



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΣΙΚΗΣ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Η επίδραση της κρυοχειρουργικής στις οπτικές
ιδιότητες του δέρματος με χρήση αισθητήρα
οπτικών ιών

Κατερίνα Καλυβιώτη

Επιβλέπων Καθηγητής: Οικιάδης Αριστείδης, Επίκουρος Καθηγητής,
Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

ΙΩΑΝΝΙΝΑ

Οκτώβριος 2022

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 2022

Η παρούσα Εργασία καθώς και τα αποτελέσματα αυτής, αποτελούν συνιδιοκτησία του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και της φοιτήτριας, ο καθένας από τους οποίους έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης, αναπαραγωγής και αναδιανομής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και το συγγραφέα της Εργασίας.



UNIVERSITY OF IOANNINA
PHYSICS DEPARTMENT

Master Thesis

The effect of cryosurgery on skin optical
properties using fibre optic sensor

Katerina Kalyvioti

Supervisor: Aristidis Ikiades

IOANNINA
October 2022

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Οικιάδης Αριστείδης, Επίκουρος Καθηγητής, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ρίζος Ιωάννης, Καθηγητής, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Κουρκουμέλης Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την παρούσα διπλωματική εργασία ολοκληρώνονται οι σπουδές μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών Γενικής Φυσικής, του Τμήματος Φυσικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Επιθυμώ ιδιαίτερα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον επιβλέπων καθηγητή της εργασίας κ. Οικιάδη Αριστείδη καθώς και στον καθηγητή κ. Κουρκουμέλη Νικόλαο για την επιστημονική και συμβουλευτική καθοδήγηση που μου παρείχαν σε όλα τα στάδια εκπόνησης της εργασίας μου, για την συνεχή πρακτική και ηθική υποστήριξη καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου επέδειξαν.

Επίσης, οφείλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Καθηγήτρια κα. Καντή Παναγιώτα, στον Καθηγητή κ. Ρίζο Ιωάννη, στον Καθηγητή κ. Οικονόμου Αθανάσιο και στον Καθηγητή κ. Εμφιετζόγλου Δημήτριο, για την αμέριστη βοήθεια τους καθώς θεωρώ ότι χωρίς τη συμβολή αλλά και την καίρια παρέμβαση τους σε πρακτικά ζητήματα, η πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας θα ήταν αδύνατη.

Επιπρόσθετα, οφείλω να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Καμαράτο Ματθαίο, τον κ. Μπουρλίνο Αθανάσιο, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Κολάση Χαράλαμπο, τον Καθηγητή κ. Μπάκα Θωμά και τον Καθηγητή κ. Δέδε Αθανάσιο, των οποίων η συμβολή ήταν καθοριστική σε όλη την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Ευχαριστώ επιπλέον, όλους τους καθηγητές του Τμήματος, που φρόντισαν με την σειρά τους σε όλα τα ακαδημαϊκά μου χρόνια, να με εφοδιάσουν με τις κατάλληλες γνώσεις και δεξιότητες ώστε να φέρω εις πέρας την μεταπτυχιακή μου εργασία.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένειά μου αλλά και τους στενούς φίλους μου, για τη συμπαράσταση, τη στήριξη και την ενθάρυνσή τους στις επιλογές μου να ακολουθώ πάντα τα όνειρα μου και να εκπληρώνω τους στόχους μου.

*Αν στη ζωή σου δεν υπάρχει ευχαρίστηση, πρέπει να
υπάρχει τουλάχιστον κάποιος Στόχος...*

Διογένης

Περίληψη

Η ανάπτυξη των οπτικών μεθόδων στη σύγχρονη ιατρική ειδικά στους τομείς της διάγνωσης, της θεραπείας και της χειρουργικής έχει ενθαρρύνει την διερεύνηση των οπτικών ιδιοτήτων διαφόρων βιολογικών ιστών. Η ικανότητα του φωτός να διεισδύει σε έναν ιστό και να εναποθέτει ενέργεια μέσω των οπτικών ιδιοτήτων απορρόφησης του ιστού είναι το κλειδί για όλες τις θεραπευτικές εφαρμογές. Στις θεραπευτικές χρήσεις περιλαμβάνονται η κρυοχειρουργική / κρυοθεραπεία (cryosurgery / cryotherapy) που αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική ψύξης - απόψυξης για την ανανέωση των ιστών ή την καταστροφή των παθολογικών αλλοιώσεων, εφαρμόζοντας τοπική ταχεία ψύξη. Παρ' όλα αυτά, η διαδικασία εφαρμογής της εξακολουθεί να βασίζεται στην υποκειμενική «ειδική γνώση» (κλινική εμπειρία) των ιατρών, αφού μέχρι και σήμερα δεν υπάρχει η δυνατότητα παρακολούθησης της όποιας θεραπευτικής παρέμβασης σε πραγματικό χρόνο.

Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων του δέρματος στα πλαίσια της τεχνικής της κρυοχειρουργικής με τη χρήση αισθητήρα οπτικών ινών καθώς και στην αξιοποίηση των οπτικών ιδιοτήτων διάδοσης, σκέδασης και φασματοσκοπίας σε κύκλους ψύξης-απόψυξης *ex vivo* χοιρινού δέρματος (porcine skin), αλλά και *in vivo* ανθρώπινου δέρματος. Επιπρόσθετα, επιχειρείται η ανάπτυξη ενός αριθμητικού μοντέλου βασικών αρχών που προσδιορίζει την εξάρτηση σε πραγματικό χρόνο του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία κατά την διαδικασία της κρυοχειρουργικής.

Λέξεις κλειδιά: αισθητήρας οπτικών ινών, οπτικές ιδιότητες δέρματος, συντελεστής σκέδασης, συντελεστής απορρόφησης, ενεργός συντελεστής σκέδασης, σκέδαση Rayleigh, σκέδαση Mie, μοντέλο Kubelka Munk, κρυοχειρουργική

Abstract

The development of optical methods in modern medicine in the fields of diagnosis, treatment and surgery has encouraged the investigation of the optical properties of various biological tissues. The ability of light to penetrate a tissue and deposit energy through the optical absorption properties of the tissue is the key to all therapeutic applications. Therapeutic uses include cryosurgery / cryotherapy which is a widely used freezing - thawing technique for tissue regeneration or destruction of pathological lesions by applying localized rapid cooling. However, the process of its implementation is still based on the subjective special knowledge (clinical experience) of doctors, since until today there is no possibility of monitoring any therapeutic intervention in real time. The present work aims to study the optical properties of skin in the context of cryosurgery using an optical fibre sensor and to exploit the optical properties of propagation, scattering and spectroscopy in freezing-thawing cycles of both *ex vivo* porcine skin and *in vivo* human skin. In addition, an attempt is made to develop a numerical model of basic principles that determines the real-time dependence of the reduced scattering coefficient on wavelength and temperature during the cryosurgery procedure.

Key Words: fiber optic sensor, optical properties of skin, scattering coefficient, absorption coefficient, reduced scattering coefficient, Rayleigh scattering, Mie scattering, Kubelka Munk model, cryosurgery

Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή	1
2	Οπτικές ιδιότητες βιολογικών ιστών. Θεωρητικό Υπόβαθρο και Βασικές Έννοιες	5
2.1	Αλληλεπίδραση του φωτός με τους βιολογικούς ιστούς	5
2.2	Ανάλυση οπτικών ιδιοτήτων των ιστών	9
2.2.1	Δείκτης διάθλασης ιστών	11
2.2.2	Νόμος Beer-Lambert	12
2.2.3	Απορρόφηση και συντελεστής απορρόφησης μ_a	15
2.2.4	Σκέδαση και συντελεστής σκέδασης μ_s	20
2.2.5	Συνάρτηση σκέδασης $p(\vartheta)$ και ανισοτροπία g	27
2.2.6	Ενεργός συντελεστής σκέδασης μ'_s	31
2.2.7	Βάθος διείσδυσης δ	33
2.2.8	Ολικός συντελεστής εξασθένησης μ_t	34
2.2.9	Οπτικό βάθος β	34
3	Θεωρητικό Υπόβαθρο Μελέτης και Πειραματικό Πλαίσιο διερεύνησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης του ανθρώπινου δέρματος	35
3.1	Ανατομία του δέρματος	35
3.2	Εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης μ'_s από το μήκος κύματος λ	37
3.3	Η οπτική του ανθρώπινου δέρματος	51
3.3.1	Οπτικό μοντέλο δέρματος	51
3.3.2	Μοντέλο Kubelka Munk	53
3.4	Πειραματική επαλήθευση βασικών θεωρητικών σχέσεων	56
4	Βασικές έννοιες Κρυοχειρουργικής	59
4.1	Εισαγωγή στην Κρυοχειρουργική	59
4.2	Πειραματική Διάταξη	63
4.2.1	Οπτικές ίνες	63
4.2.2	Οπτικός αισθητήρας	66
4.2.3	Βαθμονόμηση και περιγραφή της διαδικασίας μέτρησης	67

5	Ανάλυση και Επεξεργασία δεδομένων του μ'_s σε παγωμένο και μη παγωμένο δέρμα μέσω χρήσης αισθητήρα οπτικών ινών	69
5.1	Προσδιορισμός της χρονικής εξάρτησης της θερμοκρασίας του δείγματος	69
5.2	Εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε δείγμα δέρματος χοίρου	72
5.3	Εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε δείγμα ανθρώπινου δέρματος	80
5.4	Σύγκριση του $\mu'_s(\lambda, T)$ στο ίδιο θερμοκρασιακό εύρος σε δείγματα δέρματος ex vivo και in vivo	88
6	Συμπεράσματα	91
	Βιβλιογραφία	93

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Στη σύγχρονη ιατρική και συγκεκριμένα στους τομείς της διάγνωσης, της θεραπείας και της χειρουργικής η ανάπτυξη οπτικών μεθόδων έχει συμβάλλει στην διερεύνηση των οπτικών ιδιοτήτων διαφόρων βιολογικών ιστών [1]. Η ικανότητα του φωτός να διαπερνά έναν ιστό, όταν εξετάζεται το φως που λαμβάνεται μετά την σκέδαση του, αποτελεί το θεμέλιο για πολλές διαγνωστικές εφαρμογές. Η δυνατότητα του φωτός να διεισδύει σε έναν ιστό και να εναποθέτει ενέργεια μέσω των οπτικών ιδιοτήτων απορρόφησης του ιστού είναι το κλειδί για όλες τις θεραπευτικές εφαρμογές [2]. Παραδείγματα διαγνωστικής χρήσης είναι η παρακολούθηση της οξυγόνωσης του αίματος και του μεταβολισμού των ιστών, η παλμική οξυμετρία, η ανίχνευση του καρκίνου (in vitro) με φθορισμό και φασματοφωτομετρικές μεθόδους και διάφορες τεχνικές που προτάθηκαν πρόσφατα για την οπτική απεικόνιση. Οι θεραπευτικές χρήσεις περιλαμβάνουν εφαρμογές στη χειρουργική με laser, στην κρυοχειρουργική, στην κρυοθεραπεία, στην αγγειοπλαστική και στη φωτοδυναμική θεραπεία [1,3].

