

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

**Исследование влияния внешней механической компрессии на
оптические и физиологические характеристики кожи человека *in vivo***

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

аспиранта 4 года обучения
направления 06.06.01 «Биологические науки»
биологического факультета

Нахасовой Инары Адлькалиевны

Научный руководитель

д.ф.-м.н., профессор

_____ Синичкин Ю.П.

Саратов 2018

Работа посвящена исследованию влияния внешней механической компрессии на оптические и физиологические свойства кожи человека *in vivo* и мышечной ткани коровы *in vitro*.

Актуальность темы.

Исследования влияния внешней механической компрессии на спектры диффузного отражения биотканей представляет интерес по ряду причин. Во-первых, метод отражательной спектроскопии в настоящее время является одним из наиболее развитых оптических методов *in vivo* и *in vitro* исследований биологических тканей, при этом в условиях внешней механической компрессии реализуются дополнительные возможности метода. Во-вторых, во многих спектральных измерениях биотканей *in vivo* используются волоконно-оптические датчики, которые соприкасаясь с поверхностью исследуемой биоткани, производят неконтролируемое надавливание на ее поверхность, приводящее к спектральным артефактам, что является источником ошибок при анализе спектров. В-третьих, в настоящее время широко используется метод управления оптическими параметрами биотканей, основанный на внедрении в биоткань иммерсионных агентов, приводящих к дегидратации биоткани и выравниванию показателей преломления компонентов биоткани. Механическая компрессия также приводит к дегидратации биоткани, что является основой снижению рассеяния в биоткани. Более того, 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. Компрессионный метод должен обладать большим быстродействием, большей управляемостью и повторяемостью результатов применения. В-четвертых, разная область наложения компрессии (локальная и нелокальная) приводит к разным результатам. Влияние размера области приложения компрессии на спектры

диффузного отражения до сих пор не изучено. Наконец, эффект влияния внешней компрессии на оптические и физиологические свойства биоткани носит инерционный характер, процессы, определяющие инерционность воздействия компрессии на биоткань, также до сих пор не изучены.

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 и физиологических 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 выявление закономерностей динамики изменения оптических и физиологических свойств биотканей в условиях *in vivo* и *in vitro* в процессе наложения и снятия внешней механической компрессии разной величины и разного объема 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 параметров 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 коровы *in vitro*. Измерения спектров диффузного отражения кожи проводились на 10 добровольцах в возрасте от 20 до 65 лет с кожей II-IV типов по Фитцпатрику.

Измерения *in vitro* проводились с образцами мышечной ткани коровы размером 30*30*25 мм³.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка литературы, включающего 83 источника. Общий объем диссертации составляет 109 страниц, включая 33 рисунка и 6 таблиц.

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

В **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 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 рассеяния при наложении внешней компрессии может быть объяснено 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.

В главе приведены результаты компьютерного моделирования спектров диффузно отраженного света модельной средой, где модельная среда была представлена в виде однородной полубесконечной рассеивающей среды с поглощением.

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

Расчет спектра диффузного отражения кожной ткани $R(\lambda)$ проводился на основе упрощенной модели кожной ткани, согласно которой кожа представлена в виде однородной 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, водой, содержание которой в коже хотя и имеет определенный градиент по мере проникновения в кожу (от 15% в роговом слое до 70% на глубине дермы), но беря во внимание толщины

слоев, можно считать ее распределение в коже однородным. То же относится и к поглощению кожи в ближнем ИК диапазоне, так как в этом диапазоне основным хромофором является вода. Что касается сине-зеленого спектрального диапазона, то здесь в поглощении играет кровь папиллярной и частично ретикулярной дермы, по толщине превышающей эпидермис.

Оптические свойства такой среды характеризуется спектральными зависимостями коэффициента поглощения $\mu_a(\lambda)$ и приведенного коэффициента рассеяния $\mu'_s(\lambda)$, который связан с коэффициентом рассеяния $\mu_s(\lambda)$ и фактором анизотропии рассеяния $g(\lambda)$ простым соотношением $\mu'_s(\lambda) = \mu_s(\lambda)(1 - g(\lambda))$. В диффузионном приближении теории переноса излучения авторами работы [Farrell T.J., Patterson M.S., Wilson B. // Med. Phys. 1992. V. 19. P. 879-888] получено аналитическое выражение для спектральной зависимости коэффициента диффузного отражения света такой средой в виде:

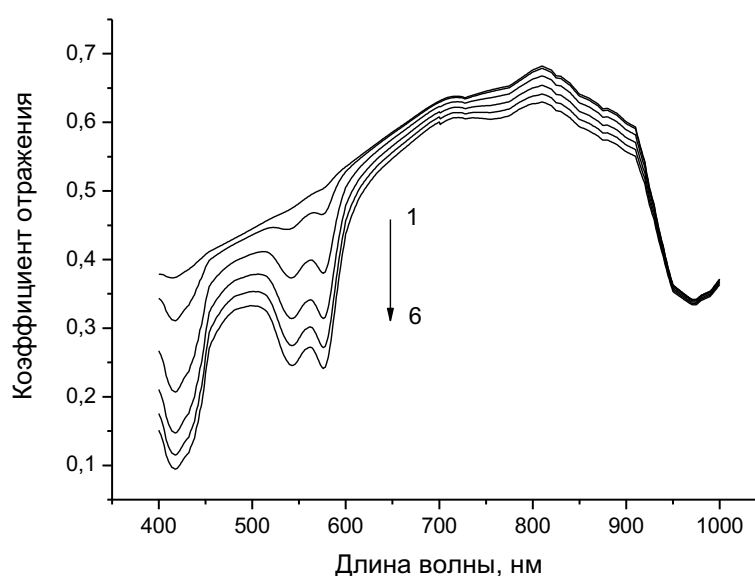
$$R = \frac{a'}{2} \left(1 + \exp \left(-\frac{4}{3} A \sqrt{3(1-a')} \right) \right) \frac{1}{1 + \sqrt{3(1-a')}}, \quad (1)$$

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

Спектр поглощения $\mu_a(\lambda)$ модельной среды определялся тремя основными хромофорами (меланином и гемоглобином в видимой области и водой в ближней инфракрасной области) со своими относительными вкладами (C_{hem} , C_{mel} , C_{water}). Рассеяние модельной среды определялось спектральной зависимостью приведенного коэффициента рассеяния дермы, которую можно представить как суперпозицию рассеяния Релея и рассеяния Ми, со своим относительным вкладом (C_{scat}). Расчет спектра диффузного отражения заключался в определении значений коэффициентов

C_{hem} , C_{mel} , C_{water} , а также спектра приведенного коэффициента рассеяния (величину коэффициента C_{scat}), при которых рассчитанный спектр диффузного отражения кожи максимально совпадал с экспериментально полученным спектром с использованием техники интегрирующей сферы.

