

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

**Развитие оптических методов диагностики и
мониторинга биологических сред**

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ПОДГОТОВЛЕННОЙ
НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ (ДИССЕРТАЦИИ)

аспиранта 4 курса 401 группы
направления 03.06.01 «Физика и астрономия»
физического факультета

Мохаммед Раид Мохаммед Саиф

Научный руководитель

д.ф.-м.н., профессор

_____ Ю.П. Синичкин

Саратов 2017

Работа посвящена исследованию влияния внешней механической компрессии на оптические свойства кожной ткани внутренней стороны предплечья человека в условиях *in vivo* и мышечной ткани свиньи *in vitro*.

Актуальность темы.

Исследования влияния внешней механической компрессии на спектры диффузного отражения биоткани *in vivo* представляет интерес по ряду причин. Во-первых, многочисленные исследования показали, что метод диффузионной отражательной спектроскопии обладает огромным потенциалом в области неинвазивной диагностики и мониторинга состояния человека в условиях *in vivo*. Ключевым элементом в таких исследованиях в условиях *in vivo* является волоконно-оптический датчик. Чтобы избежать спектральные артефакты, наведенные шероховатостью и движениями поверхности биоткани, датчик контактирует с поверхностью ткани при определенном локализованном давлении, которое должно влиять на такие характеристики ткани, как ее толщина и оптические свойства. В результате спектр диффузного отражения может неконтролируемым образом меняться в зависимости от величины механической компрессии, что является источником ошибок при анализе спектров. Во-вторых, в настоящее время широко используется метод управления оптическими параметрами биотканей, основанный на внедрении в биоткань химических агентов. Снижение рассеяния света происходит благодаря замене межклеточной или внутриклеточной воды химическим агентом, который лучше соответствует более высокому показателю преломления естественных белковых структур. При удалении воды из пространства между коллагеновыми фибриллами увеличивается концентрация протеинов и сахара, в результате чего уменьшается рассогласование показателей преломления и снижается рассеяние. Поскольку водный транспорт играет важную роль в процессах просветления биотканей, то в качестве альтернативного иммерсионному методу управления оптическими параметрами биотканей можно рассмотреть метод, основанный на внешней механической компрессии биотканей, так результатом воздействия внешней компрессии

может быть изменение содержания воды в области приложения компрессии. Компрессионный метод управления оптическими параметрами потенциально имеет ряд преимуществ по сравнению с химическим методом, так как механическое сжатие биоткани является менее инвазивным и безопасным, так в отличие от химического метода сохраняются барьерные функции рогового слоя и всего эпидермиса в целом. Более того, компрессионный метод должен обладать большим быстродействием, большей управляемостью и повторяемостью результатов применения.

Несмотря на довольно большой объем публикаций, связанных с механической компрессией биотканей, приведенные в них результаты зачастую носят противоположный характер, что обусловлено, прежде всего, разными условиями наложения внешней компрессии (локальной или нелокальной) и разными геометриями детектирования отраженного биотканями света (с использованием волоконно-оптического датчика или без него).

Таким образом, важно знать механизмы изменения оптических свойств биоткани в условиях внешней компрессии, динамику изменения структуры и компонентного состава биоткани при внешнем давлении и влияние таких изменений на оптические свойства биоткани и, как следствие, на спектры диффузного отражения биоткани. Данные вопросы определяют актуальность работы.

Целью данной работы являлось теоретическое и экспериментальное исследование динамики изменения оптических свойств кожной ткани человека *in vivo* и мышечной ткани свиньи *in vitro* в процессе наложения и снятия внешней механической компрессии разной величины и разного размера области приложения внешнего давления.

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

Экспериментально исследовать изменения, происходящие в спектрах диффузного отражения биотканей при наложении внешней компрессии.

По спектрам диффузного отражения определить количественные изменения оптических свойств кожной и мышечной ткани при наложении внешней компрессии.

Теоретически исследовать причины изменения оптических свойств биотканей при наложении компрессии.

Методы исследования: спектроскопия диффузного отражения, компьютерное моделирование.

Объекты исследования: кожная ткань внутренней стороны предплечья человека *in vivo* и образцы мышечной ткани свиньи *in vitro*. Измерения спектров диффузного отражения кожи проводились на 5 добровольцах в возрасте от 20 до 65 лет с кожей II-IV типов по Фитцпатрику.

