

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

Кафедра нелинейной физики

**Исследование иммерсионного оптического просветления кожи с  
различной степенью пигментации**

**АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ**

Студента 4 курса 411 группы

направления 03.03.01 «Прикладные математика и физика»

Факультета нелинейных процессов

**Юсуфа Адама Абдаллы**

Научный руководитель

Зав. кафедрой оптики и биофотоники

Профессор

В.В. Тучин

10.06.20

Зав. кафедрой нелинейной физики

доцент

\_\_\_\_\_

Е.Н. Бегинин

подпись, дата

Саратов 2020

## Введение

**Актуальность.** Для улучшения медицинской диагностики и терапии разработаны различные методики и подходы. Одной из таких инноваций является метод «оптического просветления», который основан на воздействии на ткань оптических просветляющих агентов (ОПА). Основная задача оптического просветления заключается в снижении светорассеяния в биологических тканях, кроме того метод может быть применен для определения скорости проникновения химических веществ в биоткани.

В настоящее время медицинская оптическая визуализация и соответственно оптическое просветление представляет для физиков новую задачу. Например, кожа обладает сильным рассеянием света в видимой и ближней инфракрасной областях, поэтому исследователи сталкиваются с проблемой транспорта зондирующего излучения через поверхностные слои биоткани. Одним из решений данной проблемы является снижение светорассеяния путем иммерсионного просветления биотканей.

Большое количество международных конференций по биомедицинской оптике и биофотонике, таких как SPIE Photonics West (Сан-Франциско, США) или SPIE Европейский конгресс по биомедицинской оптике (Страсбург, Франция), свидетельствует об актуальности исследований в этой области. С каждым годом повышается научный интерес к информации об оптических свойствах тканей. Новые методы могут дать дополнительную информацию к данным, полученным традиционными методами. Некоторые из разрабатываемых методов направлены на то, чтобы выявить редкие баллистические фотоны, которые не были учтены из-за сильного рассеяния света [1].

В данной работе используется спектроскопия диффузного отражения для регистрации спектров оптически неоднородных (рассеивающих) систем и оптическая когерентная томография (ОКТ) для исследования кинетики взаимодействия просветляющего агента с кожей. Основным достоинством метода ОКТ является то, что он позволяет непрерывно, без переустановок образца, производить мониторинг как геометрических параметров ткани, так и ее оптических параметров, в частности среднего группового показателя преломления, в ходе иммерсионного просветления [2].

**Целью дипломной работы является:** Исследование оптических свойств кожи человека с различной степенью пигментации и изучение влияния оптического иммерсионного агента на кожу с высоким содержанием меланина с помощью оптических методов исследования – спектроскопии диффузного отражения и оптической когерентной томографии.

**Структура и объем работы.** Выпускная квалификационная работа состоит из введения, основной части, состоящей из теоретического и экспериментального раздела, каждый раздел состоит из 3 подразделов, заключения и списка используемой литературы. Всего в работе 55 страниц.

## Основное содержание работы

В **первом разделе** теоретической части описаны структура и оптические свойства кожи. Оптические характеристики каждого из слоев кожи определяют те или иные хромофоры, например, оптические характеристики эпидермиса считаются близкими свойствам меланина. Пройдя часть потока оптического излучения попадает в дерму, где поглощается преимущественно гемоглобином разных форм, присутствующим в поверхностном и глубинном слоях дермы. Не поглощенное излучение диффузно отражается от коллагена, присутствующего в остальной части дермы. В обратном направлении отраженный поток оптического излучения проходит через слои гемоглобина и меланина, и вновь частично поглощаясь. Оптические свойства гиподермы определяются жировой тканью, т.е. в основном триглицеридами (поглощение и показатель преломления) и структурой адипоцитов (рассеяние) [1,2].

**Второй раздел** посвящен методике оптического просветления кожи. Дан литературный обзор по применению оптического просветления биотканей в современных научных исследованиях. Перечислены основные применяемые оптические просветляющие агенты, их классификация и физико-химические свойства.

В **третьем разделе** подробно описаны методы оптического просветления кожи *ex vivo* и *in vivo*. Показаны методики исследования кожи при применении метода спектроскопии диффузного отражения и оптической когерентной томографии.

В **аннотации** к экспериментальной части кратко изложено содержание проделанной научной работы.