В видимом диапазоне длин волн основным хромофором является гемоглобин содержащейся в коже крови. На рисунке 1 приведены спектры диффузного отражения модельной среды при разном содержании гемоглобина.



Спектры диффузного отражения модельной среды с разной концентрацией гемоглобина

Влияние воды на спектры диффузного отражения кожи видно из спектров отражения модельной среды, рассчитанных при разном содержании воды в коже (рис. 2) и разных значениях приведенного коэффициента рассеяния среды (рис. 3).

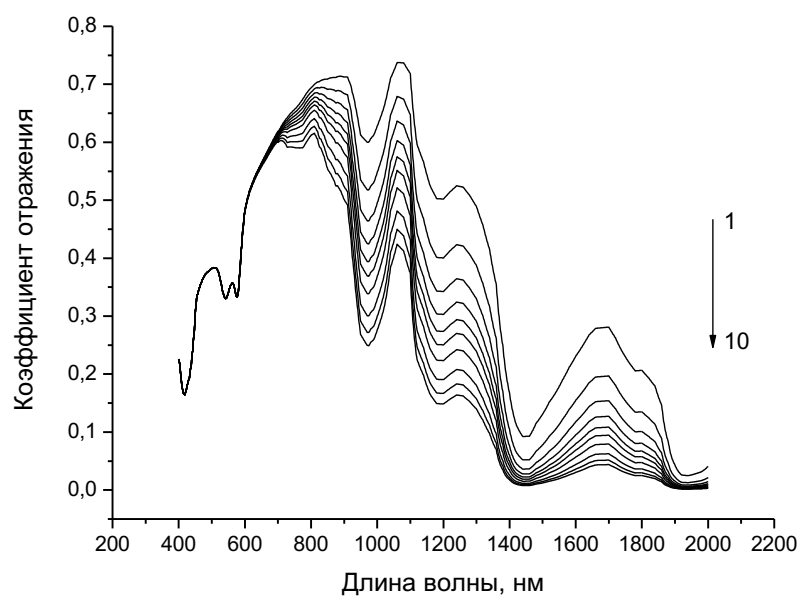


Рис. 2. Спектры диффузного отражения модельной среды с разным содержанием воды. Стрелка указывает увеличение рассеяния и поглощения

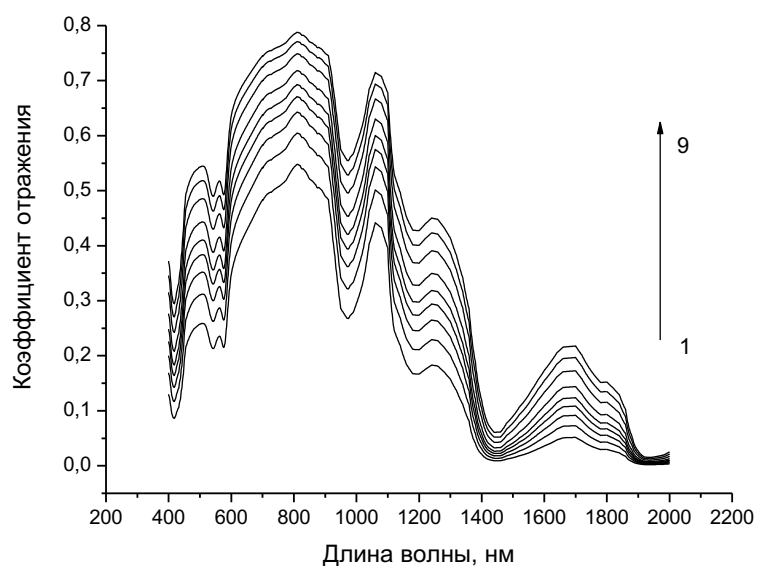


Рис. 3. Спектры диффузного отражения модельной среды с разными рассеивающими свойствами. Стрелка указывает увеличение рассеяния

Содержание воды в модельном образце по-разному влияет на величину коэффициента отражения в ближней ИК области: уменьшение содержания воды в среде приводит к уменьшению ее поглощения, что отражается в

увеличении коэффициента отражения; с другой стороны, уменьшение содержания воды приводит к уменьшению рассеивающих свойств среды, что ведет к уменьшению коэффициента отражения во всей области спектра от 400 до 2000 нм. Эти результаты могут быть положены в основу анализа экспериментально полученных спектров отражения кожи в ближнем ИК диапазоне.

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.

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**.

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**.

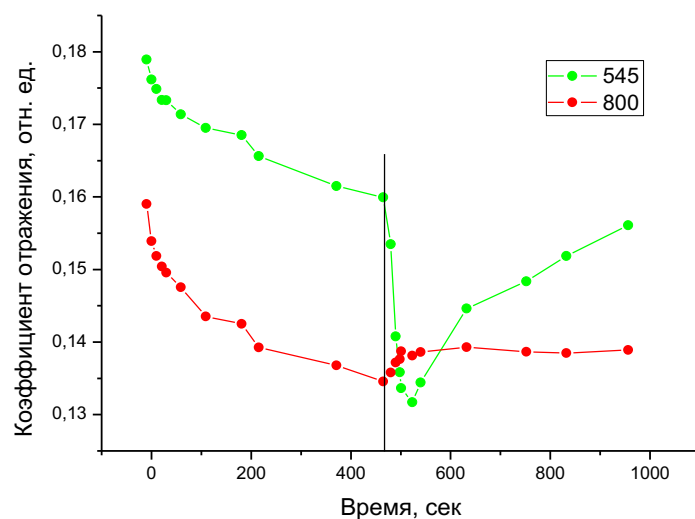
В видимом диапазоне спектра наложение внешней компрессии приводит: к уменьшению коэффициента отражения кожи во всей спектральной области и к уменьшению величины провала в области спектра 500-600 нм. Эти процессы происходят приблизительно в течение 5 минут.

Два фактора влияют на поведение спектра отражения кожи в области спектра 500-600 нм. Поведение спектра в области 500-600 нм зависит от содержания крови (гемоглобина) в коже и величины внешней компрессии.

