



На правах рукописи

Мохаммед Раид Мохаммед Саиф

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВНЕШНЕЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ
КОМПРЕССИИ НА ОПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА *IN VIVO***

03.01.02 – биофизика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Санкт-Петербург - 2018

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель:

Синичкин Юрий Петрович

доктор физико-математических наук, профессор
кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО
«Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г.
Чернышевского»

Официальные оппоненты:

Беликов Андрей Вячеславович

доктор физико-математических наук, профессор
факультета лазерной и световой инженерии
ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский Петербургский
национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики»

Зимняков Дмитрий Александрович

доктор физико-математических наук,
профессор, зав. кафедрой Физики
ФГБОУ ВО «Саратовский государственный
Технический Университет имени Гагарина Ю.А.»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное
учреждение высшего образования «Саратовский
государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского» Минздрава России,

Защита состоится 21 февраля 2019 г. в 16-00 час. на заседании диссертационного совета Д 212.229.25 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (ФГАОУ ВО «СПбПУ») по адресу: 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 11,

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГАОУ ВО «СПбПУ» по адресу: 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29, а также на сайте ФГАОУ ВО «СПбПУ»: <http://www.spbstu.ru>

Автореферат разослан «__»

2018 г

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.б.н., доцент



Линькова Наталья Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Работа посвящена развитию оптических методов диагностики и мониторинга биологических сред, основанных на анализе спектральных изменений биологических тканей, подвергнутых внешней механической компрессии.

Исследования влияния внешней механической компрессии на спектры диффузного отражения биоткани *in vivo* представляет интерес по двум причинам. Во-первых, многочисленные исследования показали, что метод диффузной отражательной спектроскопии обладает огромным потенциалом в области неинвазивной диагностики и мониторинга состояния человека в условиях *in vivo* (см., например, [1]). Распространяющийся внутри биоткани человека свет изменяется в соответствии с ее морфологическими, биохимическими и физиологическими характеристиками, поэтому спектральный состав диффузно отраженного биологической тканью излучения несет информацию о ее морфо-функциональном состоянии, структуре, количестве и кровенаполненности кровеносных сосудов, пространственном распределении хромофоров внутри биоткани и их концентрации, интенсивности происходящих в биологической ткани метаболических процессов [1, 2]. Во-вторых, ключевым элементом в таких исследованиях в условиях *in vivo* является волоконно-оптический датчик, который соприкасается с поверхностью исследуемой биоткани, при этом происходит неконтролируемое надавливание датчиком на поверхность биоткани. В результате спектр диффузного отражения может неконтролируемым образом меняться в зависимости от величины механической компрессии, что является источником ошибок при анализе спектров. В-третьих, в отличие от локальной механической компрессии, создаваемой торцом волоконно-оптического датчика (площадь прилагаемого давления порядка нескольких мм²), в результате чего в месте приложения компрессии в биоткани создается градиент показателя преломления, и этот объем среды выполняет роль линзы для распространяющегося в биоткани зондирующего света, при наложении механической компрессии на относительно большой участок поверхности биоткани (порядка нескольких см²) сжатый объем биоткани представляет собой пространственно однородную среду без линзовых эффектов, в которой в отличие от области локальной компрессии характер распространения света меняется, что может проявиться в изменении формы спектра диффузного отражения. В-четвертых, в результате приложения внешней компрессии уменьшаются рассеивающие свойства биоткани, поэтому данный компрессионный метод является альтернативным методом управления оптическими параметрами биотканей широко используемому методу, основанному на внедрении в биоткань химических агентов [3-5]. В-пятых, в настоящее время внешняя механическая компрессия используется как метод, позволяющий увеличить разрешение и контраст изображения при оптической когерентной томографии биотканей [6]. Далее, метод компрессионного оптического просветления биотканей может быть реализован в приборном варианте, в частности, разработано устройство для просветления биотканей (tissue optical clearing device, TOCD) [7]. Наконец, механическая компрессия кожи позволяет оценивать содержание в ней хромофоров, поглощение которых в нормальных условиях завуалировано поглощением других хромофоров. Так, выдавливание крови из области приложения компрессии позволяет оценивать по спектрам

диффузного отражения содержание в коже каротиноидов [8], а по спектрам флуоресценции содержание в коже меланина [1, 2].

Метод иммерсионного просветления биотканей в настоящее время используется достаточно широко. Основными механизмами снижения рассеяния света были предложены: (1) водный транспорт из компонентов тканей; (2) замена межклеточной или внутриклеточной воды химическим агентом, который лучше соответствует более высокому показателю преломления естественных белковых структур; и (3) структурная модификация или диссоциация коллагеновых волокон [3, 9]. При удалении воды из пространства между коллагеновыми фибриллами увеличивается концентрация протеинов и сахара, в результате чего уменьшается рассогласование показателей преломления и снижается рассеяние. Поскольку водный транспорт играет важную роль в процессах просветления биотканей и так как результатом воздействия внешней компрессии может быть изменение содержания воды в области приложения компрессии, то компрессионный метод управления оптическими параметрами биотканей является перспективным методом. Более того, он имеет ряд преимуществ по сравнению с иммерсионным методом, так как механическое сжатие биоткани является менее инвазивным и безопасным, в отличие от иммерсионного метода сохраняются барьерные функции рогового слоя и всего эпидермиса в целом, компрессионный метод должен обладать большим быстрым действием, большей управляемостью и повторяемостью результатов применения.

Несмотря на довольно большой объем публикаций, связанных с механической компрессией биотканей, приведенные в них результаты зачастую носят противоположный характер, что обусловлено, прежде всего, разными условиями наложения внешней компрессии (локальной или нелокальной) и разными геометриями детектирования отраженного биотканями света (с использованием волоконно-оптического датчика или без него) [10]. Кроме того, эффект влияния внешней компрессии на оптические свойства биоткани носит инерционный характер, поэтому результаты измерений зависят от времени задержки между наложением компрессии и контактом и измерениями [11]; данный вопрос недостаточно изучен. Наконец, важно знать механизм изменения оптических свойств биоткани в условиях внешней компрессии, динамику изменения структуры и компонентного состава биоткани при внешнем давлении и влияние таких изменений на оптические свойства биоткани и, как следствие, на спектры диффузного отражения биоткани. Данные вопросы несомненно определяют актуальность работы.

Цель и задачи исследований

Целью данной работы являлось выявление закономерностей динамики изменения оптических и физиологических свойств кожи *in vivo* в процессе наложения и снятия внешней механической компрессии разной величины и разного размера области приложения внешнего давления.

Для достижения поставленной цели должны быть решены следующие **задачи**:

1. Экспериментальное исследование изменений, происходящих в спектрах диффузного отражения кожи *in vivo* при наложении внешней компрессии.

2. По спектрам диффузного отражения исследование количественных изменений оптических свойств кожи при наложении внешней компрессии.

3. Теоретический анализ изменений оптических и физиологических свойств кожи при наложении компрессии.

4. Определение роли воды в формировании рассеивающих и поглощающих свойств кожи *in vivo*.

Научная новизна:

Внешняя механическая компрессия биотканей в условиях *in vivo* приводит к уменьшению их рассеивающих и поглощающих свойств, при этом в инфракрасной (ИК) области спектра уменьшение рассеивающих свойств превалирует над уменьшением поглощения. Процесс происходит в течение нескольких минут.