Оптические просветляющие методы помогают увеличить глубину проникновения излучения и улучшить визуализацию биологических образцов, путем уменьшения рассеяния света за счет выравнивания оптических неоднородностей в образце [3, 4]. Это может быть достигнуто либо с помощью физических методов (таких как согласование показателей преломления), либо химическими методами (такими как удаление рассеивателей) [2, 5-6].

В разделе **Материалы и методы** подробно описана методика выполненных измерений. В данной работе наблюдалось изменение оптических характеристик темной кожи (тип VI по Фитцпатрику) с высокой концентрацией меланина при воздействии ОПА - раствора 70% глицерина с 5% ДМСО и 25% воды. Раствор ОПА помещали в кювету (диаметр 2 см) и наносили на кожу в области предплечья. Общее время воздействия ОПА на кожу составляло 90 минут.

Измерение спектров отражения:

Были использованы спектрометр USB4000-Vis-NIR (Ocean Optics, USA), спектральный диапазон 400-1000 нм, оборудованный волоконным оптическим датчиком QR400-7-Vis/NIR (Ocean Optics, USA) и интегрирующей сферой ISP-80-8-R (Ocean Optics, USA), а также спектрометр NIRQuest 512-2.2 (Ocean Optics, USA), спектральный диапазон 900-2000 нм, оборудованный волоконным оптическим датчиком QR400-7-Vis/NIR (Ocean Optics, USA) и интегрирующей сферой ISP-80-8-R (Ocean Optics, USA). В качестве источника света была использована галогенная лампа HL-2000 (Ocean Optics, США)

ОКТ измерение:

Для визуализации областей локализации биоткани использовался спектральный оптический когерентный томограф Thorlabs OCP930SR

(Thorlabs, США) с центральной длиной волны излучения 930 нм, мощностью излучения 2 мВт, шириной спектра излучения на полувысоте 100 нм, продольным разрешением 6.2 мкм на воздухе, поперечным разрешением 9.6 мкм и длиной области сканирования 2 мм.

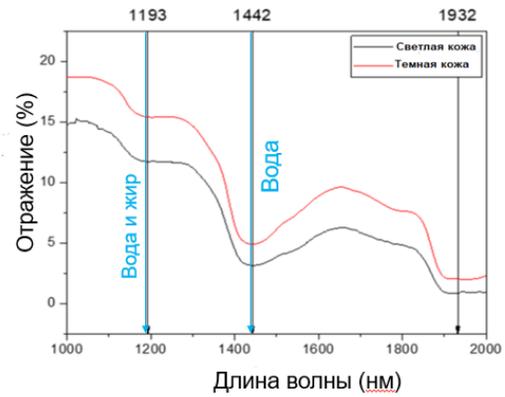
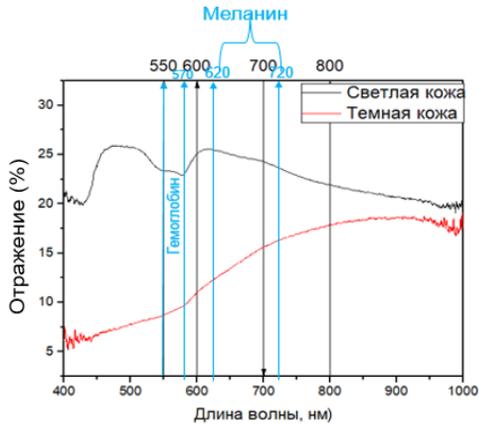
## **Результаты измерений и их обсуждение**

На рисунках 1 (а) и 1(б) проведены результаты измерения спектра отражения, то есть зависимости коэффициентов отражения от длины волны и на рисунках 2(а) и 2(б) временные зависимости. Динамика спектров диффузного отражения кожи в диапазоне длин волн 500–600 нм обусловлена характером изменения рассеивающих и поглощающих свойств основных хромофоров кожи, определяющими спектр диффузного отражения кожи в видимом диапазоне спектра, которыми являются пигмент меланин и гемоглобин крови, содержащейся в дерме. По этой причине мы наблюдаем на спектре отражения пик гемоглобина в диапазоне 500-600 нм и чуть дальше в 600-700 хвост пика меланина, который лежит в УФ диапазоне. Зависимости в БИК обусловлены другими хромофорами, такими как вода и липиды.