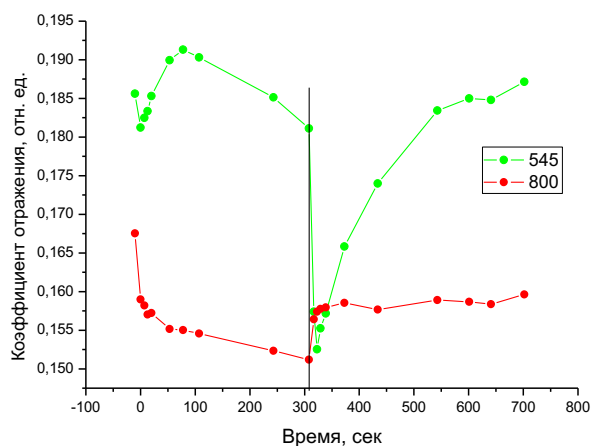
В случае, когда поглощение гемоглобина в спектре отражения слабо выражено или величина компрессии недостаточно велика, происходит монотонное уменьшение коэффициента отражения во всей спектральной области (так называемый режим “parallel pattern”). В противном случае, когда поглощение гемоглобина проявляется отчетливо или величина компрессии велика, спектры отражения в процессе динами вращаются вокруг изобестической точки вблизи длины волны 600 нм (режим “pivot pattern”), причем коэффициенты отражения увеличиваются в области спектра ниже изобестической точки, и уменьшаются на длинах волн свыше 600 нм. После снятия внешней компрессии в течение нескольких секунд происходит резкое уменьшение коэффициента отражения кожи во всем спектральном диапазоне, при этом в области 500-600 нм вновь образуется провал.

Восстановление спектра отражения в первоначальное состояние происходит в течение времени около 30-50 минут в зависимости от приложенного давления.

Временное поведение коэффициентов отражения на двух длинах волн для рассмотренных выше случаев при наложении компрессии кожи и после ее снятия приведены на рис. 4.



а



б

Рис. 4. Временное поведение коэффициентов отражения кожи на двух длинах волн в процессе наложения компрессии. Режимы “parallel pattern” (а) и “pivot pattern” (б)

Таким образом, временные изменения коэффициентов отражения в области 500-600 нм (области поглощения гемоглобина) оказываются чувствительны к количеству крови в коже, области прикладываемой компрессии и величине этой 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:

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

а степень оксигенации гемоглобина определялась согласно методике:

$$Y = \alpha \times \left[\left(\frac{OD_{570} - OD_{560}}{10} - \frac{OD_{560} - OD_{545}}{15} \right) \times \frac{1}{H} + \beta \right], \quad (3)$$

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{530}}{15} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25}, \quad (4)$$

где величины оптической плотности каждой 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 $\beta = 1,11$ – экспериментально определенные поправочные коэффициенты.

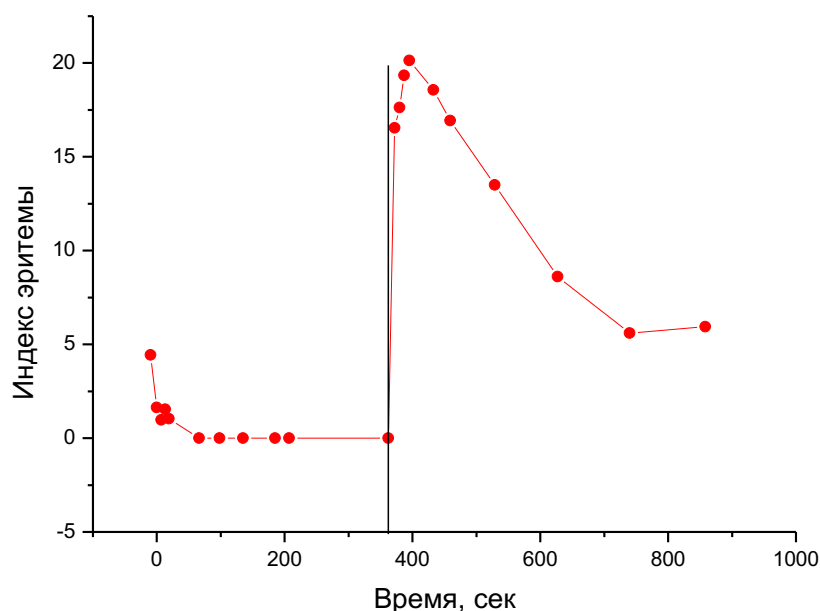


Рис. 5. Динамика индекса эритемы при наложении (временной интервал 0-362 с) и после ее снятия (временной интервал свыше 362 с). Датчик 10 мм, $p = 190$ кПа.

Динамика индекса эритемы при наложении внешней компрессии и после ее снятия приведена на рис. 5. 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 $p = 100$ кПа кровь вытесняется полностью. При использовании датчиков меньшего размера времена вытеснения крови из объема компрессии уменьшаются до величин порядка десятков секунд.

Таблица 1. Времена вытеснения крови из области компрессии для разных датчиков

Датчик, мм	Время, с
30,0	$30,0 \pm 8,2$
15,8	$23,0 \pm 2,6$
13,8	$18,5 \pm 2,2$
10,0	$13,0 \pm 3,8$
6,3	$6,7 \pm 2,1$
3,2	$3,7 \pm 1,7$

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. Восстановление кожной ткани в первоначальное состояние происходило в течение 20-50 минут в зависимости от величины компрессии.

Поведение степени оксигенации гемоглобина крови, содержащейся в объеме кожной ткани, подвергаемой механической компрессии, приведено на рис. 6. При наложении компрессии уменьшение содержания крови сопровождалось уменьшением степени оксигенации содержащегося в ней

гемоглобина. Снятие компрессии приводило к резкому увеличению (в 2.7 раз) степени оксигенации.

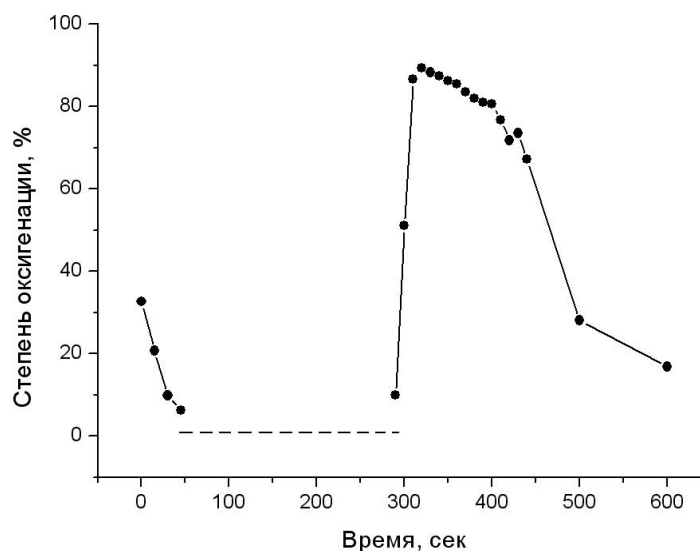


Рис. 6. Динамика степени оксигенации гемоглобина крови кожи в условиях внешней компрессии (интервал времени 0-290 сек) и при ее снятии (интервал времени свыше 290 сек). Пунктирная линия показывает временной диапазон, когда кровь в кожной ткани отсутствует. $p = 110$ кПа

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

Динамику индекса эритемы кожи *in vivo* при наложении внешней компрессии разной величины и после ее снятия можно условно разделить на четыре стадии. Первая стадия следует непосредственно после наложения внешней компрессии. При наложении внешней компрессии индекс эритемы уменьшается, что свидетельствует об уменьшении содержания крови в коже, при этом временная зависимость индекса хорошо аппроксимируется экспоненциальной функцией. Это видно из рисунков 7 и 8, где приведены временные поведения индекса эритемы кожи в условиях разной компрессии.

