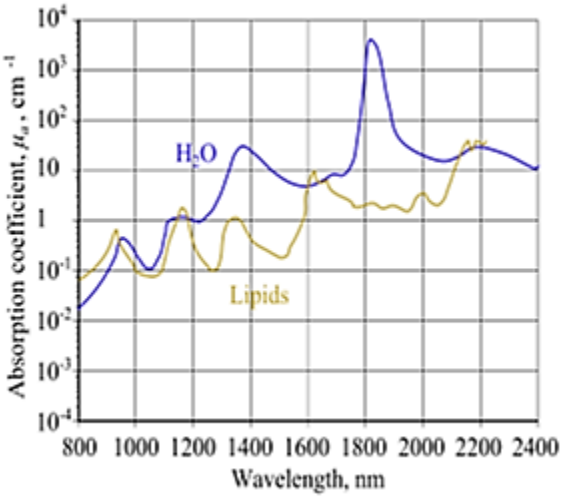
$$I(d) = I_o e^{(-\mu_a d)} \qquad (2.3)$$

Trong đó I (d) là cường độ ánh sáng truyền qua, W/cm$^2$, $\mu_a$ thường có đơn vị cm$^{-1}$.

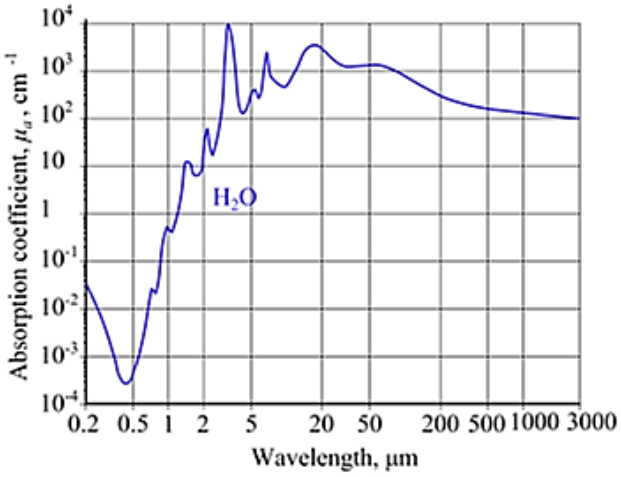
Phổ hấp thụ cũng có thể được biểu thị dưới dạng phụ thuộc bước sóng của hệ số hấp thụ. Các phổ UV-VIS-IR đối với các chất hấp thụ mô chính (chromophores): nước, lipit, oxy- và deoxyhemoglobin được trình bày trong Hình 2.2. Cửa sổ quang phổ chẩn đoán/điều trị, trong đó sự hấp thụ mô là tối thiểu và ánh sáng thâm nhập sâu hơn vào mô, được tìm thấy trong khoảng 700 nm đến 1100 nm, và hai cửa sổ hẹp hơn và kém xuyên suốt hơn là khoảng 1300 nm và 1600 nm. Do nước là thành phần chính của bất kỳ mô nào, nên hệ số hấp thụ của nước thường chiếm ưu thế trong tổng hệ số hấp thụ của mô trong một bước sóng cụ thể, đặc biệt là trong IR. [2]




(a)



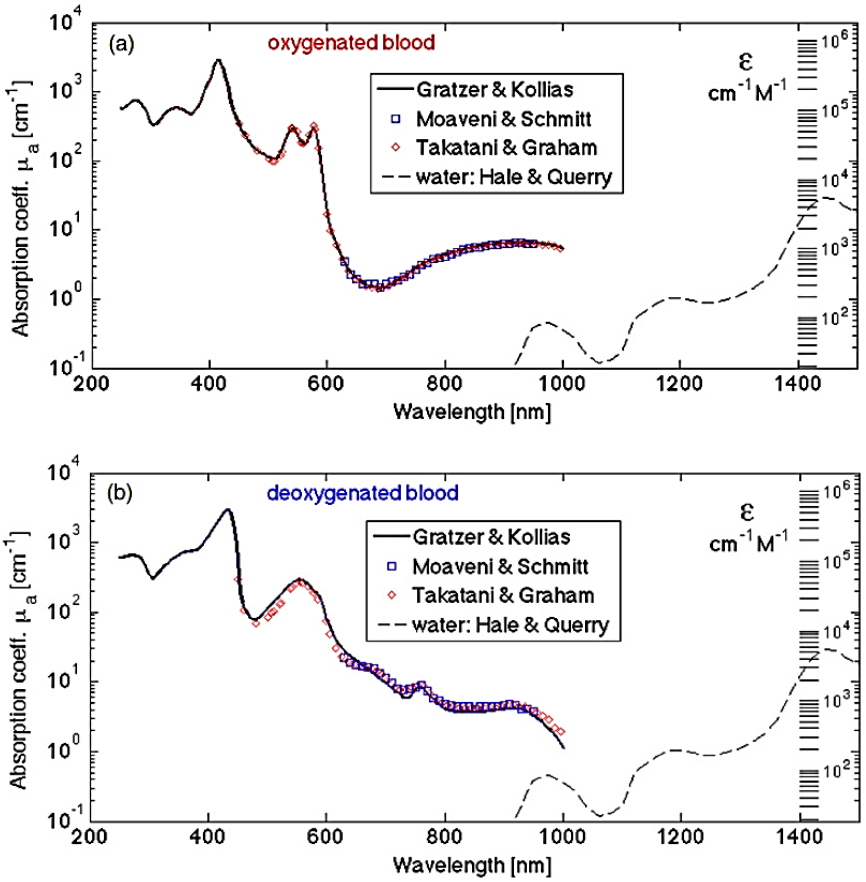

(b)




(c)

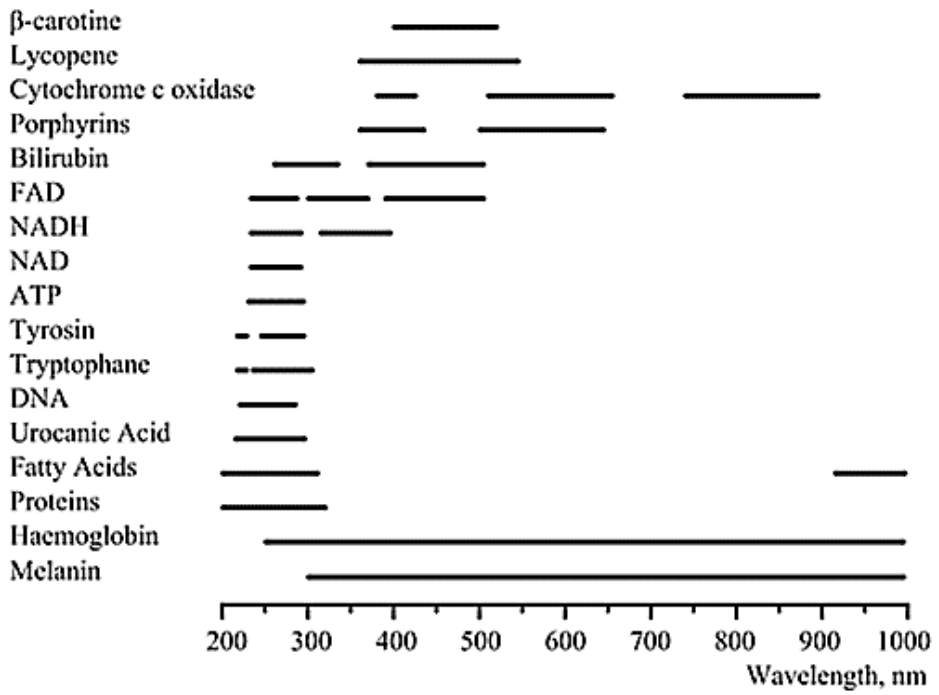
**Hình 2.2** Phổ hấp thụ (biểu diễn theo hệ số hấp thụ, $\mu_a$, cm$^{-1}$) của các chromophore mô chính.

Phạm vi nhìn thấy được-NIR (nước-$H_2O$, Lipid, oxyhemoglobin- HbO2, deoxyhemoglobin - Hb) (a); NIR (nước - $H_2O$, Lipid - ở dạng chất béo của con người) (b); UV-ánh sáng khả kiến-IR (nước) (c). [6]




**Hình 2.3** Hệ số hấp thụ của máu theo bước sóng. Hình trên: máu oxy hoá. Hình dưới: máu khử oxy hoá [5]

Ví dụ, phạm vi phổ hấp thụ của các sắc tố da chính của con người được trình bày trong Hình 2.4. Protein được tìm thấy trong lớp biểu bì chứa các axit amin thơm tryptophan và tyrosine có một dải hấp thụ đặc trưng gần 270-280 nm; axit urocanic và axit nucleic cũng góp phần vào dải hấp thụ này với mức tối đa 260-270 nm. Melanin biểu bì đóng một vai trò quan trọng trong việc hạn chế độ sâu thâm nhập của ánh sáng trong da: nó hấp thụ hiệu quả ở bước sóng từ 300 đến 1000 nm, nhưng sự hấp thụ mạnh nhất xảy ra ở bước sóng ngắn hơn, trong phạm vi phổ cận tia cực tím.




**Hình 2.4** Phạm vi phổ hấp thụ của da người và các tế bào mô khác.

FAD - flavin dinucleotide, NADH - dạng giảm của coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), ATP - adenosine triphosphate.

Oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, bilirubin, carotenoid và porphyrin là những sắc tố chính của da. Oxyhemoglobin có dải hấp thụ mạnh nhất ở 415 nm, và nó có hai dải hấp thụ thứ cấp ở 542 và 577 nm. Các deoxyhemoglobin có một dải hấp thụ chính ở 430 nm và nó có một dải hấp thụ thứ cấp duy nhất ở 555 nm. Cả hai hemoglobin biểu hiện sự hấp thụ thấp nhất ở bước sóng dài hơn 620 nm. Bilirubin có hai dải hấp thụ tương đối rộng gần 330 và 460 nm. [7] Hấp thụ bilirubin trong da thường xuyên được sử dụng để phát hiện tăng bilirubin ở trẻ sơ sinh.

#### 2.1.1.2 Tán xạ - Hệ số dị hướng

Theo Bohren và Huffman (1998): “Vật chất là tập hợp rời rạc điện tích là electron và proton. Nếu một vật cản, có thể là một electron, một nguyên tử hoặc một phân tử, một hạt rắn hoặc lỏng, được chiếu sáng bởi một sóng điện từ, điện tích trong chướng ngại vật được thiết lập thành chuyển động dao động bởi điện trường của sóng tới. Điện tích tăng tốc tỏa năng lượng điện từ theo mọi hướng; chính bức xạ thứ cấp này được gọi là bức xạ bị tán xạ bởi vật cản". Tuy nhiên, sự hấp thụ đó không đi vào định nghĩa này khi hấp thụ là quá trình trong đó điện tích cơ bản kích thích một phần của tia năng lượng điện từ đi tới thành các dạng khác (chủ yếu là năng lượng nhiệt trong trường hợp mô), tức là nó không bao gồm bức xạ lại. Theo định nghĩa về tán xạ này, rõ ràng là nó chỉ liên quan đến bức xạ điện từ và không áp dụng cho các hạt, có thể là viên bi hoặc bất kỳ vật thể nào khác, và như một nhắc nhở rằng ánh sáng không phải lúc nào được xem như là một tập hợp các hạt và vì vậy người ta nên cẩn thận khi sử dụng thuật ngữ 'photon' và chỉ đơn giản gọi nó là ánh sáng. [3]

Việc đo lường của $u_s$ có thể là một nhiệm vụ khó khăn. Việc đo lường của $u_s$ thường được thực hiện bởi một phép đo truyền dẫn chuẩn trực (Tc) qua mô có độ dày L để xác định $u_s = -\ln(Tc)/L$. Nhưng các phép đo như vậy phải được thực hiện thông qua một mẫu mô mỏng, trên thang đo của một đường dẫn tự do trung bình ($mfp = 1/u_s$ ), thường là 100 um hoặc ít hơn. Nhưng chuẩn bị các mô mỏng như vậy là không dễ dàng, và chúng phải chịu hút ẩm. Ngoài ra, sự không

đồng nhất của các mô trở nên rõ ràng trong các mẫu mỏng như vậy. Mặc khác, vấn đề là góc thu thập tại các đầu dò, nếu ghi nhận chúng sai, có thể đánh giá sai $u_s$. [5]

Tương tự, việc đo g có thể khó khăn. Đo trực tiếp p (θ) bằng phương pháp đo điện áp bao gồm đo độ tán xạ góc của ánh sáng bằng một mẫu mô mỏng, mà sau đó tính g. Ngoài những lo ngại về sự không đồng nhất cục bộ của một mẫu mỏng liên quan đến phương pháp đo điện áp, các phép đo theo hướng lùi (backward) thường thấp, và phải cao hơn bất kỳ mức đo nhiễu nào vì tín hiệu lùi là rất quan trọng đến giá trị ròng của g . Khi đo một tấm mô mỏng, góc và cường độ thoát ra từ mô có thể bị thay đổi bằng khúc xạ tại giao diện mô/không khí. Sử dụng một thấu kính bán cầu được ghép với mô cho phép các photon thoát ra gặp phải thủy tinh/không khí, làm giảm khúc xạ. Các phép đo tán xạ xung quanh $\theta = 90^o$ có thể phức tạp về mặt thực nghiệm; Một cách tiếp cận đối với đo g là sử dụng các giá trị của $\mu'_s$ từ việc đo lường ánh sáng khuếch tán đo lường và $\mu_s$ từ các phép đo truyền chuẩn trực để suy ra g: $g = 1 - \mu'_s / u_s$ . Trong khi giá trị của $u'_s$ thường thô, giá trị của $u_s$ có thể không đáng tin cậy. Sự giảm $u_s$ kéo theo sự giảm g; Một cách tiếp cận khác là đo sự suy giảm của phản xạ tán xạ ngược được thu thập bằng kính hiển vi đồng tiêu khi tiêu điểm được quét xuống mô. Một giá trị g cao cho phép ánh sáng để thâm nhập vào tiêu điểm mặc dù có nhiều sự tán xạ và để trở về từ tiêu điểm và vẫn đạt đến bộ thu. Tuy nhiên, giá trị g cao làm giảm lượng ánh sáng tán xạ ngược tại trọng tâm làm giảm hệ số phản xạ thu được. [5]

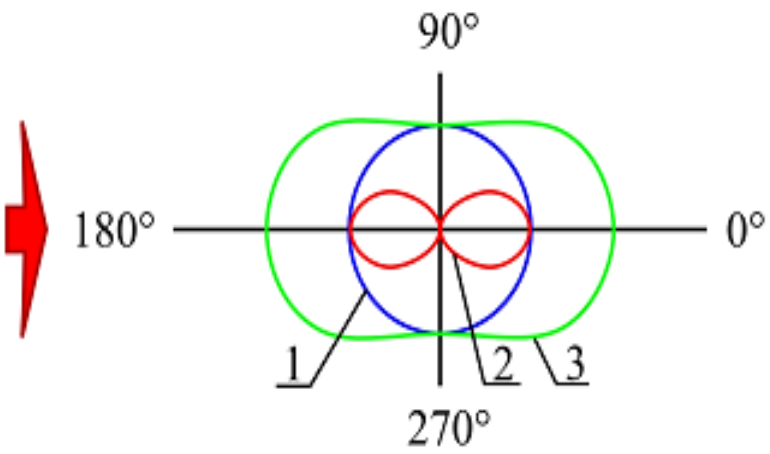
Tán xạ là một loại tương tác chủ yếu của quang phổ ánh sáng nhìn thấy và gần hồng ngoại với các mô. Sự tán xạ là sự phân tán các chùm ánh sáng từ một quỹ đạo thẳng, gây ra bởi sự không đồng nhất trong môi trường mà ánh sáng đi qua (các hạt tán xạ) và sự khác biệt của chiết suất (giữa 2 môi trường/lớp). Loại và cường độ tán xạ phụ thuộc vào kích thước của các hạt tán xạ liên quan đến bước sóng của ánh sáng tới. Trong tế bào, tán xạ quan trọng ở bào quan dưới mức tế bào.

**Tán xạ đàn hồi**

Sự tán xạ đàn hồi đề cập đến các quá trình trong đó các photon tới và ánh sáng tán xạ có cùng năng lượng (bước sóng), trong khi đó mô hình tán xạ đàn hồi Rayleigh và Mie được áp dụng cho tán xạ ánh sáng trong các mô.

Sự phân bố lại hướng bay của photon sau khi va chạm với một vật thể phụ thuộc vào tỷ lệ giữa kích thước vật thể và bước sóng của bức xạ điện từ. Tùy theo hệ số kích thước d mà người ta phân loại thành tán xạ Rayleigh $d<<1$ và tán xạ Mie $d\geq1$. Sự tán xạ trong mô cơ thể luôn là kết hợp của tán xạ Rayleigh và tán xạ Mie.

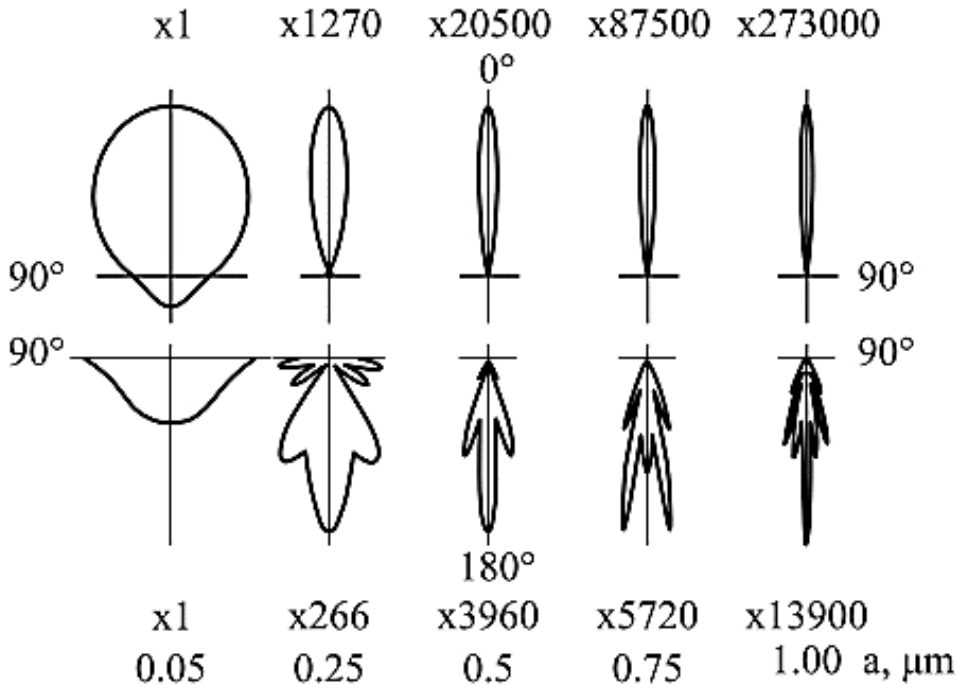
Hiện tượng tán xạ Rayleigh xảy ra trên các hạt nhỏ hơn nhiều so với bước sóng tới (tới 1/10 kích thước bước sóng tới). Trường điện từ dao động của bức xạ tới gây ra sự phân bố electron của một phân tử (hạt tán xạ), tạo ra lưỡng cực điểm trong phân tử, trong khi ánh sáng bị tán xạ đồng đều theo mọi hướng [26], (tán xạ đẳng hướng), không phụ thuộc hình dáng của vật thể tán xạ, với cường độ của ánh sáng tán xạ tỷ lệ với bán kính vật thể mũ sáu và tỷ lệ nghịch với bước sóng mũ bốn (bước sóng càng ngắn thì tán xạ càng mạnh).




**Hình 2.5**: Sự tán xạ Rayleigh

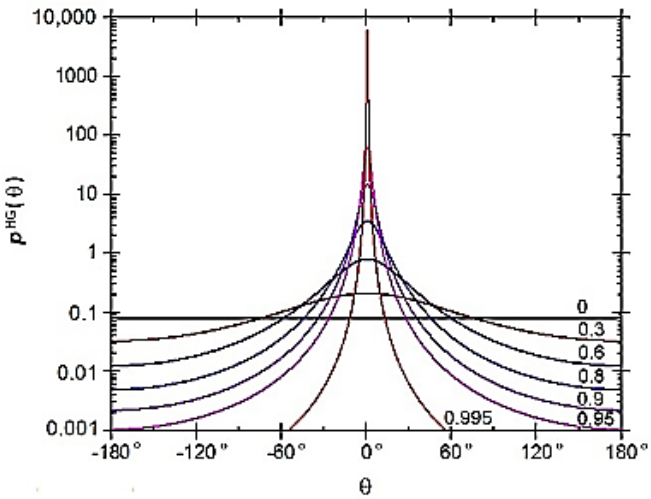
**Hình 2.5** cho thấy phân bố ánh sáng trong mặt phẳng tán xạ cho hai trạng thái phân cực tuyến tính trực giao và ánh sáng tới không phân cực. 1 - vectơ điện vuông góc với mặt phẳng tán xạ; 2 - vectơ điện song song với mặt phẳng tán xạ; 3 - ánh sáng không phân cực.

Tán xạ Mie tán xạ bởi các hạt hình cầu tương đối lớn (kích thước tương tự như bước sóng ánh sáng), là tán xạ phụ thuộc vào hình dáng và cấu trúc của mô. Các hạt lớn không hoạt động như các lưỡng cực, và sự giao thoa giữa các hạt gây ra một mô hình tán xạ phụ thuộc góc [8]. Đặc biệt, thuyết Mie mô tả một cách chặt chẽ sự nhiễu xạ (tán xạ đàn hồi) của ánh sáng bởi một hạt hình cầu. Những tiến bộ của lý thuyết này giải thích cấu trúc của các hạt hình cầu, cụ thể là các quả cầu nhiều tầng và các quả cầu với sự không đồng nhất về tính hướng tâm, bất đẳng hướng và hoạt động quang học.




**Hình 2.6** Sơ đồ phân cực của các phân bố cường độ phụ thuộc góc (Hàm pha Mie) cho 5 quả cầu đẳng hướng đơn với đường kính trong phạm vi của các tế bào đặc trưng cho các bào quan tế bào, từ 0,05 đến 1,00 mm.

Đa tán xạ




**Hình 2.7** Hàm tán xạ pha Henyey-Greenstein (HG) thường được sử dụng trong các mô quang học; nó được tính toán cho các giá trị g điển hình đặc trưng cho các mô cứng (0,6-0,9) và mô mềm (0,8-0,95) và máu (0,995).

Tán xạ trong quang học đều có thể được đặc trưng bởi hai thông số: hệ số tán xạ và hàm tán xạ (cho tán xạ không phân cực) hay ma trận tán xạ (cho tán xạ phân cực). Hệ số tán xạ cho biết tỷ lệ số photon bị lệch hướng bay trong tổng số photon ban đầu, khi tia sáng đi qua một đơn vị đo chiều dài. Hàm tán xạ hay ma trận tán xạ (hàm pha) mô tả các đặc tính tán xạ và thực chất là hàm mật độ xác suất của một photon khi đổi hướng. [2]

Các thuật ngữ tán xạ Rayleigh và tán xạ Mie thường được sử dụng trong lĩnh vực quang học y sinh, với tán xạ Rayleigh liên quan đến tán xạ bởi các hạt nhỏ hoặc khối lượng dao động mật độ nhỏ hơn nhiều so với bước sóng ánh sáng và tán xạ Mie đề cập đến tán xạ bởi các hạt tương đương hoặc lớn hơn bước sóng ánh sáng. Tán xạ Mie là tên chung để tán xạ bởi một hình cầu có kích thước bất kỳ, cả nhỏ và lớn, và thuật ngữ tán xạ Rayleigh phổ biến đề cập đến đến giới hạn Rayleigh của tán xạ Mie do các hạt nhỏ hơn nhiều so với bước sóng của ánh sáng. [5]

Bất cứ khi nào xử lý các mô tả thống kê, điều quan trọng là phải nhớ rằng chúng ta phải luôn có đối tượng có số lượng thống kê. Với ý nghĩ này, không có ý nghĩa gì cả khi mô tả hệ số tán xạ của mẫu với rất ít nhân tố tán xạ hoặc mô hình hóa giá trị thay đổi theo không gian của hệ số tán xạ ở khoảng cách nhỏ hơn khoảng cách trung bình giữa các hạt. Khi sử dụng thuyết Mie để mô tả phân bố góc, chúng ta có thể coi tế bào (ví dụ như tế bào mỡ) như một hình cầu đồng nhất để cho cường độ phân tán chính xác. Lý thuyết Mie được sử dụng để mô tả sự tán xạ ánh sáng từ hình cầu và hình trụ, giải pháp dạng đóng cho phương trình Maxwell. Từng loại mô sẽ có thuộc tính tán xạ riêng: nó sẽ có cấu trúc cụ thể, điều đó sẽ dẫn đến một trạng thái phân cực, như trong cơ bắp do cấu trúc bó sợi cơ rất cao; có hệ số tán xạ khác nhau do ảnh hưởng của kích thước và mật độ tế bào; hoặc yếu tố dị hướng khác nhau do sự biến đổi trong các chỉ số tương đối của các tế bào khi so sánh với môi trường xung quanh. Điều này có nghĩa là hệ số tán xạ 'thực' của các mô khác nhau không bao giờ được biết chính xác một tiên nghiệm. Tuy nhiên, tán xạ không thay đổi in-vivo đáng kể như sự hấp thụ, và người ta thường giả sử một giá trị trung bình cho hệ số tán xạ, ít nhất là cho mỗi loại mô. Một lần nữa, như trong trường hợp hấp thụ các mô, người ta có thể tìm thấy trong các nghiên cứu các giá trị rất khác nhau cho cùng một loại mô. Khi làm một tìm kiếm tài liệu như vậy một số điều cần phải được tính đến: làm thế nào các mẫu đã được chuẩn bị (nghĩa là nếu các phép đo là in-vivo hoặc ex-vivo. nếu các mẫu được duy trì trong điều kiện độ ẩm thích

hợp) hoặc nếu mô được đo có túi khí (ví dụ phổi, rất khó khăn, vì sự hiện diện của không khí có thể làm cho một hệ số tán xạ sẽ thay đổi với chu kỳ hô hấp), cùng với kỹ thuật và bước sóng được sử dụng. Điều được mong đợi là, hệ số tán xạ sẽ giảm theo bước sóng. [3]

Giả định rằng chúng ta có thể mô tả tổng phân phối các hạt như một tập hợp các hạt có bán kính trung bình $R_a$. Là $\xi$ $(R_a)dR$ số của các hạt trên $cm^3$ với bán kính trong khoảng $dR_a$ , độ tán xạ trung bình mặt cắt trên mỗi đơn vị thể tích của môi trường sẽ được đưa ra bởi:

$$\mu_s = \int_0^\infty \xi(R_a)\sigma_{sc}(R)_a dR_a \qquad (2.4)$$

Một đại lượng khác được sử dụng liên quan đến hệ số tán xạ của hạt dị hướng so với hạt đẳng hướng là hệ số tán xạ giảm:

$$\mu_s' = \mu_s(1-g) \qquad (cm^{-1}) \qquad (2.5)$$

• Đường dẫn tự do phân tán là:

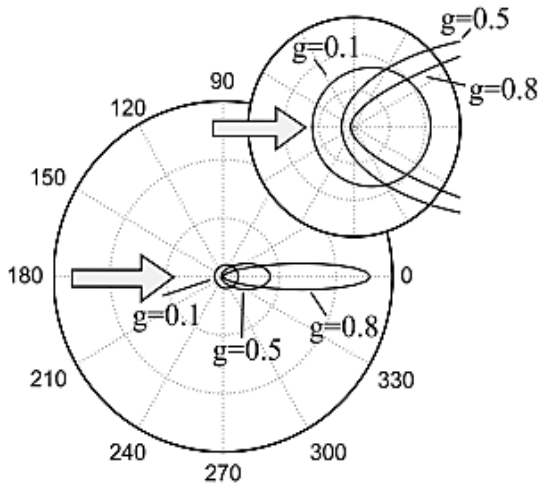
$$l_{sc} = \frac{1}{\mu_s} \qquad (cm) \qquad (2.6)$$

• Và đường dẫn tự do phân tán giảm là:

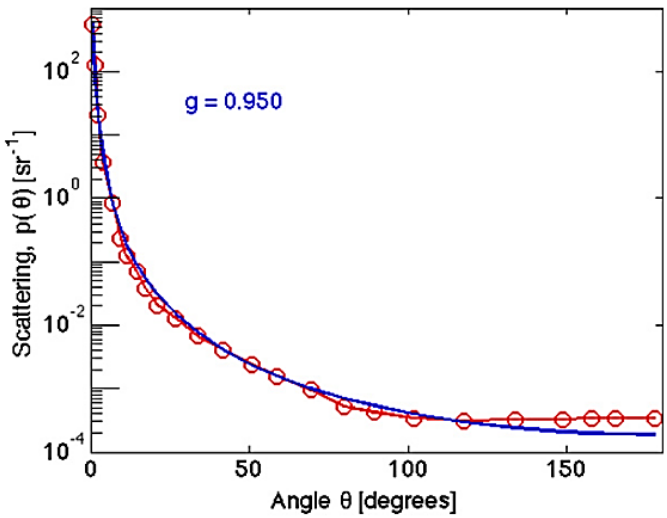
$$l_{sc}' = \frac{1}{\mu_s'} = \frac{l_{sc}}{(1-g)'} \qquad (cm) \qquad (2.7)$$

Đó là khoảng cách ánh sáng cần đi trước khi mất hướng truyền ban đầu của nó, là khoảng cách trung bình mà ánh sáng cần đi cho đến khi nó chịu sự kiện tán xạ tiếp theo.

Yếu tố dị hướng biểu thị mức trung bình của cosin giữa trường tới và trường phản xạ và sẽ xuất hiện bất cứ khi nào xác định các thuộc tính quang học trung bình của môi trường khuếch tán. Yếu tố bất đẳng hướng cũng sẽ cho chúng ta biết bao nhiêu tán xạ xảy ra theo hướng thuận (foreward) so với hướng ngược (backward). Hạt càng xuyên suốt, càng nhiều ánh sáng được phân phối theo hướng thuận. Ví dụ, nếu chúng ta coi hạt là chất béo, chúng ta có thể dễ dàng dự đoán rằng sự tán xạ của nó sẽ có tính dị hướng cao trong hướng phía trước, mà thực tế là như vậy.




**Hình 2.8** Biểu đồ cực của sơ đồ tán xạ hoặc hàm pha cho Henyey- Greenstein cho các giá trị dị hướng của g = 0,1, g = 0,5 và g = 0,8. Ánh sáng là tới từ bên trái. [3]

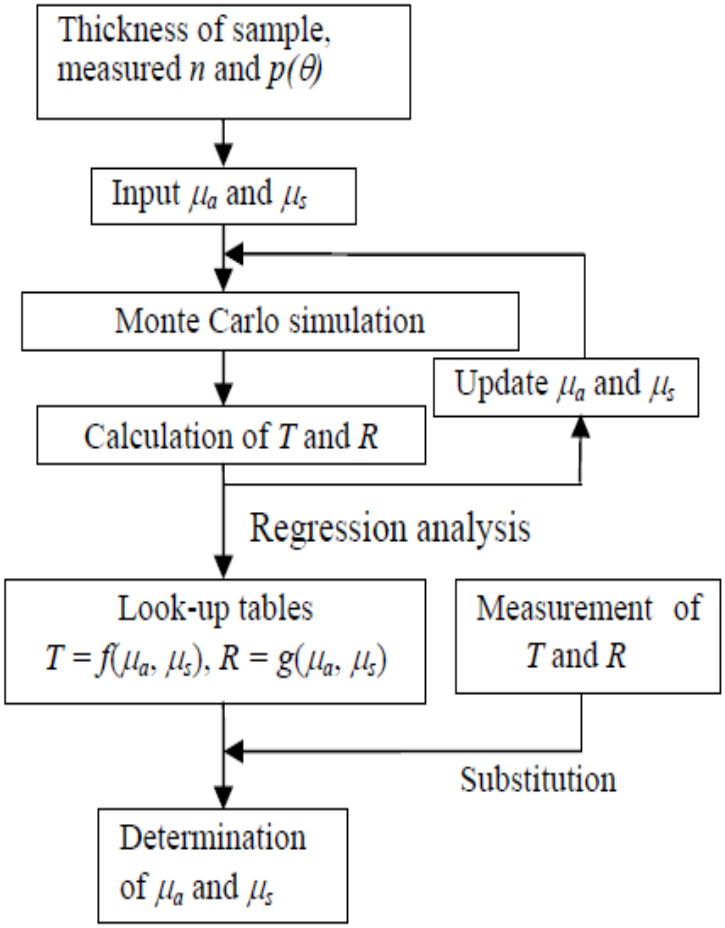



**Hình 2.9** Hàm tán xạ theo góc p(θ) (sr-1) của tế bào tại bước sóng 633 nm.

Dữ liệu của Hình 2.9 có được từ Xu và cộng sự (2008) [9]. Đường màu xanh là hàm Henyey-Greenstein. [5]

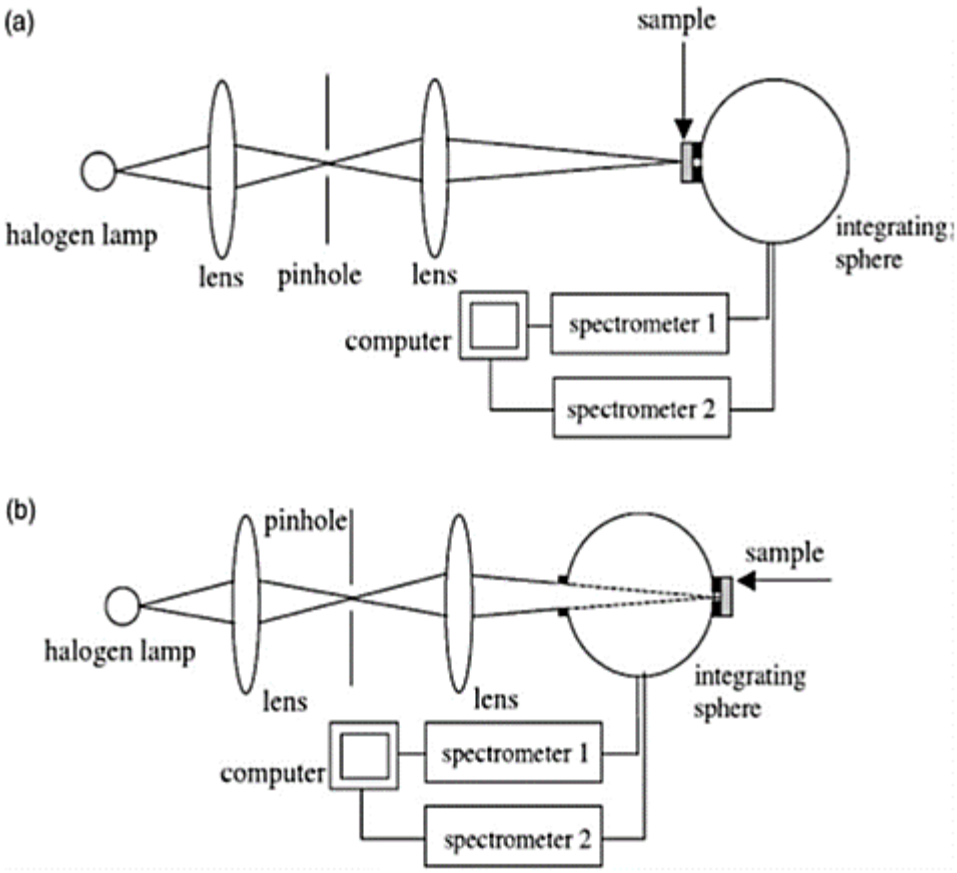
**Phương pháp đo các hệ số hấp thụ và tán xạ**

Các hệ số hấp thụ và tán xạ, $\mu_a$ $v$à $\mu_s$, được lấy từ phép đo độ truyền khuếch tán và độ phản xạ bằng cách sử dụng một hình cầu tích hợp kết hợp với bảng tra cứu được tạo ra bởi mô phỏng Monte Carlo. Hình 2.10 cho thấy toàn bộ quá trình đo $\mu_a v$à $\mu_s$. Trong thí nghiệm, phổ truyền qua T và độ phản xạ R, của một mẫu được đo bằng cách sử dụng một quả cầu tích hợp. Trong tính toán, kích thước, chỉ số khúc xạ, n và hàm pha tán xạ, p (θ) của mẫu được đưa ra trước. Các hàm pha được đo bằng máy đo góc bằng cách sử dụng các mẫu tán xạ đơn hoặc thu được từ tính toán của lý thuyết tán xạ Mie khi các mẫu thỏa mãn các giả định của lý thuyết Mie. Bây giờ, sự kết hợp đầu tiên của $\mu_a v$à $\mu_s$ được đưa ra, và theo các tham số này, độ truyền và độ phản xạ, T và R, được tính bằng mô phỏng lan truyền ánh sáng Monte Carlo. Sau đó, các giá trị của $\mu_a v$à $\mu_s$ được thay đổi thành một kết hợp khác và phép tính T và R được lặp lại cho số lượng quy định của các kết hợp a và s. Các kết quả tính toán của T và R sau đó được xây dựng dưới dạng các hàm đa thức của $\mu_a v$à $\mu_s$, T = f ($\mu_a, \mu_s$) và R = g ($\mu_a, \mu_s$), bằng cách sử dụng phân tích hồi quy. Các hàm này được coi là bảng tra cứu để xác định $u_a$ và từ số đo T và R. Cuối cùng, $\mu_a v$à $\mu_s$ được xác định bởi vì vậy g ($\mu_a, \mu_s$) cho $\mu_a v$à $\mu_s$. [10]




**Hình 2.10** Tiến trình đo $u_a$ và $u_s$ bằng cách đo T và R kết hợp với bảng tra [10]

Hệ thống đo quang phổ hình cầu tích hợp được xây dựng để đo độ phản xạ khuếch tán và tổng độ truyền qua của mẫu vật da. Các sắp xếp thí nghiệm được trình bày trong hình. **Error! Reference source not found.**a và **Error! Reference source not found.**b. Họ đã chọn một hệ hình cầu đơn tích hợp để tránh sự tương tác ánh sáng giữa các quả cầu. Để đo tổng độ truyền qua và độ phản xạ khuếch tán, ánh sáng từ đèn halogen được chiếu tập trung vào mẫu, đèn được gắn trên các cổng vào và ra của quả cầu tích hợp tương ứng. Kích thước bên của mẫu được khảo sát luôn lớn hơn đường kính của cổng hình cầu tương ứng. Đường kính của chùm tia trên mẫu không vượt quá 3 mm. Đối với các mẫu có kích thước bên trong khoảng từ 6 đến 7 mm, kích thước của chùm tia được giảm xuống còn 2 mm. Ánh sáng được phản xạ và truyền đi bởi mẫu được phát hiện bằng hai máy quang phổ dựa trên điện tích kết nối điện tử được nối thông qua các sợi quang đến các cổng dò. Hiệu chuẩn bước sóng của máy quang phổ được thực hiện bằng đèn Hg(Ar). Đối với tất cả các phép đo, tỷ lệ tín hiệu trên tạp âm không ít hơn 200:1. Để đảm bảo rằng cùng một khu vực của mẫu đã được kiểm tra, tất cả các slide được đánh dấu bằng một điểm quanh khu vực khảo sát trong lần đo đầu tiên. [11]



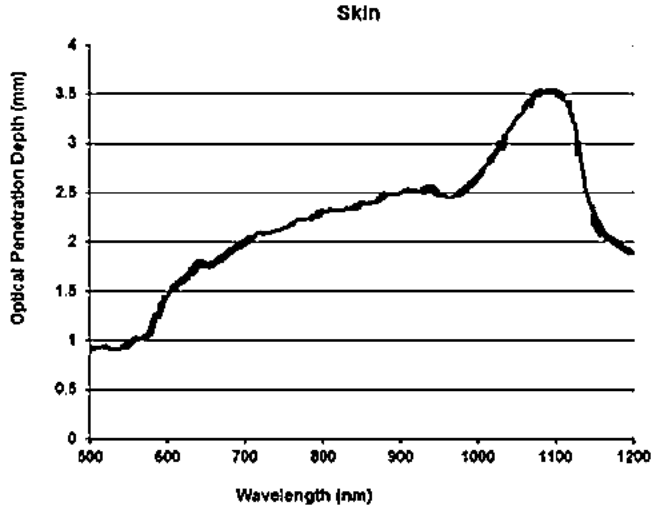

**Hình 2.11** Bố trí thí nghiệm cho tổng hệ số truyền (a) và độ tán xạ khuếch tán (b). [11]

**Độ xuyên sâu**

Quang phổ phản xạ khuếch tán (DRS) có phạm vi độ sâu thâm nhập từ hàng trăm micromet đến vài milimet trong mô. [12]

Cả hai hệ số hấp thụ và tán xạ đều ảnh hưởng đến độ sâu thâm nhập của ánh sáng. Bước sóng ảnh hưởng đến sự hấp thụ ánh sáng chọn lọc bởi một mục tiêu nhất định và cũng ảnh hưởng đến độ sâu của sự thâm nhập mô (Hình 2.12). Phần lớn các hệ thống ánh sáng có các bộ lọc khác nhau cho phép các bước sóng nhất định đi vào mô, do đó tạo ra sự lựa chọn phổ ánh sáng mong muốn. [7]

Bước sóng của một nguồn trị liệu có tầm quan trọng kép, nó đảm bảo cho sự hấp thụ các photon ở các chromophore đích và tại độ sâu mà các chromophore này tồn tại. Mỗi dải bước sóng có một độ xuyên sâu vào tế bào nhất định. Do đó lựa chọn bước sóng trong quang trị liệu là một điều rất quan trọng, bởi vì khi không có sự hấp thụ photon ánh sáng, thì sẽ không có phản ứng trên mô đích.

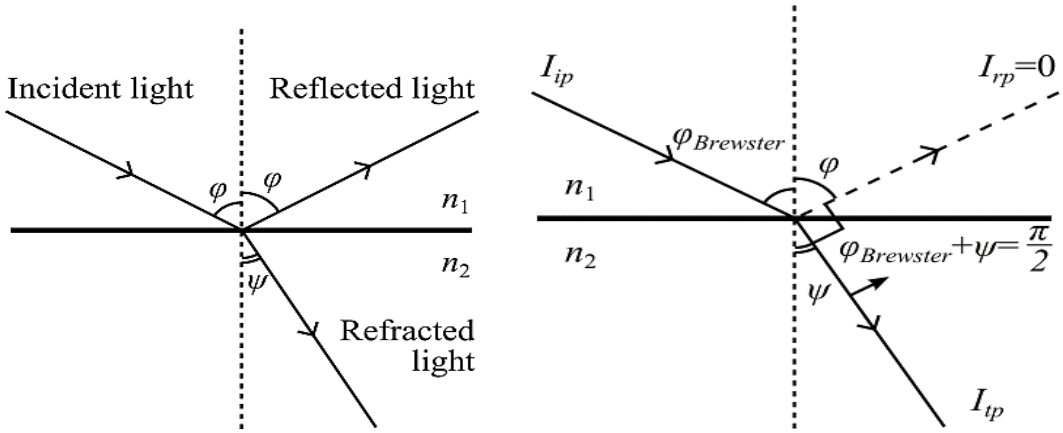


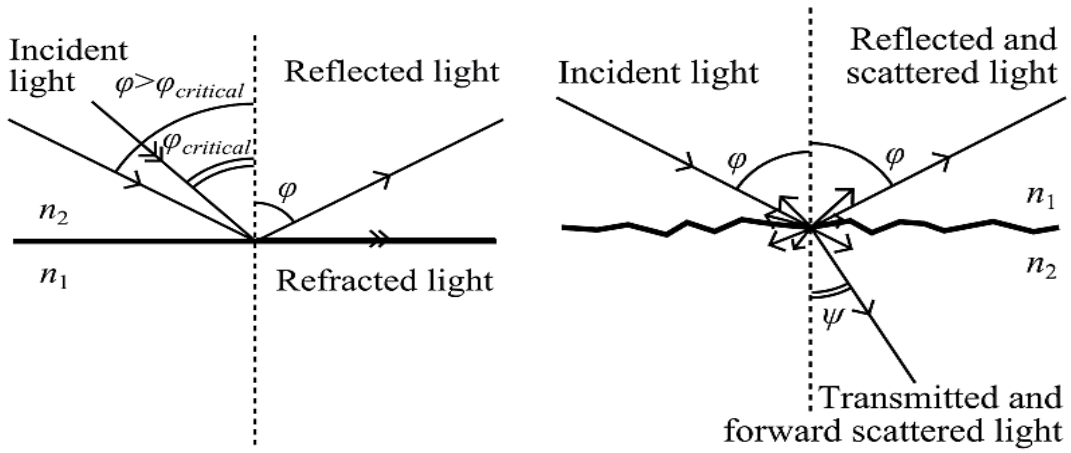

**Hình 2.12** Độ xuyên sâu quang học của da [13]

### 2.1.1.3 Phản xạ - Khúc xạ

Một mô sinh học là một môi trường điện môi có chỉ số khúc xạ trung bình cao hơn so với không khí. Do đó, khi tương tác với bề mặt mô, bức xạ ánh sáng có thể thực hiện phản xạ một phần tại giao diện mô/không khí (phản xạ Fresnel), trong khi phần còn lại thâm nhập mô (xem Hình 2.13 a. Khúc xạ ánh sáng là sự thay đổi theo hướng của một tia sáng khi truyền qua từ môi trường này sang môi trường khác, trong đó tốc độ ánh sáng (chiết suất) khác nhau.

Khúc xạ ánh sáng được đặc trưng bởi chỉ số khúc xạ tương đối, m, của hai môi trường này với chỉ số $n_1$ và $n_2$, $n_2 > n_1$. Đối với các mô khác nhau của con người và các thành phần mô, chỉ số khúc xạ (RI) trong dải bước sóng nhìn thấy/NIR thay đổi từ một giá trị cao hơn cho nước do ảnh hưởng của một số thành phần hữu cơ, $n_2 \cong 1{,}35$ cho dịch kẽ, đến 1,62 cho răng. [2]






**Hình 2.13** Tương tác ánh sáng với mô

Hình 2.13 cho thấy tương tác ánh sáng với mô không tán xạ với chỉ số khúc xạ trung bình $n_2=n_{mô}$, $n_1$ là chỉ số khúc xạ của môi trường xung quanh; $n_{mô} > n_1$: (a) minh họa sự phản xạ ánh sáng và truyền qua giao diện phẳng của bề mặt mô và môi trường xung quanh; (b) minh họa góc Biaster $\varphi_{Brewster}$ - góc tới mà ánh sáng phân cực trong mặt phẳng ánh sáng tới (p) được truyền hoàn hảo; đối với lớp sừng trên da với $n_2 \cong 1,5$ và $n_1 = 1$, $\varphi_{Brewster}$ $57^o$; . cho tầng sừng với $n_2 \cong 1,5$ và $n_1 = 1$, $\varphi_{critical} \cong 45^o$; (d) minh họa sự phản xạ ánh sáng, truyền và tán xạ bằng giao diện của mô tán xạ và môi trường xung quanh.

