

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского»

На правах рукописи



ЗЮРЮКИНА ОЛЬГА АНАТОЛЬЕВНА

**ДИНАМИКА ОПТИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
БИОТКАНЕЙ В ПРОЦЕССЕ ВНЕШНЕЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ
КОМПРЕССИИ**

1.5.2. - Биофизика

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
д.ф.-м.н. профессор
Синичкин Юрий Петрович

Саратов-2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
ГЛАВА 1. Управление оптическими и физиологическими свойствами биологических тканей с помощью внешней механической компрессии (критический анализ опубликованных данных)	15
1.1. Влияние внешней механической компрессии на оптические свойства биотканей	16
1.2 Влияние внешней механической компрессии на физиологические свойства биоткани	22
Выводы	32
ГЛАВА 2. Влияние внешней механической компрессии биоткани на спектр ее диффузного отражения (модель)	34
2.1. Кожная ткань	34
2.1.1. Модель кожной ткани	34
2.1.2. Алгоритм расчета спектра отражения кожи	37
2.1.3. Результаты расчета	37
2.1.3.1. Влияние рассеяния	37
2.1.3.2. Влияние поглощения	40
2.2. Мышечная ткань	44
2.2.1. Модель мышечной ткани	44
2.2.2. Алгоритм расчета спектра отражения мышечной ткани	47
2.2.3. Результаты расчета	48
2.2.3.1. Влияние рассеяния	48
2.2.3.2. Влияние поглощения	49
Выводы	52
ГЛАВА 3. Влияние внешней механической компрессии биологической ткани на ее оптические и физиологические свойства (эксперимент)	53
3.1 Экспериментальная установка и объект исследования	53
3.2. Экспериментальные результаты	60

3.2.1. Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи в видимом диапазоне спектра	60
3.2.1.1 Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи в диапазоне 500-600 нм	60
3.2.1.2 Кинетика изменения содержания крови и степени оксигенации гемоглобина крови в кожной ткани в процессе ее компрессии	66
3.2.1.3. Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи в диапазоне свыше 600 нм	70
3.2.2. Временная кинетика спектров диффузного отражения мышечной ткани в видимом диапазоне спектра	71
3.2.2.1. Временная кинетика спектров диффузного отражения мышечной ткани в диапазоне 500-600 нм	72
3.2.2.2. Кинетика изменения содержания глобинов и степени их оксигенации в мышечной ткани в процессе ее компрессии	81
3.2.2.3. Временная кинетика спектров диффузного отражения мышечной ткани кожи в диапазоне свыше 600 нм	86
3.2.2.4. Кинетика изменения содержания воды в мышечной ткани в процессе ее компрессии	86
Заключение	93
Список использованных источников	95

Введение

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

Исследования влияния внешней механической компрессии на оптические свойства биотканей представляют интерес по целому ряду причин. Прикладываемое к биоткани внешнее давление изменяет ее морфо-функциональное состояние, ее структуру, кровенаполненность кровеносных сосудов, вызывает перемещение воды внутри биоткани, что отражается на оптических свойствах биоткани (рассеянии и поглощении) и, как следствие, на величине и спектральном составе распространяющегося внутри биоткани излучения. Внешняя компрессия как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, приводит к изменению коллимированного и диффузного пропускания (*in vitro*) и диффузного отражения (*in vitro, in vivo*): она уменьшает диффузное отражения и увеличивает пропускание образцов биоткани независимо от их состояния (*in vitro* или *in vivo*), что является результатом изменения геометрии ткани и ее оптических параметров.

В результате компрессии биоткани из нее выдавливается вода, которая определяет поглощение биоткани в ближней инфракрасной (ИК) области спектра и рассеивающие свойства биоткани как в ближнем ИК, так и в видимом диапазоне спектра. Уменьшение рассеяния света в сжатой биоткани в результате ее дегидратации является основным механизмом компрессионного оптического просветления биоткани, являющегося альтернативным широко используемому методу, основанному на осмотической дегидратации ткани под действием внедренного в биоткань иммерсионного химического агента [1, 2].

Оптическое просветление биотканей, основанное на уменьшении их рассеивающих и поглощающих свойств, увеличивает как глубину

проникновения света в ткань, так и интенсивность света в более глубоких областях ткани, расширяет возможности оптических методов исследования биологических тканей, в том числе широко и эффективно используемых методов диффузионной отражательной спектроскопии [3] и оптической когерентной томографии биотканей [4], и потенциально улучшает возможности различных оптических диагностических и терапевтических методик. Метод компрессионного оптического просветления биотканей может быть реализован в приборном варианте, в частности, разработано устройство для просветления биотканей [5]. Механическая компрессия биотканей позволяет оценивать также содержание в ней хромофоров, поглощение которых в нормальных условиях завуалировано поглощением других хромофоров [1, 6].

Интерес к компрессионному методу управления параметрами биотканей обусловлен также тем, что он имеет ряд преимуществ по сравнению с иммерсионным, в частности, он менее инвазивен, сохраняет барьерные функции эпидермиса, обладает большим быстродействием, повторяемостью результатов применения.

Несмотря на довольно большой объем публикаций, связанных с механической компрессией биотканей, приведенные в них результаты зачастую носят противоположный характер, что обусловлено, во-первых, разными условиями наложения внешней компрессии (локальной или нелокальной) и разными геометриями детектирования отраженного биотканями света (с использованием волоконно-оптического датчика или без него), и, во-вторых, тем, что эффект влияния внешней компрессии на оптические свойства биоткани носит инерционный характер, поэтому результаты измерений зависят от времени задержки между наложением компрессии и измерениями; данный вопрос недостаточно изучен. Для эффективного использования компрессионного метода управления параметрами биотканей важно знать механизмы изменения оптических свойств биоткани в условиях внешней компрессии, кинетику изменения

структуры и компонентного состава биоткани при внешнем давлении, а также влияние таких изменений на оптические свойства биоткани. Данные вопросы, несомненно, определяют актуальность работы.

Цель и задачи исследования. Основной целью диссертационной работы является развитие оптических методов диагностики и мониторинга биологических сред, основанных на анализе динамики спектрального состава диффузно отраженного света биотканями в условиях внешней механической компрессии, а также динамики их оптических и физиологических свойств при наложении внешнего давления.

Для достижения поставленной цели должны быть решены следующие задачи:

1. Провести критический анализ опубликованных результатов по управлению оптическими и физиологическими свойствами биологических тканей с помощью внешней механической компрессии (влиянию внешнего давления на оптические свойства и физиологические свойства биоткани).

2. Провести модельные исследования кинетики спектров диффузного отражения кожи человека *in vivo* в процессе изменения ее поглощающих (гемоглобин крови, вода) и рассеивающих свойств с целью разработки физической модели формирования спектра диффузного отражения кожи в условиях наложения внешней компрессии.

3. Провести модельные исследования спектров диффузного отражения мышечной ткани быка и свиньи *in vitro* в процессе изменения ее поглощающих (гемоглобин, миоглобин, вода) и рассеивающих свойств с целью разработки физической модели формирования спектра диффузного отражения мышечной ткани в условиях наложения внешней компрессии.

4. Разработать экспериментальные методики определения кинетики физиологических параметров биотканей в процессе воздействия внешнего давления.

5. Экспериментально исследовать временные изменения в спектрах диффузного отражения кожи человека *in vivo* и мышечной ткани быка и свиньи *in vitro*, закономерности кинетики оптических и физиологических свойств биотканей при наложении внешней компрессии.

Методы исследования: метод спектроскопии диффузного отражения, компьютерное моделирование.

Объекты исследования. Объектами исследования являлись кожа внутренней стороны предплечья человека *in vivo* и образцы *in vitro* мышечной ткани коровы и свиньи. Измерения спектров диффузного отражения кожи проводились на 10 добровольцах в возрасте от 20 до 65 лет с кожей II-IV типов по Фитцпатрику. Используемые в экспериментах образцы мышечной ткани вырезались из одного объема биоткани, при этом в измерениях с высушиванием образцы имели прямоугольную форму размером 20 x 20 x 25 мм³. Были проведены шесть экспериментов, в которых 8 образцов высушивались в течение нескольких часов при температуре порядка 60⁰, при этом каждый час образцы взвешивались и регистрировались их спектры диффузного отражения. Результаты усреднялись.

Научная новизна работы состоит в следующем:

Впервые определены времена стабилизации спектров диффузного отражения света кожей *in vivo* и мышечной тканью быка и свиньи *in vitro* после приложения давления. Получено, что спектры диффузного отражения стабилизируются в течение времени порядка 5 – 7 минут в зависимости от размера области компрессии и приложенного давления, при этом время стабилизации увеличивается с увеличением компрессии.

Впервые получено, что в случае мышечной ткани при наложении компрессии по прошествии времени порядка 1-2 минут в мышечных волокнах остается миоглобин, при этом он переходит в деоксигенированную форму. С

течением времени максимум поглощения дезоксимиоглобина смещается в коротковолновую область благодаря присутствию метмиоглобина.

Впервые получено, что отличительной особенностью поведения коэффициента отражения кожи *in vivo* в области 700-800 нм после наложения компрессии является его монотонное уменьшение по двухэкспоненциальному закону. Характерные времена затухания экспоненциальных функций составляют величины порядка нескольких секунд (быстрая релаксация) и нескольких минут (медленная релаксация). Двухэкспоненциальная временная зависимость коэффициентов отражения кожи при наложении компрессии может быть обусловлена наличием в коже как свободной, так и связанной воды. В первоначальный момент приложения давления происходит резкая деформация и сжатие коллагеновой матрицы кожи (согласно двухфазной модели), которое сопровождается удалением из области компрессии свободной воды (быстрая релаксация). В дальнейшем скорость вытекания воды из области кожной ткани, подверженной компрессии, уменьшается и происходит процесс медленной дегидратации этого объема кожи (медленная релаксация), в который вовлекается связанная вода.

Впервые получено, что дегидратация *in vitro* образцов мышечной ткани быка и свиньи в процессе их сушки или компрессии сопровождается разным характером временной кинетики диффузного отражения образцов: в первом случае диффузное отражение увеличивается, а во втором уменьшается. Этот результат обусловлен разными физическими структурами высушенного и сдавленного образца, которые приводят к разной плотности рассеивателей в образце и, как следствие, к разной величине фракции рассеивателей в среде и разному поведению приведенного коэффициента рассеяния.

Полученные результаты найдут **практическое применение** в биологии и медицине, в частности:

- 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;

- найденные закономерности кинетики и времена стабилизации оптических и физиологических свойств кожи человека *in vivo* и мышечной ткани быка и свиньи *in vitro* при наложении внешней компрессии позволят получать объективную информацию о степени выраженности патологических и функциональных изменений в биотканях, а также оценивать эффективность лечения и профилактических мероприятий;

- на основе анализа изменений диффузного отражения образцов биотканей в результате их компрессии возможна оценка степени дегидратации образцов: процессы уменьшения диффузного отражения образца биоткани и дегидратации биоткани в результате компрессии носят экспоненциальный характер, при этом времена экспоненциального уменьшения коэффициентов отражения в спектральной области 600–800 нм после наложения компрессии являются временами дегидратации биоткани;

- результаты мониторинга методом диффузной отражательной спектроскопии кинетики физиологических свойств образцов *in vitro* мышечной ткани быка и свиньи при наложении компрессии позволяют сделать вывод о возможности использования внешней механической компрессии для оценки содержания в биоткани производных миоглобина и гемоглобина и, соответственно, цвета биоткани.

Полученные результаты внедрены в учебный процесс на кафедре оптики и биофотоники СГУ:

- в виде материала, используемого при чтении специального курса лекций «Спектроскопия и колориметрия биологических тканей *in vivo*»;

- в виде разработки методических основ и постановке практической работы *Специального практикума по оптической биофизике: in vivo отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека* для студентов и аспирантов, обучающихся по направлениям «Физика и астрономия» и «Биотехнические системы и технологии».

Достоверность полученных результатов и выводов обеспечивается адекватностью используемых физических моделей и математических методов, корректностью используемых приближений, соответствием теоретических выводов с результатами экспериментов. Достоверность экспериментальных результатов обеспечивается использованием современной измерительной аппаратуры, апробированных методик, воспроизводимостью результатов экспериментов и их соответствием экспериментальным результатам других авторов.

Апробация работы. Основные результаты работы были представлены в 14 докладах на российских и международных конференциях:

- Saratov Fall Meeting (SFM'13), 1st International Symposium on Optics and Biophotonics, September 25-28, 2013; Saratov, Russia;
- Saratov Fall Meeting (SFM'14), International Symposium on Optics and Biophotonics-II, September 23-26, 2014; Saratov, Russia;
- Всероссийская научная школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине», Саратов, 2014;
- Ежегодная всероссийская Школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015», Саратов, 2015;
- 5-th International Scientific Conference «New Operational Technologies», September 29-30, 2015, Tomsk, Russia;
- XIII Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, 2015, Самара, Россия;
- Всероссийская молодежная научная школа-конференция «Практическая биофизика», Саратов, 2015;
- Saratov Fall Meeting (SFM'16), International Symposium on Optics and Biophotonics IV; September 27-30, 2016, Saratov, Russia;

- XIV Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, 2016 г., Самара, Россия;
- Saratov Fall Meeting (SFM'17), International Symposium Optics and Biophotonics-V. Conference on Optical Technologies in Biophysics & Medicine XIX; September 25-29, 2017, Saratov, Russia;
- Saratov Fall Meeting (SFM'18) 6th International Symposium Optics and Biophotonics. Conference on Optical Technologies in Biophysics & Medicine XX. September 24-29, 2018, Saratov, Russia;
- Saratov Fall Meeting (SFM'19) 7th International Symposium Optics and Biophotonics. Conference on Optical Technologies in Biophysics & Medicine XXI. September 24-29, 2019, Saratov, Russia.

Публикации.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

Коллективная монография в зарубежном издании:

Zyuryukina O.A., Sinichkin Yu.P. Compression optical clearing. Chapter 10 in Handbook of tissue optical clearing: new prospects in optical imaging / Valery Tuchin, Zhu Dan and Elina A. Genina, Eds. - CRC Press, 2022. P. 199-217.

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.
3. Зюрюкина О.А., Синичкин Ю.П. Динамика оптических и физиологических свойств кожи человека *in vivo* в процессе ее компрессии // Оптика и спектроскопия. 2019. Т. 127. Вып. 3. С. 498-506.

4. Зюрюкина О.А., Синичкин Ю.П. Дегидратация биотканей в процессе их компрессии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2020. Т. 20. Вып. 2. С. 92-102.

5. Зюрюкина О. А., Синичкин Ю. П. Особенности динамики оптических и физиологических свойств мышечной ткани *in vitro* в процессе ее компрессии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2021. Т. 21. Вып. 2. С. 178–187.

В сборниках научных конференций:

1. 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.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. Зюрюкина О.А., Нахаева И.А., Мохаммед М.Р., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи человека *in vivo* // Материалы Всероссийской научной школы-семинара «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015», 10-12 ноября, 2015, Саратов, Россия, изд-во «Саратовский источник», Саратов, 2015, 305 с., С. 45-48 (ISBN: 978-5-91879-541).

Личный вклад автора состоит в планировании 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.

Связь с государственными программами. Исследования по теме диссертации частично выполнялись в рамках:

- гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущей научной школы Российской Федерации НШ-7898.2016.2;

- гранта РФФИ (договор № 19-32-90177\19), предоставленному победителю Конкурса на лучшие проекты фундаментальных научных исследований, выполняемые молодыми учеными, обучающимися в аспирантуре («Аспиранты»).

Объем и структура работы.

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка литературы, включающего 79 источника. Общий объем диссертации составляет 104 страницы, включая 49 рисунков и 8 таблиц.

Основные положения и результаты исследований, выносимые на защиту:

1. Отличительной особенностью поведения коэффициента отражения кожи *in vivo* на длинах волн 700-800 нм в процессе ее сжатия является его монотонное уменьшение по двухэкспоненциальному закону. Характерные времена затухания экспоненциальных функций составляют величины порядка нескольких секунд (быстрая релаксация) и нескольких минут (медленная релаксация) и обусловлены вытеснением из кожи свободной воды (быстрая дегидратация) и связанной воды (медленная дегидратация).
2. В случае мышечной ткани *in vitro* наложение компрессии удаляет из кровеносной системы гемоглобин и в мышечных волокнах остается миоглобин, при этом он переходит в деоксигенированную форму.
3. Характер кинетики изменения диффузного отражения *in vitro* образцов мышечной ткани быка и свиньи зависит от метода их деградации: сушкой или компрессией. В первом случае диффузное отражение увеличивается, а во втором уменьшается, что обусловлено разными физическими структурами высушенного и сдавленного образца, которые приводят к разной плотности рассеивателей в образце и разному поведению приведенного коэффициента рассеяния.

ГЛАВА 1. Управление оптическими и физиологическими свойствами биологических тканей с помощью внешней механической компрессии (критический анализ опубликованных данных)

«Оптическое просветление биотканей», основанное на уменьшении их рассеивающих и поглощающих свойств, увеличивает как глубину проникновения света в ткань, так и интенсивность света в более глубоких областях ткани, потенциально улучшая возможности различных оптических диагностических и терапевтических методик.

Рассеяние излучения в биотканях обусловлено пространственным распределением показателя преломления, которое определяет оптические свойства биоткани, то есть коэффициент поглощения μ_a и приведенный коэффициент рассеяния μ_s среды. С другой стороны, пространственное распределение показателя преломления зависит от особенностей строения биоткани. Поэтому изменение пространственного распределения показателя преломления внутри биоткани можно управлять не только ее оптическими характеристиками, но и физиологическими характеристиками, в первую очередь, содержанием воды.

В настоящее время широко используется метод иммерсионного просветления биотканей, когда в биоткань вводятся гиперосмотические иммерсионные агенты, вызывающие диффузию воды из внутритканевого пространства и частично замещающие собой внутритканевую жидкость. К потенциальным механизмам уменьшения рассеяния света в тканях относят водный транспорт из компонентов тканей, перемещения воды внутри ткани, замена межклеточной воды химическим агентом с более высоким показателем преломления, структурная модификация или диссоциация коллагеновых волокон [4].

Альтернативным методом оптического просветления биотканей является компрессионный метод просветления [7-17], при этом ключевыми

процессами, определяющими механизмы иммерсионного и компрессионного просветления биоткани, являются осмотическая дегидратация ткани под действием иммерсионного агента или дегидратация биоткани из-за транспорта воды из области приложения внешней компрессии.

1.1 Влияние внешней механической компрессии на оптические свойства биотканей

В публикациях по компрессионному методу просветления биотканей в основном рассматриваются: 1) влияние внешнего механического давления на результаты применения разных методов исследования биотканей, в том числе на спектры пропускания и диффузного отражения образцов тканей [5, 7-11, 13, 14, 19], 2) изменения в оптических параметрах (коэффициентах поглощения и рассеяния) тканей [7, 8, 12, 14, 19] и 3) физические механизмы, приводящие к изменениям оптических параметров [3, 12, 19, 20-23].

Внешняя механическая компрессия биоткани изменяет ее морфо-функциональное состояние, ее структуру, кровенаполненность кровеносных сосудов, вызывает перемещение воды внутри биоткани, что отражается на оптических свойствах биоткани (рассеянии и поглощении) и, как следствие, на величине и спектральном составе диффузно отраженного биологической тканью излучения. Перспективность использования компрессионного метода просветления биотканей отмечается в оптической когерентной томографии [2, 20, 24-26] и флуоресцентной спектроскопии [1, 13, 27-29] биотканей.

С тех пор, как почти 40 лет назад был отмечен эффект увеличения глубины проникновения лазерного излучения в биоткань при наложении на нее внешнего локального механического давления [30], появился довольно большой объем публикаций, связанных с исследованиями влияния внешней механической компрессии на оптические свойства биотканей.

Первые исследования [7, 8] проводились на образцах биотканей *ex vivo*. Авторы [7] рассматривали вопросы влияния компрессии на оптические

свойства мягких тканей (кожа человека, склера и аорта быка, склера свиньи) и возможные механизмы изменений оптических свойств биотканей *ex vivo* в условиях компрессии. В общем, отмечалось, что наложение внешней компрессии приводит к уменьшению диффузного отражения и увеличению пропускания света образцами биотканей. Были сделаны выводы о том, что компрессия увеличивает коэффициент поглощения и рассеяния биоткани, а возможным механизмом эффекта является увеличение концентрации рассеивателей. При этом отмечалось увеличение эффектов при увеличении компрессии. Изменения в физической структуре мягкой ткани (несжатые образцы более рыхлые по сравнению со структурами более плотных и компактных сжатых образцов [7]) являются одной из причин изменения оптических свойств ткани под действием компрессии, а количество воды, вытесненной из области локализованного давления, является основным фактором вариаций спектров отражения.

Подобные результаты были получены и в работе [8]. Авторы исследовали влияние механической компрессии на образцы кожи свиньи *ex vivo*, и было получено, что при механическом сдавливании образцов происходит увеличение пропускания света через них, при этом эффект носил необратимый характер. Нужно отметить, что эксперименты проводились с образцами, на которые накладывалось внешнее давление на достаточно большой (более 100 мм²) площади, существенно превышающей размеры площади прикладывания давления в случае использования волоконно-оптического датчика.

Авторами работы [7] на основе экспериментов с *ex vivo* кожей свиньи получено, что локализованная механическая компрессия образцов кожи приводит к уменьшению рассогласования показателей преломления компонентов биоткани и уменьшению в ней рассеяния света. По мнению авторов, просветление биоткани обратно пропорционально ее состоянию гидратации. Эти результаты хорошо согласуются с отмеченной авторами [22-23] корреляцией между водными потерями и просветляющей способностью химических агентов для образцов мышечной ткани свиньи и желудка.

Авторы работ [12, 14] также исследовали диффузное отражение света и его пропускание образцами кожи свиньи *ex vivo* в условиях механической компрессии. Сделано предположение, что для объяснения полученных результатов недостаточно факта уменьшения толщины образца, а необходимо привлекать другие эффекты, в том числе динамические. Компрессия образцов биоткани улучшает визуализацию объекта, располагаемого за образцом биоткани, увеличивая разрешение и контраст его изображения.

Механическое оптическое просветление к настоящему времени является развивающимся методом, который поддерживает целостность *stratum corneum*, создает локальные эффекты и может показывать большую скорость оптического просветления [31, 32].

Однако в работе [33] отмечено, что прикладываемое к датчику давление может изменить оптический отклик ткани, так как измерения диффузного отражения с помощью волоконного датчика обычно производится в контакте с тканью.

В работах [34-36] также отмечается, что прикладываемое контактное давление ведет к структурным изменениям в коже и нижележащих тканях, в результате чего изменяются оптические свойства тканей и регистрируемые спектры. Более того, контактное давление не всегда измеряется в месте датчика и измерения происходят не одновременно со спектральной информацией.

Влияние приложенного давления на спектры диффузного отражения легких и эпителиальных тканей рассмотрено в работах [36, 37].

В работе [38] отмечается спектральная зависимость давления волоконно-оптического датчика, используемого при регистрации диффузного отражения *in vivo*.

Авторы [15] отмечают, что метод диффузной отражательной спектроскопии находит широкое применение в многочисленных биомедицинских применениях. Спектры отражения могут быть получены двумя путями, названными точечной спектроскопией или гиперспектральной

визуализацией. Во многих практических применениях используется волоконно-оптический датчик, при этом спектры отражения формируются отраженным, частично поглощенным и рассеянным светом. Данные по поглощению содержат количественную и функциональную информацию о компонентах ткани, в то время как данные по рассеянию дают информацию о структуре и клеточном составе [39]. Однако давление датчика на ткань при контакте может значительно менять оптические свойства ткани [40-42].

Влияние статического и динамического давления на диффузное отражение образцов мягких тканей свиньи (ребра и печень) *in vitro* и кожу человека *in vivo* с целью возможности их классификации рассмотрено в работе [43]. Показано, что спектры тканей с приложенным динамическим давлением более информативны.

Механическая компрессия изменяет также оптические свойства биотканей в условиях *in vivo*, что сопровождается спектральными изменениями в диффузном отражении света биотканями [13-14, 18-19, 21-23, 44]. Отмечалось, что оказываемое на кожу давление приводит к уменьшению глубины провала в зеленой области спектра, в результате чего коэффициент отражения биоткани в этой области увеличивался, и уменьшению коэффициента отражения кожи в желто-красной области спектра.

Влияние компрессии на спектры диффузного отражения *in vivo* кожи в диапазоне 1100 – 1700 нм исследовалось в работе [9], где было показано, что при увеличении давления волоконно-оптического датчика на поверхность кожи диффузное отражение уменьшается. Увеличение компрессии осуществлялось путем вдавливания торца датчика внутрь кожи. Получено, что по мере увеличения контакта диффузное отражение сначала значительно флуктуирует, а по истечении определенного времени контактные флуктуации стабилизируются, что авторы связывали с изменением подкожной структуры. Исходя из биомеханической структуры кожи и подкожной ткани человека, можно считать, что подкожный жир и мышечная ткань обладают хорошей эластичностью и до определенной степени устойчивостью к внешней

компрессии. Поэтому при измерении диффузного отражения биоткани в условиях компрессии можно считать, что кожа и подкожная ткань соответственно меняются, влияя на стабильность измеряемых спектров. Однако при увеличении контактного времени структура биоткани стабилизируется, и степень ее влияния на спектры ослабевает. Авторы определили оптимальное состояние контакта и оптимальное время измерения, при которых влияние давления на измерения диффузного отражения в данном эксперименте минимально.

Аналогичную задачу решали авторы работы [19] для спектра отражения кожи в видимом диапазоне. Исследовалось влияние давления волоконно-оптического датчика на поверхность кожи *in vivo* на спектры диффузного отражения в диапазоне 345–1000 нм. Компрессия на кожу менялась дискретно путем пошагового вдавливания торца датчика (диаметром 8.25 мм) внутрь кожи. Максимальное давление на кожу составляло величину порядка 10^5 Па. Авторы обнаружили, что с увеличением компрессии спектры диффузного отражения ведут себя по-разному. В одном случае увеличение давления приводило к уменьшению диффузного отражения в диапазоне длин волн 530–680 нм (режим «parallel pattern»), в другом случае с увеличением давления спектры «крутились» вокруг изобестической точки 590 нм, в результате ниже этой длины волны диффузное отражение увеличивалось, а выше – уменьшалось (режим «pivot pattern»). Изобестическая точка на длине волны 600 нм, коэффициент отражения на которой практически не менялся при наложении компрессии, отмечали также авторы [45].