Научная и практическая значимость работы:

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

Отмечено, что после снятия внешней компрессии в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение (в 2 – 5 раз по сравнению с кожей без компрессии) содержания крови (гемоглобина) в области компрессии, при этом увеличивается степень оксигенации гемоглобина.

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

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

Результаты исследований могут способствовать созданию неинвазивных методов мониторинга ранних изменений в тканях организма человека.

Новизна результатов проведенных исследований состоит в следующем:

Внешняя механическая компрессия биотканей как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*, приводит к уменьшению их рассеивающих и поглощающих свойств,

при этом в ИК области спектра уменьшение рассеивающих свойств превалирует над поглощением. Процесс происходит в течение нескольких минут.

При наложении компрессии величиной 10^6 Па кровь полностью удаляется из области компрессии, в то время как кровь из мышечной ткани удаляется не полностью и содержащийся в оставшейся крови миоглобин переходит в деоксигенированную форму.

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

Снятие внешней компрессии восстанавливает оптические параметры кожной ткани в течение 40-50 минут, при этом в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение (в 2 – 5 раз по сравнению с кожей без компрессии) содержания крови (гемоглобина) с высокой степенью оксигенации гемоглобина, что обусловлено резким вбросом артериальной крови в объем кожной ткани, находившейся в условиях внешней компрессии.

Личный вклад автора диссертации

Автор лично участвовал в проведении экспериментальных исследований, обработке полученных данных, анализе и обсуждении полученных результатов.

Достоверность полученных результатов.

Достоверность полученных результатов обусловлена применением в экспериментах апробированных методик измерений, использованием стандартной измерительной аппаратуры и подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных в пределах установленных погрешностей, а также их соответствием результатам, полученным другими исследователями и широкой апробацией результатов.

Апробация работы.

Основные результаты работы были представлены в 9 докладах на российских и международных конференциях: Saratov Fall Meeting (SFM'13), 1st International Symposium on Optics and Biophotonics; Saratov Fall Meeting (SFM'14), International Symposium Optics and Biophotonics-II; Всероссийская

научная школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине», Саратов, 2014 г.; Ежегодная всероссийская Школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015», Саратов, 2015; Saratov Fall Meeting (SFM'16), International Symposium on Optics and Biophotonics IV; XIV Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, 2016 г., Самара, Россия.

Публикации.

По теме работы опубликовано 7 научных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, включенных в перечень рекомендованных ВАК.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка литературы, включающего 112 источников. Общий объем диссертации составляет 84 страниц, включая 33 рисунка и 4 таблицы.

В **первой главе** приведены результаты критического анализа данных, приведенных в опубликованной литературе.

Рассмотрены основные элементы биологических структур, влияющих на рассеивающие и поглощающие свойства биотканей.

Основными хромофорами, влияющие на спектральный состав отраженного света биотканями при наложении компрессии, являются гемоглобин крови кожи и миоглобин крови мышечной ткани, поглощающие свет видимого диапазона, и вода, определяющая поглощение биоткани в ближнем инфракрасном диапазоне спектра. При наложении компрессии данные хромофоры могут менять свое количественное содержание в биоткани, определяя ее поглощение.

Рассеивающие свойства биоткани определяются, главным образом, содержащейся в ней водой. Изменение рассеяние при наложении внешней компрессии может быть объяснено либо на основе бинарной модели двухкомпонентной межклеточной жидкости, когда приложенное внешнее давление выталкивает воду из области компрессии, что приводит к увеличению

показателя преломления межклеточной жидкости, выравниванию показателей преломления компонентов биологической ткани и, как следствие, снижению рассеяния света. Другой подход основан на увеличении плотности рассеивателей в биоткани за счет удаления из нее воды, что должно приводить к уменьшению рассеяния.

Оба механизма должны приводить к уменьшению рассеивающих свойств биоткани при наложении давления.

Во **второй главе** приведены результаты компьютерного моделирования спектров диффузно отраженного кожей света, где модельная среда была представлена в виде однородной полубесконечной рассеивающей среды с поглощением.

Результаты моделирования показывают, что в видимом диапазоне уменьшение содержания гемоглобина приводит к увеличению коэффициента отражения в области 500-600 нм, а уменьшение рассеяния кожи приводит к уменьшению коэффициента отражения практически во всей спектральной области. Комбинированное изменение содержания гемоглобина и изменения рассеивающих свойств кожной ткани приводит к характеру изменения спектра диффузного отражения, который наблюдался в экспериментах с кожей в условиях внешней компрессии.