Воздействие на кожу просветляющего агента приводит к уменьшению коэффициента отражения кожи во всей спектральной области от 500 до 2000 нм. Мы рассчитали эффективность оптического просветления как отношение разницы в коэффициентах отражения до просветления и после просветления к начальному значению коэффициента отражения, и она составила 16,9% в видимой области и 2,9% в БИК области после 90 мин воздействия агента.

На рисунке 1 (а) представлены спектры отражения добровольцев со светлой и темной кожей в диапазоне 400-1000 нм. Для светлой кожи на длине волны 400 нм коэффициент отражения составляет примерно 20%, в то время

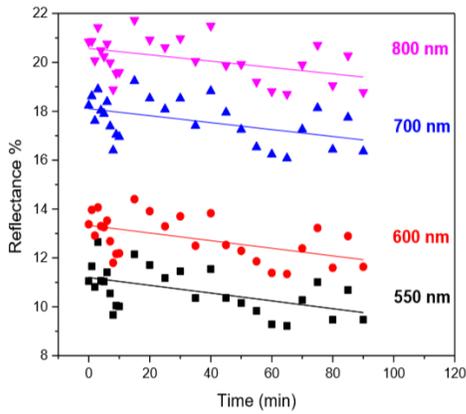
как для темной кожи примерно 7%. Причиной этого является то, что темная кожа содержит больше меланина, чем светлая. Кривые сближаются и далее пересекаются в БИК области спектра, так как в данной спектральной области вклад меланина или гемоглобина очень мал именно в поглощение. При всей важности влияния в БИК области таких компонентов ткани, как вода и липиды, что хорошо видно по отчетливым линиям поглощения, наличие меланина в темной коже может способствовать более высокому показателю преломления и соответственно отражению темной кожи. Спектр диффузного отражения кожи характеризуется монотонным увеличением коэффициента отражения с ростом длины волны, при этом специфические полосы поглощения гемоглобина (405-430 нм, 535-575 нм) определяют локальные минимумы коэффициента отражения кожи в данных спектральных областях. Спектральной областью для определения содержания меланина светлой кожи является область от 620 нм до 720 нм, а содержания воды в тканях светлой и темной кожи - полоса воды 1442 нм.



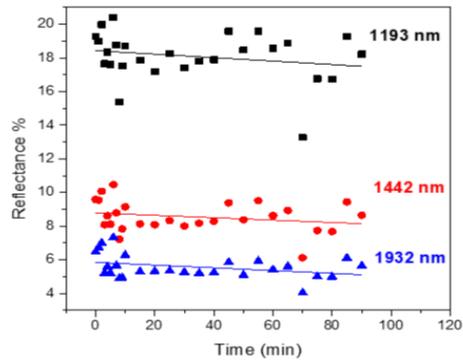
а

б

Рисунок 1- Спектр отражения кожи человека: а) в видимой области; б) в БИК области (черные линии- выделенные длины волн для вычислений ЕОС; синие линии - основной хромофор)



а



б

Рисунок 2- Временная зависимость диффузного отражения кожи человека с высоким содержанием меланина: а) в видимой области; б) в БИК области

На рисунке 2(а) и 2(б) показана временная зависимость коэффициента отражения после взаимодействия оптического просветляющего агента с кожей на характерных линиях поглощения кожи.

Оптическое просветление позволяет эффективно уменьшить диффузное отражение света от кожи. В данной работе взаимодействие кожи с ОПА приводило к увлечению эффективности просветления, как видно на графиках. Воздействие ОПА увеличивает пропускание примерно на 20% (см таблицу 1).

Эффективность оптического просветления вычислялась по формуле:

$$EOC = \left( \frac{R_0 - R_{OC}}{R_{OC}} \right) * 100\%$$

где  $R_0$  – интенсивность отражения до просветления,  $R_{OC}$  – интенсивность отражения после просветления.

**Таблица 1.** Эффективность оптического просветления темной кожи

Длина волны (нм)	500	600	700	800	1193	1442	1932
ЕОС (%)	19,6	18,0	13,0	10,9	2,1	3,7	4,3

На рисунке 3 представлены ОКТ-изображения (B-Scan) кожи добровольца с темной кожей до оптического просветления (а) и потом в различные моменты времени после начала просветления. Хорошо видна структура ткани и увеличение глубины проникновения света в ткань в результате действия ОПА на кожу, то есть как изображение меняется во времени.