Исследованию влиянию внешнего механического давления на спектры диффузного отражения в ближней инфракрасной области мягких тканей посвящены работы [15, 21]. Исследовалось влияние статического и динамического (меняющегося) давления на диффузное отражение мягких тканей (*in vitro* жир и мышцы и *in vivo* кожи разных участков ладони и запястья – над мышцей, над веной и над костью). Было получено, что в случае образцов кожи прикладываемое давление приводит к уменьшению диффузного

отражения и рассеяния, в то время как концентрации хромофоров (вода, гемоглобин, липиды) и, соответственно поглощение, увеличивались. Авторы предположили, что вызванные давлением спектральные изменения сильно зависят от местоположения участка и того, какими являются нижележащие ткани. Кроме того, то же самое контактное давление вызывает большие изменения в спектрах ближнего инфракрасного спектрального диапазона, чем в спектральном диапазоне от 650 до 900 нм.

В работе [13] исследовались влияние давления волоконно-оптического датчика на спектры диффузного отражения кожи человека (шеи, пальца и предплечья) *in vivo*. Были изучены эффекты кратковременного (менее 2 сек) и долговременного (более 30 сек) механического воздействия на спектральные измерения. В измерениях использовался волоконно-оптический датчик диаметром 6.35 мм, содержащий шесть осветительных волокон и одно для сбора отраженного излучения. Максимальное прикладываемое давление составляло величину порядка $1.5 \cdot 10^5$ Па. Было получено, что при большом давлении происходят значительные спектральные изменения при продолжительной компрессии, при этом давление датчика влияет не только на оптические, но и на физиологические параметры кожной ткани.

Помимо диффузного отражения биотканей в условиях *in vivo* при наличии механической компрессии изменяется также автофлуоресценция биотканей [13, 27-29]. Одними из первых исследователей, кто отметил влияние компрессии на спектры диффузного отражения и автофлуоресценции кожи человека *in vivo*, были авторы работ [45, 27]. Внешняя компрессия приводила к увеличению интенсивности автофлуоресценции кожи в коротковолновой области видимого диапазона спектра [40]. В работе [13] исследовались влияния давления волоконно-оптического датчика на спектры диффузного отражения и автофлуоресценции кожи человека (шеи, пальца и предплечья) *in vivo*.

Влияние компрессии на флуоресценцию биотканей зачастую носит противоречивый характер. Так, в работе [27] отмечается существенное

увеличение интенсивности автофлуоресценции кожи человека *in vivo* в случае компрессии кожи, в то время как влияние внешнего давления на цервикальную флуоресценцию незначительно [28, 29].

1.2 Влияние внешней механической компрессии на физиологические свойства биоткани

Авторы [13] считают, что спектральные изменения обусловлены изменениями физиологических характеристик, при этом изменения специфичны для кожи разной морфологии. После наложения компрессии отмечается увеличение концентрации гемоглобина в коже шеи, в то время как содержание гемоглобина в коже пальца и предплечья уменьшается. Гемоглобин в коже шеи уменьшается только при достаточно большом давлении (порядка $0.77 \cdot 10^5$ Па), в отличие от кожи пальца и предплечья. С увеличением давления содержание гемоглобина продолжает уменьшаться, при этом также уменьшается степень насыщения гемоглобина кислородом, и через 60 секунд гемоглобин в тканях полностью отсутствует. Авторы считают, что такие различия в поведении спектров обусловлены морфологией образцов.

По сравнению с поглощением приведенный коэффициент рассеяния меняется в меньшей степени. С увеличением давления он увеличивается для предплечья, уменьшается для кожи шеи и мало меняется для пальца. Авторы высказывают гипотезу, что уменьшение коэффициента рассеяния при увеличении давления на кожу шеи обусловлено вытеснением воды в эпидермисе и дерме. В случае предплечья происходит аналогичная компрессия и вытеснение воды, однако наличие кости препятствует переходу дермы в гиподерму, способствуя увеличению глубины проникновения датчика в дерму. В результате увеличивается общее рассеяние, так как датчик достигает области дермы с сильно рассеивающим коллагеном. Это подтверждает и увеличение флуоресценции коллагена в случае предплечья.

В работе [10] изучались эффекты влияния давления волоконно-оптического датчика на физиологические характеристики мышечной ткани

мышцы *in vivo*. Давление, оказываемое датчиком, достигало $0.2 \cdot 10^6$ Па. Получено, что при увеличении давления степень оксигенации гемоглобина уменьшаются, в то время как приведенный коэффициент рассеяния на длине волны 700 нм увеличивается. Авторы высказывают предположение, что компрессия сдавливает кровеносные сосуды, уменьшая поток крови, что приводит к уменьшению потока оксигенированной крови, поступающей в ткань. Давление датчика также может увеличить плотность рассеивателей в единице объема, которое может ассоциироваться с увеличением приведенного коэффициента рассеяния. Авторы отмечают, что преобладающий вклад в поглощение мышцы дают гемоглобин и миоглобин. Авторы считают, что спектр поглощения миоглобина схож со спектром гемоглобина, а его концентрация в мышцах обычно ниже, чем гемоглобина, поэтому считают вклад миоглобина в поглощение пренебрежимо малым. Хотя при уменьшении диаметра сосудов относительная концентрация миоглобина может увеличиться. Нужно отметить, что реакция приведенного коэффициента рассеяния на внешнее давление специфична, что позволяет отличить более постоянную и вокализованную мышечную ткань от кожи.

В работе [46] отмечается, что пигментами, отвечающими за цвет мышечной ткани, являются миоглобин и гемоглобин, при этом миоглобин является самым доминирующим пигментом ткани, который обычно существует в образцах ткани как оксимиоглобин, деоксимиоглобин и метмиоглобин. В работе приведены результаты мониторинга процессов оксигенации и окисления миоглобина в мышечной ткани свиньи. Получено, что с течением времени хранения образца ткани вначале образуются два слоя, внешний представлен в виде оксигенированного миоглобина, а внутренний занят деоксимиоглобином, причем в течение нескольких дней процесс оксигенации распространяется внутрь образца, формируя более толстый слой ткани с оксимиоглобином. В дополнение к процессу оксигенации в образце мышечной ткани происходит также процесс окисления, который переводит окси- и деоксимиоглобин в метмиоглобин.

Помимо содержащегося в мышечной ткани миоглобина в кровеносной системе мышц содержится гемоглобин, который в отличие от миоглобина, не способного транспортировать кислород от легких к периферическим тканям, этой возможностью обладает.

Для понимания процессов, происходящих в мышечной ткани, важно исследование временных изменений физиологических свойств мышечной ткани при наложении внешней компрессии. Частично вопрос инерционности биофизических процессов в биотканях при наложении внешней компрессии изучен в работах [47, 48], тем не менее он остается актуальным.

Авторы работы [11] также высказывают мысль, что большой вклад в спектральные изменения диффузного отражения и флуоресценции могут дать изменения физиологических параметров ткани, такие как изменение объема крови, оксигенация гемоглобина крови и метаболизм ткани.

В работе [16] легочная ткань подвергалась повторяющимся циклам компрессии. При сдавливании ткани отмечено уменьшение рассеяния, а также содержания гемоглобина и насыщение ткани кислородом. Авторы также отмечают эффект гиперемии в течение повторяющихся циклов. Сделано заключение, что наведенные компрессией значительные изменения в физиологических характеристиках ткани могут быть использованы при оптической визуализации ткани легких.

Влияние давления волоконно-оптического датчика на спектральные измерения диффузно отраженного света от слизистой внутренней стороны нижней губы человека *in vivo* исследовалось авторами работы [17]. Объект зондировался линейно поляризованным светом в пределах 100-200 мкм глубины приповерхностного слоя. Измерялись разностный поляризационный спектр (при средней глубине зондирования 100 мкм) и кросс-поляризованный компонент (средняя глубина зондирования 200 мкм). По данным измерения рассчитывались несколько параметров, включая содержание гемоглобина, насыщение крови кислородом, диаметры кровеносных сосудов и общую интенсивность рассеяния. Получено, что при наложении компрессии

значительно увеличивается разностный сигнал и значительно уменьшается кросс-поляризованный компонент. Отмечено уменьшение содержания гемоглобина и степени оксигенации гемоглобина при наложении давления.

Авторы работ [15, 21] предположили, что вызванные давлением спектральные изменения сильно зависят от местоположения участка и того, какими являются нижележащие ткани, что дает дополнительную информацию для улучшения чувствительности и специфичности классификации мягких тканей. Кроме того, то же самое контактное давление вызывает большие изменения в спектрах ближнего инфракрасного спектрального диапазона, чем в спектральном диапазоне от 650 до 900 нм.

Об аналогичных выводах сообщалось в исследовании уровня глюкозы в крови с помощью оптической когерентной томографии [24]. Приложение датчика с давлением ниже одного кПа приводило к повышению точности и воспроизводимости измерений по сравнению с более высоким давлением, превышающим десять кПа.

В настоящее время внешняя механическая компрессия используется как метод, позволяющий увеличить разрешение и контраст изображения при оптической когерентной томографии биотканей, [2, 24-25]. Так, в работе [25] исследовалась эффективность механической компрессии биотканей для улучшения дифференциации патологических изменений структуры биологической ткани при использовании метода оптической когерентной томографии. Были проведены эксперименты по влиянию компрессии на изображения прямой кишки *ex vivo* и показана эффективность компрессии при дифференциации воспаления и карциномы прямой кишки при диагностике методом ОКТ *ex vivo*. Регистрация ОКТ-изображений в двух ортогональных поляризациях позволяет получить дополнительную информацию о структуре исследуемой ткани. В работе [2] показано, что механическая компрессия увеличивает контраст перехода эпидермис-дерма и уменьшает контраст перехода *stratum corneum*-эпидермис, что, по мнению авторов, связано со структурными и функциональными изменениями в ткани, вызванными

компрессией. Для просветления кожи в ОКТ предлагается использовать оптический механический оптический прибор [26].

Возможные механизмы, отвечающие за изменение оптических свойств, связываются с изменением толщины или веса тканей и непосредственно связаны с их дегидратацией. Компрессия уменьшает толщину образца и вызывает вытекание жидкости из образцов, при этом изменения в толщине тканей и содержании воды влияют на оптические свойства образцов разными путями.

Мягкие ткани являются сложными гетерогенными материалами, состоящими из воды, белков, липидов и клеток. В частности, кожа на 70-80 % состоит из воды (в свободном и связанном состоянии) [49], а остальные составляющие главным образом являются белковыми структурами, такими как коллаген. Показатель преломления коллагена составляет примерно 1.55 при 1310 нм, что значительно больше, чем показатель преломления воды (1.32 при 1310 нм) [50-51]. В результате такая гетерогенная среда содержит множество элементов с несовпадающими показателями преломления, что приводит к рассеянию падающего света в пределах ткани, снижая глубину проникновения света.

Роль воды для жизнедеятельности организма человека неоценима. Все химические реакции организма протекают в водной среде, которая составляет 65 – 70% общей массы тела человека. Такое количество воды в биоткани определяет ее механические и оптические свойства [52]. Молекула воды, имея две водородные связи акцепторного и донорного характера, может легко соединяться с полярными молекулами твердой матрицы в биоткани, таких как белки и липиды. Благодаря компактности водородной связи между H_2O и белковой матрицей, вода внутри кожи может делиться на две группы: основную (свободную) воду и связанную (водородной связью с белковой матрицей) воду. Они обладают различными механическими и спектральными свойствами. Основная вода может легко транспортироваться внутри кожи.

Связанная вода очень плотно аффилирована и трудно отделяется от твердой матрицы.

Сложная структура биотканей и связанные с этим вариации в показателе преломления их компонентов делают такие среды сильно рассеивающими в видимой и ближней инфракрасной областях спектра. Исключением не является и кожная ткань, которую, согласно модели двухфазной нелинейной смеси [53], можно представить как несжимаемую эластичную твердую матрицу, образованную главным образом из эластичных волокон и клеток, заполненную водой. Твердая матрица обеспечивает воде сопротивление к растеканию. Эта модель наилучшим образом представляет состав и механические свойства кожи.

Механическое оптическое просветление достигается за счет местного сжатия ткани и предположительно объясняется смещением межклеточной воды и крови, что приводит к местной дегидратации ткани и изменению рассеивающих и поглощающих свойств ткани [3, 20]. Поскольку ткань сжимается, вода и кровь перемещаются из областей, подвергающихся высокой деформации сжатия (относительное изменение толщины), что уменьшает местную объемную долю воды и, следовательно, несоответствие показателей преломления между компонентами ткани и снижение коэффициентов рассеивания и поглощения [17].

В условиях компрессии увеличивается плотность поглощающих или рассеивающих центров, что является результатом уменьшения пространства между клеточными компонентами. Так как сечения рассеяния или поглощения остаются постоянными или слегка уменьшаются, то в результате воздействия компрессии коэффициенты поглощения и рассеяния увеличиваются. Увеличение объемной концентрации воды из-за уменьшения толщины ткани может также быть причиной увеличения коэффициента поглощения при наложении компрессии.

Коэффициенты поглощения для сжатых образцов имеют большую величину, даже если они имеют схожие толщины с образцами без компрессии.

Это является следствием того, что физические структуры несжатых образцов (даже если они дегидратированы) более рыхлые по сравнению со структурами сжатых образцов, которые более плотные и компактные.

Изменения в физической структуре мягкой ткани являются одной из причин изменения оптических свойств ткани под действием компрессии. Изменения будут необратимыми, если структура не возвращается в исходное состояние после компрессии. Если толщина ткани не возвращается в свое начальное состояние после снятия компрессии, то это может быть объяснением того, что изменения оптических свойств в результате компрессии необратимы.

Динамика объемной фракции воды в процессе компрессии образцов ткани анализировалась авторами работы [44] на основе экспериментов с *ex vivo* кожей свиньи, проведенных методом ОКТ. Анализ проводился в предположении, что кожа может быть представлена как двухкомпонентная смесь воды и белка.

Результаты сравнивались с результатами весовых измерений образцов в процессе компрессии и в процессе сушки образцов. Получено, что локализованная механическая компрессия образцов кожи уменьшает толщину ткани (более, чем в два раза), уменьшает содержание воды в образцах (объемная доля уменьшалась более, чем в три раза) и увеличивает величину показателя преломления образцов (от 1.39 до 1.50). При этом отмечается, что компрессия приводит к тем же эффектам, что и в случае дегидратации образцов при их воздушной иммерсии (сушке). Локальная механическая компрессия не только уменьшает рассеяние в коже благодаря уменьшению содержания в дермальной коллагеновой матрице несвязанной воды, в результате чего белковая структура становится более плотно упакованной, что приводит к лучшему согласованию показателей преломления компонентов биоткани, а также уменьшается поглощение образцов.

Корреляция увеличения локального механического давления с уменьшением приведенного коэффициента преломления в течение времени

компрессии отмечается авторами работы [14]. Вдавливание источника освещения в биоткань увеличивало пропускание света через ткань, при этом величина относительного пропускания увеличивается как функция деформации сдавливания (относительного изменения толщины). Приведенный коэффициент рассеяния уменьшался на 12.0% при относительном уменьшении толщины на 0.44 и на 35.6% при деформации 0.71. Увеличение деформации до 0.45 уменьшало приведенный коэффициент рассеяния на ~15%.

Подробные исследования влияния давления волоконно-оптического датчика на оптические свойства биоткани приведены в [44], при этом акцент сделан на изменениях в содержании воды. Объектами исследований являлись образцы *in vitro* кожи свиньи и *in vivo* кожи человека. Результаты проведенных исследований показали, что контактное давление датчика при достижении определенного порога и длительности может значительно повлиять на спектр отражения. Так как биоткань с высоким содержанием воды в значительной степени не сжимаема, то авторами предлагается механизм изменения оптических характеристик биоткани при ее компрессии, связанный с деформацией биоткани и вытеснением воды из области сжатой ткани. Количество воды, вытесненной из области локализованного давления, является основным фактором вариаций спектров отражения. Моделирование таких вариаций проводилось на основе двухфазной модели кожи, согласно которой кожа представляет собой совокупность несжимаемой эластичной твердой матрицы, образованной главным образом из эластичных волокон и клеток, которые играют главную роль в нелинейном механическом отклике биоткани на внешние воздействия, и заполняющей твердую матрицу жидкости. Результаты показали, что изменения свободной и связанной воды в ткани связаны с давлением нелинейным образом. В случае кожи свиньи *in vitro* наложение компрессии ведет к вытеснению свободной воды из области компрессии, в то время как перемещение связанной воды затруднено. При давлении около 400 кПа содержание связанной воды уменьшается на 30%, что,

по мнению авторов, связано с деформацией ткани. Показано, что временные изменения содержания свободной и связанной воды в коже свиньи *ex vivo* происходят в течение времени порядка 6 минут после наложения компрессии, после чего процесс стабилизируется, при этом время стабилизации зависело от величины прикладываемого давления. На ранних стадиях деформации ткани при определенном давлении основная вода выходит из области компрессии с высокой скоростью из-за большого напряжения внутри ткани. Из-за релаксации напряжения биотканей деформация и скорость миграции основной воды постепенно уменьшается. По истечении определенного времени, зависящего от величины компрессии, деформация ткани и транспорт основной воды становятся постоянными.

По сравнению с кожей свиньи *in vitro* компрессия *in vivo* кожи человека приводит первоначально к уменьшению объема свободной воды, а при давлениях свыше 250 кПа объем свободной воды увеличивается. Поведение связанной воды носит противоположный характер. Эксперименты показывают, что по мере уменьшения количества свободной воды в области компрессии часть связанной воды становится свободной. По сравнению с кожей свиньи толщина и количество свободной воды менее чувствительны к давлению. Временные изменения свободной воды малы, что объясняется непрерывным переходом связанной воды в свободную для защиты в живой ткани нормального метаболизма.

Несмотря на то, что деформация ткани под действием компрессии дает значительный вклад в эффект оптического просветления, этого вклада недостаточно для экспериментально отмеченного увеличения пропускания света сжатыми средами. В результате проведенных исследований [12] получено, что увеличение пропускания продолжается увеличиваться даже при условии, что толщина ткани сохраняется постоянной. Механическое просветление может быть функцией относительного изменения толщины ткани (деформации сдавливания), а не просто абсолютного уменьшения толщины ткани из-за приложенного давления.

Это говорит о том, что механизмов оптического просветления может быть больше, чем простое уменьшение толщины. Авторы [3] отмечают, что дегидратация является важным механизмом оптического просветления с использованием химических агентов, и проводят анализ, каким образом дегидратация может давать вклад в уменьшение рассеяния света. Объяснение механизма оптического просветления дает выражение, связывающее приведенный коэффициент рассеяния с объемной фракцией рассеивающих частиц. Параболическая зависимость приведенного коэффициента рассеяния от плотности упаковки рассеивающих частиц показывает, что эффекты дегидратации модифицируют плотность упаковки рассеивающих частиц. Связь показателей преломления и изменения в форме или структуре рассеивающих частиц влияют на поперечное сечение рассеяния. По мнению авторов, просветление биоткани обратно пропорционально ее состоянию гидратации. Эти результаты хорошо согласуются с отмеченной авторами [22-23] корреляцией между водными потерями и просветляющей способностью химических агентов для образцов мышечной ткани свиньи и желудка.

Дегидратация может уменьшить рассеяние света путем увеличения объемной фракции рассеивающих частиц. Обезвоживание биоткани делает коллагеновые фибриллы и органеллы более тесно упакованными, но не вызывает значительных изменений в их размерах. Так как естественная плотность коллагеновых фибрилл составляет величину порядка 65% и возрастает из-за дегидратации до 90%, то такие структурные изменения могут дать 60% уменьшение приведенного коэффициента рассеяния в предположении, что показатель преломления базовой субстанции не меняется. Вклад в оптическое просветление может также дать уменьшение рассогласования показателей преломления между фибриллами и межфибрилярного пространства, вызванное увеличением концентрации протеогликанов (или экзогенных иммерсионных субстанций) [54].

Количественные измерения дегидратации биотканей в результате внешней компрессии весьма затруднительны, особенно если исследуется *in*

vivo биоткань. Если дегидратацию *ex vivo* образцов биотканей можно оценить путем их весовых измерений в процессах высушивания или компрессии, то в условиях *in vivo* такие измерения невозможны, и единственным измеряемым параметром в спектральных экспериментах является коэффициент диффузного отражения биоткани. Вода вносит существенный вклад в формирование спектра диффузного отражения биологической ткани. Изменение содержания воды в биоткани отчетливо проявляется в спектрах диффузного отражения как результат изменения поглощающих и рассеивающих свойств ткани. Дегидратация ткани уменьшает ее поглощение в инфракрасной области и изменяет рассеяние ткани в видимом и инфракрасном диапазонах длин волн.

Выводы

1. Внешняя механическая компрессия биоткани изменяет геометрию ткани и ее оптические параметры (коэффициенты поглощения и рассеяния) независимо от ее состояния (*in vitro* или *in vivo*), в результате чего уменьшается диффузное отражения и увеличивается пропускание образцов ткани.
2. Размер области прикладываемой компрессии по-разному влияет на распространение зондирующего света в ткани. При локальной механической компрессии, создаваемой торцом волоконно-оптического датчика (площадь прилагаемого давления порядка нескольких мм²), в месте приложения компрессии в ткани создается градиент показателя преломления, и этот объем среды выполняет роль линзы для распространяющегося в ткани зондирующего света. При наложении же механической компрессии на относительно большой участок поверхности ткани (порядка нескольких см²) сжатый объем ткани представляет собой пространственно однородную среду без линзовых эффектов, в которой в

отличие от области локальной компрессии характер распространения света меняется.

3. Изменение оптических свойств биоткани при наложении компрессии обусловлено изменениями ее физиологических параметров: содержания крови (гемоглобина), степени ее оксигенации и содержания и перемещения воды.
4. Как механические, так и оптические изменения, происходящие в биотканях при наложении компрессии, хорошо описываются двухфазной моделью биокани и обладают инерционностью. Подвижность воды в пределах твердой матрицы, состоящей из эластичных волокон и клеток, определяется зависящим от времени поведением плотных частей и состоянием воды. Соотношение деформации и времени релаксации биоткани при наложении компрессии зависит от вязкости жидкости в ткани, которая, в свою очередь, определяется соотношением свободной и связанной воды.

Вопрос инерционности биофизических процессов, происходящих в биотканях при внешней компрессии, остается актуальным и очень важным для понимания процессов, происходящих в биотканях в условиях наложения внешней компрессии.

Материалы, представленные в данной главе, были опубликованы в работах [47, 48, 55-58].

ГЛАВА 2. Влияние внешней механической компрессии биоткани на спектр ее диффузного отражения (модель)

Целью моделирования являлась оценка влияния изменений поглощающих и рассеивающих свойств биотканей, проявляющихся при наложении внешней компрессии, на спектры их диффузного отражения.

2.1. Кожная ткань

2.1.1. Модель кожной ткани.

Расчет спектра диффузного отражения кожной ткани $R(\lambda)$ проводился на основе модели кожной ткани, согласно которой кожа представлена в виде однородной полубесконечной рассеивающей среды с поглощением. Такая модель кожной ткани для анализа спектров диффузного отражения кожи вполне приемлема, так как рассеивающие свойства кожи определяются, главным образом, рассогласованием показателей преломления белковых компонентов дермы и воды, при этом содержание белковых компонентов по объему дермы можно считать однородным, также как и воды, содержание которой в коже хотя и имеет определенный градиент по мере проникновения в кожу, но беря во внимание толщины слоев, можно считать ее распределение в коже также однородным. То же относится и к поглощению кожи в красной области спектра и в ближнем ИК диапазоне, так как в этом диапазоне основным хромофором является вода. В сине-зеленой части видимого диапазона спектра поглощение света определяется содержанием пигмента меланина и гемоглобином крови папиллярной дермы, при этом при компрессии кожи меняется содержание в ней только крови и, соответственно, гемоглобина. Согласно простой оптической модели кожи [3] кровь достаточно узкого слоя поверхностного сосудистого сплетения выполняет роль поглощающего фильтра и без потери общности может быть равномерно распределена по всему объему кожи, участвующему в формировании обратного диффузного рассеяния света.

Оптические свойства такой среды характеризуются спектральными зависимостями коэффициента поглощения $\mu_a(\lambda)$ и приведенного коэффициента рассеяния $\mu'_s(\lambda)$ и спектр отражения среды в диффузионном приближении теории переноса излучения может быть записано в виде [59]:

$$R = \frac{a'}{2} \left(1 + \exp \left(-\frac{4}{3} A \sqrt{3(1-a')} \right) \right) \frac{1}{1 + \sqrt{3(1-a')}} , \quad (2.1)$$

где $a' = \frac{\mu'_s}{\mu_a + \mu'_s}$, Френелевское отражение на границе раздела воздух/среда учитывается введением коэффициента A (для кожи величина $(4/3)A$ равна 3,72).

Спектральная зависимость величины a' определяется спектрами поглощения $\mu_a(\lambda)$ и рассеяния $\mu'_s(\lambda)$, при этом спектр поглощения $\mu_a(\lambda)$ модельной среды определяется тремя основными хромофорами (меланином и гемоглобином в видимой области и водой в ближней инфракрасной области) со своими относительными вкладами

$$\mu_a(\lambda) = C_{hem} (C_{oxy} \mu_{oxy}(\lambda) + C_{deoxy} \mu_{deoxy}(\lambda)) + C_{mel} \mu_{mel}(\lambda) + C_{water} \mu_{water}(\lambda) . \quad (2.2)$$

а рассеяние модельной среды, как было сказано ранее, определяется спектральной зависимостью приведенного коэффициента рассеяния дермы, которую можно представить как суперпозицию рассеяния Релея и рассеяния Ми [61]:

$$\mu'_s(\lambda) = 0,55 \times 10^{12} \times \lambda^{-4} + 36,85 \times \lambda^{-0,22} . \quad (2.3)$$

В выражении (2.2) спектральные зависимости поглощения окси- и дезоксигенированного гемоглобина (в см^{-1}) были взяты в виде следующего выражения [60]:

$$\mu_{oxy,deoxy}(\lambda) = \frac{2,303 \times 150 \times \varepsilon_{oxy,deoxy}(\lambda)}{66500}, \quad (2.3)$$

где $\varepsilon_{oxy,deoxy}(\lambda)$ - спектры молярных коэффициентов экстинкции для двух форм гемоглобина, соответственно; относительные вклады хромофоров C_{oxy} , C_{deoxy} определяют степень оксигенации гемоглобина

$$Y = C_{oxy} / (C_{oxy} + C_{deoxy}) .$$

При моделировании степень оксигенации гемоглобина была принята равной 70% ($C_{oxy} = 0,7$, $C_{deoxy} = 0,3$).

В качестве эпидермального меланина был взят пигмент эумеланин [60], спектр экстинкции которого можно аппроксимировать следующей формулой:

$$\mu_{mel}(\lambda) = 544,936 \times \exp\left(-\frac{\lambda}{106,207}\right). \quad (2.4)$$

Спектр поглощения воды $\mu_{water}(\lambda)$ взят из [60].