Установлены особенности изменения оптических параметров биоткани при вариации интенсивности внешней компрессии и области ее наложения. При наложении компрессии величиной 10^5 Па кровь (гемоглобин) полностью удаляется из области компрессии *in vivo* кожной ткани.

Разработана методика оценки изменения содержания воды в коже в результате внешней компрессии.

Снятие внешней компрессии восстанавливает оптические параметры кожной ткани в течение 40-50 минут, при этом в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение (в 2 – 3 раза по сравнению с кожей без компрессии) содержания крови (гемоглобина) с высокой (в 2 – 5 раз выше по сравнению с кожей без компрессии) степенью оксигенации.

Практическая значимость работы

Определены времена изменения оптических и физиологических характеристик кожи в результате внешней компрессии и восстановления их первоначальных параметров после ее снятия.

Отмечено, что после снятия внешней компрессии в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение (в 2 – 3 раза по сравнению с кожей без компрессии) содержания крови (гемоглобина) в области компрессии, при этом значительно увеличивается (в 2 – 5 раз выше по сравнению с кожей без компрессии) степень оксигенации гемоглобина. Данный факт может быть положен в основу методики управления степенью оксигенации гемоглобина крови биотканей.

Разработана методика оценки в изменении содержания воды в биоткани в результате внешней компрессии.

Результаты исследований способствуют дальнейшему развитию метода оптического просветления биотканей, применяемого для управления оптическими параметрами тканей для повышения эффективности диагностики и терапии различных заболеваний оптическими методами.

Основные положения и результаты исследований, выносимые на защиту:

1. При наложении компрессии величиной более 10^5 Па кровь (гемоглобин) полностью удаляется из области компрессии.
2. Методика оценки изменения содержания воды в коже в условиях компрессии кожи, заключающаяся в сравнении относительного изменения коэффициентов отражения кожи в условиях компрессии на двух длинах волн, на одной из которых (810 нм) коэффициент отражения определяется только рассеянием света, а на другой (1070 нм) – как рассеянием, так и поглощением воды.

3. Снятие внешней компрессии восстанавливает оптические параметры *in vivo* кожной ткани в течение 40-50 минут, при этом в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение (в 2 – 3 раза по сравнению с кожей без компрессии) содержания крови (гемоглобина) с высокой (в 2 – 5 раз выше по сравнению с кожей без компрессии) степенью оксигенации гемоглобина.

Достоверность полученных результатов обеспечивается качественным и количественным соответствием выводов теоретических результатов основным результатам, полученным экспериментально. Достоверность экспериментальных результатов обеспечена применением стандартной измерительной аппаратуры, обработкой экспериментальных данных с использованием стандартных методов, а также их соответствием результатам, полученным другими исследователями, и широкой апробацией результатов.

Апробация работы.

Основные результаты работы были представлены в 9 докладах на российских и международных конференциях: Saratov Fall Meeting (SFM'13), 1st International Symposium on Optics and Biophotonics; Saratov Fall Meeting (SFM'14), International Symposium on Optics and Biophotonics II; Всероссийская научная школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине», Саратов, 2014 г.; Ежегодная всероссийская Школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015», Саратов, 2015; Saratov Fall Meeting (SFM'16), International Symposium on Optics and Biophotonics IV; XIV Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, 2016 г., Самара, Россия.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 7 работ, из них 2 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК

Личный вклад автора состоит в участии планирования исследований совместно с научным руководителем. Критический анализ опубликованной литературы, проведение экспериментальных работ и обработка полученных данных, проведение компьютерного моделирования и анализ полученных результатов выполнены непосредственно автором.

Объем и структура работы.

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка литературы, включающего 82 источника. Общий объем диссертации составляет 110 страниц, включая 49 рисунков и 6 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность темы, сформулирована цель и задачи работы в рамках диссертационного исследования, ее научная новизна и практическая значимость, сформулированы основные результаты и положения, выносимые на защиту, отмечена апробация работы, публикации и личный вклад автора, определена структура и объем диссертации.

В **главе 1** приведен критический анализ опубликованных результатов по влиянию внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства биотканей.

Прикладываемая к биотканям, как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, внешняя компрессия приводит к изменению коллимированного и диффузного пропускания (*in vitro*) и диффузного отражения (*in vitro*, *in vivo*), что является результатом изменения геометрии ткани (ее толщины и плотности) и ее оптических параметров. Компрессия уменьшает диффузное отражения и увеличивает пропускание образцов биоткани независимо от их состояния (*in vitro* или *in vivo*), при этом компрессия по-разному действует на коэффициенты поглощения и рассеяния ткани. Противоречивые результаты, по-видимому, связаны с разной геометрией детектирования рассеянного сигнала и разным размером области приложения компрессии. *In vitro* эксперименты проводились с образцами с большими площадями (большими 100 мм²) прикладываемого давления, в то время как в условиях *in vivo* измерения в большинстве случаев проводились с использованием волоконно-оптических датчиков.

Увеличение компрессии приводит к разному поведению спектров диффузного отражения: в одном случае варианте коэффициент отражения уменьшался во всем диапазоне спектра от 400 до 2000 нм, в другом – спектры показывали наличие изобестической точки около 600 нм, ниже которой коэффициенты отражения увеличивались, а выше уменьшались. При большом давлении происходят значительные спектральные изменения при продолжительной компрессии, при этом давление датчика влияет не только на оптические, но и физиологические параметры кожной ткани.

При наложении компрессии уменьшаются диаметры кровеносных сосудов, содержание гемоглобина и степень его оксигенации. В одной работе отмечена возникновение гиперемии при периодическом импульсном наложении компрессии. Отмечено влияние подкожных тканей. При этом изменения в спектрах специфичны для кожи разной морфологии, в зависимости от под тканевой субстанции.

Основным фактором, влияющим на оптические и физиологические свойства биоканей в условиях компрессии, является вода, а также ее перемещение в биоткани, зависящее от соотношения свободной и связанной воды. Как механические, так и оптические изменения, происходящие в биотканях при наложении компрессии, хорошо описываются двухфазной моделью биоткани.

В главе 2 для оценки изменений физиологических и оптических свойств в коже *in vivo*, подверженной внешней механической компрессии, и их влияния на спектры диффузного отражения кожи были проведены расчеты спектров диффузного отражения модели кожи с учетом изменения ее поглощающих и рассеивающих свойств, проявляющихся при наложении внешней компрессии.

Расчет спектра диффузного отражения кожной ткани $R(\lambda)$ проводился на основе упрощенной модели кожной ткани, согласно которой кожа представлена в виде однородной полу бесконечной рассеивающей среды с поглощением. Такая модель кожной ткани для анализа спектров диффузного отражения кожи вполне приемлема, так как рассеивающие свойства кожи определяются, главным образом, водой, содержание которой в коже хотя и имеет определенный градиент по мере проникновения в кожу (от 15% в роговом слое до 70% на глубине дермы), но беря во внимание толщины слоев, можно считать ее распределение в коже однородным. То же относится и к поглощению кожи в ближнем ИК диапазоне, так как в этом диапазоне основным хромофором является вода. Что касается сине-зеленого

спектрального диапазона, то здесь в поглощении играет кровь папиллярной и частично ретикулярной дермы, по толщине превышающей эпидермис.