Во второй стадии величина индекса эритемы стабилизируется. При этом величина индекса определяется величиной приложенного давления (рис. 8-9).

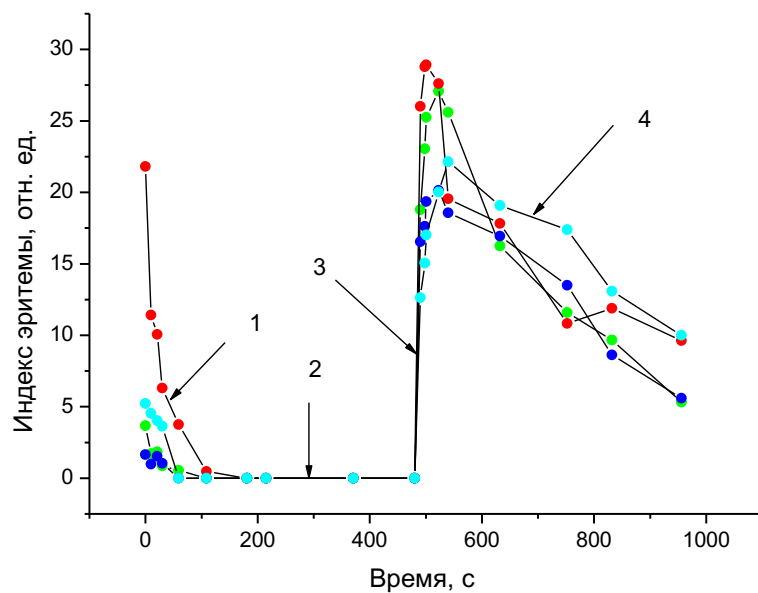


Рис. 7. Динамика индекса эритемы кожи в разных условиях компрессии.
Компрессия свыше 100 кПа.

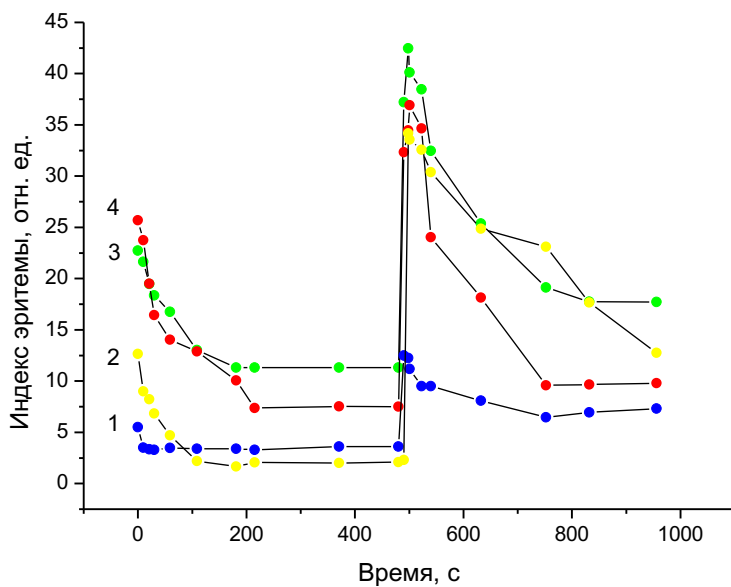


Рис. 8. Динамика индекса эритемы кожи в разных условиях компрессии.
 $p = 64,5$ 105 кПа (1), 16,6 кПа (2), 49,2 кПа (3), 30,0 кПа (4)

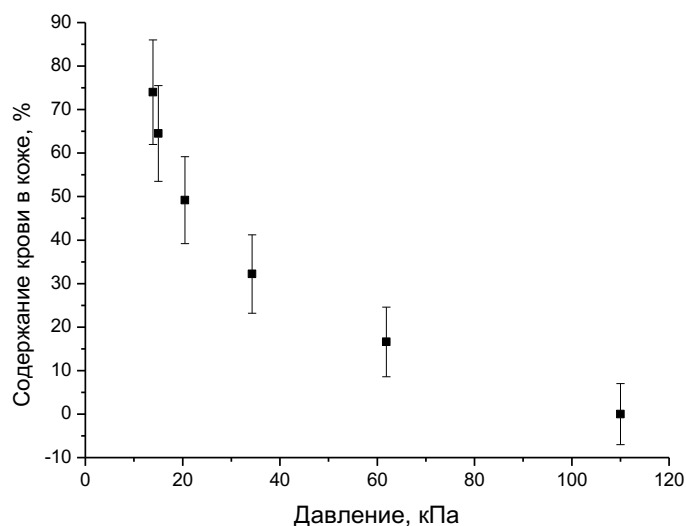


Рис. 9. Содержание крови (гемоглобина) в коже в зависимости от приложенной компрессии.

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

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

Временные изменения коэффициента отражения (на рис. 10 на длине волны 750 нм) в течение времени компрессии (интервал времени 0-460 секунд) описываются двухэкспоненциальными функциями с характерными временами от 20 до 200 секунд. Это видно из рисунка 11, где приведена динамика коэффициента отражения кожи в процессе наложения (временной

интервал 0 – 416 секунд) и после снятия (временной интервал свыше 416 секунд) внешней компрессии на длине волны 800 нм.

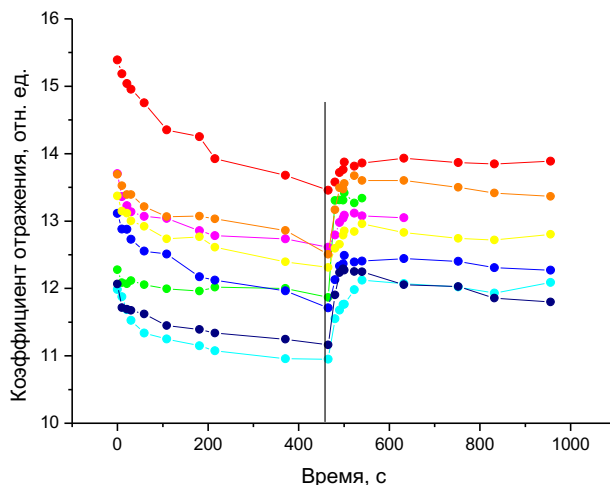


Рис. 10. Временные изменения коэффициента отражения кожи в процессе наложения компрессии (интервал времени 0-460 секунд) и после ее снятия. Разные добровольцы.