Необходимо отметить, что при моделировании спектра отражения в формуле (2.1) рассеяние учитывалось в виде произведения $C_{scat} \mu'_s$, где C_{scat} – некий коэффициент, при этом изменение рассеивающих свойств модельной среды учитывалось путем изменения этого коэффициента C_{scat} .

2.1.2. Алгоритм расчета спектра отражения модельной среды

Расчет заключался в определении значений коэффициентов C_{hem} , C_{mel} , C_{water} , C_{scat} , при которых рассчитанный спектр диффузного отражения кожи максимально совпадал с экспериментально полученным спектром с использованием техники интегрирующей сферы. Получено, что максимальное совпадение спектров получено при следующих значениях коэффициентов: $C_{hem} = 0,0024$; $C_{mel} = 0,14$; $C_{water} = 1$, $C_{scat} = 0,5$. В дальнейшем считалось, что спектр, рассчитанный при данных значениях коэффициентов, соответствовал «нормальной» коже без компрессии.

2.1.3. Результаты расчета

2.1.3.1. Влияние рассеяния

На рисунке 2.1 приведены спектры диффузного отражения модельной среды, рассчитанные при разных значениях приведенного коэффициента рассеяния среды. Относительные изменения рассеивающих свойств модельной среды, для которых получены приведенные спектральные зависимости, приведены в табл. 2.1. Увеличение рассеяния на рисунке 2.1 отмечено направлением стрелки.

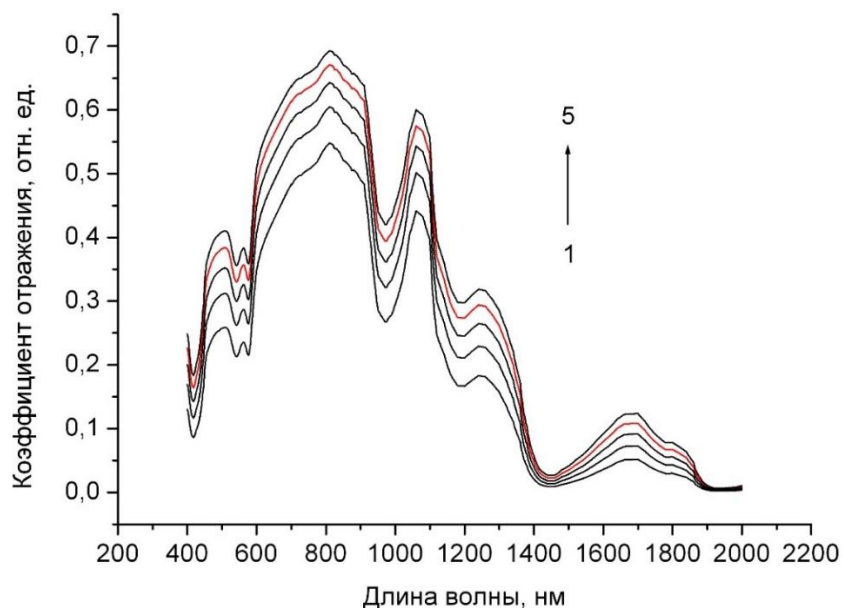


Рис. 2.1. Спектры диффузного отражения модельной среды с разными рассеивающими свойствами (значения концентраций указаны в табл. 2.1)

Табл. 2.1. Значения приведенного коэффициента рассеяния (в отн. ед.) модельной среды, для которых рассчитаны спектры диффузного отражения, приведенные на рис. 2.1.

№ спектра	Приведенный коэффициент рассеяния, отн. ед.
1	0,4
2	0,6
3	0,8
4	1,0 (норма). На рис. 2.1. спектр отмечен красным цветом
5	1,2

Из рисунка 2.1 видно, что с увеличением рассеяния величина коэффициента отражения модельной среды увеличивается во всей области спектра от 400 до 2000 нм.

Кинетику спектра отражения модельной среды, вызванного изменением ее рассеивающих свойств, можно проследить на рис. 2.2, где приведены

зависимости коэффициента отражения на фиксированных длинах волн от величины приведенного коэффициента рассеяния. В качестве выбранных длин волн взяты 970 нм, 1190 нм и 1450 нм, где вода имеет локальные максимумы поглощения, и 1070 нм и 1250 нм, где имеют место локальные минимумы поглощения воды, а также длина волны 810 нм, где поглощение воды минимально.

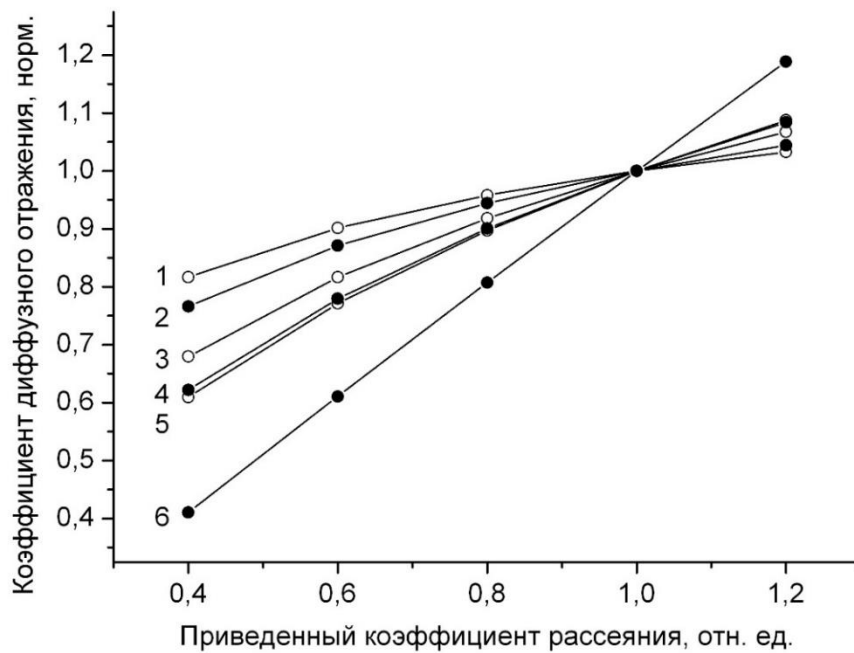


Рис. 2.2. Зависимость нормированных коэффициентов отражения модельной среды на фиксированных длинах волн от рассеивающих свойств среды. 1 - 810 нм, 2 - 1070 нм, 3 - 970 нм, 4 - 1250 нм, 5 - 1190 нм, 6 - 1450 нм

Для наглядности значения приведенного коэффициента рассеяния выражены в относительных единицах, полагая значение коэффициента для «нормальной» кожи равным единице. Реальные значения приведенного коэффициента рассеяния для каждой ткани без компрессии на выбранных длинах волн приведены в табл. 2.2.

Табл. 2.2. Оптические параметры кожи без компрессии на выбранных длинах волн

Длина волны, нм	Коэффициент поглощения, см ⁻¹	Приведенный коэффициент рассеяния, см ⁻¹
810	0.074	9.72
970	0.475	8.74
1070	0.136	8.36
1190	1.041	8.03
1250	0.886	7.90
1450	28.60	7.55

2.1.3.2. Влияние поглощения

Влияние поглощения, обусловленного присутствующей в модельном образце **воды**, на его спектр диффузного отражения видно из рис. 2.3, где приведены спектры диффузного отражения модельной среды при разном содержании в ней воды. Направление стрелки указывает увеличение содержания воды. Относительные вклады воды в поглощение модельной среды, для которых получены приведенные спектральные зависимости, приведены в табл. 2.3.

Из рисунка 2.3 видно, что с **увеличением содержания воды величина коэффициента отражения модельной среды уменьшается во всей области спектра от 700 до 2000 нм.**

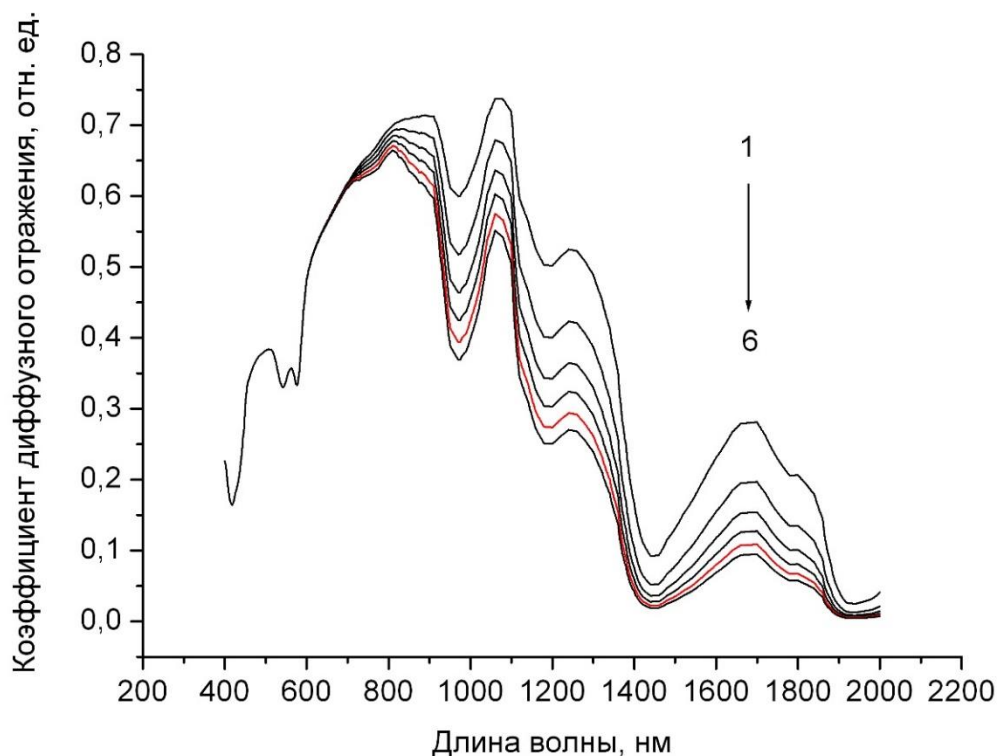


Рис. 2.3. Спектры диффузного отражения модельной среды с различным содержанием воды (значения концентрации воды приведены в табл. 2.3).

Табл. 2.3. Концентрации воды (в отн. ед.) в модельной среде, для которых рассчитаны спектры диффузного отражения

№ спектра	Концентрация воды, отн. ед.
1	0.2
2	0.4
3	0.6
4	0.8
5	1.0 (норма). На рис. 2.3. спектр отмечен красным цветом
6	1.2

Кинетику спектра отражения модельной среды, вызванного изменением содержания воды, можно проследить на рис. 2.4, где приведены зависимости коэффициента отражения на фиксированных длинах волн от концентрации воды в модельной среде. В качестве выбранных длин волн взяты те же длины

волн, для которых рассчитывались зависимости коэффициента отражения от величины приведенного коэффициента рассеяния.

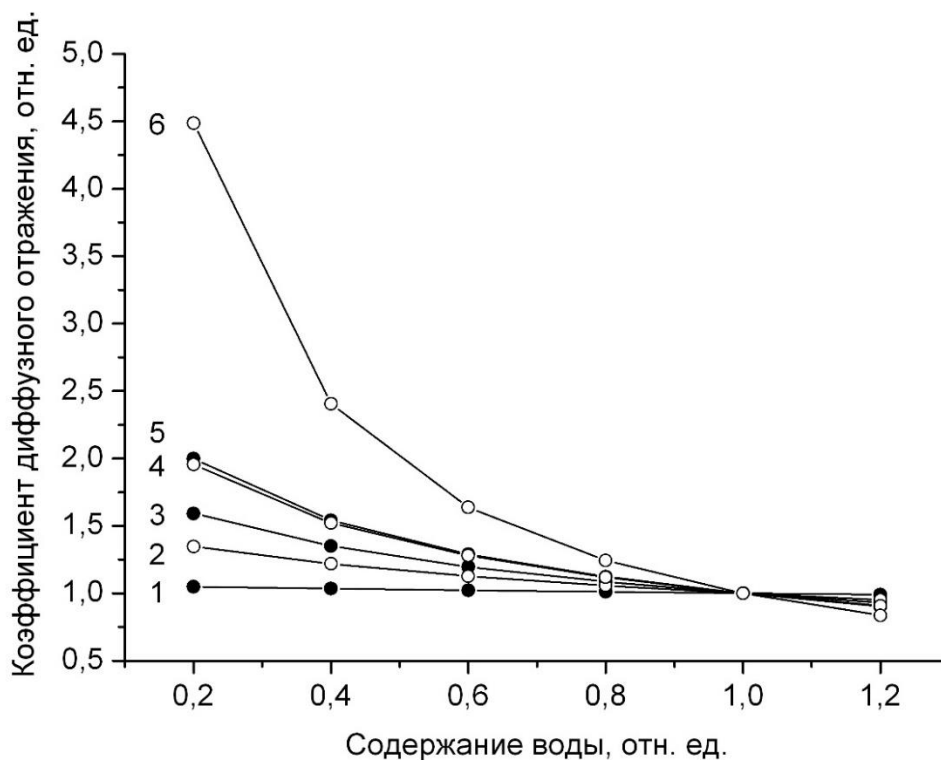


Рис. 2.4. Зависимость нормированных коэффициентов отражения модельной среды на фиксированных длинах волн от содержания воды.
1 - 810 нм, 2 - 1070 нм, 3 - 970 нм, 4 - 1250 нм, 5 - 1190 нм, 6 - 1450 нм

Влияние поглощения, обусловленного присутствующей в модельном образце крови (**гемоглобина**), на его спектр диффузного отражения видно из рис. 2.5, где приведены спектры диффузного отражения модельной среды при разном содержании в ней гемоглобина). Направление стрелки указывает увеличение содержания гемоглобина.

Относительные вклады гемоглобина в поглощение модельной среды, для которых получены приведенные спектральные зависимости, приведены в табл. 2.4.

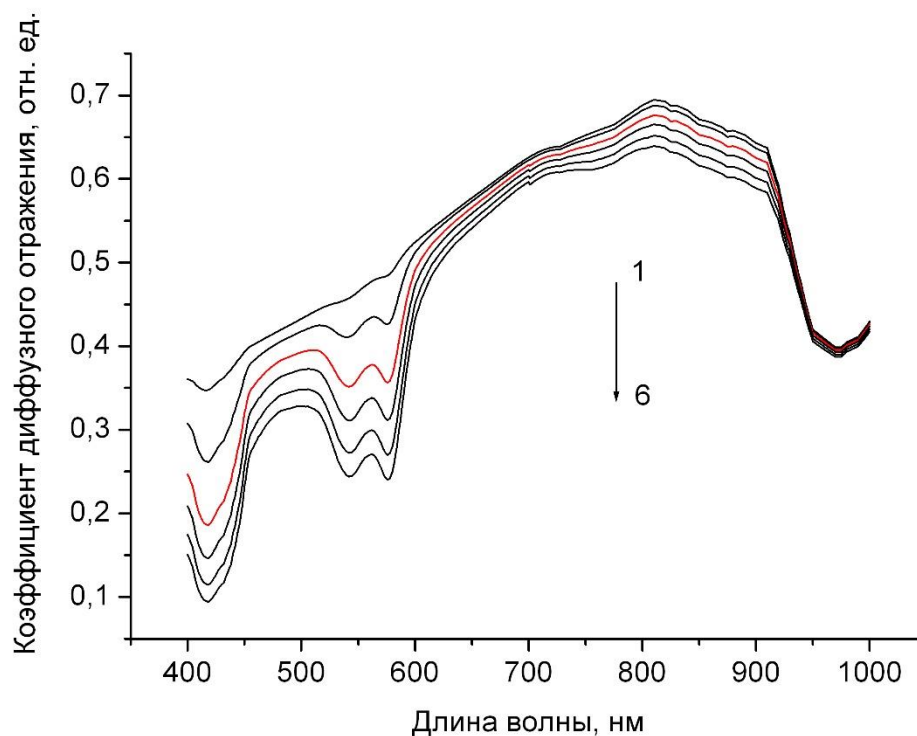


Рис. 2.5. Спектры диффузного отражения модельной среды с различным содержанием гемоглобина (значения концентрации гемоглобина приведены в табл. 2.4).

Табл. 2.4. Концентрации гемоглобина (в отн. ед.) в модельной среде, для которых получены спектры диффузного отражения кожи.

№ спектра	Концентрация гемоглобина, отн. ед.
1	0.0002
2	0.00096
3	0.0024 (норма). На рис. 2.5. спектр отмечен красным цветом
4	0.00384
5	0.00576
6	0.00768

Из рисунка 2.5 видно, что с увеличением содержания гемоглобина величина коэффициента отражения модельной среды уменьшается в области спектра поглощения гемоглобина.

2.2. Мышечная ткань

2.2.1. Модель мышечной ткани

Расчет спектра диффузного отражения мышечной ткани $R(\lambda)$ проводился на основе рассмотренной выше модели, согласно которой ткань представлена в виде однородной полубесконечной рассеивающей среды с поглощением. Такая модель мышечной ткани для анализа спектров ее диффузного отражения вполне приемлема, так как рассеивающие свойства мышечной ткани определяются объемным распределением в ней мышечных волокон и воды, которые можно считать однородными, при этом доминирующими пигментами в видимом диапазоне являются миоглобин в формах оксимиоглобина, деоксимиоглобина и метмиоглобина, а также оксигенированная и деоксигенированная формы гемоглобина, присутствующие в кровеносных сосудах мышечной ткани, которые можно считать также однородными.

Поглощение мышечной ткани в ближнем ИК диапазоне обусловлено, главным образом, водой, равномерно распределенной по объему ткани.

Поглощение мышечной ткани в спектральной области 500–650 нм определяют гемоглобин и миоглобин. Диффузное рассеяние света происходит на мышечных волокнах.

По аналогии с кожей оптические свойства такой среды характеризуется спектральными зависимостями коэффициента поглощения $\mu_a(\lambda)$ и приведенного коэффициента рассеяния $\mu'_s(\lambda)$, при этом аналитическое выражение для спектральной зависимости коэффициента диффузного отражения имеет вид (2.1).

Спектральную зависимость величины a' для модельной среды можно определить следующим образом.

Спектр поглощения $\mu_a(\lambda)$ модельной среды определяется тремя основными хромофорами (миоглобином и гемоглобином в видимой области и водой в ближней инфракрасной области) со своими относительными вкладами

$$\begin{aligned} \mu_a(\lambda) = & C_{hem} (C_{oxyh} \mu_{oxyh}(\lambda) + C_{deoxyh} \mu_{deoxyh}(\lambda)) + \\ & + C_{myo} (C_{oxym} \mu_{oxym}(\lambda) + C_{deoxym} \mu_{deoxym}(\lambda)) + \\ & + C_{met} \mu_{met}(\lambda) + C_{water} \mu_{water}(\lambda) \end{aligned} \quad (2.6)$$

Спектры поглощения разных форм гемоглобина в процессе оксигенации (оксигемоглобина (ОхуНб) $\mu_{oxyh}(\lambda)$ и дезоксигемоглобина (ДеохуНб) $\mu_{deoxyh}(\lambda)$) практически совпадают со спектрами поглощения разных форм оксигенации миоглобина (оксимиоглобина (ОхуМб) $\mu_{oxym}(\lambda)$ и дезоксимиоглобина (ДеохуМб) $\mu_{deoxym}(\lambda)$, соответственно).

Особняком стоит метмиоглобин (MetMb). Как отмечали авторы [46], процессы оксигенации и окисления делят срез мышечной ткани на три слоя. Самый верхний слой, где достаточно кислорода, аккумулирует оксимиоглобин, в то время как дезоксимиоглобин оккупирует самый внутренний слой, а слой метмиоглобина формируется между ними (на расстоянии 1-6 мм от поверхности). В дальнейшем усиливается процесс окисления, а интенсивность процесса оксигенации уменьшается, в результате чего уменьшается слой оксимиоглобина и расширяется слой метмиоглобина в направлении к поверхности образца. Оксимиоглобин имеет максимальное поглощение при 543-544 нм и 581-582 нм, при этом спектр поглощения ОхуМб легко отличить наличием максимума на 582 нм, который больше пика на 544 нм с резкой впадиной между ними. При высоких концентрациях ОхуМб имеет красный цвет, в то время как при низких концентрациях ОхуМб проявляет желто-коричневый цвет. Для дезоксимиоглобина RdMb максимум поглощения отмечается при 555-557 нм, он имеет пурпурный красный цвет.

Продукт окисления миоглобина (метмиоглобин MetMb) имеет полосы поглощения на 505 и 634 нм и коричневый цвет [62-66].

Одними из важнейших компонентов скелетной мышечной ткани являются кровеносные сосуды, при этом на одно мышечное волокно приходится от трех до шести капилляров диаметром 7-8 мкм [67], а их количество зависит от физических нагрузок. Находящийся в кровеносной системе гемоглобин имеет максимумы поглощения в зависимости от его состояния: для оксигемоглобина максимумы поглощения на длинах волн 542-543 и 580 нм, а для дезоксигемоглобина – 555 нм (табл. 2.5).

Табл. 2.5. Максимумы поглощения производных гемоглобина и миоглобина в диапазоне спектра 500-650 нм настоящих исследований и литературных данных

Производные миоглобина и гемоглобина	Настоящий эксперимент. Длина волны, нм	Литература [43, 58-62]. Длина волны, нм
DeoxyMb	555	555-557
OxyMb	545	543-544
	580	581-582
MetMb	505	500-505
	634	634
OxyHb	541-542	542-543
	577	581-582
DeoxyHb	555	555-557

В выражении (2.6) спектральные зависимости поглощения окси- и дезоксигенированного гемоглобина (в см^{-1}) были взяты в виде выражения

(2.3), при этом относительные вклады хромофоров C_{oxy} , C_{deoxy} определяют степень оксигенации гемоглобина $Y = C_{oxy} / (C_{oxy} + C_{deoxy})$.

По аналогии с кожей, в кровеносной системе которой содержится только гемоглобин и изменение содержания гемоглобина и степень его оксигенации оцениваются путем введения индексов гемоглобина и степени оксигенации гемоглобина [1], для мышечной ткани можно ввести индексы миоглобина и степени оксигенации миоглобина, а при наличии в ткани гемоглобина и миоглобина можно ввести индекс глобина и степень оксигенации глобина. Спектральные зависимости поглощения окси- и дезоксигенированного миоглобина взяты также в виде выражений (2.3).

Спектр поглощения воды $\mu_{water}(\lambda)$ взят из [60].

Рассеяние модельной среды, как было сказано ранее, определяется спектральной зависимостью приведенного коэффициента рассеяния дермы, которую можно представить как суперпозицию рассеяния Релея и рассеяния Ми [68]:

$$\mu'_s(\lambda) = 3,072 \times 10^{10} \times \lambda^{-3,407} + 8,463 \times \lambda^{-0,09} . \quad (2.7)$$

Как и в случае кожи при расчете коэффициента диффузного отражения мышечной ткани в формуле (2.1) рассеяние учитывалось как произведение $C_{scat} \mu'_s$, где C_{scat} – некий коэффициент, при этом изменение рассеивающих свойств модельной среды учитывалось путем вариации этого коэффициента C_{scat} .

2.2.2. Алгоритм расчета спектра отражения мышечной ткани

Расчет заключался в определении значений коэффициентов C_{hem} (C_{oxyh} , C_{deoxyh}), C_{myo} (C_{oxym} , C_{deoxym}), C_{scat} , при которых рассчитанный спектр

диффузного отражения мышечной ткани максимально совпадал с экспериментально полученным спектром.

В дальнейшем считалось, что спектр, рассчитанный при данных значениях коэффициентов, соответствовал «нормальной» мышечной ткани без компрессии.

2.2.3. Результаты расчета

2.2.3.1. Влияние рассеяния

На рисунке 2.6 приведены спектры диффузного отражения модельной среды, представляющей собой мышечную ткань, рассчитанные при разных значениях приведенного коэффициента рассеяния среды. На рисунке направление стрелки указывает увеличение рассеяния. Относительные изменения рассеивающих свойств модельной среды, для которых получены приведенные спектральные зависимости, приведены в табл. 2.6. Степень оксигенации глобина составляла величину 0.7.

Табл. 2.6. Значения приведенного коэффициента рассеяния (в отн. ед.) модельной среды, для которых рассчитаны спектры диффузного отражения, приведенные на рис. 2.6.

№ спектра	Приведенный коэффициент рассеяния, отн. ед.
1	0.4
2	0.6
3	0.8
4	1.0 (норма). На рис. 2.1. спектр отмечен красным цветом
5	1.2

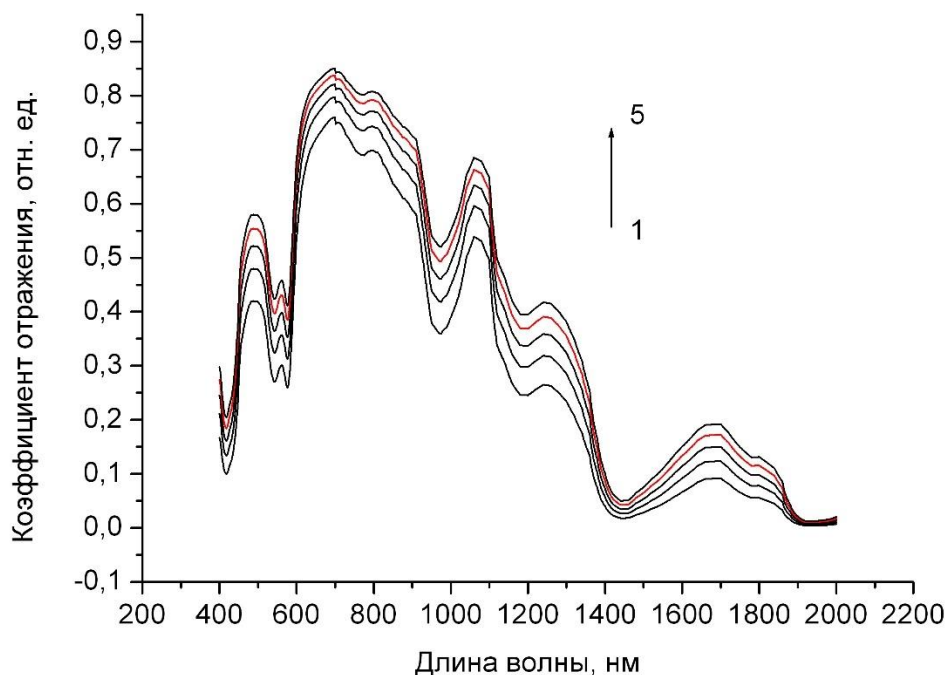


Рис. 2.6. Спектры диффузного отражения модельной среды с разными рассеивающими свойствами (значения концентраций указаны в табл. 2.6)

Из рисунка 2.6 видно, что эффект влияния рассеяния на спектр диффузного отражения мышечной ткани носит такой же характер, что и для кожи: **с увеличением рассеяния величина коэффициента отражения модельной среды увеличивается во всей области спектра от 400 до 2000 нм.**

2.2.3.2. Влияние поглощения

Влияние поглощения, обусловленного присутствующей в модельном образце **воды**, на его спектр диффузного отражения носит тоже такой же характер, как и в случае кожной ткани: **с увеличением содержания воды величина коэффициента отражения модельной среды уменьшается в области спектра от 700 до 2000 нм.**

Влияние поглощения, обусловленного присутствующими в модельном образце глобинах (**гемоглобина и миоглобина**) с разной степенью оксигенации, на его спектр диффузного отражения видно из рис. 2.7, где

приведены спектры диффузного отражения модельных сред с одинаковым содержанием глобинов, но с разной степенью их оксигенации. При расчете учитывалось, что спектры поглощения оксигемоглобина и оксимииоглобина, а также дезоксигемоглобина и дезоксимииоглобина практически совпадают.