Για τις εφαρμογές αυτές, η γνώση των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών έχει μεγάλη σημασία για την ερμηνεία και την ποσοτικοποίηση των διαγνωστικών δεδομένων και για την πρόβλεψη της κατανομής του φωτός αλλά και της απορροφούμενης δόσης για θεραπευτική χρήση. Επιπλέον, η γνώση αυτή είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη νέων οπτικών τεχνολογιών φωτοδυναμικής και φωτοθερμικής θεραπείας, οπτικής τομογραφίας, οπτικής βιοψίας κ.λπ. Ως εκ τούτου, με τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων ενός ιστού γίνεται το πρώτο βήμα για τον σχεδιασμό κατάλληλων μηχανημάτων ανίχνευσης αλλά και ερμηνείας των μετρήσεων που λαμβάνονται, ώστε να προκύψει μία διάγνωση ή να σχεδιαστούν θεραπευτικά πρωτόκολλα. Το δεύτερο βήμα είναι να χρησιμοποιηθούν οι οπτικές ιδιότητες σε ένα απλοποιημένο μοντέλο μετάδοσης φωτεινής ενέργειας με το οποίο θα προβλεφθεί η κατανομή του φωτός και η αντίστοιχη εναπόθεση της ενέργειάς του [2].

Είναι πιο χρήσιμο να κατανοηθεί η αναμενόμενη τυπική συμπεριφορά των οπτικών ιδιοτήτων, και να προβλεφθεί εκείνη η διακύμανση στη σύσταση του ιστού που δίνει τις οπτικές ιδιότητες του ιστού σε οποιοδήποτε επιθυμητό μήκος κύματος.

Οι γενικές εξισώσεις για τη σκέδαση αλλά και για την απορρόφηση, επιτρέπουν τον υπολογισμό των αναμενόμενων οπτικών ιδιοτήτων σε σχέση με το μήκος κύματος του φωτός, για βιολογικούς ιστούς με διαφορετικό περιεχόμενο σε χρωμοφόρα συστατικά και χαρακτήρα πολύπλοκης δομής [1,2,4].

Η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος μπορεί να περιγραφεί με ξεχωριστές συνεισφορές της σκέδασης Rayleigh και της σκέδασης Mie σε

ένα μήκος κύματος αναφοράς. Συγκεκριμένα, οι παράμετροι $a' = \mu'_s(\lambda_{reference})$ και $a = \mu'_s(\lambda_{reference})$ ενώ η παράμετρος b χαρακτηρίζει την εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος λ και είναι γνωστή ως ισχύς σκέδασης. Για σκέδαση Rayleigh η παράμετρος $b = 4$ ενώ για σκέδαση Mie η παράμετρος f_{Mie} εκφράζει το ποσοστό συνεισφοράς της σκέδασης Mie και b_{Mie} αποτελεί την ισχύ σκέδασης Mie [2].

Οι παράμετροι αυτοί μπορούν να προσδιορίσουν την εξάρτηση από το μήκος κύματος των οπτικών ιδιοτήτων ενός ιστού και να οδηγήσουν στο σχεδιασμό συσκευών καθώς επίσης διαγνωστικών ή και θεραπευτικών πρωτοκόλλων [2].

Η εξέλιξη στη σύγχρονη κρυογονική τεχνολογία με την υγροποίηση του αζώτου και του διοξειδίου του άνθρακα, καθώς και η βιομηχανική παραγωγή και αποθήκευση υγρών ψυκτικών μέσων, επέτρεψαν την ανάπτυξη κρυοβιολογίας και την χρήση εξαιρετικά χαμηλών θερμοκρασιών στην ιατρική [5]. Μια από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές ψύξης-απόψυξης για την ανανέωση των ιστών ή την καταστροφή των παθολογικών αλλοιώσεων, εφαρμόζοντας τοπικά ταχεία ψύξη αποτελεί η κρυοχειρουργική ή κρυοθεραπεία (cryosurgery/cryotherapy). Συγκεκριμένα, η κρυοθεραπεία αναφέρεται σε διάφορες θεραπείες που αποσκοπούν στη μείωση της θερμοκρασίας της επιφάνειας του σώματος χωρίς καταστροφή ιστού, ενώ στην κρυοχειρουργική ασθενείς ιστοί καταστρέφονται μέσω της κατάψυξης. Η αντίδραση του βιολογικού ιστού σε χαμηλές θερμοκρασίες εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τη μέθοδο εφαρμογής, το χρόνο έκθεσης, τη μέθοδο και το ρυθμό απώλειας θερμότητας, τον ψυχρό αέρα και τα χαρακτηριστικά και την ηλικία των ατόμων [3, 5].

Υστερα από μια διαδικασία ψύξης-απόψυξης ο ιστός θα αλλάξει σταδιακά με την πάροδο του χρόνου, λόγω τριών διαδοχικών αλλά και αλληλοεπικαλυπτόμενων μηχανισμών (φυσική φάση, αγγειακή φάση και ανοσολογική-φλεγμονώδη φάση). Αναλυτικότερα, στην αρχική «φυσική φάση» η νέκρωση των κυττάρων είναι άμεσο αποτέλεσμα της έκθεσης του ιστού στην ιδιαίτερα χαμηλή θερμοκρασία ($< -50^\circ\text{C}$), με συνέπεια τον σχηματισμό ενδοκυττάρων καταστροφικών μικροκρυστάλλων και μικροφουσαλίδων. Επιπλέον, ο σχηματισμός των μικροκρυστάλλων και μικροφουσαλίδων μπορεί να συμβεί και μέσω των φαινομένων όσμωσης κατά την απόψυξη με αποτέλεσμα την διάσπαση των κυττάρων. Κατά την «αγγειακή φάση» η βλάβη στον ιστό επιτείνεται σαν συνέπεια διαταραχών στη ροή του αίματος και τέλος κατά την «ανοσολογική - φλεγμονώδη φάση», φλεγμονώδεις διεργασίες πυροδοτούνται από τον κρύο-τραυματισμό, με συνέπεια το ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίζει τα τραυματισμένα κύτταρα, να τους επιτίθεται και να τα καταστρέφει. Η τελευταία αυτή φάση μπορεί να διαρκέσει αρκετές εβδομάδες και θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική στην θεραπεία καρκινικών όγκων [3].

Επειδή οι κρυοχειρουργικές τεχνικές είναι λιγότερο επεμβατικές και έχουν χαμηλότερη νοσηρότητα σε σύγκριση με τη χειρουργική εκτομή, είναι σημαντικό να κατανοηθούν οι μηχανισμοί της καταψύξεως των κυττάρων και ο έλεγχος των θερμικών παραμέτρων. Έτσι η κλινική κρυοχειρουργική θα έχει την δυνατότητα παρακολούθησης των θεραπευτικών παρεμβάσεων σε πραγματικό χρόνο και δε θα βασίζεται μόνο στην υποκειμενική «ειδική γνώση» των θεράποντων ιατρών [3].

Οι μέχρι τώρα πειραματικές τεχνικές παρακολούθησης περιλαμβάνουν άμεση μέτρηση θερμοκρασίας μέσω υπέρυθρης θερμογραφίας [6] και μονές ή πολλαπλές συστοιχίες Bragg οπτικών ινών ή θερμοζεύγη σε βελόνες τοποθετημένες σε κατάλληλα σημεία του ιστού [7, 8]. Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν υπέρηχοι για την μέτρηση του πάχους του ιστού, όπως και άλλες απεικονιστικές τεχνικές τομογραφίας οπτικού συντονισμού (optical coherent tomography, OCT), vibroacoustography, electrical

impedance tomography (EIT) [9] και μαγνητική τομογραφία (MRI) [10]. Η τεχνική OCT βασίζεται στην αρχή της συμβολομετρίας και χρησιμοποιείται γενικότερα σε παρόμοιες μελέτες. Κάποιες άλλες τεχνικές οπτικής απεικόνισης (κάμερα, υψηλής ανάλυσης πολυφασματική απεικόνιση κλπ) μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όμως το περιβάλλον φως και η δημιουργία πάχνης στην επιφάνεια του παγωμένου δερματικού ιστού, μειώνουν την αξιοπιστία των μετρήσεων και εμποδίζουν την συνολική συλλογή δεδομένων. Επιπλέον μειονεκτήματα των παραπάνω τεχνικών σχετίζονται με το γεγονός ότι το δέρμα του ασθενούς παραμένει παγωμένο για μικρό χρονικό διάστημα εμποδίζοντας την αποτελεσματική συλλογή δεδομένων και επίσης τα όργανα δεν μπορούν να έρθουν σε επαφή γιατί δημιουργούν θερμική παρεμβολή στην κρυοθεραπεία [3].

Η τεχνική λήψης των πειραματικών δεδομένων προκειμένου να βοηθήσουν στην βελτίωση της κρυοχειρουργικής βασίζεται στην γεωμετρία της συστοιχίας οπτικών ινών, η οποία εκμεταλλεύεται τις ιδιότητες της διαφορικής οπτικής οπισθοσκέδασης, της διάχυσης και της σωματομετρίας παγωμένου και μη παγωμένου πτωματικού χοιρινού ιστού (δέρματος), για να παρακολουθήσουμε την εξέλιξη του ενεργού συντελεστή σκέδασης ως προς το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε πραγματικό χρόνο.

Στόχος αυτής της εργασίας είναι η αξιοποίηση των οπτικών ιδιοτήτων διάδοσης, σκέδασης και φασματοσκοπίας σε κύκλους ψύξης-απόψυξης ex vivo χοιρινού δέρματος (porcine skin), αλλά και in vivo ανθρώπινου δέρματος με σκοπό την ανάπτυξη ενός αριθμητικού μοντέλου βασικών αρχών που θα προσδιορίζει σε πραγματικό χρόνο την εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία κατά τη διαδικασία της κρυοχειρουργικής.

Κεφάλαιο 2

Οπτικές ιδιότητες βιολογικών ιστών. Θεωρητικό Υπόβαθρο και Βασικές Έννοιες

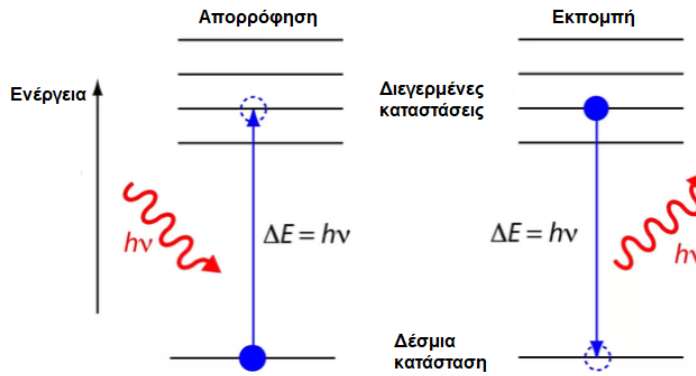
2.1 Αλληλεπίδραση του φωτός με τους βιολογικούς ιστούς

Κατά τη διάδοση της ακτινοβολίας σε ένα μέσο όπως ο ιστός, εμπλέκονται τα ακόλουθα τέσσερα φαινόμενα: ανάκλαση (reflection), διάθλαση (refraction), απορρόφηση (absorption) και σκέδαση (scattering) [11].