Оптические свойства такой среды характеризуется спектральными зависимостями коэффициента поглощения $\mu_a(\lambda)$ и приведенного коэффициента рассеяния $\mu'_s(\lambda)$, который связан с коэффициентом рассеяния $\mu_s(\lambda)$ и фактором анизотропии рассеяния $g(\lambda)$ простым соотношением $\mu'_s(\lambda) = \mu_s(\lambda)(1 - g(\lambda))$. В диффузионном приближении теории переноса излучения авторами работы [12] получено аналитическое выражение для спектральной зависимости коэффициента диффузного отражения света такой средой в виде:

$$R = \frac{a'}{2} \left(1 + \exp \left(-\frac{4}{3} A \sqrt{3(1-a')} \right) \right) \frac{1}{1 + \sqrt{3(1-a')}}, \quad (1)$$

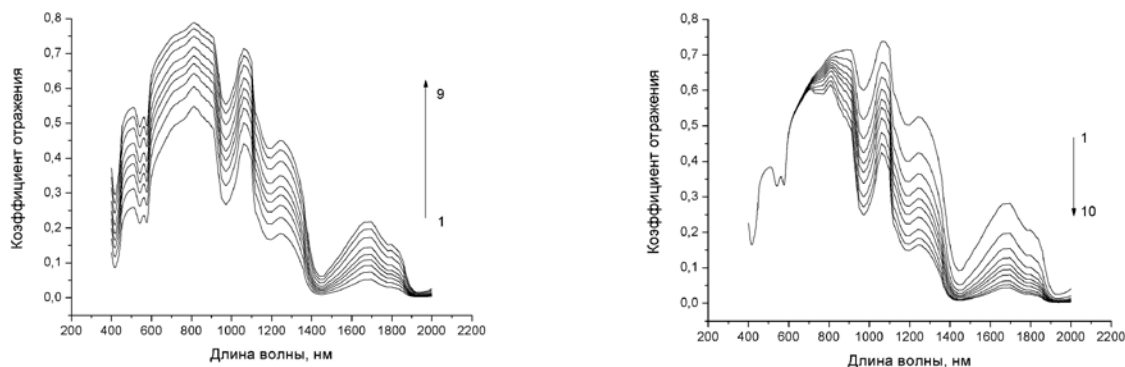
где $a' = \frac{\mu'_s}{\mu_a + \mu'_s}$, коэффициент A введен для учета Френелевского отражения на границе раздела воздух/среда. Для каждой ткани величина $(4/3)A$ равна 3,72.

Спектр поглощения $\mu_a(\lambda)$ модельной среды определялся тремя основными хромофорами (меланином и гемоглобином в видимой области и водой в ближней инфракрасной области) со своими относительными вкладами (C_{hem} , C_{mel} , C_{water}). Рассеяние модельной среды определялось спектральной зависимостью приведенного коэффициента рассеяния дермы, которую можно представить как суперпозицию рассеяния Релея и рассеяния Ми, со своим относительным вкладом (C_{scat}). Расчет спектра диффузного отражения заключался в определении значений коэффициентов C_{hem} , C_{mel} , C_{water} , а также спектра приведенного коэффициента рассеяния (величину коэффициента C_{scat}), при которых рассчитанный спектр диффузного отражения кожи максимально совпадал с экспериментально полученным спектром с использованием техники интегрирующей сферы.

Влияние воды на спектры диффузного отражения кожи видно из спектров отражения модельной среды, рассчитанных при разных значениях приведенного коэффициента рассеяния среды (рис. 1а) и разном содержании воды в коже (рис. 15).

Содержание воды в модельном образце по-разному влияет на величину коэффициента отражения в ближней ИК области: уменьшение содержания воды в среде приводит к уменьшению ее поглощения, что отражается в увеличении коэффициента отражения; с другой стороны, уменьшение содержания воды приводит к уменьшению рассеивающих свойств среды, что ведет к уменьшению коэффициента отражения во всей области спектра от 400 до 2000 нм. Эти результаты могут быть положены в основу анализа экспериментально полученных спектров отражения кожи в ближнем ИК диапазоне.

В видимом диапазоне спектра компрессия кожи ведет к уменьшению поглощения биоткани, обусловленного кровью (гемоглобином), и как результат, к увеличению коэффициента отражения.



а

Рис. 1. Спектры диффузного отражения модельной среды с разными рассеивающими свойствами (а) и разным содержанием воды (б). Стрелки указывают увеличение рассеяния и поглощения

Результаты экспериментальных исследований влияния внешней механической компрессии кожи на спектр ее диффузного отражения приведены в главе 3.

Экспериментальная установка включала в себя волоконно-оптический датчик и два волоконно-оптических спектрометра USB4000 (Ocean Optics, США) и NIRQuest512-2.2 (Ocean Optics, США), сопряженных с персональными компьютерами, и обеспечивала регистрацию спектров диффузно отраженного кожей света в диапазоне от 400 до 2200 нм.

В работе для измерения спектров диффузного отражения кожи использовались волоконно-оптический датчик собственной конструкции и два волоконно-оптических датчика фирмы Ocean Optics (R400-7-VIS/NIR и R600-7-VIS-125F).

В первом случае конструкция датчика включала полукольцо радиусом 40 мм с закрепленными в нем двумя волоконно-оптическими световодами (диаметр сердцевины 400 мкм, числовая апертура 0.2) для подвода излучения к поверхности кожи и сбора отраженного ей света. На конце световода, подводящего свет по нормали к поверхности кожи, располагалась коллимирующая линза, в результате чего размер пятна облучения кожной поверхности составлял 6 мм. Приемный световод фиксировался под углом 30° по отношению к осветительному световоду на таком расстоянии от поверхности кожи, чтобы размер участка кожи, с которого собиралось диффузно отраженное кожей излучение, в два раза превышал размер пятна облучения кожи. Это делалось для минимизации потерь в детектируемом свете длинноволновой части спектра [10]. При регистрации спектров диффузного отражения кожи в условиях ее внешней механической компрессии между полукольцом волоконно-оптического датчика и поверхностью кожи помещалось тонкое кварцевое стекло диаметром 30 мм, на которое оказывалось давление p в диапазоне от 0 до 1.4×10^5 Па.

Во втором случае использовались волоконно-оптические датчики фирмы Ocean Optics, которые крепились в специальных держателях, которые обеспечивали необходимую область приложения давления на кожу. Размер области прикладывания давления обеспечивали либо торцы датчиков (3.2 мм, 6.3 мм), либо держатели (10 мм, 13,8 мм и 15,8 мм).

Использование двух спектрометров мотивировано тем, что влияние внешней компрессии на спектр отражения кожи в видимом диапазоне более информативен по сравнению со спектром отражения в ближней ИК области, так как внешнее давление влияет на содержание крови в кожной ткани, которое можно оценить по величине провала в спектре диффузного отражения в области спектра 545-575 нм. Более того, в области 700-800 нм влияние поглощения воды на спектр диффузного отражения минимально по сравнению с влиянием рассеяния света в биоткани, и можно считать, что изменения в спектре диффузного отражения кожи в этом диапазоне обусловлены в первую очередь именно рассеивающими свойствами кожи. Это учитывается при анализе изменения спектров отражения в ближней ИК области.

Объектом исследований являлась кожа внутренней стороны предплечья человека *in vivo*. Измерения спектров диффузного отражения кожи человека проводились на 10 добровольцах в возрасте 35 и 65 лет с кожей IV и III типа по Фитцпатрику соответственно.