В инфракрасном диапазоне спектра характер спектра отражения зависит от содержащейся в коже воды: содержание воды в модельном образце по-разному влияет на величину коэффициента отражения: уменьшение содержания воды в среде приводит к уменьшению ее поглощения, что отражается в увеличении коэффициента отражения, с другой стороны, уменьшение содержания воды приводит к уменьшению рассеивающих свойств среды, что ведет к уменьшению коэффициента отражения. Эти результаты могут быть положены в основу анализа экспериментально полученных спектров отражения кожи в ближнем ИК диапазоне.

Описание схемы эксперимента, методики измерения спектров диффузного отражения и результаты исследования влияния внешней

механической компрессии кожной ткани на спектр ее диффузного отражения приведены в **третьей главе**.

Получено, что при наложении внешней компрессии величиной $p = 13.9$ кПа происходит уменьшение коэффициента отражения кожи во всей спектральной области. Этот процесс происходит приблизительно в течение 4 минут. После снятия внешней компрессии происходит резкое уменьшение коэффициента отражения в области спектра 500-600 нм. В дальнейшем в течение 30 минут спектр восстанавливается в первоначальный вид. При наложении внешнего давления величиной $p = 110$ кПа помимо уменьшения коэффициента отражения во всей спектральной области происходит уменьшение величины провала в области спектра 500-600 нм, который практически исчезает через 5 минут после наложения компрессии.

Параметром, которым можно количественно оценить содержание гемоглобина в кожной ткани, является индекс эритемы, который пропорционален площади над кривой оптической плотности кожи в данном диапазоне спектра, а форма спектра в этой области дает возможность оценить степень оксигенации гемоглобина.

Индекс эритемы рассчитывался согласно формуле:

$$E = 100 \times \left[OD_{560} + 1.5 \times (OD_{545} + OD_{575}) - 2.0 \times (OD_{510} + OD_{610}) \right],$$

а степень оксигенации гемоглобина определялась согласно методике:

$$Y = \alpha \times \left[\left(\frac{OD_{570} - OD_{560}}{10} - \frac{OD_{560} - OD_{545}}{15} \right) \times \frac{1}{H} + \beta \right],$$

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{530}}{15} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25},$$

где величины оптической плотности кожной ткани $OD = \log\left(\frac{1}{R}\right)$ определялись на длинах волн в нм, указанных в формулах, R - коэффициент диффузного отражения, H - индекс гемоглобина, определяющий содержание гемоглобина в крови, $\alpha = 26,95$ и $\beta = 1,1189$ – экспериментально определенные поправочные коэффициенты.

Получено, что в случае наложения внешней компрессии индекс эритемы уменьшается, что свидетельствует об уменьшении содержания крови в кожной ткани. Вытеснение крови из объема кожной ткани, подверженного давлению, происходит в течение нескольких минут, при этом в зависимости от величины компрессии вытесняется разное количество крови: при давлении $p = 13.9$ кПа индекс эритемы уменьшается от 34 до 25, то есть содержание крови уменьшается приблизительно на 26 %, в то время как при давлении $p = 110$ кПа кровь вытесняется полностью.

После снятия внешней компрессии происходит резкое увеличение содержания крови в объеме кожной ткани, которая подвергалась компрессии. В течение нескольких секунд индекс эритемы достигал величины, значительно превышающей индекс эритемы нормальной кожи: в случае наложения давления $p = 13.9$ кПа индекс возрос до 50 (первоначальное значение $E = 34$), а при давлении $p = 110$ кПа до 60 (первоначальное значение $E = 30$). Восстановление кожной ткани в первоначальное состояние происходило в течение 20-50 минут в зависимости от величины компрессии.

Определенный интерес представляет поведение степени оксигенации гемоглобина крови, содержащейся в объеме кожной ткани, подвергаемой механической компрессии. После наложения компрессии уменьшение содержания крови сопровождалось уменьшением степени оксигенации содержащегося в ней гемоглобина. Снятие компрессии приводило к резкому увеличению (в 2.7 раз) степени оксигенации.

В ближней ИК области спектра при наложении внешней компрессии имеет место тенденция уменьшения коэффициента отражения кожи во всем спектральном диапазоне, при этом стабилизация спектров наблюдается в течение нескольких минут. Это говорит о том, что изменение рассеивающих свойств кожи при наложении компрессии превалирует над изменением поглощения. После снятия компрессии спектры восстанавливаются в первоначальное положение практически в тот же временной промежуток, что и в видимом диапазоне.