Η ανάκλαση και η διάθλαση σχετίζονται στενά μεταξύ τους με τους νόμους Fresnel. Στις ιατρικές εφαρμογές των laser, η διάθλαση παίζει σημαντικό ρόλο μόνο σε περιπτώσεις ακτινοβόλησης διαπερατών μέσων, όπως για παράδειγμα ο ιστός του κερατοειδή - (διότι σε διαφανή μέσα οι νόμοι Fresnel μπορούν να εφαρμοστούν κανονικά). Ο λόγος της διερχόμενης προς την προσπίπτουσα ένταση ονομάζεται διαπερατότητα (transmittance). Τα τρία φαινόμενα που οδηγούν σε απώλειες της έντασης της ακτινοβολίας είναι η ανάκλαση, η απορρόφηση και η σκέδαση. Ο δείκτης διάθλασης (refractive index) καθορίζει τη συνολική ανακλαστικότητα του στόχου και παρουσιάζει ισχυρή εξάρτηση από το μήκος κύματος, μόνο σε περιοχές υψηλής απορροφητικότητας [12].

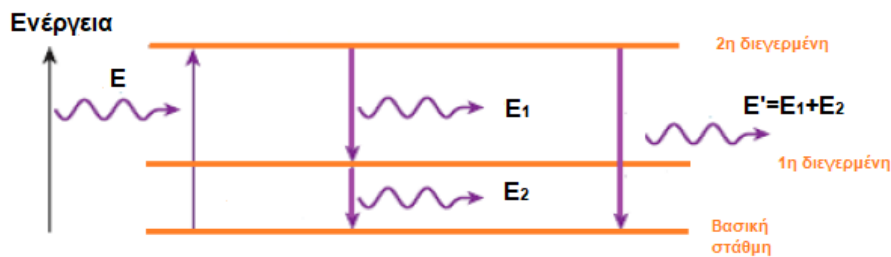
Αναλυτικότερα, όταν τα φωτόνια διαδίδονται μέσα στους ιστούς, υπόκεινται σε σκεδάσεις και απορροφήσεις από τα μόρια του ιστού. Στην περίπτωση της απορρόφησης, τα φωτόνια θα απορροφηθούν μόνο εάν η ενέργειά τους $h\nu$ συμπίπτει με το ενεργειακό χάσμα ΔE μεταξύ της αρχικής και τελικής κατάστασης του ατόμου ή του μορίου (Σχήμα 2.1). Το άτομο απορροφά ένα φωτόνιο συγκεκριμένης ενέργειας, με αποτέλεσμα ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια να μεταβούν στην αμέσως επόμενη στάθμη υψηλότερης ενέργειας. Ύστερα από κάποιο χρονικό διάστημα το ηλεκτρόνιο που βρίσκεται στη διεγερμένη στάθμη αποδιεγείρεται προς την βασική στάθμη εκπέμποντας προς τυχαία διεύθυνση ένα φωτόνιο ενέργειας ίσης με την αρχική.

Εάν όμως το άτομο απορροφήσει φωτόνιο μεγαλύτερης ενέργειας από την απαιτούμενη προκειμένου να διεγερθεί, τότε ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια μπορούν να μεταπηδήσουν απευθείας στην δεύτερη, τρίτη κ.ο.κ διεγερμένη κατάσταση.



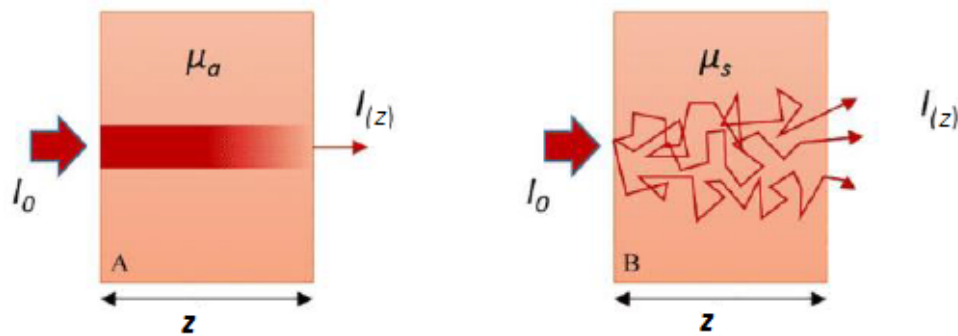
Σχήμα 2.1: Διαδικασίες απορρόφησης και εκπομπής φωτονίου που διαδίδεται μέσα σε ιστό [13].

Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, το διεγερμένο ηλεκτρόνιο είτε θα μεταπηδήσει πρώτα στην ενδιάμεση και στη συνέχεια στη βασική ενεργειακή στάθμη εκπέμποντας δύο φωτόνια διαφορετικής ενέργειας, είτε θα αποδιεγερθεί κατευθείαν στη βασική ενεργειακή στάθμη εκπέμποντας ένα φωτόνιο με ενέργεια ίση με το άθροισμα της ενέργειας των δύο φωτονίων.



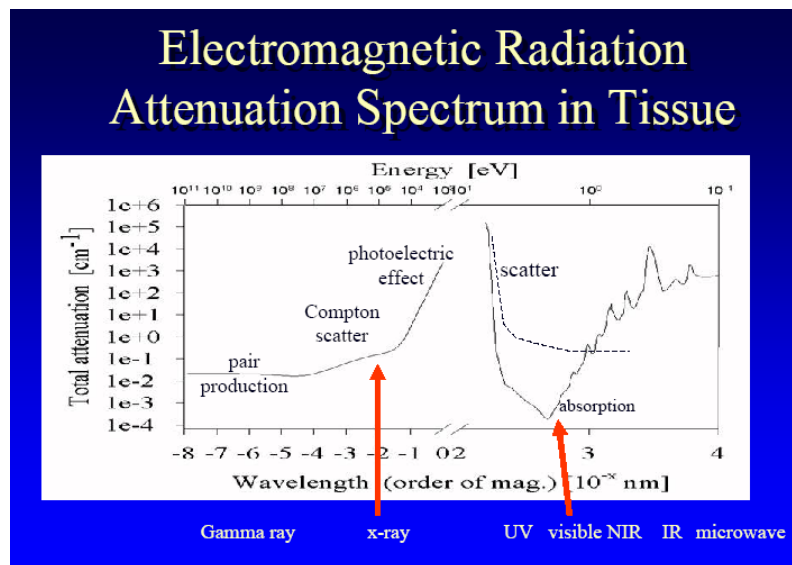
Σχήμα 2.2: Απορρόφηση και αποδιέγερση φωτονίου σε δύο βήματα [13].

Κατά τη σκέδαση, η οποία είναι πιο συχνή στους ιστούς λόγω των διαφορετικών δεικτών διάθλασης μεταξύ των επιμέρους δομών τους, τα φωτόνια αλληλεπιδρούν με την ύλη και αλλάζουν διεύθυνση χάνοντας (ανελαστική σκέδαση) ή όχι (ελαστική σκέδαση) ενέργεια. Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός σκέδασης που προκαλεί ένα βιολογικό μέσο, τόσο περισσότερο θα εκτρέπονται τα φωτόνια από την αρχική τους διεύθυνση [14].



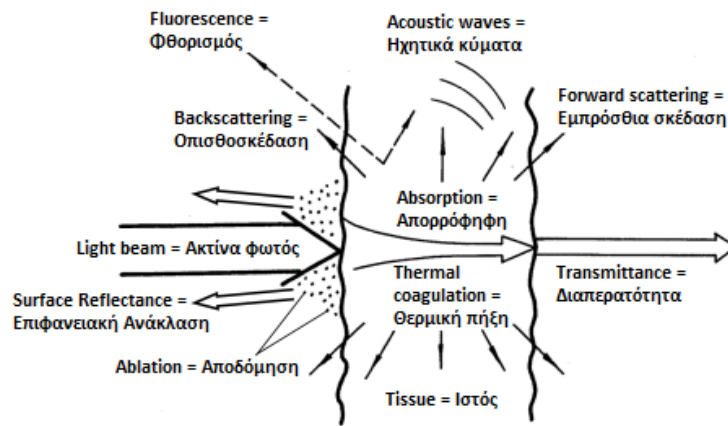
Σχήμα 2.3: Διάδοση ακτινοβολίας (φωτόνια). Αριστερά: σε υψηλά απορροφητικό μέσο. Δεξιά: σε υψηλά σκεδαστικό μέσο [14].

Η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με έναν βιολογικό ιστό είτε είναι in vivo, είτε in vitro, είτε ex vivo παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα ως φάσμα της εξασθένησής της (total attenuation) μετά την αλληλεπίδραση με τον ιστό.



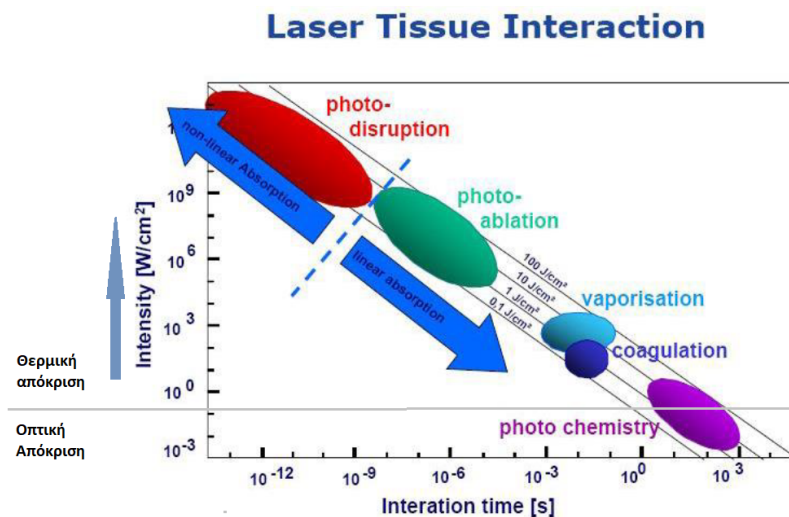
Σχήμα 2.4: Πέδηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και βιολογικού ιστού [15].

Γίνεται αντιληπτό, ότι πολύ διαφορετικά φαινόμενα συμβαίνουν αναλόγως του μήκους κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που αλληλεπιδρά με τον βιολογικό ιστό. Ειδικά στην φασματική περιοχή του ορατού φωτός συμβαίνουν δύο βασικά φαινόμενα η σκέδαση και η απορρόφηση (Βλέπε σχήμα 2.4).



Σχήμα 2.5: Σχηματική αναπαράσταση διαφορετικών τρόπων αλληλεπίδρασης ορατού φωτός και βιολογικών ιστών [16].