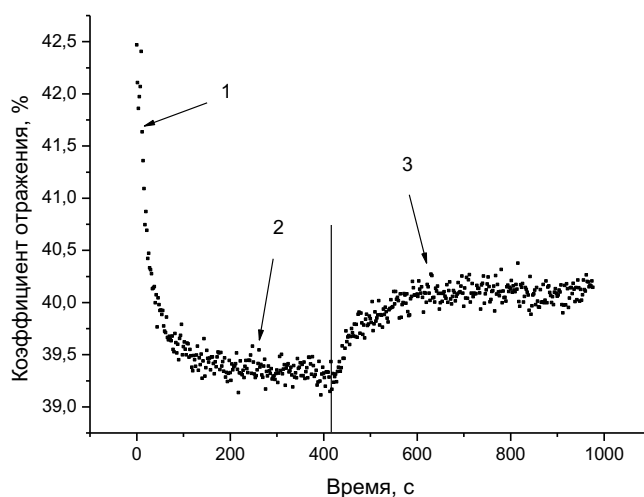


Рис. 11. Динамика коэффициента отражения кожи в процессе наложения (временной интервал 0 – 416 секунд) и после снятия (временной интервал свыше 416 секунд) внешней компрессии на длине волны 800 нм. Вертикальная линия – время снятия компрессии

Видно, что временные изменения коэффициента отражения в течение времени компрессии (интервал времени 0-416 секунд) описываются

двухэкспоненциальными функциями, которые можно назвать: 1 – быстрая релаксация, 2 - медленная релаксация. Времена релаксации практически не зависят от длины волны, но зависят от величины компрессии (таблица 2).

Таблица 2. Влияние компрессии на времена релаксации

Компрессия, Па	Быстрая релаксация, с	Медленная релаксация, с
50	12.72 ± 6.20	160.93 ± 96.51
75	8.28 ± 3.83	105.56 ± 44.68
100	5.18 ± 1.16	82.50 ± 46.50

Весь процесс стабилизации спектров может происходить приблизительно в течение времени до 5 минут. После снятия компрессии спектры восстанавливаются в первоначальное состояние практически в тот же временной промежуток, что и в видимом диапазоне (порядка 1 часа).

Основной процесс – **дегидратация кожи *in vivo*** в области приложения компрессии.

Схожий процесс - **дегидратация кожи *in vitro*** под действием осмотических иммерсионных оптических просветляющих агентов, который можно описать во времени следующим образом:

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

где A_D - безразмерный параметр, характеризует максимальную степень дегидратации,

τ_D - постоянная времени дегидратации, характеризующая скорость процесса.

Для *in vivo* компрессии можно говорить только о степени дегидратации кожи в результате определенной компрессии и времени τ_D дегидратации,

характеризующем скорость данного определенного процесса, а на эти величины влияют величина компрессии и размеры области ее приложения. Так, при компрессии величиной менее 100 кПа характерное время имеет величину 48.7 ± 25.3 секунд, а свыше 100 кПа 171.6 ± 39.9 секунд.

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

В ближней ИК области вода определяет не только рассеивающие свойства, но и поглощающие. При наложении внешней компрессии имеет место тенденция уменьшения коэффициента отражения кожи во всем спектральном диапазоне (рис. 12), при этом увеличение компрессии ведет к большему уменьшению коэффициента отражения (рис. 13).

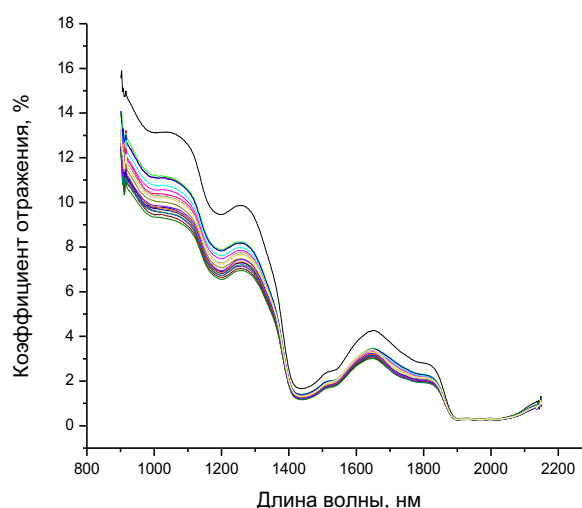


Рис. 12. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* при наложенной внешней механической компрессии величиной 108 кПа

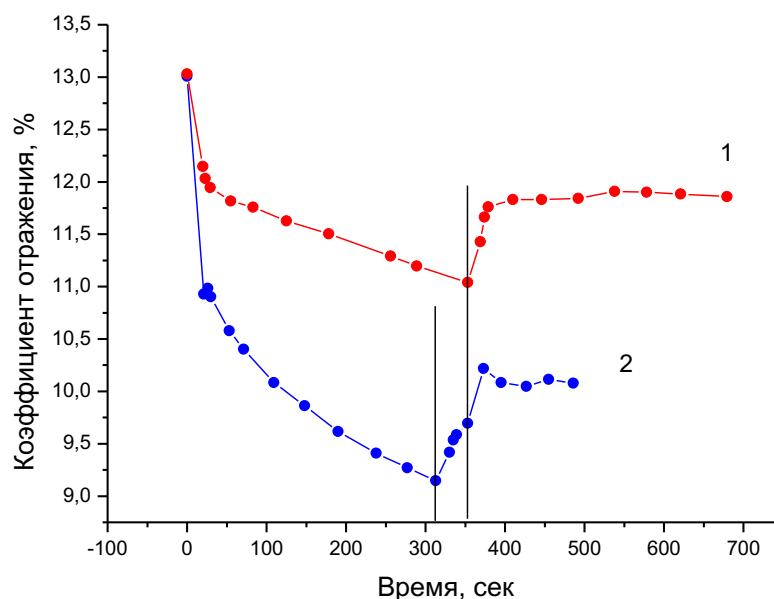


Рис. 13. Временные изменения в спектрах отражения кожи предплечья человека *in vivo* на длине волны 1070 нм при наложенной внешней механической компрессии величиной 45 кПа (1) и 108 кПа (2). Вертикальными линиями отмечено время снятия компрессии

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.