В видимом диапазоне спектра наложение внешней компрессии приводит к уменьшению коэффициента отражения кожи во всей спектральной области. Этот процесс происходит приблизительно в течение 5 минут. На рисунках 2а – 2б приведена временная динамика спектров диффузного отражения кожи добровольца при наложении внешнего давления $p = 110$ кПа (рис. 2а) и после его снятия (рис. 2б). Использовался датчик размером 30 мм.

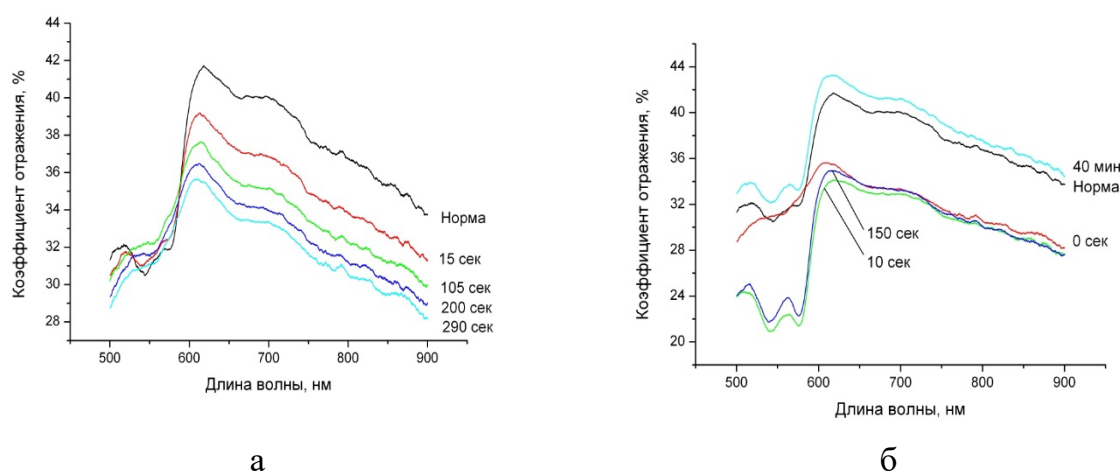


Рис. 2. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* при наложенной внешней механической компрессии (а) и после ее снятия (б). $p = 110$ кПа.

При наложении внешнего давления величиной $p = 110$ кПа помимо уменьшения коэффициента отражения во всей спектральной области происходит уменьшение величины провала в области спектра 500-600 нм, который практически исчезает через 5 минут после наложения компрессии.

После снятия внешней компрессии в течение нескольких секунд происходит резкое уменьшение коэффициента отражения кожи во всем спектральном диапазоне, при этом в области 500-600 нм вновь образуется провал. Восстановление спектра отражения в первоначальное состояние происходит в течение времени около 50 минут.

Такое поведение спектра диффузного отражения кожи обусловлено изменением рассеивающих и поглощающих свойств биоткани в условиях внешней механической компрессии. Основными хромофорами кожной ткани, определяющими спектр диффузного отражения кожи в видимом диапазоне спектра, являются пигмент меланин и гемоглобин [1]. Очевидно, что при наложении компрессии содержание меланина в коже не меняется, в то время как содержание крови в кожной ткани может существенно изменяться, особенно при наложении на кожу больших давлений (порядка 100 кПа). Об этом свидетельствует поведение провала в спектре отражения кожи в спектральной области 500-600 нм, обусловленного поглощением гемоглобина.

Это видно из рисунка 3, где приведены временные изменения коэффициентов отражения кожи добровольца на двух длинах волн (540 и 700 нм) в условиях наложения и снятия давления $p = 110$ кПа.

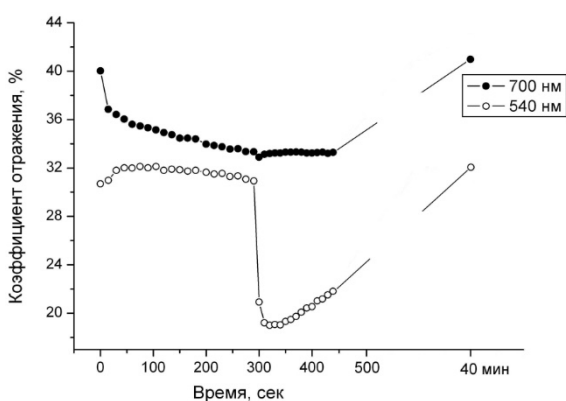
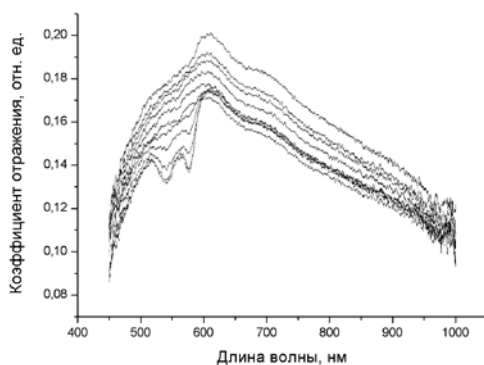
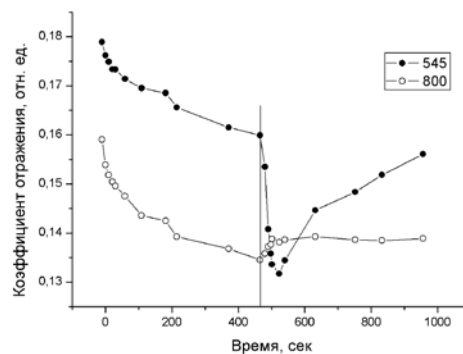


Рис. 3. Временные изменения коэффициентов отражения кожи предплечья человека на двух длинах волн в условиях внешней механической компрессии (интервал времени 0-290 сек) и при ее снятии (интервал времени свыше 290 сек), $p = 110$ кПа.



а



б

Рис. 4. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* при наложенной внешней механической компрессии (а) и на двух длинах волн (б) при внешней механической компрессии (интервал времени 0-462 сек) и при ее снятии (интервал времени свыше 462 сек). Давление 52 кПа.

Закономерности в изменении спектров отражения, отмеченные при использовании датчика 30 мм, проявляются и при использовании датчиков других размеров. Наложение компрессии приводит к уменьшению провала в области спектра 500-600 нм, где проявляются полосы поглощения гемоглобина. В случае, когда в спектре отражения кожи без компрессии проявление поглощения гемоглобина мало, в процессе компрессии кожи наблюдается уменьшение

коэффициента отражения во всем спектральном диапазоне 400-1000 нм (рис. 4). В случае, когда в спектре отражения кожи поглощение гемоглобина проявляется четко, при наложении компрессии наблюдается увеличение коэффициента отражения (рис. 5). Такое поведение спектров отмечается в литературе как “parallel pattern” и “pivot pattern”. Весь процесс стабилизации спектров происходит приблизительно в течение 4-5 минут.