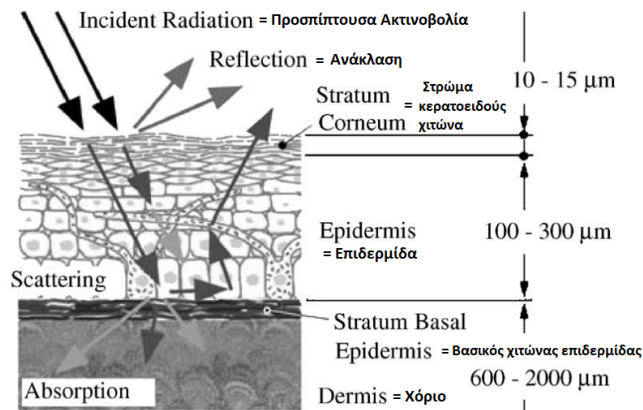
Η προσπίπτουσα ακτινοβολία δύναται να υποστεί ολική ανάκλαση στην επιφάνεια του ιστού και έτσι να μην προκληθεί καμία μεταβολή σε αυτόν. Συνήθως, το ποσοστό της δέσμης που ανακλάται κυμαίνεται από (3-5) % της προσπίπτουσας, γεγονός που οφείλεται στους διαφορετικούς δείκτες διάθλασης του αέρα από τον βιολογικό ιστό. Το υπόλοιπο της δέσμης διαδίδεται μέσα στον ιστό και σκεδάζεται πολλαπλά, ενώ ένα μέρος απορροφάται. Το ποσοστό του φωτός που απορροφάται ή σκεδάζεται εξαρτάται από το μήκος κύματος της χρησιμοποιούμενης πηγής φωτός και από τις οπτικές ιδιότητες του ιστού (σκέδαση και απορρόφητη) [11].



Σχήμα 2.6: Δράσεις φωτός επί δερματικού βιολογικού ιστού [17].

Η ακτινοβολία η οποία απορροφάται από τον ιστό μπορεί να προκαλέσει σταδιακά την υπερθέρμανση του βιολογικού ιστού, τη χημική αλλοίωση του, την πήξη του, την εξάχνωση του και τελικά, όταν το ποσό της φωτεινής ενέργειας είναι πολύ μεγάλο και συγκεντρωμένο (όπως στο οπτικό Laser), την αποκοπή τμημάτων του ιστού (σχήμα 2.5). Αντίθετα εκμεταλλευόμενοι το φαινόμενο της σκέδασης μπορούμε μέσω κατάλληλου λογισμικού να επανασυνθέσουμε λεπτομερείς εικόνες των βιολογικών ιστών,

ακόμη και αυτών που βρίσκονται βαθιά μέσα στο ανθρώπινο σώμα ή ακόμη περισσότερο και στη κυτταρική και υποκυτταρική κλίμακα. Έτσι οδηγούμαστε στη διαγνωστική τεχνολογία και επιστήμη [11, 16] (Σχήμα 2.6).



Σχήμα 2.7: Φαινόμενα επί δερματικού βιολογικού ιστού σε βάθος [18].

Ο ιστός θεωρείται ένα μη διαυγές μέσο, με μικρές διακυμάνσεις στις οπτικές του ιδιότητες, συνεπώς εμφανίζει ογκομετρικές ιδιότητες σκέδασης και απορρόφησης, παρότι αποτελείται από διακριτά κέντρα σκέδασης και απορρόφησης, κατανομημένα σε ένα μη σκεδαστικό και μη απορροφητικό μέσο [11].

Στο ακόλουθο σχήμα 2.8 παρουσιάζονται οι χρωμοφόρες ουσίες που εμπεριέχονται στον δερματικό ιστό και φυσικά συνεισφέρουν τόσο στη σκέδαση όσο και στην απορρόφηση φωτός.



Σχήμα 2.8: Χρωμοφόρες ουσίες βιολογικών ιστών (όχι μόνο δερματικών) [19].

2.2 Ανάλυση οπτικών ιδιοτήτων των ιστών

Η ικανότητα του φωτός να διεισδύει σε έναν ιστό, να επηρεάζει τα συστατικά του και στη συνέχεια να δραπετεύει από αυτόν, είναι το κλειδί για διαγνωστικές εφαρμογές. Επιπλέον, η δυνατότητα του φωτός να διαπερνά έναν ιστό και να εναποθέτει ενέργεια δια μέσου της οπτικής απορρόφησης, είναι το κλειδί για θεραπευτικές εφαρμογές [2].

Οι οπτικές ιδιότητες διάφορων βιολογικών ιστών (απορρόφηση, σκέδαση, ενεργή σκέδαση, ανισοτροπία, δείκτης διάθλασης) για διαφορετικά μήκη κύματος έχουν κατατάξει σε πίνακες. Ωστόσο, τέτοιου είδους συνοπτικές πληροφορίες πολύ πιθανόν να μην είναι αρκετά ακριβείς, διότι η σύσταση των ιστών στο αίμα, στο νερό και στο κολλαγόνο διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο αλλά και απο περιοχή σε περιοχή του ιστού. Άλλος ένας λόγος είναι ότι στις τιμές αυτές των πινάκων, ίσως να μην συμπεριλαμβάνεται το μήκος κύματος ακτινοβολίας το οποίο ενδείκνυται για μελέτη.

Οι οπτικές ιδιότητες ενός ιστού περιγράφονται μέσω του συντελεστή απορρόφησης (absorption coefficient) μ_a (cm^{-1}), του συντελεστή σκέδασης (scattering coefficient) μ_s (cm^{-1}), του ενεργού συντελεστή σκέδασης μ'_s (cm^{-1}) (reduced scattering coefficient), του πραγματικού δείκτη διάθλασης του ιστού (real refractive index) n' , της συνάρτησης σκέδασης (scattering function) $p(\vartheta, \phi)$ (sr^{-1}), όπου ϑ είναι η γωνία εκτροπής της σκέδασης και ϕ είναι η αζιμουθιακή γωνία σκέδασης καθώς και τα παράγωγα που προκύπτουν από τις προαναφερόμενες ποσότητες (σχήμα 2.28). Η συνάρτηση $p(\vartheta, \phi)$ είναι απαραίτητη μόνο όταν αναφερόμαστε σε ένα ή σε λίγα γεγονότα σκέδασης, όπως τη μικροσκοπία μετάδοσης (transmission microscopy) λεπτών τμημάτων ιστών. Σε πιο παχύς ιστούς, όπου συμβαίνουν πολλαπλές σκεδάσεις, η εξάρτηση της σκέδασης από τη γωνία ϕ αγνοείται, και αντί της γωνίας εκτροπής ϑ χρησιμοποιείται η παράμετρος $g = \langle \cos\vartheta \rangle$, η οποία καλείται ανισοτροπία (anisotropy) σκέδασης [2, 20].

Absorption	μ_a	$[cm^{-1}]$
Scattering	μ_s	$[cm^{-1}]$
Scattering function	$p(\theta, \psi)$	$[sr^{-1}]$
Anisotropy	$g = \langle \cos\theta \rangle$	$[-]$
Real refractive index	n'	$[-]$
Reduced scattering	$\mu'_s = \mu_s(1-g)$	$[cm^{-1}]$

Σχήμα 2.9: Οπτικές ιδιότητες βιολογικών ιστών [2].

Οι παραπάνω παράμετροι που περιγράφουν τις οπτικές ιδιότητες ενός ιστού χωρίζονται σε δυο βασικές κατηγορίες: εκείνες που έχουν διαστάσεις και στις αδιάστατες ποσότητες. Στις ποσότητες με διαστάσεις συμπεριλαμβάνονται ο συντελεστής απορρόφησης μ_a σε (cm^{-1}), ο συντελεστής σκέδασης μ_s σε (cm^{-1}), ο συντελεστής ενεργού σκέδασης μ'_s σε (cm^{-1}), ο συντελεστής ολικής εξασθένησης μ_t σε (cm^{-1}), η συνάρτηση σκέδασης $p(\vartheta)$ σε (sr^{-1}) καθώς και το βάθος διείσδυσης δ σε (cm). Στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται αδιάστατες ποσότητες, η διάδοση του φωτός σε έναν ιστό περιγράφεται από τις ακόλουθες παραμέτρους, την λευκαύγεια α (albedo), το οπτικό βάθος β , τον πραγματικό δείκτη διάθλασης του ιστού n και την ανισοτροπία g [11].

Η οπτική σκέδαση μπορεί να περιγραφεί είτε από σωματίδια που έχουν διαφορετικό δείκτη διάθλασης από το περιβαλλόν μέσο, είτε από ένα μέσο με συνεχή αλλά κυμαινόμενο δείκτη διάθλασης. Η περίπτωση των σωματιδίων μπορεί να προσεγγιστεί μέσω της θεωρίας Mie, η οποία περιγράφει τη σκέδαση από ιδανικές ομοιόμορφες σφαίρες σε ένα μέσο. Η θεωρία συνεχούς σκέδασης από την άλλη, περιγράφει τη σκέδαση ενός ιστού μέσω μίας χωρικής συνάρτησης κατανομής του κυμαινόμενου δείκτη διάθλασης

του ιστού. Και οι δύο προσεγγίσεις είναι προσαρμοσμένες ώστε να ταιριάζουν με τα πειραματικά δεδομένα και ως εκ τούτου και οι δύο μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να περιγράψουν τη συμπεριφορά της σκέδασης του φωτός των βιολογικών ιστών [2].

2.2.1 Δείκτης διάθλασης ιστών

Ο συνολικός δείκτης διάθλασης ενός μέσου είναι μια μιγαδική ποσότητα και περιγράφεται μέσω της σχέσης:

$$n = n' + ik \quad (2.1)$$

και

$$n' = \frac{c}{v}, \quad (2.2)$$

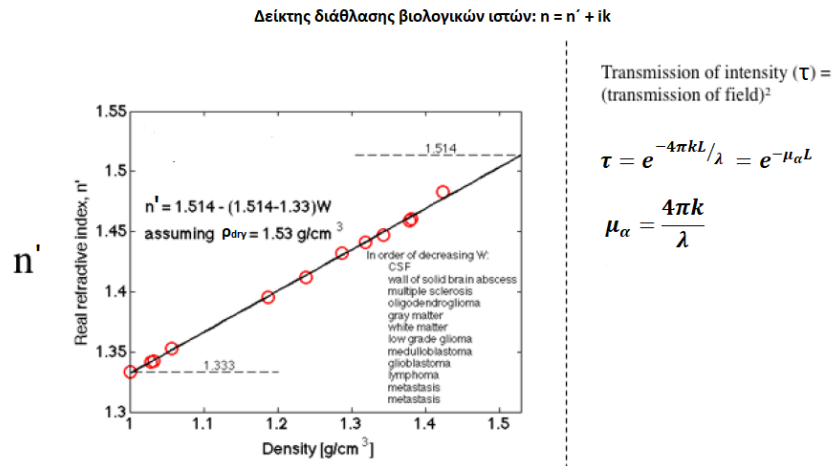
όπου c η ταχύτητα του φωτός στο κενό και v η ταχύτητα του φωτός στο μέσο διάδοσης. Το πραγματικό μέρος του δείκτη διάθλασης n' περιγράφει την εναπόθεση ενέργειας στο μέσο και ως εκ τούτου επηρεάζει τη ταχύτητα του φωτός στο μέσο αυτό, ενώ το φανταστικό μέρος k δείχνει την εξασθένηση της έντασης ακτινοβολίας καθώς αυτή διαδίδεται σε μέσο πάχους L και προσδιορίζει το συντελεστή απορρόφησης ως:

$$\mu_a = \frac{4\pi k}{\lambda}, \quad (2.3)$$

όπου λ είναι το μήκος κύματος του φωτός [2]. Στην περίπτωση ενός βιολογικού ιστού, η τιμή του πραγματικού δείκτη διάθλασης n' εξαρτάται από το ποσοστό του νερού (W) που υπάρχει σε αυτόν και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$n' = n'_{dry} - (n'_{dry} - n'_{water}) \cdot W, \quad (2.4)$$

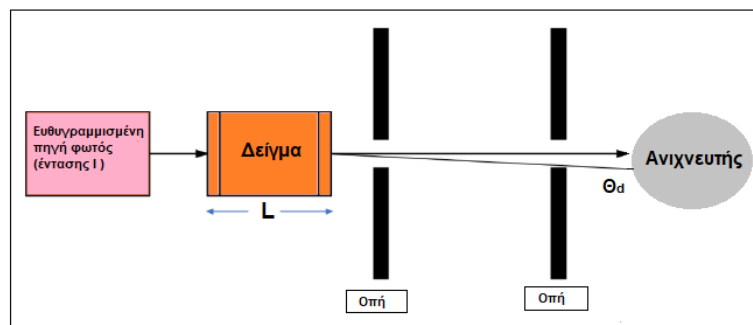
όπου n'_{dry} είναι ο δείκτης διάθλασης της ξηρής μάζας του ιστού και n'_{water} είναι ο δείκτης διάθλασης του νερού. Έχει υπολογιστεί για διάφορα βιολογικά υλικά ότι $n'_{water} = 1.33$ και $n'_{dry} = 1.50$ [2].