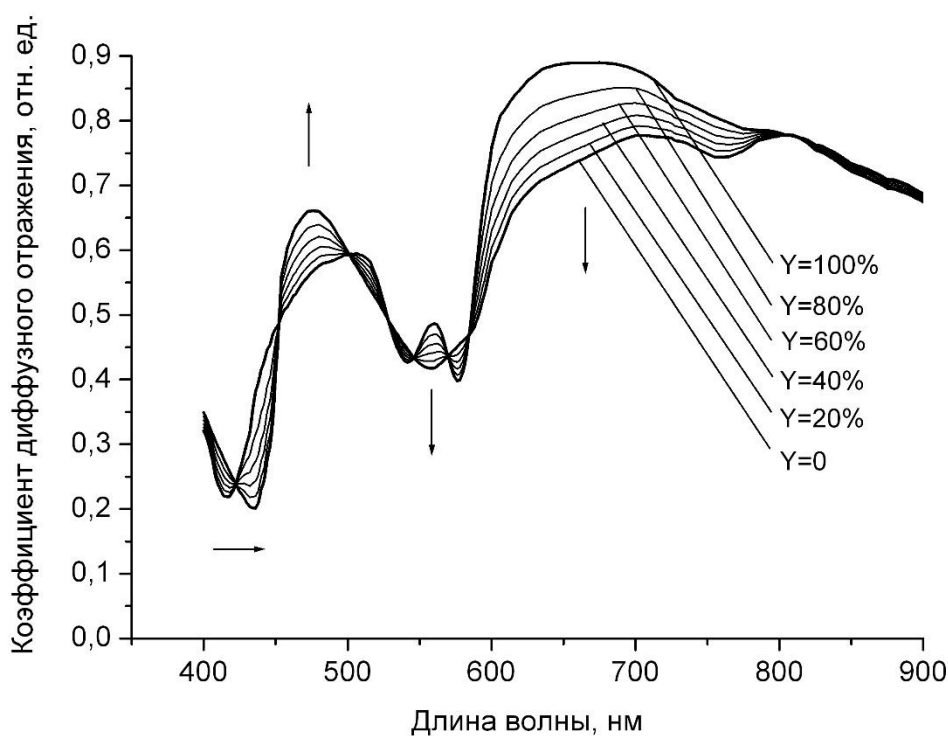


Рис. 2.7. Спектры диффузного отражения модельной среды с одинаковым содержанием глобинов с разной степенью оксигенации Y . Стрелками показана тенденция изменения формы спектра при увеличении степени оксигенации.

Из рисунка 2.7 видно, что в спектральном диапазоне 400-800 нм есть 6 длин волн, на которых коэффициент отражения модельной среды не зависит от состояния оксигенации глобинов. Длины волн этих изобестических точек равны 452, 502, 529, 545, 570 и 584 нм.

Ситуация становится иной, если помимо оксигенации миоглобин участвует в процессе окисления, в результате чего образуется метмиоглобин. Из рисунка 2.8, где показаны спектры поглощения оксимииоглобина, дезоксимииоглобина и метмиоглобина, можно предположить, что с увеличением относительного содержания метмиоглобина минимум

коэффициента отражения модельной среды смещается в область меньших длин волн.

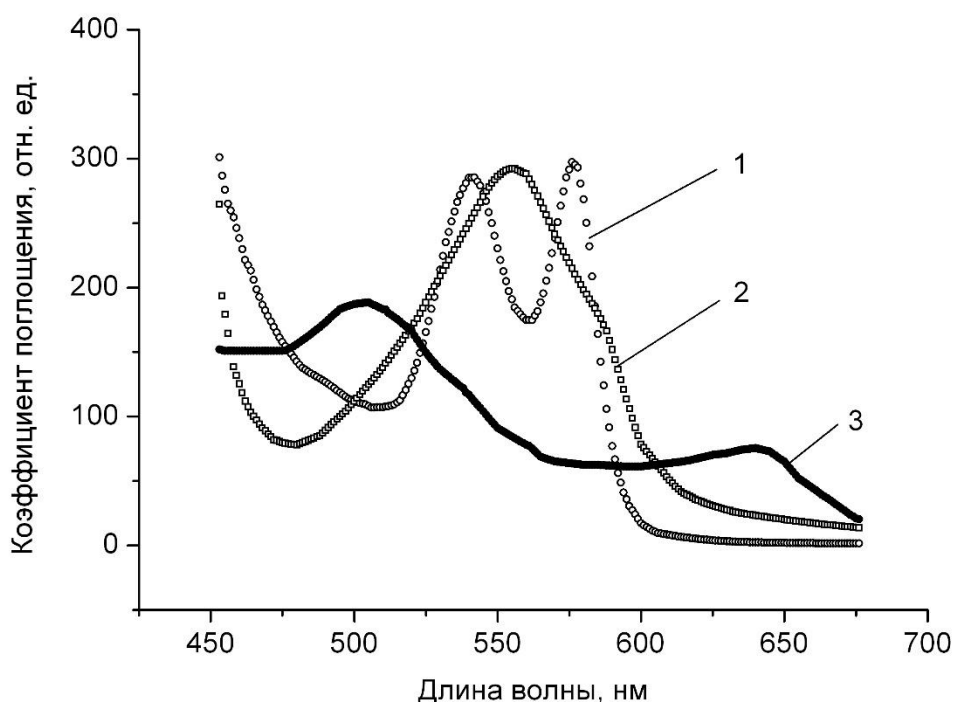


Рис. 2.8. Спектры поглощения оксимиоглобина (1), дезоксимиоглобина (2) и метмиоглобина (3) [62]

Это подтверждает рисунок 2.9, где приведены спектры диффузного отражения модельной среды, содержащей дезоксимиоглобин и метмиглобин с разным относительным содержанием. Длина волны 557 нм минимума спектра отражения модельной среды, содержащей только дезоксимиоглобин (концентрация метмиглобина равна $C=0$), по мере увеличения содержания метмиглобина смещается в область меньших длин волн, и при концентрации метмиглобина $C=100\%$ (дезоксимиоглобин в модельной среде отсутствует) длина волны минимума составляет 504 нм. Спектр диффузного отражения показывает также второй минимум на длине волны 636 нм.

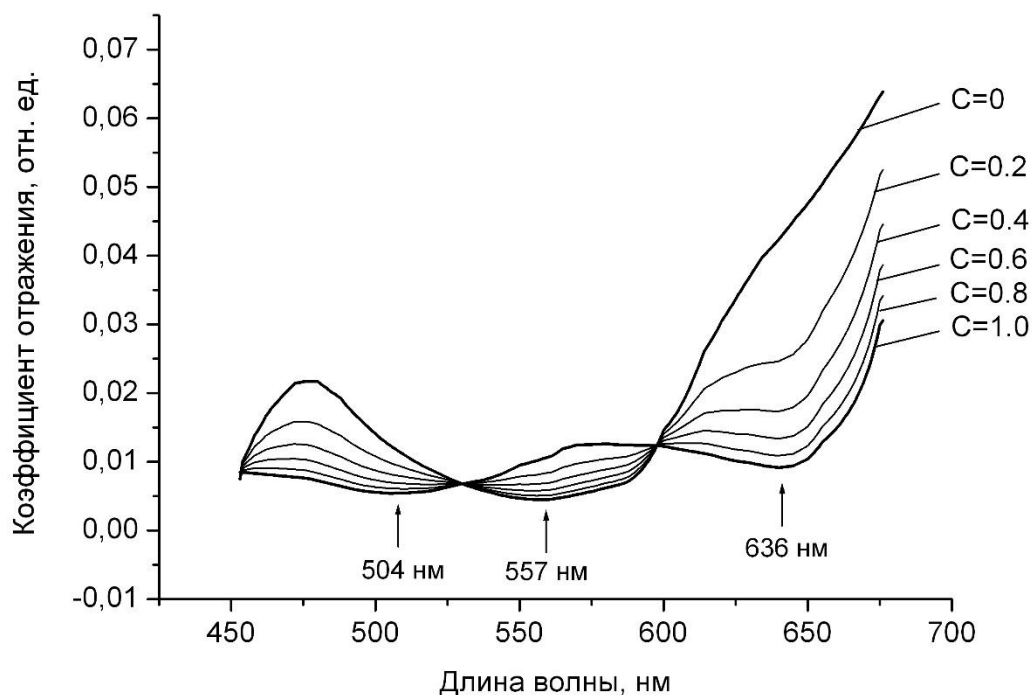


Рис. 2.9. Спектры диффузного отражения модельной среды с разным содержанием метмиоглобина C

Выводы

Результаты моделирования спектров диффузного отражения кожной и мышечной ткани показали, что уменьшение рассеивающих свойств среды приводит к уменьшению коэффициента отражения во всем диапазоне длин волн от 400 до 2000 нм. Уменьшение содержания воды увеличивает коэффициент отражения модельных сред в спектральной области поглощения воды (800-2000 нм). Уменьшение содержания окси- и дезоксиглобинов увеличивает коэффициент отражения модельных сред. В случае мышечной ткани по мере увеличения содержания метмиоглобина минимум спектра отражения модельной среды смещается в область меньших длин волн спектр диффузного отражения показывает также второй минимум на длине волны 636 нм.

Материалы, представленные в данной главе, были опубликованы в работах [47, 48, 58].

ГЛАВА 3. Влияние внешней механической компрессии биологической ткани на ее оптические и физиологические свойства (эксперимент)

3.1 Экспериментальная установка и объект исследования

Экспериментальная установка, схематично представленная на рис. 3.1, включала в себя осветительное устройство HL-2000 (Ocean Optics, США), волоконно-оптический датчик и два волоконно-оптических спектрометра USB4000 (Ocean Optics, США) (область регистрации спектров 400-1000 нм) и NIR Quest512-2.2 (Ocean Optics, США) (область регистрации спектров 900-2200 нм), сопряженных с персональными компьютерами, и обеспечивала регистрацию спектров диффузно отраженного биотканью света в диапазоне от 400 до 2000 нм.

В данной работе для регистрации спектров диффузного отражения биоткани использовались волоконно-оптический датчик оригинальной конструкции и волоконно-оптические датчики R400-7-VIS/NIR и R600-7-VIS-125F (Ocean Optics, США).

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 биоткани и сбора отраженного ей света. На конце световода, подводящего свет по нормали к поверхности ткани, располагалась коллимирующая линза, в результате чего диаметр пятна облучения поверхности ткани составлял 6 мм. Приемный световод фиксировался под углом 30° по отношению к осветительному световоду на таком расстоянии от поверхности образца, чтобы размер участка ткани, с которого собиралось диффузно отраженное излучение, в два раза превышал размер пятна облучения кожи. Это делалось для минимизации потерь в детектируемом свете длинноволновой части спектра [69]. При регистрации спектров диффузного отражения образца в условиях ее внешней механической компрессии между полукольцом волоконно-оптического датчика и поверхностью образца

помещалось тонкое кварцевое стекло диаметром 30 мм, на которое оказывалось давление p в диапазоне от 0 до 10^6 Па (рис. 3.2). Давление создавалось с помощью устройства в виде поперечной планки, на свободный конец которой подвешивался груз известной массы, тогда на стекло действовала сила в два раза больше веса груза [3, 44, 45].

Во втором случае использовались датчики R400-7-VIS/NIR и R600-7-VIS-125F, конфигурации расположения световодов в которых приведена на рис. 3.3. Один датчик содержал семь световодов диаметром 400 мкм, располагаемых в соответствии с рис. 3.3а в стальном наконечнике диаметром 6.3 мм, во втором семь световодов диаметром 600 мкм располагались в соответствии с конфигурацией рис. 3.3б в стальном наконечнике диаметром 3.2 мм. В датчиках использовались кварц-полимерные световоды с числовой апертурой 0.22, что соответствует углу конуса выходящего пучка, равному 24.8° . Шесть световодов, располагаемых по окружности, служили для подвода излучения к объекту исследования, а центральный световод обеспечивал детектирование света, диффузно отраженной тканью. Приемный световод был состыкован с волоконно-оптическими спектрометрами USB4000 и NIR Quest512-2.2, которые, в свою очередь, были связаны с персональным компьютером.

Датчики крепились в специальных держателях (схема крепления датчиков приведена на рис. 3.4), которые обеспечивали необходимую область приложения давления на ткань.

В свою очередь, датчики с держателями крепились на полукольце радиусом 40 мм, на которое оказывалось внешнее давление в диапазоне от 0 до 10^6 Па (рис. 3.5). 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) [69, 70].

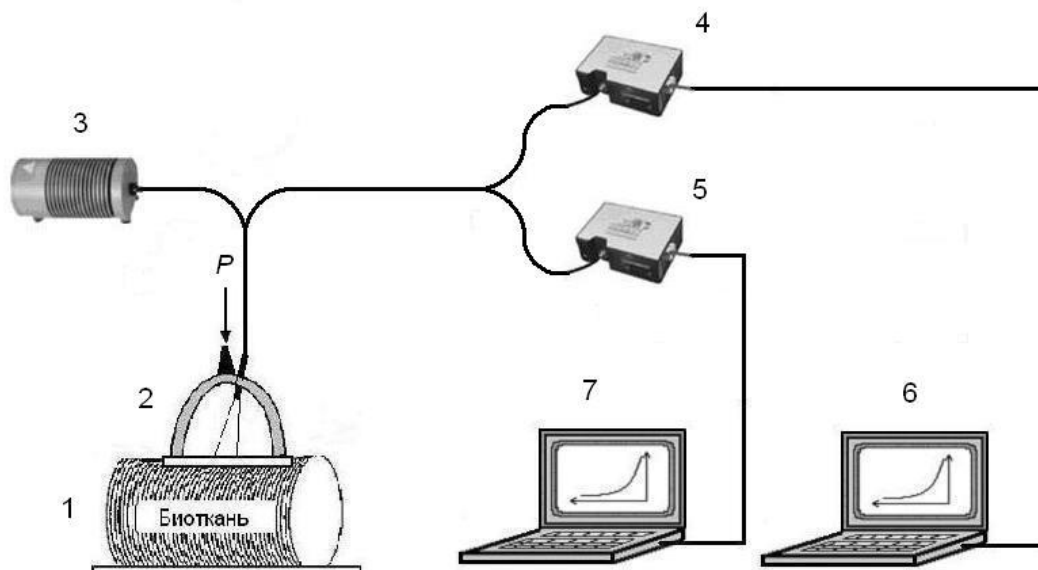


Рисунок 3.1 – Схема экспериментальной установки

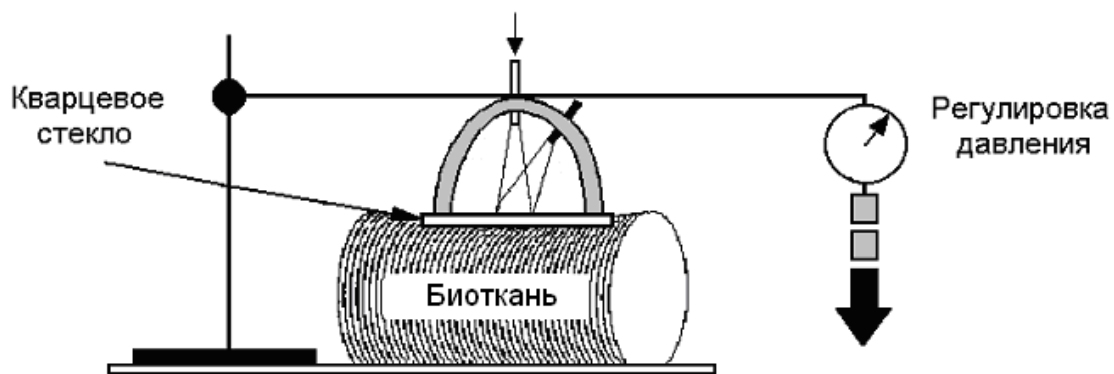


Рис. 3.2. Схема устройства для регистрации спектров диффузного отражения в условиях внешней механической компрессии биоткани

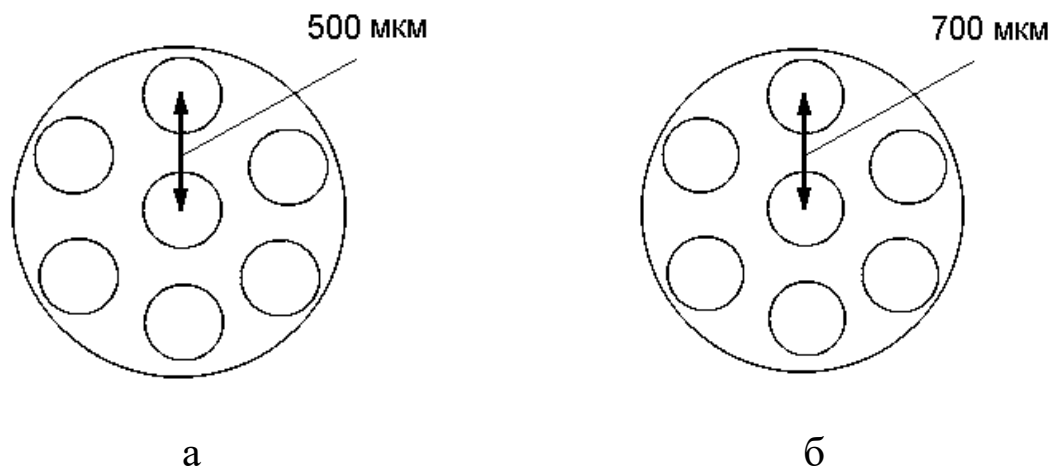


Рис. 3.3. Схема расположения световодов в датчиках R400-7-VIS/NIR (а) и R600-7-VIS-125F (б)

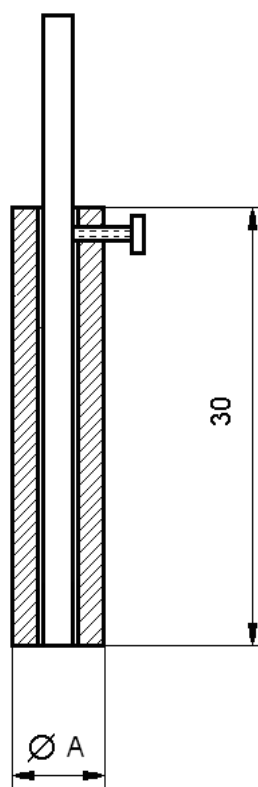


Рис. 3.4. Схема крепления датчика. Для датчика R400-7 диаметр А равен 13.8 мм; для датчика R600-7 диаметр А равен 10 мм и 15.8 мм

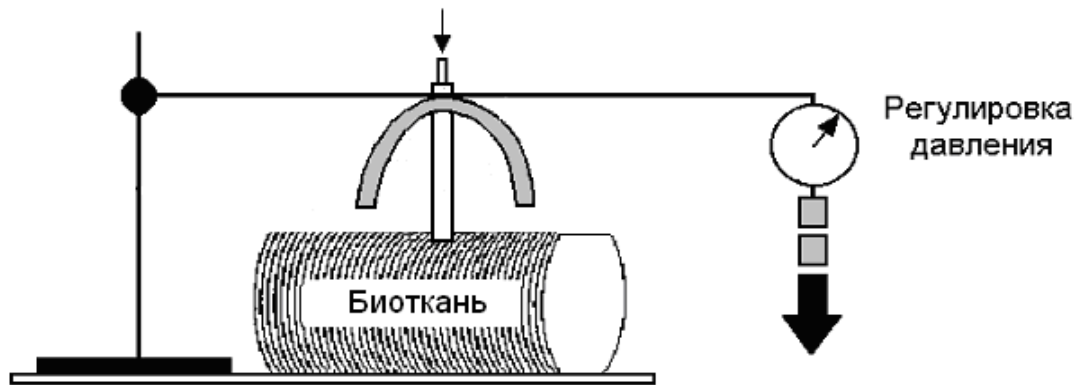


Рис. 3.5. Схема устройства для регистрации спектров диффузного отражения биоткани в условиях ее внешней механической компрессии

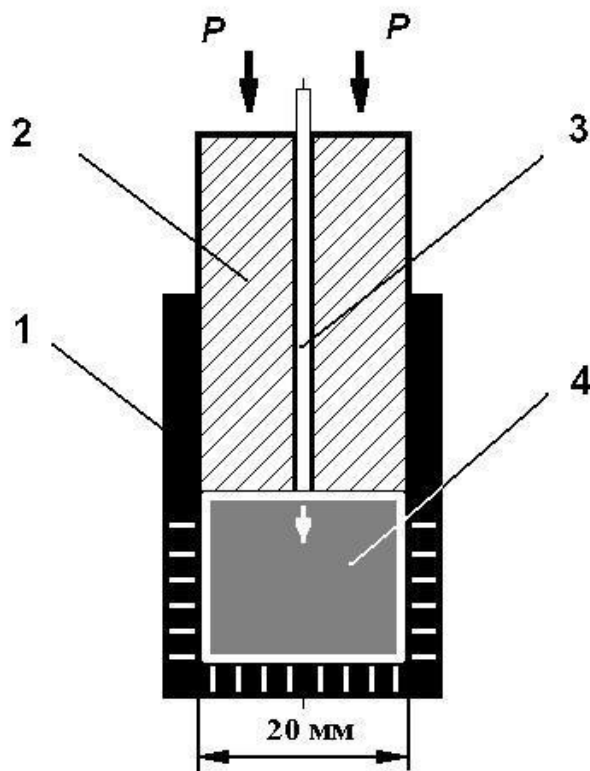


Рис. 3.6. Схема насадки для выдавливания жидкости из образцов мышечной ткани. 1 – кювета, 2 – насадка, 3 – волоконно-оптический датчик, 4 - образец биоткани

Объектами исследования являлись кожа внутренней стороны предплечья человека *in vivo* и образцы *in vitro* мышечной ткани коровы и свиньи.

В случае измерения спектров диффузного отражения кожи человека проводились на 10 добровольцах в возрасте 20 – 65 лет с кожей III и IV типа, один доброволец имел кожу V типа по Фитцпатрику. На каждом добровольце проводились измерения спектров диффузного отражения при разных величинах прикладываемого давления и разных размерах областей компрессии, всего порядка 40 измерений.

Конструкция крепления датчиков в виде полукольца позволяла при его фиксации вдоль предплечья минимизировать изменения в геометрии измерений, следствием чего являлась высокая степень воспроизводимости результатов (более 95 %).

Основным фактором, определяющим систематические ошибки измерений, является различие в кожных покровах разных людей и разных участков кожи одного добровольца. Расхождения в спектрах отражения кожи, полученных для разных участков кожи и с аналогичных участков кожной поверхности разных людей, достигали 10-15%. Поэтому в процессе воздействия компрессии спектры регистрировались практически с одного и того же места предплечья. Статистическая обработка результатов измерений проводилась по стандартной методике с использованием пакета программ Origin. Погрешность измерений спектров в процессе развития эритемы для каждого конкретного добровольца оценивалась в пределах 5%. Для разных добровольцев имелись некоторые различия во временном изменении спектров, однако общие закономерности сохранялись.

Для исследования поведения жидкостей в образцах мышечной ткани в условиях внешней компрессии была изготовлена специальная насадка на датчик с кюветой цилиндрической формы (рис. 3.6). Прорези в дне и стенках кюветы служили для отведения жидкости, выдавливаемой из ткани под действием внешней механической компрессии. Насадка и кювета были

смоделированы с помощью программы Autodesk Fusion 360 и распечатаны на 3D-принтере из черного пластика PLA. В работе использовался волоконно-оптический датчик R400-7-VIS/NIR (Ocean Optics, США) [71].

Используемые в экспериментах образцы мышечной ткани вырезались из одного объема биоткани, при этом в измерениях с высушиванием образцы имели прямоугольную форму размером 20 x 20 x 25 мм³. Были проведены шесть экспериментов, в которых 8 образцов высушивались в течение нескольких часов при температуре порядка 60⁰, при этом каждый час образцы взвешивались и регистрировались их спектры диффузного отражения. Результаты усреднялись.

В случае экспериментов измерением выдавливания воды образцы мышечной ткани вырезались в форме цилиндров диаметром ~ 20 мм и толщиной ~ 25 мм, которые помещались в кювету и подвергались внешнему давлению с помощью насадки. После приложения давления в течение времени порядка 6 минут регистрировались спектры отражения с временным шагом, равным 2 секундам, по истечении которого внешний цилиндр с образцом биоткани взвешивался. В результате сдавливания образца из него (и из внешнего цилиндра, соответственно) выходила вода, которая в весовых измерениях участия не принимала. Результаты измерений усреднялись.

Нормировка спектров отражения, измеряемых в диапазоне 400-2000 нм, осуществлялась по спектрам отражения BaSO₄. Здесь необходимо сделать одно замечание. Нормировка спектров отражения биоткани по спектрам отражения образца BaSO₄ по стандартной методике возможна только при использовании датчика, состоящего из полукольца с закрепленными световодами, так как спектр сравнения регистрировался при замене ткани на образец BaSO₄ без изменения конфигурации датчика.

Такая методика не реализуется, когда для регистрации спектров диффузного отражения используются датчики с семью световодами. Это связано с тем, что спектр сравнения не может быть получен при контакте торца датчика с поверхностью образца BaSO₄. Спектр отражения образца BaSO₄

может быть получен только при наличии зазора между поверхностью образца и торца датчика, при этом интенсивность отраженного сигнала нелинейно зависит от величины зазора, достигая максимума при величине зазора 2 мм. Поэтому спектры отражения биоткани регистрировались с использованием этих датчиков в относительных единицах, при этом возможность изменения интенсивности спектра сравнения, когда торец датчика фиксировался на определенном выбранном расстоянии от образца BaSO₄, позволял увеличить отношения сигнал/шум при измерении спектра отражения кожи [69, 70].