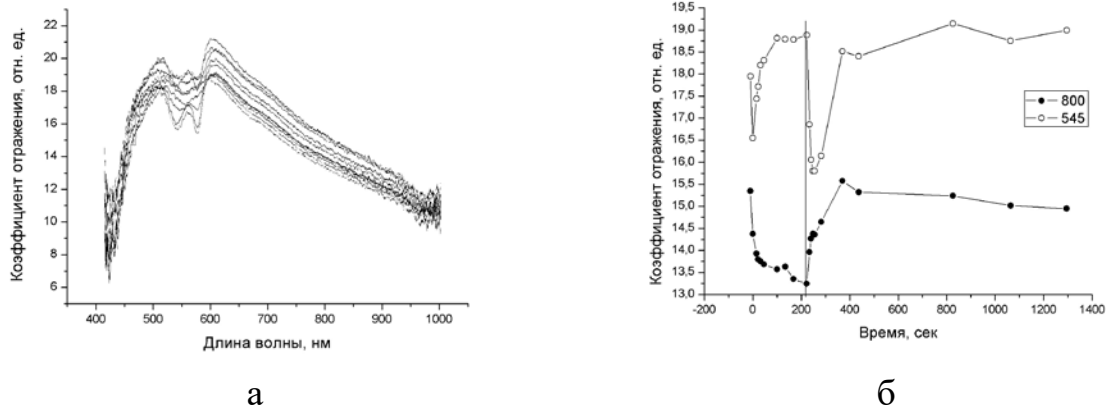


Рис. 5. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* при наложенной внешней механической компрессии (а) и на двух длинах волн (б) при внешней механической компрессии (интервал времени 0-218 сек) и при ее снятии (интервал времени свыше 218 сек). Давление 110 кПа.

Далее в **главе 3** приводятся результаты, касающиеся динамики изменения физиологических параметров (содержание крови, степень оксигенации гемоглобина, содержание воды) в процессе наложения и снятия внешней компрессии.

Количественная оценка содержания крови в коже проводилась с использованием индексов эритемы (E) и гемоглобина (H) [1, 2]

$$E = 100[OD_{560} + 1.5(OD_{545} + OD_{575}) - 2.0(OD_{510} + OD_{610})] \quad (2)$$

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25}, \quad (3)$$

а степень насыщения гемоглобина кислородом может быть рассчитана согласно следующему выражению:

$$Y = \alpha \left(\left(\frac{OD_{570} - OD_{557}}{13} - \frac{OD_{557} - OD_{545}}{12} \right) \frac{1}{H} + \beta \right), \quad (4)$$

где оптическая плотность кожи $OD(\lambda) = -\log(R(\lambda))$ определялась на отмеченных длинах волн, коэффициенты $\alpha = 31$, $\beta = 1$ получены экспериментально.

На рисунке 6 приведена динамика изменения индекса эритемы кожи при наложении внешней компрессии разной величины и после ее снятия. Результаты получены, когда внешнее давление прикладывалось к достаточно большой области кожи (30 мм). Видно, что в случае наложения внешней компрессии индекс эритемы

уменьшается, что свидетельствует об уменьшении содержания крови в кожной ткани. Вытеснение крови из объема кожной ткани, подверженного давлению, происходит в течение нескольких минут, при этом в зависимости от величины компрессии вытесняется разное количество крови: при давлении $p = 13.9$ кПа индекс эритемы уменьшается от 34 до 25, то есть содержание крови уменьшается приблизительно на 26 %, в то время как при давлении $p = 110$ кПа кровь вытесняется полностью. При использовании датчиков меньшего размера времена вытеснения крови из объема компрессии уменьшаются до величин порядка десятков секунд. Количество крови, вытесненной из области компрессии, зависит от величины компрессии, но при давлении порядка 100 кПа кровь вытесняется полностью.

После снятия внешней компрессии происходит резкое увеличение содержания крови в объеме кожной ткани, которая подвергалась компрессии. В течение нескольких секунд индекс эритемы достигал величины, значительно превышающей индекс эритемы нормальной кожи: в случае наложения давления $p = 13.9$ кПа индекс возрос до 50 (первоначальное значение $E = 34$), а при давлении $p = 110$ кПа до 60 (первоначальное значение $E = 30$). При использовании датчиков меньшего размера в течение нескольких секунд после снятия компрессии индекс эритемы достигал величины, значительно превышающей индекс эритемы нормальной кожи (от двух до пяти раз).

Восстановление кожной ткани в первоначальное состояние происходило в течение 30-50 минут в зависимости от величины компрессии.

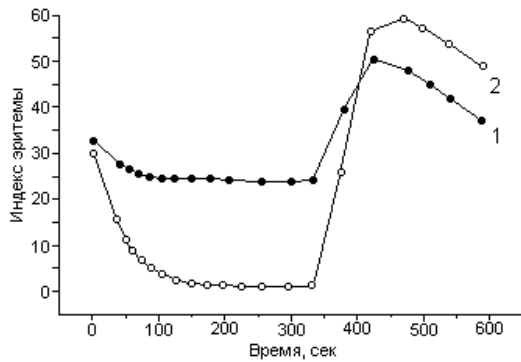
Динамика индекса эритемы для датчика 10 мм приведена на рис. 7.

На рисунке 8 приведена динамика степени оксигенации гемоглобина крови, содержащейся в объеме кожной ткани, подвергаемой механической компрессии. После наложения компрессии уменьшение содержания крови сопровождалось уменьшением степени оксигенации содержащегося в ней гемоглобина. Снятие компрессии приводило к резкому увеличению (в 2.7 раз) степени оксигенации.

Причиной увеличения степени оксигенации после снятия компрессии может быть резкий выброс артериальной крови в объем кожной ткани, который подвергался сдавливанию, так как клапаны вен не дают выдавленной венозной крови вернуться в область компрессии после ее снятия.

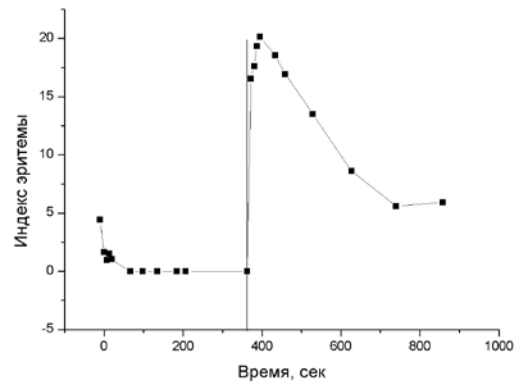
Динамику индекса эритемы кожи *in vivo* при наложении внешней компрессии разной величины и после ее снятия можно условно разделить на четыре стадии.

Первая стадия следует непосредственно после наложения внешней компрессии. При наложении внешней компрессии индекс эритемы уменьшается, что свидетельствует об уменьшении содержания крови в коже, при этом временная зависимость индекса хорошо аппроксимируется экспоненциальной функцией. Это видно из рисунка 9, где приведено временное поведение индекса эритемы кожи в условиях разной компрессии. По прошествии времени релаксации, определяющего транспорт крови из области компрессии, имеет место вторая стадия, когда содержание оставшейся в коже крови перестает меняться (индекс эритемы стабилизируется).



а

Рис. 6. Динамика индекса эритемы в условиях внешней механической компрессии (интервал времени 0-330 сек) и при ее снятии (интервал времени свыше 330 сек).
1 - $p = 13.9$ кПа, 2 - $p = 110$ кПа



б

Рис. 7. Динамика индекса эритемы в условиях внешней механической компрессии (интервал времени 0-362 сек) и после ее снятия (интервал времени свыше 362 сек). $p = 190$ кПа.