Σχήμα 2.10: Στην αριστερή εικόνα φαίνεται ότι ο πραγματικός δείκτης διάθλασης των ιστών είναι ανάλογος με την περιεκτικότητα του ιστού σε νερό. Η μέτρηση του πραγματικού δείκτη διάθλασης των βιολογικών ιστών γίνεται με διαθλασίμετρο Abbe, συναρτήσεως της πυκνότητας (g/cm^3). Χρησιμοποιήθηκε η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (*MRI*) για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε νερό (W), η οποία υποδηλώνει ότι η πυκνότητα ξηρής μάζας ήταν $\rho_{dry} = 1,53 g/cm^3$. Χρησιμοποιώντας αυτήν την τιμή, προσδιορίζεται η σχέση του δείκτη διάθλασης n' συναρτήσεως του ποσοστού του νερού W . Δεξιά φαίνεται πώς ο συντελεστής απορρόφησης σχετίζεται με τον φανταστικό δείκτη διάθλασης, k [21].

2.2.2 Νόμος Beer-Lambert

Η μέτρηση του συντελεστή σκέδασης μ_s , όπως και του συντελεστή απορρόφησης μ_a γίνεται μέσω της θεωρίας μετάδοσης ακτινοβολίας. Κατά τη μέθοδο αυτή, μία δέσμη laser αρχικά κατευθύνεται κάθετα προς το υλικό. Καθώς διαπερνά το υλικό, σκεδάζεται και στη συνέχεια το διαδιδόμενο φως φιλτράρεται μέσω δύο οπών και καταλήγει στον ανιχνευτή ο οποίος συλλέγει τα μεταδιδόμενα φωτόνια, δίνοντας χρήσιμες πληροφορίες για τις οπτικές ιδιότητες του υλικού (σχήμα 2.11).



Σχήμα 2.11: Θεωρία μετάδοσης ακτινοβολίας [13].

Σύμφωνα με τον νόμο του Lambert η ικανότητα απορρόφησης ενός υλικού A ή αλλιώς η «οπτική πυκνότητα» (optical density, OD) και το μήκος διαδρομής του φωτός L είναι μεγέθη ανάλογα σε ένα ομοιογενές μέσο, ενώ η ένταση της διαδιδόμενης ακτινοβολίας μειώνεται με την αύξηση του πάχους του απορροφητικού μέσου (σχήμα

2.12). Συνεπώς, ισχύουν:

$$I = I_0 e^{-\mu_a \cdot L} \quad (2.5)$$

και

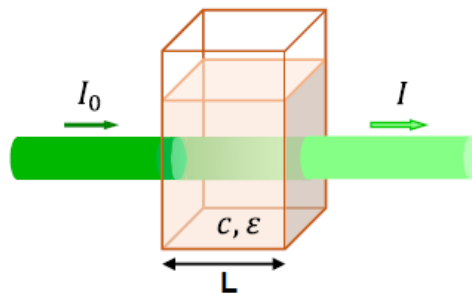
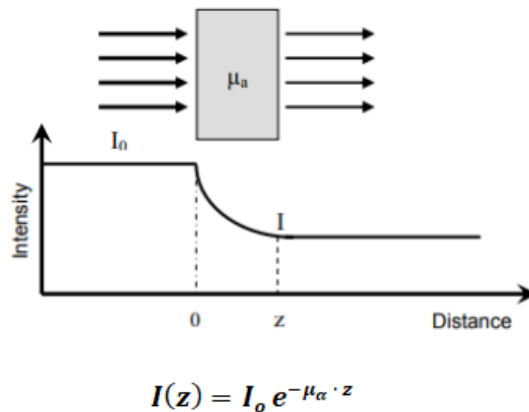
$$A = OD = -\ln(\tau) = \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) \propto L, \quad (2.6)$$

όπου I_0 η ένταση του εισερχόμενου φωτός, I η ένταση του εξερχόμενου μετά την απορρόφηση φωτός, L σε (cm) η διαδρομή που διανύει το φως μέσα στον ιστό, μ_a (cm^{-1}) ο συντελεστής απορρόφησης και τ (αδιάστατο μέγεθος) είναι ο συντελεστής διαπερατότητας του ιστού ή η πιθανότητα της επιβίωσης του φωτονίου μετά από μια διαδρομή μήκους L που ορίζεται ως εξής [22]:

$$\tau = \frac{I}{I_0} = e^{-\mu_a \cdot L}. \quad (2.7)$$

Ο Beer επέκτεινε αυτόν τον εκθετικό νόμο απορρόφησης το 1852 για να ενσωματώσει τη συγκέντρωση των διαλυμάτων (μάζα του απορροφητικού υλικού) στον συντελεστή απορρόφησης. Έτσι, ο νόμος του Beer ορίζει ότι η απορρόφηση του μονοχρωματικού φωτός σε ένα ομοιογενές (διαφανές) υλικό διαμέσου του οποίου διέρχεται, είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της ουσίας c του δείγματος [22]:

$$A \propto c. \quad (2.8)$$



Σχήμα 2.12: Απορρόφηση ακτινοβολίας σε ένα ομοιογενές μέσο σύμφωνα με τον νόμο Beer-Lambert [22, 23].

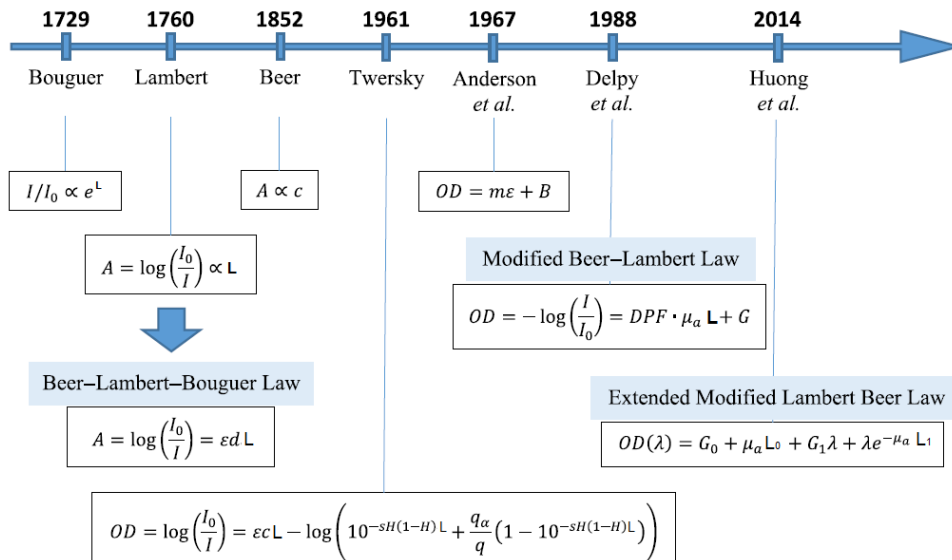
Συνδυάζοντας τους νόμους Lambert και Beer προκύπτει ο νόμος Beer-Lambert, που συνήθως ονομάζεται νόμος BL (Beer-Lambert Law) ή απλά νόμος του Beer σύμφωνα με τον οποίο, το φως που απορροφάται από μια ουσία διαλυμένη σε έναν πλήρως διαπερατό απειροελάχιστο λεπτό διαλύτη είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της ουσίας και του μήκους διαδρομής του φωτός μέσα στο διάλυμα. Συνεπώς, ισχύει:

$$A(\lambda) = OD = -\ln(\tau) = \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon(\lambda) \cdot c \cdot L, \quad (2.9)$$

όπου $\epsilon(\lambda)$ είναι ο γραμμομοριακός συντελεστής απόσβεσης σε $cm^{-1}M^{-1}$ και c είναι η μοριακή συγκέντρωση σε M [22].

Ο νόμος BL εφαρμόζεται ευρέως στην βιοϊατρική οπτική αφού μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί στο σύστημα υπολογισμού και ο χρόνος υπολογισμού είναι σύντομος χάρη στη γραμμική σχέση μεταξύ της μετρούμενης εξασθένησης του φωτός και της απορρόφησης του μέσου. Εκτός αυτού, απαιτεί λιγότερη υπολογιστική ισχύ σε σύγκριση με άλλα μοντέλα, όπως οι προσομοιώσεις Monte Carlo για παράδειγμα. Βασικό μειονέκτημα του είναι το γεγονός ότι λειτουργεί κάτω από συγκεκριμένες προϋποθέσεις. Αυτές είναι: α) η δέσμη ακτινοβολίας πρέπει να είναι μονοχρωματική, β) η αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων δεν πρέπει να μεταβάλλει την πιθανότητα απορρόφησης και γ) το δείγμα πρέπει να είναι ομοιογενές και να μην σκεδάζει την ακτινοβολία.

Στην πραγματικότητα η αυστηρή τήρηση όλων αυτών των προϋποθέσεων μπορεί να φανεί αδύνατη, ιδίως αν λαμβάνονται μετρήσεις σε ένα βιολογικό ιστό *in vivo*. Στο σχήμα 2.13 απεικονίζονται οι τροποποιήσεις - βελτιώσεις του νόμου BL με την πάροδο του χρόνου με στόχο όχι μόνο την καλύτερη δυνατή μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των βιολογικών ιστών, αλλά και την αποφυγή σφαλμάτων σε μετρούμενα δεδομένα ή παρερμηνεύσιμων αποτελεσμάτων που μπορεί να προκύψουν [22].



Σχήμα 2.13: Ιστορική εξέλιξη του νόμου BL [22].