**Một mô chung**

Tính chất quang của mô nên được coi là biến từ mô này sang mô khác, người sang người và thậm chí thời gian. Các phương pháp đo tính chất quang học tiếp tục được cải thiện và có thể đánh giá nhanh một mô cụ thể, giống như lấy nhiệt độ với nhiệt kế. Dành cho người đọc muốn ước tính các thuộc tính quang học để hướng dẫn thiết bị hoặc thiết kế, một mô chung có thể được xây dựng được chỉ định bởi các chromophore hấp thụ trong các mô và bằng sự cân bằng của tán xạ Rayleigh và Mie trong mô.

Việc sử dụng một mô chung có thể bắt chước đầy đủ bất kỳ mô thực nào và có lợi thế là tạo ra quang phổ dự đoán hợp lý cho sự hấp thụ và tán xạ. Các phương trình trên cho phép tính toán tính chất quang học dự kiến so với bước sóng của các mô có hàm lượng chromophore khác nhau và vật siêu nhỏ. Các thông số mô trung bình có thể xác định sự phụ thuộc bước sóng của các đặc tính và hướng dẫn thiết kế các thiết bị, chẩn đoán và phác đồ điều trị.

### 2.1.1.4 Bảng thông số quang học của da

Thuộc tính quang mô thường được mô tả theo ba tham số: hệ số tán xạ $\mu_s$, hệ số hấp thụ $\mu_a$ và hệ số dị hướng tán xạ g. Các phép đo quang trên mô, chẳng hạn như độ phản xạ, là kết quả của hiệu ứng kết hợp của những tính chất này để hiểu được sự truyền ánh sáng trong mô. Mô hình vận chuyển ánh sáng cho phép so sánh các phép đo với thời gian, tần suất hoặc không gian thử nghiệm để phục hồi các tính chất quang học của mô.

Thông số quang học của da góp phần quan trọng vào tạo ra nguồn dữ liệu cho phép so sánh giữa thông số mô bình thường và mô bệnh thu được qua quá trình thực nghiệm. Bảng thông số bên dưới dựa trên bảng thông số được tổng hợp do Tom Lister et al [14]. thực hiện. Tuy nhiên, hiện nay người ta thường quan tâm tới các bước sóng ở vùng hồng ngoại gần với khả năng xuyên sâu cao để chẩn đoán các tế bào mô nằm sâu bên trong hơn là các ánh sáng vùng khả kiến. Bảng thông số dưới đây tổng hợp thông số về độ hấp thụ (Bảng a, bảng b) cũng như độ giảm tán xạ ( Bảng c)

với dãy bước sóng từ tử ngoại cho đến vùng hồng ngoại cho mô hình da với các lớp biểu bì, hạ bì, mỡ máu và cơ.

Quá trình hấp thụ ánh sáng ở da chủ yếu do hemolobin và melanin quyết định. Sự hấp thụ của máu có oxy [15] và không oxy được đề cập trong bảng dựa vào dữ liệu của Gratzer & Kollias [5]. Hemoglobin là chất hấp thụ chủ yếu ở lớp hạ bì. Sự hấp thụ của oxyhemoglobin và dexyhemoglobin phân biệt rõ nhất vào khoảng bước sóng 600nm-1000nm. Các nghiên cứu trong ống nghiệm dựa trên các nghiên cứu phân tích của Prahl và Jacques và cộng sự như Salomatina và cộng sự. [11] Tuy nhiên nghiên cứu của Salomatina và cộng sự đã kéo dài dãi bước sóng khảo sát lên khoảng gần 2000 nm để đưa ra sự khác nhau giữ mô bình thường và mô ung thư. Cũng như sự hấp thụ, tán xạ góp phần quan trọng vào sự xuất hiện của da. Sự tán xạ ở mô thay đổi theo hướng, phân cực hoặc pha của ánh sáng và thường được miêu tả là hoặc là một hiệu ứng bề mặt (như phản xạ hoặc khúc xạ). Sự hấp thụ và tán xạ của mô cơ cũng được quan tâm, sự hấp thụ của mô được xác định dựa vào độ hấp thụ của hemoglobin và nước, trong khoảng 52% -73% tùy theo tính chất từng loại mô (73% từ dữ liệu Bashkatov và cộng sự [16]). Mô hình của Simpson [17] cho hệ số tán xạ và truyền qua của lớp hạ bì da, mỡ dưới da và cơ bắp đã được đo cho tất cả các bước sóng trong khoảng từ 620 đến 1000nm. Các tính chất quang học này được dự định để được sử dụng trong các mô hình toán học của sự vận chuyển ánh sáng với khối lượng mô không đồng nhất lớn hơn chẳng hạn như đầu, tay chân hoặc bụng cho các ứng dụng hình ảnh quang phổ và quang phổ.

Điều đáng quan tâm là Prahl và cộng sự, Chan và cộng sự. Các nghiên cứu của Salomatina và cộng sự, có các mẫu khác nhau về độ dày trong khoảng từ 60 đến 780 m, không chứng minh được mối tương quan rõ ràng giữa độ dày mẫu và hệ số hấp thụ được công bố nhưng Simpson và cộng sự đã công bố các hệ số hấp thụ, đó là một thứ tự cường độ nhỏ hơn các giá trị khác được phân tích ở đây, liên quan đến các mẫu dày hơn nhiều (1500 đến 2000 mm). Do đó, sự khác biệt giữa hệ số hấp thụ được công bố trong các nghiên cứu này có thể có kết quả từ các khu vực da được điều tra.

Bảng thông số này cung cấp các giá trị được sử dụng để phân tích độ hấp thụ (**Bảng 2.1** và **Bảng 2.2**) và độ giảm hệ số tán xạ (**Bảng 2.3**) được báo cáo trong tài liệu, trong khi * biểu thị các giá trị thu được từ các bài thuyết trình đồ họa. Các dữ liệu còn lại được trích xuất trực tiếp từ văn bản hoặc bảng của các tài liệu.

**Bảng 2.1** Hệ số hấp thụ của da ở một số bước sóng

| In vitro absorption coefficients ($mm^{-1}$) | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wave-length (nm) | Prahl 1988* | Chan 1996 | Salo-matina 2006 epider-mis* | Salo-matina 2006 dermis* | Salo-matina 2006 subcu-taneous* | Bashkatov et al muscle 2011* | Graaf 1993 | Simpson 1998 dermis* | Simpson 1998 subder-mis | Simpson 1998 muscle | Friebel et al. (2006) oxy Hb | Du et al 2001* | Gratzer & Kollias 1999 oxy Hb* | Gratzer & Kollias 1999 deoxy Hb* | Dognitz 1998 |
| 360 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 370 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 380 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 390 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 400 | | 1.4 | 1.5 | 0.9 | 1.1 | 1.275 | | | | | 61.6 | | | | 0.6 |
| 410 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 420 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 430 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 440 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 450 | 5.1 | 1 | 1 | 0.6 | 0.9 | 1 | | | | | 26.3 | | | | |
| 460 | 4.7 | | | | | | | | | | | | | | |
| 470 | 4.9 | | | | | | | | | | | | | | |
| 480 | 4.3 | | | | | | | | | | | | | | |
| 490 | 3.9 | | | | | | | | | | 10.68 | | | | |
| 500 | 3.6 | 0.6 | 0.7 | 0.35 | 0.5 | 0.35 | | | | | 11.13 | | 10.02 | 10.02 | 0.24 |
| 510 | 3.1 | | | | | | | | | | | | | | |
| 520 | 2.7 | | | | | | | | | | 12.04 | | | | |
| 530 | 2.6 | | | | | | | | | | | | | | |
| 540 | 2.5 | | | | | | | | | | 23.23 | | | | |
| 550 | 2.2 | 0.4 | 0.45 | 0.25 | 0.4 | 0.45 | | | | | 19.67 | | 10.2 | 10.23 | |
| 560 | 2.1 | | | | | | | | | | | | | | |
| 570 | 2 | | | | | | | | | | | | | | |
| 580 | 2 | | | | | | | | | | | | | | |
| 590 | 1.8 | | | | | | | | | | | | | | |

| In vitro absorption coefficients ($mm^{-1}$) (Continued) | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wave-length (nm) | Prahl 1988 | Chan 1996 | Salo-matina 2006 epider-mis* | Salo-matina 2006 dermis* | Salo-matina 2006 subcu-taneous* | Bashkatov et al muscle 2011* | Graaf 1993 | Simpson 1998 dermis* | Simpson 1998 subder-mis | Simpson 1998 muscle | Friebel et al. (2006) oxy Hb | Du et al 2001* | Gratzer & Kollias 1999 oxy Hb* | Gratzer & Kollias 1999 deoxy Hb* | Dognitz 1998 |
| 600 | 1.9 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | | | | | 9.33 | | 5 | 10.03 | |
| 610 | 1.6 | | | | | | | | | | | | | | |
| 620 | 1.5 | | | | | | | | | | 0.414 | | | | |
| 630 | 1.3 | 0.3 | 0.25 | 0.15 | 0.15 | | 0.12 | 0.035 | 0.013 | 0.123 | 0.251 | | | | 0.06 |
| 640 | 1.3 | | | | | | | 0.032 | 0.012 | | | | | | |
| 650 | 1.4 | 0.3 | 0.25 | 0.15 | 0.13 | 0.17 | | 0.029 | 0.011 | | 0.187 | | 0.21 | 2.5 | |
| 660 | 1.4 | | | | | | | 0.026 | 0.01 | | | | | | |
| 670 | 1.3 | | | | | | | 0.024 | 0.0097 | | 0.122 | | | | |
| 680 | 1.3 | | | | | | | 0.022 | 0.0095 | | | | | | |
| 690 | 1.3 | | | | | | | 0.02 | 0.0092 | | | | | | |
| 700 | 1.1 | 0.2 | 0.25 | 0.15 | 0.13 | 0.11 | | 0.01 | 0.009 | 0.048 | 0.125 | | 0.109 | 1.01 | 0.04 |
| 710 | 1.2 | | | | | | | 0.018 | | | | | | | |
| 720 | 1.1 | | | | | | | 0.017 | | | | | | | |
| 730 | 1.1 | | | | | | | 0.017 | | | | | | | |
| 740 | 1.1 | 0.2 | | | | | | 0.017 | | | 0.184 | | | | |
| 750 | | 0.2 | | | | | | 0.017 | 0.009 | 0.041 | 0.199 | | 0.36 | 1 | |
| 800 | | 0.15 | 0.18 | 0.13 | 0.11 | 0.1 | | 0.016 | 0.008 | 0.028 | 0.327 | | 0.5 | 0.5 | |
| 850 | | 0.15 | | | | 0.12 | | 0.016 | 0.009 | 0.03 | 0.465 | | 0.48 | 0.65 | |
| 900 | | 0.13 | 0.09 | 0.1 | 0.1 | 0.12 | | 0.018 | 0.012 | 0.032 | | 0.06 | 0.5 | 0.8 | |
| 950 | | 0.12 | | | | | | 0.026 | 0.015 | 0.046 | 0.543 | 0.05 | 0.4 | 0.8 | |
| 1000 | | 0.12 | 0.05 | 0.09 | 0.09 | 0.13 | | | 0.012 | 0.051 | 0.651 | 0.045 | 0.15 | 0.72 | |
| 1050 | | 0.1 | | | | | | | | | | 0.042 | 0.09 | 0.5 | |
| 1100 | | 0.1 | 0.02 | 0.06 | 0.06 | 0.09 | | | | | 0.374 | 0.04 | 0.07 | 0.3 | |
| 1150 | | 0.15 | | | | | | | | | | | 0.06 | 0.19 | |
| 1200 | | | 0.06 | 0.15 | 0.2 | 0.15 | | | | | | | 0.05 | 0.11 | |

**Bảng 2.2** Hệ số hấp thụ của da ở một số bước sóng (tiếp theo)

| In vivo absorption coefficients ($mm^{-1}$) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| wavelength (nm) | Torricelli 2001* | Meglinski 2002 epidermis* | Meglinski 2002 dermis* | Graaf 1993 | Svaasand 1995 epidermis | Svaasand 1995 dermis | Zonios 2006 | Boschaart 2011 |
| 360 | | 0.6 | 0.79 | | 1.5 | 0.41 | | |
| 370 | | 0.55 | 0.78 | | 1.56 | 0.41 | | |
| 380 | | 0.05 | 0.89 | | 1.84 | 0.52 | | |
| 390 | | 0.46 | 1.2 | | 3.07 | 1.02 | 1.22 | |
| 400 | | 0.42 | 1.78 | | 5.83 | 2.13 | 1.61 | |
| 410 | | 0.39 | 2.88 | | 8.68 | 3.27 | 2.42 | |
| 420 | | 0.36 | 3.23 | | 8.68 | 3.28 | 2.92 | |
| 430 | | 0.33 | 2.57 | | 5.84 | 2.15 | 2.93 | |
| 440 | | 0.31 | 1.62 | | 3.05 | 1.04 | 1.44 | |
| 450 | | 0.29 | 0.566 | | 1.77 | 0.53 | 0.4 | 0.72 |
| 460 | | 0.27 | 0.258 | | 1.4 | 0.39 | 0.19 | 0.66 |
| 470 | | 0.25 | 0.189 | | 1.28 | 0.35 | | 0.58 |
| 480 | | 0.23 | 0.156 | | 1.19 | 0.31 | 0.12 | 0.54 |
| 490 | | 0.22 | 0.149 | | 1.1 | 0.28 | | 0.43 |
| 500 | | 0.2 | 0.15 | | 1.03 | 0.26 | 0.11 | 0.34 |
| 510 | | 0.19 | 0.16 | | 1.01 | 0.26 | | 0.29 |
| 520 | | 0.18 | 0.194 | | 1.11 | 0.3 | 0.16 | 0.27 |
| 530 | | 0.17 | 0.283 | | 1.31 | 0.38 | | 0.33 |
| 540 | | 0.16 | 0.362 | | 1.47 | 0.45 | 0.3 | 0.37 |
| 550 | | 0.15 | 0.338 | | 1.44 | 0.44 | | 0.34 |
| 560 | | 0.14 | 0.294 | | 1.32 | 0.4 | | 0.31 |
| 570 | | 0.13 | 0.32 | | 1.37 | 0.42 | | 0.33 |
| 580 | | 0.13 | 0.321 | | 1.29 | 0.39 | 0.27 | 0.29 |
| 590 | | 0.12 | 0.143 | | 0.86 | 0.22 | | 0.18 |

| In vivo absorption coefficients ($mm^{-1}$) (Continued) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| wavelength (nm) | Torricelli 2001* | Meglinski 2002 epidermis* | Meglinski 2002 dermis* | Graaf 1993 | Svaasand 1995 epidermis | Svaasand 1995 dermis | Zonios 2006 | Boschaart 2011 |
| 600 | | 0.11 | 0.056 | | 0.59 | 0.12 | 0.06 | 0.08 |
| 610 | 0.027 | 0.11 | 0.034 | | 0.51 | 0.09 | | |
| 620 | 0.023 | 0.1 | 0.023 | | 0.47 | 0.08 | 0.02 | |
| 630 | 0.019 | 0.1 | 0.018 | 0.003 | 0.45 | 0.07 | | |
| 640 | 0.017 | 0.09 | 0.015 | | 0.42 | 0.06 | 0.02 | |
| 650 | 0.016 | 0.09 | 0.013 | | 0.41 | 0.06 | | |
| 660 | 0.015 | 0.08 | 0.011 | | 0.4 | 0.06 | 0.01 | |
| 670 | 0.014 | 0.08 | 0.01 | | 0.38 | 0.05 | | |
| 680 | 0.013 | 0.08 | 0.008 | | 0.37 | 0.05 | 0.01 | |
| 690 | 0.012 | 0.07 | 0.007 | | 0.36 | 0.05 | | |
| 700 | 0.012 | 0.07 | 0.007 | | 0.35 | 0.05 | 0.01 | |
| 710 | 0.012 | 0.07 | 0.006 | | 0.34 | 0.05 | | |
| 720 | 0.012 | 0.06 | 0.006 | | 0.33 | 0.04 | 0.01 | |
| 730 | 0.012 | 0.06 | 0.006 | | 0.32 | 0.04 | | |
| 740 | 0.013 | 0.06 | 0.006 | | 0.31 | 0.04 | 0.01 | |

**Bảng 2.3** Hệ số tán xạ giảm của da ở một số bước sóng

| | In vitro reduced-scattering coefficients ($mm^{-1}$) | | | | | | | | | | | | | In vivo reduced-scattering coefficients ($mm^{-1}$) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wave-length (nm) | Prahl 1988* | Chan 1996* | Salo-matina 2006 epider-mis* | Salo-matina 2006 dermis* | Salo-matina 2006 subcu-taneous* | Bash-katov et al muscle 2011* | Graaf 1993 | Sim-pson 1998 dermis* | Sim-pson 1998 sub-dermis | Sim-pson 1998 muscle | Frie-bel et al. (2006) oxy Hb | Du et al 2001* | Dog-nitz 1998 | Torri-celli 2001* | Graaf 1993 | Svaa-sand 1995 | Zo-nios 2006 | Bos-chaart 2011 |
| 360 | | | | | | | | | | | | | | | | 80.6 | 2.25 | |
| 370 | | | | | | | | | | | | | | | | 78.4 | 2.23 | |
| 380 | | | | | | | | | | | | | | | | 76.3 | 2.22 | |
| 390 | | | | | | | | | | | | | | | | 474.4 | 0.2 | |
| 400 | | 3.4 | 10 | 7.5 | 5 | 4.68 | | | | | 44.75 | | 4.2 | | | 72.5 | 2.18 | |
| 410 | | | | | | | | | | | | | | | | 70.7 | 2.17 | |
| 420 | | | | | | | | | | | | | | | | 69 | 2.15 | |
| 430 | | | | | | | | | | | | | | | | 67.4 | 2.13 | |
| 440 | | | | | | | | | | | | | | | | 65.9 | 2.12 | |
| 450 | 14 | 2.9 | 9 | 6 | 4 | 3.29 | | | | | 5.256 | | | | | 64.4 | 2.1 | 2.08 |
| 460 | 14 | | | | | | | | | | | | | | | 63 | 2.08 | 2.03 |
| 470 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | 61.7 | 2.07 | 2 |
| 480 | 13 | | | | | | | | | | | | | | | 60.4 | 2.05 | 1.96 |
| 490 | 12 | | | | | | | | | | 3.016 | | | | | 59.2 | 2.03 | 1.93 |
| 500 | 12 | 2.4 | 7 | 4.5 | 3.5 | 1.75 | | | | | 2.825 | | 4.1 | | | 58 | 2.02 | 1.9 |
| 510 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | 56.9 | 2 | 1.87 |
| 520 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | 55.8 | 1.98 | 1.83 |
| 530 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | 54.7 | 1.97 | 1.8 |
| 540 | 11 | | | | | | | | | | 3.606 | | | | | 53.7 | 1.95 | 1.77 |
| 550 | 10.5 | 2.1 | 6 | 3.5 | 3 | 1.9 | | | | | 3.457 | | | | | 52.7 | 1.93 | 1.74 |
| 560 | 10.5 | | | | | | | | | | | | | | | 51.8 | 1.92 | 1.71 |
| 570 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | 50.9 | 1.9 | 1.68 |
| 580 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | 50 | 1.88 | 1.65 |
| 590 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | 49.2 | 1.87 | 1.62 |

| In vitro reduced-scattering coefficients ($mm^{-1}$) (Continued) | | | | | | | | | | | | | | In vivo reduced-scattering coefficients ($mm^{-1}$) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wave-length (nm) | Prahl 1988* | Chan 1996* | Salo-matina 2006 epider-mis* | Salo-matina 2006 dermis* | Salo-matina 2006 subcu-taneous* | Bash-katov et al muscle 2001 | Graaf 1993 | Sim-pson 1998 dermis* | Sim-pson 1998 subder-mis | Simpson 1998 muscle | Frie-bel et al. (2006) oxy Hb | Du et al 2001* | Dog-nitz 1998 | Torri-celli 2001* | Graaf 1993 | Svaa-sand 1995 | Zo-nios 2006 | Bos-chaart 2011 |
| 600 | 9 | 1.8 | 5 | 3 | 2.5 | 1.2 | | | | | 3.395 | | | | | 48.3 | 1.85 | 1.6 |
| 610 | 9 | | | | | | | | | | | | | 1.52 | | 47.5 | 1.83 | |
| 620 | 9 | | | | | | | | | | 2.354 | | | 1.48 | | 46.8 | 1.82 | |
| 630 | 9 | 1.7 | 5 | 3 | 2.4 | | 5.25 | 2.8 | 1.258 | 0.894 | 2.237 | | 3.2 | 1.44 | 1.45 | 46 | 1.8 | |
| 640 | 9 | | | | | | | 2.7 | | | | | | 1.39 | | 45.3 | 1.78 | |
| 650 | 8.5 | 1.6 | 4.5 | 3 | 2.4 | 1.08 | | 2.6 | 1.26 | | 2.189 | | | 1.38 | | 44.6 | 1.77 | |
| 660 | 8.5 | | | | | | | 2.5 | | | | | | 1.35 | | 43.9 | 1.75 | |
| 670 | 8 | | | | | | | 2.5 | | | 2.142 | | | 1.33 | | 43.3 | 1.73 | |
| 680 | 8 | | | | | | | 2.4 | | | | | | 1.31 | | 42.6 | 1.72 | |
| 690 | 8 | | | | | | | 2.3 | | | | | | 1.29 | | 42 | 1.7 | |
| 700 | 8 | 1.4 | 3 | 2.5 | 2.2 | 1 | | 2.3 | 1.21 | 0.818 | 2.11 | | 2.9 | 1.29 | | 41.4 | 1.68 | |
| 710 | 7.5 | | | | | | | 2.2 | | | | | | 1.28 | | 40.8 | 1.67 | |
| 720 | 7.5 | | | | | | | 2.2 | | | | | | 1.27 | | 40.3 | 1.65 | |
| 730 | 7.5 | | | | | | | 2.2 | | | | | | 1.25 | | 39.7 | 1.63 | |
| 740 | | 1.3 | 2.8 | 2.5 | 2 | 0.98 | | 2.1 | | | | | | 1.21 | | 39.2 | 1.62 | |
| 750 | | 1.2 | | | | | | 2.1 | 1.175 | 0.771 | 2.102 | | | | | | | |
| 800 | | 1.2 | 2.5 | 2.2 | 1.9 | 0.86 | | 2 | 1.14 | 0.704 | 2.025 | | | | | | | |
| 850 | | 1.1 | | | | 0.78 | | 1.9 | 1.117 | 0.667 | 1.999 | | | | | | | |
| 900 | | 1.1 | 2.1 | 2 | 1.8 | 0.72 | | 1.8 | 1.095 | 0.621 | 2.029 | 3 | | | | | | |
| 950 | | 1 | | | | | | 1.7 | 1.081 | 0.59 | 2.065 | 3.1 | | | | | | |
| 1000 | | 1 | 2 | 1.8 | 1.7 | 0.64 | | | 1.071 | 0.573 | 2.042 | 3 | | | | | | |
| 1050 | | 0.9 | | | | | | | | | | 2.8 | | | | | | |
| 1100 | | 0.8 | 1.9 | 1.7 | 1.6 | 0.58 | | | | | 1.919 | 2.8 | | | | | | |
| 1150 | | | 1.8 | 1.6 | 1.5 | | | | | | | | | | | | | |
| 1200 | | | 1.6 | 1.5 | 1.4 | 0.65 | | | | | | | | | | | | |

## 2.2 Phản xạ khuếch tán

Khi đến mô, ánh sáng có thể bị phản xạ hoặc khúc xạ. Ánh sáng phản xạ trực tiếp không xuyên qua mô và do đó không chứa thông tin hữu ích. Nó được gọi là một phản xạ gương và không chứa đáng kể thông tin chẩn đoán, mà còn có thể dẫn đến bão hòa tín hiệu.

Mô có thể được xem như một tập hợp các trung tâm tán xạ và hấp thụ. Các photon hình thành ánh sáng khúc xạ có thể được hấp thụ hoặc tán xạ bởi các mô chromophores và nhân tố tán xạ. Phần photon phát ra từ mô sau nhiều sự kiện tán xạ được gọi là phản xạ khuếch tán, khi sự tán xạ gây ra sự lan rộng và mất tính định hướng của chùm tia tới.

Quang phổ phản xạ khuếch tán là một kỹ thuật quang học không xâm lấn có thể làm tăng thêm tiêu chuẩn chẩn đoán ung thư hiện nay và cung cấp phản hồi thời gian thực về mức tối ưu vị trí sinh thiết trước khi mô được loại bỏ. Phổ phản xạ khuếch tán phản ánh tính chất hấp thụ và tán xạ của mô. Công nghệ này nhanh, định lượng và nhạy cảm với những thay đổi trong cấu trúc mô và sinh hóa. Một số nghiên cứu có đã chứng minh rằng quang phổ phản xạ khuếch tán có thể chẩn đoán ung thư biểu mô sớm với độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

Phản xạ khuếch tán đã được áp dụng thành công trong phân biệt mô ex-vivo. Tuy nhiên, vẫn còn thiếu thông tin liên quan đến sự khác biệt của các loại thông thường/bình thường của mô trong điều kiện in vivo bằng phương pháp quang phổ phản xạ khuếch tán. [18]

Độ phản xạ khuếch tán là thước đo của phần ánh sáng bị tán xạ sau trải qua một loạt các sự kiện hấp thụ và tán xạ và do đó là một hàm của cả hệ số hấp thụ và tán xạ.

Một số kỹ thuật phân tích quang phổ thu được qua phản xạ khuếch tán như phương pháp Monte Carlo, phân tich thành phần chính (PCA), thuật toán công cụ vector hỗ trợ (SVMA), mạng lưới thần kinh nhân tạo (ANN),…

**Phương trình chuyển bức xạ– thuyết khuếch tán**

Lý thuyết vận chuyển bức xạ nói rằng trong trạng thái ổn định, sự phân kỳ của một chùm bức xạ không chuẩn trực với cường độ riêng I , lan truyền từ một vị trí nhất định với một hướng nhất định trong mô bị giảm bởi một phần của chùm tia được hấp thụ hoặc lệch khỏi quỹ đạo ban đầu của nó, và được tăng lên bởi bức xạ nằm rải rác dọc theo hướng của nó và bởi nguồn sáng lân cận bên ngoài. Mô hình này sử dụng phương trình truyền bức xạ, thực hiện như sau hình thành trong chế độ trạng thái ổn định khi mô được coi là đồng nhất liên tục với các trung tâm tán xạ và hấp thụ phân phối ngẫu nhiên. [4]

Phương trình truyền bức xạ là một phương trình cân bằng năng lượng đã được sử dụng để mô hình vận chuyển năng lượng cho hơn 100 năm. Nó đại diện cho luật bảo tồn năng lượng cho một số lượng đặt ra bởi Max Planck như cường độ cụ thể trong Lý thuyết bức xạ nhiệt của ông xuất bản lần đầu vào năm 1906. Ông giới thiệu khái niệm về cường độ cụ thể: “Nói chung, bức xạ là một hiện tượng phức tạp hơn nhiều sự dẫn nhiệt. Lý do cho điều này là tình trạng bức xạ tại một thời điểm nhất định và tại một điểm nhất định của môi trường không thể được miêu tả, như dòng nhiệt dẫn (dòng ánh sáng khuếch tán trong trường hợp này) hay bởi một vectơ duy nhất (một số lượng định hướng duy nhất). Tất cả các tia nhiệt mà tại một thời điểm nhất định đi qua cùng một điểm của môi trường là hoàn toàn độc lập với lẫn nhau, và để xác định hoàn toàn trạng thái của bức xạ, cường độ bức xạ phải được biết theo mọi hướng, bởi vì một bức xạ này khác với một bức xạ khác.” [3]

RTE thường dùng (RTE vô hướng) có thể được coi là một trường hợp cụ thể của RTE khi chúng ta bỏ qua quá trình khử phân cực và các hiệu ứng kết hợp, và đặt tất cả các nguồn và máy dò trong trường-xa của các hạt. Trong đó, giả định rằng tất cả khoảng cách (bao gồm khoảng cách giữa các hạt) lớn hơn nhiều so với kích thước của các hạt tán xạ và lớn hơn nhiều so với kích thước bước sóng tới của ánh sáng. [3]

Có hai cách giải cho các phép đo phản xạ khuếch tán sử dụng RTE thông thường, các tọa độ rời rạc và mô phỏng Monte Carlo.

**Phương trình khuếch tán (DE)**

RTE là một phương trình vi phân tích phân, và rất khó để giải nó một cách chính xác. Ngoài ra, giải pháp số là vô cùng nặng nề. DE là xuất phát từ một xấp xỉ khuếch tán đến RTE, trong đó cường độ I(r, Ω, t) được tính gần đúng bởi hai số hạng đầu tiên của một chuỗi mở rộng trong các hài bậc cầu (xấp xỉ P1), biến đổi thời gian trong vectơ thông lượng J(r, t) được coi là không đáng kể và nguồn sáng là đẳng hướng.

Miền thời gian DE được thể hiện là

$$\left[\frac{\partial}{v(r)\partial t} - D\nabla^2 + \mu_a(r)\right]\phi(r,t) = q(r,t) \qquad (2.8)$$

Trong đó Φ(r. t) là suất thông lượng, D là hệ số khuếch tán và q(r, t) là nguồn đẳng hướng. [19]

**Hệ số khuếch tán**

Hệ số khuếch tán sẽ chiếm tỷ lệ mở rộng theo không gian và thời gian của cường độ trung bình trong môi trường phân tán và hấp thụ. Lưu ý rằng hệ số khuếch tán được xác định theo cách dưới đây có đơn vị là cm. Có một số nghiên cứu cho rằng hệ số khuếch tán phụ thuộc vào thời gian mà không phụ thuộc vào hệ số hấp thụ của môi trường, tuy nhiên, trong nghiên cứu khá đáng tin cậy của Raphael và cộng sự, hệ số khuếch tán có trị số không phụ thuộc vào thời gian và hình học, mà phụ thuộc vào tính chất của mô [20]. Theo Raphael và cộng sự, ta có thể viết công thức hệ số khuếch tán như sau:

$$D = \frac{1}{3(\mu_s' + \alpha\mu_a)} \qquad (2.9)$$

Vấn đề là tham số a nên thay đổi yếu hơn với độ hấp thụ so với D. Mặc dù giá trị số của a có thể được cho trong một số trường hợp đặc biệt, biểu thức như vậy của D chỉ thoả đáng một phần vì hệ số a phụ thuộc mạnh vào $u_a$ và hàm pha. [21]. Họ đã thấy rằng lý thuyết vận chuyển dự đoán a=0,2 cho tán xạ đẳng hướng và hấp thụ rất nhỏ. Tổng quát hơn, đối với sự hấp thụ nhỏ, công thức Holte cho a = 1 – (4/5)(1-$f_1$)/(1-$f_2$). f là hệ số mở rộng một phần. Họ đã tính toán cho tán xạ Henyey–Greenstein cho các giá trị w từ phần tử đơn vị xuống 0,1 và các giá trị g lên đến 0,8. Kết quả mẫu được đưa ra trong Bảng 1. Đối với các giá trị khác nhau của w và g, họ đã lập bảng D, a, v và $v_2$, độ dài suy giảm của chế độ suy giảm nhanh thứ hai. Điều quan trọng của v2 là sự khuếch tán không được thiết lập cho đến khi chế độ này nhỏ không đáng kể, khoảng một vài lần khoảng cách $v_2$ vào môi trường. Độ dài D, v và $v_2$ được tính theo đơn vị của đường dẫn tự do trung bình $\lambda = 1/u_t$. Và $w = u_s/u_t$. Mặc dù a không thay đổi mạnh mẽ với sự hấp thụ, nhưng nó là một hàm phụ thuộc $f_1$. Đối với tán xạ đẳng hướng hoặc dị hướng yếu (g <0,2), nó tăng lên phần nào khi tăng khả năng hấp thụ. Đối với tán xạ đẳng hướng, nó là 0,20 hoặc 0,21 cho độ hấp thụ lên đến 30%, sau đó tăng mạnh lên 0,30 ở mức hấp thụ 90%. Đối với tán xạ dị hướng yếu, sự biến đổi yếu hơn

nhiều. Đối với g> 0,30, giảm khi hấp thụ tăng. Giá trị nhỏ nhất họ tìm thấy cho a là 0,20. Có thể thấy, a trở nên lớn hơn 0,5 đối với g = 0,8 và xác suất hấp thụ nhỏ hơn 0,2. [20]

**Bảng 2.4** Hệ số hấp thụ D [20]

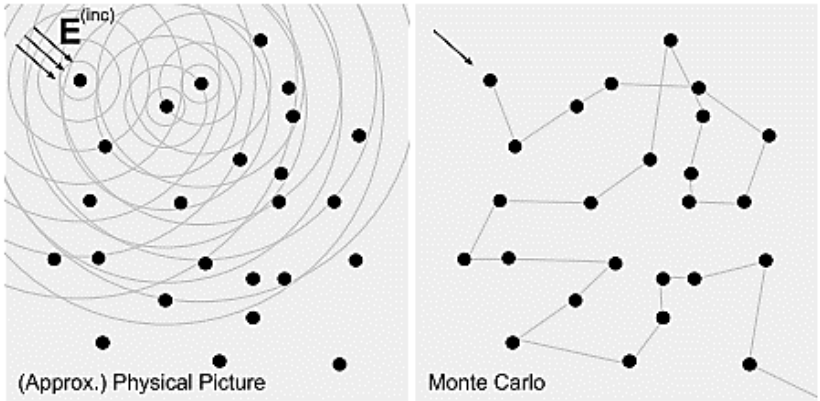
| $\varpi$ | $g$ | $D$ | $\alpha$ | $\nu$ | $\nu_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.9 | 0.0 | 0.362219 | 0.20 | 1.90 | 1.00 |
| 0.8 | 0.0 | 0.396287 | 0.21 | 1.41 | 1.00 |
| 0.5 | 0.0 | 0.545367 | 0.22 | 1.04 | 1.00 |
| 0.9 | 0.2 | 0.442572 | 0.33 | 2.10 | 1.00 |
| 0.8 | 0.2 | 0.472148 | 0.33 | 1.54 | 1.00 |
| 0.5 | 0.2 | 0.593280 | 0.32 | 1.09 | 1.00 |
| 0.9 | 0.8 | 1.435385 | 0.52 | 3.79 | 1.45 |
| 0.8 | 0.8 | 1.285539 | 0.50 | 2.54 | 1.32 |

Trong đó, thông số a xác định bởi phương trình D ở trên, Độ dài suy giảm khuếch tán v, Độ dài suy giảm v2 của chế độ tạm thời cho tán xạ Henvey Greenstein, Tất cả là hàm của xác xuất tán xạ đơn w và hệ sô dị hướng g.

Đối với giới hạn của một môi trường không hấp thụ với tính chất tán xạ tùy ý, trong trường hợp này kết quả D = 1 / (3u'$_s$) được biết là chính xác, và hệ số khuếch tán được xác định trong biểu thức D ở trên cho ra giá trị này. Nói cách khác, trong giới hạn khi sự hấp phụ biến mất, hệ số $g_0$ phải là 1/3, bất kể là gì tính chất tán xạ của môi trường. [21]

**RTE và Monte Carlo**

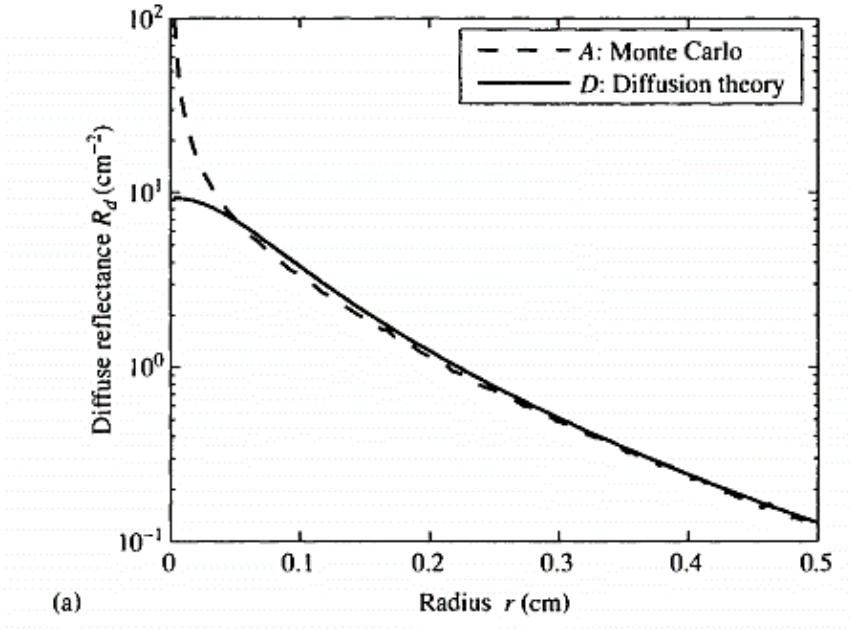
Monte Carlo đã được sử dụng rộng rãi để cung cấp giải pháp cho các tình huống phức tạp và hiện được coi là giải pháp chính xác nhất cho vấn đề vận chuyển ánh sáng trong  môi trường tán xạ. Điều quan trọng khía cạnh của Monte Carlo là trong hầu hết trong các trường hợp được sử dụng để mô hình hóa sự vận chuyển trong các mô, nó đại diện cho một giải pháp của RTE. Đó là, giải pháp được cung cấp bởi Monte Carlo bị từ các xấp xỉ tương tự như RTE và do đó nên được xem xét. Cho đến nay các giải pháp được cung cấp bởi Monte Carlo đối với vấn đề vận chuyển ánh sáng trong mô đã được sự giúp đỡ tuyệt vời và như vậy Monte Carlo đã được chứng minh là một công cụ tuyệt vời.




**Hình 2.14** RTE và Monte Carlo [3]

Trái: Hình ảnh vật lý lý tưởng và gần đúng về sự tương tác của sóng điện từ với một tập hợp các hạt ngẫu nhiên. Sự tán xạ được giả sử được mô tả bởi một sóng hình cầu (như trong phép tính gần đúng trường xa). Lưu ý rằng chỉ có sự tương tác của một vài bộ phân tán với sóng tới. Phải: Giải pháp cho việc vận chuyển bức xạ điện từ do Monte Carlo cung cấp.

Như chúng ta đã thấy, khi có ý nghĩa tán xạ và chúng ta có thể sử dụng các xấp xỉ nhất định, RTE có thể cung cấp một mô hình tốt về cách năng lượng truyền trong môi trường này. Một cách để giải quyết vấn đề này là sử dụng Monte Carlo, sử dụng phương pháp hiển thị trên bên phải của hình trên. Trong trường hợp này, để giải quyết RTE, họ phóng một tia ánh sáng theo một hướng nhất định và gán xác suất để tán xạ theo một hướng nhất định, theo tia này cho đến khi nó bị dập tắt. Tuy nhiên, vấn đề phát sinh khi cách giải quyết MC này được hiểu như hình ảnh vật lý: không chính xác khi cho rằng 'photon trải qua va chạm ' hoặc nói về 'bước đi ngẫu nhiên của photon. Như Mishunn đã đề cập, thực tế là các photon không được bản địa hóa làm cho các từ như vị trí photon, đường photon hoặc dòng photon cục bộ là không cụ thể.




**Hình 2.15** Phản xạ khuếch tán để đáp ứng với sự cố chùm tia bút chì trên môi trường tán xạ bán vô hạn. Đường cong A là từ mô phỏng Monte Carlo, đường cong D là từ Thuyết khuếch tán. [22]

Việc sử dụng chung của quang phổ phản xạ khuếch tán trong phân biệt sinh học gần đây đã được hiển thị trên mẫu mô mềm và mô cứng trong khi thực hiện ex-vivo trên mô động vật. Tuy nhiên, thiếu thông tin về tác dụng của máu và tưới máu tron mô quang học khi sử dụng quang phổ phản xạ khuếch tán. Tuy nhiên, ảnh hưởng của việc cung cấp máu trong khi phân biệt giữa các mô khác nhau bằng môi trường quang phổ phản xạ khuếch tán đã không được thực hiện. Máu, ví dụ như huyết sắc tố, là được biết đến là một chất hấp thụ chính trong quang phổ nhìn thấy và có thể được tìm thấy ở dạng oxy hóa và khử oxy. Dòng chảy của máu trong điều kiện in vivo có thể thay đổi phổ phản xạ khuếch tán. Vi tuần hoàn của máu khác nhau trong chất béo và mô thần kinh. Cung cấp máu là rất quan trọng trong các mô thần kinh. Thiếu chất dinh dưỡng, như glycogen, hoặc thiếu oxy trong các tế bào thần kinh làm thoái hóa tế bào và mất dần chức năng. Do đó, một mạng lưới mạch máu dày đặc là cần thiết cho duy trì sự chuyển hóa năng lượng bình thường của

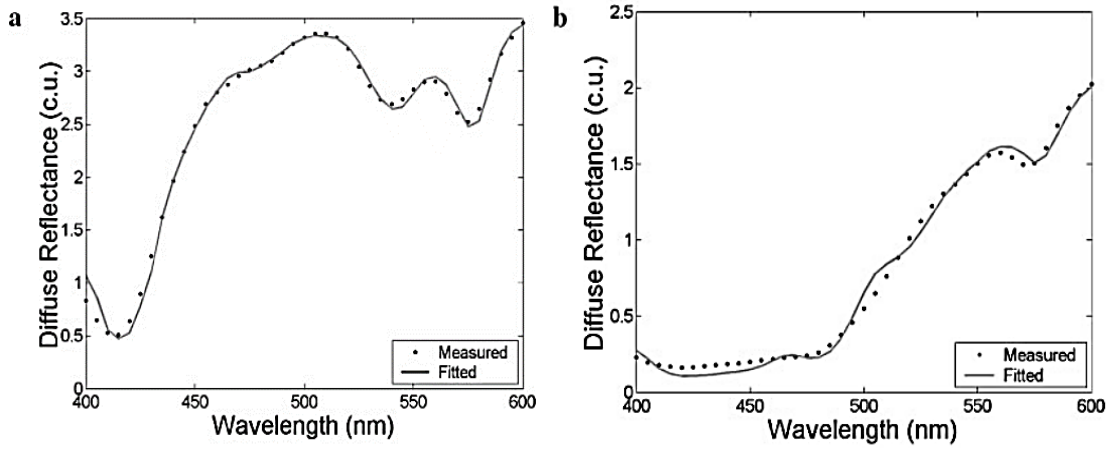
các tế bào thần kinh in-vivo. Ngược lại, mô mỡ bao gồm tế bào lưu trữ năng lượng với tỷ lệ trao đổi chất tương đối thấp. Nó bao gồm chủ yếu là các tế bào chứa đầy lipid liên kết lỏng lẻo trong khuôn khổ các sợi collagen. Khoảng 60% đến 85% trọng lượng của mô mỡ là lipid. Phần còn lại của trọng lượng của mô mỡ trắng bao gồm nước (5% -30%) và protein (2% -3%). Mật độ của mạch máu trong mô mỡ thấp hơn trong mô thần kinh. Những mô cụ thể lưu lượng máu trong điều kiện in-vivo được giả định để tăng cường đáng kể khả năng phân biệt và tinh chỉnh kết quả trong ống nghiệm. Mặc dù sự khác biệt giữa các sinh vật phải được xem xét khi chuyển kết quả đến mô người, nghiên cứu cho thấy tiềm năng chung của phản xạ khuếch tán quang phổ liên quan đến việc thực hiện kỹ thuật này vào một hệ thống kiểm soát phản hồi. Tuy nhiên, điều này trước nghiên cứu hạn chế được thực hiện trên một nhóm hạn chế động vật. [18] Hơn nữa, phần lớn nghiên cứu phản xạ khuếch tán cho đến nay đã được thực hiện ex vivo hoặc trên các cơ quan bên ngoài.

**Ứng dụng của quang phổ phản xạ khuếch tán**

DRS trong phạm vi bước sóng khả kiến rất nhạy cảm với sự hấp thụ và tán xạ tính chất của mô biểu mô và đã cho thấy hứa hẹn chẩn đoán sớm bệnh ung thư ở cổ tử cung và khoang miệng. [23]

DRS có độ sâu thâm nhập có thể được điều chỉnh để được có thể so sánh với độ dày của lớp biểu mô hoặc sâu hơn để thăm dò cả biểu mô và các lớp stroma. Zhu và cộng sự đã phát triển hệ thống UV-VIS DRS với hình dạng đầu dò nhiều nhất nhạy cảm với những thay đổi trong biểu mô và stroma. Palmer và cộng sự đã phát triển một khả năng mở rộng mô hình nghịch đảo Monte Carlo (MC) để đo nhanh và định lượng các đặc tính quang mô. Chang và cộng sự đã sử dụng mô hình hệ thống và MC để xác định độ tương phản trong đánh dấu sinh học quang học khác nhau với các mức độ khác nhau của viêm lộ tuyến cổ tử cung (CIN) từ cổ tử cung bình thường mô từ 38 bệnh nhân. Tổng số huyết sắc tố (THb) được tìm thấy là cao hơn về mặt thống kê CIN cấp so với CIN bình thường và cấp thấp, trong khi tán xạ là đáng kể giảm CIN so với các mô bình thường. Trong một nghiên cứu về một mô hình túi má hamster gây ung thư miệng của Skala và cộng sự [9] nhận thấy rằng sự tán xạ thấp hơn đáng kể trong mẫu neoplastic hơn trong mẫu bình thường. Những phát hiện này cũng phù hợp với những báo cáo của một số người khác. [23]

Các hệ thống DRS hiện tại thường bao gồm một nguồn băng thông rộng, máy quang phổ cho đa phát hiện quang phổ và đầu dò sợi quang để chuyển tiếp ánh sáng đến và từ thiết bị.




**Hình 2.16** Phổ phản xạ khuếch tán của (a) ác tính (ung thư biểu mô ống xâm lấn) và (b) mô mỡ lấy từ cùng bệnh nhân [24]

Màu của ánh sáng phản xạ khuếch tán phụ thuộc vào sự hấp thụ (chủ yếu là từ huyết sắc tố có thể nhìn thấy) và tán xạ, cả hai đều bị thay đổi trong quá trình phát triển bệnh. Do đó, quang phổ phản xạ khuếch tán có thể thăm dò cấu trúc sinh học của vừa nghiên cứu và cung cấp thông tin chẩn đoán. [4]

## 2.3 Các hiệu ứng của da

Khi chiếu xạ liều thấp vào mô sống, photon có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của các tế bào. Hấp thụ chỉ là một cách mà ánh sáng có thể tương tác với mô để tạo ra các hiệu ứng quang nhiệt và quang hóa theo sau bởi một chuỗi các hiệu ứng sinh học.

### 2.3.1.1 Hiệu ứng kích thích sinh học

Hiệu ứng kích thích sinh học xảy ra khi chùm tia Laser tác động lên hệ sinh học với mật độ công suất khoảng $10^{-4} – 10^{0}$ W/cm$^2$ với thời gian chiếu từ 10 giây đến vài chục phút. Hiệu ứng kích thích sinh học thông qua hàng loạt phản ứng quang hóa và quang sinh. *Phản ứng quang hóa* được hiểu như sau: phân tử ở trạng thái trung hòa (ở mức năng lượng cơ bản) thì hoạt tính sinh học của nó rất yếu (thí dụ như oxy phân tử trong tổ chức sinh học). Dưới tác động của photon trong chùm tia Laser phân tử ấy được chuyển lên trạng thái kích thích ở đấy hoạt tính sinh học của nó mạnh mẽ hơn.