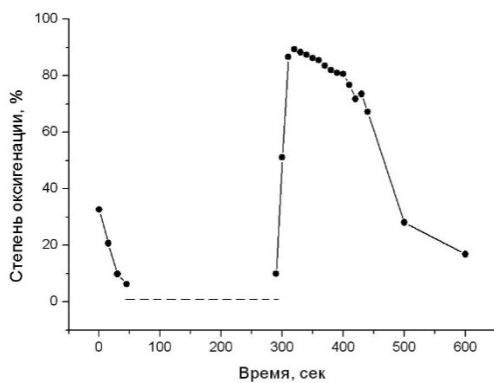


Рис. 8. Динамика степени оксигенации гемоглобина крови кожной ткани в условиях внешней механической компрессии (интервал времени 0-290 сек) и при ее снятии (интервал времени свыше 290 сек). Пунктирная линия показывает временной диапазон, когда кровь в кожной ткани отсутствует. $p = 110$ кПа

После снятия внешней компрессии происходит резкое увеличение содержания крови в объеме кожной ткани, которая подвергалась компрессии (третья стадия) (рис. 9). В течение нескольких секунд индекс эритемы достигает величины, значительно превышающей индекс эритемы нормальной кожи (от двух до пяти раз). В процессе четвертой стадии происходит восстановление кожной ткани в первоначальное состояние в течение 30-50 минут в зависимости от величины компрессии.

На рисунке 10 приведено поведение коэффициента отражения на длине волны 800 нм в процессе наложения внешней компрессии и после ее снятия. Отличительной особенностью поведения коэффициента отражения после наложения компрессии является его монотонное уменьшение по экспоненциальному закону с характерными временами от 20 до 200 секунд. Весь процесс стабилизации спектров может происходить приблизительно в течение времени до 5 минут. После снятия компрессии спектры восстанавливаются в первоначальное положение практически в тот же временной промежуток, что и в видимом диапазоне (порядка 1 часа).

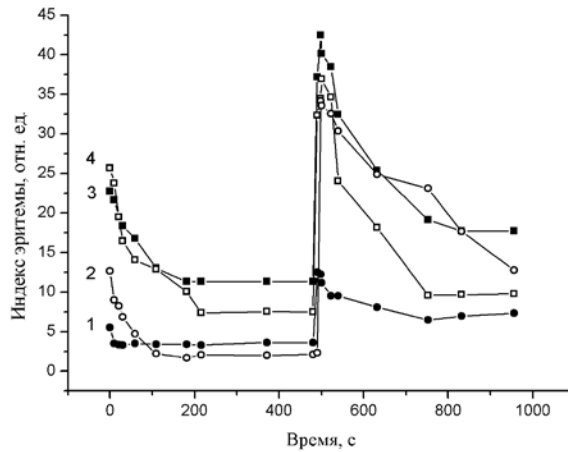


Рис. 9. Динамика индекса эритемы кожи в условиях разной компрессии.
 $p = 64,5$ кПа (1), $16,6$ кПа (2),
 $49,2$ кПа (3), $30,0$ кПа (4).

В спектральной области 600-800 нм на спектр диффузного отражения кожи может влиять только количество содержащейся в ней воды. Так как поглощением воды в этой области спектра можно пренебречь, то можно сделать вывод о том, что количество содержащейся в коже воды определяет только рассеивающие свойства кожи. Компрессия кожи приводит к уменьшению содержания воды в коже или ее дегидратации.

Поскольку дегидратация связана с диффузией воды из кожи, то для оценки дегидратации кожи в области приложения компрессии в результате вытеснения воды из этой области в окружающую ткань можно рассмотреть схожий процесс дегидратации кожи *in vitro* под действием осмотических оптических просветляющих агентов [13].

Характерные времена экспоненциального уменьшения отражения в спектральной области 600-800 нм являются не чем иными, как временами дегидратации кожи, понимая под этим ее обезвоживание.

Если считать, что уменьшение объема ткани при наличии компрессии происходит только за счет уменьшения расстояния между фибриллами, а размеры фибрилл в процессе дегидратации не изменяется, тогда параметры σ_s и a можно считать постоянными, то изменения в значении μ_s связаны только с изменением фактора упаковки и определяются поведением функции $\varphi \frac{(1-\varphi)^3}{(1+\varphi)}$, имеющей

максимум при $\varphi = 0,2$. Для фиброзных тканей значение φ обычно составляет величину порядка 0,3, поэтому при увеличении φ коэффициент рассеяния уменьшается, что, в свою очередь, приводит к уменьшению диффузного отражения кожи (рис. 11).

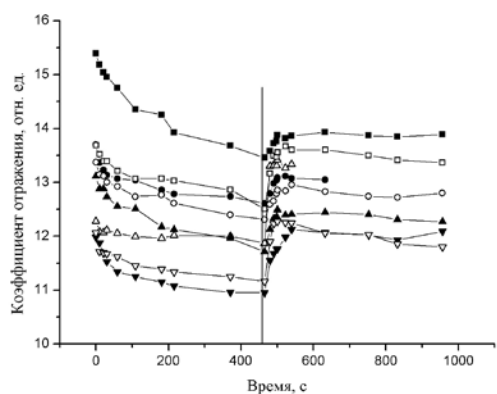


Рис. 10. Временные изменения коэффициента отражения кожи на длине волны 800 нм в процессе наложения компрессии (интервал времени 0-460 секунд) и после ее снятия. Разные добровольцы

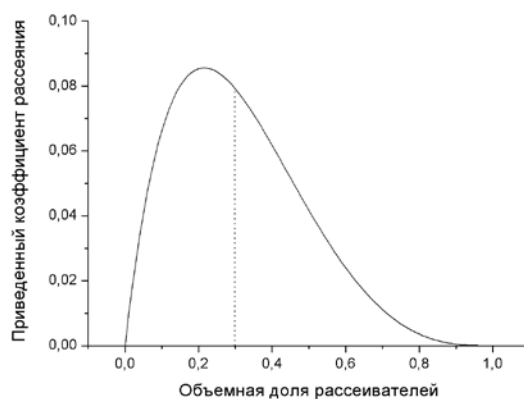


Рис. 11. Зависимость коэффициента рассеяния от объемной доли рассеивателей

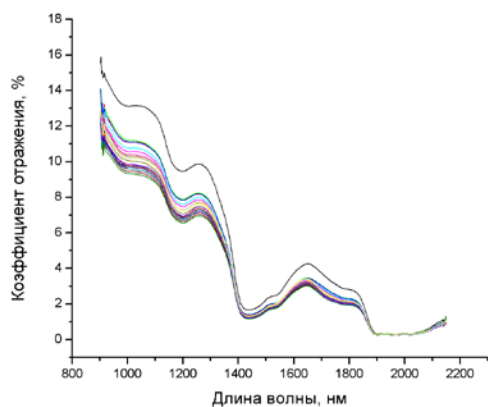
Процессы дегидратации образцов кожи *in vitro* и кожи *in vivo* несмотря на их схожесть, имеют принципиальные отличия. Основные параметры $H_D(t) = A_D(1 - \exp(-t/\tau_D))$, A_D (максимальная степень дегидратации) и τ_D (скорость дегидратации), описывающие процесс дегидратации кожи *in vitro*, для кожи *in vivo* недостижимы. Очевидно, что полностью обезвожить кожу *in vivo* невозможно, поэтому теряет смысл говорить о максимальной степени дегидратации. Можно говорить только о степени дегидратации кожи в результате определенной компрессии и времени τ_D дегидратации, характеризующем скорость данного определенного процесса, а на эти величины влияют величина компрессии и размеры области ее приложения. Так, при компрессии величиной менее 100 кПа характерное время имеет величину 48.7 ± 25.3 секунд, а свыше 100 кПа 171.6 ± 39.9 секунд.