Σύμφωνα με τους Bouguer και Steven L. Jacques ο νόμος Beer μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανεξάρτητα από το αν η διαδρομή του φωτονίου είναι μια ευθεία γραμμή ή

ελικοειδής λόγω των πολλαπλών σχεδιάσεων σε ένα οπτικώς θολό μέσο με την υπόθεση ότι η πολλαπλή σκέδαση είναι αμελητέα. Θα ισχύουν δηλαδή οι σχέσεις:

$$I = I_0 e^{-\mu_s \cdot L}, \quad (2.10)$$

$$\tau = \frac{I}{I_0} = e^{-\mu_s \cdot L}, \quad (2.11)$$

όπου I_0 η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, I η το ποσό του φωτός που δεν έχει σχεδαστεί, αφού έχει διανύσει ένα μη απορροφητικό μέσο, L το πάχος του μέσου που μετράται σε (cm), μ_s (cm^{-1}) ο συντελεστής σκέδασης και τ η πιθανότητα να σχεδαστεί το φωτόνιο μετά από μια διαδρομή μήκους L [2, 11, 22].

2.2.3 Απορρόφηση και συντελεστής απορρόφησης μ_a

Η απορρόφηση εκφράζει το λόγο της απορροφούμενης προς την προσπίπτουσα ένταση ακτινοβολίας. Οφείλεται κυρίως στη μερική μετατροπή της ενέργειας του φωτός σε θερμική κίνηση ή σε συγκεκριμένες δονήσεις των μορίων του μέσου απορρόφησης. Εξαρτάται από την ηλεκτρονική και χημική σύσταση των ατόμων και των μορίων του μέσου, το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, το πάχος του μέσου απορρόφησης και από διάφορες εσωτερικές παραμέτρους (συγκέντρωση χρωμοφόρων, θερμοκρασία κ.α.). Στους βιολογικούς ιστούς η απορρόφηση συμβαίνει κυρίως λόγω της παρουσίας των μορίων νερού ή διαφόρων μακρομορίων όπως είναι οι πρωτεΐνες και το DNA. Στις εφαρμογές της βιοϊατρικής Οπτικής η απορρόφηση των φωτονίων αποτελεί μια σημαντική ιδιότητα των ιστών, για δυο κυρίως λόγους: α) ο πρώτος εξ αυτών συνίσταται στο γεγονός ότι μέσω της απορρόφησης ένα laser ή κάποια άλλη πηγή φωτός μπορούν να προκαλέσουν μια δυναμική θεραπευτική (ή καταστρεπτική) επίδραση σε κάποιον ιστό. β) Ο δεύτερος αφορά την απορρόφηση του φωτός η οποία αξιοποιείται διαγνωστικά, αφού παρέχει πληροφορία για την χημική σύσταση του ιστού και λειτουργεί ως μηχανισμός οπτικής αντίθεσης (optical contrast) κατά την διαδικασία οπτικών μεθόδων, όπως η Διάχυτη Οπτική Τομογραφία (Diffusion Optical Tomography, DOT).

Λόγω της σπουδαιότητας που παρουσιάζει τόσο σε θεραπευτικές όσο και σε διαγνωστικές εφαρμογές το φαινόμενο της απορρόφησης έχει μελετηθεί σε μεγάλη κλίμακα. Μερικά από τα συμπεράσματα αυτών των μελετών, που σχετίζονται με τους μαλακούς ιστούς, είναι ότι το φαινόμενο αυτό επικρατεί της σκέδασης για μαλακούς ιστούς, σε μήκη κύματος που λαμβάνουν τιμές $\lambda < 250 \text{ nm}$ και $\lambda > 2000 \text{ nm}$. Η απορρόφηση φωτός στο υπεριώδες οφείλεται στην παρουσία πρωτεϊνών και DNA, στο ορατό και στο εγγύς υπέρυθρο καθορίζεται από την συγκέντρωση χρωμοφόρων, όπως είναι η αιμοσφαιρίνη και η μελανίνη, ενώ για τα μεγαλύτερα μήκη κύματος έντονη απορρόφηση παρουσιάζει το νερό (σχήματα 2.17 και 2.19) [11].

Το μέγεθος που καθορίζει την απορρόφηση, δηλαδή το πόσο μακριά μπορεί να διεισδύσει το φως συγκεκριμένου μήκους κύματος μέσα σε ένα βιολογικό σύστημα όπως οι ιστοί και τα κύτταρα, ή σε οποιοδήποτε άλλο υλικό, καλείται συντελεστής απορρόφησης μ_a . Ο συντελεστής απορρόφησης έχει διαστάσεις αντιστρόφου μήκους και μπορεί να οριστεί με τους ακόλουθους τρόπους:

1.

$$\mu_a = -\frac{1}{\tau} \cdot \frac{\partial \tau}{\partial L}, \quad (2.12)$$

όπου τ (σχέση 2.7) είναι το εναπομείνον κλάσμα της έντασης ακτινοβολίας ύστερα από απορρόφηση σε μέσο μήκους κύματος L , δηλαδή:

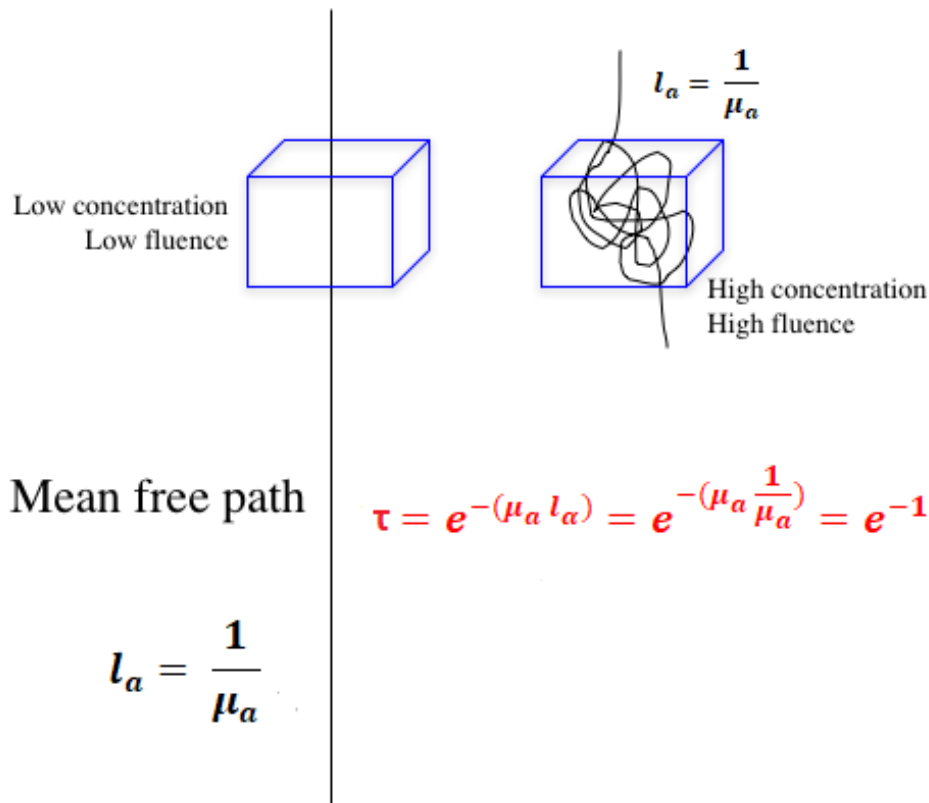
$$\tau = \frac{I}{I_0} = e^{-\mu_a \cdot L} = e^{-\epsilon(\lambda) \cdot c \cdot L} = e^{-\frac{4\pi k L}{\lambda}}. \quad (2.13)$$

Αυτή η κλασματική αλλαγή $\partial\tau/\tau$ ανά μήκος διαδρομής ∂L ισοδυναμεί με μια εκθετική μείωση στην ένταση του φωτός ως συνάρτηση της αυξανόμενης σε μήκος διαδρομής L [2].

2.

$$\mu_a = \frac{1}{l_a}, \quad (2.14)$$

όπου l_a εκφράζει το μέσο μήκος ελεύθερης διαδρομής που το φωτόνιο θα επιβιώσει σε ένα απορροφητικό μέσο. Μπορεί κανείς να το φανταστεί σαν μια χορδή μήκους l_a . Η σκέδαση αναγκάζει το φωτόνιο να αλλάζει συνεχώς την τροχιά του, αλλά καθώς διανύει το μονοπάτι «επιβίωσής» του εξακολουθεί να είναι l_a . Η διαδρομή των φωτονίων συσπειρώνεται, σαν να είχε τυλιχτεί μια χορδή σε μπάλα.



Σχήμα 2.14: Μέση ελεύθερη διαδρομή l_a και πιθανότητα επιβίωσης του φωτονίου μετά από μια διαδρομή μήκους l_a [21].

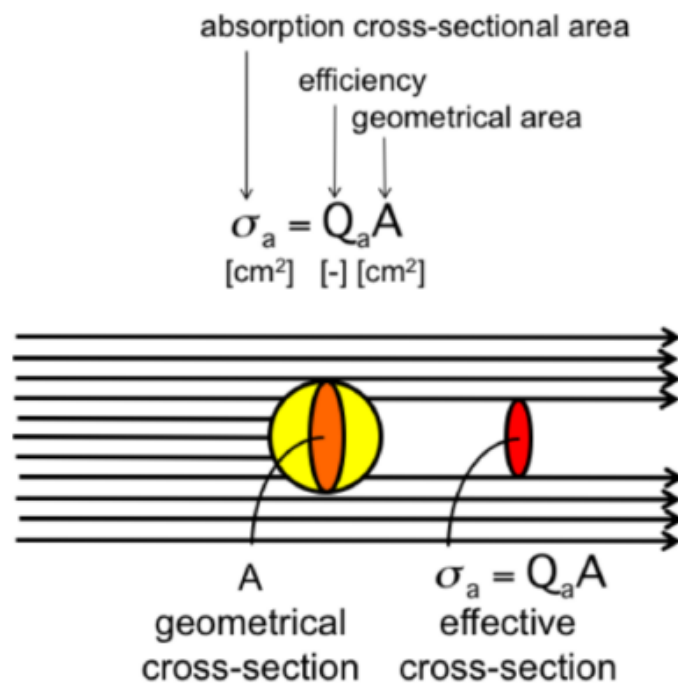
3.

$$\mu_a = \rho_a \cdot \sigma_a, \quad (2.15)$$

όπου ρ_a η αριθμητική πυκνότητα των σωματιδίων απορρόφησης - (αριθμός απορροφητικών σωματιδίων ανά μονάδα όγκου) (mol/cm^3) και σ_a η ενεργός διατομή απορρόφησης - (το μέγεθος της σκιάς που ανιχνεύεται) που έχει μονάδα μέτρησης (cm^2). Η ενεργός διατομή (effective cross-section) απορρόφησης ορίζεται ως:

$$\sigma_a = A \cdot Q_a, \quad (2.16)$$

όπου A αποτελεί το γεωμετρικό εμβαδόν διατομής (geometrical area) του απορροφούμενου υλικού που ισούται με πr^2 και Q_a την απόδοση απορρόφησης (efficiency) (Σχήμα 2.15). Με άλλα λόγια, ενεργός διατομή καλείται η επιφάνεια της παράλληλης δέσμης (η το τμήμα της επιφάνειας του στόχου) που καταλήγει, αφού αλληλεπιδράσει με το στόχο, στην επιφάνεια του ανιχνευτή που βρίσκεται σε μία συγκεκριμένη θέση [20].