$hv + O_2 \rightarrow O_2^*$

Đây chính là ngòi nổ cho hàng loạt các phản ứng khác xảy ra.

Thực chất tác dụng của tia Laser công suất thấp lên hệ sinh học là *phản ứng quang sinh*. Khi tổ chức sống hấp thu năng lượng photon của chùm tia Laser thì xảy ra sự sắp xếp lại các quá trình phản ứng của tế bào. Nơi nhận photon đầu tiên là mạch hô hấp tế bào. Nhờ những quá trình trên đây làm thay đổi rất đa dạng ở mức độ tế bào, từ đấy tạo nên nhiều đáp ứng tích cực ở mức hệ thống chức năng và mức cơ thể trọn vẹn. Nhờ những quá trình trên đây làm thay đổi rất đa dạng ở mức độ tế bào, từ đấy tạo nên nhiều đáp ứng tích cực ở mức hệ thống chức năng và mức cơ thể trọn vẹn. [8]

*Các kết quả có thể là:*

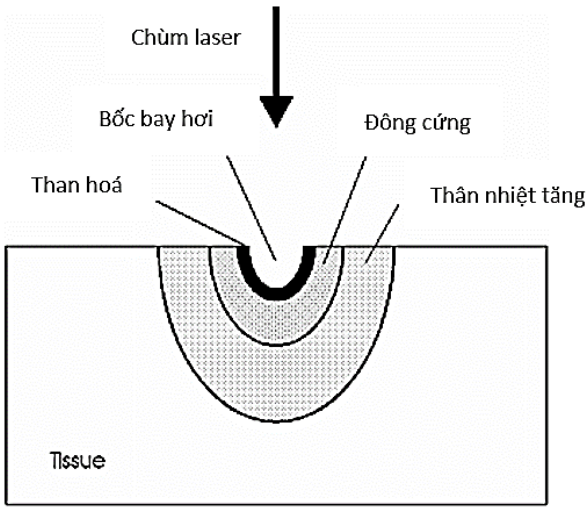
- Tăng sinh tế bào và di chuyển (đặc biệt là nguyên bào sợi)
- Điều tiết các cấp độ của cytokin, các yếu tố tăng trưởng và các yếu tố trung gian gây viêm.
- Ảnh hưởng đến các hoạt động của các chất truyền tin thứ 2 (cyclin adenosin, monophosphat, $Ca^{2+}$, nitric oxid)
- Tăng sinh oxy mô
- Thúc đẩy quá trình làm lành vết thương và cải thiện tình trạng tổn thương, giảm đau và các tác động lên thần kinh. [25]

### 2.3.1.2 Hiệu ứng nhiệt

Hiệu ứng nhiệt là một trong những tác động gây ra bởi sự hấp thụ ánh sáng. Nó không được phân phối đồng đều bên trong da. Quá trình này diễn ra xung quanh các tế bào đích. Nhiệt độ liên quan trực tiếp đến sự kích thích của các phân tử. Khi nhiệt độ tăng lên, những thay đổi khác nhau diễn ra ở cấp độ phân tử. DNA, RNA và một số protein bị ảnh hưởng bởi sức nóng khiến chúng bị giãn hoặc thậm chí tan chảy ở nhiệt độ khác nhau. Kết quả cuối cùng sẽ là sự biến tính và đông tụ của các cấu trúc nói trên. Những ảnh hưởng này phụ thuộc vào nhiệt độ và thời gian tiếp xúc. Tùy

thuộc vào mô đích, các tương tác mô-ánh sáng sẽ gây hoại tử mô, đông máu và thay đổi cấu trúc. Một số hiệu ứng làm nóng có lợi ở cấp độ của các mô mục tiêu nhưng nguy hiểm cho các mô xung quanh. Điều này cần luôn được ghi nhớ khi chọn các thông số điều trị. [7]

Quá trình đông máu không chỉ phụ thuộc vào nhiệt độ mà còn phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc. Chẳng hạn, nhiệt độ cao và phơi sáng ngắn có thể ít gây tổn thương hơn nhiệt độ thấp hơn với thời gian phơi sáng lâu hơn. Lớp hạ bì, giàu collagen và elastin, ổn định nhiệt hơn so với lớp biểu bì, chủ yếu là do có các elastin.




**Hình 2.17** Tương tác nhiệt bên trong tế bào mô ***[26]***

Tùy theo nhiệt độ, sự chọn lọc của các thành phần, những tác động có thể xảy ra:

- 42$^o$-45$^o$ C: bắt đầu tăng nhiệt độ, thay đổi cấu trúc và co rút collagen
- 50$^o$C: giảm hoạt động của enzyme
- 60 $^o$C: biến tính protein, động tụ Collagen, tăng tính thấm màng tế bào
- 100$^o$C: làm khô các mô và hình thành các không bào
- >100 $^o$C: bắt đầu bay hơi và hóa thành than
- 300-1000 $^o$C: mô bị cắt đốt, phá hủy bằng nhiệt và năng lượng ánh sáng. [25]

#### 2.3.1.3 Huỳnh quang

Huỳnh quang phát sinh khi hấp thụ ánh sáng và liên quan đến sự chuyển tiếp điện tử từ trạng thái kích thích sang trạng thái cơ bản của một phân tử. Khi các vật thể sinh học bị kích thích bởi ánh sáng tia cực tím ($\lambda \leq 300$ nm), có thể quan sát thấy sự phát huỳnh quang của protein và axit nucleic. Số lượng lượng tử huỳnh quang của tất cả các thành phần axit nucleic là khoảng $10^{-4}$–$10^{-5}$ tương ứng với tuổi thọ của các trạng thái kích thích trong khoảng thời gian pico giây.

Sự phát quang của protein có liên quan đến các axit amin tryptophan, tyrosin, và phenylalanine với hấp thụ tối đa ở 280, 275, và 257 nm, tương ứng, và tối đa giữa 280 (phenylalanine) và 350 nm (tryptophan). Thông thường, phổ protein bị chi phối bởi tryptophan.

Huỳnh quang từ collagen hoặc elastin được kích thích từ 300 đến 400 nm và cho thấy các dải phát xạ rộng từ 400 đến 600 nm với cực đại khoảng 400, 430 và 460 nm. Đặc biệt, huỳnh

quang của collagen và elastin có thể được sử dụng để phân biệt các loại mô khác nhau, chẳng hạn như mô biểu mô và mô liên kết.

Dạng giảm coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) được kích thích có chọn lọc trong dải bước sóng từ 330 đến 370 nm. NADH tập trung nhiều nhất trong ti thể, nơi nó bị oxy hóa trong chuỗi hô hấp nằm bên trong màng ty thể bên trong và huỳnh quang của nó là một thông số thích hợp để phát hiện các mô thiếu máu cục bộ hoặc ung thư. Sự phát quang của NADH tự do và protein được chứng minh là nhạy cảm với nồng độ oxy.

Flavin mononucleotide (FMN) và flavin dinucleotide (FAD) với kích thích cực đại xung quanh 380 và 450 nm cũng đã được báo cáo để đóng góp vào huỳnh quang tế bào nội tại.

Các phân tử porphyrin, ví dụ, protoporphyrin, coproporphyrin, uroporphyrin, hoặc hematoporphyrin, xảy ra trong quá trình sinh tổng hợp hemoglobin, myoglobin và cytochromes; do đó, huỳnh quang nội tại của các phân tử này cung cấp thông tin liên quan đến sự phát triển của bệnh. Ví dụ, bất thường trong tổng hợp heme, xảy ra trong các trường hợp porphyrias và một số bệnh tán huyết, có thể tăng cường đáng kể mức porphyrin trong các mô, có thể được phát hiện thông qua sự phát quang mô liên kết với các ban porphyrin. Một số vi khuẩn, như Propionibacterium acnes hoặc vi khuẩn trong tổn thương sâu răng, tích lũy một lượng đáng kể protoporphyrin. Do đó, phát hiện mụn trứng cá hoặc sâu răng dựa trên các phép đo huỳnh quang nội tại dường như là một phương pháp đầy hứa hẹn.

Hiện nay, nhiều loại thuốc nhuộm huỳnh quang ngoại sinh khác nhau có thể được áp dụng để thăm dò giải phẫu tế bào và sinh lý tế bào. Ở người, các thuốc nhuộm như fluorescein và indocyanine xanh được sử dụng để chụp quang tuyến hoặc xác định thể tích máu.

Quang phổ huỳnh quang thường cung cấp thông tin chi tiết về các phân tử huỳnh quang, cấu tạo của chúng, các vị trí gắn kết và tương tác trong các tế bào và mô. Cường độ huỳnh quang có thể được đo bằng chức năng của bước sóng phát xạ hoặc của bước sóng kích thích. Phổ phát xạ huỳnh quang IF (λ) là đặc trưng cho bất kỳ chất phát quang nào và thường được sử dụng trong chẩn đoán huỳnh quang.

Các nguyên tắc của hóa học lâm sàng quang học dựa trên việc đo sự thay đổi cường độ huỳnh quang, bước sóng, dị hướng phân cực và tuổi thọ được mô tả bởi Lakowicz. Các kỹ thuật huỳnh quang khác nhau của cảm biến oxy chọn lọc và đường huyết và phát hiện khí máu có sẵn.

# 3. ỨNG DỤNG

Mục tiêu chính của hình ảnh phân tử là hình ảnh chức năng ở cấp độ phân tử. [3]

## 3.1 OCT [27]

Chụp cắt lớp quang học phân cực (PS-OCT) là một kỹ thuật hình ảnh dựa trên tán xạ ánh sáng. PS-OCT thực hiện ở hình ảnh 2 chiều và 3 chiều nhanh chóng và các mẫu mờ với độ phân giải micromet. PS-OCT cung cấp độ tương phản hình ảnh dựa trên trạng thái phân cực của ánh sáng tán xạ ngược và đã được áp dụng trong nhiều lĩnh vực y sinh cũng như trong lĩnh vực phi y tế. Do đó, phương pháp phân cực cho phép tạo ảnh với độ tương phản nâng cao hơn so với OCT tiêu chuẩn và đánh giá định lượng các thuộc tính phân cực mẫu.

### 3.1.1 Giới thiệu

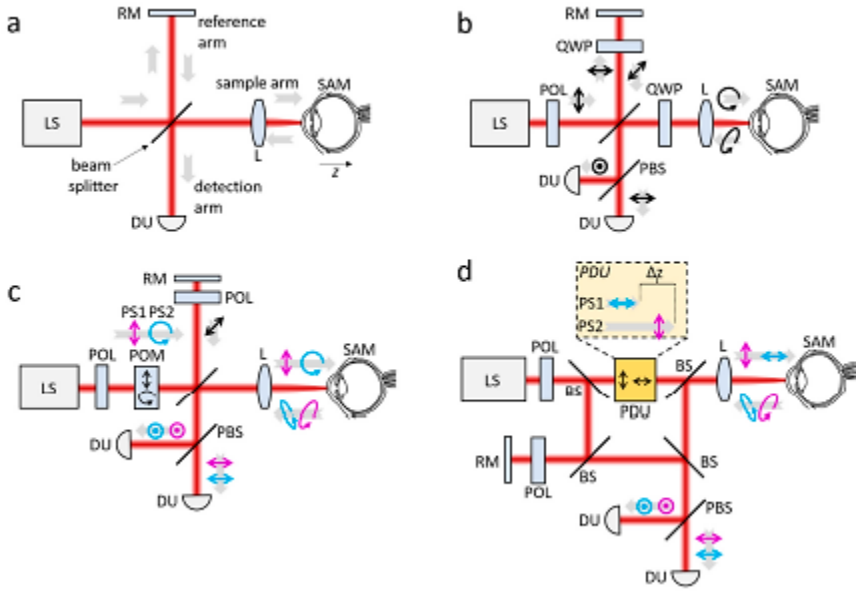
Tương tự hình ảnh siêu âm, OCT phát hiện ánh sáng tán xạ từ các cấu trúc mẫu. Chẳng hạn, độ trễ thời gian tương ứng với độ dài đường dẫn quang 10µm chỉ theo thứ tự ~ 30 fs. Để mà đánh giá thời gian trễ ngắn như vậy, OCT sử dụng sự giao thoa của ánh sáng kết hợp. Kết hợp nguồn sáng trải rộng trong phạm vi bước sóng rộng, thường bao phủ vài chục nanomet khi được sử dụng cho OCT. Trước khi ánh sáng tương tác với mẫu, nó được chia thành hai. Một phần được hướng vào mẫu, trong khi phần kia thì chùm tia tham chiếu được gọi là tia đi lại có chiều dài đường dẫn xác định trước được kết hợp lại và can thiệp vào chùm sáng bị phân tán bởi mẫu. Bây giờ, kể từ khi kết hợp ánh sáng bao gồm một bước sóng liên tục, phổ giao thoa sẽ chịu sự điều biến phụ thuộc vào chênh lệch độ dài đường đi giữa chùm mẫu và chùm tham chiếu. Từ tín hiệu nhiễu trong miền thời gian hoặc phổ, vị trí trục của các cấu trúc tán xạ bên trong mẫu có thể được xây dựng lại. Độ sâu tương ứng (cường độ tán xạ ngược so với độ sâu) được gọi là quét dọc trục (A-scan) và tạo thành đơn vị cơ bản của hình ảnh OCT. Bằng cách quét chùm tia bên trên mẫu, hình ảnh hai và ba chiều có thể được dựng từ các bản quét A thu được. OCT là một phương pháp hình ảnh nhanh chóng cung cấp dữ liệu 3D bao gồm hàng triệu lần quét dọc trục trong vòng vài giây. Độ phân giải dọc của OCT thường theo thứ tự vài micromet và tốc độ hình ảnh cao, phương pháp giao thoa kế cho phép độ nhạy phát hiện của tín hiệu ánh sáng phản xạ thấp đến $10^{-10}$ của đầu vào.

Một trong những mở rộng của OCT là OCT phân cực (PS). Trong khi OCT tiêu chuẩn chỉ dựa trên cường độ ánh sáng tán xạ ngược hoặc được phản ánh bởi mẫu, PS-OCT còn phát hiện trạng thái phân cực của mẫu. Vì trạng thái phân cực có thể được đo cho mọi pixel khi quét sâu, PS-OCT có thể tăng cường độ tương phản hình ảnh và cũng cho phép đo định lượng các tính chất phân cực của mẫu. Những tính chất này thường được liên kết với cấu trúc siêu nhỏ hoặc thậm chí của mẫu nằm dưới giới hạn độ phân giải quang của OCT. Do đó, việc phát hiện các thay đổi của các thuộc tính phân cực là do chúng bị rối loạn cấu trúc vi mô trong mô bệnh lý hoặc do căng thẳng và quá tải trong một mẫu, kỹ thuật có thể cung cấp truy cập vào số lượng và điểm đánh dấu được quan tâm cho nhiều ứng dụng.

OCT dựa trên giao thoa kết hợp, nghĩa là giao thoa ánh sáng dải rộng. Vô số thiết kế giao thoa kế khác nhau đã được sử dụng cho OCT. Một bản phác thảo của Michelson giao thoa kế cơ bản được thể hiện Hình 3.1a. Ở đây, ánh sáng từ một nguồn sáng kết hợp thấp như Diode phát quang hoặc laser băng thông rộng được chia thành một chùm được định hướng trên mẫu và một chùm khác để tham chiếu. Sau bộ tách chùm, chùm tia trong cánh tay mẫu được định hướng lên mẫu, trong khi chùm tham chiếu được phản chiếu bởi gương. Ánh sáng tán xạ và phản xạ bởi mẫu $e_S$ và ánh sáng được phản chiếu bởi gương tham chiếu $e_R$ được kết hợp lại tại bộ tách chùm. Các

mẫu và chùm tham chiếu giao thoa và tín hiệu nhiễu của chúng được phát hiện tại lối ra giao thoa kế. Tín hiệu nhiễu trong miền thời gian có thể được mô tả bởi

$$I(z) = I_R + I_S + 2\sqrt{I_R I_S}|\gamma(z - z_0)|cos|2k_0(z - z_0)| \quad (3.1)$$




**Hình 3.1** Các sơ đồ cơ bản cho PS-OCT

Trong hình, ( a ) Sơ đồ cơ bản của OCT với giao thoa kế Michelson. ( b ) PS-OCT với trạng thái đầu vào tròn đơn; ( c ) PS-OCT dựa trên việc thăm dò với một số đầu vào trạng thái; ( d ) PS-OCT dựa trên giao thoa kế Mach-Zehnder với hai trạng thái đầu vào được tạo bởi một đơn vị trì hoãn phân cực. Mũi tên màu xám chỉ hướng của chùm sáng. Chữ tượng hình màu đen cho thấy sự phân cực tuyến tính, tròn và elip tiểu bang. Nguồn sáng LS, bộ phân cực POL, tấm sóng tứ quý QWP, gương tham chiếu của RM, ống kính L, Mẫu SAM SAM, bộ tách chùm phân cực PBS, bộ phát hiện DU, bộ điều chế phân cực POM, Trạng thái phân cực PS1 / PS2, 1/2, bộ chia chùm tia BS, độ trễ đường truyền Az giữa các trạng thái phân cực, Đơn vị trì hoãn phân cực PDU.

Hầu hết các hệ thống OCT hiện đại đều dựa vào phát hiện miền tần số (hoặc Fourier) của nhiễu tín hiệu. Trong các hệ thống OCT miền Fourier như vậy, vị trí gương tham chiếu được cố định và phổ nhiễu được thu nhận. Điều này có thể đạt được bằng cách sử dụng phổ kế tại lối ra giao thoa kế mà phân tán tín hiệu nhiễu vào các thành phần cường độ phổ của nó. Ngoài ra, một nguồn sáng quét bước sóng băng thông rộng có thể được sử dụng để nhanh chóng điều chỉnh phổ với độ hẹp băng thông tức thời. Trong trường hợp này, phổ nhiễu được ghi lại dưới dạng hàm của thời gian máy dò ở lối ra giao thoa kế.

### 3.1.2 Ứng dụng PS-OCT

#### 3.1.2.1 PS-OCT trong nhãn khoa

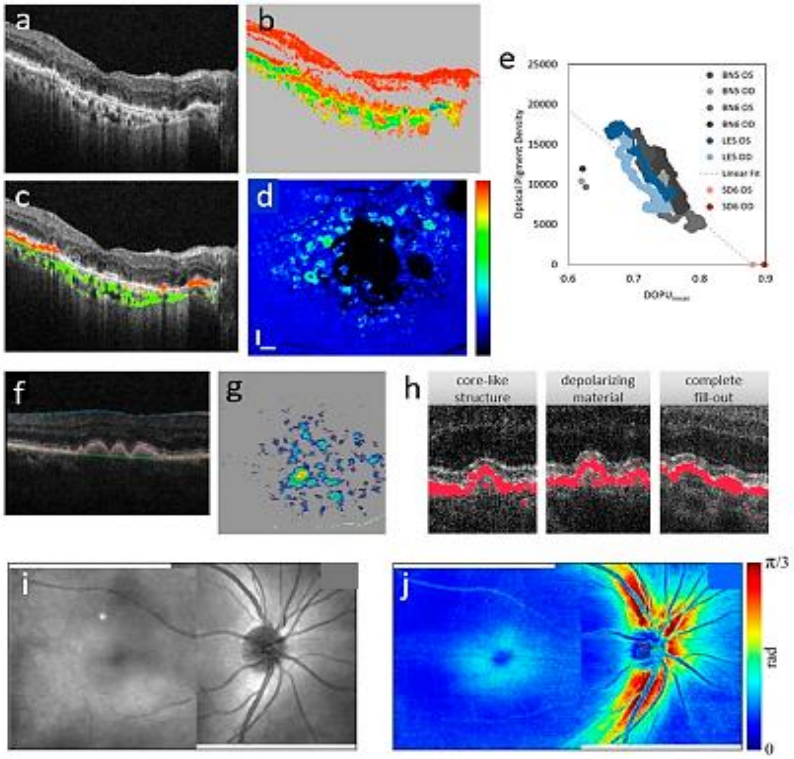
OCT được ứng dụng nhiều nhất trong nhãn khoa, nơi nó đã trở thành một phương pháp chẩn đoán tiêu chuẩn trong lâm sàng. Ngoài ra PS-OCT đã được áp dụng thành công cho hình ảnh nhãn khoa sử dụng các nguyên mẫu thử nghiệm. Mắt có nhiều loại mô biểu hiện lưỡng chiết hoặc khử cực, cho phép PS-OCT cung cấp độ tương phản bổ sung cho phân khúc và định lượng cấu

trúc mắt. Sự lưỡng chiết có thể được tìm thấy trong các mô sợi như dây thần kinh võng mạc lớp sợi (RNFL), lớp màng cứng (nghĩa là lớp vỏ ngoài màu trắng của mắt), giác mạc, cũng như ở ngoài cơ thể cơ và gân. Sự khử cực trong các cấu trúc có chứa sắc tố melanin như biểu mô sắc tố võng mạc (RPE), màng đệm và biểu mô sắc tố của mống mắt. Các cấu trúc khác như lớp tế bào cảm quang, mô liên kết và lớp nền của mống mắt là khá bảo toàn phân cực và không ảnh hưởng rõ rệt đến trạng thái phân cực của ánh sáng.

RNFL bao gồm các sợi trục của các tế bào hạch võng mạc. Vì RNFL bị hỏng trong bệnh tăng nhãn áp là nguyên nhân hàng đầu thứ hai gây mù trên toàn thế giới. Các thuộc tính phân cực của RNFL đã được nghiên cứu như các dấu hiệu chẩn đoán tiềm năng cho bệnh tăng nhãn áp. Đánh giá dựa trên PS-OCT về khả năng lưỡng chiết của tính chất RNFL có thể thú vị vì nó đã chỉ ra sự thay đổi phân cực trong bệnh tăng nhãn áp thử nghiệm có thể được quan sát sớm hơn bởi sự thay đổi độ dày RNFL. Độ dày RNFL hiện là thông số OCT chính cho chẩn đoán bệnh tăng nhãn áp trong lâm sàng hiện đại. Sự lưỡng chiết RNFL được đo in-vivo trong mắt người bằng cách thực hiện quét vòng tròn xung quanh đầu dây thần kinh thị giác. Hình ảnh ánh xạ đáy mắt PS-OCT và độ phản xạ RNFL trong mắt người là thể hiện trong Hình 3.2. Cũng trong nghiên cứu tiền lâm sàng, PS-OCT đã được sử dụng để điều tra sự lưỡng chiết tính chất của RNFL và mối quan hệ của chúng với áp lực nội nhãn, đây là một thông số quan trọng đối với bệnh tăng nhãn áp. Ngoài việc đo lường khả năng lưỡng chiết, PS-OCT cũng được chứng minh cho việc theo dõi các bó sợi thần kinh trong RNFL.

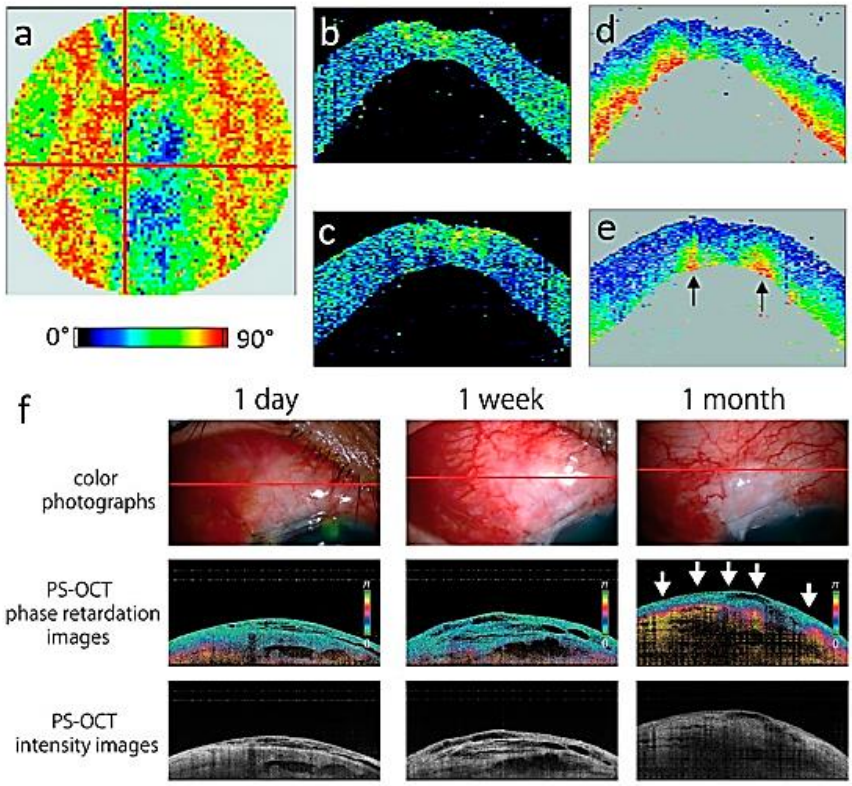
Hình ảnh PS-OCT của võng mạc con người thể hiện sự khử cực mạnh trong các cấu trúc sắc tố như RPE. Trong RPE, sự khử cực này được phát hiện rõ nhất xung quanh hố mắt và tương quan với tình trạng sắc tố, nghĩa là nó giảm hoặc thậm chí không có ở bệnh nhân bạch tạng. Các phép đo so sánh PS-OCT và mô học trong mắt chuột đã cho thấy mối tương quan giữa DOPU và mật độ của các sắc tố melanin trong RPE và choroid (Hình 3.2e). Khử cực đã chứng minh một sự tương phản đặc biệt hữu ích cho việc đánh giá RPE trong các trường hợp lâm sàng, nơi nó thường khó phân biệt cấu trúc mắt trong bệnh lý mắt. Dựa trên hình ảnh DOPU, các thuật toán được phát triển để đánh giá các khu vực và khối lượng tổn thương một cách định lượng. Liên quan đến tuổi thoái hóa điểm vàng (AMD), PS-OCT không chỉ được sử dụng để phân biệt các đặc điểm của drusen mà còn cũng để định lượng diện tích và thể tích của drusen trong quá trình phát triển bệnh (Hình 5 f-h). Trong AMD giai đoạn cuối không khô (khô), PS-OCT cho phép đánh giá các khu vực bị teo thiếu RPE (Hình 5 a-d). Trong các bệnh ngoại cảm như AMD ướt, bệnh lý phù hoàng điểm do tiểu đường, PS-OCT đã được chứng minh để chẩn đoán hình ảnh và xác định sẹo xơ hóa, cũng như các đặc điểm sắc tố biểu mô. Cuối cùng, PS-OCT hữu ích để tăng cường độ tương phản cho hình ảnh cấu trúc bệnh lý trong các bệnh võng mạc ít phổ biến hơn như hoàng điểm telangiectasia và bệnh Stargardt.

PS-OCT của mắt trước cải thiện rõ rệt độ tương phản cho các mô lưỡng chiết, collagen chẳng hạn như giác mạc, màng cứng và gân cũng như đối với cấu trúc lưới trabecular. Các độ tương phản bổ sung đã được khai thác để phân biệt mô dựa trên tính năng tự động. Những thay đổi đáng kể về sự xuất hiện lưỡng chiết của giác mạc có thể được quan sát thấy ở keratoconus như được hiển thị trong Hình 6. Do sự lưỡng chiết giác mạc phụ thuộc vào cấu trúc vi mô, PS-OCT cũng được đề xuất để chụp thay đổi trong liên kết ngang giác mạc. Sau phẫu thuật cắt bỏ, đó là một thủ tục phẫu thuật để điều trị bệnh tăng nhãn áp, sự tiến hóa được theo dõi bằng PS-OCT (Hình 3.2 f). Trong sclera, PS-OCT đã được sử dụng để hình ảnh viêm xơ cứng hoại tử và để nghiên cứu các thay đổi lưỡng chiết liên quan đến tăng áp lực nội nhãn.




**Hình 3.2** PS-OCT ở mắt sau

Trong đó, (a - d) PS-OCT của bệnh nhân AMD giai đoạn cuối (a) B-scan phản xạ; (b) DOPU B-scan (bản đồ màu: 0-1); (c) Khử cực trong biểu mô sắc tố võng mạc (RPE, đỏ) và màng đệm (màu xanh lá cây) phủ lên hình ảnh phản chiếu; ( d ) Bản đồ Fundus chỉ độ dày của các pixel khử cực ở cấp độ của RPE; (e) Mối liên quan giữa mật độ DOPU và melanin được đánh giá theo mô học trong RPE / choroid của mắt chuột. (f , g). Phân đoạn lớp dựa trên PS-OCT trong một Bệnh nhân AMD bị drusen (thích nghi với sự cho phép từ [ 121 ], SPIE, 2010). (f) Quét phản xạ B-scan với màng giới hạn bên trong phân đoạn (màu xanh), RPE (màu đỏ) và màng Bruch (màu xanh lá cây). Drusen có thể được quan sát là độ cao gập ghềnh của võng mạc ở mức RPE; (g) Bản đồ độ dày Drusen; (h) Drusen các đặc điểm được đánh giá bởi PS-OCT. Pixel khử cực được đánh dấu màu đỏ. (i , j) Sự lưỡng chiết trong lớp sợi thần kinh võng mạc (RNFL) được chụp bằng PS-OCT. (i) Bản đồ phản xạ Fundus; (j) Bản đồ Fundus cho thấy sự chậm phát triển pha gây ra bởi RNFL xung quanh đầu dây thần kinh thị giác và bởi các sợi của Henle quanh hố mắt.

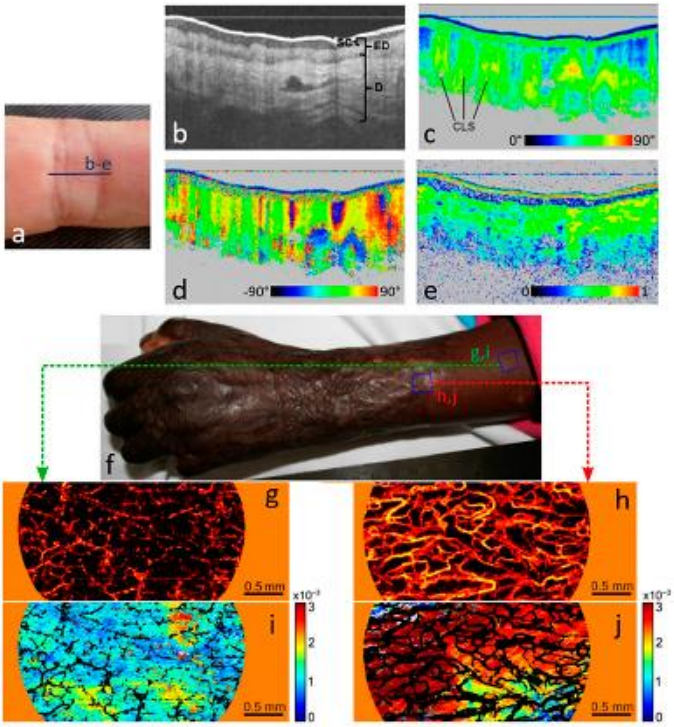



**Hình 3.3** PS-OCT của mắt trước

Trong đó, (a - e) PS-OCT của giác mạc của bệnh nhân keratoconus. (a) Hình ảnh mặt PS-OCT cho thấy sự chậm phát triển ở phía sau bề mặt giác mạc. Các đường màu đỏ chỉ vị trí của các bản quét B được hiển thị trong (b - e); (b , c) Ngang và phản xạ dọc B-scan hình ảnh. Độ dày giác mạc giảm có thể được quan sát ở trung tâm; (d , e) B-scan chậm tương ứng thể hiện mô hình không đều. (f) PS-OCT của nhịp đập ở phía trước mắt trong phẫu thuật tăng nhãn áp. Hình ảnh (dòng màu đỏ chỉ ra các vị trí quét OCT), độ trễ pha và hình ảnh cường độ với PS-OCT tại một ngày, một tuần, và một tháng sau phẫu thuật Các trường hợp tăng một phần chậm phát triển sau phẫu thuật. Mũi tên chỉ ra sự chậm phát triển không đều và bất thường.

#### 3.1.2.2 PS-OCT trong mô da và mô mắt

Sử dụng PS-OCT, có thể quan sát thấy các lớp da với các đặc tính tán xạ và phân cực khác nhau, bao gồm lớp sừng, hạ bì và biểu bì (Hình 3.4). Mô miệng và thanh quản cũng đã được chụp bằng PS-OCT. Trong đường hầu họng, PS-OCT đã được chứng minh cho điều tra niêm mạc của nếp gấp thanh âm và phát hiện các tổn thương ở niêm mạc buccal dựa trên tăng khả năng lưỡng chiết.



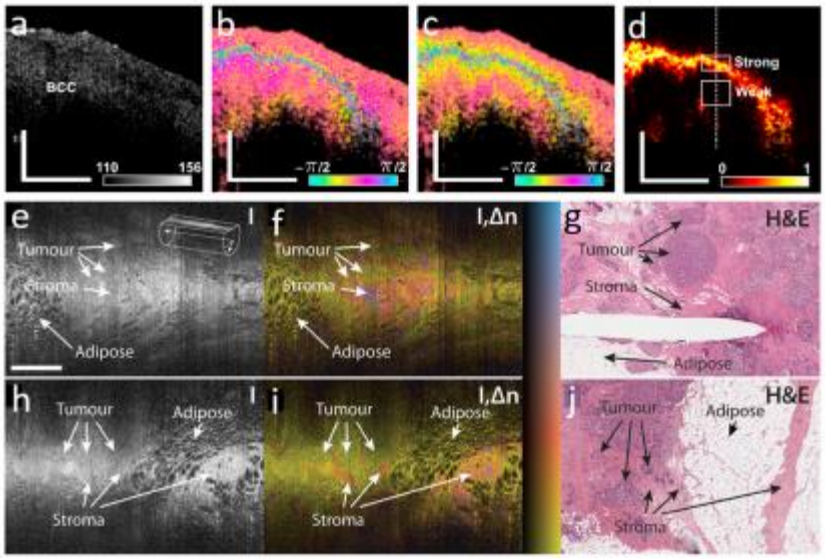

**Hình 3.4** PS-OCT của da

Trong đó, (a - e) Hình ảnh PS-OCT cắt ngang của da người. (a) Quét vị trí tại khớp liên sườn gần ngón giữa; (b) Hình ảnh phản chiếu. SC tầng sừng, lớp hạ bì D, biểu bì ED; (c) Chậm phát triển hình ảnh. CLS cột cột giống như cấu trúc; (d) Hình ảnh hướng trục; ( e ) hình ảnh DOPU. (f - j) Tính lưỡng chiết và hình ảnh mạch máu của một vết sẹo phì đại và da bình thường liền. (f ) Ảnh. Vị trí quét PS-OCT được biểu thị bằng hai màu xanh hình vuông; (g , h) Các phép chiếu cường độ tối đa tương ứng của da và sẹo bình thường, tương ứng; (i , j) Lần lượt đối mặt với các bản đồ lưỡng chiết của da và sẹo bình thường.

Thông qua lưỡng chiết da, PS-OCT cung cấp quyền truy cập vào các thay đổi mô gây ra bởi biến dạng, sẹo và bỏng. Hình 3.4j cho thấy một ví dụ về da bị sẹo biểu hiện đáng kể khả năng lưỡng chiết cao hơn da thường (Hình 3.4i). Ngoài ra, quá trình chữa lành vết thương bao gồm phục hồi collagen có thể được theo sau với PS-OCT. Hơn nữa, Stokes vector dựa hình ảnh khử cực có thể tiết lộ nhiều tán xạ cũng như các điều kiện bệnh lý trên da chẳng hạn như ung thư.

#### 3.1.2.3 PS-OCT trong mô ung thư

Ung thư làm thay đổi cấu trúc mô. Sự thay đổi này có thể thay đổi tính chất quang học của các mô bị ảnh hưởng. PS-OCT đã được áp dụng để chụp ảnh các mô ung thư ở một số cơ quan. Các đặc tính lưỡng chiết và khử cực đã thay đổi cho phép chụp ảnh và xác định các tổn thương da như ung thư biểu mô tế bào đáy Hình 3.5 (a-d).




**Hình 3.5** PS-OCT của mô ung thư

Trong đó, (a - d) PS-OCT của ung thư biểu mô tế bào đáy ở da người (a) Ảnh phản chiếu B-scan. BCC chỉ ra vị trí khối u tế bào ung thư đáy; ( b ) Độ trễ tuyến tính dọc theo hướng x y; (c) Độ trễ tuyến tính dọc theo các hướng ± 45 ;; (d) Chỉ số khử cực vi phân chuẩn hóa hình ảnh. Thanh tỷ lệ là 0,5 (x) × 0,3 (z) mm. ( e - j ) PS-OCT dựa trên kim của ung thư vú. Hình ảnh được thực hiện trong xâm lấn lớp 1 ung thư biểu mô ống (e - g) và ung thư biểu mô ống xâm lấn cấp độ 2 (h , j). (e , h) Cường độ cấu trúc (I), (f , i) lớp phủ của lưỡng chiết mô và cường độ (I, An) và (g , j) phù hợp với phần mô học được nhuộm với hematoxylin và eosin. Thanh tỷ lệ trong (e) là 1 mm và áp dụng cho các bảng (e - j).

Kết quả đầy hứa hẹn hơn nữa của hình ảnh ung thư dựa trên PS-OCT đã được báo cáo ở thanh quản, buồng trứng, và bàng quang. Một số nhóm cũng nghiên cứu thành công PS-OCT để chụp ảnh ung thư vú. Hình 3.5 cho thấy kết quả thú vị của hình ảnh PS-OCT, cho phép phân biệt khối u với mô xung quanh. Sử dụng quét trong phẫu thuật cắt bỏ mô hoặc trong hình ảnh dựa trên kim tại chỗ (xem Hình 3.5 e-j), PS-OCT có thể là một phương pháp đầy hứa hẹn đáng tin cậy phá hủy khối u vú ác tính, do đó làm giảm tỷ lệ cắt bỏ.

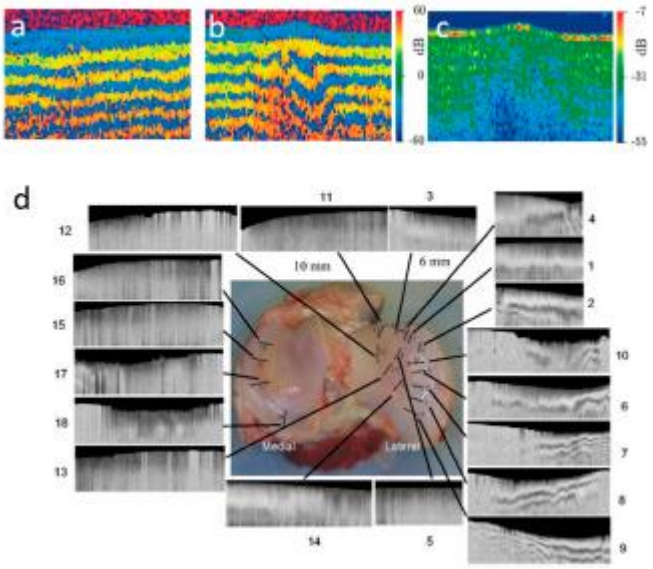
#### 3.1.2.4 PS-OCT trong Cơ bắp, Gân, Sụn và Xương

Tendon là mô sinh học đầu tiên được chụp bằng PS-OCT. Là cấu trúc giàu collagen, gân và cơ biểu hiện sự lưỡng chiết mạnh mẽ, cho phép phân biệt dễ dàng từ mô hỗ trợ xung quanh bởi PS-OCT.

Vì tính toàn vẹn của collagen là một chỉ số cho sự ổn định cấu trúc và trạng thái bệnh lý, PS-OCT được đề nghị đánh giá collagen ở gân và dây chằng. Do đó, PS-OCT được sử dụng để hình dung sự phát triển của sự liên kết sợi collagen thông qua sự lưỡng chiết trong mô chế tạo gân để đáp ứng với môi trường tăng trưởng khác nhau và để điều tra những thay đổi thoái hóa liên quan đến vỡ trong gân Achilles. Gần đây, ảnh hưởng của proteoglycans các thành phần thiết yếu của ma trận ngoại bào gân kết hợp với gân cơ học trên tính chất quang học của gân đã được nghiên cứu bởi PS-OCT. Trong cơ xương của biến đổi gen (mdx) chuột, những thay đổi siêu nhỏ do tập thể dục đã được phát hiện bởi PS-OCT ở động vật in vivo. So với điều khiển wildtype, tính chất lưỡng chiết cao của cơ xương rõ rệt giảm ở chuột mdx, do đó cho thấy mối quan hệ giữa mức độ

lưỡng chiết được phát hiện sử dụng PS-OCT và cơ sở siêu âm có trong cơ xương. PS-OCT cũng được cho thấy có khả năng phát hiện hoại tử cơ ở chuột mdx dystrophic.

Trong sụn, PS-OCT có thể phát hiện các khu vực tăng cường hoặc giảm khả năng lưỡng chiết trong sụn hyaline (chủ yếu bao gồm collagen loại II) và nguyên bào sợi (chủ yếu là collagen loại I) liên quan đến cơ chế thoái hóa và sửa chữa. Trong một nghiên cứu in vivo trên khớp gối của con người trước một phần hoặc điều trị thay thế toàn bộ khớp, giảm khả năng lưỡng chiết đã được tìm thấy trong sụn bị thoái hóa. Hình ảnh PS-OCT của một bề mặt khớp gần nhất của xương chày bò được thể hiện trong Hình 3.6d. PS-OCT sử dụng các góc tần suất thay đổi được tiếp tục sử dụng để nghiên cứu kiến trúc 3D của collagen mạng sợi trong sụn. Do độ nhạy cao đối với rối loạn sụn, PS-OCT đã chứng minh công cụ đầy hứa hẹn để chụp ảnh sụn trong viêm xương khớp ở cả người và động vật.




**Hình 3.6** PS-OCT của gân và sụn

Trong đó, (a - c) Hình ảnh PS-OCT được công bố lần đầu tiên cho thấy sự lưỡng chiết của gân bò. (a) Tươi gân; (b) Gân sau khi tiếp xúc với chiếu xạ laser công suất cao. Cấu trúc dải xuất hiện băn khoăn so với (a); (c) hình ảnh cường độ mã hóa màu; (d) Độ trễ pha quang PS-OCT hình ảnh tại các địa điểm khác nhau trên một xương chày bò. Sự xuất hiện dải trong hình ảnh chậm phát triển là chỉ định có tính lưỡng chiết cao trong một số lĩnh vực.

## 3.2 Photoacoustic [28]

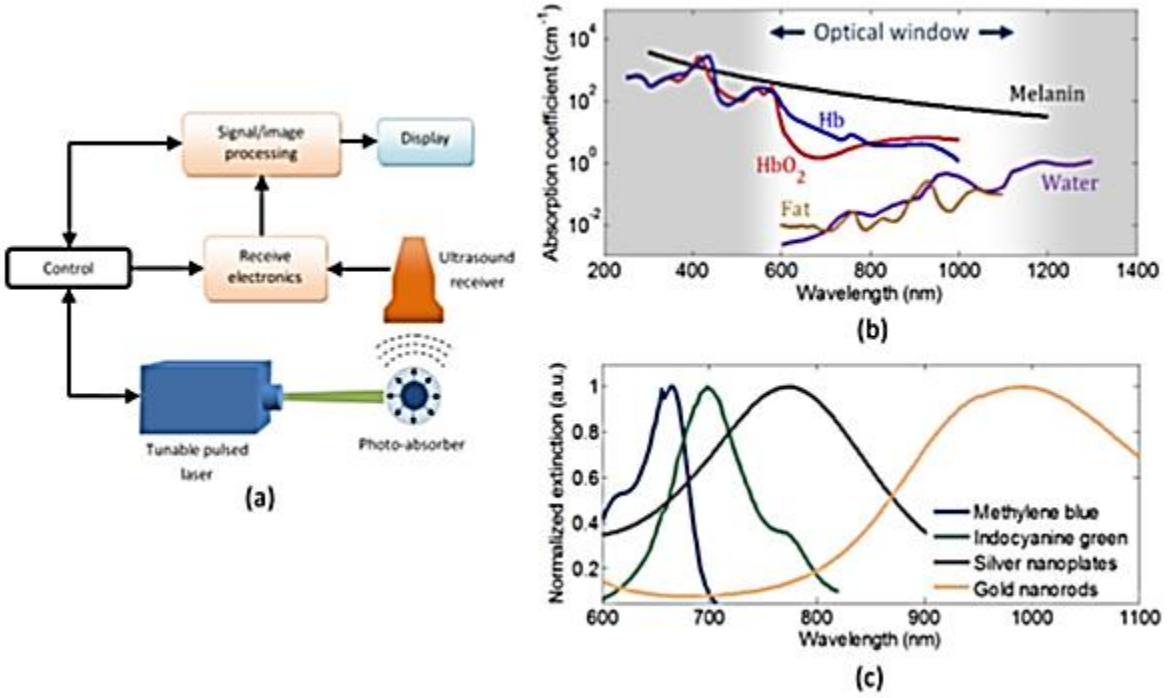
PAI đã cho thấy tiềm năng lớn trong việc đồng thời cung cấp cấu trúc, chức năng và thông tin phân tử trong nghiên cứu tiền lâm sàng. PAI có thể hình dung vị trí khối u sâu trong một mô, và cũng có thể cung cấp thông tin về mạch máu khối u hoặc theo dõi sự tạo mạch. PAI cũng có thể có được thông tin về độ bão hòa oxy hemoglobin ở mức cao độ phân giải và độ tương phản, không sử dụng các chất tương phản ngoại sinh, đó là một lợi thế đáng kể khi so sánh với các kỹ thuật hình ảnh thiếu oxy khối u khác (ví dụ mức độ oxy trong máu phụ thuộc-MRI và PET). Một ưu điểm khác của PAI là khả năng tương thích với các kỹ thuật USI có sẵn rộng rãi; khi kết hợp, PAI và USI có thể đồng thời cung cấp thông tin giải phẫu và chức năng trong các khối u. Ví dụ, một nghiên cứu in vivo về mô vú của con người đã chỉ ra rằng một hình ảnh siêu âm có thể mô tả cấu

trúc của ống dẫn của ung thư biểu mô, trong khi hình ảnh photoacoustic (PA) cho thấy sự phân phối rải rác liên quan của mạch máu.

Với sự sẵn có của các chất tương phản được nhắm mục tiêu khác nhau, chẳng hạn như hạt nano vàng (AuNPs), một số con đường mới đã mở ra cho PAI phân tử in tạo điều kiện phát hiện khối u rất nhạy và đặc hiệu. Ngoài ra, PAI, kết hợp với kỹ thuật hình ảnh bổ sung khác, đã cho thấy hứa hẹn trong phác đồ điều trị ung thư.