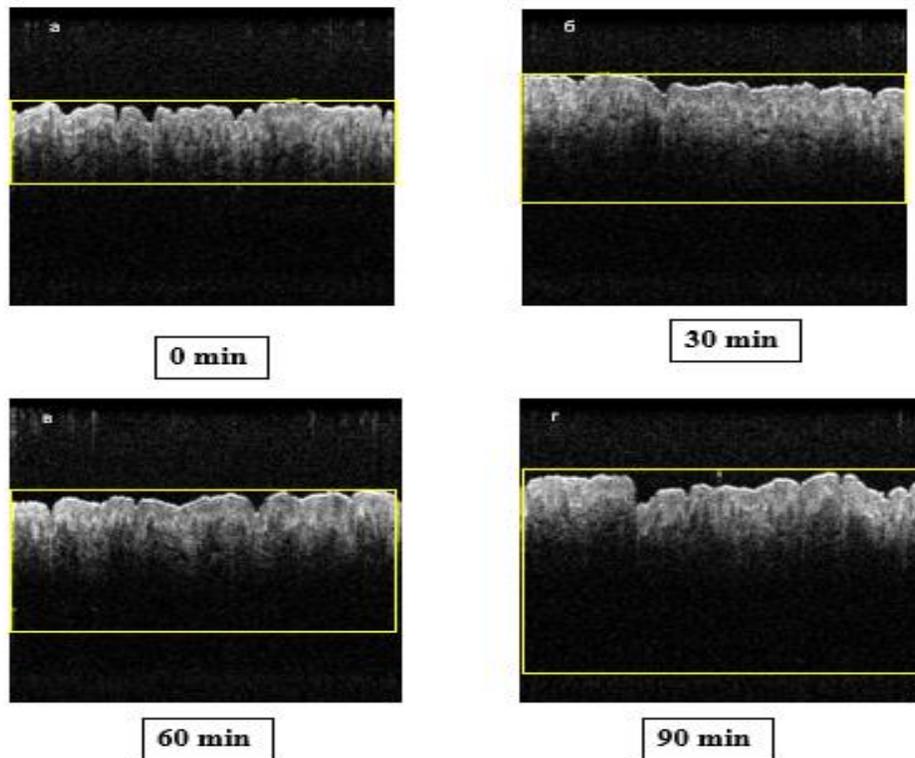


Рисунок.3- В-скан изображения кожи человека с высоким содержанием меланина, полученные с помощью ОКТ: а (0 мин), б (30 мин), в (60 мин), г (90мин)

Для оценки глубины проникновения излучения в биологическую ткань при применении метода ОКТ используется понятие коэффициента затухания. Коэффициент затухания — это сумма коэффициентов поглощения и рассеяния. Он может быть определен по наклону А-сканов, усредненных по В-скану сигнала ОКТ, измеренного для области исследования. В поверхностных слоях многих тканей может быть адекватно использована модель однократного рассеяния (single-scattering mode -SSM). В соответствии с SSM измеряемый сигнал в системе ОКТ определяется как

$$I(z) \approx \sqrt{I_0^2 \exp(-2\mu_t z)},$$

где

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s,$$

$i(z)$  – сигнал ОКТ и  $z$  – глубина зондирования ткани.

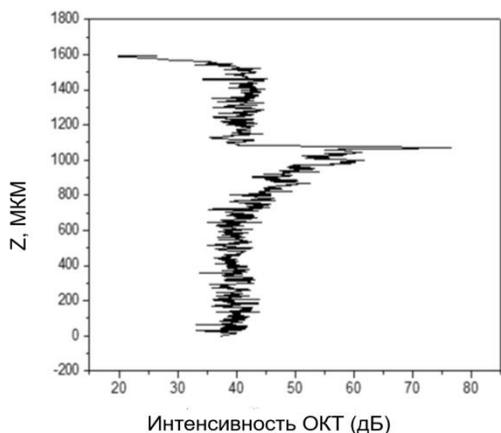


Рисунок 4 - Профиль интенсивности обратного рассеяния кожи человека с высоким содержанием меланина