Более того, очень сложно по уменьшению отражения кожи *in vivo* в процессе компрессии оценить степень дегидратации кожи, подверженной компрессии, так как относительное уменьшение коэффициента отражения зависит от условий компрессии. Так, относительные уменьшения коэффициента отражения наибольшие для датчика 6.3 мм (11.3 ± 2.2 %), имеют меньшие значения для датчиков 10 мм (9.5 ± 2.0 %) и 13.9 мм (9.5 ± 1.7 %) и наименьшие для датчика 15,8 мм (7.2 ± 3.4 %).

В ближней ИК области спектра при наложении внешней компрессии имеет место тенденция уменьшения коэффициента отражения кожи во всем спектральном диапазоне. После снятия компрессии спектры восстанавливаются в первоначальное положение практически в тот же временной промежуток, что и в видимом диапазоне (порядка 1 часа).

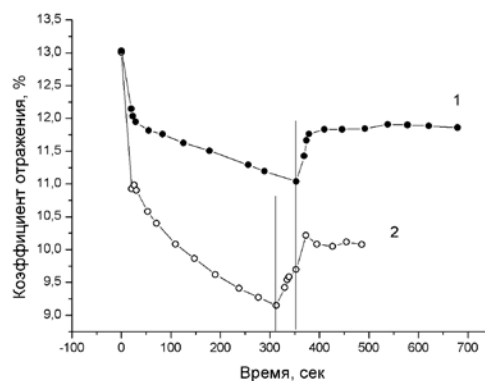
Это из рис. 12 и 13, где приведены временные изменения в спектрах диффузного отражения и коэффициентов отражения кожи на длине волны 1070 нм. Временная динамика коэффициентов отражения на других длинах волн имеет подобный характер.

Увеличение компрессии ведет к уменьшению отражения. В случае использования датчика 10 мм уменьшение величины коэффициента отражения в течение наложения компрессии составляло 10.36 % при давлении 28 кПа, 12.89 % при давлении 50 кПа, 16.36 % при давлении 100 кПа и 21.86 % при давлении 143 кПа.



а

Рис. 12. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* при наложенной внешней механической компрессии величиной 108 кПа



б

Рис. 13. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* на длине волны 1070 нм при наложенной внешней механической компрессии величиной 45 кПа (1) и 108 кПа (2). Вертикальными линиями отмечено время снятия компрессии

При использовании датчиков с малой площадью приложения давления изменения в спектрах не столь существенны, как в случае датчиков с большой площадью приложения давления, и временные изменения в спектрах при наложении разной компрессии малы по величине.

В этом диапазоне длин волн определяющим фактором является вода, которая определяет и поглощающие, и рассеивающие свойства кожи.

Несмотря на некоторое различие в динамике спектров в условиях внешней компрессии, обусловленное морфологическими особенностями кожи добровольцев, общим результатом является уменьшение коэффициента рассеяния с течением времени после наложения компрессии. Это позволяет сделать вывод, что эффект уменьшения рассеяния биоткани, обусловленный вытеснением воды из кожной ткани в области приложения внешней компрессии, превалирует над эффектом уменьшения поглощения кожной ткани, вызванный тем же процессом вытеснением воды из биоткани в той же области приложения внешней компрессии.

В заключительной части **главы 3** приведено описание предложенной методики для оценки изменения содержания воды в коже под давлением и результаты оценки изменения содержания воды в коже, подверженной компрессии.

Содержание воды в коже определяет рассеивающие свойства ткани. Наложение компрессии приводит к частичной дегидратации и сжатию коллагеновых волокон тканей, что приводит к изменению фактора упаковки рассеивателей, при этом поскольку для фиброзных тканей значение фактора

упаковки обычно составляет порядка 0,3, то увеличение объемной доли рассеивателей (коллагеновых волокон) приводит к уменьшению рассеяния ткани.

Оценка содержания воды в коже может быть проведена путем анализа временного изменения коэффициентов отражения кожи в условиях компрессии на двух длинах волн: 810 нм, где наличие воды определяет только рассеивающие свойства кожи, а поглощением воды можно пренебречь, и 1070 нм, где на поведение коэффициента отражения влияют оба фактора.

На первом этапе определялось относительное изменение коэффициента отражения кожи на длине волны 810 нм при наложении на кожу внешнего давления (рис. 14).

На втором этапе определяется изменение коэффициента отражения кожи на длине волны 1070 нм при наложении на кожу внешнего давления, полученное в эксперименте (рис. 14). Как в первом, так и во втором случае, компрессия приводит к уменьшению коэффициента отражения, причем относительное изменение коэффициента отражения на длине волны 1070 нм меньше, чем на длине волны 800 нм.

Предполагая, что рассеивающие свойства кожи на рассматриваемых длинах волн изменяются в результате компрессии одинаково, можно говорить о том, что относительное увеличение коэффициента отражения на длине волны 1070 нм обусловлено уменьшением поглощения кожи в результате уменьшения содержания в ней воды.

На рисунке 15 приведены результаты расчета зависимости коэффициентов отражения модельной среды (глава 2) от содержания воды на фиксированных длинах волн 810 нм и 1070 нм.

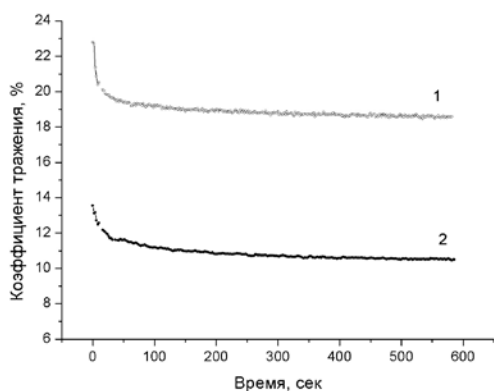


Рис. 14. Временная динамика коэффициентов отражения кожи на длинах волн 810 нм (1) и 1070 нм (б) при наложении компрессии

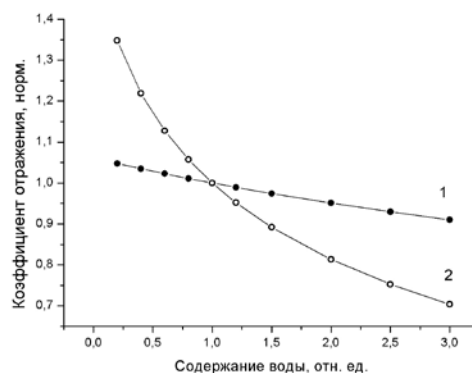


Рис. 15. Зависимость нормированных коэффициентов отражения модельной среды от содержания воды на фиксированных длинах волн; 1 - 810 нм, 2 - 1070 нм

По графикам, приведенным на рис. 15, можно оценить уменьшение содержания воды в коже, следствием чего увеличился коэффициент отражения кожи длине волны 1070 нм. Аналогичным образом можно оценить дегидратацию кожи при других условиях детектирования отраженного света. Так, при использовании датчика 13,8 мм с грузом, создаваемым давлением на кожу 100 кПа, кожа теряет при компрессии 8% воды, а при использовании датчика 10 мм с

грузами, создаваемыми давлением на кожу величиной 28 кПа, 100 кПа и 143 кПа, из кожи вытесняется вода в количестве 5%, 12% и 15%, соответственно.