3.2. Экспериментальные результаты

3.2.1. Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи в видимом диапазоне спектра

Внешняя компрессия влияет на содержание крови в кожной ткани, которое можно оценить по величине провала в спектре диффузного отражения в области спектра 545-575 нм (степени эритемы), и содержание воды, определяющее рассеяние кожи во все видимом диапазоне и ее поглощение в диапазоне свыше 800 нм. В области 700-800 нм влияние поглощения воды на спектр диффузного отражения минимально по сравнению с влиянием рассеяния, 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 области свыше 800 нм, в которой вода определяет и поглощающие, и рассеивающие свойства кожи.

3.2.1.1 Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи в диапазоне 500-600 нм

На приведенных ниже рисунках приведена временная кинетика спектров диффузного отражения кожи *in vivo* добровольцев после наложения

внешнего давления разного давления с использованием разных датчиков, а также кинетика диффузного отражения на отдельных длинах волн.

Общим для всех спектров диффузного отражения кожи в диапазоне 400-1000 нм, измеренных с помощью разных датчиков, является различное поведение спектра отражения в области 500-600 нм и в спектральной области свыше 600 нм.

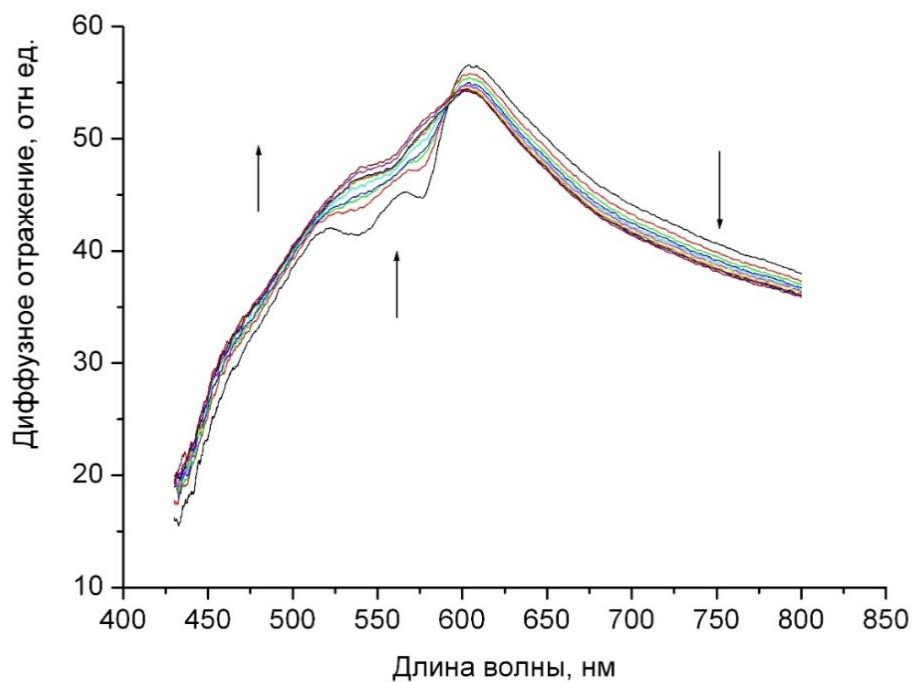


Рис. 3.7а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения кожи человека *in vivo* при наложении компрессии. Датчик 15.8 мм, $p = 10^5$ Па.

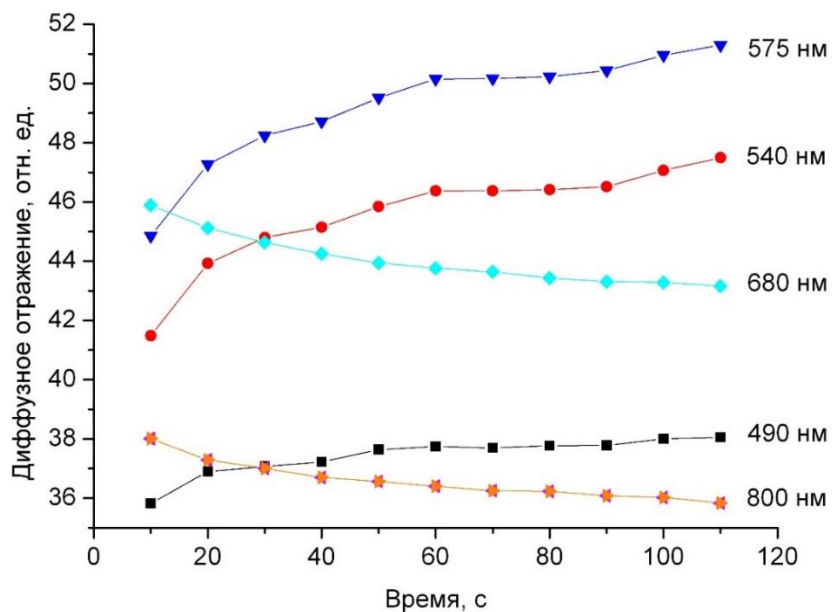


Рис. 3.7б. Временные изменения диффузного отражения кожи человека *in vivo* на отдельных длинах волн при наложении компрессии. Датчик 15.8 мм, $p = 10^5$ Па.

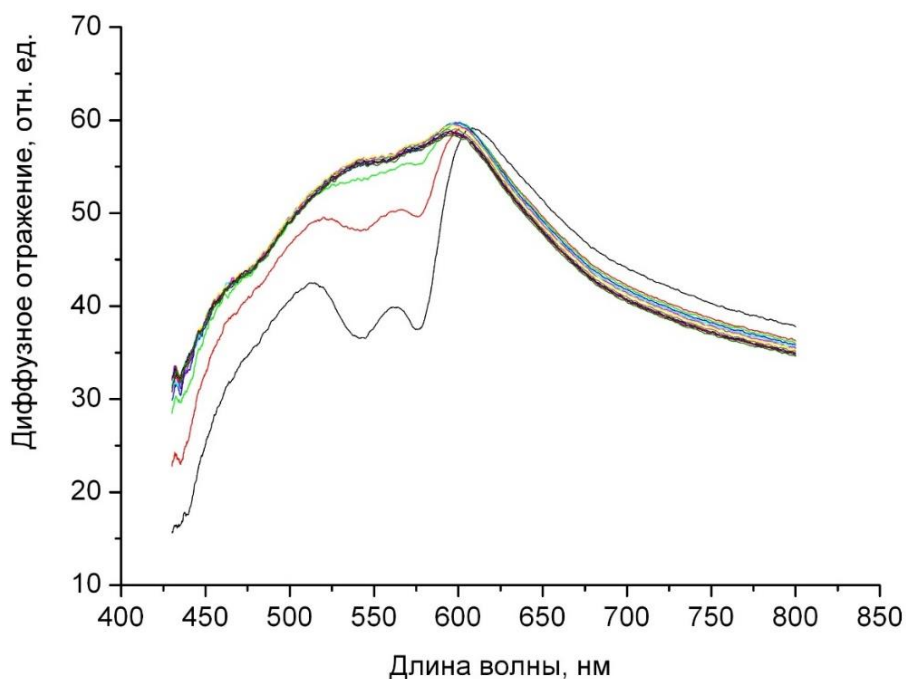


Рис. 3.8а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения кожи человека *in vivo* при наложении компрессии. Датчик 15.8 мм, $p = 7 \cdot 10^5$ Па.

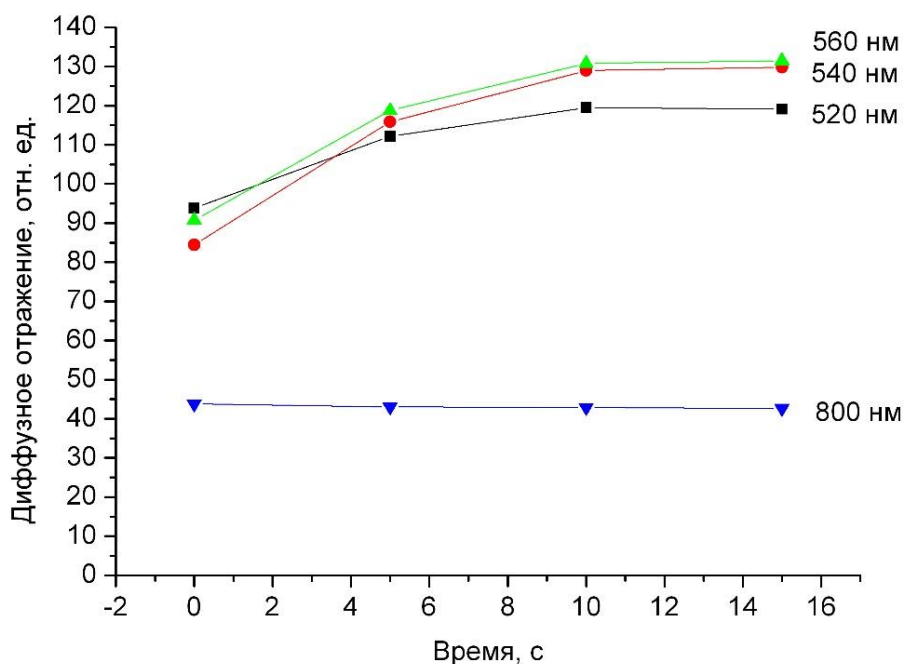


Рис. 3.8б. Временные изменения диффузного отражения кожи человека *in vivo* на отдельных длинах волн при наложении компрессии. Датчик 15.8 мм, $p = 7 \cdot 10^5$ Па.

Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи *in vivo* в диапазоне спектра 500-600 нм обусловлена, в основном, характером изменения 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 крови, содержащейся в папиллярной дерме [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.

Поведение спектра отражения кожи в области спектра 500-600 нм зависит от двух факторов. Первым фактором является кровенаполненность папиллярной дермы (определяется индексом эритемы или индексом

гемоглобина) в нормальных условиях. 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 (в литературе отмечается как “parallel pattern»). Вторым фактором, влияющим на поведение спектров, является величина внешней компрессии. Уменьшение коэффициента отражения во всем спектральном диапазоне 400-1000 нм наблюдается при большой величине компрессии. Если величина компрессии недостаточно велика, поведение провала в спектре отражения кожи в области 500-600 нм иное: при наложении компрессии наблюдается увеличение коэффициента отражения с последующим уменьшением (“pivot pattern”).

Таким образом, временные изменения коэффициентов отражения в области 500-600 нм (области поглощения гемоглобина) оказываются чувствительны к количеству крови в коже. Поэтому в этом диапазоне длин волн вместо анализа влияния компрессии на коэффициенты отражения кожи гораздо эффективнее анализировать временные поведения индекса эритемы (или индекса гемоглобина).

Оценка содержания хромофоров в коже возможна по спектрам ее диффузного отражения путем введения индексов пигментации [1].

В трансмиссионной оксиметрии широко используется приближение, основанное на сравнении величины OD в изобестических точках, то есть на таких длинах волн, где поглощение гемоглобина не зависит от состояния его оксигенации. В спектральной области 500-600 нм есть пять таких изобестических точек: 502, 529, 545, 570 и 584 нм [60] (рис. 3.9).

Разности в значениях OD между двумя изобестическими точками будут пропорциональны содержанию гемоглобина в образце и не зависят от состояния оксигенации.

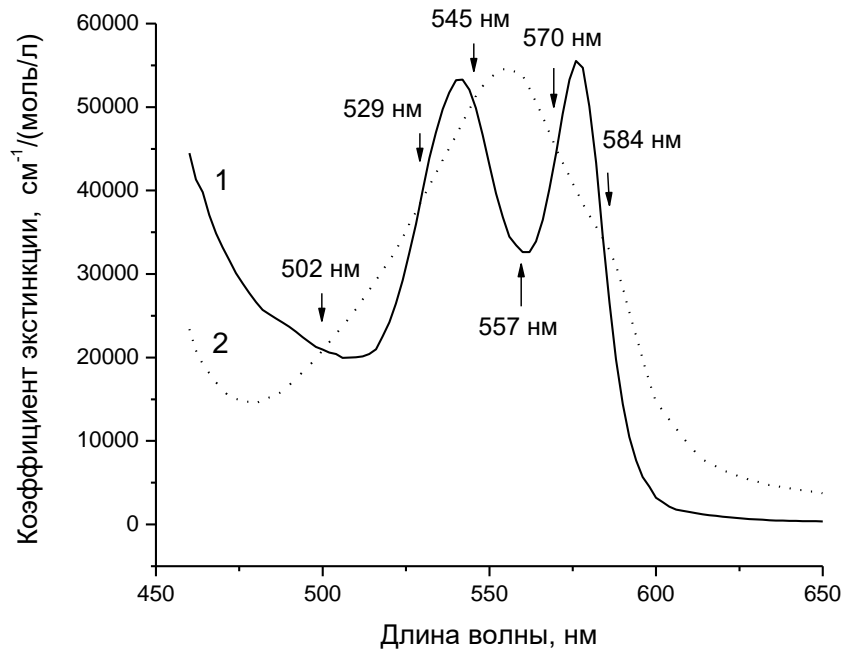


Рис. 3.9. Спектры экстинкции оксигемоглобина (1) и дезоксигемоглобина (2)

Используя эти разности в OD между двумя изобестическими точками, может быть определен индекс гемоглобина следующим образом [70-72]:

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25}, \quad (3.1)$$

где оптическая плотность $OD(\lambda)$ кожи связана со спектром диффузного отражения ткани $R(\lambda)$ простым соотношением $OD(\lambda) = -\log(R(\lambda))$, индексы определяют длины волн в нм.

Степень оксигенации гемоглобина крови в коже, определяемая концентрациями дезоксигемоглобина, C_{deoxy} , и оксигемоглобина, C_{oxy} :

$$Y = \frac{C_{oxy}}{C_{oxy} + C_{deoxy}}. \quad (3.2)$$

может быть рассчитана согласно следующему выражению [70-72]:

$$Y = \alpha \left(\left(\frac{OD_{570} - OD_{557}}{13} - \frac{OD_{557} - OD_{545}}{12} \right) \frac{1}{H} + \beta \right), \quad (3.3)$$

где [55] коэффициенты α и β определяются эмпирически: $\alpha = 31$, $\beta = 1$.

3.2.1.2 Кинетика изменения содержания крови и степени оксигенации гемоглобина крови в кожной ткани в процессе ее компрессии

На рисунке 3.10 приведены временные изменения индекса эритемы кожи при наложении внешней компрессии, а на рис. 3.11 кинетика индекса эритемы кожи при наложении внешней компрессии разной величины. Временная зависимость индекса эритемы получена с временным шагом, равным 2 секундам.

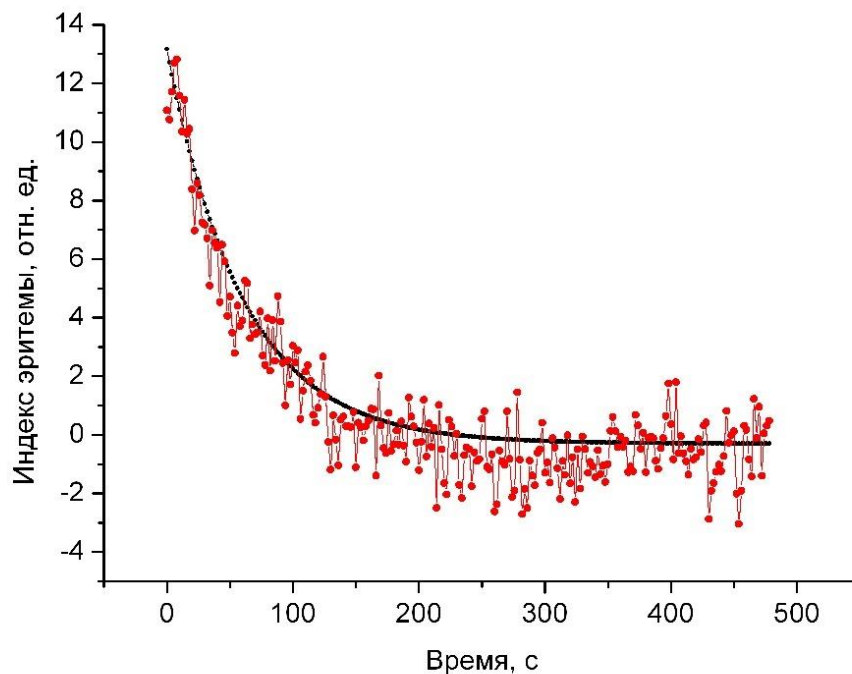


Рис. 3.10. Кинетика индекса эритемы кожи, подверженной внешней компрессии. $p = 200$ кПа. Сплошная линия – аппроксимация экспериментальных данных экспоненциальной функцией.

Наложение внешней компрессии приводит к уменьшению содержания крови в коже, причем временное изменение индекса эритемы кожи хорошо аппроксимируется экспоненциальной функцией.

По прошествии времени, определяющего транспорт крови из области компрессии, содержание оставшейся в области компрессии кожи крови перестает меняться (индекс эритемы стабилизируется). Среднее время вытеснения крови из области компрессии зависит от величины приложенного давления (18.2 ± 10.3 с при компрессии $p = 41.6$ кПа до 58.2 ± 16.6 с при компрессии $p = 76.2$ кПа).

С увеличением размера области приложения давления время вытеснения крови также увеличивается. Это видно из табл. 3.1, где приведены средние времена вытеснения крови при использовании разных датчиков.

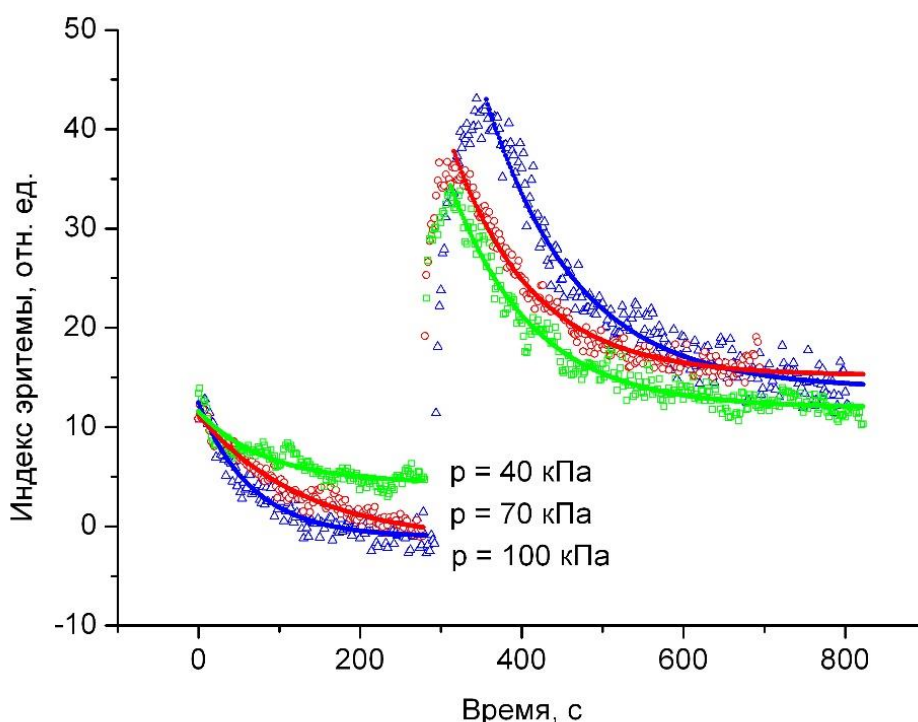


Рис. 3.11. Кинетика индекса эритемы кожи, подверженной внешней компрессии разной величины. Сплошные линии – аппроксимация экспериментальных данных экспоненциальными функциями.

Таблица 3.1. Времена выдавливания крови из области компрессии для разных датчиков [69, 79]

Датчик, мм	Время, с
30.0	30.0 ± 8.2
15.8	23.0 ± 2.6
13.8	18.5 ± 2.2
10.0	13.0 ± 3.8
6.3	6.7 ± 2.1
3.2	3.7 ± 1.7

Количество крови, вытесненной из области компрессии, зависит от величины компрессии (рис. 3.12), при этом при компрессии более 110 кПа кровь вытесняется полностью.

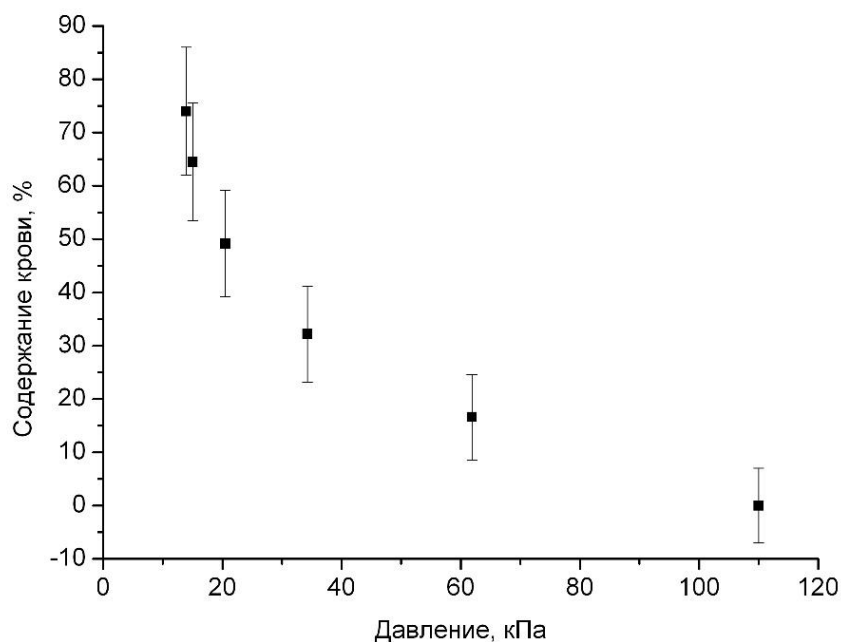


Рис. 3.12. Содержание крови (гемоглобина) в коже в зависимости от приложенной компрессии [69, 79].

При снятии внешней компрессии в течение времени около 30 с происходит резкое увеличение содержания крови в объеме кожной ткани, которая подвергалась компрессии, далее значения индекса эритемы возвращаются в исходное состояние. Это происходит в течение 30–50 минут в зависимости от величины компрессии, при этом релаксация индекса эритемы хорошо описывается экспоненциальной функцией.

Кинетика степени оксигенации гемоглобина в условиях механической компрессии и после ее снятия приведена на рис. 3.13.

После наложения компрессии уменьшение содержания крови сопровождалось уменьшением степени оксигенации содержащегося в ней гемоглобина. Снятие компрессии приводило к резкому (до 2.7 раз) увеличению степени оксигенации [47].

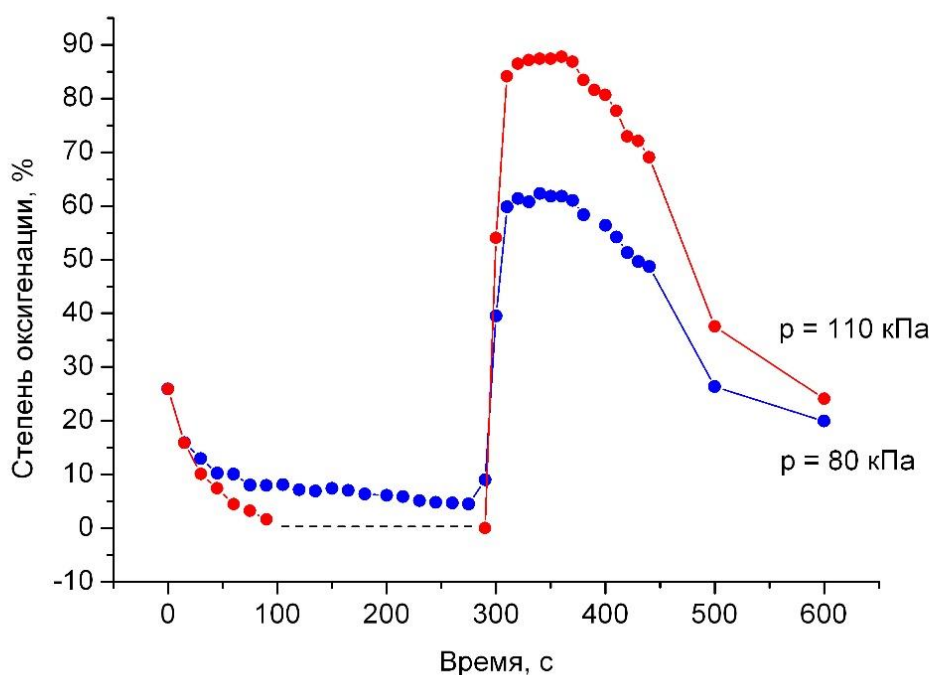


Рис. 3.13. Кинетика степени оксигенации гемоглобина крови, содержащегося в коже с приложенной внешней компрессией (временной интервал 0–290 с) и после ее снятия (временной интервал свыше 290 с). Пунктиром показана временная область, когда кровь в коже отсутствует.

3.2.1.3. Временная кинетика спектров диффузного отражения кожи в диапазоне свыше 600 нм

На рис. 3.14 приведена кинетика коэффициента отражения кожи на длине волны 800 нм при наложении и снятии компрессии.

Отличительной особенностью поведения коэффициента отражения после наложения компрессии является его монотонное уменьшение по двухэкспоненциальному закону. Характерные времена затухания экспоненциальных функций составляют величины порядка нескольких секунд (быстрая релаксация) и нескольких минут (медленная релаксация).

В табл. 3.2 приведены времена быстрой и медленной релаксации при разных величинах компрессии, усредненные по коэффициентам отражения на разных длинах волн.

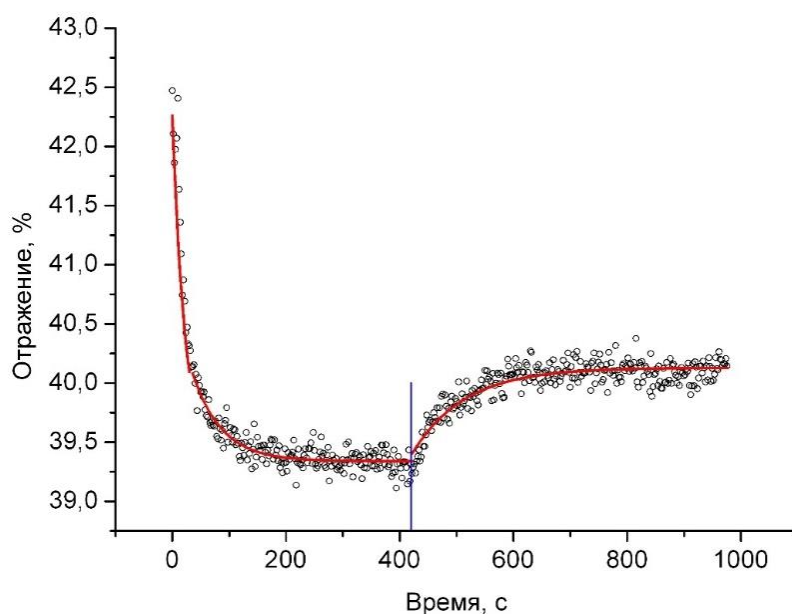


Рис. 3.14. Кинетика коэффициента отражения кожи на длине волны 800 нм в процессе наложения (временной интервал 0–420 с) и снятия (временной интервал свыше 420 с) внешней компрессии. $p = 100$ кПа.