Σχήμα 2.15: Απεικόνιση προσπίπτουσας ακτινοβολίας σε απορροφούμενο υλικό (χρωμοφόρο). Έστω το χρωμοφόρο σαν μια εξιδανικευμένη σφαίρα με συγκεκριμένο γεωμετρικό μέγεθος. Αν σε αυτή τη σφαίρα προσπίπτει φως, δημιουργεί μια σκιά, η οποία αποτελεί την απορρόφηση. Το μέγεθος της σκιάς απορρόφησης δίνει την ενεργό διατομή $\sigma_a(cm^2)$, η οποία μπορεί να είναι μικρότερη ή μεγαλύτερη από το γεωμετρικό μέγεθος του χρωμοφόρου $A(cm^2)$. Τα δύο μεγέθη σχετίζονται μεταξύ τους με την σταθερά αναλογίας (απόδοση απορρόφησης) $Q_a(cm^2)$. Η πιθανότητα επιβίωσης του φωτονίου μέσω ενός μήκους διαδρομής $L(cm)$ του μέσου είναι $\tau = e^{-\mu_a L}$ [21].

4.

$$\mu_a = \frac{4\pi k}{\lambda}, \quad (2.17)$$

όπου λ είναι το μήκος κύματος του φωτός και k ο φανταστικός δείκτης διάθλασης του μέσου [2].

5.

$$\mu_a = \ln(10) \cdot \epsilon(\lambda)_i \cdot c_i, \quad (2.18)$$

όπου $\epsilon(\lambda)_i \cdot c_i$ (cm^{-1}) είναι το γινόμενο της συγκέντρωσης των συστατικών ενός ιστού επί το γραμμικό συντελεστή απόσβεσης. Η συγκεκριμένη εξίσωση δείχνει την έντονη εξάρτηση του συντελεστή απορρόφησης από το μήκος κύματος αλλά και τα διαφορετικά χρωμοφόρα που υπάρχουν στους ιστούς [2].

6.

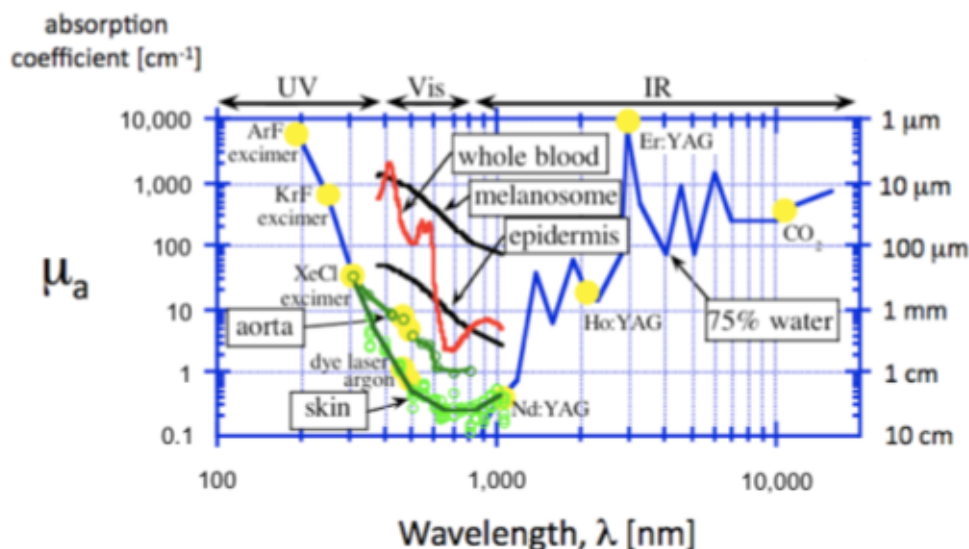
$$\mu_a = \sum_i f_{V,I} \mu_{a,i}, \quad (2.19)$$

όπου $f_{V,I}$ (αδιάστατη ποσότητα) είναι το κλάσμα όγκου ενός συστατικού του ιστού που ορίζεται ως ο λόγος του όγκου του συγκεκριμένου συστατικού ως προς το άθροισμα των όγκων όλων των συστατικών του ιστού ($f_{V,I} = \frac{V_i}{\sum_j V_j}$).

Ενώ η ποσότητα $\mu_{a,i}$ αποτελεί τον συντελεστή απορρόφησης του κάθε συστατικού του ιστού [2].

Υπάρχει μια ποικιλία χρωμοφόρων που μπορούν να συμβάλλουν στον συντελεστή απορρόφησης στις εξισώσεις 2.15 ή 2.16. Συνήθως, το αίμα και το νερό κυριαρχούν στην απορρόφηση. Μερικές φορές πρέπει να λαμβάνονται υπόψη η μελανίνη, το λίπος, η χολερυθρίνη, το β -καροτένιο (σχήματα 2.18, 2.19). Άλλα χρωμοφόρα προσφέρουν αρκετά μικρή συνεισφορά. Αν κάποιος ενδιαφέρεται για την φασματοσκοπική ανίχνευση, τότε οι δευτερεύουσες συνεισφορές είναι σημαντικές. Όμως εάν ενδιαφέρεται να κατανοήσει τη διείσδυση του φωτός σε έναν ιστό για κάποιο θεραπευτικό πρωτόκολλο, τότε οι δευτερεύουσες συνεισφορές συνήθως δεν διαταράσσουν σημαντικά τη μεταφορά του φωτός [2].

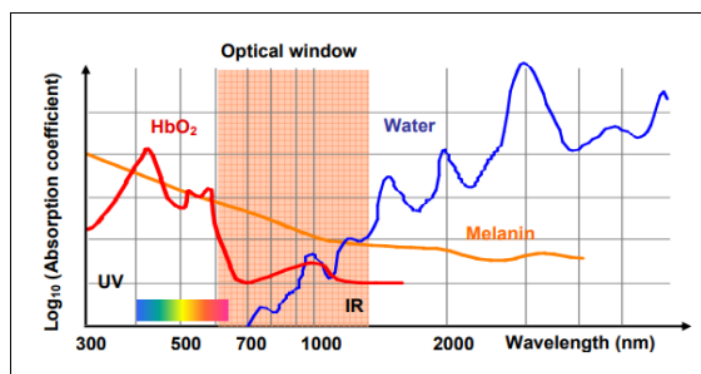
Ως κύριος απορροφητής στους ιστούς θεωρείται το νερό αφού αποτελεί το βασικό συστατικό των ιστών καθώς βρίσκεται σε ποσοστό περίπου 75%. Μελέτες έχουν δείξει ότι απορροφά και στο φάσμα της υπεριώδους ακτινοβολίας, UV ($\lambda < 200 nm$) αλλά και στο υπέρυθρο ($\lambda > 1300 nm$). Όμως, σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν και άλλα χρωμοφόρα στους ιστούς. Η αιμοσφαιρίνη απορροφά κυρίως στα 430 nm, 540 nm και 570 nm, ενώ η απορρόφηση της μελανίνης που αποτελεί την κύρια ασπίδα προστασίας του δέρματος από την υπεριώδη ακτινοβολία, μειώνεται με την αύξηση του μήκους κύματος (σχήμα 2.17) [4, 24].



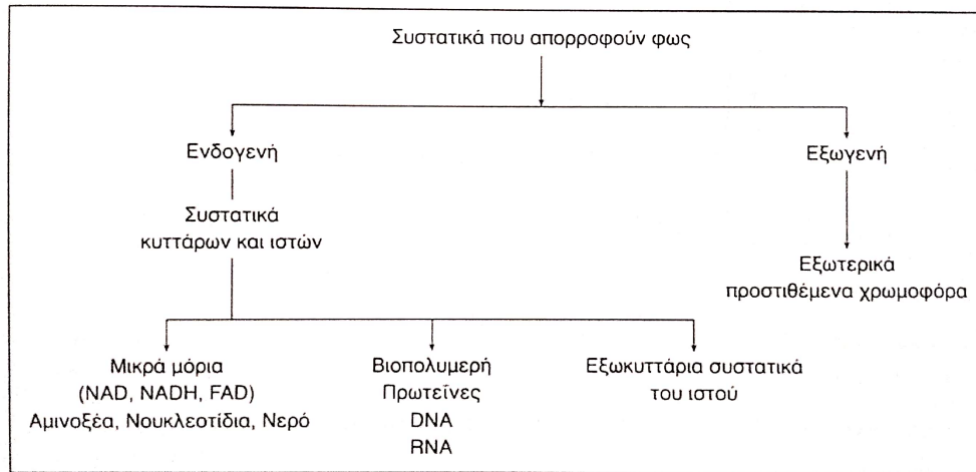
Σχήμα 2.16: Φάσμα απορρόφησης σημαντικών χρωμοφόρων σε ιστούς ανθρώπινου δέρματος ως συνάρτηση του μήκους κύματος ακτινοβολίας [24].

Για μήκη κύματος μικρότερα από 630 nm η εξασθένιση οφείλεται στην απορρόφηση από τη μελανίνη, ενώ για μήκη κύματος μεγαλύτερα από 1300 nm , οφείλεται στην απορρόφηση από το νερό [1, 4]. Η περιοχή μεταξύ 630 και 1300 nm (εγγύς υπέρυθρο) χαρακτηρίζεται από την κυριαρχία του φαινομένου της σκέδασης, δεδομένου ότι τα βιολογικά μόρια δεν παρουσιάζουν σημαντική απορρόφηση σε αυτά τα μήκη κύματος. Το γεγονός αυτό εξηγεί και την δυνατότητα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας να διεισδύσει σε αυτή την περιοχή έως και μερικά εκατοστά στους ιστούς και για το λόγο αυτό ονομάζεται **οπτικό παράθυρο** ιστού (σχήμα 2.17) [11].

Σε αυτό το εύρος μήκους κύματος έχουμε τη μικρότερη απορρόφηση και παρατηρείται το μεγαλύτερο βάθος διείσδυσης του φωτός στους ιστούς. Εκτός της περιοχής αυτής, το φως απορροφάται ισχυρά από την αιμοσφαιρίνη και τη μελανίνη (στην περιοχή του ορατού) ενώ στην περιοχή του υπέρυθρου μέγιστη απορρόφηση προκαλείται κυρίως λόγω του νερού σύμφωνα με τα δυο ανωτέρω διαγράμματα [1].