В спектральном диапазоне 1000-2000 нм увеличение компрессии ведет к уменьшению отражения. В случае использования датчика 10 мм уменьшение величины коэффициента отражения в течение времени наложения компрессии составляло 10,36 % при давлении 28 кПа, 12,89 % при давлении 50 кПа, 16,36 % при давлении 100 кПа и 21,86 % при давлении 143 кПа.

В заключительной части главы приведены результаты экспериментальных исследований спектров диффузного отражения образцов мышечной ткани коровы *in vitro*.

Образцы мышечной ткани представляли собой кусочки биоткани размером 30*30*25 мм³.

На рисунках 14 и 15 приведены спектры диффузного отражения образцов мышечной ткани, подверженной внешней механической компрессии, измеренные с использованием датчика 15.8 мм.

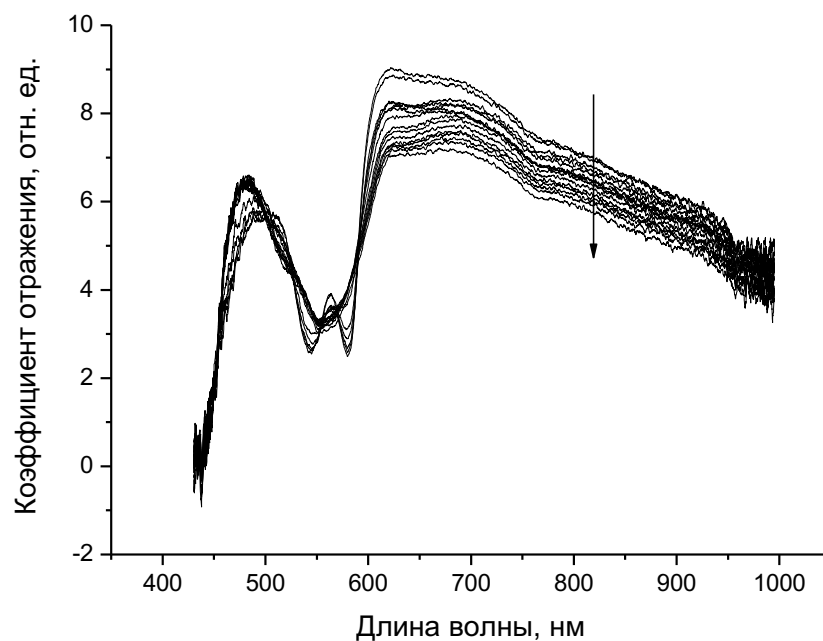


Рис. 14. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани коровы. Датчик 15.8 мм.
Стрелка указывает последовательность спектров.

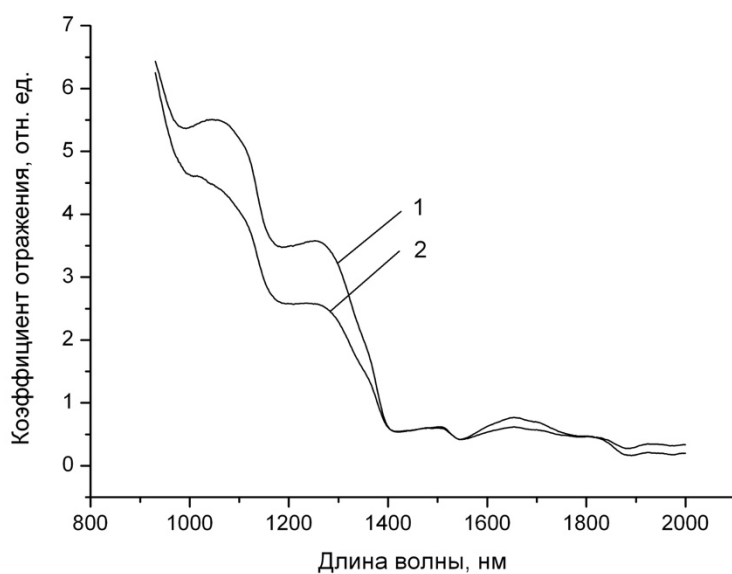


Рис.15. Спектры диффузного отражения образца мышечной ткани *in vitro* в норме (1) и в условиях компрессии (2). $p = 110$ кПа

Наложение внешней нелокальной механической компрессии величиной на мышечную ткань приводит к уменьшению коэффициента диффузного отражения мышечной ткани света в спектральном интервале 400-2000 нм, при этом интересные изменения происходят в спектральном диапазоне 500-600 нм.

В результате воздействия компрессии меняется форма провала в области 500 – 600 нм, которая определяется спектрами поглощения двух форм миоглобина, являющимся кислородосвязывающим белком скелетных мышц и мышц сердца.

Изначально в течение 6 минут в спектрах отражения проявляется миоглобин в оксигенированной форме (рис. 16), при этом контур полосы поглощения в спектре оптической плотности проявляется в диапазоне 490 – 615 нм с пиками на длинах волн 545 и 580 нм. Далее в спектрах проявляется деоксигенированная форма миоглобина (рис. 17) в диапазоне длин волн 480 – 624 нм с пиком на длине волны 551 нм.

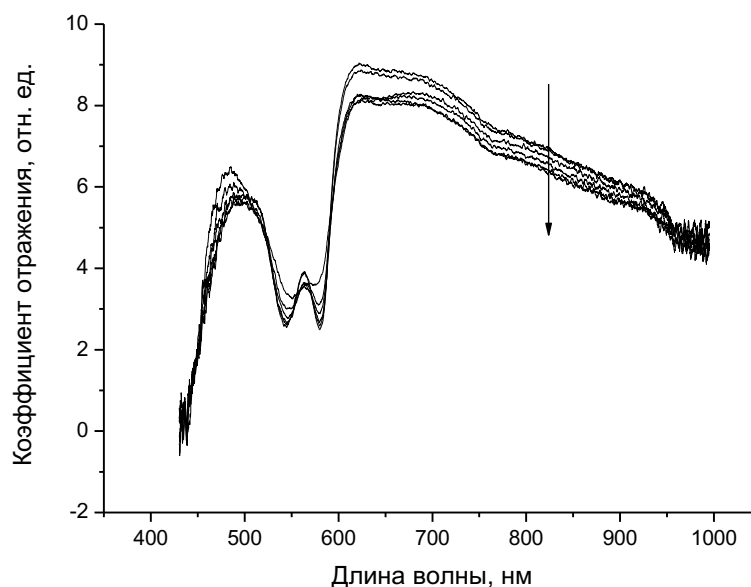


Рис. 16. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани коровы при наложении компрессии (интервал времени 0 – 5.5 минут, рис.14). Стрелка указывает последовательность спектров.