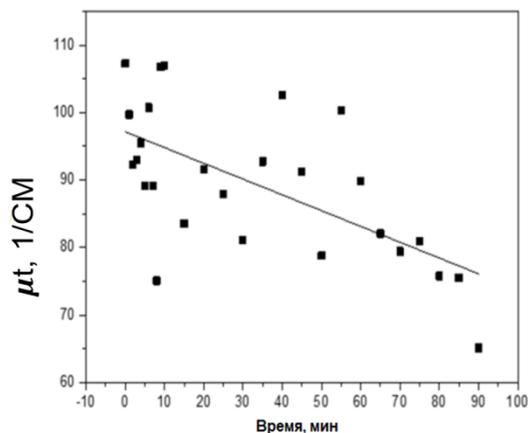


Рисунок 5 - Зависимость коэффициента затухания при мониторинге оптического просветления кожи человека с высоким содержанием меланина

На рисунке 5 представлен график зависимости коэффициента ослабления  $\mu_t$ , при использовании ОПА от времени, который описывает глубину проникновения пучка света в кожу как  $\delta = 1/\mu_t$ , и показывает насколько коэффициент ослабления уменьшился с  $\sim 98 \text{ см}^{-1}$  в начале и до  $\sim 79 \text{ см}^{-1}$  через 90 мин.

**В заключении** дан перечень основных выводов, полученных в результате проведенных исследований, и приводится краткая оценка основных результатов, полученных при выполнении данной работы.

## Выводы

В этой работе мы изучали методику оптического просветления и проанализировали полученные данные. Выполнено сравнение оптических свойств кожи с высоким содержанием меланина и светлой кожи *in vivo* методом спектроскопии диффузного отражения. Два разных оптических метода (Спектроскопия диффузного отражения и Оптическая когерентная томография) были использованы для исследования оптического просветления кожи с высокой пигментацией. В ходе работы установлена эффективность применения раствора 70% глицерина, 5% ДМСО (Диметилсульфоксид) и 25% воды в качестве просветляющего агента, она составила в среднем 16,9% в видимой области и 2,9% в области БИК после 90 мин воздействия ОПА. Метод ОКТ также показал эффективность применения ОП для темной кожи, так как коэффициент затухания снижался на 21% на длинах волн 930 ( $\pm 50$ ) нм. В этой работе также показано уменьшение коэффициента отражения кожи во всей спектральной области от 500 до 2000 нм и получены временные зависимости коэффициента отражения. Применение оптических просветляющих агентов приводит к увеличению глубины оптического зондирования кожи, таким образом, улучшая визуализацию биологических тканей. Таким образом, можно сделать главный вывод о возможности и перспективности использования метода иммерсионного оптического просветления для кожи с высокой степенью пигментации, что было показано впервые в настоящей работе в *in vivo* исследованиях на добровольцах.

## Список литературы

- 1 Тучин, В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / В.В. Тучин. М.: ФИЗМАТЛИТ, 812 с. (2012)
- 2 Э. А. Генина, А. Н. Башкатов, Ю. П. Синичкин, В. В. Тучин Оптическое просветление кожи под действием глицерина: исследование *ex vivo* и *in vivo*. Оптика и спектроскопия, том 109, № 2, с. 256–263 (2010)
- 3 Bashkatov A.N., Korolevich A.N., Tuchin V.V., Sinichkin Y.P., Genina E.A., Stolnitz M.M., Dubina N.S., Vecherinski S.I., Belsley M.S. In vivo investigation of human skin optical clearing and blood microcirculation under the action of glucose solution// Asian J. Phys. V. 15. № 1. P. 1–14. (2006)
- 4 E. A. Genina, A. N. Bashkatov, A. A. Korobko, E. A. Zubkova, V. V. Tuchin, I. Yaroslavsky, and G. B. Altshuler, Optical clearing of human skin: comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin, J. Biomed. Opt. 13(2), 0211021–8 (2008)
- 5 D. Zhu, K.V. Larin, Q. Luo, and V.V. Tuchin, Recent progress in tissue optical clearing, Laser Photonics Rev. 7(5), 732–757 (2013).
- 6 М.Е. Швачкина, Д.Д. Яковлев, Е.Н. Лазарева, А.Б. Правдин, Д.А. Яковлев, Мониторинг процесса иммерсионного оптического просветления коллагеновых волокон с помощью оптической когерентной томографии, Оптика и спектроскопия, 2019, том 127, вып. 2