Сплошные кривые — аппроксимация экспоненциальными функциями.

Таблица 3.2. Времена быстрой и медленной релаксации для усредненных по длинам волн коэффициентов отражения при разных величинах компрессии.

Компрессия, кПа	Быстрая релаксация, с	Медленная релаксация, с
27.7	12.7 ± 6.2	160.9 ± 96.5
41.6	8.3 ± 3.8	105.6 ± 44.7
55.5	5.2 ± 1.2	82.5 ± 46.5

Двухэкспоненциальная временная зависимость коэффициентов отражения кожи при наложении компрессии может быть обусловлена наличием в коже как свободной, так и связанной воды. В первоначальный момент приложения давления происходит резкая деформация и сжатие коллагеновой матрицы кожи (согласно двухфазной модели), которое сопровождается удалением из области компрессии свободной воды (быстрая релаксация). В дальнейшем скорость вытекания воды из области кожной ткани, подверженной компрессии, уменьшается и происходит процесс медленной дегидратации этого объема кожи (медленная релаксация), в который вовлекается связанная вода.

Весь процесс стабилизации спектров может происходить приблизительно в течение времени до 6 минут. Снятие компрессии приводит к восстановлению первоначального содержания воды в коже, при этом время данного процесса составляет величину порядка 50 минут.

3.2.2. Временная кинетика спектров диффузного отражения мышечной ткани в видимом диапазоне спектра

Прикладываемая к поверхности образцов мышечной ткани компрессия приводит к изменениям в спектрах их диффузного отражения, обусловленным изменением поглощающих и рассеивающих свойств биоткани.

Кинетика спектров отражения образцов мышечной ткани быка приведена на рис. 3.15а – 3.19а, а на рис. 3.15б – 3.19б показаны изменения диффузного отражения света образцов мышечной ткани быка на отдельных длинах волн в течение времени наложения компрессии. На рисунках 3.20 – 3.22 показана кинетика спектров отражения и изменения диффузного отражения света на отдельных длинах волн при наложении компрессии, полученные для образцов мышечной ткани свиньи.

3.2.2.1. Временная кинетика спектров диффузного отражения мышечной ткани в диапазоне 500-600 нм.

Полученные результаты можно разделить на две группы. В области длин волн, меньших 600 нм, поглощение превалирует над рассеянием, поэтому спектральные изменения в этой области обусловлены вариациями поглощения разновидностей гемоглобина и миоглобина.

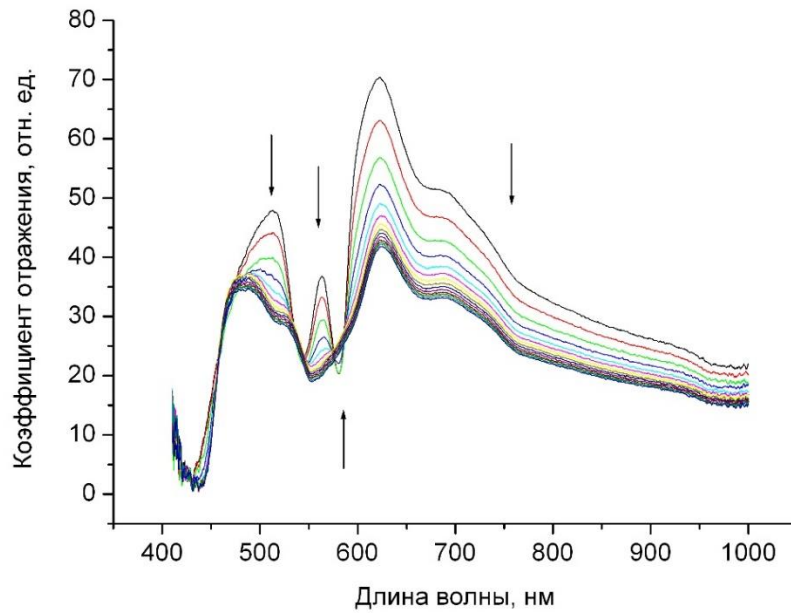


Рис. 3.15а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани быка при наложении компрессии.
 Датчик 15.8 мм. $p = 0.083 \cdot 10^6$ Па.
 Стрелками показаны тенденции изменения в спектрах со временем

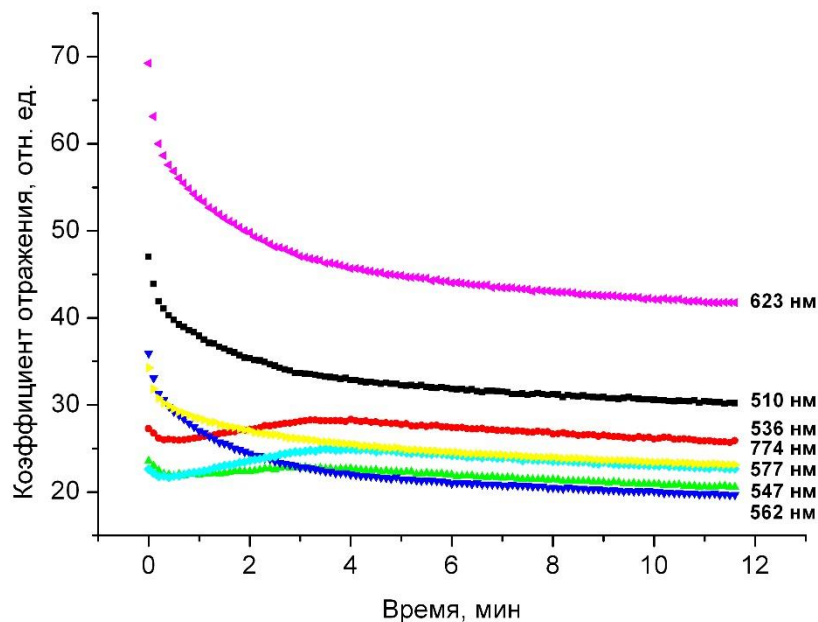


Рис. 3.15б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани быка при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
 Датчик 15.8 мм. $p = 0.083 \cdot 10^6$ Па.

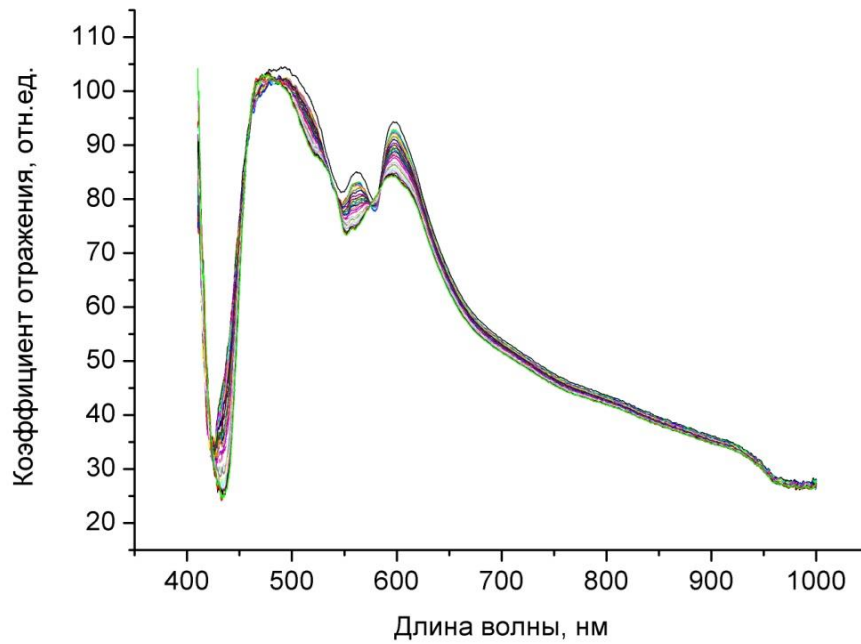


Рис. 3.16а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани быка при наложении компрессии.
Датчик 13.8 мм. $p = 0.083 \cdot 10^6$ Па.

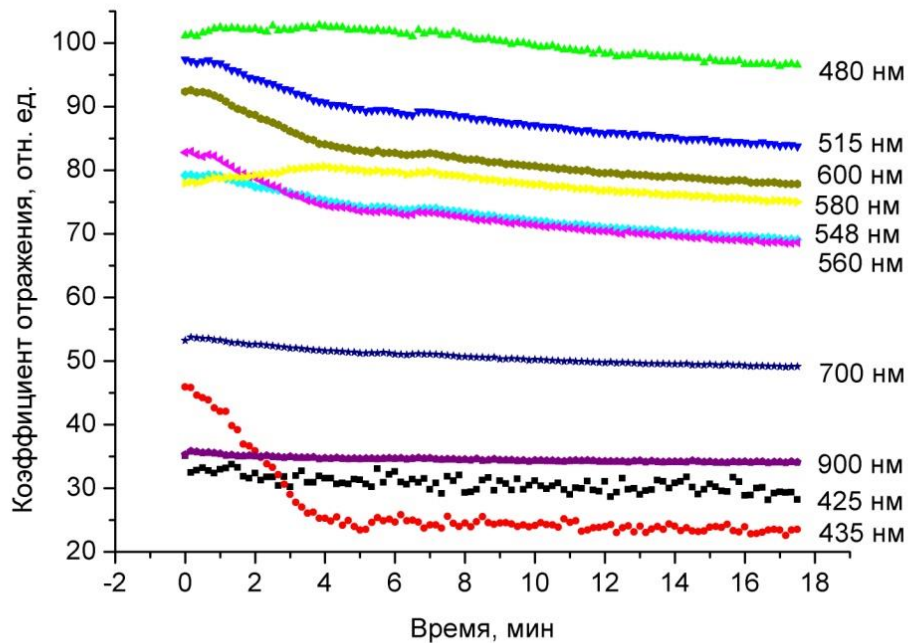


Рис. 3.16б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани быка при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
Датчик 15.8 мм. $p = 0.083 \cdot 10^6$ Па.

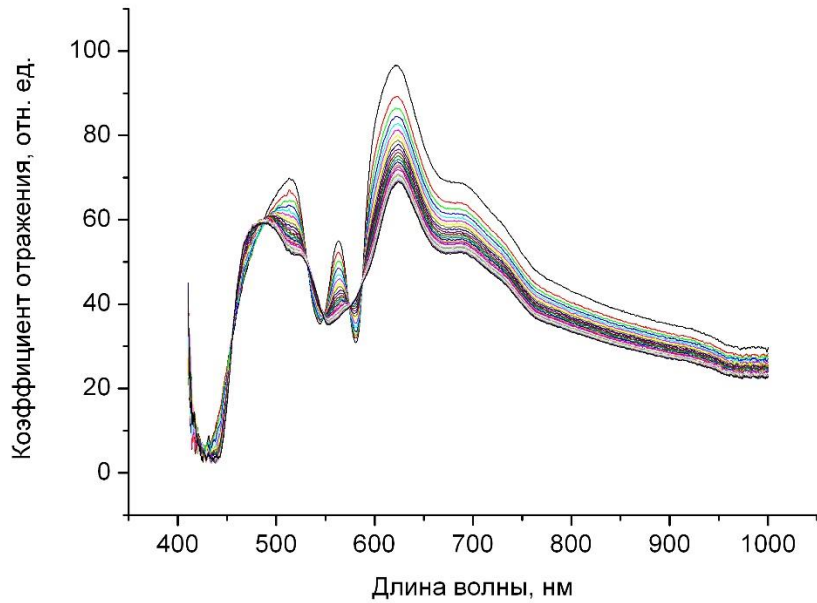


Рис. 3.17а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани быка при наложении компрессии.
Датчик 13.8 мм. $p = 0.028 \cdot 10^6$ Па.

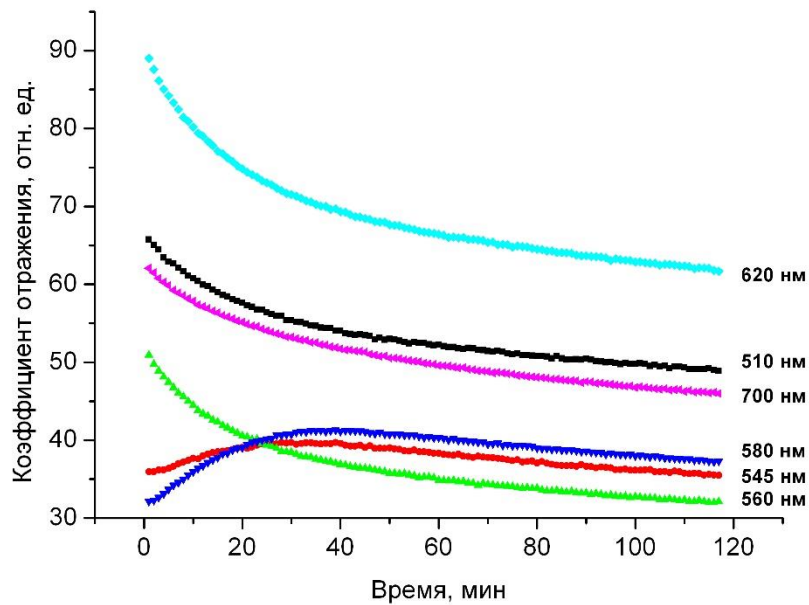


Рис. 3.17б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани быка при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
Датчик 13.8 мм. $p = 0.028 \cdot 10^6$ Па.

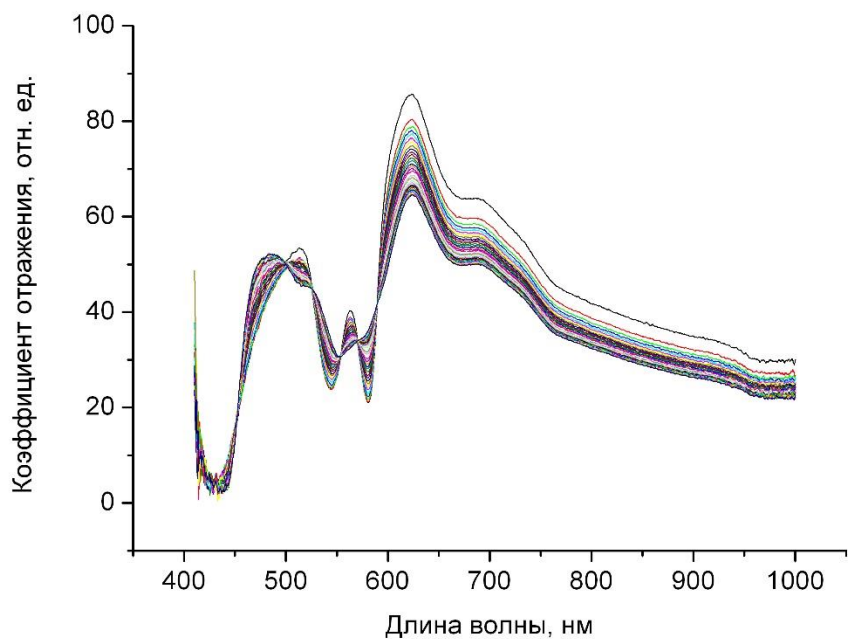


Рис. 3.18а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани быка при наложении компрессии.
Датчик 6.3 мм. $p = 0.087 \cdot 10^6$ Па.

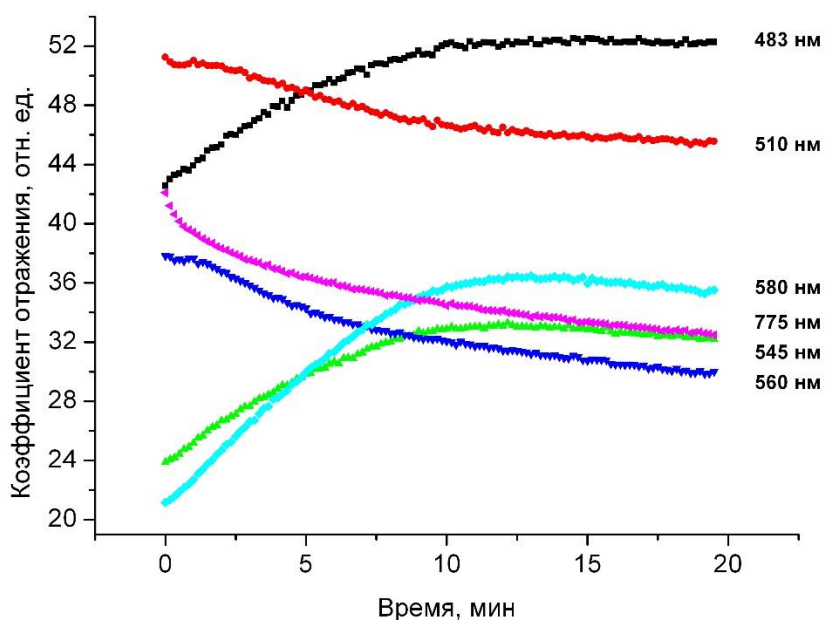


Рис. 3.18б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани быка при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
Датчик 6.3 мм. $p = 0.087 \cdot 10^6$ Па.

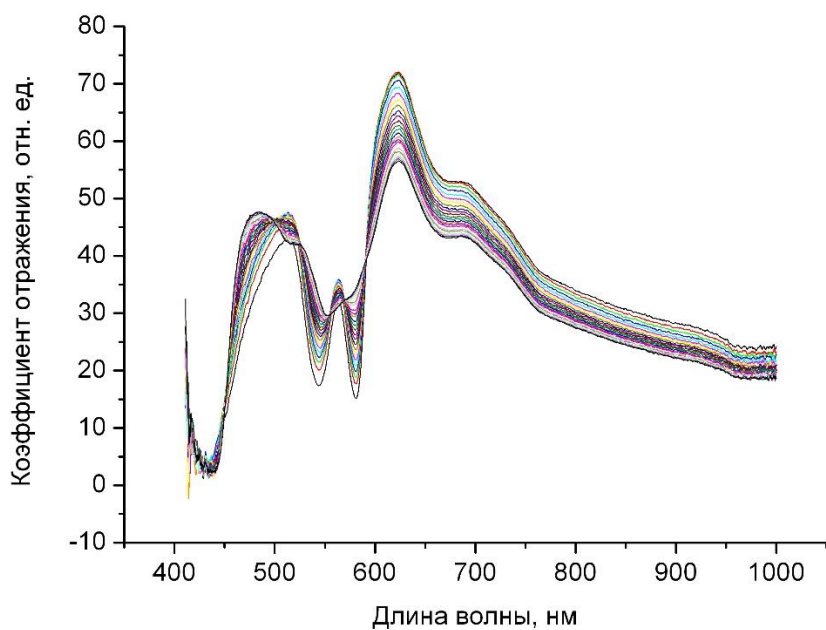


Рис. 3.19а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани быка при наложении компрессии.
Датчик 6.3 мм. $p = 0.048 \cdot 10^6$ Па.

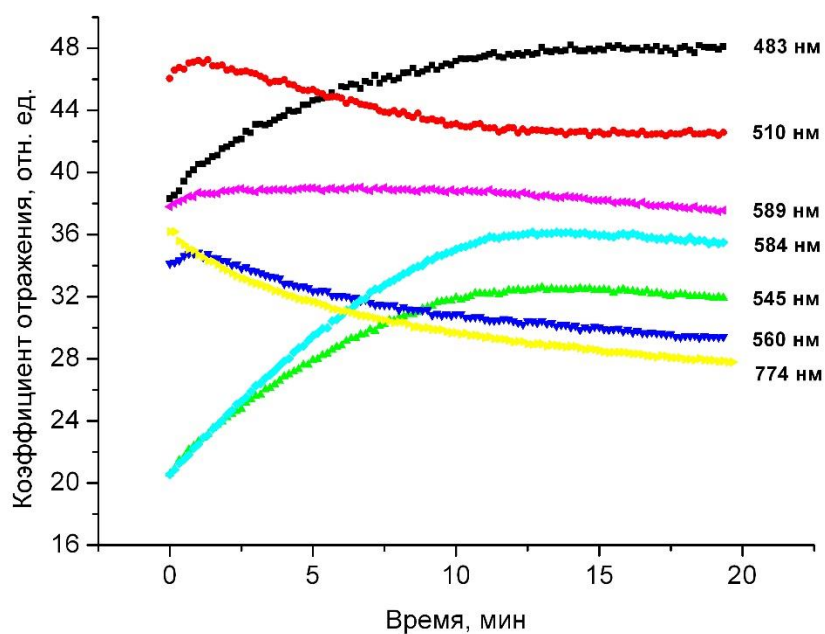


Рис. 3.19б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани быка при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
Датчик 6.3 мм. $p = 0.048 \cdot 10^6$ Па.

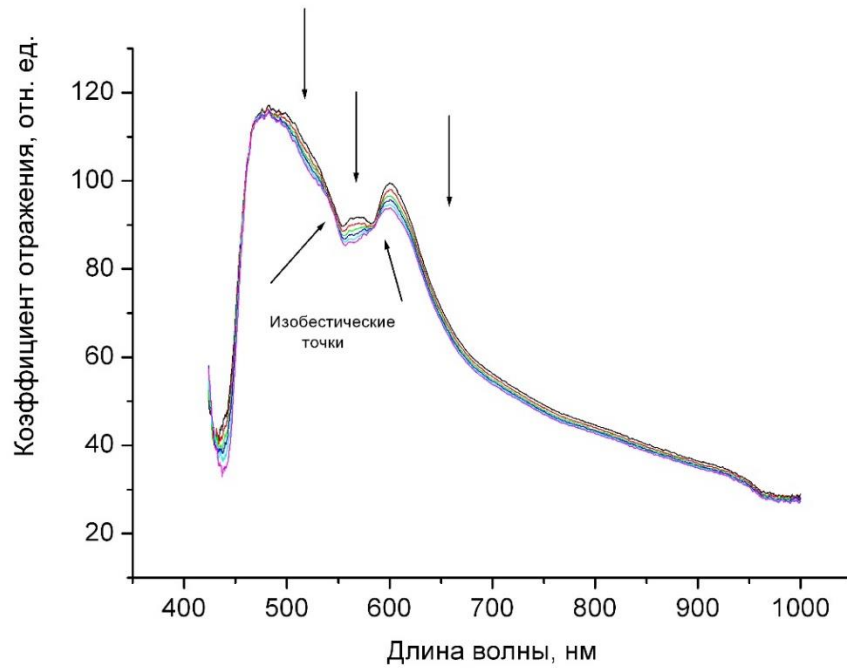


Рис. 3.20а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани свиньи при наложении компрессии.

Датчик 15.8 мм. $p = 5 \cdot 10^4$ Па.

Стрелками показаны тенденции изменения в спектрах со временем

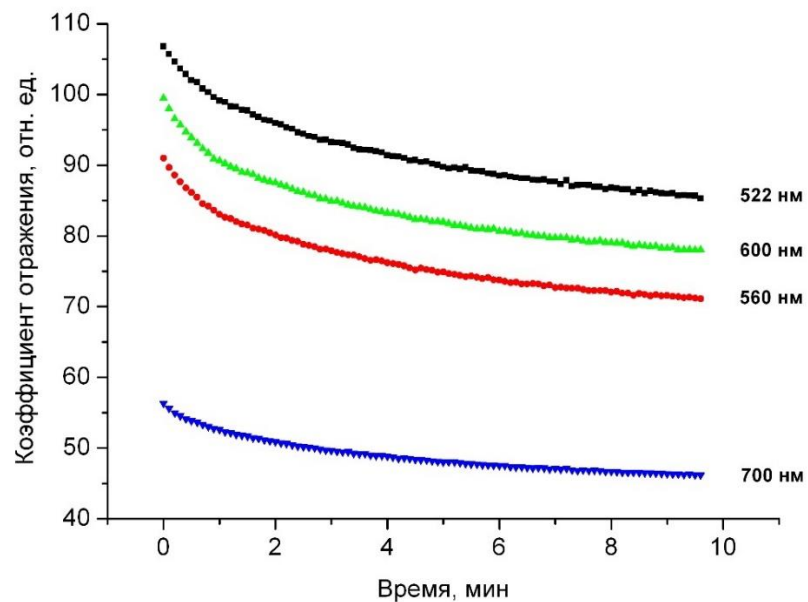


Рис. 3.20б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани свиньи при наложении компрессии на отдельных длинах волн.

Датчик 15.8 мм. $p = 5 \cdot 10^4$ Па.

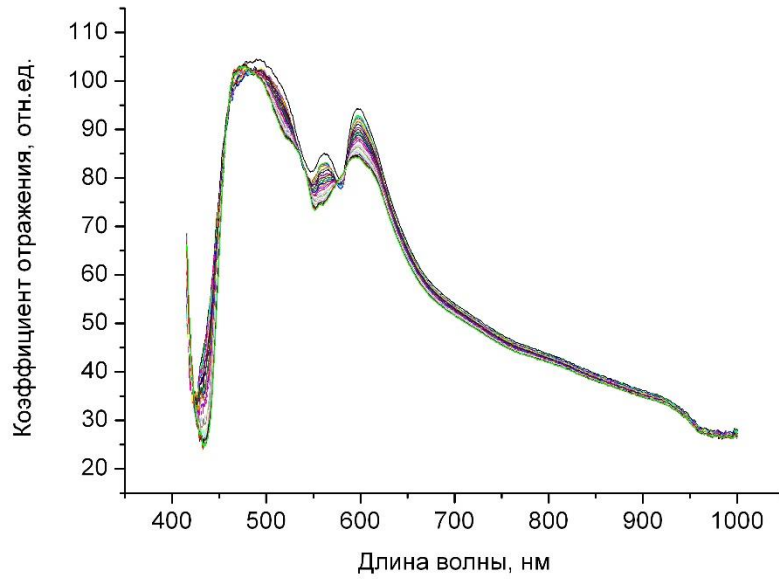


Рис. 3.21а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани свиньи при наложении компрессии.
Датчик 15.8 мм. $p = 10^3$ Па.