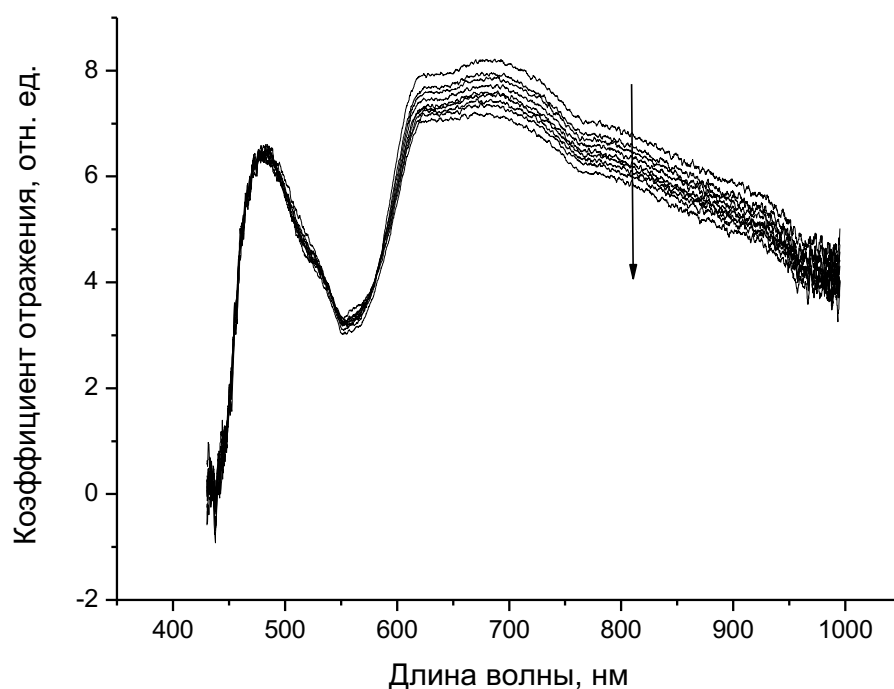


Рис. 17. Временные изменения в спектрах диффузного отражения образца мышечной ткани коровы при наложении компрессии (интервал времени свыше 5.5 минут, рис. 14). Стрелка указывает последовательность спектров.

Уменьшение коэффициента отражения образца на длине волны 560 нм и увеличение отражения на длинах волн 545 нм и 580 нм означает, что в спектрах отражения величина и форма провала изменилась, что говорит об изменении количества крови в образце и ее оксигенации при наложении на образец давления.

Количественная оценка содержания крови (гемоглобина, миоглобина) и степени оксигенации гемоглобина (миоглобина) крови в биотканях, в частности, в образцах мышечной ткани возможна по спектрам диффузного отражения биоткани в видимом диапазоне спектра с использованием выражений (2) и (3).

На рисунках 18 и 19 показана динамика содержания крови и степени оксигенации миоглобина в образцах мышечной ткани при наложении компрессии. Видно, что в случае мышечной ткани *in vitro* содержание в ней крови при наложении компрессии уменьшается.

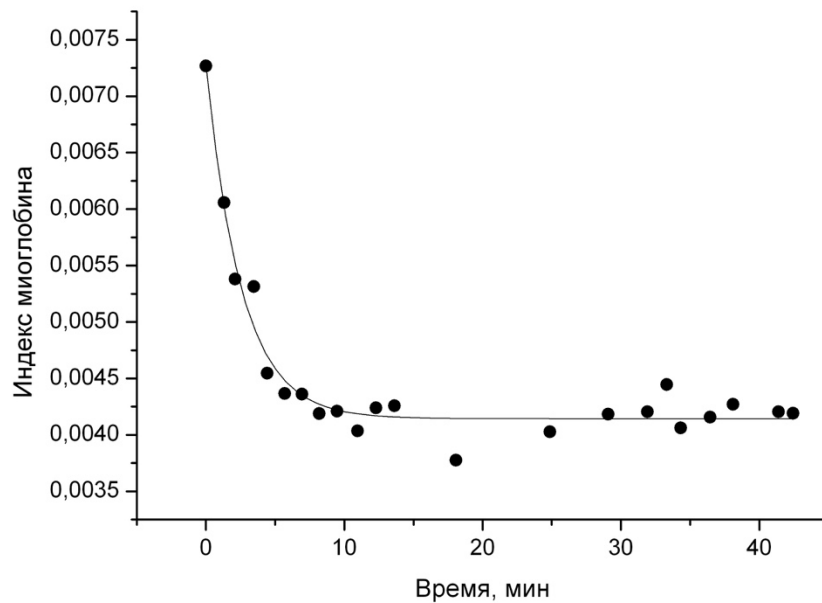


Рис. 18. Динамика индекса миоглобина крови в образце мышечной ткани *in vitro* в условиях внешней компрессии

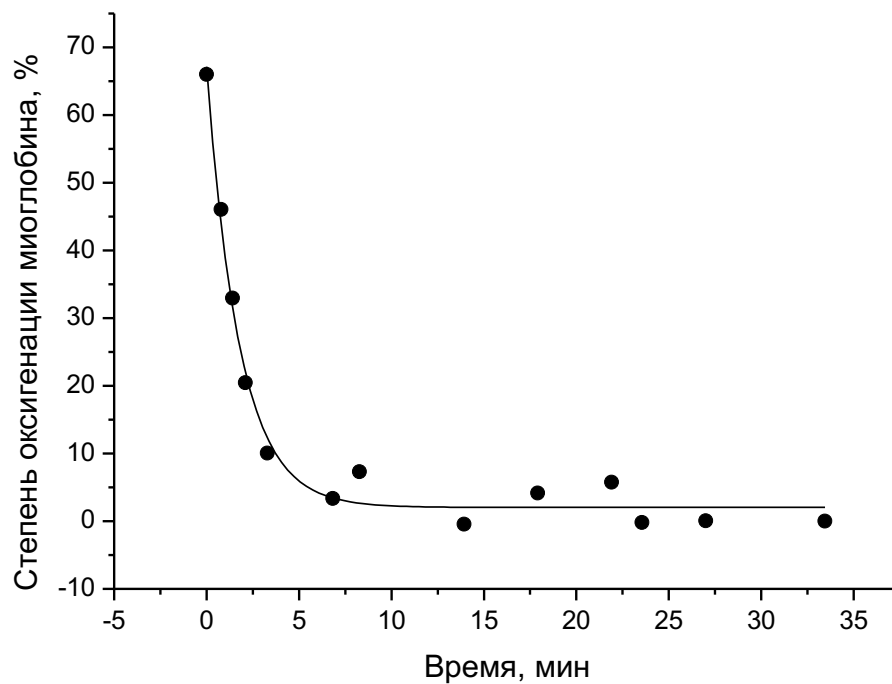


Рис. 19. Динамика степени оксигенации миоглобина крови в образце мышечной ткани *in vitro* в условиях внешней компрессии

Подобный эффект наблюдался и для кожной ткани *in vivo*, однако имеются и существенные различия: если для кожной ткани капиллярная кровь при наложении давления порядка 10^5 Па полностью удаляется из биоткани, то кровь из образцов мышечной ткани полностью не выдавливается из объема ткани, подверженного компрессии, вплоть до величины 500 кПа, при этом, что интересно, при наложении компрессии оксигенированная форма миоглобина переходит в деоксигенированную.