## Nguyên tắc cơ bản của hình ảnh quang-âm

PAI (còn được gọi là hình ảnh quang-âm) áp dụng hiệu ứng quang âm được mô tả bởi Alexander Graham Bell vào năm 1880. Năng lượng laser được hấp thụ gây ra sự giãn nở nhiệt nhanh ở mô, dẫn đến việc tạo ra một sóng siêu âm dải rộng. Sóng siêu âm được phát hiện bởi một đầu dò chuyển đổi sóng âm cơ học thành tín hiệu điện. Các tín hiệu thu được sau đó được xử lý để tạo thành một hình ảnh. Một hệ thống PAI điển hình bao gồm hai thành phần chính: laser (thường là có thể điều chỉnh, nano giây laser xung) và một hệ thống USI. Hầu hết các kỹ thuật xử lý hình ảnh siêu âm chuyển trực tiếp đến PAI. Độ trễ và tổng hợp dạng tia hoặc chụp cắt lớp vi tính nâng cao hơn các thuật toán được sử dụng trong USI cũng được sử dụng trong PAI để thu được hình ảnh.




**Hình 3.7** Hình ảnh quang-âm

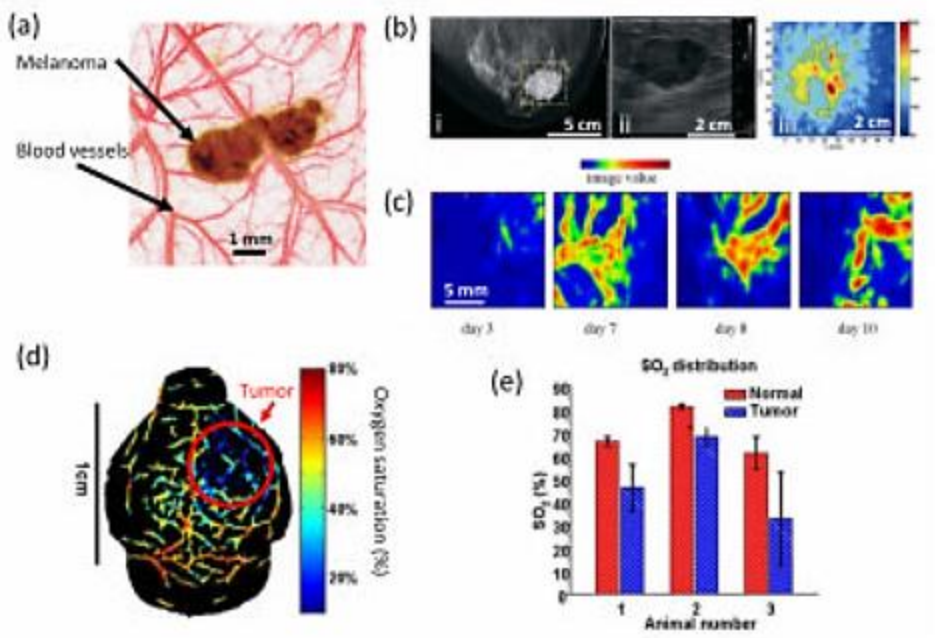
Trong đó, (a) Sơ đồ khối của hệ thống PAI điển hình. (b) Phổ hấp thụ của các chromophores nội sinh trong cơ thể. Sự hấp thụ quang của các chromophores nội sinh này phụ thuộc vào bước sóng; do đó, cường độ tín hiệu PA ở các bước sóng quang khác nhau có thể được sử dụng để mô tả tính chất quang của mô. Cửa sổ quang-âm (600 - 1100nm) là phạm vi bước sóng mà sự hấp thụ mô ở mức tối thiểu. (c) Phổ tuyệt chủng của các chất tương phản ngoại sinh phổ biến với các cực đại trong cửa sổ quang.

Độ tương phản trong ảnh PA được xác định chủ yếu bởi sự phụ thuộc vào bước sóng $\mu_a$. Sự thay đổi độ hấp thụ quang như là một hàm của bước sóng đối với nhiều loại các chromophores nội sinh, bao gồm melanin, oxy- ($HbO_2$ ) và deoxy-hemoglobin (Hb) được trình bày trong **Error! Reference source not found.**b. Bởi vì các biến thể lớn trong $\mu_a$, quang phổ hoặc kỹ thuật hình ảnh đa bước sóng được sử dụng để mô tả đặc điểm tính chất của mô khối u. Ví dụ, $HbO_2$ và Hb có đặc tính hấp thụ quang khác nhau phụ thuộc bước sóng, cho phép PAI quang phổ phân biệt giữa các động mạch và tĩnh mạch. Hơn nữa, $HbO_2$ và Hb có cùng độ hấp thụ quang ở khoảng 805 nm, PAI ở bước sóng này và các bước sóng khác có thể được sử dụng để đánh giá tổng lượng huyết sắc tố và máu oxy hóa. Độ tương phản PA cũng có thể được tăng cường bằng các chất tương phản ngoại sinh (ví dụ thuốc nhuộm hoặc hạt nano) (Hình c) có phổ hấp thụ riêng biệt và có thể điều chỉnh được ở gần cửa sổ quang-âm hồng ngoại (NIR) (600-1100nm) trong đó các chromophores nội sinh, chẳng hạn như huyết sắc tố và nước, có độ hấp thụ thấp (Hình b).

## Phát hiện ung thư với độ tương phản quang nội sinh

Phát hiện ung thư bằng PAI với các chromophores nội sinh (ví dụ hemoglobin và melanin) đang là một lĩnh vực nghiên cứu tích cực. Ví dụ, PAI đã được sử dụng để theo dõi khối u ác tính tăng trưởng trong suốt hai tuần. Độ tương phản quang-âm được cung cấp bởi nồng độ melanin cao hơn trong khối u so với các mô xung quanh. PAI cũng đã được dùng để phát hiện u hắc tố da. **Error! Reference source not found.**a mô tả một khối u ác tính và xung quanh mạch máu thu được bằng quang phổ PAI. Hình ảnh giả màu được dựng lại từ hình ảnh PA thu được ở mức chiếu sáng laser 584nm và 764nm. Những nghiên cứu chỉ ra PAI có khả năng xác định, hình dung và theo dõi các khối u và mạch máu liên quan đến chúng với độ phân giải cao.

Các khối u ác tính có mạch máu dày đặc và không có tổ chức so với các mô bình thường. Mật độ cao của các mạch máu trong khối u giúp tăng cường độ tương phản hình ảnh PA, do đó cho phép phát hiện khối u. Ví dụ, Máy soi nhũ ảnh Twente được phát triển để phát hiện ung thư biểu mô tuyến vú dựa trên nguyên tắc này. Chụp X-quang (**Error! Reference source not found.**b-i) và một siêu âm (**Error! Reference source not found.**b-ii) được so sánh với hình ảnh PA (**Error! Reference source not found.**b-iii) thu được với nguồn quang 1064nm. **Error! Reference source not found.** cho thấy rằng chụp nhũ ảnh nhạy hơn với các chỉ số ác tính, chẳng hạn như mạch máu, hơn các kỹ thuật X quang thông thường. PAI cũng có thể cung cấp thông tin về sự hình thành mạch hoặc những thay đổi về mạch máu. Như thể hiện trong **Error! Reference source not found.**c, hình ảnh PA tuần tự có thể thu được một cách an toàn và không xâm lấn tại các giai đoạn khác nhau của sự phát triển khối u để theo dõi sự hình thành mạch và để xác định nếu một khối u đã tiến triển thành ác tính. So với các kỹ thuật hình ảnh mạch máu khác, bao gồm MRI tăng cường năng động, tưới máu CT và PET chức năng, PAI phát hiện khối u mạch máu ở độ phân giải tốt hơn hoặc có thể so sánh, mà không sử dụng tác nhân tương phản ngoại sinh.




**Hình 3.8** Hình ảnh PA theo dõi khối u ác tính

Trong đó (a) Các hình chiếu biên độ cực đại của hình ảnh PA ở 764nm và 584nm tương ứng cho thấy một khối u và mạch máu xung quanh nó. Hình ảnh rõ ràng cho thấy sự phân nhánh và cấu trúc mạch xung quanh khối u. (b) Hình ảnh vú của phụ nữ 57 tuổi bị ung thư biểu mô ống xâm lấn: (i) Chụp X quang tuyến vú; (ii) siêu âm; (iii) Ảnh PA ở 1064nm. Chụp X quang và X quang siêu âm mô tả các đặc điểm giải phẫu tổng thể của khối u, nhưng không cung cấp thông tin chức năng. Biên độ PA cao tương ứng với sự co mạch liên quan đến các khối u ác tính. Hình ảnh PA mô tả rõ ràng rằng mật độ mạch máu cao hơn ở ngoại vi khối u và lõi của khối u có mạch máu tối thiểu. (c) Các tế bào khối u tụy được tiêm vào chân sau chuột vào ngày 1. PAI được sử dụng để theo dõi sự hình thành mạch liên quan đến sự phát triển của khối u. Hình ảnh PA thu được từ vùng khối u vào các ngày 3, 7, 8 và 10 là các phép chiếu cường độ tối đa của cường độ nguồn quang điện trong mặt phẳng xy (nghĩa là nhìn từ trên xuống trên mô khối u). (d) Hình ảnh chức năng in vivo của não chuột với xenograft glioblastoma thu được bằng PAI. PAI quang phổ (bước sóng từ 764nm đến 824nm) đã được sử dụng để phát hiện tình trạng thiếu oxy trong một khối u não. Bản đồ nhiệt biểu thị tỷ lệ bão hòa oxy ($SO_2$) trong các mạch máu (xanh = hypoxic; đỏ = hyperoxic). Khu vực được chỉ định bởi mũi tên màu đỏ là khối u. (e) So sánh $SO_2$ ở ba con chuột bình thường và khối u não. Ba mạch bình thường và ba mạch khối u đã được chọn từ mỗi hình ảnh $SO_2$ đã được xử lý từ hình ảnh PA quang phổ, chẳng hạn như hình ảnh được hiển thị trong (d). Kết quả chỉ ra rõ ràng rằng tỷ lệ $SO_2$ trong các khối u thấp hơn các mô bình thường xung quanh, do đó cho thấy tình trạng thiếu oxy.

Bên cạnh hình ảnh melanin và mạch máu, hệ thống PAI đã được sử dụng cho đo hàm lượng oxy trong máu để nghiên cứu tình trạng thiếu oxy trong khối u. Hypoxia thường liên quan đến bệnh ác tính và kháng trị liệu. Lượng bão hòa oxy trong máu ($SO_2$ ) có thể được ước tính bằng cách so sánh cường độ tín hiệu PA của $HbO_2$ và Hb thu được từ hình ảnh PA phổ. **Error! Reference source not found.**d cho thấy hình ảnh chức năng in vivo của một não chuột với một

glioblastoma. Vùng thiếu oxy màu xanh (khoanh tròn) cho biết vị trí của khối u trong não. Kết quả mô tả rõ ràng rằng khối u có tỷ lệ $SO_2$ thấp hơn hơn các mô bình thường xung quanh.

## Phát hiện ung thư với các chất tương phản quang-âm ngoại sinh

Độ nhạy của kỹ thuật PAI đối với các khối u nằm sâu có thể được tăng lên mạnh bằng cách sử dụng các chất tương phản ngoại sinh. Thuốc nhuộm hấp thụ NIR, như IRDye800CW, AlexaFluor 750 và indocyanine green (ICG), đã được được sử dụng để tăng cường độ tương phản PA. Tuy nhiên, trong số các chất tương phản ngoại sinh, AuNP được dùng trong PAI dựa trên hạt nano với các đặc tính quang-âm độc đáo của chúng từ hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR). Do hiệu ứng SPR, AuNP có một độ hấp thụ với thuốc nhuộm NIR có cường độ cao hơn. Ví dụ: vàng nanospheres, nanorods, nanoshells, nanocages và nanobeacons đã được sử dụng trong PAI bởi vì cộng hưởng plasmon theo chiều dọc có thể điều chỉnh và tính mạnh mẽ của chúng trong NIR.

Bằng cách gắn các mục tiêu vào các tác nhân ngoại sinh, thông tin phân tử cụ thể liên quan đến các khối u có thể thu được. AuNP với các đặc tính hấp thụ quang khác nhau có thể được liên hợp với các dấu ấn sinh học đặc trưng cho bệnh ung thư, như các thụ thể của yếu tố tăng trưởng. Bằng cách sử dụng nhiều AuNP được nhắm mục tiêu, ghi nhãn phân tử ghép kênh của một khối u có thể đạt được và PAI đa bước sóng có thể hình ảnh sự tích lũy không đồng nhất và tương tác của AuNP với các tế bào ung thư in vivo. Đầu dò quang huỳnh quang, như chấm lượng tử, cũng cung cấp độ tương phản PA và có thể được sử dụng để dán nhãn cho các khối u.

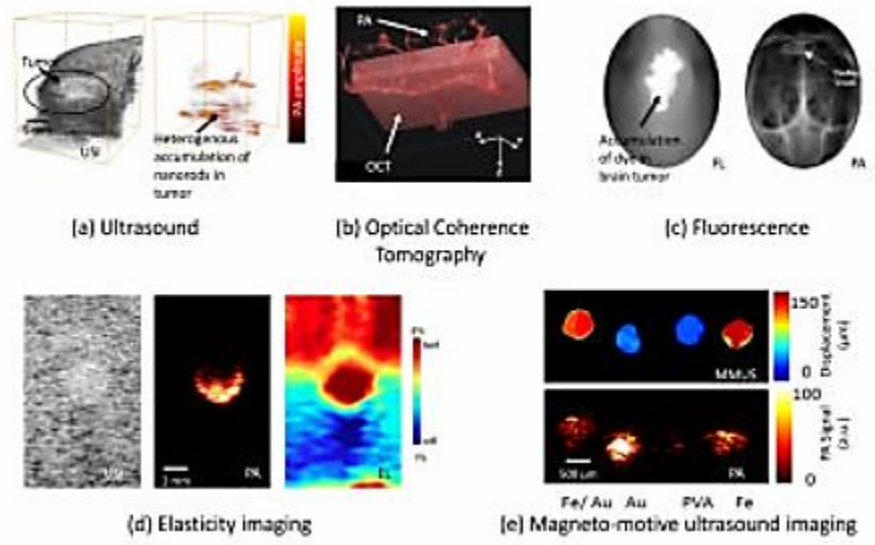
Đã có một số tiến bộ trong PAI phân tử giúp mô tả chức năng quan trọng và tương tác phân tử giữa các tế bào khối u và môi trường vi mô xung quanh. Một tiến bộ gần đây trong PAI là việc sử dụng các đầu dò có thể kích hoạt bằng hình ảnh để cung cấp mục tiêu- tín hiệu quang điện tử phụ thuộc và chúng cho thấy độ đặc hiệu và độ nhạy cao như so với các tàu thăm dò không tương tác với mục tiêu.

Gần đây, sự nhấn mạnh đã được đặt vào các hệ thống nano đa phương thức có thể tăng cường độ tương phản trong hình ảnh hai chiều hoặc ba trong, bao gồm cả microbubble, dựa trên perfluorocarbon nanobubble và nanowontons. Ví dụ, dây nano bao gồm lõi sắt từ (lõi coban) được phủ vàng cho tính tương thích sinh học và hình dạng độc đáo cho phép hấp thụ quang trên một dải tần số rộng; lõi từ hoạt động như một chất tương phản MRI và lớp phủ vàng cung cấp độ tương phản hấp thụ quang cho PAI. Với sự phát triển của các chiến lược hình ảnh kết hợp, các cấu trúc nano đa phương thức này sẽ đóng một vai trò nổi bật trong phát hiện và điều trị ung thư.

## Kết hợp PA với các phương thức hình ảnh khác

Để đánh giá thông tin bổ sung về cấu trúc, chức năng, trao đổi chất và phân tử trên khối u với độ chính xác cao là điều cần thiết để điều trị ung thư. PAI chủ yếu cung cấp cao hình ảnh độ phân giải dựa trên độ tương phản quang-âm của các thành phần mô, chẳng hạn như thay đổi do mạch máu bất thường hoặc hàm lượng melanin cao; tuy nhiên, cấu trúc giải phẫu tổng thể của khối u không thể được cảm nhận bởi một mình PAI. USI, một kỹ thuật không xâm lấn khi kết hợp với PAI, có thể được sử dụng để có được các chi tiết giải phẫu về khối u và môi trường xung quanh khối u (Hình 3a). Cả USI và PAI đều có tính hiệp đồng cao: sử dụng cùng một bộ chuyển đổi và máy thu điện tử và là phương thức hình ảnh không ion hóa (không giống như CT và PET) [6]. Hệ thống siêu âm thương mại đã được sửa đổi thành hệ thống PAI cho cả hình ảnh động vật nhỏ và hình ảnh ung thư vú.

Một phương thức hình ảnh có thể cung cấp thông tin cấu trúc ở độ phân giải lớn hơn siêu âm (~ 50 -500 µm) là chụp cắt lớp mạch lạc quang học (OCT) (~ 10 µm), dựa vào tính chất tán xạ quang của mô. Một hệ thống OCT và PA kết hợp 3D đã được được xây dựng có thể hình ảnh lưu thông vi mạch (**Error! Reference source not found.**). Điều này kết hợp hệ thống có thể được sử dụng để hình ảnh vi mạch của các tổn thương da ác tính và cung cấp thông tin cấu trúc và chức năng toàn diện. Phương thức hình ảnh quang học khác, chẳng hạn như hình ảnh huỳnh quang (**Error! Reference source not found.**c) cũng đã được sử dụng với PAI để chụp ảnh não khối u trong cơ thể. PAI cung cấp hình ảnh cấu trúc độ phân giải cao của sự hình thành khối u, trong khi hình ảnh huỳnh quang có độ nhạy cao với các đầu dò phân tử để phát hiện khối u vị trí.




**Hình 3.9** Các kỹ thuật hình ảnh quang học và siêu âm khác nhau có thể được kết hợp với PAI để cung cấp các đặc tính cấu trúc, chức năng và cơ học của mô

Trong đó (a) In vivo 3D USI và PAI của một khối u dưới da ở chuột được tiêm nanorod vàng. Khối u dưới da xuất hiện như một vết sưng trong hình ảnh siêu âm 3D. Hình ảnh PA cho thấy sự nội địa hóa không đồng nhất của các thanh nano trong khối u, được tích lũy tốt hơn nhờ có hiệu ứng thẩm thấu và duy trì tăng cường. (b) In vivo PAI và OCT của da ở mặt sau của một con chuột khỏa thân. Hình ảnh đại diện cho sự hợp nhất dữ liệu của hình ảnh OCT (cấu trúc của da) và PA (vi mạch). Thích nghi với sự cho phép từ. (c) Hình ảnh huỳnh quang in vivo không xâm lấn (FL) thu được 24 giờ sau khi tiêm ICG ở chuột với các tế bào khối u ác tính được cấy vào não. Hình ảnh PA không xâm lấn in vivo được thu thập với da và hộp sọ còn nguyên vẹn, cho thấy sự co mạch trong não. (d) Hình ảnh siêu âm mô màu xám (trái), hình ảnh PA (giữa) và hình ảnh đàn hồi (phải) của một plasma mô phỏng có độ tương phản quang học cao hơn và khó hơn so với nền. (e) Hình ảnh MMUS (trên cùng) và PA (dưới cùng) của một mô hình bắt chước mô với các mẫu chứa (trái sang phải): hỗn hợp các hạt nano $Fe_3O_4$ và các hạt nano Au; Chỉ PVA (không có hạt nano); và các hạt nano $Fe_3O_4$. Colormap MMUS đại diện cho sự dịch chuyển của các vùi. Mẫu PVA tinh khiết (không có hạt nano) không thay thế dưới sự kích thích từ tính và cho thấy không có độ tương phản PA. Các hạt nano Au cũng không thay thế, nhưng có độ hấp thụ quang cao và do đó tạo ra tín hiệu PA lớn hơn so với các hạt nano $Fe_3O_4$. Hai mẫu chứa hạt nano $Fe_3O_4$ có độ dịch chuyển khoảng 100 m.

Hình ảnh đàn hồi dựa trên siêu âm không xâm lấn đánh giá  các đặc tính cơ sinh học (tức là mô đun của Young) của các khối u (**Error! Reference source not found.**d). Một sự kết hợp của siêu âm và hình ảnh đàn hồi đã cho thấy kết quả tốt nhất trong việc phát hiện khối u vú in vivo với độ nhạy và độ đặc hiệu cao và có khả năng làm giảm sinh thiết không cần thiết. Một sự kết hợp của bổ sung kỹ thuật hình ảnh (ví dụ độ đàn hồi kết hợp với USI và PAI) có thể cải thiện ung thư hơn nữa phát hiện độ nhạy và độ đặc hiệu bằng cách cung cấp thông tin đồng thời về giải phẫu (USI), sự hình thành mạch (PAI) và những thay đổi về tính chất cơ học (hình ảnh đàn hồi) của khối u. Một kỹ thuật hình ảnh dựa trên siêu âm khác có thể kết hợp với PAI là USI động lực từ (MMUS). MMUS có khả năng đo cơ học sinh học tính chất của mô với sự trợ giúp của các hạt nano từ tính (**Error! Reference source not found.**e). Trong MMUS, kích thích từ được áp dụng để tạo ra chuyển động của các hạt nano từ tính trong các mô hoặc nội tạng. Tính chất cơ học của mô có thể được đánh giá dựa trên chuyển động của mô được phát hiện trong hình ảnh siêu âm. Dựa trên các nghiên cứu ban đầu được thực hiện trên mô bắt chước Phantoms, có thể dự đoán rằng những thay đổi bệnh lý trong mô, thường liên quan để thay đổi tính chất cơ học mô, có thể được phát hiện và phân biệt bằng cách sử dụng MMUS. Tuy nhiên, cần nghiên cứu thêm về các mô hình khối u ở chuột để đánh giá kỹ thuật in vivo . Với sự ra đời gần đây của các hệ thống hình ảnh in vivo (ví dụ Vevo 2100 bởi Visual Sonics Inc.) có khả năng cả USI và PAI ở mức độ vi mô hoặc vĩ mô độ phân giải, sự phức tạp chức năng và sự phức tạp về cấu trúc của khối u có thể là đồng thời hình dung.

## 3.3 Huỳnh quang [29]

Quang phổ huỳnh quang y sinh là một lĩnh vực nghiên cứu cực kỳ lớn và đang phát triển. Trong phân loại các loại nghiên cứu và nghiên cứu lâm sàng khác nhau đang được thực hiện lĩnh vực này được chia thành ba loại:

1. Phân tích sinh hóa của các hợp chất riêng lẻ
2. Phân tích trong ống nghiệm
3. Phân tích in vivo

Các phân tích sinh hóa là cơ sở cho các nghiên cứu cơ bản hoặc tổng quát về các hợp chất sinh hóa riêng lẻ tạo thành các thành phần cơ bản của các mẫu sinh học (tức là, tryptophan, NAD, NADH, hemoglobin). Chính từ những nghiên cứu này, tính chất huỳnh quang cơ bản của fluorophores thông thường thường được xác định và đặc trưng. Loại thứ hai, phân tích trong ống nghiệm, được chia thành hai loại phụ: đo tế bào và đo mô. Những phân tích này thường cung cấp thông tin bổ sung liên quan đến các hệ thống phức tạp như tế bào và mô. Phân loại thứ ba, phân tích in vivo, cũng có thể được chia thành hai loại phụ khác: nghiên cứu động vật và nghiên cứu lâm sàng ở người.

### 1. Phân tích sinh hóa của các hợp chất riêng lẻ

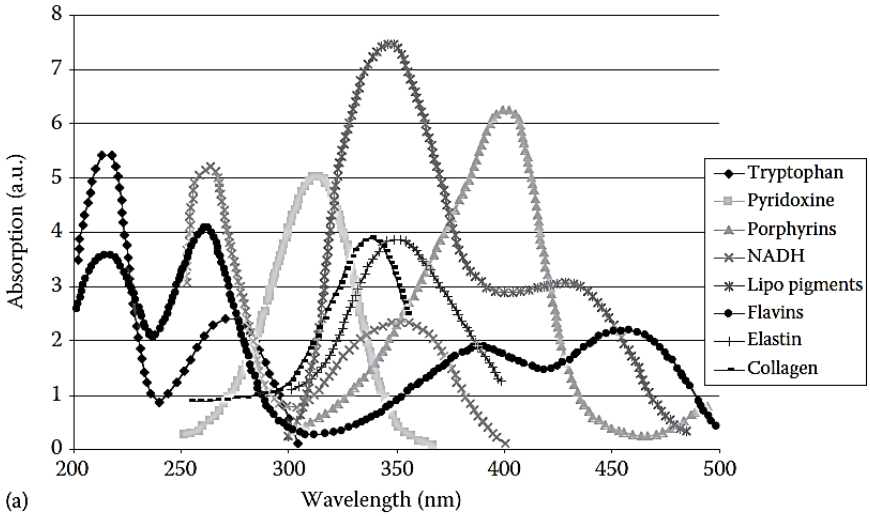
#### Fluorophores nội sinh

Một số fluorophores nội sinh mãnh liệt nhất tồn tại ở người và động vật có liên quan đến chuyển hóa tế bào, bao gồm dạng giảm NADH, 11 loại flavin khác nhau (ví dụ flavin adenine dinucleotide [FAD]) và lipopigments huỳnh quang mạnh (ví dụ, lipofuscin và ceroids), tồn tại nhiều fluorophores nội sinh khác thể hiện sự phát xạ với các cường độ khác nhau và bao trùm các phạm vi quang phổ khác nhau trong vùng UV và vùng nhìn thấy của phổ điện từ. Hình 3.10 cho thấy sự hấp thụ và phổ huỳnh quang của các fluorophores mô khác nhau.

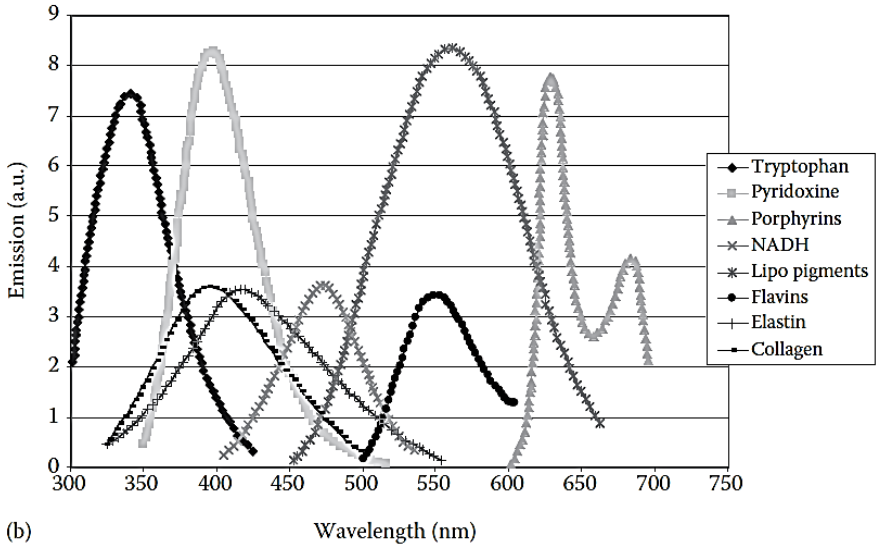
Bởi vì các loài sinh hóa nói chung có cấu trúc hoặc trao đổi chất, chúng có thể cung cấp một lượng thông tin đáng kể về sự khác biệt trong các mô. Một trong những lý do phổ biến nhất để phân tích các loại huỳnh quang này là khả năng chẩn đoán các bệnh khác nhau (ví dụ: ung thư) mà không yêu cầu các dấu hiệu hoặc tiêm chất huỳnh quang ngoại sinh. Vì các tế bào ở các trạng thái bệnh khác nhau thường trải qua các quá trình trao đổi chất khác nhau hoặc có cấu trúc khác nhau, nên thường có sự khác biệt rõ rệt trong quang phổ phát xạ huỳnh quang của chúng. Những khác biệt trong phát xạ huỳnh quang thường phụ thuộc vào ít nhất một trong các thông số sau: nồng độ fluorophore hoặc phân bố không gian trong mô, môi trường vi mô cục bộ xung quanh fluorophores, kiến trúc mô cụ thể đang bị xem xét và sự suy giảm ánh sáng phụ thuộc bước sóng do sự khác biệt trong số lượng nhiễm sắc thể không phát quang.

Sự thay đổi nồng độ fluorophore có thể được quy cho nhiều sự kiện khác nhau. Trong một số trường hợp nhất định, các chất khác nhau có thể không được sản xuất trong mô bệnh. Trong các trường hợp khác, sự phân bố hoặc hình thức của fluorophore có thể thay đổi trong toàn bộ mô.

Sự thay đổi cấu trúc vi mô xung quanh một fluorophore cụ thể có thể có tác động đáng kể đến tính chất huỳnh quang của nó. Các đặc tính huỳnh quang thường bị ảnh hưởng bởi những thay đổi bao gồm năng suất lượng tử huỳnh quang, vị trí quang phổ của cực đại phát huỳnh quang, độ rộng vạch phổ và tuổi thọ huỳnh quang của nó. Tất cả các yếu tố này có thể có tác động đáng kể đến sự phát xạ huỳnh quang tổng thể của toàn bộ mẫu mô. Ngoài môi trường xung quanh fluorophore, cấu trúc mô cũng đóng một vai trò quan trọng trong huỳnh quang thu được do các đặc tính quang học cụ thể của nó (ví dụ: chỉ số khúc xạ, mặt cắt tán xạ).



(a)




**Hình 3.10** Phổ hấp thụ (a) và phát xạ huỳnh quang (b) của nhiều loại fluorophores chiếm ưu thế có trong các thành phần mô phổ biến. (Adapted from Wagnières, G.A.S. et al., *Photochem. Photobiol*., 68, 603, 1998.)

Một yếu tố quan trọng thường đóng một vai trò quan trọng trong sự khác biệt liên quan đến các tình trạng bệnh khác nhau của mô là sự hiện diện của các chromophore không phát quang (hemoglobin, v.v.). Các chromophore này, có thể thay đổi nồng độ tùy theo trạng thái của mô, có thể hấp thụ các bước sóng ánh sáng khác nhau phát huỳnh quang ra từ mô hoặc thậm chí hấp thụ các bước sóng cụ thể của ánh sáng kích thích được sử dụng để phân tích. Một ví dụ của trường hợp này là trong chẩn đoán huỳnh quang mô khối u, thường có sự gia tăng mạch máu so với các mô bình thường do sự hình thành mạch. Do sự gia tăng mạch máu này, sự hiện diện của hemoglobin tăng lên thường làm tăng sự hấp thụ ánh sáng trong vùng nhìn thấy của phổ điện từ.

**Fluorophores ngoại sinh và đánh dấu phân tử**

Ngoài số lượng lớn fluorophores nội sinh đã được sử dụng để chẩn đoán sinh học, nhiều fluorophores ngoại sinh khác nhau đã được tạo ra và nghiên cứu. Các fluorophores ngoại sinh này đã được tạo ra cho nhiều mục đích và ứng dụng khác nhau trong lĩnh vực giám sát sinh học, từ việc theo dõi chức năng tế bào bằng cách sử dụng thuốc nhuộm huỳnh quang hoặc phân tử cho các loại sinh hóa khác nhau ($Ca^{+2}$, $Mg^{+2}$, pH, axit nucleic , v.v.) để phân định khối u với một lớp fluorophores. Các thuốc nhuộm huỳnh quang này thường được sử dụng để theo dõi sự phân bố của các loại chất hóa học quan trọng trong tế bào bằng cách thu được hình ảnh qua kính hiển vi huỳnh quang sau khi tiêm thuốc nhuộm. Ngoài việc đơn giản là theo dõi sự phân phối của một số chất, một số thuốc nhuộm có thể được sử dụng để xác định khả năng tồn tại của các tế bào hoặc tính thấm của màng của chúng.

Một loại thuốc nhuộm phát xạ huỳnh quang thứ hai đã được phát triển gần đây được gọi là molecular beacon với oligonucleotide đầu kia của chuỗi. Trình tự oligonucleotide cụ thể được chọn cho molecular beacon bao gồm trình tự bổ sung cho trình tự RNA hoặc DNA cần đo. Để molecular beacon hoạt động chính xác, một số axit nucleic cuối cùng ở hai đầu của chuỗi oligonucleotide phải bổ sung cho nhau. Điều này buộc các phân tử phải giả định một dạng kẹp ở trạng thái tự nhiên của nó, đưa phân tử chất khử gần với fluorophore của đầu kia. Sự gần của phân tử chất khử với fluorophore ngăn không cho fluorophore phát ra bất kỳ ánh sáng huỳnh quang nào. Tuy nhiên, khi

molecular beacon có sự hiện diện của chuỗi bổ sung của nó với phần còn lại của oligonucleotide, beacon được mở ra, do đó tách các phân tử chất khử và fluorophore và cho phép thuốc nhuộm huỳnh quang phát ra.

Ngoài thuốc nhuộm huỳnh quang và molecular beacon, một lĩnh vực nghiên cứu chính thứ ba về fluorophores ngoại sinh hữu ích về mặt sinh học trong lĩnh vực phân chia hoặc nhạy cảm với khối u. Phổ biến nhất trong số các khối u này cũng hoạt động như chất nhạy cảm, hoặc chất diệt khối u, cho một kế hoạch điều trị ung thư duy nhất được gọi là PDT. Một số chất được sử dụng phổ biến nhất và đặc trưng nhất trong số các chất nhạy quang này là các dẫn xuất hematoporphyrin (Hp) (HpDs), pheophorbide-a (Ph-a), mTHPC, dẫn xuất benzoporphyrin (BPDs), SnET2), hypericin, và ALA. Các nghiên cứu tốt nhất về các hợp chất này là HpDs (tức là Photofrin). HpDs có nguồn gốc từ chức năng của Hps với các nhóm thế kỵ nước cho phép các hợp chất này được hấp thụ dễ dàng hơn trong các mô khối u so với Hps. Sau khi các hợp chất này được phát triển, người ta cũng thấy rằng chúng cũng có thể đóng vai trò là chất cảm quang, vì chúng có khả năng bị kích thích và kích hoạt bởi sự hấp thụ ánh sáng khả kiến. Mặc dù HpDs vẫn còn được sử dụng khá rộng rãi cho các phương pháp điều trị PDT, nhiều hợp chất hoặc nhóm hợp chất khác có đặc điểm phù hợp hơn cho thuốc lâm sàng (như được liệt kê trước đó) đã được phát triển.

Các tính chất quang học mong muốn nhất của các chất nhạy PDT là độ hấp thụ mạnh trong vùng đỏ hoặc gần hồng ngoại (NIR) của phổ điện từ và năng suất lượng tử ở trạng thái bộ ba cao. Đầu tiên của hai thuộc tính này là quan trọng vì nhiều lý do. Một trong những lý do này là việc sử dụng các bước sóng ánh sáng màu đỏ hoặc NIR để kích thích chất nhạy cảm gây ra ít thiệt hại hơn cho các mô khỏe mạnh gần đó. Ở bước sóng màu đỏ và NIR, các chromophore xuất hiện tự nhiên trong mô hấp thụ ít ánh sáng. Ngoài ra, do sự hấp thụ các bước sóng này bằng các chromophore tự nhiên là tối thiểu, nên kết quả huỳnh quang nền từ mô khỏe mạnh gần đó được giảm thiểu, cung cấp một dấu hiệu khối u cũng như độ nhạy chính xác hơn. Lợi ích tiềm năng thứ ba đạt được bằng cách có chất quang nhạy với quang phổ hấp thụ mạnh ở màu đỏ và NIR là khả năng tiêu diệt khối u dưới các lớp mô mỏng bình thường. Khi sử dụng chất quang nhạy được kích hoạt bằng ánh sáng nhìn thấy hoặc tia cực tím, mặt cắt hấp thụ của mô phủ khỏe mạnh là quá lớn để cho phép một phần đáng kể ánh sáng xuyên qua sâu hơn khoảng 100 μm. Tuy nhiên, các photon năng lượng thấp hơn, chẳng hạn như các photon màu đỏ hoặc NIR, thâm nhập đáng kể và có thể cho phép kích hoạt các chất nhạy cảm trong các khối u bên dưới mô phủ khỏe mạnh.

**Phân tích và chẩn đoán trong ống nghiệm**

Các phân tích in vitro thường có thể được phân loại thành hai loại khác nhau: phân tích tế bào và phân tích mô. Các phân tích in vitro rất quan trọng để có được sự hiểu biết nhiều hơn về các quá trình sinh học cơ bản đang xảy ra và hiểu bất kỳ sự can thiệp hoặc vấn đề tiềm ẩn nào có thể có khi điều tra các hệ thống sinh học phức tạp hơn (ví dụ, động vật sống).

Ngoài việc đạt được sự hiểu biết sinh hóa cơ bản tốt hơn, các phân tích huỳnh quang trong ống nghiệm thường được thực hiện để hiểu rõ hơn về các tương tác hoặc can thiệp thường diễn ra trong các hệ thống phức tạp trái ngược với các hóa chất riêng lẻ. Bằng cách điều tra các hiệu ứng này trên các mẫu in vitro như tế bào hoặc mô, các nhà nghiên cứu có thể xác định các quy trình chẩn đoán tiềm năng có thể được thực hiện in vivo hoặc xác định các vấn đề với các quy trình chẩn đoán tiềm năng trước khi liên quan đến các đối tượng sống. Khi thực hiện phân tích trên các hệ thống sinh hóa gọn gàng, không thể điều tra sự tương tác của các hóa sinh khác nhau với các chất khác có trong các hệ thống chức năng (tức là, tế bào, mô). Ngoài ra, ảnh hưởng của môi trường

xung quanh đến tính chất quang học của các fluorophores khác nhau có thể được nghiên cứu chính xác hơn nhiều bằng cách sử dụng các hệ thống in vitro so với các phân tích sinh hóa đơn thuần.

Trong khi phần lớn kính hiển vi huỳnh quang được thực hiện với việc sử dụng thuốc nhuộm ngoại sinh, đã có một lĩnh vực kính hiển vi huỳnh quang phát triển dựa vào các loài tự phát huỳnh quang bên trong tế bào để biết thông tin chẩn đoán. Các phép đo tự phát huỳnh quang như vậy cung cấp một công cụ quan trọng để chẩn đoán y sinh. Phần lớn các nghiên cứu trong kính hiển vi tự phát huỳnh quang được thực hiện như là nghiên cứu sơ bộ trước khi thử nghiệm các quy trình chẩn đoán in vivo, hoặc như một quy trình chẩn đoán y khoa. Một số ví dụ gần đây về điều này được mô tả trong các điều sau đây.

**Tăng sinh tế bào và phân tích tế bào**

Một trong những ứng dụng được tìm kiếm nhiều nhất của quang phổ huỳnh quang trong quang học y sinh là khả năng phân biệt mô bình thường với mô ung thư hoặc thậm chí là tiền ung thư trong môi trường lâm sàng thời gian thực, mà không cần thuốc. Để xác định tiềm năng của kỹ thuật này, một số nhà nghiên cứu đã tìm cách trả lời các câu hỏi về việc liệu các mẫu phổ huỳnh quang duy nhất có liên quan đến sự tăng sinh tế bào hay không và liệu có xác định được sự khác biệt giữa các tế bào phát triển nhanh và chậm. Huỳnh quang tế bào tự nhiên được sử dụng để xác định sự biệt hóa vảy của các tế bào biểu mô miệng bình thường trong nuôi cấy. Trong một phân tích như vậy, phổ kích thích huỳnh quang có khả năng phân biệt giữa các tế bào tăng trưởng chậm và nhanh ở ba loại tế bào khác nhau. Ngoài ra, người ta cũng có thể phân biệt các tế bào phát triển chậm với các tế bào đang phát triển nhanh bằng cách thu được phổ phát xạ huỳnh quang của các tế bào khác nhau với bước sóng kích thích ở bước sóng 340nm và bước sóng phát xạ 360-660nm. Những kết quả này chứng tỏ một tiềm năng lớn cho sự phân biệt của các quần thể tế bào tăng sinh và không sinh sôi nảy nở trong cơ thể.

SL là một phương pháp duy nhất có thể cải thiện sự chọn lọc các kỹ thuật huỳnh quang để chẩn đoán ung thư. Như đã thảo luận trước đó, tự phát huỳnh quang của các mô ung thư và bình thường đã được quan sát sử dụng cố định bước sóng kích thích laser. Tuy nhiên, việc sử dụng bước sóng kích thích cố định có thể có chọn lọc không đầy đủ trong một số ứng dụng chẩn đoán do sự chồng chéo mạnh mẽ của phổ phát xạ từ fluorophore khác nhau. Một phương pháp khác là phương pháp SL, trong đó bao gồm quét cả hai kích thích và phát sóng cùng một lúc trong khi vẫn giữ một khoảng bước sóng liên tục giữa chúng. Phương pháp này, còn được gọi là SF, đã được phát triển để phân tích đa thành phần và đã được sử dụng để lấy dấu vân tay của các mẫu thực tế và để tăng cường tính chọn lọc trong xét nghiệm của các hệ thống phức tạp. Quy trình SF này đã được chứng minh là đơn giản hóa phổ phát xạ và cung cấp độ chọn lọc cao hơn khi đo huỳnh quang hoặc lân quang từ hỗn hợp các hợp chất. Sự khác biệt phổ trong cấu hình phát xạ SF có liên quan đến (các) đại phân tử cụ thể mà khác nhau giữa các tế bào tân sinh và bình thường. Kỹ thuật SF đã được chứng minh là cải thiện tính chọn lọc quang phổ trong việc phát hiện các tế bào ung thư bình thường và ung thư để sử dụng tiềm năng trong chẩn đoán y sinh. Trong khi huỳnh quang kích thích cố định thông thường không thể cho thấy bất kỳ sự khác biệt nào giữa các dòng tế bào ung thư bình thường và ung thư, sự khác biệt quang phổ giữa quang phổ huỳnh quang của Biểu mô gan chuột bình thường (RLE) và ung thư tế bào gan chuột tân sinh được phát hiện bằng SF. Kết quả đã chứng minh tiềm năng lớn của SF như một công cụ sàng lọc cải tiến để chẩn đoán ung thư trong các trường hợp cụ thể trong đó các phương pháp kích thích cố định thông thường không đủ hiệu quả.

**Huỳnh quang tế bào sử dụng thuốc nhuộm ngoại sinh**

Các phân tích huỳnh quang của các tế bào sống bằng các phân tử ngoại sinh đại diện cho phần lớn các phân tích quang phổ được thực hiện trên các tế bào. Các phân tích như vậy nói chung có thể được phân loại thành một trong hai loại, phân tích dựa trên cảm biến quang học hoặc phân tích dựa trên hình ảnh huỳnh quang. Cả hai kỹ thuật này đều có những ưu điểm và nhược điểm để đo lường từng loài hóa học bên trong một tế bào sống. Cảm biến quang học cho phép xác định chính xác nồng độ hóa học tại các điểm riêng biệt trong tế bào, trong khi các phân tích dựa trên hình ảnh cung cấp môi trường theo dõi sự phân bố không gian của chất phân tích trong toàn bộ tế bào. Một số loại cảm biến quang học đã được phát triển để theo dõi huỳnh quang xâm lấn tối thiểu của từng loài hóa học trong một tế bào.Thông thường, thuốc nhuộm huỳnh quang ngoại sinh có các đặc tính (nghĩa là, năng suất lượng tử, mức phát xạ tối đa) thay đổi khi có mặt chất phân tích được gắn vào đầu dò của cảm biến. Các cảm biến như vậy đã được sử dụng để đo nhiều phân tích trong các tế bào sống, cung cấp thông tin về nhiều quá trình sinh học khác nhau.

Kính hiển vi huỳnh quang là kỹ thuật phổ biến nhất để theo dõi sự phân bố không gian của một chất phân tích cụ thể tại nhiều vị trí khác nhau đồng thời trong một tế bào. Trong các phân tích như vậy, một hoặc một số thuốc nhuộm huỳnh quang ngoại sinh khác nhau được đưa vào tế bào và được phép phân tán. Sau khi phân tán khắp tế bào, chúng bắt đầu tương tác với chất phân tích quan tâm; sự tương tác này, đến lượt nó, gây ra một số thay đổi về tính chất huỳnh quang (cường độ, sự thay đổi quang phổ, v.v.) của thuốc nhuộm. Do đó, bằng cách thu được hình ảnh huỳnh quang của tế bào ở bước sóng cụ thể, tương ứng với bước sóng phát xạ tối đa của thuốc nhuộm, người ta có thể xác định nồng độ tương đối của chất phân tích tại các vị trí cụ thể. Những thuốc nhuộm này có sẵn với nhiều cực đại kích thích và phát xạ khác nhau cho hầu hết các phân tích, cho phép người thí nghiệm chọn thuốc nhuộm tốt nhất cho ứng dụng cụ thể. Các thuốc nhuộm được sử dụng phổ biến nhất hiện nay cho kính hiển vi huỳnh quang có cấu hình kích thích màu đỏ hoặc NIR, do đó cho phép thuốc nhuộm được kích thích mà không cung cấp năng lượng cần thiết để kích thích bất kỳ loài nào tự phát huỳnh quang có trong tế bào. Ngoài ra, ánh sáng năng lượng thấp hơn cũng gây ra ít thiệt hại hơn cho các tế bào sống so với các bước sóng nhìn thấy hoặc UV, có khả năng liên kết ngang DNA hoặc protein.

Trong các phân tích như vậy, các phân tử huỳnh quang được gắn vào một kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng đặc hiệu với protein bề mặt hoặc một loại protein bề mặt trên một loại tế bào cụ thể. Các tế bào được phân tích sau đó được tiếp xúc với các kháng thể có nhãn huỳnh quang này. Khi các kháng thể đã gắn vào các tế bào với các protein bề mặt thích hợp, một hệ thống phân tích huỳnh quang (ví dụ, tế bào đo dòng) có thể phân biệt các tế bào quan tâm với các tế bào khác có trên cơ sở một số tính chất huỳnh quang (ví dụ: dải quang phổ ) của phân tử thuốc nhuộm gắn với kháng thể.

**Chẩn đoán ung thư**

Gần đây, đã có rất nhiều sự quan tâm và nghiên cứu trong việc phát triển ung thư lâm sàng nhanh chóng, dựa trên huỳnh quang. Nhiều kỹ thuật khác nhau đã được phát triển cho các phân tích như vậy trong các loại mô khác nhau và đã thể hiện rất nhiều lời hứa. Hiệu quả của các kỹ thuật này thường được xác định bằng cách so sánh kết quả của chúng với dữ liệu mô học, được coi là tiêu chuẩn vàng. Dựa trên kết quả của những so sánh này, chúng ta có thể tính toán ba giá trị định lượng để đưa ra so sánh khách quan về các kỹ thuật khác nhau. Tính toán ba đại lượng này (độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác) phụ thuộc vào việc phân loại một phân tích cụ thể là dương tính thật (TP), đại diện cho phân loại theo cả hai kỹ thuật là ác tính; một dương tính giả (FP), tương ứng với một phân loại là ác tính bằng quang phổ huỳnh quang và bình thường theo mô học; một FN, tương ứng với phân loại bình thường bằng huỳnh quang và phân loại ác tính theo mô học;

hoặc âm tính thật (TN), tương ứng với phân loại theo cả hai kỹ thuật là bình thường. Khi các phân loại thích hợp đã được thực hiện, độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác được tính như sau:

$$Sensitively = \frac{TP}{(TP+FN)} \quad (3.2)$$

$$Specificity = \frac{TN}{(TN+FP)} \quad (3.3)$$

$$Accuracy = \frac{(TP+TN)}{(TP+TN+FP+FN)} \quad (3.4)$$

**2. Nghiên cứu và chẩn đoán lâm sàng ở người**

Loại phổ biến nhất của quy trình chẩn đoán y sinh dựa trên huỳnh quang được sử dụng trong các nghiên cứu lâm sàng cho đến nay là phát hiện tính chất quang học của các mô ác tính hoặc tiền ung thư ở các cơ quan khác nhau. Trong số các loại khối u phổ biến đã được nghiên cứu với kỹ thuật này là da, bàng quang tiết niệu, phế quản, GI, đầu và cổ, ung thư phụ khoa, vú và não.