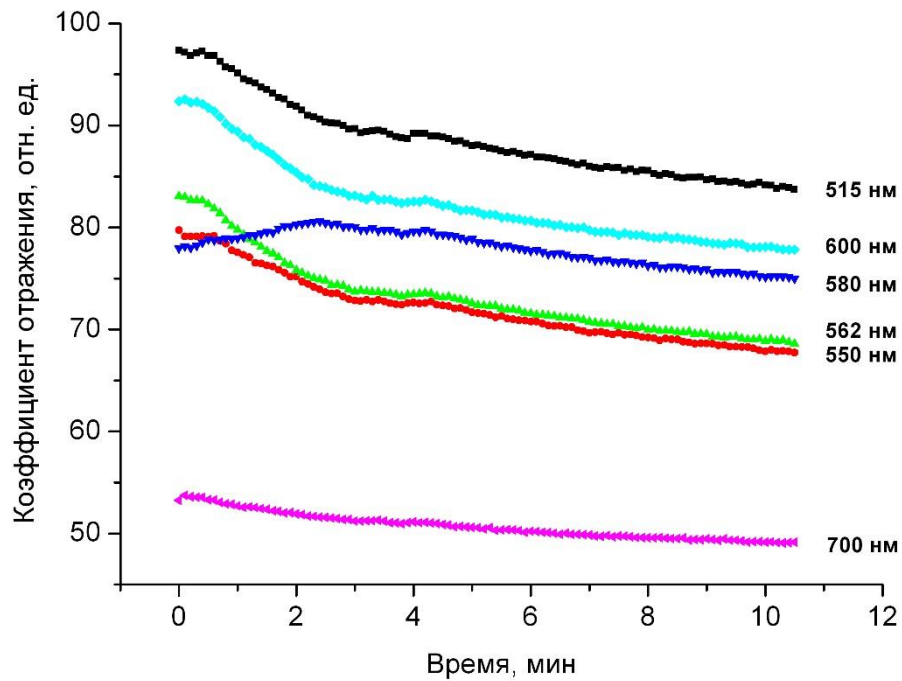


Рис. 3.21б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани свиньи при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
Датчик 15.8 мм. $p = 5 \cdot 10^4$ Па.

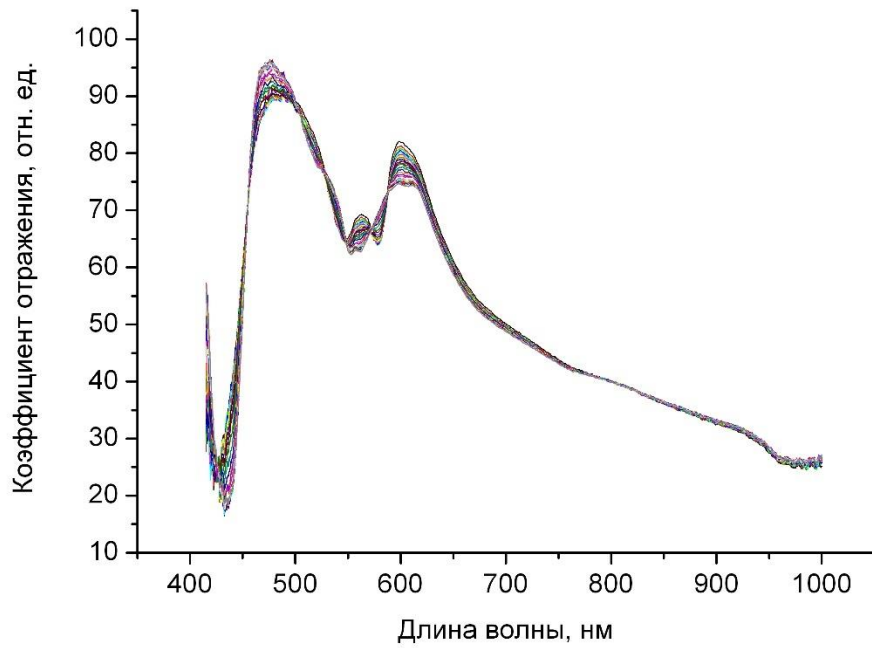


Рис. 3.22а. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани свиньи при наложении компрессии.
Датчик 13.8 мм. $p = 0.26 \cdot 10^6$ Па.

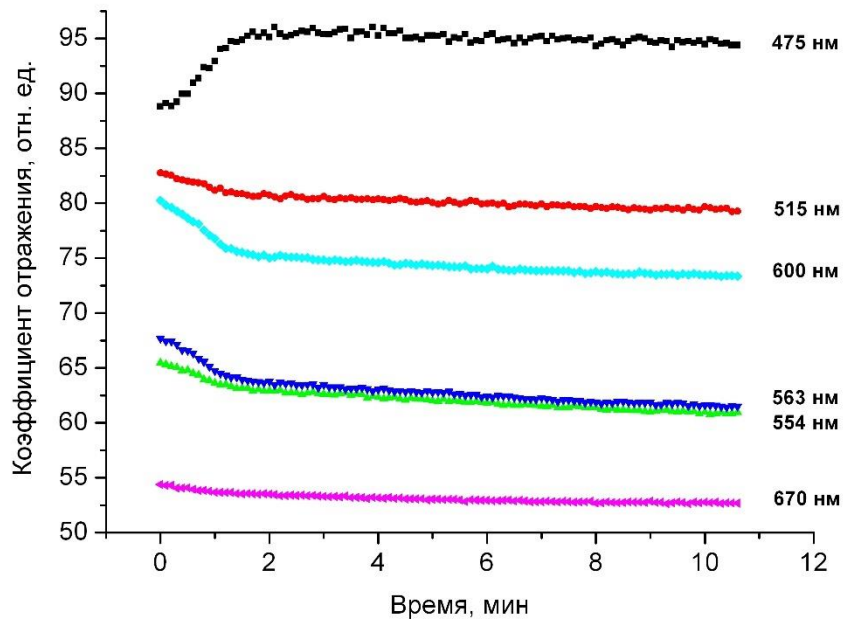


Рис. 3.22б. Временные изменения в диффузном отражении образца мышечной ткани свиньи при наложении компрессии на отдельных длинах волн.
Датчик 13.8 мм. $p = 0.26 \cdot 10^6$ Па.

Принципиальных отличий в поведении спектров диффузного отражения мышечной ткани свиньи и быка нет. Основные изменения в спектрах отражения мышечной ткани при наложении компрессии происходят в течение нескольких минут.

3.2.2.2. Кинетика изменения содержания глобинов и степени их оксигенации в мышечной ткани в процессе ее компрессии

В общем, анализ кинетики процессов поглощения, происходящих в мышечной ткани при наложении компрессии и отраженных в спектральных изменениях, достаточно сложный. Поглощение мышечной ткани в спектральной области 500–650 нм определяют гемоглобин и миоглобин, при этом спектры поглощения разных форм гемоглобина и миоглобина очень похожи (см. табл. 2.5).

Процессы формирования спектров диффузного отражения кожи и мышечной ткани, хотя и отличаются друг от друга из-за разного морфологического состава биологических тканей, но имеют много общего. В коже обратное рассеяние (диффузное отражение) света формируется благодаря диффузному рассеянию света коллагеновыми и эластичными волокнами в дермальном слое, при этом специфические черты спектра в синезеленой спектральной области обусловлены поглощением света в достаточно тонком слое поверхностного дермального сосудистого сплетения, основными хромофорами которого являются оксигенированная и дезоксигенированная формы гемоглобина.

В мышечной ткани диффузное рассеяние света происходит на мышечных волокнах, где доминирующими пигментами являются миоглобин, обычно существующий в формах оксимииоглобина, дезоксимииоглобина и метмиоглобина, а также оксигенированная и дезоксигенированная формы гемоглобина, присутствующие в кровеносных сосудах мышечной ткани.

По аналогии с кожей, где наряду с меланином доминирующим пигментом в области 500-600 нм является присутствующий в кровеносной

системе дермы гемоглобин и изменение содержания гемоглобина и степень его оксигенации оцениваются путем введения индексов гемоглобина и степени оксигенации гемоглобина [3], для мышечной ткани при наличии в ней гемоглобина и миоглобина можно ввести индекс глобина и степень оксигенации глобина.

Во временных изменениях в спектрах диффузного отражения мышечной ткани быка отчетливо проявляется переход оксигенированной формы глобина, при этом спектральные изменения позволяют определить длины волн изобестических точек

В частности, на рис. 3.18а изобестические точки (529, 550, 571 и 589 нм), для которых величины оптической плотности мышечной ткани не зависят от степени оксигенации глобина мышечной ткани, показаны стрелками.

Соответственно, индекс глобина мышечной ткани можно выразить следующим образом:

$$H = \frac{OD_{550} - OD_{529}}{21} - \frac{OD_{571} - OD_{550}}{21}, \quad (3.4)$$

где оптическая плотность $OD(\lambda)$ связана со спектром диффузного отражения ткани $R(\lambda)$ простым соотношением $OD(\lambda) = -\log(R(\lambda))$, а индексами под величинами оптической плотности отмечены длины волн изобестических точек.

Оценить степень оксигенации глобина мышечной ткани можно по формуле, аналогичной формуле для оценки степени оксигенации гемоглобина крови в коже:

$$Y = \alpha \times \left[\left(\frac{OD_{571} - OD_{554}}{17} - \frac{OD_{554} - OD_{550}}{4} \right) \times \frac{1}{H} + \beta \right], \quad (3.5)$$

где длина волны 554 нм соответствует максимуму поглощения де-оксигенированной формы миоглобина, $\alpha = 31$, $\beta = 1$.

Что касается изменений физиологических свойств образцов мышечной ткани, то на рис. 3.23, где приведены временные зависимости индекса глобина в образцах мышечной ткани при наложении внешней компрессии, показано изменение содержания глобинов в процессе сдавливания мышечной ткани. В случае мышечной ткани *in vitro* содержание в ней крови при наложении компрессии уменьшается. Подобный эффект наблюдался и для кожной ткани *in vivo*, однако имеются и существенные различия: если для кожной ткани капиллярная кровь, а вместе с ней гемоглобин при наложении давления порядка 10^5 Па полностью удаляются из биоткани [18], то глобин из образцов мышечной ткани полностью не удаляется даже при наложении компрессии величиной до 150 кПа, при этом оставшаяся часть глобина является не чем иным, как миоглобином.

Кинетика степени оксигенации образцов мышечной ткани в процессе компрессии приведена на рис. 3.24.

Таким образом, в случае мышечной ткани при наложении компрессии в мышечных волокнах остается миоглобин, при этом он переходит в дезоксигенированную форму (степень оксигенации миоглобина равна нулю).

До наложения компрессии спектр отражения показывал два максимума поглощения на длинах волн 544 и 580 нм, которые могут принадлежать как оксигемоглобину, так и оксимиоглобину. Наложение на мышечную ткань компрессии по-разному действует на содержание в ткани гемоглобина и миоглобина. Ситуация с гемоглобином подобна ситуации в коже при наложении компрессии: компрессия выдавливает кровь из капилляров, при этом при давлении порядка 10^5 Па кровь выдавливается из подверженного компрессии объема кожной ткани практически полностью, что определяется обращением в нуль индекса гемоглобина.

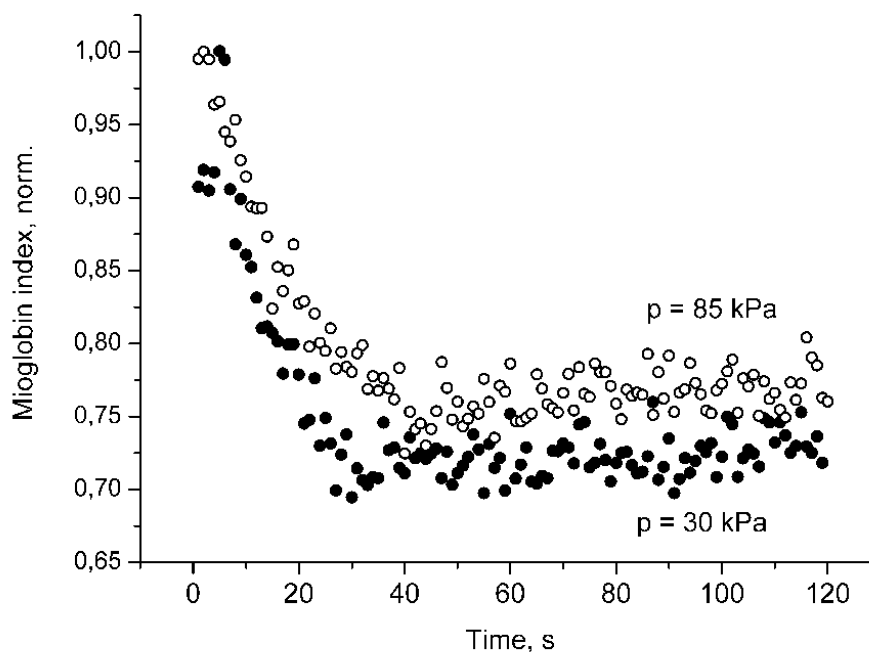


Рис. 3.23. Кинетика индекса глобина для образца мышечной ткани *in vitro* в условиях внешней компрессии. Датчик 13.8 мм.

При наложении компрессии должна выдавливаться кровь (и гемоглобин) и из капиллярной кровеносной системы мышц, а в мышечной ткани остается миоглобин. Это подтверждает и спектр поглощения выдавленной из ткани жидкости: максимумы поглощения соответствуют максимумам поглощения оксигемоглобина (542-543 и 580 нм). Из рисунка 3.23 видно, что по прошествии времени порядка 1-2 минут гемоглобин выходит из ткани вместе с кровью и на миоглобин (оставшаяся не выдавленной часть пигмента в ткани) приходится около 70%. Более того, форма спектра отражения с течением времени меняется: максимум поглощения оксимиоглобина смещается от длины волны 555 нм в коротковолновую область благодаря присутствию метмиоглобина.

Из рисунка 3.24 видно, что времена порядка 1-2 минут соответствуют дезоксигенации миоглобина после наложения компрессии.

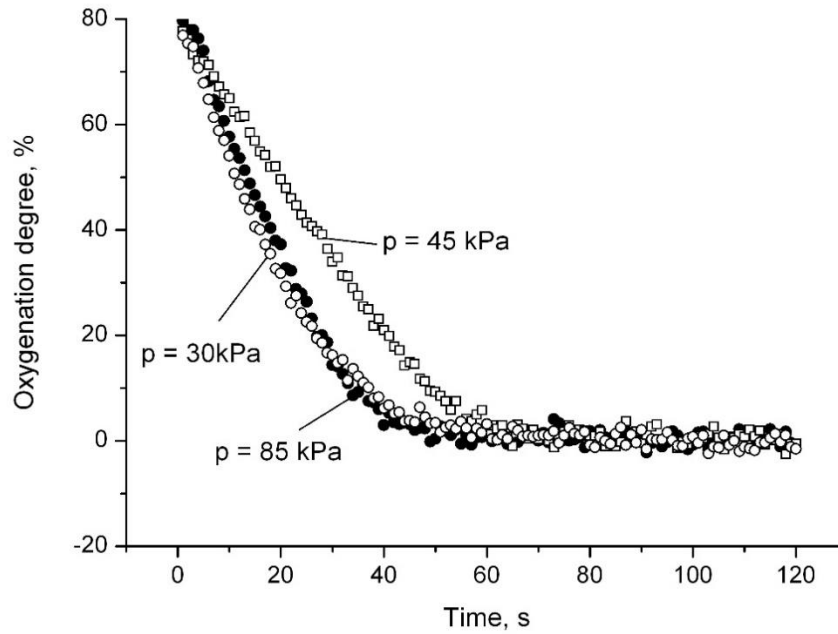


Рис. 3.24. Кинетика степени оксигенации глобина в образце мышечной ткани *in vitro* в условиях внешней компрессии. $p = 30$ кПа, $p = 85$ кПа - датчик 13.8 мм; $p = 45$ кПа - датчик 6.3 мм

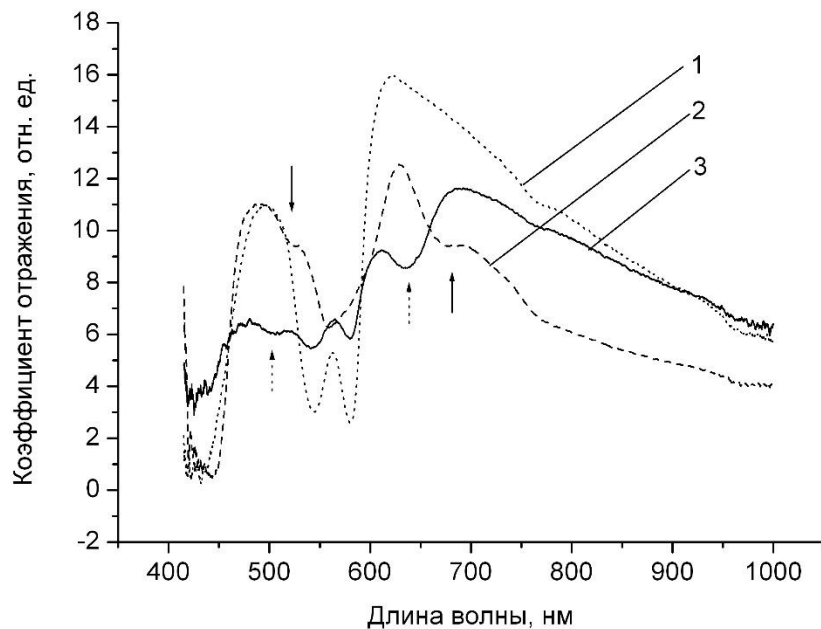


Рис. 3.25. Спектры диффузного отражения мышечной ткани. 1 – «нормальная» мышечная ткань без компрессии, 2 – мышечная ткань через 20 минут после наложения компрессии, 3 – мышечная ткань с метмиоглобином.

Проявление метмиоглобина в спектрах диффузного отражения мышечной ткани видно из рис. 3.25. В спектре отражения «нормальной» мышечной ткани без компрессии (кривая 1) очевидно присутствие оксигенированной формы глобина, которая после наложения компрессии переходит в дезоксиглобин (кривая 2). В спектре 2 также видны проявления окисленной формы глобина (показаны сплошными стрелками), полосы поглощения которой отчетливо проявляются на спектре 3 (показаны пунктирными стрелками), полученном на другом образце мышечной ткани.

3.2.2.3. Временная кинетика спектров диффузного отражения мышечной ткани кожи в диапазоне свыше 600 нм

Уменьшение отражения в спектральной области свыше 600 нм обусловлено в основном уменьшением рассеяния биоткани при наложении компрессии, что наблюдалось и для кожи человека *in vivo* [47-48].

В спектральной области 600-800 нм на спектр диффузного отражения мышечной ткани 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 мышечной ткани приводит к уменьшению содержания воды в коже или ее дегидратации. Это, в свою очередь, ведет к уменьшению рассеяния в биотканях.

3.2.2.4. Кинетика изменения содержания воды в мышечной ткани в процессе ее компрессии

Кинетика содержания воды в образцах ткани в процессе их высушивания может быть определена с помощью временных измерений веса образца, $W(t)$. Образцы взвешивались каждый час. В предположении, что уменьшение веса образца происходит благодаря только испарению воды, можно считать, что весом полностью обезвоженного образца может служить

вес полностью сухого образца, W_0 . Для оценки степени дегидратации биоткани в процессе высушивания можно рассмотреть схожий процесс дегидратации кожи под действием осмотических оптических просветляющих агентов [73]. Следуя авторам [73] степень дегидратации биоткани можно определить как

$$H_D(t) = \frac{W(t=0) - W_0}{W(t=0)} (1 - \exp(-t/\tau_D)), \quad (3.6)$$

где $W(t=0)$ – начальный вес образца, разность $(W(t=0) - W_0)$ показывает количество воды, покинувшее биоткань в результате дегидратации, при этом временную зависимость степени дегидратации H_D можно записать в следующем виде:

$$H_D(t) = A_D (1 - \exp(-t/\tau_D)), \quad (3.7)$$

где A_D – безразмерный параметр, характеризует максимальную степень дегидратации, τ_D – постоянная времени дегидратации, характеризующая скорость процесса.

Зависимость веса образцов от времени сушки представлена на рис. 3.26. Видно, что по истечении 17 часов сушки вес образцов уменьшился в среднем на 70%, то есть масса ушедшей воды составляла около 70%. Эта цифра соответствует степени гидратации образцов перед экспериментами. По мере высушивания образцов степень гидратации уменьшалась, что отмечено на рис. 3.26.

Дегидратация образцов в процессе их сушки сопровождалась увеличением их диффузного отражения. Кинетика коэффициентов отражения образцов в процессе их сушки на отдельных длинах волн показана на рис. 3.27.

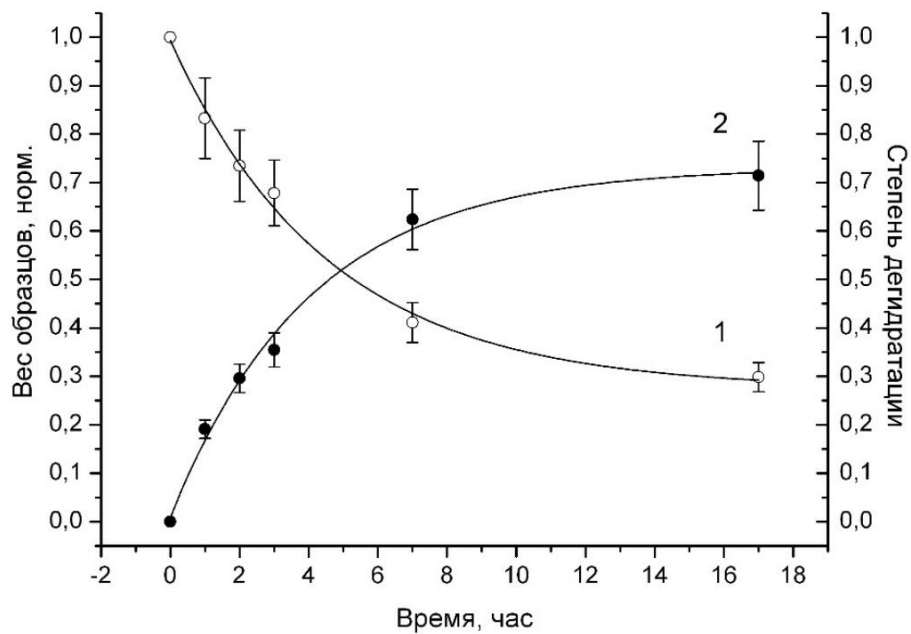


Рис. 3.26. Временные изменения нормированного веса (1) и степени дегидратации (2) образцов мышечной ткани в процессе их сушки

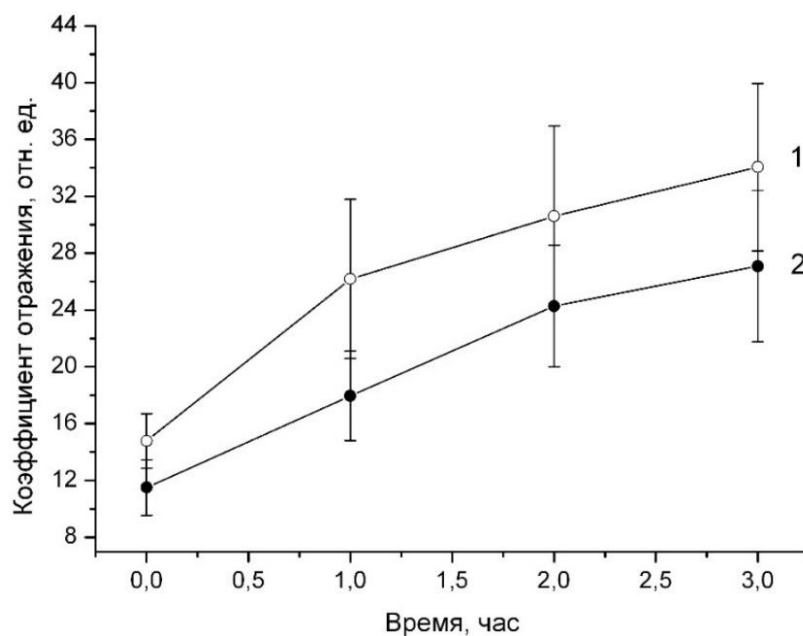


Рис. 3.27. Временные изменения диффузного отражения образцов в процессе их сушки. 1- $\lambda = 800$ нм, 2- $\lambda = 1070$ нм

После 3 часов сушки образцов шероховатость их затвердевших поверхностей приводила к значительным ошибкам при регистрации отраженного света, величина которого, как известно [69], сильно зависит от промежутка между торцом датчика и поверхностью образца.

Сдавливание образцов биоткани должно приводить к изменению их физических, в том числе оптических, параметров, которые обусловлены рядом причин, в том числе деформацией образцов, изменением их плотности, количеством содержащейся в них воды.

Информация о весе образцов и степени их дегидратации в результате компрессии, полученная с учетом соотношений (3.6) и (3.7), приведена на рис. 3.28.

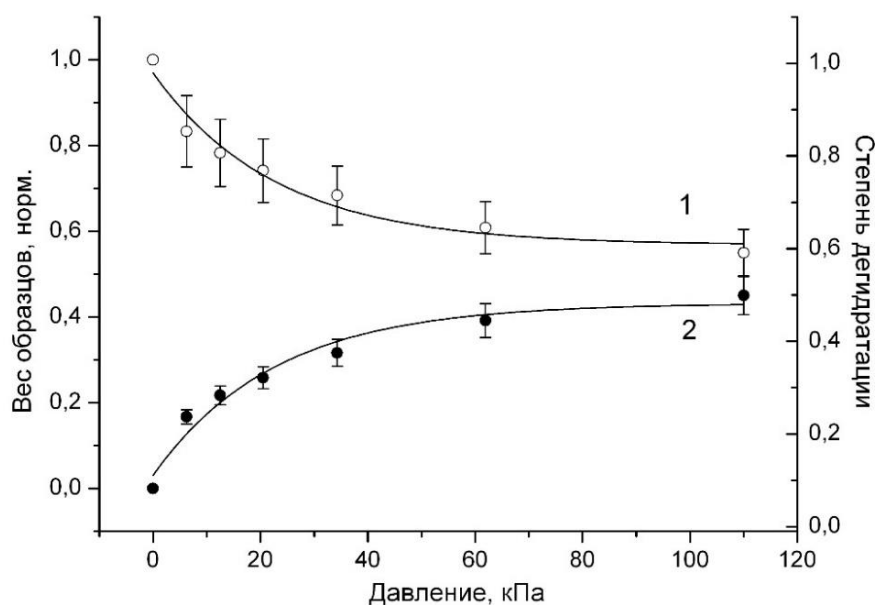


Рис. 3.28. Временные изменения веса (1) и степени дегидратации (2) образцов мышечной ткани в процессе их сжатия

Из рисунка 3.28 видно, что при давлении на образцы порядка 110 кПа вес образцов уменьшается на 45%. Это уменьшение веса образцов обусловлено вытеснением воды из образцов и их дегидратацией.