Далее в главе приведены результаты экспериментальных исследований спектров диффузного отражения образцов мышечной ткани свиньи *in vitro*.

В видимой области спектра для мышечной ткани в течении времени порядка нескольких минут провал в спектре отражения меняет форму, что свидетельствует об изменении формы присутствующего в образце миоглобина, при этом кровь не полностью выдавливается из области компрессии. Что касается инфракрасной области спектра, то наблюдается уменьшение коэффициента отражения, времена стабилизации спектров составляют величину порядка 3 – 5 минут, при этом уменьшение области компрессии приводит к уменьшению времени стабилизации.

В заключении приведены **основные полученные результаты** проведенных теоретических и экспериментальных исследований.

1. Наложение внешней механической компрессии величиной $10^5 - 10^6$ Па на кожу человека *in vivo* приводит к уменьшению коэффициента диффузного отражения света в спектральном интервале видимого (400-1000 нм) и ближнего ИК (1000-2000 нм) диапазонов.

2. Время стабилизации спектров диффузного отражения при наложении внешней механической компрессии величиной свыше 50 кПа составляет несколько минут, в зависимости от приложенного давления.

3. Из двух процессов, определяющих величину коэффициента отражения подверженной механической компрессии кожной ткани в условиях *in vivo* в инфракрасном диапазоне спектра, превалирующим является процесс уменьшения рассеивающих свойств биоткани, являющийся результатом транспорта воды из области кожной ткани, подверженной компрессии.

4. Внешняя механическая компрессия биотканей как в условиях *in vivo*, так и *in vitro* приводит к уменьшению их рассеивающих и поглощающих свойств, при этом капиллярная кровь полностью удаляется из области компрессии, в то время как мышечная выдавливается не полностью и содержащийся в ней миоглобин переходит в деоксигенированную форму.

5. Количество воды, удаленной из кожи в результате внешней механической компрессии, зависит от величины приложенного давления.

6. При уменьшении размера области приложения внешнего давления количество вытесненной воды увеличивается. Так, при использовании датчика 10 мм с грузами, создаваемыми давлением на кожу величиной 28 кПа, 100 кПа и 143 кПа, из кожи вытесняется вода в количестве 5%, 12% и 15%, соответственно.

7. После снятия внешней компрессии кожная ткань восстанавливает свои оптические параметры в течение времени порядка 40-50 минут, при этом в течение первых нескольких секунд происходит значительное увеличение содержания крови (гемоглобина) (в 2 – 5 раз по сравнению с кожей без компрессии), что может быть обусловлено резким выбросом артериальной крови в объем кожной ткани, находившейся в условиях внешней компрессии.

Основные результаты научной квалификационной работы изложены в следующих публикациях:

В изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

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.

Сборниках научных конференций:

1. Мухаммед Раид Мухаммед. Исследование патологических процессов в биотканях методами оптической спектроскопии // IV Всероссийская научно-практическая конференция «Научная инициатива иностранных студентов и аспирантов российских вузов». Сборник докладов. Томск 24-26 мая 2011 г. С. 354-358.
2. О.А. Зюрюкина, И.А. Нахаева, Мохаммед Р. Мохаммед, Ю.П. Синичкин. Влияние внешней механической компрессии на состояние оксигенации гемоглобина крови кожи человека *in vivo* / Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2013: материалы 17-й Междунар. молодежной науч. школы по оптике, лазерной физике и биофотонике / под ред. Г. В. Симоненко, В. В. Тучина. – Саратов : Изд - во «Новый ветер», 2013. – С. 9-17.
3. И.А. Нахаева, О.А. Зюрюкина, М.Р. Мохаммед, Ю.П. Синичкин. Влияние внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи *in vivo* / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2014: материалы Всерос. молодеж. конф. / под. ред. проф. Д.А. Усанова. – Саратов: Изд-во Саратовский источник, 2014. С. 93-94.
4. О.А. Зюрюкина, И.А. Нахаева, М.Р. Мохаммед, Ю.П. Синичкин. Влияние внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи человека *in vivo* / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015: материалы Всерос. молодеж. конф. / под. ред. проф. Д.А. Усанова. – Саратов: Изд-во Саратовский источник, 2015. С. 45-48.
5. Зюрюкина О.А., Нахаева И.А., Мохаммед М.Р., 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.