**Nghiên cứu lâm sàng và chẩn đoán dựa trên sự tự phát quang**

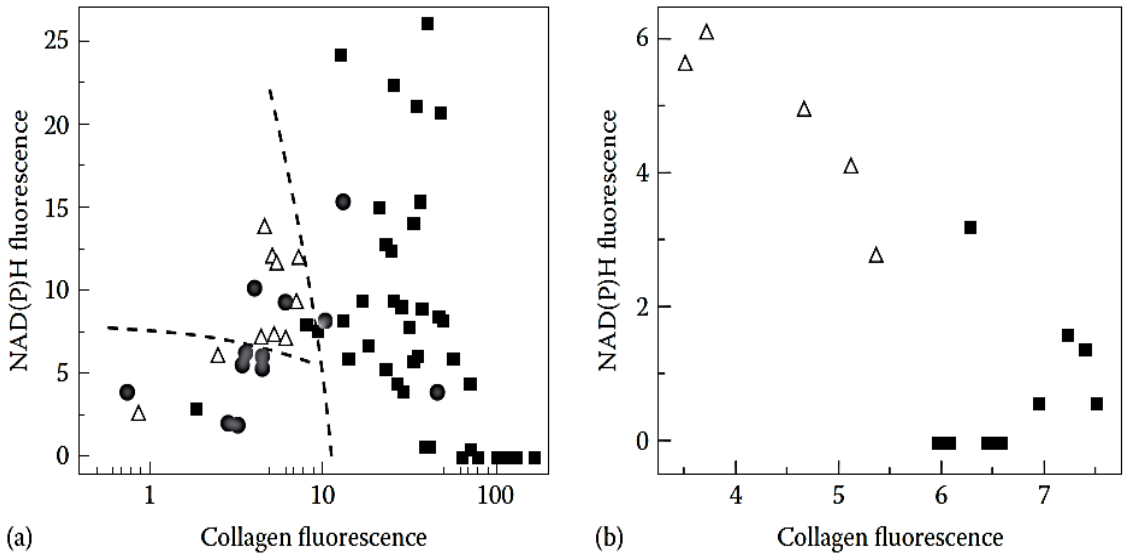
Kỹ thuật sinh thiết quang dựa trên tự phát huỳnh quang đại diện cho hình thức lý tưởng của quy trình chẩn đoán dựa trên huỳnh quang. Trong các phân tích này, ánh sáng được sử dụng để kích thích các fluorophores tự nhiên trong mô và sự khác biệt về thành phần hóa học giữa các loại mô khác nhau sẽ cho phép chẩn đoán theo thời gian thực mà không cần lấy mẫu mô hoặc điều trị bằng thuốc tăng cường độ tương phản thuốc uống.

**Chẩn đoán ung thư (Sinh thiết quang)**

**Ung thư cổ tử cung**: Ung thư cổ tử cung là bệnh ác tính phổ biến thứ hai ở phụ nữ trên toàn thế giới và vẫn là một vấn đề sức khỏe đáng kể. Mặc dù quy trình sàng lọc Papanicolaou smear (Pap smear) được sử dụng rộng rãi và phương pháp điều trị tốn kém, tỷ lệ sống sót chung vẫn là 40%. Vì những lý do này, những nỗ lực tăng cường sàng lọc và phòng ngừa là cần thiết. Kỹ thuật sinh thiết quang tự phát cung cấp một kỹ thuật sàng lọc như vậy với chẩn đoán tự động trong thời gian thực và độ nhạy và độ đặc hiệu tương đương với soi cổ tử cung. Feld và đồng nghiệp đã chứng minh khả năng phân biệt giữa các loại mô, in vivo, dựa trên phân tích đa thành phần (Hình 3.11).

Richards-Kortum và đồng nghiệp đã sử dụng LIF, sử dụng kích thích 337nm để phân biệt viêm lộ tuyến cổ tử cung in vivo (CIN), bất thường không điều trị và các mô cổ tử cung bình thường với nhau. Trong công việc này, một máy soi cổ tử cung bình thường với trên cổ tử cung. Những vị trí này sau đó được thực hiện thông qua quang phổ huỳnh quang với đầu dò sợi quang. Dựa trên các kết quả từ các phân tích huỳnh quang, hai thuật toán đã được phát triển để chẩn đoán CIN. Các thuật toán đầu tiên trong số này cho phép phân biệt các mô bất thường về mô học từ các mô bình thường có độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán dương tương ứng là 92%, 90% và 88%. Thuật toán thứ hai sau đó cho phép phân biệt các mô preneoplastic và neoplastic từ các mô bất thường không mang tính địa phương với độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán dương tương ứng là 87%, 73% và 74%. Những kết quả này cho thấy khi mô tiến triển từ trạng thái bình thường sang trạng thái bất thường ở cùng một bệnh nhân, nó đi kèm với sự giảm sự đóng góp huỳnh quang tuyệt đối của collagen, tăng sự suy giảm tuyệt đối của oxyhemoglobin và tăng sự tương đối đóng góp từ giảm nicotinamide dinucleotide phosphate [NAD (P) H]. Sự khác biệt của các mô khác nhau sau đó được xác định bởi mức độ của từng yếu tố này. Những kết quả như vậy cung cấp rất

nhiều hy vọng cho tương lai của quang phổ huỳnh quang in vivo để chẩn đoán CIN tại soi cổ tử cung.



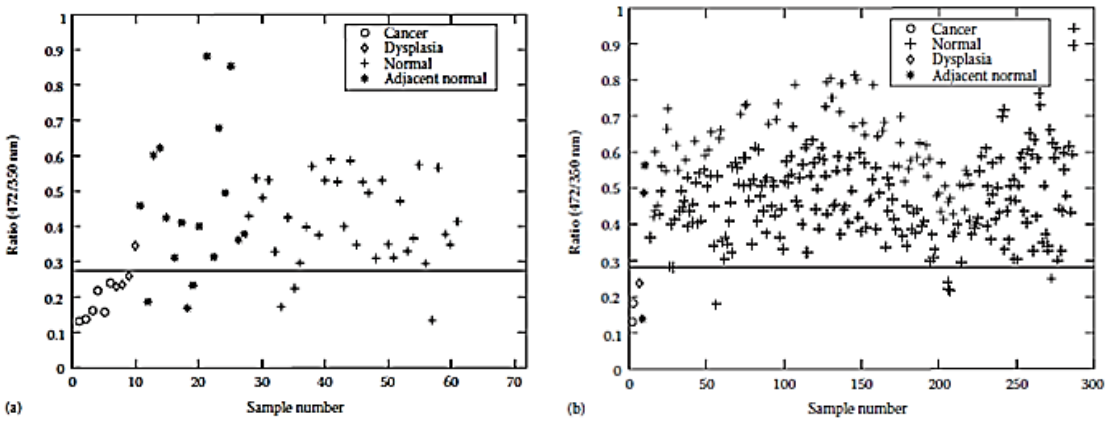

**Hình 3.11** Nghiên cứu các dấu ấn sinh học huỳnh quang định lượng in vivo của những thay đổi tiền ung thư biểu mô. Hình này cho thấy khả năng phân biệt giữa các loại mô khác nhau, in vivo, dựa trên phân tích huỳnh quang đa nhân

Trong đó, (a) Thể hiện khả năng phân biệt giữa mô ngoài tử cung bình thường (n), vị trí biến chất vảy (·) và tổn thương nội mô vảy cao cấp dựa trên quy trình phân tích 2D này. Các đường đứt nét biểu thị ranh giới giữa các mô khác nhau, dựa trên phân tích hồi quy logistic. (b) Thể hiện khả năng phân biệt giữa các mô không điều trị (n) và các vị trí mô loạn sản cao cấp. (From Renkoski, T.E. et al., *J. Biomed. Opt*., 18(1), 016005, 2013.)

**Chẩn đoán da:** Để hiểu rõ hơn về vai trò của các thành phần mô khác nhau trong quá trình tự phát huỳnh quang của da, Gratton và đồng nghiệp đã sử dụng kính hiển vi huỳnh quang bội để phân tích mô da in vivo. Trong công trình này, kính hiển vi huỳnh quang đa cực sử dụng bước sóng kích thích 730 và 960nm đã được sử dụng để chụp ảnh các tế bào da người in vivo từ bề mặt đến độ sâu khoảng 200 µm. Phổ phát xạ huỳnh quang và hình ảnh tuổi thọ huỳnh quang thu được tại các vị trí được chọn gần bề mặt (0-50 µm) và ở độ sâu sâu hơn (100 -150 µm) cho cả hai bước sóng kích thích. Dữ liệu quang phổ thu được cho thấy rằng các nucleotide pyridine và NADH là nguồn chính của quá trình tự phát huỳnh quang của da khi sử dụng kích thích 730nm. Với bước sóng kích thích 960nm, phát xạ huỳnh quang hai photon ở bước sóng 520nm cho thấy sự hiện diện của một thành phần cường độ phụ thuộc vào vị trí thay đổi do flavoprotein gây ra. Ngoài ra, một thành phần phát xạ huỳnh quang thứ hai, bắt đầu ở 425nm, được quan sát thấy khi sử dụng kích thích 960nm. Sự phát xạ huỳnh quang như vậy ở bước sóng nhỏ hơn một nửa bước sóng kích thích cho thấy một quá trình kích thích liên quan đến ba hoặc nhiều photon. Điều này được khẳng định thêm bằng việc quan sát sự phụ thuộc siêu mạnh của cường độ huỳnh quang vào công suất kích thích. Công việc tiếp theo vẫn là cần thiết để xác định bằng quang phổ các loài phát ra này; tuy nhiên, nghiên cứu này cho thấy việc sử dụng kính hiển vi huỳnh quang đa cực cho hình ảnh chức năng của các trạng thái trao đổi chất của tế bào da người in vivo.

Ngoài các phân tích hiển vi, các phân tích dựa trên cơ chế tự phát huỳnh quang vĩ mô cũng đã cung cấp thông tin hữu ích về tình trạng mô của da. Một thuộc tính như vậy mà các phân tích tự phát huỳnh quang của da có thể cung cấp thông tin là mức độ quang hóa mà một làn da cá nhân đã trải qua. Hai trong số các thành phần huỳnh quang phổ biến hơn trong lớp hạ bì của da là các protein cấu trúc, elastin và collagen, cả hai đều bị thay đổi theo tuổi tác và hiện tượng quang hóa. Dựa trên các phân tích huỳnh quang in vivo trên da từ 28 tình nguyện viên, người ta thấy rằng huỳnh quang có thể cung cấp một dấu hiệu cho mức độ ảnh đã xảy ra ở người đó. Trong nghiên cứu này, người ta thấy rằng bằng cách theo dõi sự phát xạ huỳnh quang từ da bị chiếu tia UV, có thể xác định mức độ quang hóa theo cách không phụ thuộc vào tuổi tác, sắc tố và độ dày của da. Một điểm đánh dấu như vậy có thể dẫn đến sự phát triển của một kỹ thuật có khả năng xác định nguy cơ mắc bệnh ung thư cá nhân do phơi nhiễm tia cực tím từ mặt trời.

**Ung thư thanh quản và miệng**: Giống như các bệnh ung thư khác liên quan đến màng nhầy, ung thư biểu mô miệng và thanh quản cũng đã được nghiên cứu bằng phương pháp tự phát huỳnh quang. Quang phổ huỳnh quang đã được sử dụng để phân biệt mô bình thường với mô loạn sản hoặc ung thư với độ nhạy 90% và độ đặc hiệu 88% trong tập huấn luyện và độ nhạy 100% và độ đặc hiệu 98% trong bộ xác nhận (Hình 3.12). Một nghiên cứu về ung thư thanh quản sử dụng laser HeCd hoạt động ở bước sóng 325nm để kích thích mẫu và ICCD để thu thập hình ảnh huỳnh quang. Hình ảnh thu được ở các bước sóng khác nhau với các bộ lọc quang học để phân biệt bước sóng và được phân tích để cung cấp hình ảnh huỳnh quang chẩn đoán của khu vực quan tâm. Ba mươi bệnh nhân được đánh giá với kỹ thuật này, trong đó 18 bệnh nhân nghi ngờ có khối u ác tính được xác nhận thông qua kết quả mô bệnh học.




**Hình 3.12** Phát hiện in vivo trong tân sinh bằng miệng bằng phương pháp quang phổ huỳnh quang.

Trong hình Hình 3.12, kết quả cho thấy khả năng của các thuật toán phân tích dữ liệu tự động để phân loại các mô là bình thường (+), loạn sản (), ung thư (○) hoặc mô bình thường liền kề với ung thư dựa trên tỷ lệ dữ liệu phát huỳnh quang ở nhiều bước sóng sau kích thích của mô miệng ở 350nm. Dữ liệu trong biểu đồ (a) đại diện cho tập huấn luyện cho các phân tích tự động, trong khi (b) đại diện cho tập xác thực. Đường liền nét ở 0,28 biểu thị ngưỡng phân tách mô bình thường và loạn sản và / hoặc ung thư. Dựa trên những kết quả này, có thể đạt được sự khác biệt của mô bình thường với mô loạn sản hoặc ung thư với độ nhạy 90% và độ đặc hiệu 88% trong tập huấn luyện và độ nhạy 100% và độ đặc hiệu 98% trong bộ dữ liệu xác nhận .( From Heintzelman, D.L. et al., Photochem. Photobiol., 72(1), 103, 2000.)

**Nghiên cứu lâm sàng và chẩn đoán sử dụng thuốc nhuộm ngoại sinh**

Fluorophores ngoại sinh được sử dụng vì nhiều lý do trong các ứng dụng lâm sàng. Lý do phổ biến nhất cho việc sử dụng các hợp chất này là để cung cấp một chất tương phản, điều này sẽ giúp chẩn đoán y tế dễ dàng hơn, giống như radionucleotide đôi khi được sử dụng làm chất tương phản trong các nghiên cứu lưu thông. Tuy nhiên, do sự thâm nhập hạn chế của bước sóng quang vào các mô sinh học, các phân tích huỳnh quang loại phổ biến nhất được thực hiện trên cơ thể là chẩn đoán ung thư của các mô có thể tiếp cận được. Chính vì lý do này mà phần lớn chẩn đoán huỳnh quang lâm sàng sử dụng fluorophores ngoại sinh nằm trong lĩnh vực hình dung ung thư. Phổ biến nhất của fluorophores ngoại sinh được sử dụng cho các nghiên cứu này là chất nhạy quang đã được phát triển cho phương pháp điều trị PDT. Những loại thuốc này thường thể hiện tính chất huỳnh quang mạnh và tốt nhất là định vị trong các mô ác tính.

**Ung thư miệng**: Chẩn đoán các tổn thương tân sinh ở niêm mạc miệng của 11 bệnh nhân đã được điều tra bằng PpIX do ALA gây ra như một tác nhân tương phản. Trong công việc này, các phép đo huỳnh quang bán định lượng được thực hiện trong khoảng thời gian đều đặn 3 giờ, sau 15 phút áp dụng tại chỗ liên tục dung dịch ALA 0,4% cho các tổn thương. Việc kích thích PpIX được thực hiện bằng ánh sáng tím từ đèn xenon (375-440nm) và hình ảnh huỳnh quang ở vùng màu đỏ của quang phổ nhìn thấy được ghi lại bằng CCD trong khi phân tích phổ định lượng được thực hiện bằng OMA. Từ những phân tích này, người ta thấy rằng PpIX tích lũy sớm hơn trong mô hoại tử so với mô bình thường xung quanh và tỷ lệ tương phản 10: 1 đã được tìm thấy cho mô khối u so với mô bình thường 1 Nott2 h sau khi sử dụng ALA.

**Ung thư da**: Do thành công lớn trong việc sử dụng phương pháp quang phổ huỳnh quang để chẩn đoán nhiều loại khối u ác tính khác, LIF cũng đã được đề xuất để chẩn đoán không xâm lấn khối u ác tính. Trong một nghiên cứu, LIF được sử dụng để theo dõi thời gian thực phân phối PpIX trong các mô khối u và ở vùng da xung quanh bình thường, trước và sau khi điều trị ở tất cả các bệnh nhân. Dựa trên việc so sánh cường độ huỳnh quang từ mô bình thường và mô khối u của cùng một sắc tố từ cùng một cá nhân, phân phối PpIX đã chứng minh sự phân chia tuyệt vời giữa khối u và da bình thường khoảng 15: 1 đối với BCC và bệnh Bowen và 5: 1 đối với u lympho tế bào T. Tuy nhiên, độ tin cậy của các phép đo như vậy có thể bị sai số nghiêm trọng bởi các biến đổi không gian trong các tính chất quang học của mô không liên quan đến bệnh ác tính (ví dụ: sắc tố). Một cách tiếp cận để phân tích dựa trên huỳnh quang để giảm thiểu vấn đề này sử dụng quy trình phân tích tỷ lệ kép và sử dụng ALA quang hóa. Trong kỹ thuật này, hai loại tỷ lệ huỳnh quang đã được tính toán. Tỷ lệ đầu tiên trong số này là tỷ lệ phát xạ huỳnh quang của da trong khoảng từ 660 đến 750nm so với phát xạ giữa 550 và 600nm sau khi kích thích 405nm. Tỷ lệ thứ hai được tính bằng cách chia phát xạ huỳnh quang giữa 660 và 750nm cho phát xạ giữa 550 và 600nm sau khi kích thích với 435 nm. Hai bước sóng kích thích này được chọn gần với bước sóng phát huỳnh quang của PpIX do ALA gây ra, nhưng một số khoảng cách từ dải kích thích Soret của porphyrin. Phân tích một trong hai tỷ lệ đơn lẻ cho thấy mối tương quan đáng kể với không chỉ sự hiện diện của tổn thương mà cả màu sắc của mô da. Tuy nhiên, khi tỷ lệ kích thích 405nm được chia cho tỷ lệ kích thích 435nm, giá trị có thể được xác định là không phụ thuộc vào màu da và có thể chủ yếu dựa vào sự hiện diện của chất quang nhạy do ALA gây ra. Một kỹ thuật như vậy sẽ cho phép các nghiên cứu in vivo về dược động học của các tác nhân định vị khối u trong các tổn thương sắc tố và có thể đóng góp đáng kể vào sự phát triển của một công cụ chẩn đoán không xâm lấn cho khối u ác tính.

## 3.4 DOT-FNIRS

### 3.4.1 DOT

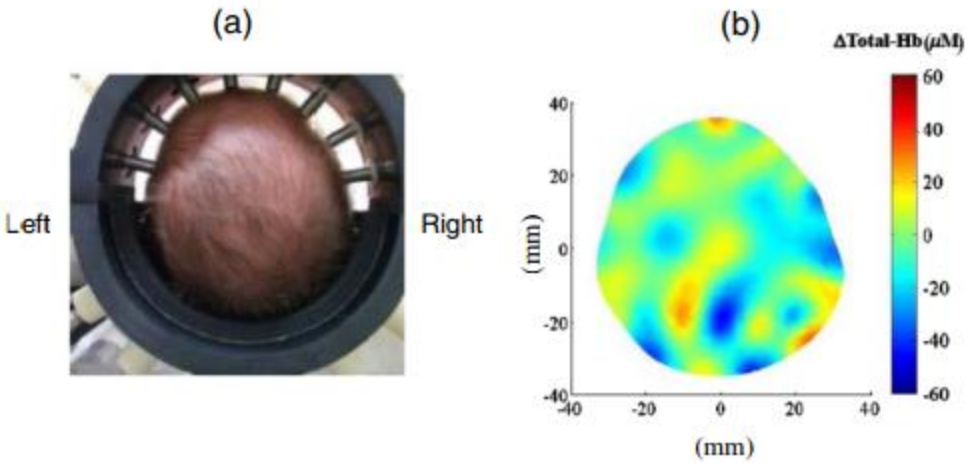
Chụp cắt lớp quang học khuếch tán (DOT) đã trở thành một công nghệ không xâm lấn mới đang phát triển nhanh chóng và đã được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán lâm sàng. Chức năng cận hồng ngoại (FNIR) là một trong những ứng dụng quan trọng của DOT. FNIR được sử dụng để tái tạo hình ảnh hai chiều (2D) nhằm mục đích phân giải không gian và thời gian tốt. DOT là một cách tiếp cận chi phi thấp và nhạy cảm để tái tạo hình ảnh của một môi trường tán xạ cao như mô. DOT đầu tiên được ứng dụng để theo dõi cục bộ sự thay đổi của nồng độ HbO và Hb bởi sự hấp thụ yếu ở bước sóng gần hồng ngoại của Hb và HbO. [30]

Thuật toán DOT bao gồm hai phần: một là mô hình chuyển tiếp để tính toán sự lan truyền ánh sáng và phát thải ra bên ngoài ranh giới của mô, thường dựa trên DE hoặc RTE. Mô hình khác là mô hình nghịch đảo tìm kiếm phân phối tính chất quang học. Tái tạo hình ảnh DOT có thể được chia khoảng thành hai loại: một là cách tiếp cận tuyến tính hóa và một loại khác là phương pháp lặp phi tuyến. Các phương pháp tuyến tính hóa sử dụng xấp xỉ Born hoặc Rytov, và tuyến tính hóa được phát triển từ một giải pháp phân tích (hàm Green) đến DE cho một nền bán vô hạn đồng nhất với giả định đã biết tính chất quang học. Triển khai DOT có thể tiếp cận với các phép đo CW, TD và FD, trong đó các phép đo TD cung cấp nhiều thông tin hơn cần thiết cho việc tái tạo hình ảnh [19]

**Các ứng dụng lâm sàng:**

**Hình ảnh não**

Các nghiên cứu DOT dựa trên các phương pháp tuyến tính hóa thường là được thực hiện bởi các thiết bị CW, với tốc độ lấy mẫu nhanh hơn- có khả năng nghiên cứu về thần kinh. Zeff và cộng sự lần đầu tiên thành công trong thiết lập bản đồ inotopic vỏ não người trưởng thành bằng DOT, và sau đó DOT đã tìm thấy rất nhiều ứng dụng trong khoa học não bộ, chẳng hạn như xử lý somatosensory (thần kinh) và xử lý lời nói. DOT cũng đã được áp dụng để điều tra trẻ sơ sinh (thay đổi huyết động não và huyết động học vỏ não trong cơn động kinh). Hiện tại, fMRI (MRI chức năng) là một trọng tâm của nghiên cứu và NIRS đã được sử dụng trong việc điều tra kết nối chức năng. DOT dựa trên các phương pháp lặp phi tuyến là được phát triển chủ yếu nhằm mục đích tái tạo hình ảnh 3 chiều của mô oxy và lượng máu trong não trẻ sơ sinh khi đi ngủ và các hệ thống TD đa kênh được phát triển. Ngoại trừ với Trẻ sơ sinh cực kỳ nhẹ cân, nơi chu vi vòng đầu rất nhỏ như hình Hình 3.13, ánh sáng phát lại từ đầu người hầu như không được phát hiện ở bề mặt đầu đối diện đến vị trí nguồn. Có thể kết luận rằng dựa trên DOT trên các phương pháp lặp tuyến tính hoặc phi tuyến hiếm khi cung cấp thông tin về cấu trúc dưới vỏ, và đây là một hạn chế cho DOT khi nó được áp dụng cho hình ảnh não.




**Hình 3.13** Hình ảnh DOT về tổng nồng độ Hb của não ở trẻ sơ sinh cực kỳ nhẹ cân trong điều kiện giãn dioxide huyết. [19]

Trong đó, (a) Mười sáu sợi quang đồng trục, bao gồm một sợi đơn để chiếu sáng ở trung tâm và các sợi bó bên ngoài để phát hiện, được đặt trên da đầu của trẻ sơ sinh. (b) Tái tạo hình ảnh được thực hiện bằng cách sử dụng thuật toán dựa trên DE. Hình ảnh trục cho thấy tổng số thay đổi nồng độ Hb gây ra bởi giãn dioxide huyết so với điều kiện bình thường.

**Hình ảnh ung thư vú**

Hiện tại, kỹ thuật sàng lọc phổ biến và hiệu quả nhất là x-quang chụp nhũ ảnh kết hợp với kiểm tra thể chất của nhũ hoa. Mặc dù tính đặc hiệu tổng thể của chụp X-quang trong phát hiện ung thư vú là cao, nó thể hiện một số lượng lưng như phơi nhiễm phóng xạ và xác suất tương đối cao của cả dương tính giả và âm tính giả. Ở đây DOT có đã được coi là một phương pháp thay thế đầy hứa hẹn, và nó có đã được nghiên cứu rộng rãi để chẩn đoán và đánh giá điều trị. Tuy nhiên, mức tối thiểu đáng tin cậy vẫn không đủ cho ứng dụng lâm sàng (7 đến 10 mm), và cần các phương pháp để cải thiện hình ảnh.

**Hình ảnh cơ bắp, tuần hoàn ngoại vi và khớp**

Bệnh động mạch ngoại biên (PAD) là một bệnh hẹp các động mạch gây ra bởi sự tích tụ của các mảng bám trong thành mạch. Điều này làm giảm việc cung cấp máu cho các chi và gây ra tình trạng huyết áp không liên tục, và cuối cùng thiếu máu cục bộ nghiêm trọng. Chỉ số mắt cá chân, tỷ lệ huyết áp tâm thu tối đa ở mắt cá chân đến huyết áp tâm thu ở động mạch cánh tay ở cánh tay trên, được sử dụng để chẩn đoán và đánh giá mức độ nghiêm trọng của PAD. Không giống như phương pháp gián tiếp này, DOT đã được được sử dụng để đánh giá lưu thông ngoại vi dưới chân trực tiếp.

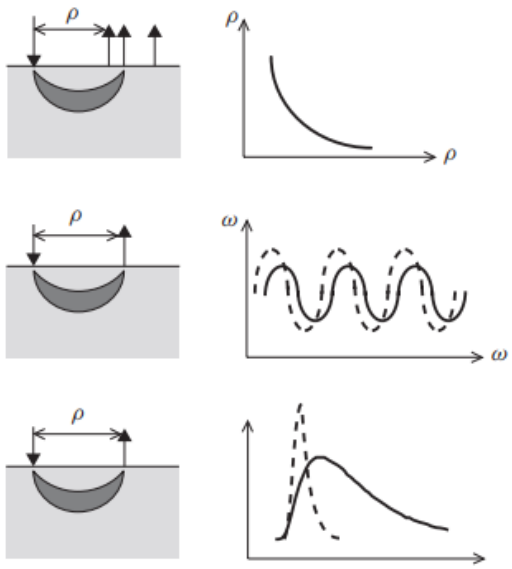
Một ứng dụng DOT độc đáo là hình ảnh của viêm khớp dạng thấp (RA). Có thể chụp MRI và siêu âm trường thấp (0,2T) được sử dụng để thiết lập chẩn đoán RA, trong khi MRI đắt tiền và siêu âm hình ảnh cần đo liên lạc, trong đó có thể gây đau, DOT là một sự thay thế hấp dẫn tiềm năng phương pháp chẩn đoán. Tuy nhiên, phải dựa trên thuật toán RTE.

### 3.4.2 fNIRS

Thuật ngữ quang phổ cận hồng ngoại chức năng (fNIRS hoặc, đơn giản, NIRS) thường được sử dụng cho quang phổ não không xâm lấn và các ứng dụng hình ảnh. Sử dụng fNIRS, hoạt

động của não được đo thông qua các phản ứng huyết động liên quan đến hành vi của tế bào thần kinh.

Theo khảo sát của Alessandro Torricelli và cộng sự [31], bắt đầu từ năm 1977 với công trình tiên phong của Jobsis, quang phổ cận hồng ngoại chức năng không xâm lấn (fNIRS) đã được sử dụng đầu tiên để điều tra oxy hóa não thực nghiệm và lâm sàng ở trẻ sơ sinh và người lớn, và sau đó để đánh giá quá trình chuyển hóa oxy hóa cơ bắp trong sinh lý học. fNIRS sử dụng bức xạ quang trong phạm vi 600 đến 1000nm, trong đó sự suy giảm ánh sáng của các thành phần mô (nước, lipid, oxyhemoglobin và deoxyhemoglobin) tương đối thấp và chiếm tỷ lệ thâm nhập quang qua vài cm mô. Sự khác biệt về phổ hấp thụ của oxyhemoglobin ($O_2Hb$) và deoxyhemoglobin (HHb) cho phép các phép đo riêng biệt về nồng độ của chúng và dẫn xuất các thông số như tổng hàm lượng hemoglobin và độ bão hòa oxy.




**Hình 3.14** Các kỹ thuật hình ảnh quang học khuếch tán [31]

Cách tiếp cận phổ biến nhất của fNIRS là ở chế độ sóng liên tục (CW) do tính đơn giản và hiệu quả chi phí của chúng. Nhiều hệ thống thương mại CW-fNIRS sử dụng các ước tính về độ dài đường photon có nguồn gốc từ mô phỏng Monte-Carlo trên máy vi tính và các mô hình vật lý để cung cấp định lượng tuyệt đối về nồng độ hemoglobin. Độ suy giảm ánh sáng ở hai bước sóng giữa một vài sợi quang đặt bình thường trên bề mặt mô ở khoảng cách tương đối đã biết (thường là 2 đến 4 cm). Giá trị cố định của hệ số tán xạ được giả định và những thay đổi tương đối trong HHb và $O_2Hb$ có được bằng cách áp dụng định luật Lambert-Beer. Nguyên tắc đơn giản cho phép các thiết bị CW được phát triển nhanh chóng cho các ứng dụng khác nhau như chăm sóc trẻ sơ sinh, hệ thống theo dõi bệnh nhân, hệ thống chụp cắt lớp quang học, v.v. Những hạn chế chính của kỹ thuật CW fNIRS là sự kết hợp giữa độ hấp thụ và hệ số tán xạ, gây ra sự thiếu đánh giá định lượng, độ nhạy cảm với hiện vật (các đặc điểm cấu trúc) và các điều kiện thí nghiệm. [31]

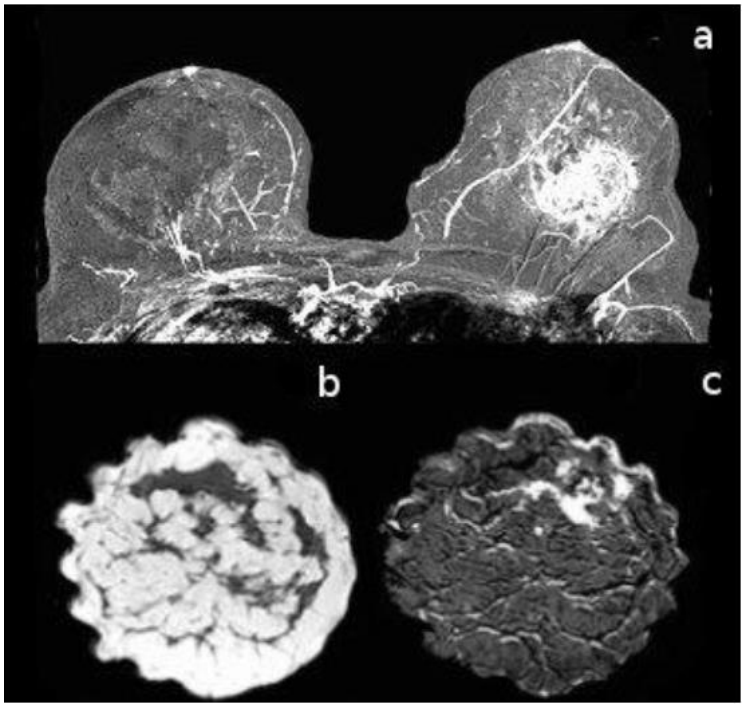
Kỹ thuật miền tần số (FD) là một phương pháp khác để tách sự hấp thụ khỏi sự tán xạ. FD sử dụng các nguồn laser được điều chế để đo các thay đổi trong pha tín hiệu và biên độ tuyệt đối gây ra bởi sự lan truyền ánh sáng. Bởi vì kỹ thuật FD dựa trên phép đo tuyệt đối về cường độ ánh sáng, các hệ thống miền tần số phức tạp hơn về mặt kỹ thuật so với các hệ thống sóng liên tục.

Tuy nhiên, một cách tiếp cận khác là nghiên cứu di chuyển photon trong miền thời gian (TD), đôi khi được gọi là cách tiếp cận kép đối với FD, vì về nguyên tắc TD chứa cả thông tin CW và FD ở mọi tần số. Phương pháp TD dựa trên việc phát hiện sự suy giảm, mở rộng và độ trễ do các xung laser ngắn (vài chục đến hàng trăm picosecond) trong môi trường khuếch tán. Hai thông số chính trong thiết kế hệ thống TD fNIRS là độ phân giải thời gian và độ nhạy. Thang thời gian của các sự kiện TD fNIRS trong phạm vi từ 1 đến 10 ns và tỷ lệ phát hiện được với công suất được tiêm ở khoảng −80 dB. [31] Do nhu cầu phát hiện tốc độ cao và phát tốc độ cao, phương pháp giải quyết thời gian là phương pháp tốn kém nhất và phức tạp về mặt kỹ thuật.

Các hệ thống quang phổ phân giải không gian (SRS) sử dụng độ dốc cục bộ trong độ suy giảm ánh sáng để xác định tỷ lệ tuyệt đối của oxy-Hb và deoxy-Hb. Kỹ thuật này được sử dụng phổ biến nhất trong các hệ thống oxy hóa não như chỉ số oxy hóa mô (TOI) hoặc chỉ số bão hòa mô (TSI).

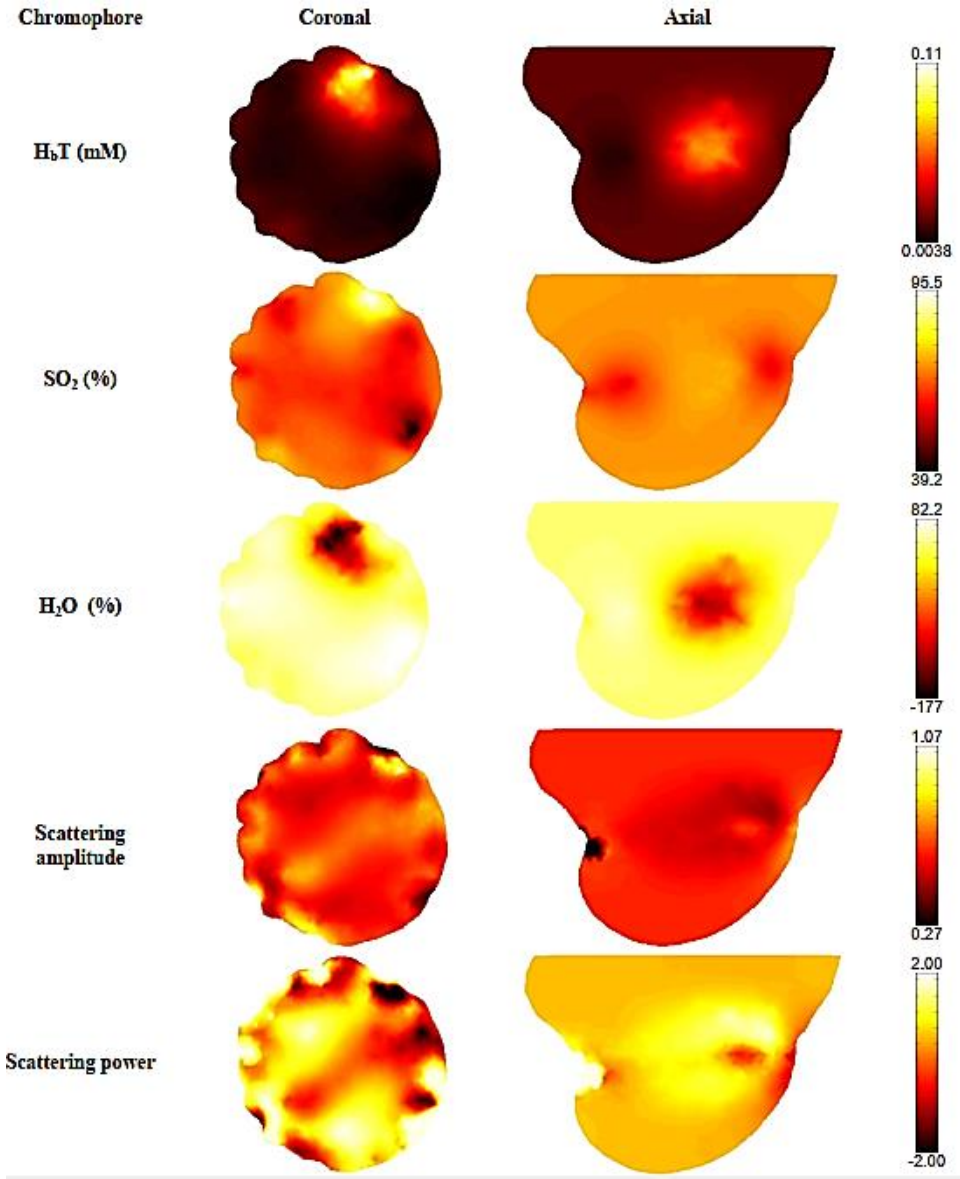
Emberson và cộng sự (2015) đã sử dụng quang phổ cận hồng ngoại chức năng (fNIRS, một phương pháp quang học ghi lại phản ứng huyết động trên bề mặt vỏ não trẻ sơ sinh cung cấp một giải pháp thay thế cho fMRI cho dân số phát triển sớm) để kiểm tra phản ứng trong hệ thống thị giác của trẻ 6 tháng tuổi khi họ dự đoán một kích thích thị giác. Các nhà nghiên cứu khác (Kouider và cộng sự 2015) báo cáo những phát hiện tương tự kỳ vọng điều chỉnh quá trình xử lý tri giác trong đó trẻ sơ sinh học các cặp đôi nghe nhìn và các sự kiện thị giác được trình bày không nhất quán hoặc phù hợp với sự kiện thính giác trước đó. [32]

**Hình ảnh tuyến vú**



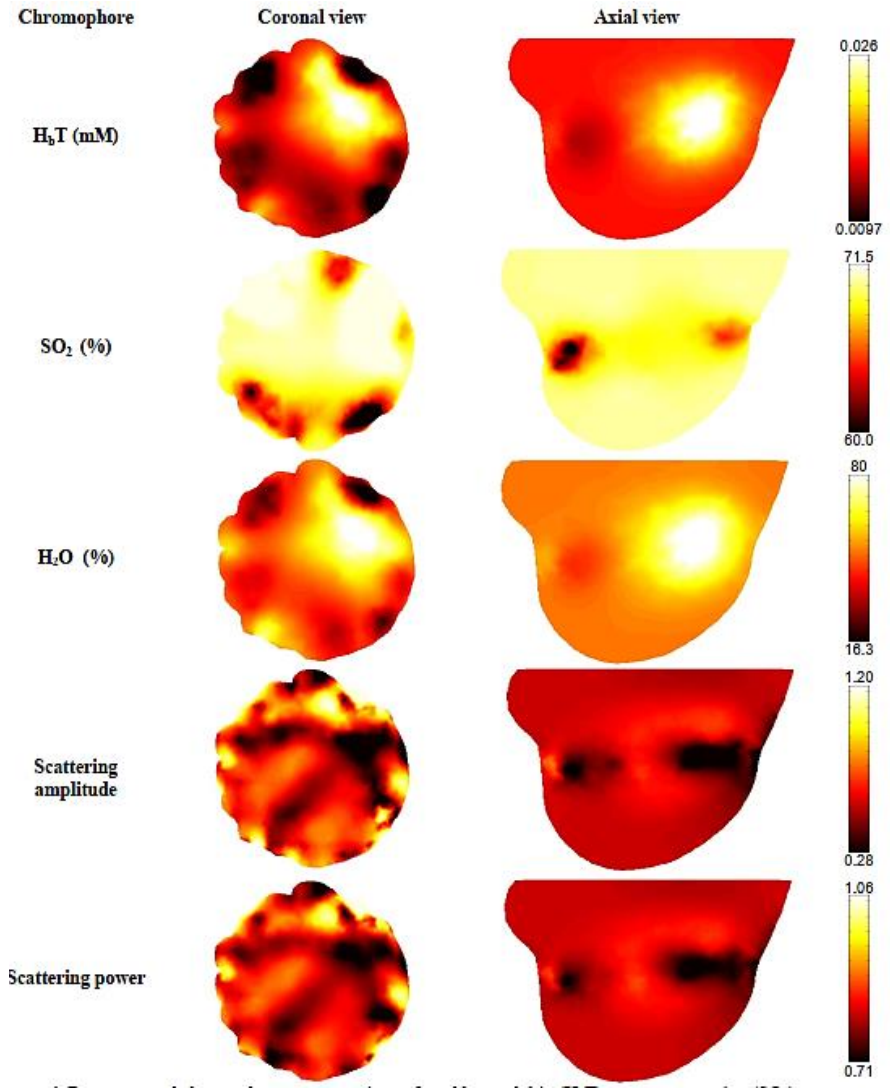

**Hình 3.15** Hình ảnh cộng hưởng từ của (a) hình ảnh trục giải phẫu của cả hai vú với độ phân giải tương phản động để hiển thị vị trí của khối u. (b) Xem xét tăng cường độ tương phản trước trong mặt phẳng của khối u và (c) hình ảnh trừ của tiêm tăng cường tương phản sau trước. [33]

MRI của tương phản trước và sau được chụp và thể hiện trong hình trên. Từ những hình ảnh này, sự bất thường bên trong vú trái có thể thấy rõ. Các phép đo phổ NIR được thực hiện ở 6 bước sóng 649, 761, 785, 808, 829 và 849 nm từ 16 vị trí nguồn / máy dò trên toàn bộ lát cắt của vú tạo ra 480 điểm dữ liệu trên mỗi bước sóng. Sử dụng định luật của Bobby và một phép tính gần đúng với Lý thuyết Mie, các tham số tán xạ và hấp thụ được sử dụng để tính toán nồng độ chromophore và tính chất tán xạ của vùng quan tâm.




**Hình 3.16** Nồng độ chromophore được tái cấu trúc của tổng hemoglobin (HbT), độ bão hòa oxy (SO2) và hàm lượng nước ($H_2O$) sử dụng 6 tái tạo bước sóng đơn kết hợp hiển thị phía trước và trục dọc [33]

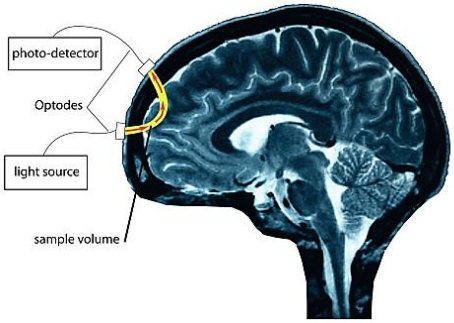
Những kết quả này cho thấy rõ vùng quan tâm tương ứng với hình ảnh MRI ở Hình 3.15




**Hình 3.17** Tái tổ hợp nồng độ chromophore của tổng hemoglobin (HbT), bão hòa oxy ($SO_2$), hàm lượng nước ($H_2O$), biên độ tán xạ và năng lượng tán xạ bằng cách sử dụng tái tạo quang phổ hiển thị phía trước và trục dọc [33]

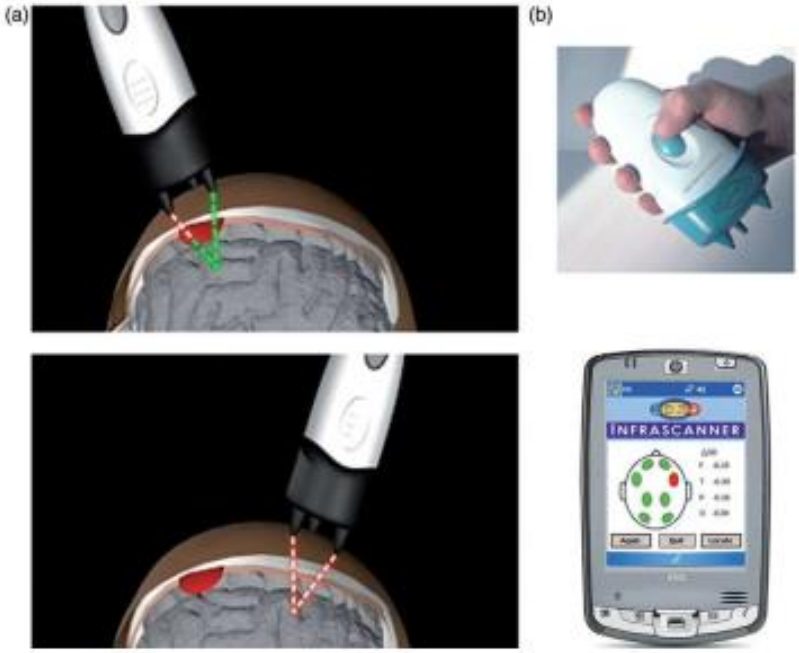
**Hình ảnh não – thần kinh**

fNIRS là một thiết bị được thiết kế để phát hiện những thay đổi về nồng độ oxy (oxyHb) và các phân tử hemoglobin deoxygenated (deoxyHb) trong máu, một phương pháp phổ biến được sử dụng để đánh giá hoạt động của não. Giải pháp fNIRS của đáp ứng huyết động đã được sử dụng trong nhiều nghiên cứu để đánh giá não hoạt động trong trạng thái nghỉ ngơi và các nhiệm vụ về kỹ năng vận động, tầm nhìn, thính giác, kỹ năng nói, học tập, cảm xúc, và chức năng điều khiển. [34]




**Hình 3.18** Ánh sáng từ nguồn sáng được dẫn đến đầu bằng một ống quang. Một máy dò ảnh sẽ thu thập ánh sáng rời khỏi đầu ở khoảng cách vài cm. Các photon đi theo một con đường hình quả chuối từ nguồn sáng đến máy dò.

Một trong những phát triển đáng kể là công cụ Infrascanner ©, một công cụ sử dụng công nghệ NIRS chẩn đoán u máu não từ sớm (Leon-Carrion và cộng sự., 2010). Công nghệ NIRS có thể cải thiện các phương pháp nhận dạng hiện có tụ máu nội sọ ở những bệnh nhân chấn thương sọ não (TBI) tại chỗ. Kiểm tra Infrascanner kéo dài 3 phút và dễ sử dụng trong các ứng dụng đánh giá cũng như tổ chức dữ liệu và truyền tải. Khoảng cách 4.0cm giữa nguồn sáng và máy dò cho phép đo độ hấp thụ của NIRS (rộng ~ 2cm và sâu 2-3 cm) về thể tích mô. Nguồn sáng sử dụng bước sóng 808nm. Dữ liệu được xử lý thêm và kết quả được hiển thị trên màn hình PDA (Hình 3.19).