Максимальная степень дегидратации образцов при их компрессии, как видно из рисунка 3.28, составляла величину порядка 50%.

Как было сказано выше, отличительной особенностью поведения спектра диффузного отражения образцов после наложения компрессии является его монотонное уменьшение по двухэкспоненциальному закону. В первоначальный момент приложения давления происходит резкая деформация и сжатие коллагеновой матрицы ткани (согласно двухфазной модели). Этот процесс происходит в течение нескольких секунд. В дальнейшем на спектр диффузного отражения начинает влиять дегидратация биоткани в области приложения внешнего давления, что в эксперименте отражается в появлении воды, вытекающей из кюветы датчика. Характерные времена экспоненциального уменьшения коэффициентов отражения в спектральной области 600–900 нм после наложения компрессии являются не чем иными, как временами дегидратации образца ткани.

На рисунке 3.29 приведены временные изменения коэффициента диффузного отражения образца ткани на длине волны $\lambda = 900$ нм при последовательном увеличении приложенной компрессии (времена изменения компрессии показаны стрелками), которая хорошо аппроксимируется экспоненциальной зависимостью (рис. 3.30). На рисунке 3.30 приведена также информация о состоянии дегидратации образцов ткани в условиях компрессии в виде зависимости веса образцов от величины приложенной компрессии. Нужно отметить различие во временном поведении спектров диффузного отражения образцов ткани в процессе ее дегидратации в результате сушки и компрессии. В отличие от дегидратации образцов биоткани в процессе сушки при сжатии образцов коэффициент диффузного отражения уменьшается.

Этот факт можно объяснить отличием в физических структурах образцов при дегидратации [3]. Сжатые образцы очень плотные и компактные, при этом уплотнение рассеивающих частиц приводит к изменению объемной фракции рассеивающих частиц φ_s и, как следствие, к изменению

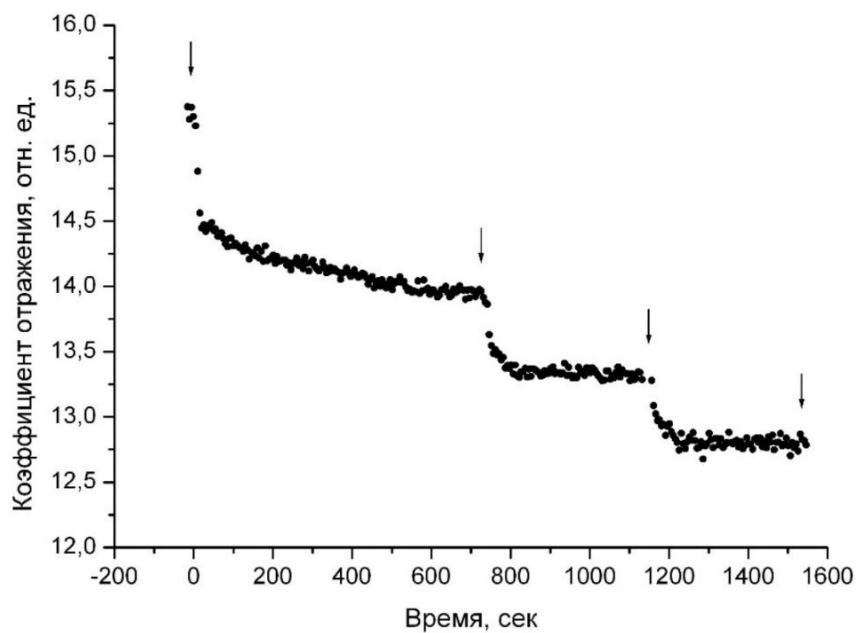


Рис. 3.29. Временные изменения коэффициента диффузного отражения образца ткани при наложении компрессии разной величины. $\lambda = 900$ нм. Стрелками показаны времена изменения компрессии

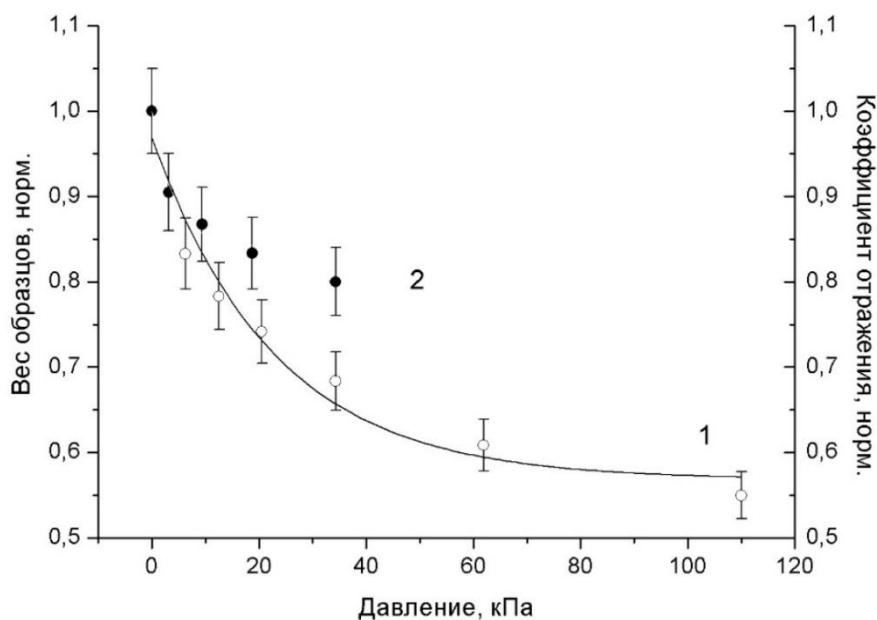


Рис. 3.30. Временные изменения веса (1) и коэффициента диффузного отражения (2) образцов мышечной ткани и в зависимости от приложенной компрессии. $\lambda = 900$ нм.

приведенного коэффициента рассеяния μ'_S , которые связаны между собой соотношением [3, 54]:

$$\mu'_S = \frac{\varphi_S(1-\varphi_S)}{V_P} \sigma'_S, \quad (3.8)$$

где V_P - объем рассеивающей частицы, σ'_S - поперечное сечение приведенного рассеяния, зависящее от длины волны света, радиуса рассеивающей частицы и показателей преломления рассеивающей частицы и окружающей среды. Эта зависимость имеет вид параболы с максимумом μ'_S при $\varphi_S = 0.5$ и обращением в ноль при $\varphi_S = 0$ и $\varphi_S = 1$, то есть, когда среда становится однофазной.

В случае компрессии образцов увеличение фракции рассеивателей происходит в области $\varphi_S < 0.5$ и ведет к уменьшению приведенного коэффициента рассеяния, и, как следствие, к уменьшению коэффициента диффузного отражения. В отличие от сжатых образцов, физические структуры несжатых образцов под микроскопом выглядят как «рыхлые» [3]. Удаление воды путем выпаривания (сушки) уплотняет ткань в меньшей степени, компоненты ткани могут оставаться рыхлыми даже после дегидратации, так что сухой образец остается менее плотный по сравнению с сжатым. Увеличение фракции рассеивателей происходит в области $\varphi_S > 0.5$ и ведет к увеличению приведенного коэффициента рассеяния и, соответственно, диффузного отражения [54, 74]. Более того, в объеме сухого образца могут образовываться воздушные полости, что, в результате может привести к увеличению рассогласования показателей преломления компонентов биоткани (путем замены показателя преломления воды на меньший по величине показатель преломления воздуха), увеличению рассеяния и коэффициента диффузного отражения [3, 75].

Материалы, представленные в данной главе, были опубликованы в работах [47, 48, 55-58, 72, 76-79].

Заключение

Основные результаты работы могут быть сформулированы следующим образом:

Процесс стабилизации спектров диффузного отражения и параметров кожи *in vivo* и мышечной ткани *in vitro* при наложении внешней механической компрессии является инерционным. Спектры стабилизируются в течение времени порядка 5 – 7 минут в зависимости от размера области компрессии и приложенного давления, при этом время стабилизации увеличивается с увеличением компрессии.

В случае кожи капиллярная кровь, а вместе с ней гемоглобин при наложении давления порядка 10^5 Па полностью удаляются из биоткани, в случае же мышечной ткани при наложении компрессии по прошествии времени порядка 1-2 минут в мышечных волокнах остается миоглобин, при этом он переходит в де-оксигенированную форму.

Отличительной особенностью поведения коэффициента отражения кожи *in vivo* в области 700-800 нм после наложения компрессии является его монотонное уменьшение по двухэкспоненциальному закону. Характерные времена затухания экспоненциальных функций составляют величины порядка нескольких секунд (быстрая релаксация) и нескольких минут (медленная релаксация) и обусловлены вытеснением из кожи свободной воды (быстрая дегидратация) и связанной воды (медленная дегидратация).

Дегидратация *ex vivo* образцов мышечной ткани коровы и свиньи в процессе их сушки или компрессии сопровождается разным характером временного поведения диффузного отражения образцов: в первом случае диффузное отражение увеличивается, а во втором уменьшается. Этот результат обусловлен разными физическими структурами высушенного и сдавленного образца, которые приводят к разной плотности рассеивателей в образце и, как следствие, к разной величине фракции рассеивателей в среде и разному поведению приведенного коэффициента рассеяния.

Оценить степень дегидратации образцов биоткатушки в результате их компрессии можно на основе анализа изменений диффузного отражения образцов. Процессы уменьшения диффузного отражения образца ткани и уменьшения их веса в результате компрессии коррелируют. Оба процесса носят экспоненциальный характер, при этом уменьшение коэффициента отражения обусловлено дегидратацией образца. Выбор длины волны зондирующего света может дать не только качественное, но и количественное совпадение между двумя процессами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Rylander C. G., Stumpp O. F., Milner T. E., Kemp N. J., Mendenhall J. M., Diller K. R., Welch A. J. Dehydration mechanism of optical clearing in tissue // *Journal of Biomedical Optics*. - 2006. - V. 11. - № 4. - P. 041117.
2. Tuchin V. V. *Optical clearing of tissues and blood*. - Bellingham, WA, USA: SPIE Press, 2005. Vol. PM 154. 254 p.
3. Синичкин Ю. П., Утц С. Р. *In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2001. - 92 с.
4. Kirillin M. Y., Agrba P. D., Kamensky V. A. *In vivo* study of the effect of mechanical compression on formation of OCT images of human skin // *Journal of Biophotonics*. - 2010. - V. 3(12). - P. 752–758.
5. Rylander C. G., Milner T. E., Baranov S. A., Nelson J. S. Mechanical tissue optical clearing devices: Enhancement of light penetration in ex vivo porcine skin and adipose tissue // *Laser Surg. Med.* - 2008. - V. 40. - № 10. - P. 688-694.
6. Ermakov I. V., Gellermann W. Dermal carotenoid measurements via pressure mediated reflection spectroscopy // *J. Biophotonics*. - 2012. - V. 5. - №7. - P. 559-570.
7. Chan E. K., Sorg B., Protsenko D. O’Neil M., Motamedi M., Welch A. J. Effects of compression on soft tissue optical properties // *IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics*. - 1996. - V. 2. - № 4. - P. 943-950.
8. Shangguan H., Prahl S. A., Jacques S. L., Casperson L. W. Gregory K. W. Pressure effects on soft tissues monitored by changes in tissue optical properties // *Proc. SPIE*. - 1998. - V. 3254. - P. 366-371.
9. Chen W., Liu R., Xu K., Wang R. K. Influence of contact state on NIR diffuse reflectance spectroscopy in vivo // *J. Phys. D*. - 2005. - V. 38. - P. 26913695.
10. Reif R., Amoroso M. S., Calabro K. W., A’Amar O., Singh K. S., Bigio I. J. Analysis of change in reflectance measurements on biological tissues

- subjected to different probe pressures // J. Biomed. Opt. - 2008. - V. 13. - № 1. - P. 010502.
11. Ti Y., Lin W. C. Effects of probe contact pressure on in vivo optical spectroscopy // Opt. Express. - 2008. - Vol. 16. - № 6. - P. 4250-4262.
12. 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 // Laser Surg. Med. - 2011. - V. 43. - P. 814-823.
13. Lim L. A., Nichols B., Rajaram N., Tunnell J. W. Probe pressure effects on human skin diffuse reflectance and fluorescence spectroscopy measurements // J. Biomed. Opt. - 2011. - V. 16. - № 1. - P. 011012.
14. Vogt W. C., Izquierdo_Roman A., Nichols B., Lim L., Tunnell J. W., Rylander C. G. Effects of mechanical indentation on diffuse reflectance spectra, light transmission, and intrinsic optical properties in ex vivo porcine skin // Laser Surg. Med. - 2012. - V. 44. - P. 303-309.
15. Cugmas B., Bürmena M., Bregar V., Pernuša F., Likar B. Impact of contact pressure-induced spectral changes on soft-tissue classification in diffuse reflectance spectroscopy: problems and solutions // Journal of biomedical optics. - 2014. - T. 19. - № 3. - C. 037002.
16. Carp S. A., Kauffman T., Fang Q., Rafferty E., Moore R., Kopans D., Boas D. Compression-induced changes in the physiological state of the breast as observed through frequency domain photon migration measurements // J. Biomed. Opt. - 2006. - V. 11. - №6. - 064016.
17. Ruderman S., Gomes A. J., Stoyneva V., Rogers J. D., Fought A. J., Jovanovic B. D., Backman V. Analysis of pressure, angle and temporal effects on tissue optical properties from polarization-gated spectroscopic probe measurements// Biomedical Optics Express. - 2010. - V. 1. - №2. - P. 489-499.
18. Delgado Atencio J. A., Orozco Guillen E. E., Vazquezy Montiel S. Cunill Rodríguez M., Castro Ramos J., Gutiérrez J. L., Martínez F. Influence of probe pressure on human skin diffuse reflectance spectroscopy measurements // Opt. Mem. Neur. Networks (Information Optics). - 2009. - V. 18. - № 1. - P. 6-14.

19. Vogt W. C., Shen H., Wang G., Rylander C. G. Parametric study of tissue optical clearing by localized mechanical compression using combined finite element and Monte Carlo simulation // *J. Innov. Opt. Health Sci.* - 2010. - V. 3. - № 3. - P. 203-211.
20. Gurjarpadhye A., Vogt W. C., Liu Y., Rylander C. G. Effect of localized mechanical indentation on skin water content evaluated using OCT // *Int. J. Biomed. Imaging.* - 2011. - V. 2011. - P. 817250.
21. Cugmas B., Bürmena M., Bregar V., Pernuša F., Likar B. Pressure-induced near infrared spectra response as a valuable source of information for soft tissue classification // *Journal of biomedical optics.* - 2013. - V. 18. - No. 4. - P. 047002.
22. Xu X., Wang R. K. The role of water desorption on optical clearing of biotissue: Studied with near infrared reflectance spectroscopy // *Med. Phys.* - 2003. - V. 30. - №. 6. - P. 1246-1253.
23. Xu X., Wang R. K. Synergistic effect of hyperosmotic agents of dimethyl sulfoxide and glycerol on optical clearing of gastric tissue studied with near infrared spectroscopy // *Phys. Med. Biol.* - 2004. - V. 49. - P. 457-468.
24. Sapozhnikova V. V., Kuranov R. V., Cicenaitė I. et al. Effect on blood glucose monitoring of skin pressure exerted by an optical coherence tomography probe // *Journal of biomedical optics.* - 2008. - T. 13. - №. 2. - C. 021112.
25. 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.
26. Drew C., Milner T. E., Rylander C. G. Mechanical tissue optical clearing devices: evaluation of enhanced light penetration in skin using optical coherence tomography // *Journal of biomedical optics.* - 2009. - Т. 14. - №. 6. - С. 064019.

27. Синичкин Ю. П., Утц С. Р., Меглинский И. В., Пилипенко Е. А. Спектроскопия кожи человека *in vivo*: 2. Спектры флуоресценции // Опт. и спектр. - 1996. - Т. 80. - № 3. - С. 431.
28. Nath A., Rivoire K., Chang S., D. Cox, Atkinson E. N., Follen M., and Richards-Kortum R. Effect of probe pressure on cervical fluorescence spectroscopy measurements // J. Biomed. Opt. - 2004. - V. 9. - № 3. - P. 523-533.
29. Rivoire K., Nath A., Cox D., Atkinson E. N., Richards-Kortum R., and Follen M. The effects of repeated spectroscopic pressure measurements on fluorescence intensity in the cervix // Am. J. Obstet. Gynecol. - 2004. - V. 191. - № 5. - P. 1606-1617.
30. Аскаръян Г. А. Увеличение прохождения лазерного и другого излучения через мягкие мутные физические и биологические среды // Квант. Электр. - 1982. - Т. 9. - С. 1379-1383.
31. Kang H, Son T, Yoon J, Kwon K, Nelson J. S, Jung B. Evaluation of laser beam profile in soft tissue due to compression, glycerol, and micro-needling // Laser Surg Med. - 2008. - V. 40. - №. 8. - P. 570–575;
32. Khan M. H., Choi B, Chess S, Kelly K. M., McCullough J, Nelson J. S. Optical clearing of *in vivo* human skin: Implications for light-based diagnostic imaging and therapeutics // Lasers Surg. Med. - 2004. - V. 34. - №. 2. - P. 83–85.
33. Fischer A. A. Pressure tolerance over muscles and bones in normal subjects // Arch. Phys. Med. Rehabil. - 1986. - V. 67. - №. 6. - P. 406–409.
34. Bregar M., Bürmen M., Aljan U., Cugmas B., Pernuš F. and Likara B. Contact pressure-aided spectroscopy // Journal of Biomedical Optics. - 2014. - V. 19. - №. 2. - 020501.
35. Tiand Y., Lin W.-C. Effects of probe contact pressure on *in vivo* optical spectroscopy // Opt. Express. - 2008. - V. 16. - №. 6. - P. 4250–4262.
36. Cerussi A., Siavoshi S., Durkin A., Chen C., Tanamai W., Hsiang D., and Tromberg B. J. Effect of contact force on breast tissue optical property

- measurements using a broadband diffuse optical spectroscopy handheld probe // *Appl. Opt.* - 2009. - V. 48. - P. 4270-4277.
37. Yu B., Shah A., Nagarajan V. K., Ferris D. G. Diffuse reflectance spectroscopy of epithelial tissue with a smart fiber-optic probe // *Biomedical Optics Express.* - 2014. - V. 5. - №. 3. - P. 675-689.
38. Douplik A, Shalaby D, Wilson B. C. The spectral dependence of fiberoptic probe pressure on tissue during *in vivo* diffuse reflectance spectroscopy. 2004; paper FG4.
39. Kondepati V. R., Heise H. M., Backhaus J., Recent applications of near-infrared spectroscopy in cancer diagnosis and therapy // *Anal. Bioanal. Chem.* - 2008. - V. 390. - №. 1. - P. 125–139.
40. Jiang S. D. et al. *In vivo* near-infrared spectral detection of pressure induced changes in breast tissue // *Opt. Lett.* - 2003. - V. 28. - №. 14. - P. 1212–1214.
41. Smulders P. F. M., Janssen N. Influence of probe pressure when using MM-wave open-ended probe for diagnosis of the human skin // *Microw. Opt. Technol. Lett.* - 2012. - V. 54. - №. 10. - P. 2341–2342.
42. Abraham P. et al. Dynamics of local pressure-induced cutaneous vasodilation in the human hand // *Microvasc. Res.* - 2001. - V. 61. - №. 1. - P. 122–129.
43. Cugmas B., Bürmena M., Pernuša F., Likar B. Analysis of soft tissue near infrared spectra under dynamic pressure effects // *Proc. SPIE.* - 2012. - V. 8220. - 822007.
44. Li C., Jiang J., Xu K. The variations of water in human tissue under certain compression: studied with diffuse reflectance spectroscopy // *Journal of Innovative Optical Health Sciences.* - 2013. - V. 6. - №. 1. - 1350005.
45. Синичкин Ю. П., Утц С. Р., Пилипенко Е. А. Спектроскопия кожи человека *in vivo*: 1. Спектры отражения // *Опт. и спектр.* - 1996. - Т. 80. - № 2. - С. 260-267.
46. Thien Nguyen, Kien Nguyen Phan, Jee-Bum Lee, Jae Gwan Kim. Metmyoglobin formation, accumulation, degradation and myoglobin oxygenation

- monitoring based on multiwavelength attenuation measurement in porcine meat // J. Biomed. Optics. - 2016. - V. 21. - № 5. - 057002.
47. Нахаева И. А., Мохаммед М. Р., Зюрюкина О. А., Синичкин Ю. П. Влияние внешней механической компрессии на оптические свойства кожной ткани *in vivo* // Опт. и спектр. - 2014. - Т. 117. - № 3. - С. 522–528.
48. Нахаева И. А., Зюрюкина О. А., Мохаммед М. Р., Синичкин Ю. П. Влияние внешней механической компрессии на содержание воды в кожной ткани человека *in vivo* // Опт. и спектр. - 2015. - Т. 118. - № 5. - С. 152–159.
49. Delalleau A. et al. A nonlinear elastic behavior to identify the mechanical parameters of human skin *in vivo* // Skin research and Technology. - 2008. - V. 14. - № 2. - P. 152-164.
50. Ding H. et al. Determination of refractive indices of porcine skin tissues and intralipid at eight wavelengths between 325 and 1557 nm // JOSA A. - 2005. - V. 22. - № 6. - P. 1151-1157.
51. Kim C. B., Su C. B. Measurement of the refractive index of liquids at 1.3 and 1.5 micron using a fibre optic Fresnel ratio meter // Measurement Science and Technology. - 2004. - V. 15. - № 9. - P. 1683.
52. Anderson R. R., Parrish J. A. The optics of human skin // Journal of investigative dermatology. - 1981. - V. 77. - № 1. - P. 13-19.
53. Oomens C.W.J., Vancampen D.H., Grootenboer H.J. A mixture approach to the mechanics of skin // J. Biomech. - 1987. - V. 20(9). - P. 877-885.
54. Hardisty M. R., Kienle D. F., Kuhl T. L., Stover S. M., Fyhrie D. P. Strain-induced optical changes in demineralized bone // Journal of Biomedical Optics. - 2014. - V. 19. - № 3. - P. 035001.
55. Зюрюкина О. А., Синичкин Ю. П. Динамика оптических и физиологических свойств кожи человека *in vivo* в процессе ее компрессии // Опт. и спектр. - 2019. - Т. 127. - № 3. - С. 498-506.
56. Зюрюкина О. А., Синичкин Ю. П. Особенности динамики оптических и физиологических свойств мышечной ткани *in vitro* в процессе ее

- компрессии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. - 2021. - Т. 21. - Вып. 2. - С. 178–187.
57. Зюрюкина О. А., Синичкин Ю. П. Дегидратация биотканей в процессе их компрессии // Изв. Саратов. ун-та. Новая сер. Серия Физика. - 2020. - Т. 20. - Вып. 2. - С. 92-102.
58. Zyuryukina O.A., Sinichkin Yu.P. Compression optical clearing. Chapter 10 in Handbook of tissue optical clearing: new prospects in optical imaging / Valery Tuchin, Zhu Dan and Elina A. Genina, Eds. - CRC Press, 2022. - P. 199-217.
59. 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.
60. Prahл S. [Электронный ресурс] Oregon medical laser center. URL: <http://omlc.ogi.edu>. (дата обращения: 25.04.2014).
61. Bashkatov A. N., Genina E. A., Kochubey V. I., Tuchin V. V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm // J. Phys. D: Appl. Phys. - 2005. - V. 38. - P. 2543-2555.
62. Millar S. J., Moss B. W., Stevenson M. H. Some observations on the absorption spectra of various myoglobin derivatives found in meat // Meat Science. - 1996. - V. 42. - № 3. - P. 277-288.
63. Livingston D. J., Brown W. D. The chemistry of myoglobin and its reactions [meat pigments, food quality indices] // Food Technology. - 1981. - V. 35. - № 5. - P. 238-252.
64. Bowen W. J. The absorption spectra and extinction coefficients of myoglobin // Journal of Biological Chemistry. - 1949. - V. 179. - № 1. - P. 235-245.
65. Krzywicki K. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef // Meat Science. - 1979. - V. 3. - № 1. - P. 1-10.

66. Nighswander-Rempel S. P., Kupriyanov V. V., Shaw R. A. Relative contributions of hemoglobin and myoglobin to near-infrared spectroscopic images of cardiac tissue // *Applied Spectroscopy*. - 2005. - V. 59. - № 2. - P. 190-193.
67. Kano Y., Sakuma K. Effect of aging on the relationship between capillary supply and muscle fiber size // *Advances in Aging Research*. - 2013. - V. 2. - № 1. - P. 37-42.
68. Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. - 2011. - V. 4. - № 1. - P. 9-38.
69. Долотов Л. Е., Синичкин Ю. П. Особенности применения волоконно-оптических датчиков в спектральных измерениях биологических тканей // *Оптика и спектроскопия*. - 2013. - Т. 15. - № 2. - С. 40–46.
70. Feather J. W., Haijzadeh M., Dawson J. B. et al. A portable scanning reflectance spectrophotometer using visible wavelengths for rapid measurement of skin pigments // *Phys. Med. Biol.* - 1989. - V. 34. - P. 807-820.
71. Haijzahan M., Feather J. W., Dawson J. B. An investigation of factors affecting the accuracy of in vivo measurements of skin pigments by reflectance spectroscopy // *Phys. Med. Biol.* - 1990. - V. 35. - P. 1301-1315.
72. 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.
73. 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. - V. 13(2). - 021102.
74. Schmitt J. M., Kumar G. Optical scattering properties of soft tissue: a discrete particle model // *Appl. Opt.* - 1998. - V. 37. - №. 13. - P. 2788-2797.
75. Швачкина М. Е., Яковлев Д. Д., Лазарева Е. Н., Правдин А. Б., Яковлев Д. А. Мониторинг процесса иммерсионного оптического просветления коллагеновых волокон с помощью оптической когерентной томографии // *Оптика и спектроскопия.* - 2019. - Т. 127. - № 2. - С. 337-346.
76. 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.
77. 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.
78. 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.
79. Зюрюкина О.А., Нахаева И.А., Мохаммед М.Р., Синичкин Ю.П. Влияние внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи человека *in vivo* // *Материалы Всероссийской научной школы-семинара «Методы компьютерной диагностики в биологии и*

медицине – 2015», 10-12 ноября, 2015, Саратов, Изд-во «Саратовский источник», Саратов, 2015. С. 45-48.