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

1. Причинами спектральных изменений являются изменения геометрии кожи (ее толщины и плотности) и ее физиологических свойств, следствием чего являются изменения оптических характеристик кожи. Наложение компрессии приводит к уменьшению поглощения кожи (в видимом диапазоне спектра уменьшается содержание гемоглобина крови, а в ближней ИК области уменьшается содержание воды) и уменьшению рассеяния кожи во всем диапазоне спектра 400-2000 нм, являющегося являющийся результатом вытеснения воды из области кожи, подверженной компрессии, и увеличения в этой области плотности рассеивателей.

2. Процесс стабилизации спектров диффузного отражения и параметров кожи является инерционным. Процесс стабилизации спектров происходит в течение времени порядка 3 – 5 минут в зависимости от приложенного давления и увеличивается с увеличением компрессии. Снятие внешней компрессии восстанавливает оптические и физиологические параметры кожной ткани в течение 30-50 минут.

3. В спектральной области 500-600 нм динамика спектра определяется кровенаполненностью кожи. При наложении компрессии уменьшение содержания крови в коже (индекс эритемы) происходит по экспоненциальному закону, при этом среднее время вытеснения крови из области компрессии зависит от величины приложенного давления. После

наложения компрессии уменьшение содержания крови сопровождалось уменьшением степени оксигенации содержащегося в ней гемоглобина. Уменьшение размера области наложения компрессии приводит к уменьшению времени вытеснения крови из области компрессии. Кровь вытесняется полностью из кожи при давлении порядка 100 кПа.

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. Снятие внешней компрессии восстанавливает оптические и физиологические параметры кожной ткани в течение 30-50 минут в зависимости от приложенного давления, при этом в течение первых порядка 30 секунд происходит значительное увеличение (в 2 – 3 раза по сравнению с кожей без компрессии) содержания крови (гемоглобина) с высокой (в 2 – 5 раз выше по сравнению с кожей без компрессии) степенью оксигенации, что обусловлено резким вбросом артериальной крови в объем кожной ткани, находившейся в условиях внешней компрессии.

6. Из двух процессов, определяющих величину коэффициента диффузного отражения подверженной механической компрессии кожной ткани *in vivo* в ИК области спектра, превалирующим является процесс уменьшения рассеивающих свойств кожи.

7. Отличительной особенностью поведения коэффициента отражения кожи в области спектра 600 – 900 нм после наложения компрессии является его монотонное уменьшение по двухэкспоненциальному закону. Величина приложенного давления влияет на времена быстрой и медленной релаксации коэффициента отражения: увеличение компрессии уменьшает времена релаксации. Процесс стабилизации спектров при наложении давления происходит приблизительно в течение времени до 6 минут, а снятие

внешней компрессии восстанавливает оптические и физиологические параметры кожной ткани в течение 30-50 минут.

8. В области спектра 1000 – 2000 нм изменения в спектрах диффузного отражения обусловлены процессом дегидратации областей кожи, которые подвержены компрессии. Дегидратация кожи, происходящая в результате внешней механической компрессии, увеличивается с увеличением приложенного давления. При уменьшении размера области приложения внешнего давления количество вытесненной воды увеличивается.

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.

Установлены особенности изменения оптических параметров биоткани при вариации интенсивности внешней компрессии и области ее наложения. Кровь (гемоглобин) полностью удаляется из области компрессии *in vivo* кожной ткани при наложении компрессии величиной порядка 10^5 Па, в то время как кровь (миоглобин) из мышечной ткани удаляется не полностью при наложении компрессии величиной до 500 кПа, а содержащийся в оставшейся крови миоглобин переходит в деоксигенированную форму.

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

Определены времена динамических процессов, происходящих в кожной ткани человека *in vivo* при наложении и снятии внешней механической компрессии. Процесс стабилизации спектров при наложении

давления происходит приблизительно в течение времени до 6 минут, а снятие внешней компрессии восстанавливает оптические и физиологические параметры кожной ткани в течение 30-50 минут.

Коэффициент отражения кожи в области спектра 600 – 900 нм после наложения компрессии монотонно уменьшается по двухэкспоненциальному закону (быстрая и медленная релаксация). Величина приложенного давления влияет на времена коэффициента отражения: увеличение компрессии уменьшает времена релаксации.

Практическая значимость работы

Определены времена динамических процессов, происходящих в кожной ткани человека *in vivo* при наложении и снятии внешней механической компрессии, в том числе физиологических характеристик кожи человека.

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

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

Основные положения и результаты исследований, выносимые на защиту:

1. При наложении на кожную ткань *in vivo* компрессии величиной более 10^5 Па кровь (гемоглобин) полностью удаляется из области

компрессии, в то время как из мышечной ткани кровь удаляется не полностью вплоть до компрессии величиной 500 кПа.

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

3. Коэффициент отражения кожи в области спектра 600 – 900 нм после наложения компрессии монотонно уменьшается по двухэкспоненциальному закону (быстрая и медленная релаксация). Величина приложенного давления влияет на времена коэффициента отражения: увеличение компрессии уменьшает времена релаксации.

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 14 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.; XII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Самара, 2014 г.; Ежегодная всероссийская Школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015», Саратов, 2015; 5-th International Scientific Conference «New Operational Technologies», Tomsk, Russia, 2015; XIII Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Самара, 2015 г.; Всероссийская молодежная научная школа-конференция «Практическая биофизика», Саратов, 2015 г.; Saratov Fall Meeting (SFM'15), International Symposium on Optics and Biophotonics III, Saratov, Russia, 2015; XIV Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Самара, 2016 г.; Saratov Fall Meeting (SFM'16), International Symposium on Optics and Biophotonics IV; Saratov Fall Meeting (SFM'17), International Symposium on Optics and Biophotonics V.

Публикации.

По теме работы опубликовано 6 научных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, включенных в перечень рекомендованных ВАК.

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. 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.

2. И.А. Нахаева, О.А. Зюрюкина, М.Р. Мохоммед, 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.

3. 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.

4. 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.