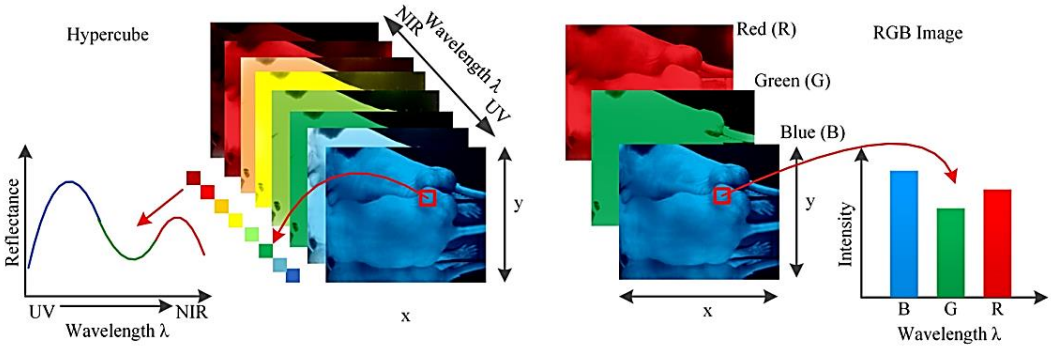

**Hình 3.19** Trình tự quét tìm khối máu tụ não. [34]

Kết quả nghiên cứu thí điểm này cho thấy Infrascanner cầm tay gần hồng ngoại chứng tỏ độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong việc phát hiện xuất huyết trong và ngoài trục u máu và, thậm chí quan trọng hơn, nó có thể phát hiện các khối máu nhỏ (<25 mL) trong vòng 24 giờ đầu sau chấn thương. Dữ liệu cho thấy Infrascanner đạt 89,5% độ nhạy khi sử dụng trên bệnh nhân mắc TBI.

## 3.5 Phương pháp đa bước sóng [35]

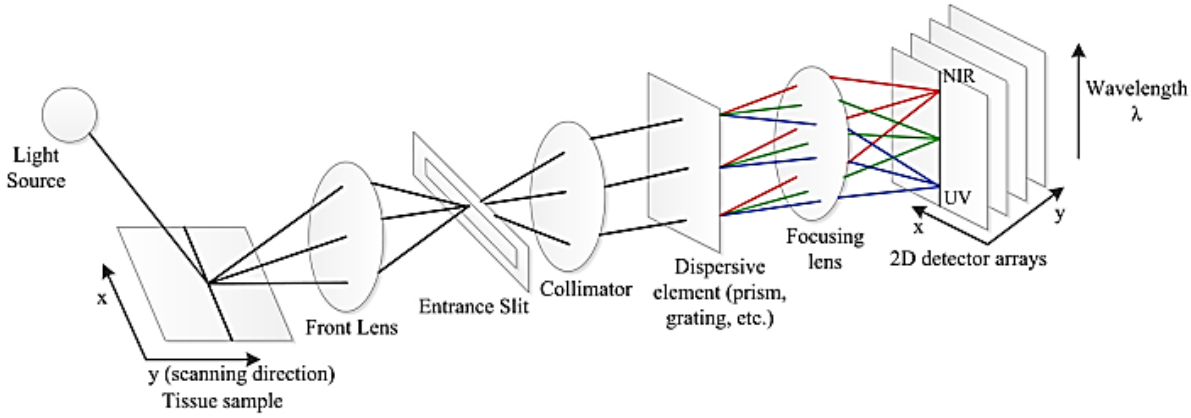
Các công nghệ hình ảnh siêu phổ/đa phổ (HSI / MSI) có thể lấy mẫu từ hàng chục đến hàng trăm kênh quang phổ trong phổ điện từ. Các kỹ thuật quang phổ này dựa trên nguyên tắc mỗi vật liệu có phản ứng khác nhau (phản xạ và hấp thụ) với các bước sóng khác nhau. Qua đó, công nghệ này tạo điều kiện cho sự phân biệt giữa các vật liệu khác nhau. Hình ảnh siêu phổ (HSI) là một phương thức hình ảnh mới nổi cho các ứng dụng y tế, đặc biệt là trong chẩn đoán bệnh và phẫu thuật hướng dẫn bằng hình ảnh. Hình ảnh quang phổ phân giải không gian thu được bởi HSI cung cấp thông tin chẩn đoán về sinh lý mô, hình thái và thành phần. Người ta cho rằng đặc tính hấp thụ, huỳnh quang và tán xạ của mô thay đổi trong quá trình tiến triển của bệnh. Do đó, ánh sáng phản xạ, huỳnh quang và truyền qua mô được thu nhận bởi HSI mang thông tin chẩn đoán định lượng về mô bệnh lý.

**Phần cứng và Hệ thống**




**Hình 3.20** So sánh giữa hình ảnh hypercube và RGB [35]

HSI là một phương thức lai kết hợp hình ảnh và quang phổ. Bằng cách thu thập thông tin phổ ở mỗi pixel của một mảng dò hai chiều (2-D), HSI tạo ra một tập dữ liệu thứ nguyên ba chiều (3-D) về thông tin không gian và phổ, được gọi là hypercube (thể hiện trong Hình 3.20). HSI thường bao gồm một phần liền kề của phổ ánh sáng với nhiều dải quang phổ hơn (lên đến vài trăm) và độ phân giải quang phổ cao hơn hình ảnh đa phổ (MSI). Do đó, HSI có khả năng nắm bắt sự khác biệt quang phổ dưới bệnh lý điều kiện khác nhau, trong khi hình ảnh đa phổ có thể bỏ lỡ đáng kể thông tin phổ cho chẩn đoán.




**Hình 3.21** Sơ đồ của một hệ thống hình ảnh siêu âm quét đường (pushbroom) [35]

**Hệ thống HSI y tế**

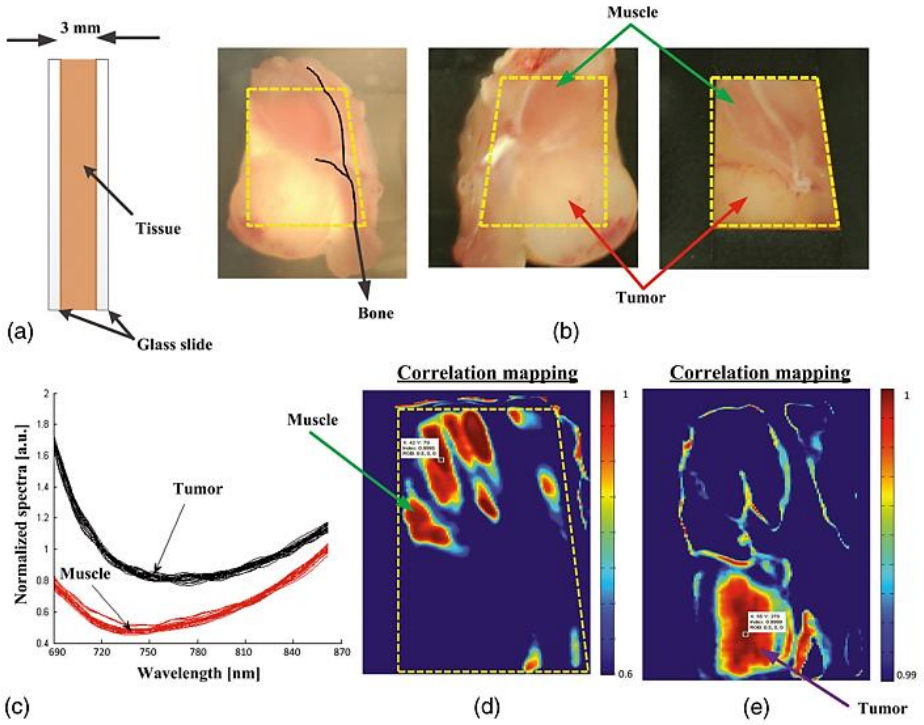
Hệ thống HSI thông thường bao gồm hai phương pháp quét: quét không gian và quét quang phổ. Phương pháp quét không gian tạo ra hình ảnh siêu phổ có được một phổ hoàn chỉnh cho mỗi pixel trong trường hợp dụng cụ whiskbroom (quét điểm) hoặc dòng pixel trong dụng cụ pushbroom (quét đường), và sau đó là quét qua không gian. Phương pháp quét phổ, cũng được gọi là hình ảnh tập trung (staring) hoặc quét khu vực, liên quan đến việc chụp toàn bộ cảnh với các mảng dò 2 chiều trong một lần phơi sáng và sau đó bước qua các bước sóng để hoàn thành dữ liệu khối lập phương. Hình ảnh hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) là một loại khác của Hệ thống HSI kết hợp máy quang phổ biến đổi Fourier và một mảng mặt phẳng tiêu cự (FPA).

**Ứng dụng**

**Bảng 3.1** Tóm tắt ứng dụng của HSI trong y tế, từ Lu and Fei [35], lấy 3 cột.

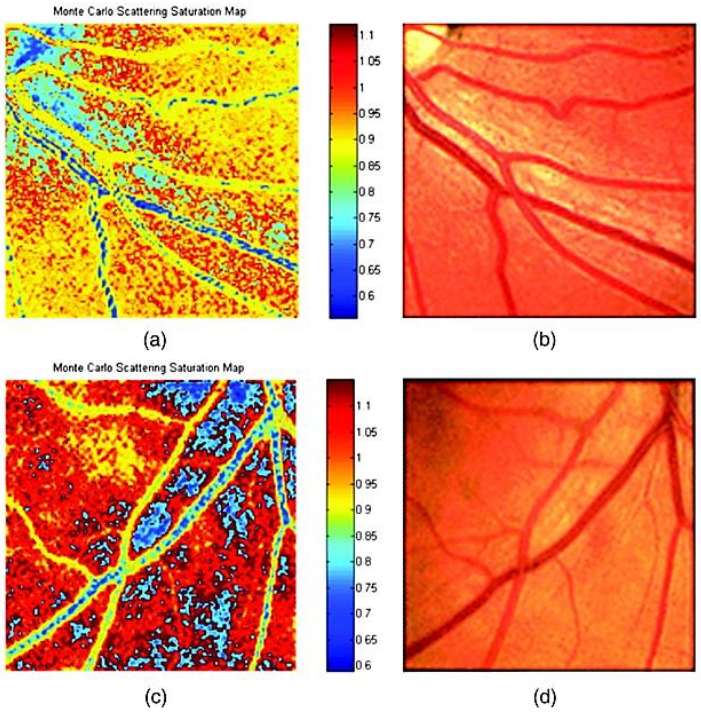
| Khoảng phổ | Chế độ đo | Ứng dụng |
|---|---|---|
| 400-1000 | Phản xạ | Vết thương bỏng |
| 200-700 | Huỳnh quang và phản xạ | Viêm lộ tuyến cổ tử cung |
| 330-480 | Huỳnh quang và phản xạ | Ung thư cổ tử cung |
| 530-680 | Truyền qua | Vết thương trên da |
| 5000-10 526 | Phản xạ | Bệnh lý cổ tử cung |
| 500-600 | Phản xạ | Loét chân đái tháo đường |
| 400-720 | Huỳnh quang | Thiếu oxy-huyết khối u và vi mạch |
| 440-640 | Huỳnh quang và phản xạ | Ung thư da |
| 500-600 | Phản xạ | Sốc xuất huyết |
| 365-800 | Truyền qua | Khối u ác tính |
| 400-1000<br>900-1700<br>950-2500 | Phản xạ | Vết bầm da |
| 450-700 | Phản xạ | Nhãn khoa |
| 450-700 | Phản xạ | Ung thư vú |
| 650-1100 | Phản xạ | Phẫu thuật nội soi |
| 400-100<br>900-1700 | Phản xạ | Thiếu máu cục bộ |
| 1000-2500 | Phản xạ | Ung thư dạ dày |
| 450-650 | Phản xạ | Nội soi |
| 410-1000 | Phản xạ và huỳnh quang | Xơ vữa động mạch |
| 400-720 | Phản xạ | Loát chân đái tháo đường |
| 450-950 | Phản xạ | Ung thư tuyến tiền liệt |
| 390-680 | Phản xạ | Rối loạn thanh quản |
| 650-750 | Huỳnh quang và phản xạ | Cắt túi mật |
| 400-640 | Huỳnh quang và phản xạ | Ung thư buồng trứng |
| 1000-2400 | Phản xạ | Dược phẩm |
| 900-1700 | Phản xạ | Sâu răng |
| 550-950 | Truyền qua | Bệnh lý bạch cầu |
| 550-1000 | Truyền qua | Nhận dạng sợi thần kinh |
| 2500-11 111 | - | Ung thư vú |

HSI có thể cung cấp hình ảnh gần như thời gian thực của thông tin biomarker, chẳng hạn như oxyhemoglobin và deoxyhemoglobin, và cung cấp đánh giá về sinh lý bệnh mô dựa trên các đặc điểm quang phổ của các mô khác nhau. Do đó,HSI ngày càng được sử dụng để chẩn đoán y tế và phẫu thuật hướng dẫn bằng hình ảnh. Ví dụ, HSI đã được áp dụng cho chẩn đoán sốc xuất huyết, đánh giá về bệnh động mạch ngoại biên, phát hiện sớm sâu răng, chẩn đoán nhanh của các loại sỏi thận, phát hiện rối loạn thanh quản, và vâng vâng. Các ứng dụng của HSI đối với bệnh ung thư, bệnh tim, bệnh võng mạc, bàn chân đái tháo đường, sốc, bệnh lý mô và hướng dẫn bằng hình ảnh phẫu thuật.




**Hình 3.22** Ví dụ về sơ đồ mặt cắt ngang

(a) Sơ đồ mặt cắt ngang của mẫu mô để thử nghiệm hình ảnh quang phổ miền góc. (b) Ảnh màu của mô khối u chuột kẹp giữa hai phiến kính. Đường màu đen (bảng bên trái) cho biết vị trí xương được nhúng trong mô. (c) Quang phổ chuẩn hóa từ các vùng của khối u và mô cơ như được chỉ ra trong (b). (d) Bản đồ tương quan của khối dữ liệu dựa trên tín hiệu quang phổ tham chiếu liên quan đến các mô cơ. (e) Bản đồ tương quan của khối dữ liệu dựa trên tín hiệu quang phổ tham chiếu liên quan đến mô khối u.




**Hình 3.23** Bản đồ bão hoà không gian

Trong đó (a) Bản đồ bão hòa oxy của nam giới khỏe mạnh 29 tuổi, (b) Hình ảnh màu bậc-không, (c) Bản đồ bão hòa oxy của nam giới khỏe mạnh 58 tuổi, (d) Hình ảnh màu bậc-không

**Kết hợp với các kỹ thuật khác**

Một hệ thống HSI đã được kết hợp với nhiều kỹ thuật khác, chẳng hạn như nội soi, máy soi cổ tử cung, camera đáy, và tán xạ Raman, để tận dụng những lợi ích chính của mỗi dụng cụ riêng lẻ và cung cấp thêm thông tin hữu ích chẩn đoán và điều trị bệnh. Kết hợp phổ biến nhất là với kính hiển vi hoặc kính hiển vi đồng tiêu, đã được chứng minh là hữu ích trong việc điều tra tính chất quang phổ của mô.

# 4. MÔ PHỎNG

Nói chung, phương pháp để giải quyết vấn đề truyền ánh sáng có thể được đánh giá bằng hình ảnh thực nghiệm. Nhưng do những hạn chế về tính sẵn có và chi phí của thí nghiệm hình ảnh thực tế, các nhà nghiên cứu sử dụng phương pháp mô phỏng trên máy tính, không những tiết kiệm chi phí hơn mà còn linh hoạt hơn và hiệu quả cao hơn. Giao diện thân thiện với người dùng và các công cụ trực quan mạnh mẽ hỗ trợ phân tích dữ liệu và đánh giá, các chương tình mô phỏng là một biện pháp chia sẻ tài nguyên và nghiên cứu, cung cấp phần mềm miễn phí cho nghiên cứu và các tổ chức giáo dục.

**Bảng 4.1** Các phần mềm môi trường ảnh phân tử [36]

| Tên phần mềm | Mô tả chức năng |
|---|---|
| MOSE | (1) Đối tượng thử nghiệm trong mô phỏng (như mô hoặc nguồn sáng) có thể được đặt theo hai chiều (2D) hoặc ba chiều (3D) tùy ý hình dạng, bao gồm cấu trúc tam giác được tạo từ dữ liệu CT hoặc MRI. Thuận tiện cho người dùng để thiết lập cấu trúc mô phù hợp với thực tế thí nghiệm.<br>(2) Có thể mô phỏng hình ảnh quang học với đa nguồn và đa phổ. Nó gần giống với thử nghiệm thực tế và hỗ trợ người dùng trong cài đặt của mô hình nguồn và có thể cung cấp trợ giúp hiệu quả cho người dùng trong việc giải quyết vấn đề nghịch đảo trong hình ảnh phân tử quang học.<br>(3) Có thể đạt được phát hiện đa góc của hình ảnh quang học không tiếp xúc. So với thí nghiệm thực tế về chế độ CCD quay và đa CCD, nó không chỉ có thể loại bỏ tác động của sự thay đổi năng lượng ánh sáng, mà còn cũng không thêm chi phí.<br>(4) Rất có lợi cho người dùng trong việc quan sát và phân tích kết quả sau mô phỏng vì màn hình đồ họa tương tác của nó.<br>(5) Có thể chạy ở chế độ song song, có thể làm giảm thời gian mô phỏng. |
| MCNP | (1) Nó tính đến sự tán xạ kết hợp và tán xạ không kết hợp tính chất của photon, cũng như sự phát xạ huỳnh quang sau photon hấp thụ.<br>(2) Có thể giải quyết các vấn đề vận chuyển ba chiều của hệ thống hình học phức tạp, và có chức năng đầu ra đồ họa tốt hơn.<br>(3) Có thể chạy trong môi trường song song và tăng tốc độ mô phỏng |
| MCML | (1) Có thể mô phỏng sự vận chuyển photon trong mô nhiều lớp.<br>(2) Kết hợp phương pháp MC và lý thuyết khuếch tán, và phát triển mô hình hỗn hợp. Nó không chỉ đảm bảo tính chính xác của thuật toán MC, mà còn cải thiện tốc độ mô phỏng khi nó xử lý mô hình mô hình học phức tạp. |
| ValoMC | (1) ) Đối tượng thử nghiệm trong mô phỏng (như mô hoặc nguồn sáng) có thể được đặt theo hai chiều (2D) hoặc ba chiều (3D) tùy ý hình dạng<br>(2) Các chức năng tạo thuận lợi cho việc sử dụng phần mềm với mô phỏng quang học y sinh như Toast ++ và k-Wave và phần mềm chia lưới như NetGen được cung cấp<br>(3) Tốc độ mô phỏng khá nhanh, phần mềm miễn phí. |
| TriMC3D | (1) Hỗ trợ lưới tam giác được tái tạo bởi micro-CT như một môi trường vật lý.<br>(2) Có thể chạy trong môi trường song song MPI và tăng mô phỏng tốc độ. |

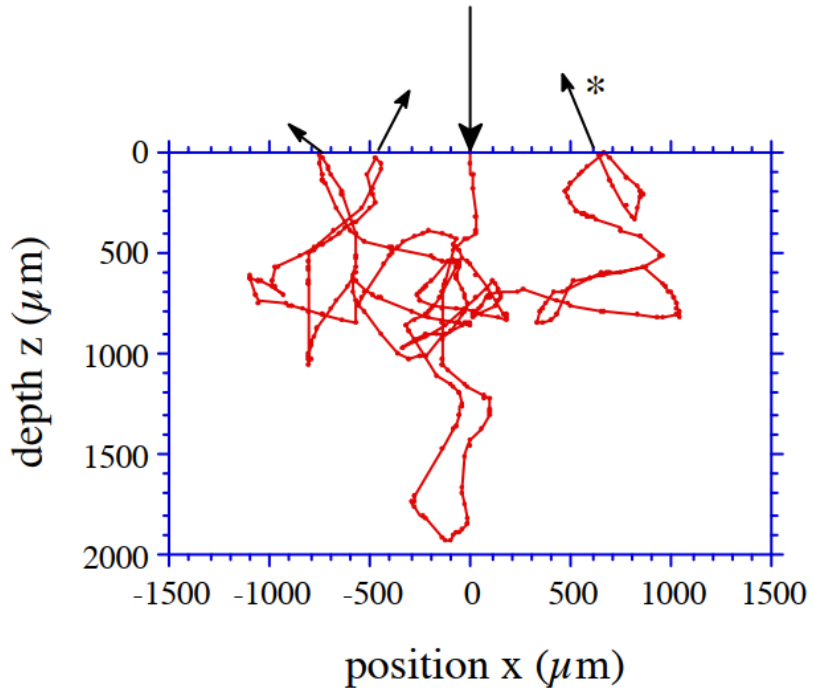
| | |
|---|---|
| | (3) Sử dụng phương pháp octree để mô tả mô và cải thiện tốc độ phán đoán của giao điểm giữa các photon và mô để để tăng tốc độ mô phỏng |
| Polymer Monte Carlo | (1) Sử dụng để mô phỏng sự truyền ánh sáng phân cực trong môi trường đục.<br>(2) Dựa trên môi trường mô phỏng song song, vì vậy nó có thể tăng tốc độ mô phỏng |
| TracePro | (1) Thường được sử dụng để mô phỏng đường truyền ánh sáng trong hệ thống dò tìm ánh sáng, phân tích quang học, phân tích bức xạ và trắc quang phân tích.<br>(2) Có khả năng xử lý hình học phức tạp, định nghĩa và theo dõi hàng triệu tia và cung cấp cơ sở dữ liệu 3D cho các mô hình rắn. Định dạng dữ liệu của phần mềm thiết kế ống kính và CAD hiện hành có thể xuất và nhập. |
| tMCimg | (1) Cấu trúc của mô trong tMCimg dựa trên voxels.<br>(2) tMCimg có thể thu được năng lượng photon trong khoảng thời gian một lần bằng cách sử dụng phương pháp cổng thời gian và thu được đường đồng mức truyền ánh sáng trong các mô.<br>(3) Có thể mô phỏng các tính chất quang học khác nhau của các mô theo hình dạng 3D tùy ý, và nó có thể chấp nhận các định dạng dữ liệu MRI, CT hoặc siêu âm. |
| EGS | (1) EGS có thể mô phỏng bài toán truyền electron (dương hoặc âm) hoặc photon trong bất kỳ chất, hợp chất hoặc hỗn hợp đơn giản nào.<br>(2) Có thể chạy trong hệ thống Windows, nhưng cũng có trong Linux / Unix hoặc Mac OS Hệ X. |

## 4.1 Phương pháp Monte Carlo

### Mô tả vận chuyển photon trong mô hình da

Mô phỏng Monte Carlo là một phương pháp cơ bản và linh hoạt trong việc mô hình hóa vận chuyển ánh sáng trong mô, là một kỹ thuật mô phỏng các quá trình vật lý sử dụng mô hình ngẫu nhiên. Trong bài toán vận chuyển bức xạ, phương pháp Monte Carlo ghi lại lịch sử photon khi chúng bị phân tán và hấp thụ. Hình 4.1 minh họa mô phỏng Monte Carlo.

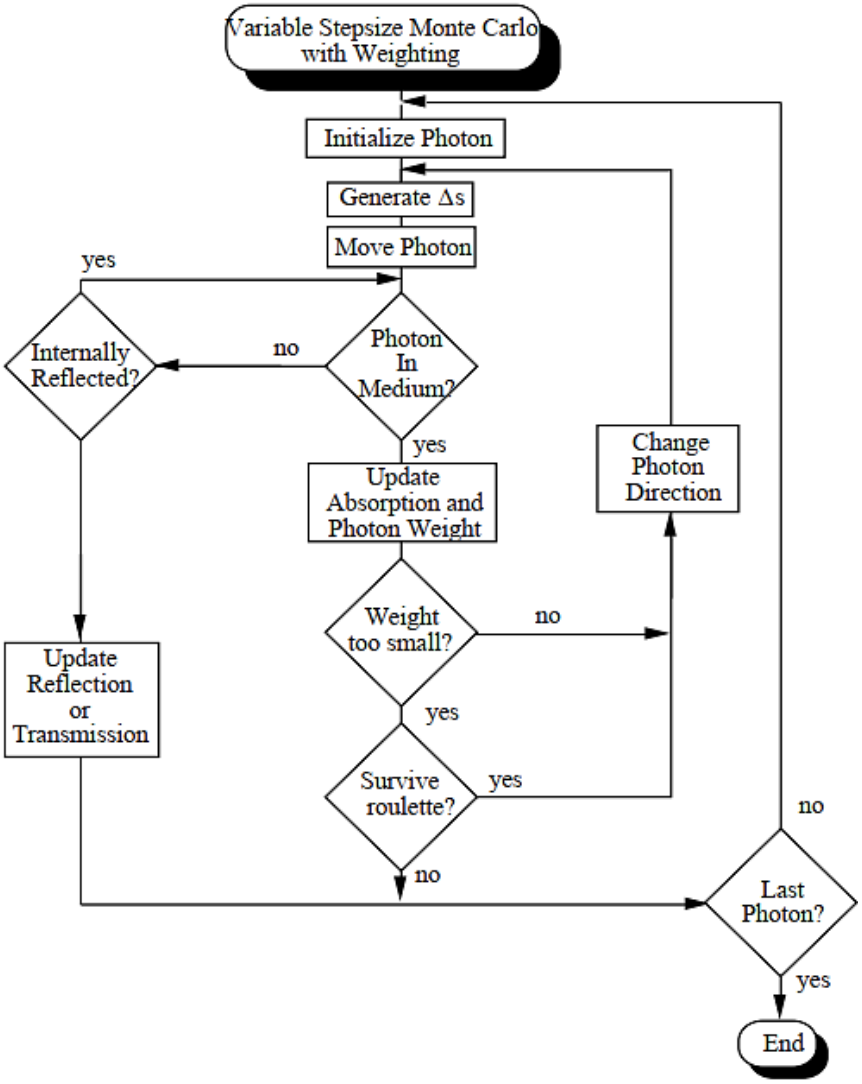
Trong mô phỏng Monte Carlo nói chung, “photon” được đưa vào mô tại vị trí được xác định bởi toạ độ x, y, z phối hợp với quỹ đạo được xác định bởi cosin có hướng. Khoảng cách ngẫu nhiên di chuyển trước khi photon tương tác với mô được dựa trên việc chọn một số ngẫu nhiên [0,1] và hệ số suy giảm cục bộ của môi trường. Vào cuối mỗi bước photon, số photon bị giảm bởi sự hấp thụ. Số lượng không hấp thụ còn lại được chuyển hướng theo hàm tán xạ (hoặc còn gọi là hàm “pha”) mô tả sự phụ thuộc góc của tán xạ đơn bởi mô cụ thể. Khi một quỹ đạo mới được xác định, photon lại di chuyển một khoảng cách ngẫu nhiên.




**Hình 4.1** Chuyển động của một photon đơn lẻ trong một mô tán xạ ánh sáng.

Khi photon phản xạ hoàn toàn bên trong bề mặt không khí/mô, một phần nhỏ của số lượng photon được phép thoát ra dưới dạng phản xạ và trọng số photon còn lại tiếp tục lan truyền trong mô. Trong ví dụ này minh họa, lần thứ ba photon gặp bề mặt, photon được phép thoát ra hoàn toàn. [7]

Phương pháp Monte Carlo là một phương pháp được sử dụng rộng rãi đối với các hàm mật độ xác suất lấy mẫu để mô phỏng một loạt các vấn đề. Việc sử dụng đầu tiên của phương pháp Monte Carlo cho vận chuyển photon trong vật liệu sinh học là Adams và Wilson (1983), được coi là tán xạ đẳng hướng [26]. Wang và Jacques (1993) đã điều chỉnh và tăng cường công việc của Keizer và Prahl để viết chương trình đa lớp Monte Carlo (MCML) xem xét các mô có nhiều lớp phẳng với các đặc tính quang học khác nhau [37]. MCML là một chương trình được tổ chức tốt với một tệp đầu vào văn bản đơn giản mà người dùng có thể sửa đổi để xác định các vấn đề khác nhau, cho phép các vấn đề khác nhau được chạy mà không cần phải biên dịch lại chương trình mỗi lần.




**Hình 4.2** Sơ đồ của chương trình Monte Carlo

Khi chạy, photon di chuyển một bước Δs khi đó nó có thể bị tán xạ, hấp thụ, truyền đi, phản xạ bên trong hoặc truyền ra ngoài mô. Cụ thể, nếu photon bị hấp thụ thì vị trí của sự hấp thụ sẽ được ghi nhận. Khi đến biên giới 2 lớp, thì kiểm tra xem có sự phản xạ bên trong hay thoát ra khỏi. Nếu photon được phản xạ bên trong thì vị trí photon được điều chỉnh cho phù hợp và chương trình tiếp tục, nếu không photon sẽ thoát ra và số liệu được ghi lại. Đối với các photon tiếp tục, một phần nhỏ của gói photon (1 - a)w sẽ được hấp thụ từng bước. Phần này được ghi lại và trọng số photon được điều chỉnh. Nếu trọng số trên mức tối thiểu, thì phần còn lại của gói photon được tán xạ theo một hướng mới và quá trình được lặp lại. Khi trọng số photon dưới mức tối thiểu, thì roulette được thực hiện để xem liệu photon có kết thúc hoặc tiếp tục truyền đi. Nếu photon không tồn tại trong roulette thì một gói photon mới được bắt đầu. Tiến trình này sẽ lặp lại cho đến khi đủ số lượng photon mong muốn được truyền đi. [38]

### 4.1.1 Tệp đầu vào

Các thông số chi phối một mô phỏng Monte Carlo phải được chuyển đến chương trình trước khi nó có thể chạy, được gọi là “tệp đầu vào” (input file).

Các thông số mô  của một mô đồng nhất được chỉ định là:

- ✓ $u_a$ [$cm^{-1}$] hệ số hấp thụ của mô
- ✓ $u_s$ [$cm^{-1}$] hệ số tán xạ của mô
- ✓ g [-] tán xạ dị hướng mô
- ✓ n [-] chiết suất của mô

Để xác định ranh giới, ví dụ như mặt trước và mặt sau của một tấm mô, các thông số sau phải được chỉ định:

- ✓ d [cm] độ dày của tấm mô
- ✓ $n_f$ [-] chiết suất của môi trường bên ngoài bên ngoài phía trước mô
- ✓ $n_r$ [-] chiết suất của môi trường bên ngoài bên ngoài phía sau mô
- ✓ Các thông số được xác định cho đầu ra là:
- ✓ $N_z$ [-] số lượng lưới z (chiều sâu)
- ✓ $N_r$ [-] số lượng lưới r (vị trí xuyên tâm)
- ✓ $d_z$ [cm] cỡ lưới z
- ✓ $d_r$ [cm] cỡ lưới r
- ✓ $d_z = d/N_z$

Cuối cùng, số lượng photon $N_{photon}$ [-] sẽ được khởi chạy phải được xác định. Thông thường khoảng $10^4$–$10^8$ photon được khởi chạy, tùy thuộc vào thời gian tính toán thích hợp hoặc có sẵn. Mỗi photon sẽ có kích thước bước trung bình là $1/(\mu_s+\mu_a)$ và ở mỗi bước trọng số photon sẽ giảm qua phép nhân bằng phần $\mu_s/(\mu_s + \mu_a)$ gọi là albedo. Trọng số ban đầu là 1 khi khởi động photon và nhỏ dần cho đến khi đạt đến giá trị ngưỡng, THRESHOLD, thường là $10^{-4}$.

### 4.1.2 Khởi tạo Photon

Phương pháp Monte Carlo bắt đầu bằng cách phóng một photon vào mô. Một kỹ thuật đơn giản để cải thiện hiệu suất của một chương trình Monte Carlo là truyền nhiều photon (một gói) dọc theo mỗi con đường. Thông thường chỉ có một photon theo từng con đường, và ở mỗi bước photon có thể bị hấp thụ hoặc phân tán.

### 4.1.3 Tạo khoảng cách truyền

Mô phỏng Monte Carlo về sự lan truyền ánh sáng trong mô yêu cầu lựa chọn ngẫu nhiên kích thước bước nhảy photon s [cm], góc tán xạ và phản xạ hoặc truyền qua tại các ranh giới. Điều này được thực hiện bằng một số ngẫu nhiên trong đoạn [0,1] được gán cho giá trị của một biến ngẫu nhiên ξ, chẳng hạn như kích thước bước photon. Các bước cố định phải là nhỏ so với $1/u_t$. Giá trị $1/\mu_t$ là chiều dài đường đi tự do trung bình của photon trước khi hấp thụ hoặc tán xạ, $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ [$cm^{-1}$], trong đó $\mu_a$ là hệ số hấp thụ và $\mu_s$ là hệ số tán xạ.

$$s = -\ln(\xi)/\mu_t \qquad (4.1)$$

### 4.1.4 Di chuyển photon

Mô tả vị trí không gian của photon với ba toạ độ Descartes và hướng đi với ba hướng cosine. Các công thức cần thiết để truyền là đơn giản, và các biến góc mô tả hướng photon không thay đổi trừ phi photon thay đổi hướng. Các cosin hướng được xác định bằng cách lấy cosin của góc mà hướng photon tạo ra với mỗi trục. Các giá trị này được xác định bởi $\mu_x$, $\mu_y$, and $\mu_z$ tương ứng với từng trục x, y và z tương ứng. Đối với một photon nằm tại (x, y, z) di chuyển một khoảng cách Δs theo hướng ($\mu_x$, $\mu_y$, $\mu_z$), tọa độ mới(x’, y’, z’) được đưa ra bởi

$$X' = x + \mu_x \Delta s$$
$$Y' = y + \mu_y \Delta s \qquad (4.2)$$
$$Z' = z + \mu_z \Delta s$$

### 4.1.5 Phản xạ bên trong

Khi photon di chuyển đến biên của mô/lớp, nơi có sự khác biệt về chỉ số khúc xạ, thì nó có thể bị phản xạ ngược trở về mô, hoặc thoát ra khỏi (và di chuyển ra không khí hoặc một mô/lớp liền kề). Phương pháp được chọn ở đây để xử lý ranh giới là để cho một phần nhỏ trọng số photon thoát khỏi mô dưới dạng phản xạ, và để phần còn lại của trọng số photon phản xạ lại vào mô và tiếp tục lan truyền.

Sau khi thực hiện bước này, vị trí của photon được kiểm tra để xem photon vẫn còn trong mô hay đã thoát khỏi mô. Nếu photon đang cố gắng thoát ra, thì photon sẽ di chuyển đến biên, sau đó một quyết định được đưa ra về lượng photon thoát ra hay phản xạ. Xác suất phản xạ tại ranh giới là hàm của góc tỷ lệ. Hệ số phản xạ bên trong, $R_i$, được tính toán bằng phương trình phản xạ Fresnel:

$$R(\theta_i) = \frac{1}{2}\left[\frac{\sin^2(\theta_i-\theta_t)}{\sin^2(\theta_i+\theta_t)} + \frac{\tan^2(\theta_i-\theta_t)}{\tan^2(\theta_i+\theta_t)}\right] \qquad (4.3)$$

Trong đó $\theta_i = \cos^{-1}\mu_z$ là góc của tỷ lệ trên ranh giới và góc truyền của được cho bởi định luật Snell.

$$n_i \sin\theta_i = n_t \sin\theta_t \qquad (4.5)$$

Trong đó $n_i$ và $n_t$ tương ứng là các chỉ số khúc xạ của môi trường mà từ đó photon tới và truyền đi. Một số ngẫu nhiên $\xi$ giữa 0 và 1 được sử dụng để quyết định xem photon có được phản xạ hay truyền đi hay không. Nếu $\xi < R(\theta_i)$ thì photon được phản xạ bên trong, nếu không photon thoát khỏi mô và sự kiện được ghi lại. Khi phản xạ Ri được tính toán, một phần nhỏ (1 - Ri) trọng số photon hiện tại được phép thoát ra và phần còn lại của trọng số được phản xạ trở lại vào mô để tiếp tục truyền. Nếu photon được phản xạ bên trong, thì vị trí và hướng của photon được điều chỉnh cho phù hợp. Quỹ đạo đối với trục z bị đảo ngược.

### 4.1.6 Hấp thụ photon

Sau mỗi bước truyền, gói photon được chia thành hai phần - một phần được hấp thụ và phần còn lại được tán xạ. Phần của gói được hấp thụ là

$$fractionabsorbed = \frac{\mu_a}{\mu_a + \mu_s} = 1 - \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} = 1 - a \qquad (4.4)$$

Trong đó a là albedo. Do đó, trọng số photon mới (w') được cho bởi w'= aw, đại diện cho phần của gói phân phối bị tán xạ trên bước này.

### 4.1.7 Thay đổi hướng photon – Tán xạ

Các photon được tán xạ thành một quỹ đạo mới theo một số hàm tán xạ. Hai góc của tán xạ là $\theta$ và $\phi$, tương ứng là góc tán xạ và góc phương vị. Phần này mô tả cách tính toán quỹ đạo mới sau khi lấy mẫu xác suất cho $\theta$ và $\phi$. Nếu hàm pha không phụ thuộc phương vị, thì góc phương vị $\phi$ được phân bố đồng đều giữa 0 and $2\pi$, và có thể được sinh ra bằng cách nhân một số giả ngẫu

nhiên ξ phân bố đồng đều trong khoảng 0 đến 1 bởi 2π (i.e. φ = 2πξ). Góc tán xạ θ cho phân bố đẳng hướng được cho bởi:

$$\cos\theta = 2\xi - 1 \qquad (4.5)$$

Do tán xạ trong mô được đặc trưng bởi hàm pha Henyey-Greenstein, hàm tạo ra cho hàm pha Henyey-Greenstein là

$$\cos\theta = \frac{1}{2g}\left\{1 + g^2 - \left[\frac{1-g^2}{1-g+2g\xi}\right]^2\right\} \qquad (4.6)$$

Nếu tán xạ là đẳng hướng (g = 0) thì phương trình (4.8) nên được sử dụng.

Nếu một photon tán xạ ở một góc(θ, ϕ) từ hướng($\mu_x$, $\mu_y$, $\mu_z$) khi đang di chuyển, thì hướng mới ($\mu'_x$, $\mu'_y$, $\mu'_z$) được chỉ định bởi:

$$\begin{aligned}
\mu'_x &= \frac{\sin\theta}{\sqrt{1-\mu_z^2}}(\mu_x\mu_z\cos\phi - \mu_y\sin\phi) + \mu_x\cos\theta \\
\mu'_y &= \frac{\sin\theta}{\sqrt{1-\mu_z^2}}(\mu_y\mu_z\cos\phi + \mu_x\sin\phi) + \mu_y\cos\theta \\
\mu'_z &= -\sin\theta\cos\phi\sqrt{1-\mu_z^2} + \mu_z\cos\theta
\end{aligned} \qquad (4.7)$$

### 4.1.8 Photon chấm dứt

Photon sẽ tiếp tục lan truyền khi trọng lượng của nó trở nên dần dần nhỏ hơn. "Phương pháp Roulette" được sử dụng để chấm dứt photon. Giá trị ngưỡng (THRESHOLD) được chọn, thường là $10^{-4}$. Khi trọng lượng của photon giảm xuống dưới giá trị ngưỡng này, quy trình roulette được sử dụng. Một số ngẫu nhiên (RND) được tạo ra; và nếu số ngẫu nhiên này nhỏ hơn một số nhỏ gọi là CHANCE, thường là 0,10, thì lượng photon được tăng lên bằng cách được chia cho CHANCE. Đối với CHANCE = 0,10, w sẽ tăng gấp 10 lần. Nếu không, photon bị chấm dứt. Do đó, 9 trong số 10 lần photon bị chấm dứt, nhưng 1 trong 10 lần, trọng lượng của photon lại tăng gấp 10 lần và photon tiếp tục lan truyền. Kết quả là các photon thường bị chấm dứt, nhưng năng lượng được bảo tồn bởi photon còn sót lại thường xuyên được cho thêm trọng lượng. Vì hàng triệu photon được chạy, kết quả trung bình về mặt thống kê là chính xác.

### 4.1.9 Tính số lượng quan sát được

Suất thông lượng từ các photon được phóng ra tại một điểm duy nhất tương ứng với hàm Green ( x, y, z) của môi trường. Vì lược đồ nguồn chiếu xạ không phải là một hàm của độ sâu, nên sự tích chập là độc lập với z. Suất thông lượng cho một thông số chiếu xạ tùy ý có thể thu được bằng cách liên kết thông số chức năng của Green với hàm bức xạ S(x, y):

$$\Phi(x,y,z) = \int_{-\infty}^{\infty}\int_{-\infty}^{\infty} G(x',y',z)S(x-x',y-y')\,dx'dy' \qquad (4.8)$$

Trong đó Φ(x, y, z) là mật độ tại điểm (x, y, z). Trong các tọa độ hình trụ, tích chập của một nguồn chiếu xạ đối xứng trục S (r) và hàm Green của G (r) sẽ là đối xứng hình trụ. Tích chập có thể được viết:

$$\Phi(r,z) = \int_0^{\infty} G(r',z)\left[\int_0^{2\pi} S\left(\sqrt{r'^2 + r^2 - 2rr'\cos\theta}\right)\,d\theta\right] r'\,dr' \qquad (4.9)$$

Trong đó suất thông lượng là đối xứng trụ và chỉ phụ thuộc vào bán kính r và độ sâu z.

Một hàm nguồn Gaussian với một bán kính của R là 1/e2 được cho bởi:

$$S(r) = S_0 e^{-2(r/R)^2} \qquad S_0 = \frac{2P}{\pi R^2} \tag{4.10}$$

Trong đó P là tổng công suất của chùm tia. Suất thông lượng cho một chùm phẳng là

$$\Phi(r,z) = \frac{P}{\pi R^2} \int_0^\infty G(r',z)\Theta(r,r')2\pi r'\,dr' \tag{4.11}$$

### 4.1.10 Kết luận

Các mô hình Monte Carlo cho phép tính toán phản xạ, truyền tải, và suất thông lượng trong mô. Cả hai điều kiện ranh giới không phù hợp và tán xạ dị hướng đã được bao gồm, do đó làm tăng tính hiện thực của mô hình. Một mô hình Monte Carlo có trọng số biến đổi đã được thực hiện và xác nhận bằng cách so sánh với các bảng được công bố. Mô hình Monte Carlo này có thể được sử dụng để tính toán suất thông lượng cho các chùm hữu hạn chiếu xạ với đối xứng hình trụ bằng cách liên kết phản ứng xung với các cấu hình chiếu xạ chùm phẳng hoặc Gauss. Biểu thức phân tích tạo điều kiện tính toán như vậy đã được trình bày.

## 4.2 Mô phỏng bằng MCML

### 4.2.1 Giới thiệu

Như đã giới thiệu ở phía trên, phương pháp Monte Carlo cung cấp giải pháp cho nhiều vấn đề toán học bằng cách thực hiện lấy mẫu thống kê sử dụng các chuỗi số ngẫu nhiên và xác suất để có được giải pháp xấp xỉ cho vấn đề.

Dựa trên phương pháp Monte Carlo, MCML giao tiếp với người dùng bằng cách sử dụng ASCII tiêu chuẩn hoặc văn bản có dạng nhị phân. Đây có thể là một quá trình khó khăn vì tệp đầu vào phải được định dạng chính xác theo một mẫu và các đầu ra không dễ dàng được giải thích. Để đơn giản hóa tình huống, hàm MATLAB MCML.m cung cấp giao diện cho MCML trong đó các tham số đầu vào được chỉ định làm đối số cho hàm và tất cả các kết quả mô phỏng được tóm tắt trong cấu trúc MATLAB đơn giản.

MCML gồm hai chương trình cơ bản:

1. MCML - Thực hiện mô phỏng Monte Carlo bằng MCML
2. Create_MCML_input_file - Tạo tệp đầu vào (.mci) được MCML sử dụng để bắt đầu mô phỏng Monte Carlo trong các phân lớp.

Sau khi nhập thông tin đầu vào theo cấu trúc:

**s=MCML(filename,number_of_photons,layers)**

Ở đây:

- Filename : Tên của các tệp tin đầu vào và đầu ra đến / từ MCML. Nếu tên được lấy MCML.m sẽ thêm một số sau chuỗi để tạo ra một tên riêng duy nhất. Tên phải là một tên biến hợp lệ trong môi trường MATLAB.
- Number_of_photons : Số lượng photon trong mô phỏng
- Layers : Lớp ma trận. Các hàng trong ma trận này mô tả các lớp của mô phỏng hình học, bắt đầu với lớp gần nguồn nhất. Số lượng các lớp trong môi trường được mô hình hóa được xác định bởi số hàng trong ma trận này. Mỗi lớp được mô tả bằng 5 giá trị, được lưu trữ dưới dạng cột trong ma trận. Các giá trị là chỉ số khúc xạ n, hệ số hấp thụ $\mu_a$ [cm$^{-1}$], hệ số tán xạ $\mu_s$ [cm$^{-1}$], hệ số dị hướng (g) và độ dày lớp t [cm]. Thứ tự được đưa ra bởi: [n mua mus g t]

Ngoài ra, để thay đổi các thông số dz, dr, da và chiết suất của môi trường ngoài mô, MCML cung cấp cú pháp phức hợp:

**s=MCML(...,n_above,n_below,dz,dr,number_of_dz,number_of_dr,number_of_da);**

Trong đó, các thông số đầu tiên cũng như MCML đơn giản, nhưng thêm vào các biến khác ở đằng sau.