В **Заключении** приведены основные результаты работы, которые могут быть сформулированы следующим образом:

1. Наложение внешней механической компрессии величиной до 10^5 Па на кожу человека *in vivo* приводит к уменьшению коэффициента диффузного отражения света в спектральном интервале 400-2000 нм. Причинами спектральных изменений являются изменения геометрии кожи (ее толщины и плотности) и ее физиологических свойств, следствием чего являются изменения оптических характеристик кожи (поглощения и рассеяния).

2. В видимой области спектра уменьшение отражения обусловлено вытеснением из области компрессии крови (гемоглобина), при этом кровь (гемоглобин) вытесняется полностью из кожи при давлении порядка 100 кПа. Уменьшение размера области наложения компрессии приводит к уменьшению времени вытеснения крови из области компрессии. Уменьшение содержания крови в кожной ткани сопровождается уменьшением степени оксигенации гемоглобина.

3. В ближней ИК области спектра уменьшение отражения кожи обусловлено уменьшением ее поглощения и рассеяния из-за дегидратации кожи. Разработана методика оценки дегидратации кожи в условиях компрессии кожи, заключающаяся в сравнении относительного изменения коэффициентов отражения кожи в условиях компрессии на двух длинах волн, на одной из которых (810 нм) коэффициент отражения определяется только рассеянием света, а на другой (1070 нм) – как рассеянием, так и поглощением воды. Количество воды, удаленной из кожи в результате внешней механической компрессии, увеличивается при уменьшении размера области приложения внешнего давления и увеличении прикладываемого давления.

4. Процесс стабилизации спектров диффузного отражения и параметров кожи является инерционным. Процесс стабилизации спектров происходит в течение времени порядка 3 – 5 минут в зависимости от приложенного давления и увеличивается с увеличением компрессии.

5. При снятии внешней механической компрессии восстановление кожи происходит в течение времени порядка 40-50 минут, при этом в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение содержания крови (гемоглобина) (в 2 – 5 раз по сравнению с кожей без компрессии) с более высокой степенью оксигенации (в 2 – 3 раза по сравнению с нормой), что обусловлено резким вбросом артериальной крови в объем кожной ткани, находившейся в условиях внешней компрессии.

Список использованных источников

1. Синичкин Ю.П., Утц С.Р. *In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2001. - 92 с.
2. Sinichkin Yu.P., Kollias N., Zonios G., Utz S.R., Tuchin V.V. Back reflectance and fluorescence spectroscopy of the human skin *in vivo* / Handbook on Optical Biomedical Diagnostics and Imaging / Ed. V.V. Tuchin – Bellingham, SPIE Press, 2002. - P. 725-785.

3. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlyutov A.H., Mishin A.A. Light propagation in tissues with controlled optical properties // J. Biomed. Opt. 1997. Vol. 2(4). P. 401–417.
4. Vargas O, Chan E.K., Barton J.K., Rylander H.G., Welch A.J. Use of an agent to reduce scattering in skin // Laser Surg. Med. 1999. Vol. 24(2). P. 133–141.
5. Tuchin V.V. Optical clearing of tissue and blood using immersion method // J Phys D. 2005. Vol. 38. P. 2497–2518.
6. Агрба П.Д., Кириллин М.Ю., Абелевич А.И., Загайнова Е.В., Каменский В.А. Компрессия как метод повышения информативности оптической когерентной томографии биотканей // Оптика и спектроскопия. 2009. Т. 107. № 6. С. 901–906.
7. Izquierdo-Roman A., Vogt W.C., Hyacinth L., Rylander C.G. Mechanical tissue optical clearing technique increases imaging resolution and contrast through ex vivo porcine skin // Lasers in Surgery and Medicine. 2011. Vol. 43. P. 814–823.
8. Ermakov I.V., Gellermann W. Dermal carotenoid measurements via pressure mediated reflection spectroscopy// J. Biophotonics. 2012. Vol. 5. №7. P. 559-570.
9. Yeh A.T., Choi B., Nelson J.S., Tromberg B.J. Reversible dissociation of collagen in tissues // J. Invest. Dermatol. 2003. V. 121(6). P. 1332–1335.
10. Долотов Л.Е., Синичкин Ю.П. особенности применения волоконно-оптических датчиков в спектральных измерениях биологических тканей// Оптика и спектроскопия. 2013. Т. 115. №2. С. 220-226.
11. Ruderman S., Gomes A.J., Stoyneva V., Rogers J.D., Fought A.J., Jovanovic B.D., and Backman V. Analysis of pressure, angle and temporal effects on tissue optical properties from polarization-gated spectroscopic probe measurements// Biomedical Optics Express. 2010. Vol. 1. №2. P. 489-499
12. Farrell T.J., Patterson M.S., Wilson B. A diffuse theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo // Med. Phys. 1992. V. 19. P. 879-888.
13. Genina E.A., Bashkatov A.N., Korobko A.A., Zubkova E.A., Tuchin V.V., Yaroslavsky I., Altshuler G.B. Optical clearing of human skin: comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin // J Biomedical Opt. 2008. Vol. 13(2). 021102.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

В изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ:

1. Нахаева И.А., Мохаммед М.Р., Зюрюкина О.А., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на оптические свойства кожной ткани человека in vivo // Оптика и спектроскопия. 2014. Т. 117. № 3. С. 522–528.
2. Нахаева И.А., Зюрюкина О.А., Мохаммед Р.М., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на содержание воды в кожной ткани человека in vivo // Оптика и спектроскопия. 2015. Т. 118. № 5. С. 152–159.

В сборниках научных конференций:

1. Мохаммед Р.М. Исследование патологических процессов в биотканях методами оптической спектроскопии // IV Всероссийская научно-практическая конференция

«Научная инициатива иностранных студентов и аспирантов российских вузов». Сборник докладов. Томск 24-26 мая 2011 г. С. 354-358.

2.Зюрюкина О.А., Нахаева И.А., Мохаммед Р.М., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на состояние оксигенации гемоглобина крови кожи человека *in vivo* / Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2013: материалы 17-й Междунар. молодежной науч. школы по оптике, лазерной физике и биофотонике / под ред. Г. В. Симоненко, В. В. Тучина. – Саратов :Изд - во «Новый ветер», 2013. – С. 9-17.

3.Нахаева И.А., Зюрюкина О.А., Мохаммед Р.М., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи *in vivo* / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2014: материалы Всерос. молодеж. конф. / под. ред. проф. Д.А. Усанова. – Саратов: Изд-во Саратовский источник, 2014. С. 93-94.

4.Зюрюкина О.А., Нахаева И.А., Мохаммед Р.М., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи человека *in vivo* / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015: материалы Всерос. молодеж. конф. / под. ред. проф. Д.А. Усанова. – Саратов: Изд-во Саратовский источник, 2015. С. 45-48.

5.Зюрюкина О.А., Нахаева И.А., Мохаммед Р.М., Синичкин Ю.П. Компрессионный метод управления оптическими параметрами биотканей / XIV Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике: сборник трудов конференции, 8-12 ноября 2016 г., Самара, Россия. – Москва, ФГБУН ФИАН им. П.Н. Лебедева РАН, 2016. С. 230-235.

Подписано в печать xx.xx.2018 .
Формат 60x90 1/16. Бумага офсетная. Гарнитура Times.
Объем 1,5 печ. Л. Тираж 100 экз. Заказ № xxx-х

Типография СГУ
г. Саратов, ул. Б. Казачья, 112а
Тел. 27-33-85