- filename : Tên của các tệp tin đầu vào và đầu ra
- number_of_photons : Số lượng photon trong mô phỏng
- layers : Lớp ma trận
- n_above: chiết suất môi trường bên trên mô
- n_below: chiết suất môi trường bên dưới mô
- dz: độ chia lưới theo z
- dr: độ chia lưới theo r
- number_of_dz: số lượng dz
- number_of_dr: số lượng dr
- number_of_da: số lượng da

**Các thông số hiển thị trên tệp đầu vào và ra**

- dz, dr, da [cm]: Phân chia lưới của độ sâu Δz, bán kính Δr và góc phân tán Δα
- Số dz, dr, da [-]: Số lượng lưới
- N [-]: chiết suất của mô
- mua [1/cm]: hệ số hấp thụ của mô
- mus [1/cm]: hệ số tán xạ của mô
- g [-]: hệ số dị hướng. Có giá trị trong phạm vi từ 0.3 đến 0.98, giá trị thường là 0.9
- d [cm]: độ dày mô
- RAT: các hệ số cơ bản: phản xạ, tán xạ, hấp thụ, truyền qua
- A_l [-]: Độ hấp thụ theo lớp
- A_z [1/cm]: Độ hấp thụ theo độ sâu z
- Rd_r [1/cm$^2$]: Độ phản xạ khuếch tán theo bán kính r
- Rd_a [1/sr]: Độ phản xạ khuếch tán theo góc α
- Tt_r [1/cm$^2$] : Độ truyền qua theo r
- Tt_a [1/sr]: Độ truyền qua theo α
- A_rz [1/cm$^3$]: Độ hấp thụ theo r và z
- Rd_ra [1/cm$^3$]: Độ phản xạ theo r và α
- Tt_ra [1/cm$^2$sr]: Độ truyền qua theo r và α
- Specular reflectance [-]: Phản xạ gương: Phản xạ ngược hướng với tia tới
- Diffuse reflectance [-]: Phản xạ khuếch tán: Phản xạ tạo một góc với tia tới
- Absorbed fraction [-]: Phần hấp thụ: Phần photon bị mô hấp thụ
- Transmittance [-]: Truyền qua: Phần photon truyền qua khỏi mô

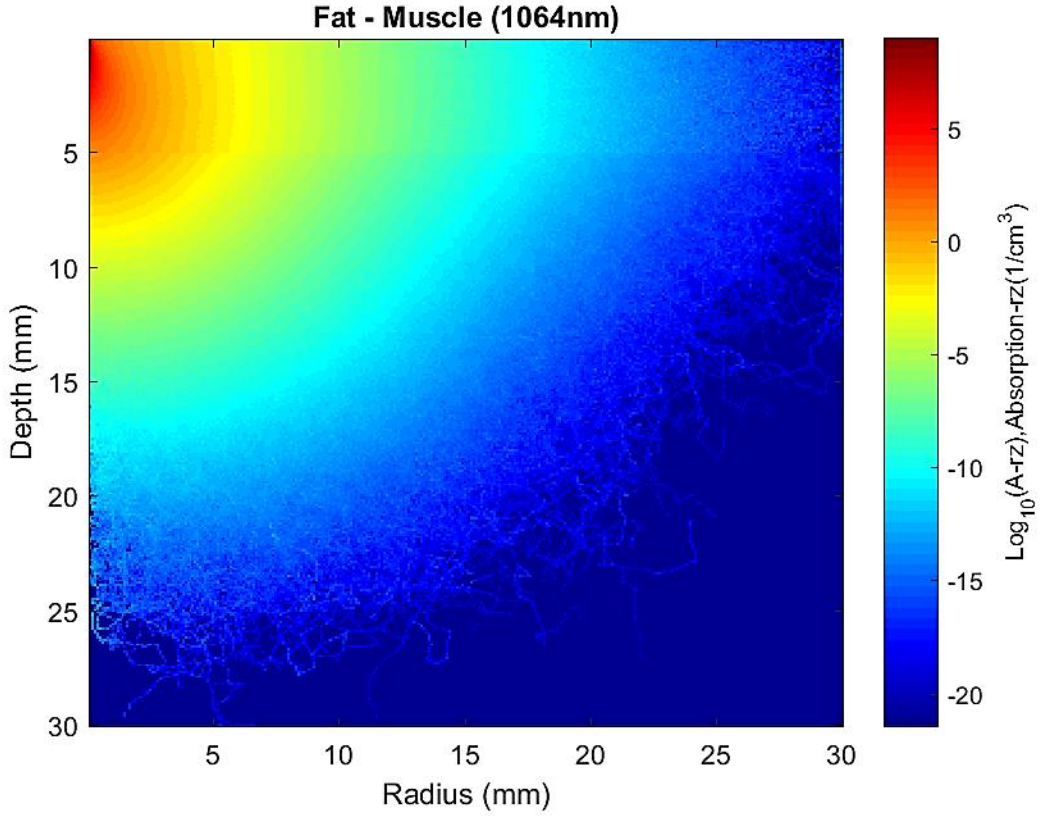
Các mô tả bổ sung đối với tệp đầu vào và đầu ra được trình bày trong phần phụ lục.

**Kết quả mô phỏng**

**Tệp đầu ra s chứa các thông tin:** Một cấu trúc MATLAB chứa tất cả các kết quả mô phỏng cũng như các tham số đầu vào mô phỏng. Trong đó chứa các ma trận mật độ hấp thụ, phản xạ, truyền qua theo độ sâu z, bán kính r và góc $a$.

Chương trình được khởi tạo và chạy file Create_MCML_input_file tự lập trình tạo ra tệp thông tin đầu vào có dạng "filename.mci" và tệp thông tin đầu ra có dạng "filename.mco".

Một kết quả mô phỏng demo được thực hiện với mô hình da có 2 lớp (Mỡ và Cơ) được cho trong hình bên dưới.




**Hình 4.3** Mô phỏng 2 lớp mỡ - cơ với bước sóng 1064nm

## 4.3 Mô phỏng bằng MOSE

### 4.3.1 Giới thiệu [39] [40]

Nghiên cứu về sự lan truyền ánh sáng trong môi trường đục đã thu hút sự chú ý sâu rộng trong lĩnh vực hình ảnh quang học phân tử y sinh. Một nền tảng phần mềm để mô phỏng sự lan truyền ánh sáng trong môi trường có tên là "Môi trường mô phỏng quang phân tử (MOSE) được giới thiệu. Cốt lõi cấu trúc của MOSE được phát triển theo tiêu chuẩn C ++ và được đóng gói như một thư viện liên kết động (DLL). Dữ liệu ảo và dữ liệu kết quả mô phỏng được hiển thị đồ họa bằng cách sử dụng Thư viện đồ họa mở (OpenGL).

Dựa trên phương pháp Monte Carlo, MOSE mô phỏng sự lan truyền ánh sáng cả trong các mô có cấu trúc phức tạp và xuyên qua không gian trống. Đặc biệt, MOSE tổng hợp dữ liệu thực tế cho chụp cắt lớp phát quang sinh học (BLT), chụp cắt lớp phân tử huỳnh quang (FMT) và chụp cắt lớp quang học khuếch tán (DOT). MOSE có thể mô phỏng toàn bộ quá trình truyền sáng, bao gồm việc tạo ra ánh sáng từ các nguồn khác nhau, lan truyền ánh sáng qua môi trường đục và thu nhận bởi CCD tại nhiều góc. Hỗ trợ mô phỏng BLT ở chế độ CW (sóng liênt ục) cũng như DOT và FMT ở chế độ TD (miền thời gian), FD (miền tần số) và CW. MOSE có giao diện đồ hoạ với thời gian thực.

**Phương pháp**

Việc thực hiện phương pháp MC trong MOSE cho mô phỏng sự lan truyền photon trong môi trường đục tương tự như được sử dụng trong MCML. Sự khác biệt chính là các mắt lưới hình tam giác được sử dụng để mô hình hóa các mô phức tạp trong MOSE. Trong MOSE, khi các mô

khác nhau giao nhau, điều quan trọng là xác định các tham số biên và thông số quang học của đường biên. Một phương pháp được gọi là diện tích/thể tích tối thiểu của vùng được sử dụng.

Khi chạy chương trình, một số tệp tin (có đuôi như sau) có thể được tạo ra như:

- ✓ .mpj: lưu thông tin chương trình MOSE.
- ✓ .mse: lưu thông số quang học trong mô phỏng.
- ✓ .A.CW, .T.CW, .D.CW, A.TD, .T.TD, .D.TD, A.FD, .T.FD, .D.FD lần lượt là kết quả hấp thụ, truyền qua, detector của sóng liên tục (CW), miền thời gian (TD) và miền tần số (FD).
- ✓ .off, .ply, .surf: dữ liệu lưới tam giác, dùng để mô tả hình dạng mô.
- ✓ .am, .mesh: dữ liệu lưới tứ diện, dùng để mô tả cấu trúc bên trong của môi trường.

Dữ liệu trong các tệp tin được mô tả trong Hướng dẫn sử dụng của MOSE được viết bởi Jie Tan và cộng sự [41]

**Thông số đầu vào. Tệp tin .mse**

Mỗi mô sinh học có thể được mô tả bằng hai bộ tham số: thông số quang học và thông số hình học. Bốn tham số quang học quan trọng là chỉ số khúc xạ, hệ số hấp thụ, hệ số tán xạ và hệ số dị hướng như được mô tả ở MCML. Các tham số hình học bao gồm tọa độ và hình dạng của các mô sinh học. Các khối hình học có thể là ellipsoid, hình trụ, đa diện, vân vân. Các nguồn phát quang sinh học bao gồm điểm, nguồn rắn và rỗng được xây dựng bởi các vật thể hình học. Có hai cách để nhập thông số. Một là viết các tham số trong hộp thoại cài đặt tham số. Cách khác là tải tệp tham số (tệp định dạng .mse), có dạng được chỉ định, bao gồm tất cả các tham số cần thiết của thí nghiệm mô phỏng.

Thông số đầu vào có thể được phân thành bốn loại:

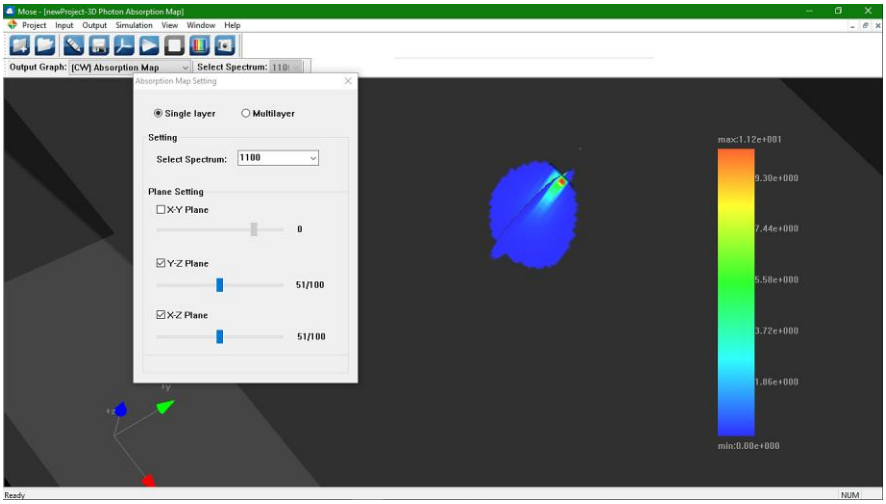
- Thông số hình học của các mô sinh học
- Thông số quang học của mô sinh học
- Thông số của nguồn phát quang sinh học
- Thông số của camera CCD.

Trong quá trình mô phỏng, một thanh tiến trình sẽ cho bạn thấy tiến trình và thời gian còn lại. Đồng thời, đường đi của photon có thể được hiển thị bằng màu sắc khác nhau, tuy nhiên, lựa chọn này có thể làm chậm tốc độ mô phỏng. Trong giao diện 3D, chúng ta có thể biểu diễn động tác như xoay, di chuyển, phóng to và thu nhỏ với nút chuột trái, giữa và phải. Một hộp thông báo sẽ nhắc bạn nếu mô phỏng kết thúc.

**Dữ liệu đầu ra**

Một lần mô phỏng kết thúc, chúng ta có thể lấy các tập tin đầu ra ghi dữ liệu hấp thụ, dữ liệu truyền, dữ liệu máy dò, thời gian chạy,... Các bản đồ phân phối của hấp thụ và truyền tải có thể được hiển thị bằng đồ họa 2D/3D khi cần thiết.

**Kết quả mô phỏng**




**Hình 4.4** Kết quả mô phỏng demo một lớp cơ với bước sóng 1100 nm

## 4.4 Mô phỏng bằng ValoMC

### 4.4.1 Giới thiệu

Chương trình bao gồm hai phần: mã mô phỏng (được viết bằng C ++, xử lý song song bằng OpenMP) và giao diện MATLAB. Mặc dù chương trình C ++ có thể được sử dụng độc lập mà không cần MATLAB.). ValoMC lưu trữ lưới và kết quả ở định dạng tương thích trực tiếp với các công cụ vẽ đồ thị trong MATLAB

Quá trình lan truyền photon cũng được dựa trên phương pháp Monte Carlo.

Thông số đầu vào gồm có: Môi trường lưới, thông số quang học của môi trường, nguồn sáng. Thông số đầu ra: dữ liệu mật độ của phần tử môi trường và biên giới.

Trong MATLAB, các mô phỏng được bắt đầu bằng lệnh:

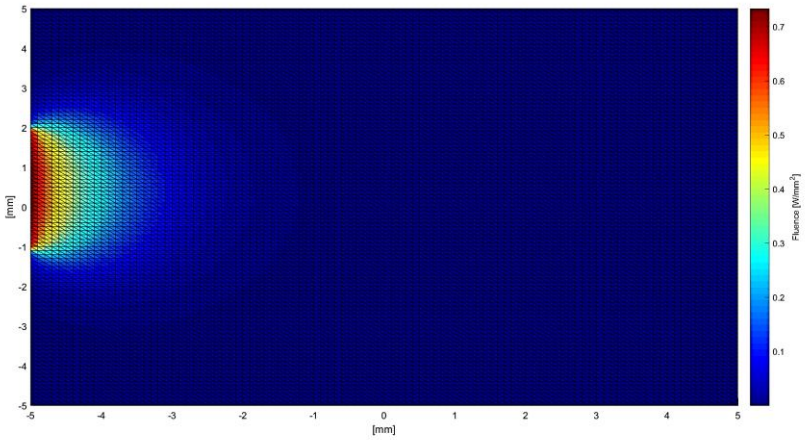
***solution = ValoMC (vmcmesh, vmcmedium, vmcboundary, vmcoptions)***

Trong đó, vmcmesh gồm ba thông số: ma trận tọa độ r, ma trận liên kết cấu trúc H và ma trận cấu trúc liên kết ranh giới $B_H$ đại diện cho một hình tam giác hoặc một lưới tứ diện, vmcmedium chứa các hệ số quang cho từng phần tử và vmcboundary chứa các điều kiện biên cho từng phần tử biên. Các trường của vmcoptions có thể được sử dụng để đặt một số tùy chọn toàn cầu, cho ví dụ, để điều chỉnh tổng số gói photon được khởi chạy ($10^6$ theo mặc định) hoặc để bật tính toán miền tần số. Nếu cấu trúc tùy chọn không được cung cấp, các giá trị mặc định sẽ là đã sử dụng.

ValoMC đi kèm với một vài chức năng tiện lợi để tạo các mắt lưới đơn giản cho mục đích tạo mẫu, chẳng hạn như createRectangularMesh. Để tạo các lưới phức tạp hơn, nhiều các công cụ phần mềm miễn phí chuyên dụng có sẵn, như iso2mesh và NetGen.

Giải pháp mô phỏng (mật độ ở từng yếu tố và thoát ra ở từng yếu tố biên) được trả về trong Solution.element_fluence và Solution.boundary_fluence

**Kết quả mô phỏng**




**Hình 4.5** Kết quả mô phỏng lớp cơ ở 1100 nm

# 5. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

## 5.1 Mô hình các lớp da

Ở phần này, chúng tôi sử dụng 2 mô hình da gồm có 4 lớp:

- Mô hình thứ nhất: Biểu bì – Hạ bì – Mỡ - Cơ
- Mô hình thứ hai: Biểu bì – Hạ bì – Máu – Cơ

Với mục đích so sánh sự khác biệt của phổ hấp thụ và phản xạ khuếch tán trong mô có máu và mô không có máu.

Các thông số quang học của da được cho ở bảng bên dưới.

**Bảng 5.1** Các thông số quang học của da người theo bước sóng từ 400 – 1100 nm

| Bước sóng (nm) | Biểu bì (1/cm) | | | Hạ bì (1/cm) | | | Mỡ dưới da (1/cm) | | | Cơ (1/cm) | | | Máu (1/cm) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $\mu_a$ | $\mu_s$ | g | $\mu_a$ | $\mu_s$ | g | $\mu_a$ | $\mu_s$ | g | $\mu_a$ | $\mu_s$ | g | $\mu_a$ | $\mu_s$ | g |
| 400 | 15 | 500 | 0.8 | 9 | 375 | 0.8 | 11 | 250 | 0.8 | 12.75 | 78 | 0.4 | 616 | 1754.9 | 0.745 |
| 450 | 10 | 450 | 0.8 | 6 | 300 | 0.8 | 9 | 200 | 0.8 | 10 | 82.25 | 0.6 | 263 | 682.6 | 0.923 |
| 500 | 7 | 350 | 0.8 | 3.5 | 225 | 0.8 | 5 | 175 | 0.8 | 3.5 | 87.5 | 0.8 | 111.3 | 784.6 | 0.964 |
| 550 | 4.5 | 300 | 0.8 | 2.5 | 175 | 0.8 | 4 | 150 | 0.8 | 4.5 | 86.4 | 0.78 | 196.7 | 691.4 | 0.95 |
| 600 | 3 | 250 | 0.8 | 2 | 150 | 0.8 | 2 | 125 | 0.8 | 3 | 80 | 0.85 | 93.3 | 817.5 | 0.963 |
| 650 | 2.5 | 225 | 0.8 | 1.5 | 150 | 0.8 | 1.3 | 120 | 0.8 | 1.7 | 77.1 | 0.86 | 1.87 | 893.45 | 0.9755 |
| 700 | 2.5 | 150 | 0.8 | 1.5 | 125 | 0.8 | 1.3 | 110 | 0.8 | 1.1 | 76.9 | 0.87 | 1.25 | 879.3 | 0.976 |
| 740 | 2 | 140 | 0.8 | 1.5 | 125 | 0.8 | 1.2 | 100 | 0.8 | 1 | 81.7 | 0.88 | 1.84 | 848.5 | 0.975 |
| 800 | 1.8 | 125 | 0.8 | 1.3 | 110 | 0.8 | 1.1 | 95 | 0.8 | 1 | 78.2 | 0.89 | 3.27 | 809.9 | 0.975 |
| 900 | 0.9 | 105 | 0.8 | 1 | 100 | 0.8 | 1 | 90 | 0.8 | 1.2 | 80 | 0.91 | 5.43 | 751.4 | 0.973 |
| 1000 | 0.5 | 100 | 0.8 | 0.9 | 90 | 0.8 | 0.9 | 85 | 0.8 | 1.3 | 75.3 | 0.915 | 6.51 | 680.8 | 0.97 |
| 1100 | 0.2 | 95 | 0.8 | 0.6 | 85 | 0.8 | 0.6 | 80 | 0.8 | 0.9 | 72.5 | 0.92 | 3.74 | 639.5 | 0.97 |

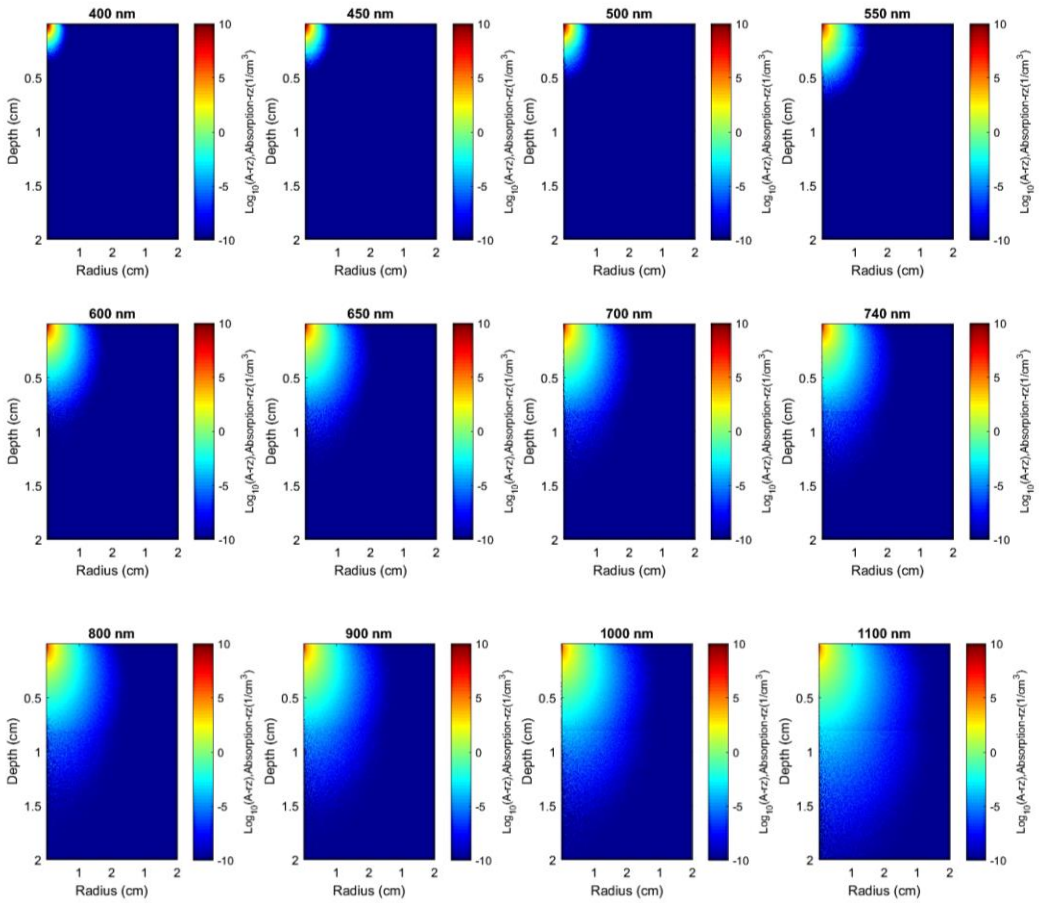
**Bảng 5.2** Chỉ số khúc xạ và độ dày tương đối của các lớp

| Lớp | Chỉ số khúc xạ | Độ dày (cm) |
|---|---|---|
| Biểu bì | 1.34 | 0.01 |
| Hạ bì | 1.4 | 0.2 |
| Mỡ dưới da | 1.44 | 0.6 |
| Máu | 1.36 | 0.05 (tĩnh mạch)<br>0.1 (động mạch) |
| Cơ | 1.38 | 5 |

## 5.2 Mô phỏng và kết quả MCML

Mô phỏng bằng MCML với 1000 000 photon với các thông số quang học của da như trên, ta được:

#### 5.2.1.1 Mô hình thứ nhất:




**Hình 5.1** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) và bán kính (r) của mô hình có lớp mỡ

Nhận xét: Đối với cùng số lượng gói photon, độ hấp thụ và xuyên sâu của da đối với từng bước sóng khác nhau có sự thay đổi, trong đó, từ 400 – 1100 nm, độ xuyên sâu càng lớn khi bước sóng càng tăng, đồng thời sự tán xạ toả ra xung quanh càng nhiều. Nguyên nhân là do càng về bước sóng 1100 nm, hệ số hấp thụ của mô càng thấp, ánh sáng có nhiều khả năng di chuyển (tán xạ) tiếp, tạo điều kiện cho ánh sáng lan truyền và toả rộng hơn. Độ xuyên sâu của mô phỏng có giá trị gần bằng với thực tế được khảo sát.

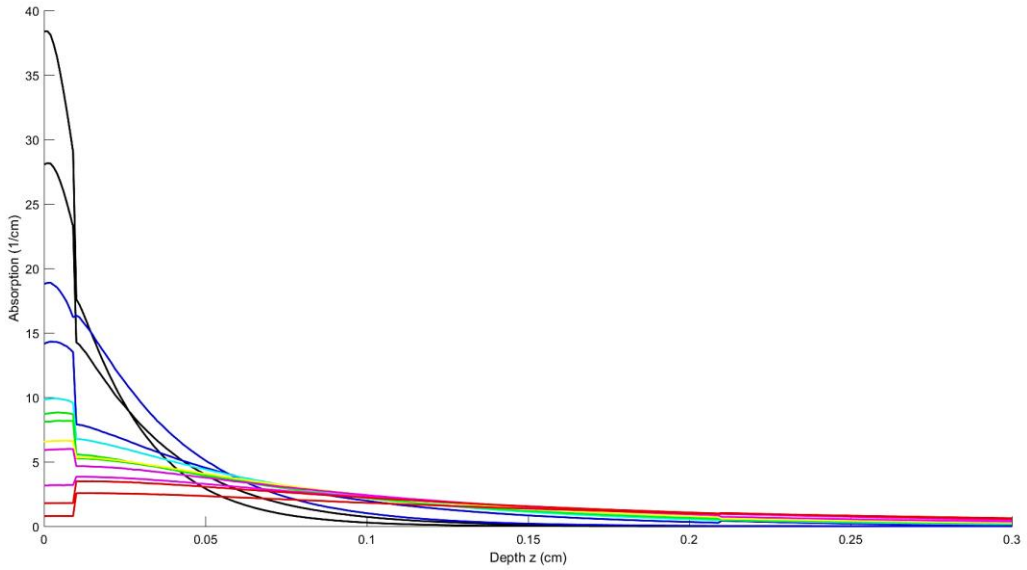
Nếu ánh sáng có độ xuyên sâu và tán xạ lớn (xuyên sâu hơn, toả rộng hơn) thì theo đó, mật độ photon bị phân ra, cho nên ở các hình có bước sóng lớn hơn, màu của hình có màu xanh dương nhạt chiếm một diện tích lớn. Và ở nguồn (góc trên bên trái), bước sóng nhỏ có màu đỏ trong khi bước sóng lớn có màu vàng là do tại bước sóng nhỏ, độ hấp thụ lớn, photon dễ mất trọng số w của nó do hấp thụ ở những độ sâu lớp hạ bì trên.

Trong hình, có sự phân biệt giữa các lớp khác nhau:

- Đối với lớp biểu bì và hạ bì, do độ dày lớp biểu bì quá nhỏ (0.01 cm) so với lớp hạ bì (0.2 cm) và so với độ sâu được hiển thị trong hình (2cm), cho nên lớp này không

hiển thị rõ lắm, nhưng thực chất 2 lớp này cũng có sự phân biệt lớn. Ngoài chỉ số khúc xạ chênh lệch nhỏ (1.34 và 1.4) thì độ hấp thụ và tán xạ có độ chênh lệch lớn (cụ thể ở bước sóng 400 nm, $u_a$ là 15 và 9, $u_s$ là 500 và 375, tương ứng) có thể thấy ở lớp biểu bì có mật độ lớn hơn nhiều lớp hạ bì, nhưng do độ dày quá nhỏ nên không ảnh hưởng nhiều đến mật độ cũng như cường độ photon.

- Đối với lớp hạ bì và lớp mỡ, sự phân biệt lớp thể hiện khá rõ ràng, nhất là ở bước sóng 450 - 550 nm (xem hình trên). Cụ thể, độ hấp thụ ở 450 nm, 500 nm, 550 nm là 6 và 9, 3.5 và 5, 2.5 và 4, độ tán xạ tương ứng là 300 và 200, 225 và 175, 175 và 150. Còn đối với các bước sóng lớn hơn, ví dụ 600 nm và 650 nm, độ hấp thụ là 2 và 2, 1.5 và 1.3, tán xạ là 150 và 125, 150 và 120. Do đó ta thấy, độ hấp thụ ở bước sóng 450-550 nm có sự chênh lệch lớn nên phổ hấp thụ có sự chênh lệch, còn ở bước sóng lớn hơn, độ hấp thụ chênh lệch không nhiều, nên phổ hấp thụ hầu như là xuyên suốt (mượt) hơn. Đối với những bước sóng không nhìn rõ sự phân lớp, nguyên nhân là do độ hấp thụ và tán xạ của các lớp không có chênh lệch lớn, nhất là độ hấp thụ.
- Đối với lớp mỡ và lớp cơ, nguyên nhân tượng tự cũng được gán cho trường hợp này. Do sộ xuyên sâu của các bước sóng gần màu tím (400 nm) nhỏ, cho nên sự phân biệt các lớp thể hiện rõ nhất từ bước sóng 700 nm (gần màu đỏ) và vùng hồng ngoại.

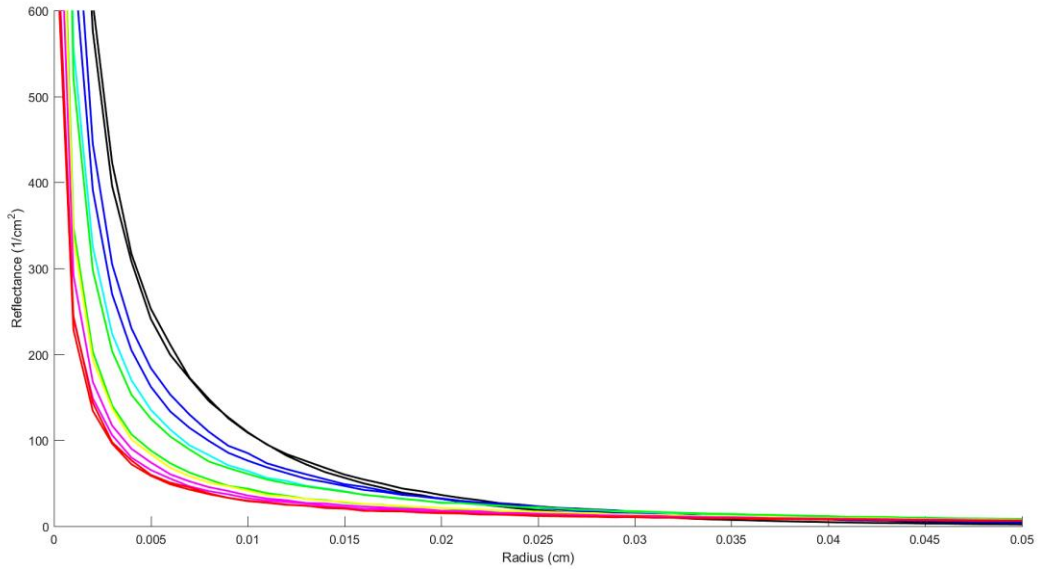



**Hình 5.2** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) của mô hình có lớp mỡ

Trong đó, màu đen đến màu đỏ tương ứng bước sóng từ 400 nm đến 1100 nm.

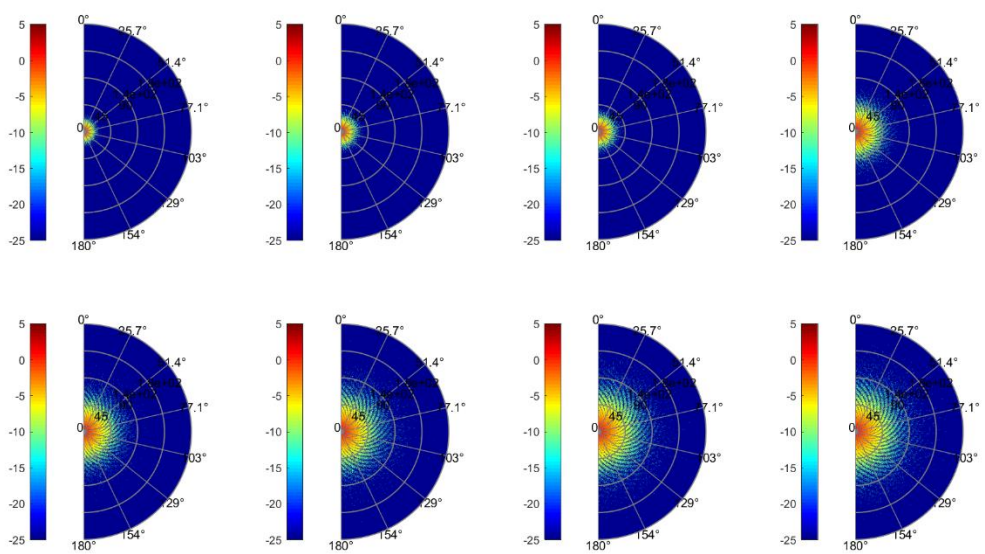
Nhận xét: Biểu đồ này cho ta dễ dàng thấy sự chênh lệch của mật độ cũng như năng lượng của các bước sóng theo độ sâu. Theo đó, lớp có độ hấp thụ càng lớn thì mật độ càng lớn, tuy nhiên do số lượng photon là nhất định, cho nên đối với nơi có độ hấp thụ lớn thì càng xuyên sâu, mật độ càng giảm nhanh (đường cong dốc xuống) (đường cong màu đen (400 - 450 nm), xanh dương (500

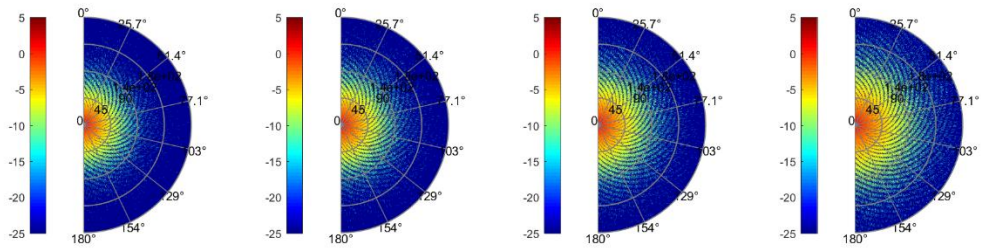
– 600 nm)), trong khi nơi có độ hấp thụ nhỏ thì mật độ tuy nhỏ, nhưng duy trì đều đặn (có lúc là hằng số theo độ sâu) (đường cong màu đỏ (1000 – 1100 nm)).




**Hình 5.3** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) của mô hình có lớp mỡ

Nhận xét: Phổ được vẽ trên hình cũng phụ thuộc vào hệ số hấp thụ và tán xạ, trong đó hệ số tán xạ là nhân tố quyết định (vì đây là phổ phản xạ khuếch tán, xem lý thuyết phản xạ khuếch tán ở mục 2.2). Ta thấy rằng mật độ phản xạ khuếch tán ở bước sóng 400 nm là lớn nhất, nhỏ dần ở bước sóng lớn hơn, phù hợp với thuyết khuếch tán và thực tế.



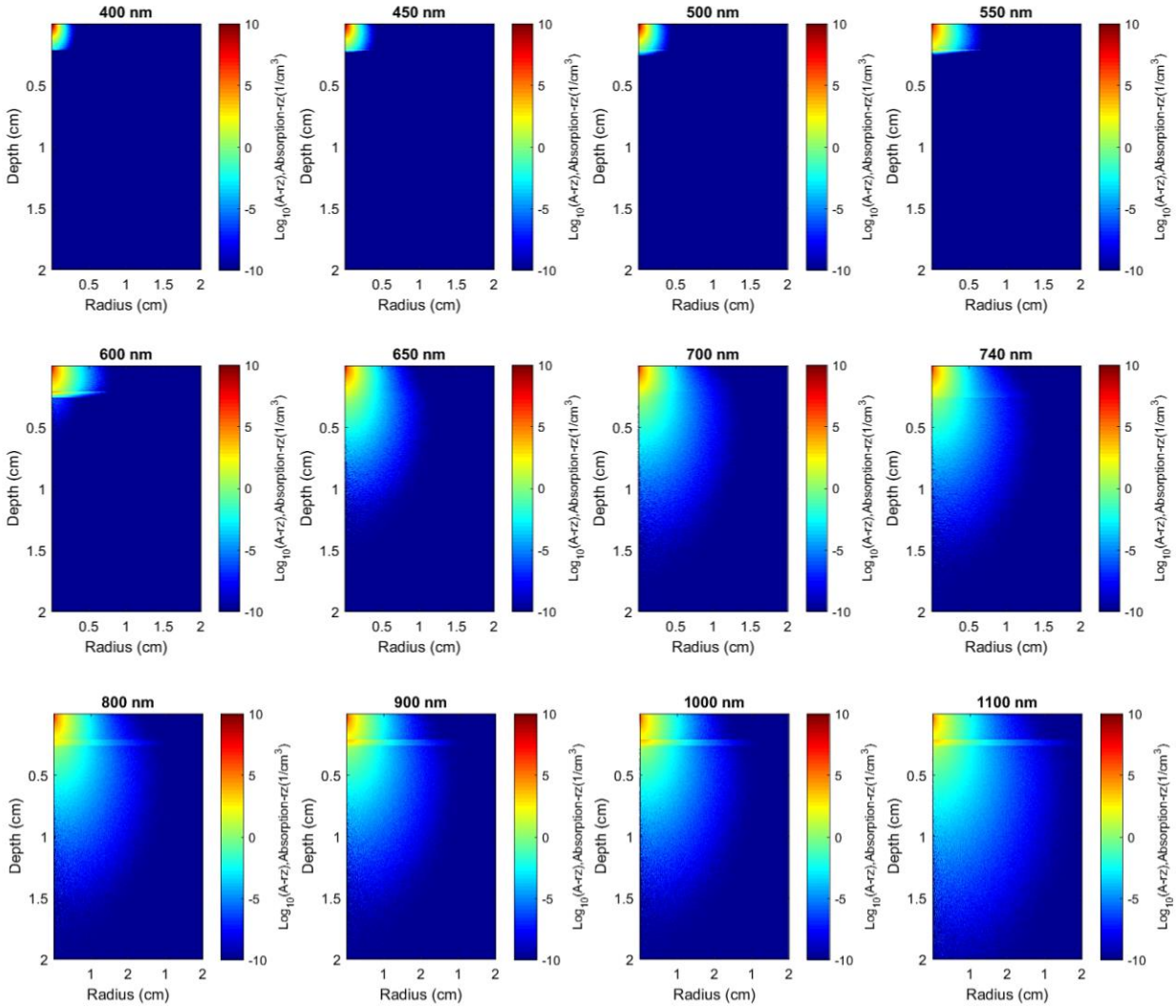


**Hình 5.4** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính r và góc a của mô hình có lớp mỡ

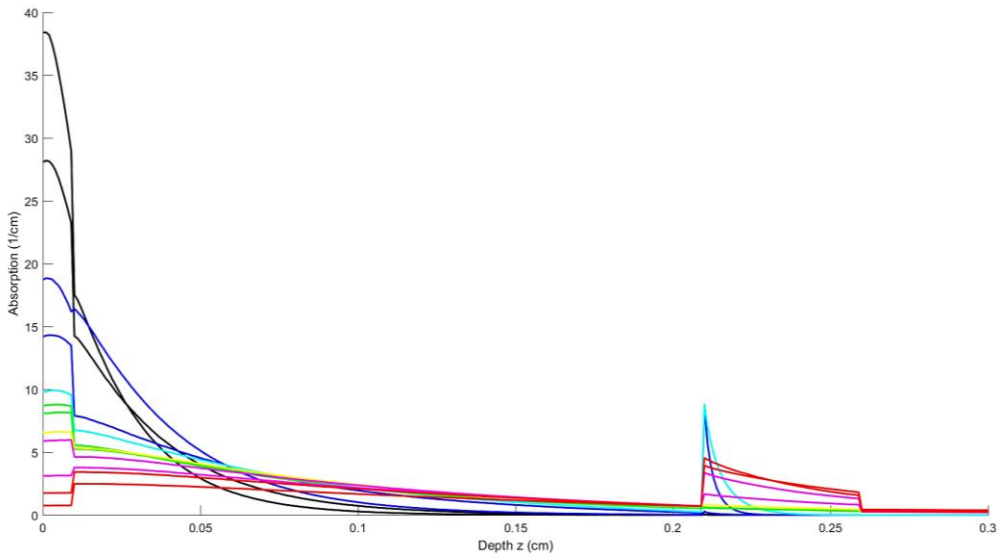
#### 5.2.1.2 Mô hình thứ hai:

Do mô hình máu động mạch có độ dày rộng hơn nên hình ảnh thu được sẽ rõ ràng hơn, chúng tôi sẽ cho nhận xét ở mô hình máu động mạch thay vì tĩnh mạch.

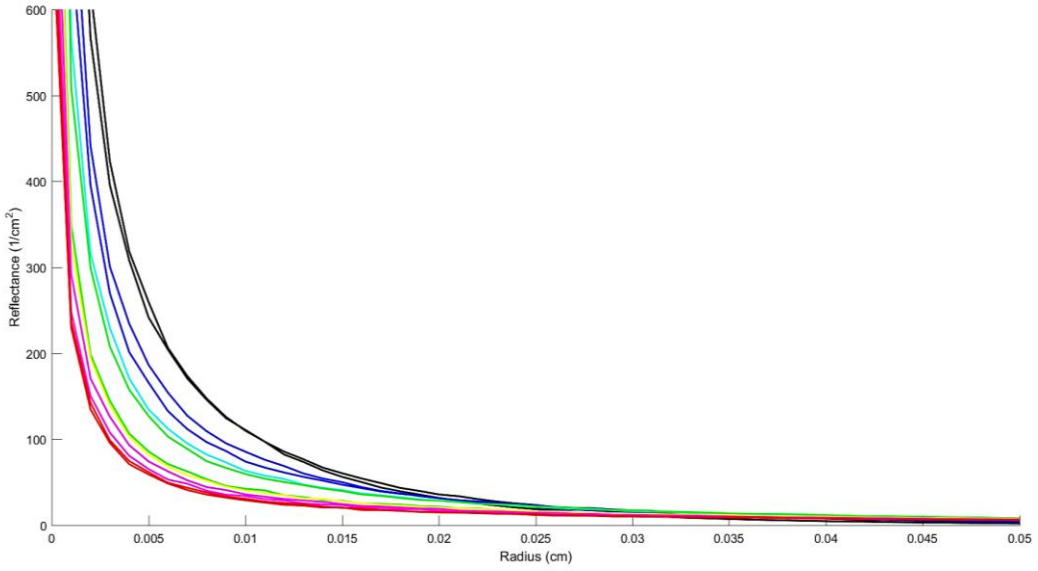
**Đối với lớp máu tĩnh mạch (0.05 cm):**



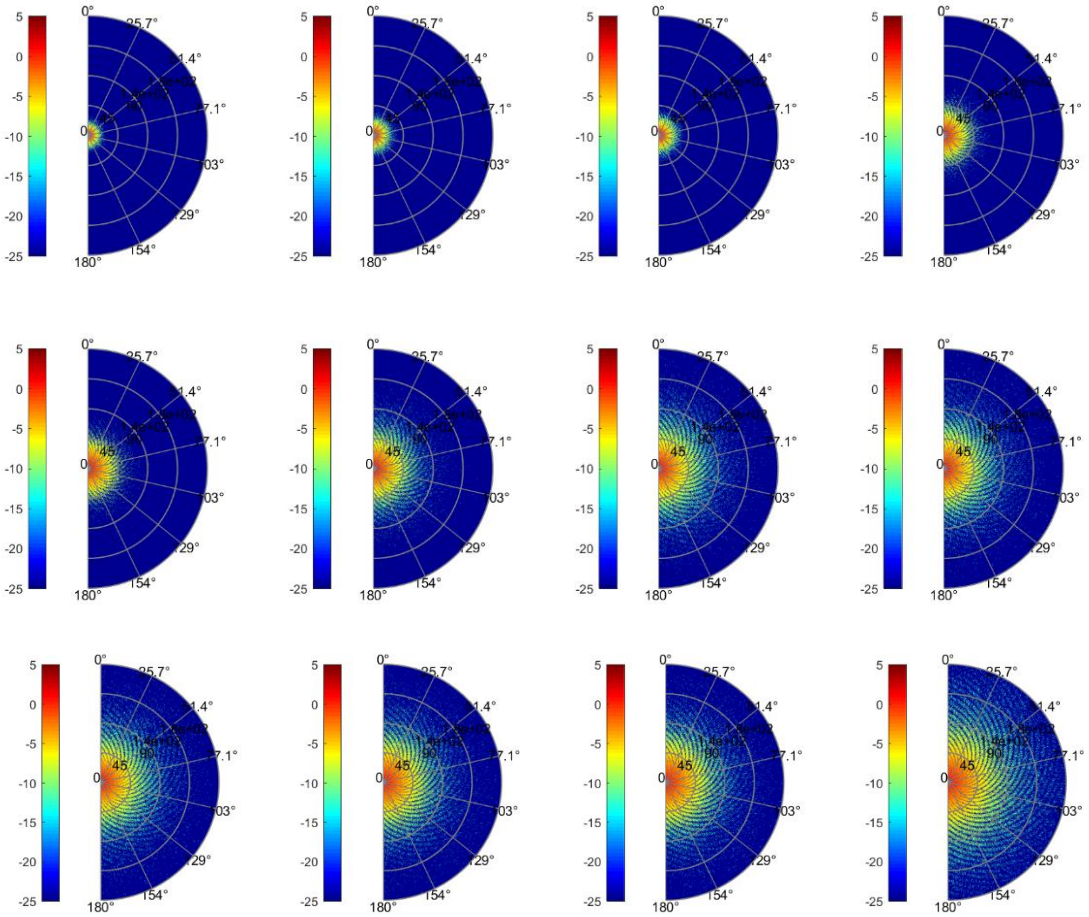

**Hình 5.5** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) và bán kính (r) của mô hình có lớp máu tĩnh mạch




**Hình 5.6** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) của mô hình có lớp máu tĩnh mạch

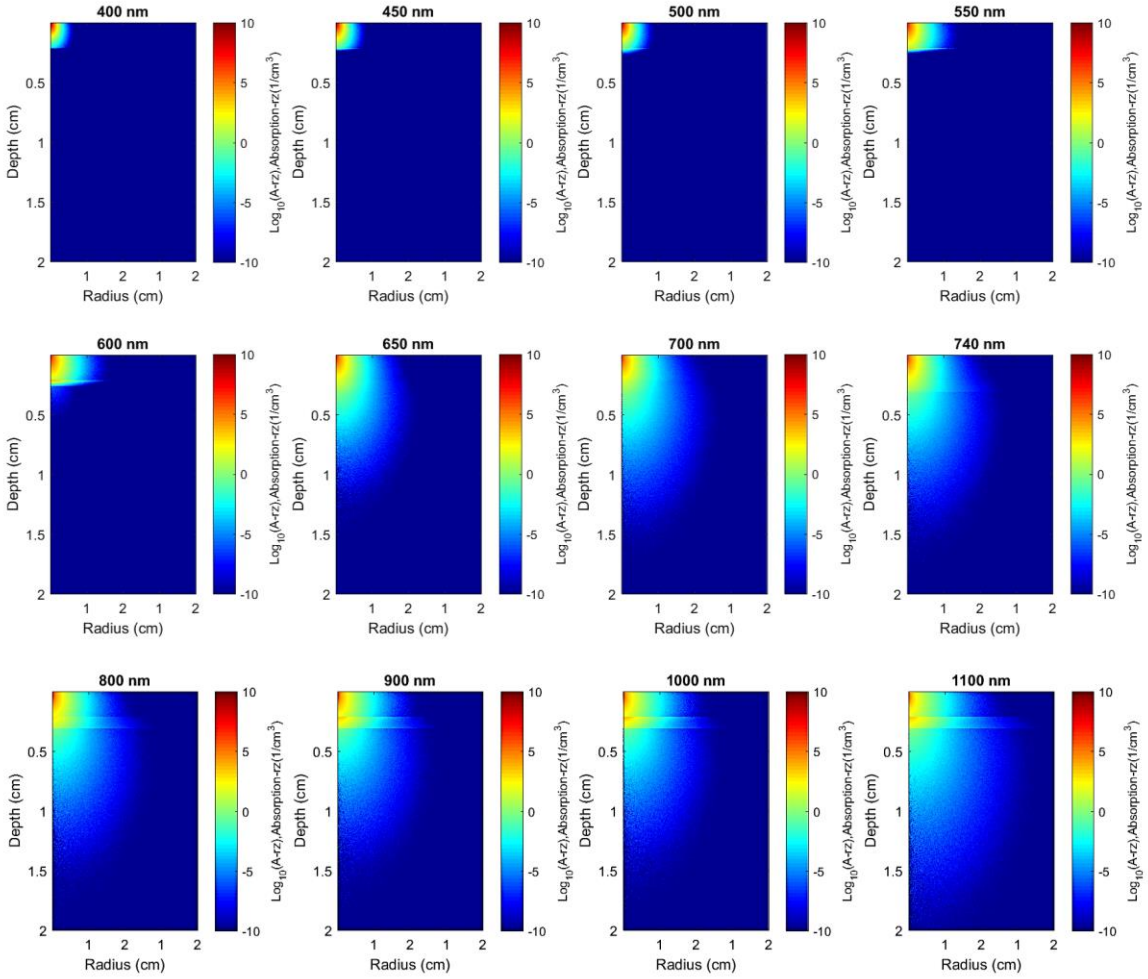



**Hình 5.7** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) của mô hình có lớp máu tĩnh mạch



**Hình 5.8** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính r và góc a của mô hình có lớp máu tĩnh mạch

Đối với lớp máu động mạch (0.1 cm):

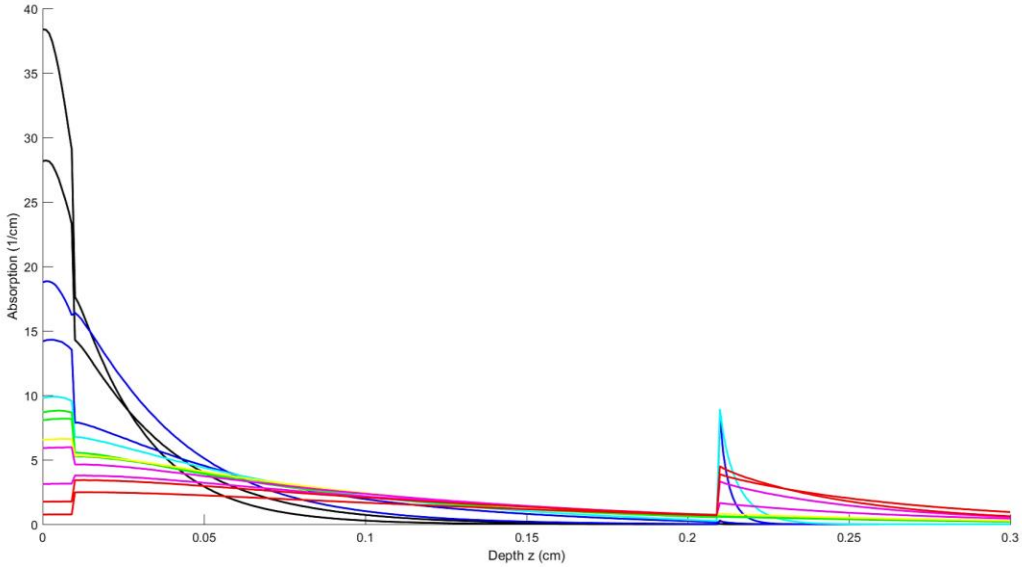



**Hình 5.9** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) và bán kính (r) của mô hình có lớp máu động mạch

Nhận xét: Tương tự như những nhận xét ở phần trên, ta có sự phân bố của mật độ photon phụ thuộc độ hấp thụ và tán xạ. Sự khác biệt của mô hình thứ hai so với mô hình thứ nhất là thay vì có lớp mỡ, mô hình thứ hai lại thay bằng lớp máu, mà các thông số quang học của lớp máu khác biệt rất nhiều so với lớp mỡ và những lớp khác. Theo đó, sự chú ý của chúng ta sẽ nhằm vào lớp máu.

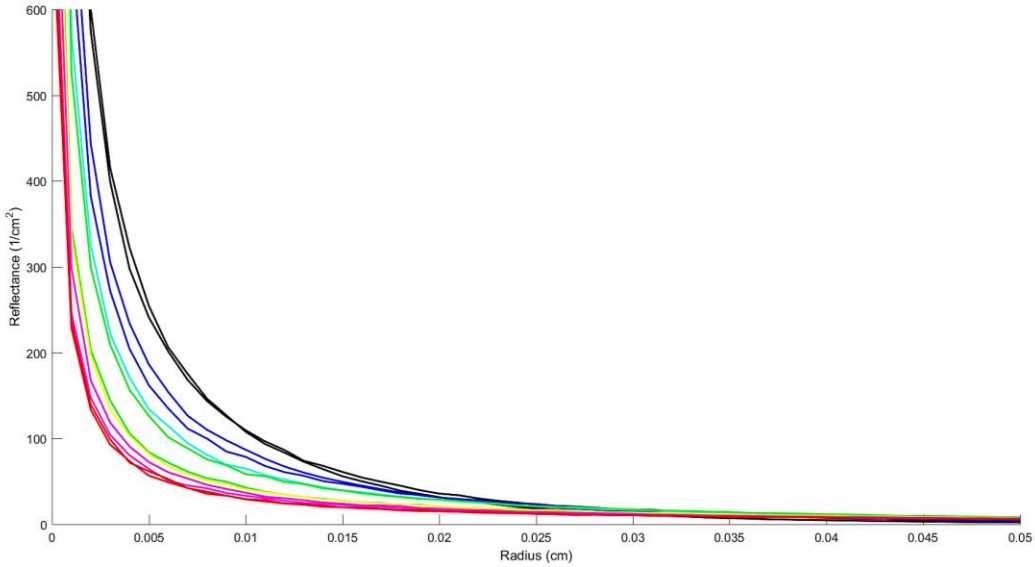
Trong khoảng 400 – 600 nm, ta có thể thấy mật độ photon chợt bị chấm dứt ở độ sâu ở biên giới lớp hạ bì và lớp máu. Nguyên nhân là do độ hấp thụ và tán xạ ở hai lớp này chênh lệch rất lớn. Cụ thể, ở 400 nm, hệ số hấp thụ là 9 và 616, hệ số tán xạ là 375 và 1754.9. Do đó, khi đến lớp máu, photon chợt bị hấp thụ quá lớn, nên photon không thể xuyên sâu được.

Tuy nhiên, đến bước sóng từ 650 nm trở đi thì mật độ lại trở nên mượt hơn và đồng thời ánh sáng cũng xuyên qua được lớp máu rồi vào lớp cơ. Nguyên nhân là do tại bước sóng 650 nm, hệ số hấp thụ của máu đột ngột giảm mạnh (từ 93.3 xuống 1.87), đến gần bằng hệ số hấp thụ của hạ bì và lớp cơ (1.5 và 1.7), do đó, mật độ photon phân bố dều đặn cho đến khi hết trọng số. Tuy hệ số hấp thụ giảm mạnh nhưng hệ số tán xạ lại tăng (817.5 lên 893.45), cho nên ở lớp máu, sự tán xạ diễn ra rất mạnh, nên tại lớp máu, mật độ photon lại toả ra theo hướng bán kính r (rõ ràng nhất từ bước sóng 800 – 1100 nm)

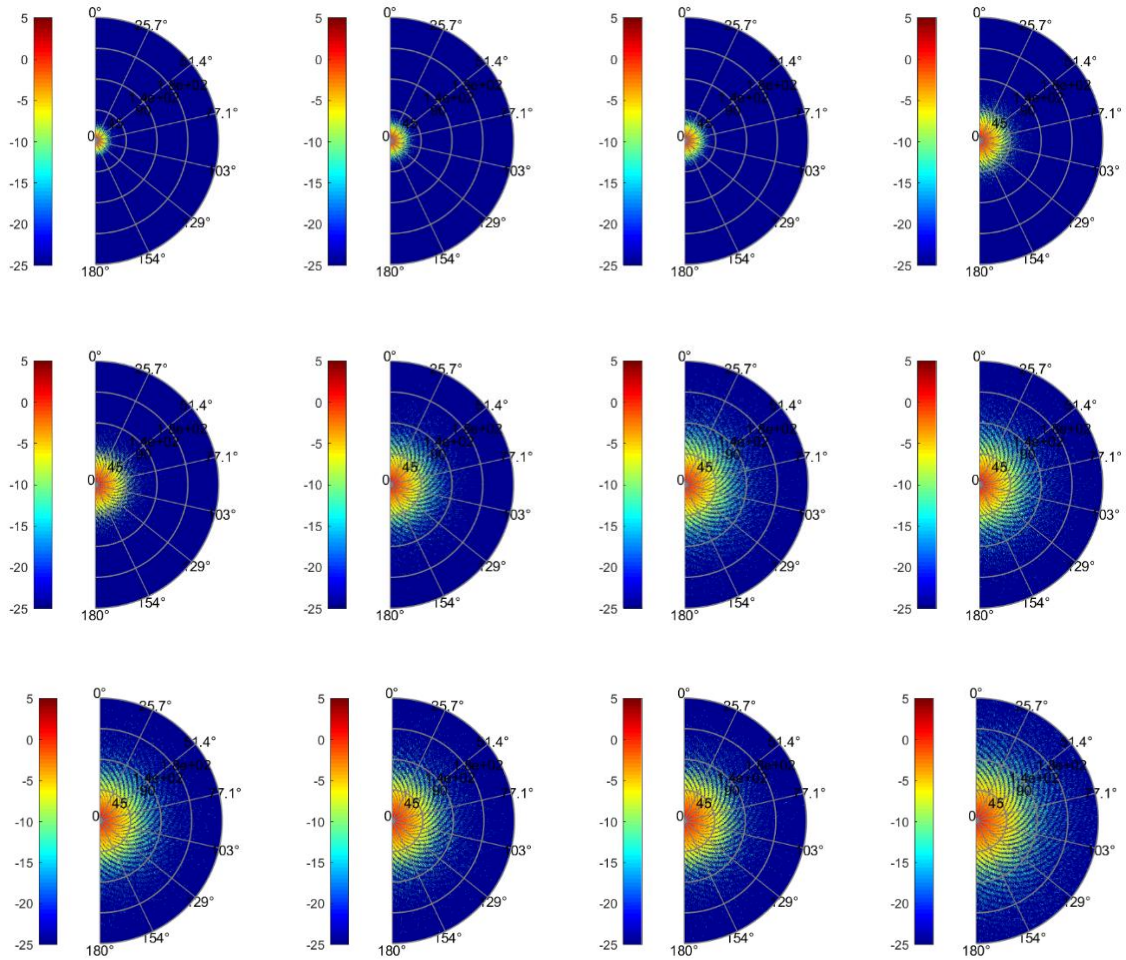



**Hình 5.10** Phổ hấp thụ theo độ sâu (z) của mô hình có lớp máu động mạch

Nhận xét: Phổ hấp thụ theo độ sâu của mô hình thứ hai cũng có dạng tương tự như mô hình thứ nhất, tuy nhiên, biểu đồ lại cho thấy sự tăng cao đột ngột khi đến khoảng cách 0.21 cm, đó là vị trí của lớp máu. Lý do rất dễ thấy, đó là do tại lớp máu, hệ số hấp thụ rất lớn. Đối với bước sóng nhỏ (400-550), do khi đi đến lớp máu, trọng số đã không còn nhiều, nên tại 0.21 cm này, biểu đồ chỉ nhô lên một chút rồi giá trị nhanh chóng trở về 0. Đối với bước sóng lớn hơn, mật độ hấp thụ tăng cao rồi dốc xuống rất nhanh do độ hấp thụ vẫn còn lớn. Tuy nhiên, đến bước sóng 650 nm, độ chênh lệch của hấp thụ đã không còn nhiều nên đồ thị không dốc mà duy trì ổn định đến khi hết trọng số photon.




**Hình 5.11** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) của mô hình có lớp máu động mạch

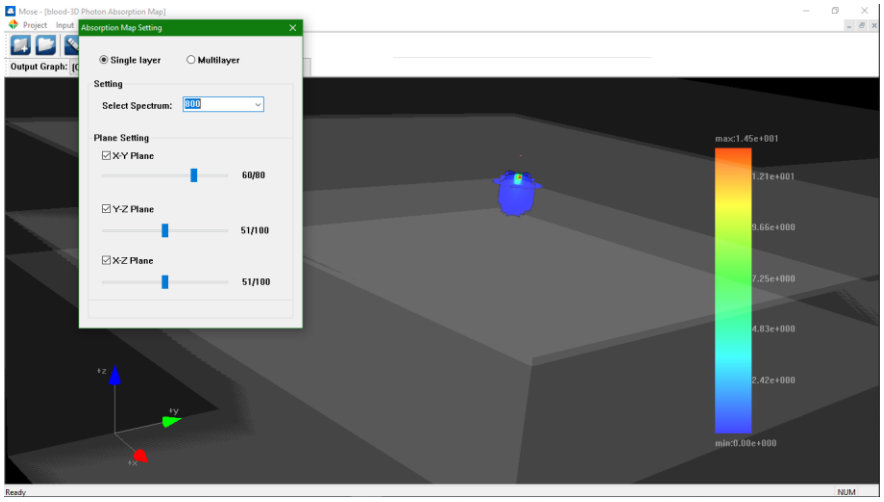


**Hình 5.12** Phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính (r) và góc a của mô hình có lớp máu động mạch

Nhận xét: Tương tự như phổ pản xạ khuếch tán theo bán kính, phổ phản xạ khuếch tán theo bán kính và góc cũng có sự phân biệt giữa các bước sóng khác nhau. So sự ảnh hưởng của độ hấp thụ cao, ánh sáng khó tán xạ và đổi hướng quay trở lại bề mặt tới, cho nên ở bước sóng 400 nm, phổ phản xạ khuếch tán không mở rộng, ngược lại đối với các bước sóng lớn hơn. Tuy nhiên , nếu chỉ xét bề mặt biên giới, thì ta sẽ thấy từng điểm ảnh ở bước sóng 400 nm có mật độ cao hơn nhiều so với ở bước sóng 1100 nm.

## 5.3 Mô phỏng và kết quả MOSE

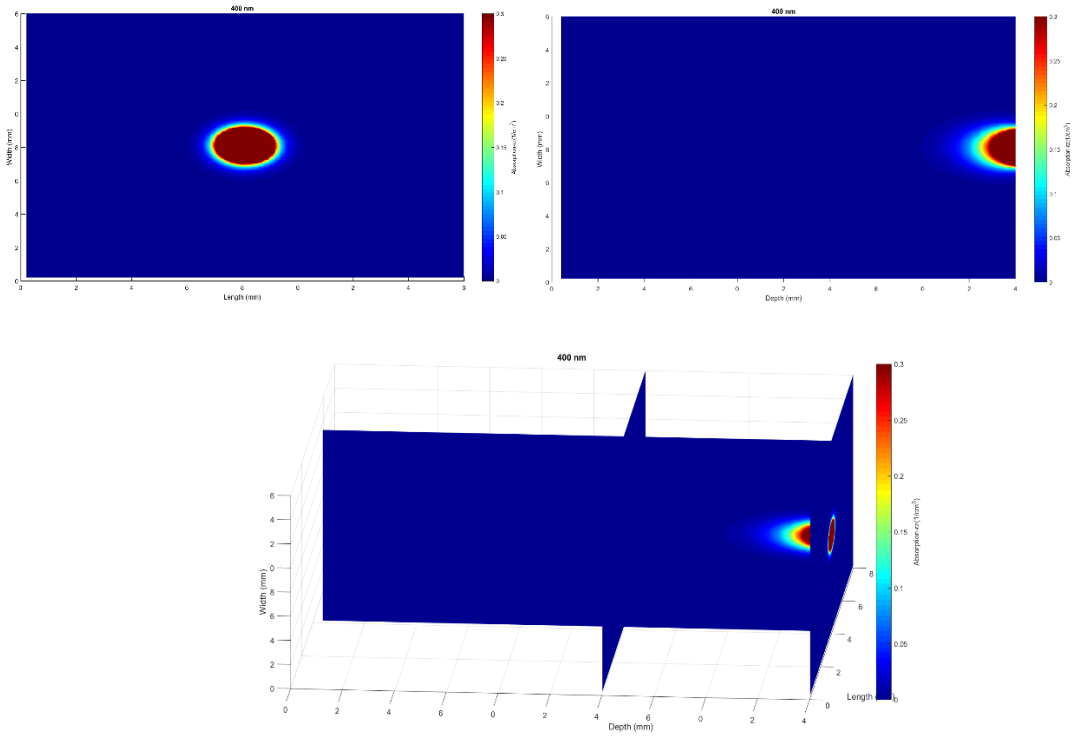
Mô hình các lớp da sử dụng trong MOSE cũng tương tự như trong MCML, tuy nhiên, các thông số được chuyển đơn vị từ xentimet qua milimet vì MCML sử dụng xentimet còn MOSE sử dụng milimet



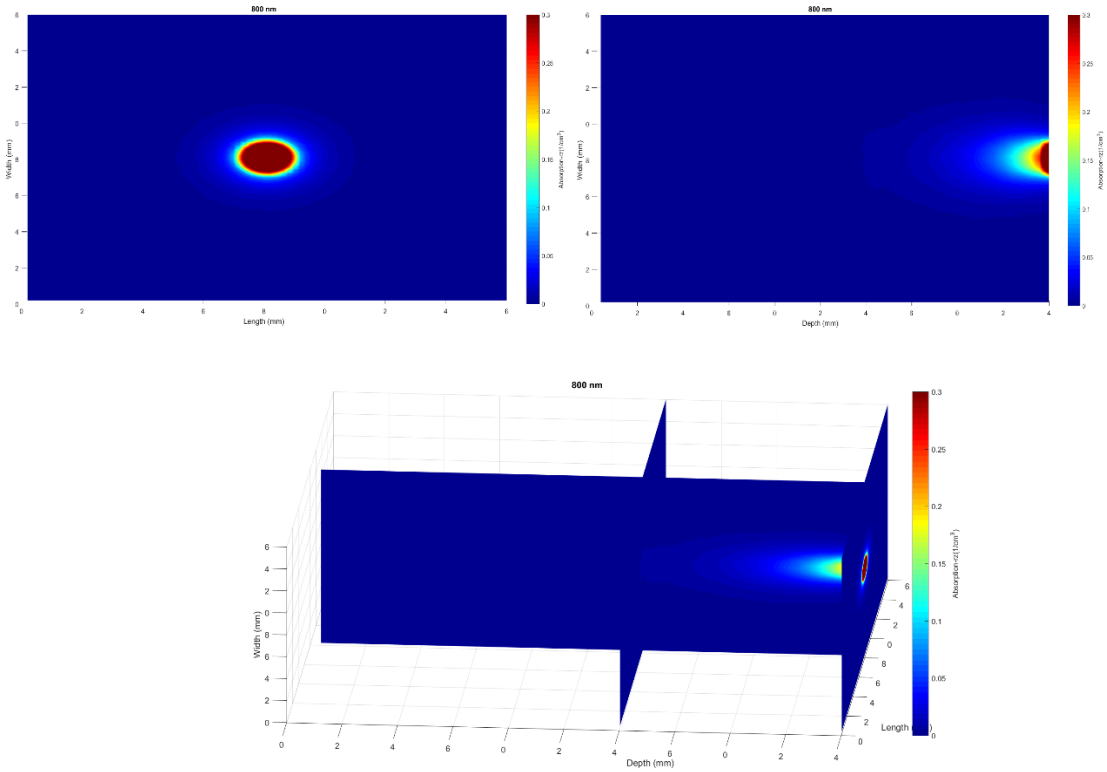

**Hình 5.13** Bản đồ hấp thụ của kết quả mô phỏng ba chiều

**Mô hình thứ nhất**

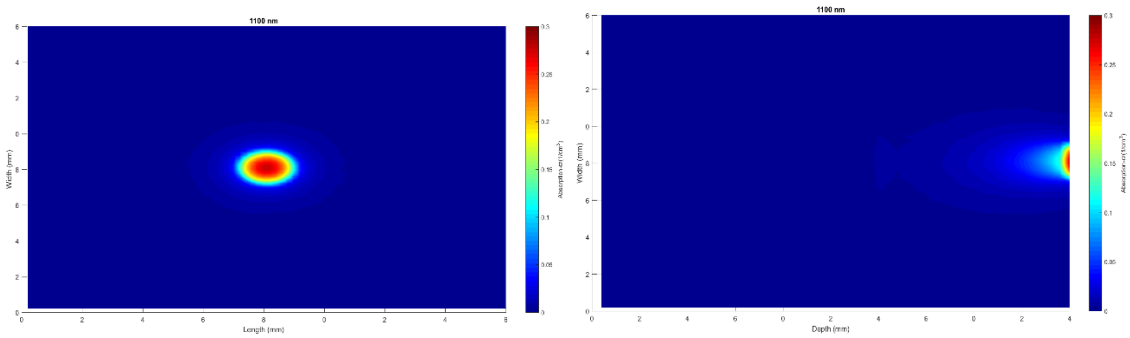
Ở đây, chúng tôi chỉ hiển thị ba bước sóng là 400 nm, 800 nm và 1100 nm để thấy rõ sự khác nhau giữa phổ hấp thụ ở những bước sóng gần tử ngoại, đỏ và cận hồng ngoại

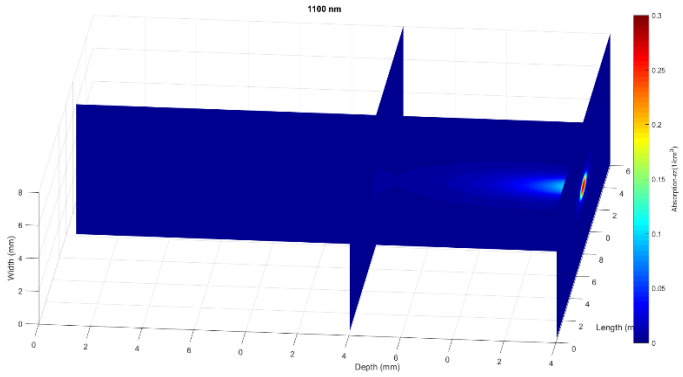



**Hình 5.14** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp mỡ ở 400 nm



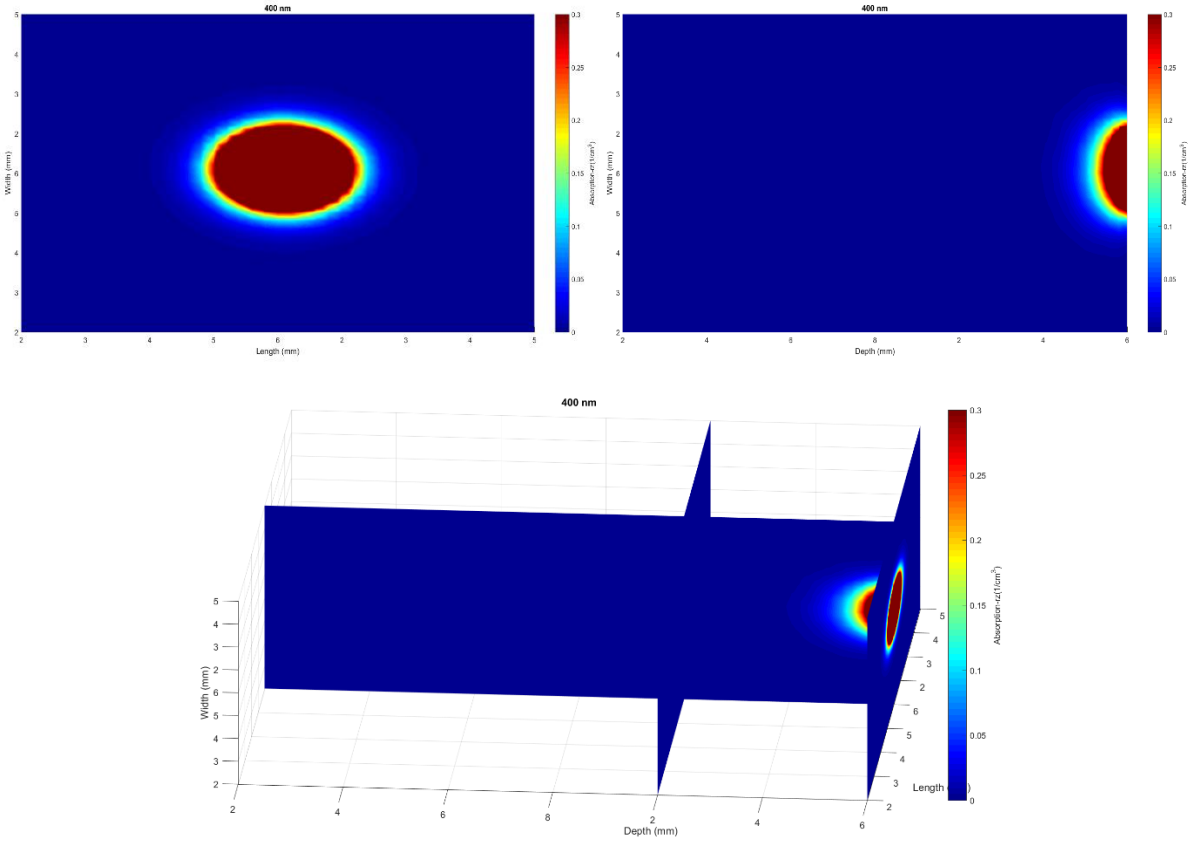

**Hình 5.15** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp mỡ ở 800 nm



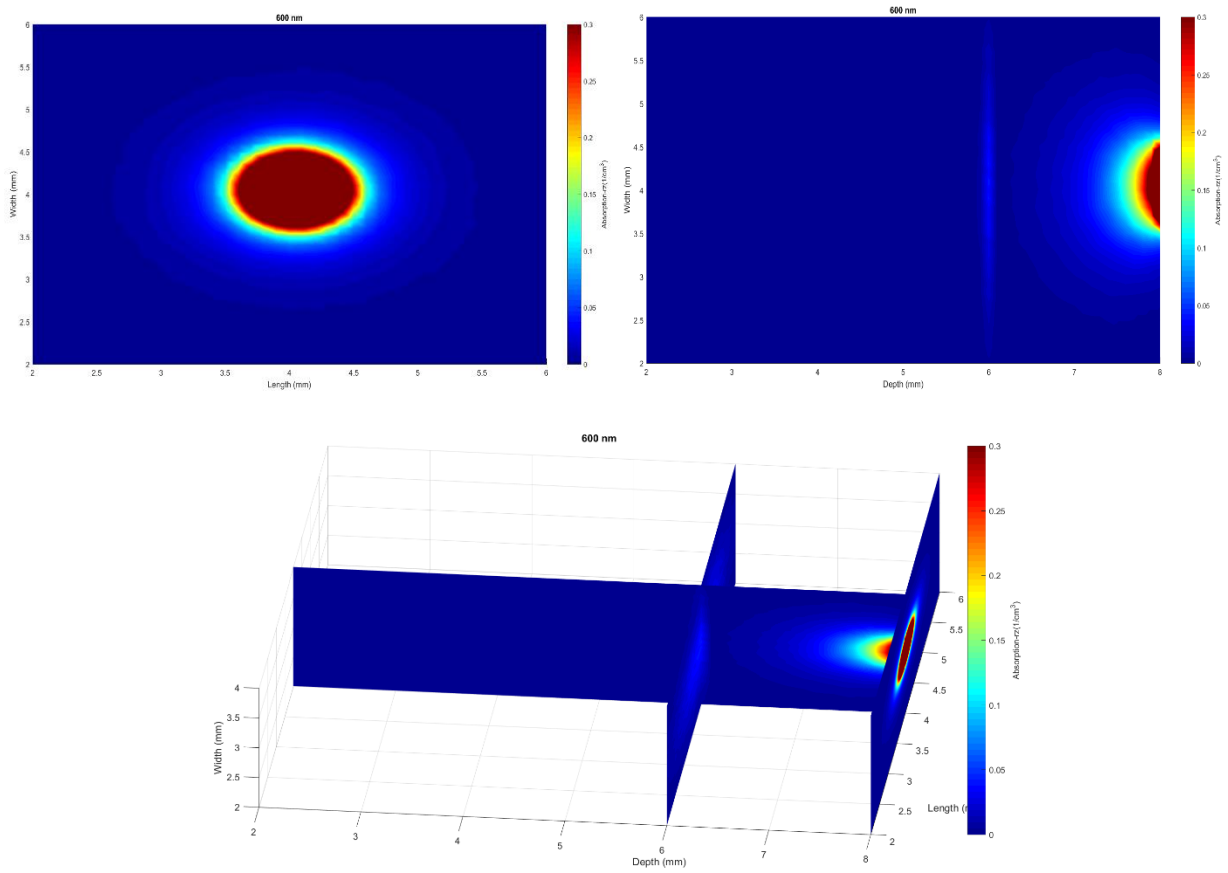



**Hình 5.16** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp mỡ ở 1100 nm

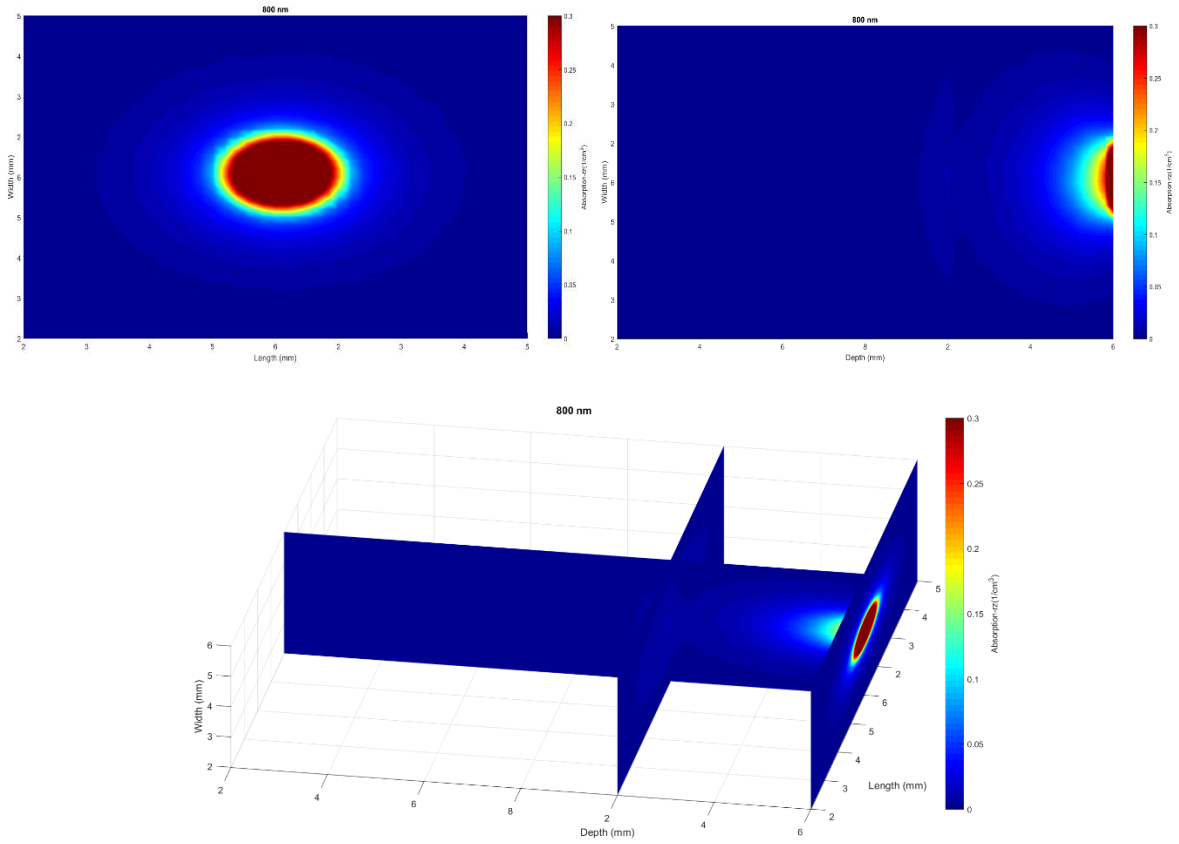
**Mô hình thứ hai**



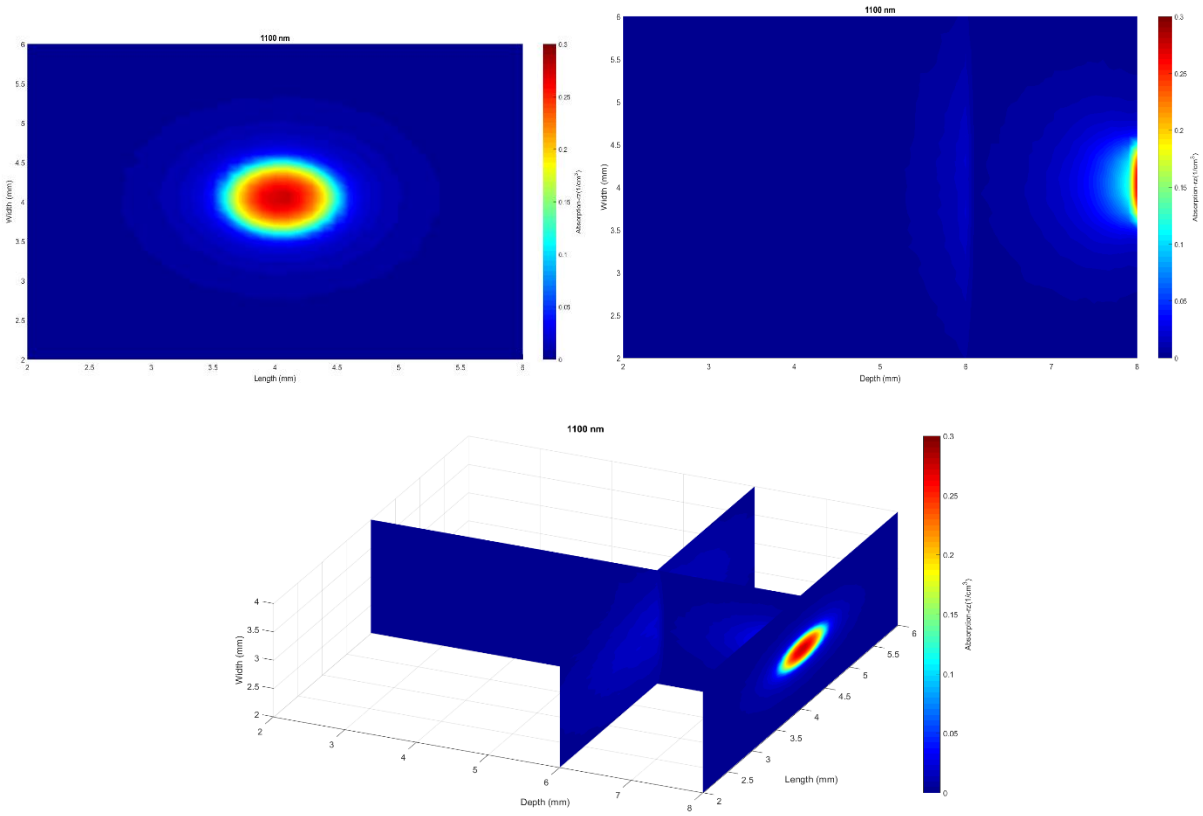

**Hình 5.17** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 400 nm




**Hình 5.18** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 600 nm




**Hình 5.19** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 800 nm




**Hình 5.20** Phổ hấp thụ của mô hình có lớp máu 1 mm ở 1100 nm

# 6. KẾT LUẬN VÀ HƯỚNG PHÁT TRIỂN

## 6.1 Kết luận

Trong bài viết này, chúng tôi đã nghiên cứu các tính chất quang học của ánh sáng đối với da, đồng thời lập bảng thống kê tính chất quang học của ánh sáng đối với da theo bước sóng từ 400 nm đến 1100 nm nhằm tạo một công trình nền tảng cho những nghiên cứu sau này, đặc biệt là các nghiên cứu về sự vận chuyển ánh sáng trong mô hình da. Ánh sáng khi đến mô, tương tác bằng cách hấp thụ, tán xạ ánh sáng rồi truyền sang mô/môi trường khác hoặc tán xạ trở lại bề mặt ánh sáng tới (phản xạ khuếch tán). Ánh sáng khi hấp thụ vào mô gây nên hiện tượng nhiệt, hiệu ứng kích thích sinh học, huỳnh quang,... có tác dụng trong trị liệu, chẩn đoán. Ánh sáng tán xạ làm tăng phạm vi lan truyền của ánh sáng trong mô, đồng thời tăng độ xuyên sâu của ánh sáng, giúp trị liệu hoặc chẩn đoán sâu hơn. Ánh sáng tán xạ có đặc điểm phụ thuộc vào độ hấp thụ và tán xạ của ánh sáng, có tác dụng rất lớn trong chẩn đoán, nhất là ánh sáng phản xạ khuếch tán.

Chúng tôi cũng đã thống kê một số ứng dụng chẩn đoán của phương pháp quang học phân tử, như phương pháp chụp cắt lớp quang học (OCT), quang-âm (PA), huỳnh quang, chụp cắt lớp quang học khuếch tán (DOT) bao gồm quang phổ cận hồng ngoại chức năng (FNIRS) và phương pháp siêu phổ/đa phổ (HSI/MSI). Với khả năng thu nhận nhiều thông tin từ những mô khác nhau,

những ứng dụng phổ biến của các phương pháp này là tạo ảnh da, nhãn khoa, gân, sụn, xương, thần kinh,... như chẩn đoán ung thứ vú, ung thư cổ tử cung, chụp mạch máu, chẩn đoán chấn thương não,...

Để so sánh dữ liệu nghiên cứu và thực tế, chúng tôi đã mô phỏng sự truyền ánh sáng trong mô hình da người trên các phần mềm MCML, MOSE và ValoMC. Trong đó, những phần mềm này đều dựa vào phương pháp Monte Carlo, "tiêu chuẩn vàng" trong việc mô hình hoá ánh sáng. Kết quả chúng tôi nhận được là phù hợp với thực tế, cho thấy khả năng ứng dụng của việc mô phỏng sự lan truyền ánh sáng trong mô hình da trong nghiên cứu, giúp giảm chi phí và có cái nhìn tương đối đối với sự tương tác giữa ánh sáng và mô, từ đó có những ứng dụng trong chẩn đoán và trị liệu. Ngoài ra, chúng tôi cũng so sánh kết quả mô phỏng của các phần mềm này, những ưu điểm và hạn chế của chúng, theo đó, chúng ta có thể lựa chọn công cụ mô phỏng phù hợp với mục đích của mình.

## 6.2 Hạn chế

Bảng thông số quang học mà chúng tôi lập ra chỉ có bước sóng từ 400 nm đến 1100 nm, vẫn còn nhiều vùng khác mà chúng tôi chưa khảo sát, như tử ngoại, hồng ngoại xa,... Số liệu chúng tôi lấy được là từ những nghiên cứu đã có, có một số là lấy từ đồ thị, cho nên có thể có sai số trong quá trình lấy số liệu. Ngoài ra, chúng tôi không tự đo được những thông số này, nên không thể kiểm soát độ chính xác của số liệu, tuy nhiên, số liệu từ những nghiên cứu được lấy từ những bài viết và sách báo được công bố, có tính chính xác nhất định.

Trong nghiên cứu của mình, chúng tôi chưa liệt kê hết được những ứng dụng của quang học phân tử, vẫn còn nhiều phương pháp mà chúng tôi chưa đề cập đến như MRI, PET, SPECT,... và những ứng dụng khác chẩn đoán và điều trị khác.

Đối với phần mô phỏng, chúng tôi mới chỉ sử dụng một số phần mềm, còn những phần mềm khác vẫn chưa tìm hiểu đến. Đặc biệt đối với MOSE và ValoMC, hai chương trình này nếu sử dụng mô hình lưới, hoặc thậm chí là mô hình lưới hình vật thể thì sẽ chính xác hơn mô hình hình dạng thông thường, tuy nhiên chúng tôi tạm thời chưa tạo được lưới. Chúng tôi chưa tự kiểm tra bằng thực nghiệm mà chỉ dựa vào những bài viết đã công bố để kiểm chứng độ chính xác mô phỏng.

## 6.3 Hướng phát triển

Mở rộng bảng thông số quang học của da, tìm kiếm số liệu mới hơn, chính xác hơn

Trong mô phỏng, chúng tôi cần tạo lưới tam giác hoặc lưới tứ diện nhằm mô phỏng chính xác hơn và đẹp hơn. Ngoài ra còn lập mô hình kiểm tra tính chất quang của mô và phổ hấp thụ, phản xạ, truyền qua của mô, nhằm so sánh với mô phỏng. Dựa vào sự nhận biết của mình đối với các số liệu có được, dự kiến các thông số chẩn đoán và điều trị thích hợp, ước tính khả năng tương tác (hấp thụ, tán xạ) của ánh sáng trong mô, từ đó kiểm chứng bằng thực nghiệm (ví dụ theo dõi tốc độ lành vết thương trên chuột, chụp ảnh mạch máu,...)

# TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] V. V. Tuchin, « Lasers and Fiber Optics in Biomedical Science,» vol. 2nd ed, Fizmatlit, Moscow (2010).

[2] V. V. Tuchin, «Tissue Optics and Photonics: Light-Tissue Interaction,» n. 2015.06.30, 2015.

[3] Jorge R. Lorenzo, Principles Of Difuse Light Propagation: Light Propagation in Tissues with Applications in Biology and Medicine, Singapore: World Scientific Publishing, 2012.

[4] V. Sauvage, «Fluorescence and Diffuse Reflectance Spectroscopy and Endoscopy for Tissue Analysis».

[5] Steven L Jacques, «Optical properties of biological tissues: a review,» *Phys. Med. Biol.* , vol. 58, pp. 37-61, 2013.

[6] L. V. W. a. H.-I. Wu, «Biomedical Optics: Principles and Imaging,» *Wiley-Intersience, Hoboken,* NJ 2007.

[7] A. J. Welch et al., Optical-Thermal Respond of Laser-Irradiated Tissue, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 2011.

[8] T. M. Thái, «Những vấn đề cơ bản về hiệu ứng kích thích sinh học».

[9] Min Xu, Tao T. Wu, Jianan Y. Qu, «Unified Mie and fractal scattering by cells and experimental study on application in optical characterization of cellular and subcellular structures,» *Journal of Biomedical Optics,* vol. 13(2), n. 024015, 2008.

[10] Kazuhisa Hattori et al, «MEASUREMENT OF OPTICAL PROPERTIES OF HUMAN SKIN,» in *2011 8th Thermal Engineering Joint Conference,* Honolulu, Hawaii, USA, March 13-17, 2011.

[11] Elena Salomatina et al, «Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range,» *Journal of Biomedical Optics,* November 2006.

[12] Brandon S. Nichols et al., «A Quantitative Diffuse Reflectance Imaging (QDRI) System for Comprehensive Surveillance of the Morphological Landscape in Breast Tumor Margins,» *PLOS ONE* , vol. 10 (6), n. 0127525, 2015.

[13] Giorgio C. Romano et al., «Laser-tissue interaction principles : tissue optical properties in the light therapeutic window ( invited review ),» *Energy for Health* , vol. 12.

[14] T. Lister, «Optical properties of human skin,» *Journal of Biomedical Optics 17(9),* September 2012.

[15] VoDTuan, Biomedical Photonics Handbook, Volume I, Boca Raton, Florida: CRC Press, 2015.

[16] Bashkatov AN et al, «Optical properties of skin, subcutaneous and muscle tissues: a review,» *Journal of Innovative Optical Health Sciences,* pp. 4: 9-38, 2011.

[17] C Rebecca Simpson et al, «Near-infrared optical properties of ex vivo human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo inversion technique,» *Phys. Med. Biol,* 1998.

[18] Florian Stelzle et al., «In Vivo Optical Tissue Differentiation by Diffuse Reflectance Spectroscopy: Preliminary Results for Tissue-Specific Laser Surgery,» *Surgical Innovation,* vol. 19(4), pp. 385-393, 2012.

[19] Yoko Hoshia and Yukio Yamada, «Overview of diffuse optical tomography and its clinical applications,» *Journal of Biomedical Optics,* vol. 21 (9), n. 091312, 2016.

[20] Raphael Aronson and Noel Corngold, «Photon diffusion coefficient in an absorbing medium,» *Optical Society of America,* vol. 16 (5), pp. 1066-1071, 1999.

[21] Rachid Elaloufi, Remi Carminati, and Jean-Jacques Greffet, «Definition of the diffusion coefficient in scattering and absorbing media,» *Optical Society of America,* vol. 20, n. 4, pp. 678-685, 2013.

[22] Lihong V. Wang and Hsin-i Wu, Biomedical Optics: Principles And Imaging, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2007.

[23] Bing Yu et al., «Diffuse reflectance spectroscopy of epithelial tissue with a smart fiber-optic probe,» *BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS,* vol. 5 (3), pp. 675-689, 2014.

[24] Changfang Zhu et al., «Diagnosis of Breast Cancer Using Diffuse Reflectance Spectroscopy: Comparison of a Monte Carlo Versus Partial Least Squares Analysis Based Feature Extraction Technique,» *Lasers in Surgery and Medicine,* vol. 38, pp. 714-724, 2006.

[25] «SỰ TƯƠNG TÁC GIỮA LASER VÀ MÔ CƠ THỂ( Phần I),» [Online]. Available: http://yhocthammy.com/su-tuong-tac-giua-laser-va-mo-co-the-phan-i/.

[26] B. C. Wilson, G. Adam, «A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue,» *Med. Phys.*, vol. 10, pp. 824-830, 1983.

[27] B. Baumann, «Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography: A Review of Technology and Applications,» *Applied Sciences*, vol. 7, n. 474, 2017.

[28] Srivalleesha Mallidi et al, «Photoacoustic imaging in cancer detetion, diagnosis and steatment guidance,» *Trends Biotechnol*, p. 213–221, 2011 May.

[29] T. Vo-Dinh, Biomedical Photonics Handbook Volume II: Biomedical Diagnostics, Boca Raton, Florida: CRC Press, 2015.

[30] Hsiang-Wen Hou, Shih-Yang Wu, Hao-Jan Sun, and Wai-Chi Fang, A Non-Linear Iterative Method for Multi-Layer DOT Sub-Surface Imaging System, Chicago, IL, USA: IEEE , 2014.

[31] Nicusor Iftimia, William R. Brugge and Daniel X. Hammer, Advances in Optical Imaging for Clinical Medicine, John Wiley & Sons, Inc. , 2011.

[32] L. Emberson, «How Does Experience Shape Early Development? Considering the Role of Top-Down Mechanisms,» in *Advances in Child Development and Behavior*, US, Elsevier Inc., 2017, pp. 20-22.

[33] Matthew E. Eames et al., «Three Dimensional Near Infrared Tomography of the Breast,» *Proc. of SPIE-OSA Biomedical Optics*, vol. 6629, 2007.

[34] José León-Carrión and Umberto León-Domínguez, «Functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS): Principles and Neuroscientific Applications,» in *Neuroimaging - Methods*, InTech, 2012, pp. 47-74.

[35] Guolan Lu and Baowei Fei, «Medical hyperspectral imaging: a review,» *Journal of Biomedical Optics*, vol. 19 (1), n. 010901, pp. 1-23, 2014.

[36] Jie Tian, Molecular Imaging, Heidelberg New York Dordrecht London: Springer, 2013.

[37] L. Wang, S. Jacques; L. Zheng, «Monte Carlo modeling of photon transport in multi-layered tissues,» *Methods Programs Biomed.*, vol. 47, pp. 131-146, 1995.

[38] S. Prahl; S. Jacques; A. Welch, «A Monte Carlo model of light propagation in tissue,» *SPIE Series*, vol. IS 5, pp. 102-111, 1989.

[39] Ren S; Chen X; Wang H; Qu X; Wang G et al., «Molecular Optical Simulation Environment (MOSE): A Platform for the Simulation of Light Propagation in Turbid Media,» *PLoS ONE,* vol. 8(4): e61304, 2013.

[40] Hui Li et al., «A Mouse Optical Simulation Environment (MOSE) to Investigate Bioluminescent Phenomena in the Living Mouse with the Monte Carlo Method,» *Acad Radiol,* vol. 11, p. 1029–1038, 2004.

[41] Jie Tain, Jimin Liang, Shenghan Ren, Ge Wang, MOSE - Molecular Optical Simulation Environment: User Manual, 2011.

[42] Robert Polski, Ricardo Huancaya and Hyun J. Kwon, «Simulation of Light Propagation in Skin and Subcutaneous Blood Vessels,» *Posters, Presentations, and Papers,* vol. 8, pp. htps://digitalcommons.andrews.edu/student-works/8, 2014.