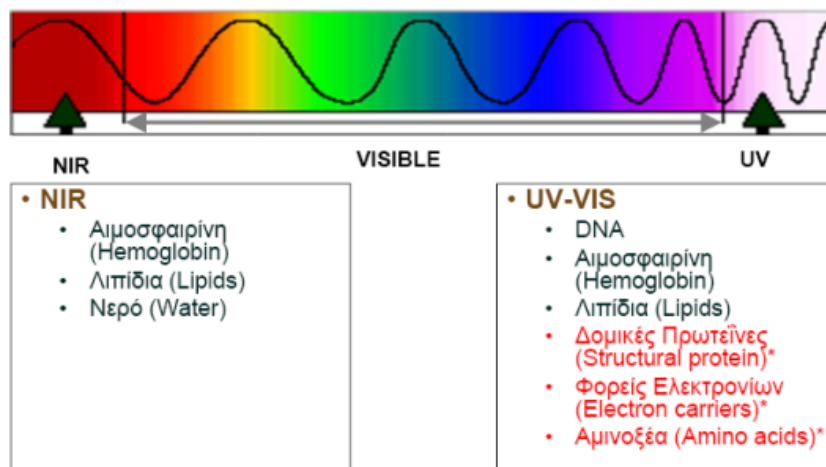


Σχήμα 2.17: Το «Οπτικό Παράθυρο» ή αλλιώς το «Διαγνωστικό και Θεραπευτικό Παράθυρο» διακρίνεται στην περιοχή μήκους κύματος ($600 - 1300 \text{ nm}$). Σε αυτή την περιοχή έχει χαμηλή απορρόφηση και τα φωτόνια μπορούν να επιβιώσουν αρκετά ώστε να φτάσουν βαθιά στον ιστό [21].



Σχήμα 2.18: Συστατικά ιστών και κυττάρων τα οποία αλληλεπιδρούν με το φως [11].

Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να γίνει μια βασική διάκριση μεταξύ της τοπικής απορρόφησης δομών όπως ένα ερυθρό αιμοσφαίριο, ένα αιμοφόρο αγγείο ή ένα μελανόσωμα και η μέση απορρόφηση ενός ιστού που περιέχει αυτές τις δομές. Η τοπική απορρόφηση καθορίζει την εναπόθεση ενέργειας στο ερυθρό αιμοσφαίριο ή το μελανόσωμα και συχνά είναι πολύ υψηλή. Η μέση απορρόφηση καθορίζει τη διάδοση του φωτός μέσω ενός ιστού, καθώς τα φωτόνια μπορούν να κινηθούν γύρω από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα αγγεία και τα μελανοσώματα και είναι συνήθως αρκετά χαμηλή [21].



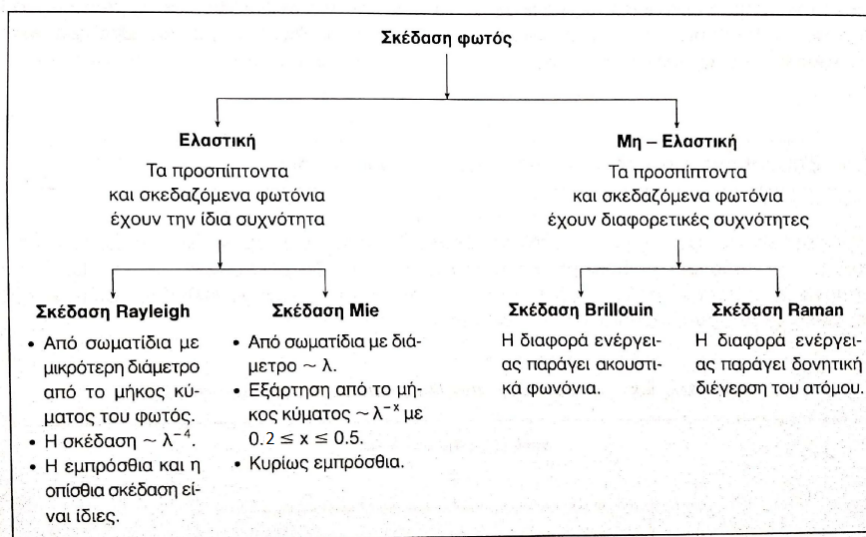
Σχήμα 2.19: Απορρόφηση φωτός από τα συστατικά βιολογικών ιστών [25].

2.2.4 Σκέδαση και συντελεστής σκέδασης μ_s

Η σκέδαση εξαρτάται από την υπερδομή (ultra structure) του ιστού, όπως για παράδειγμα από την πυκνότητα των λιπιδίων των μεμβρανών των κυττάρων, το μέγεθος των πυρήνων, την παρουσία ιών κολλαγόνου, την κατάσταση ενυδάτωσης του ιστού και από αρκετούς άλλους παράγοντες (σχήμα 2.22). Όπως και η απορρόφηση έτσι και η σκέδαση φωτός προκαλεί μείωση στην ένταση καθώς εισχωρεί στον ιστό. Επομένως, όταν πραγματοποιούνται μετρήσεις σχετικά με την εξάρτηση της σκέδασης από το μήκος κύματος, την πόλωση, τη γωνία σκέδασης ή τη σκέδαση φωτός, αποκτάται ένα

πολύ σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο και μπορεί να αξιοποιηθεί για φασματοσκοπικές και απεικονιστικές εφαρμογές.

Γενικά, η σκέδαση είναι αντικείμενο μελέτης της φυσικής οπτικής και μπορεί να διακριθεί σε δύο κατηγορίες, την ελαστική και την ανελαστική σκέδαση. Στην περίπτωση όπου η συχνότητα του προσπίπτοντος φωτονίου συμπίπτει με τη συχνότητα του σκεδαζόμενου τότε η σκέδαση είναι ελαστική και δεν παρατηρείται απώλεια ενέργειας. Σε αντίθετη περίπτωση συμβαίνει ανελαστική σκέδαση η οποία συνοδεύεται από απώλεια ενέργειας (σχήμα 2.20) [11].



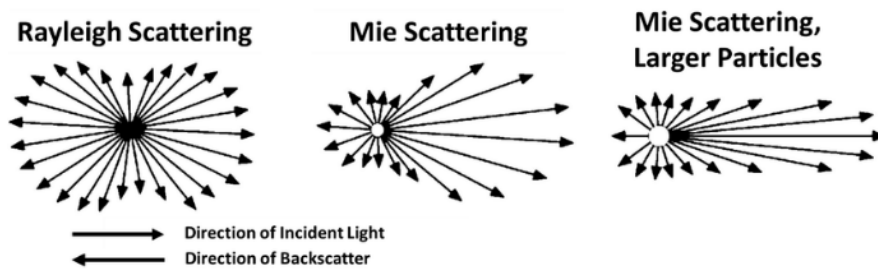
Σχήμα 2.20: Διάφορες διαδικασίες σκέδασης του φωτός στον ιστό [11].

Πιο συγκεκριμένα, κατά την ελαστική σκέδαση τα φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα κατά την αλληλεπίδραση φωτονίων - ύλης είναι τα ακόλουθα:

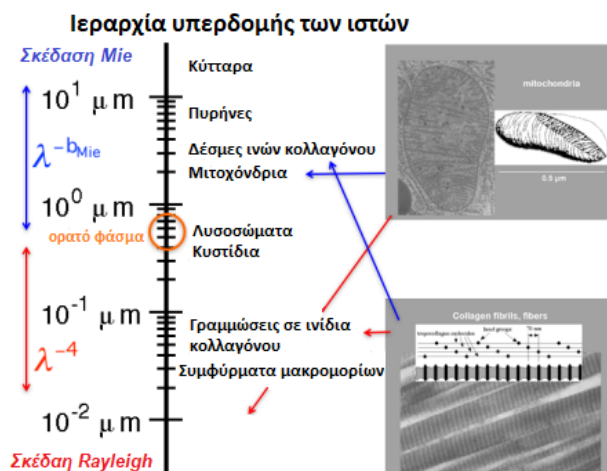
- Ανάκλαση και διάθλαση του φωτός λόγω των διαφορετικών δεικτών διάθλασης μεταξύ των διεπιφανειών
- Ανάκλαση του φωτός από σωματίδια στους ιστούς τα οποία κυμαίνονται από οργανικά μόρια έως ολόκληρα κύτταρα
- Απορρόφηση του φωτός από άτομα ή μόρια και επανακτινοβολήση στο ίδιο μήκος κύματος αλλά σε διαφορετική διεύθυνση

Οι ανωτέρω διαδικασίες αλλάζουν την διεύθυνση διάδοσης του φωτονίου σε σχέση με αυτή του προσπίπτοντος, όμως δεν χαρακτηρίζονται από απώλεια ενέργειας. Στην ανελαστική σκέδαση, η προσπίπτουσα ακτινοβολία αλληλεπιδρά με τα δονητικά επίπεδα των μορίων, προκαλώντας μεταβάσεις μεταξύ αυτών των επιπέδων και αλλάζοντας με αυτό τον τρόπο το αρχικό μήκος κύματος του φωτός (φασματοσκοπία Raman) [11, 13]. Η σκέδαση Rayleigh και η σκέδαση Mie αποτελούν δύο είδη ελαστικής σκέδασης. Η σκέδαση Rayleigh αναφέρεται σε σκέδαση από μικρά σωματίδια ή από ένα μέσο του οποίου οι διακυμάνσεις πυκνότητας είναι πολύ μικρότερες από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, ενώ η σκέδαση Mie αναφέρεται σε σκέδαση από σωματίδια με διάσταση συγκρίσιμη ή μεγαλύτερη από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός.

Η σκέδαση Mie είναι η γενική ονομασία για σκέδαση από σφαίρες οποιουδήποτε μεγέθους, μικρές και μεγάλες, και ο όρος σκέδαση Rayleigh αναφέρεται στο όριο εκείνης της σκέδασης Mie όπου τα σωματίδια είναι πολύ μικρότερα από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός [2, 26, 27]. Η σκέδαση Rayleigh είναι ισοτροπική δηλαδή, το φως εκτρέπεται προς όλες τις κατευθύνσεις κατά το ίδιο ποσοστό αφού η έντασή της είναι ανάλογη με το $\cos^2 \theta + 1$, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι οι εντάσεις εμπρόσθιας και οπισθοσκέδασης είναι σχεδόν ίσες. Επιπλέον, εξαρτάται οπωσδήποτε από το μήκος κύματος αφού είναι αντιστρόφως ανάλογη προς την τέταρτη δύναμη του μήκους κύματος, λ [20, 27]. Αντίθετα, η σκέδαση τύπου Mie δεν εξαρτάται από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, αλλά παρουσιάζει μεγαλύτερη ανισοτροπία κατά τη διάχυση του φωτός (σχήμα 2.21) [11, 24, 26].

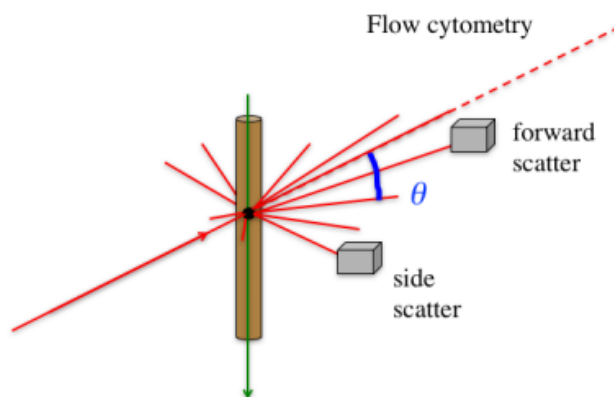


Σχήμα 2.21: Η σκέδαση Mie προκαλείται από μεγάλα σωματίδια, ενώ η σκέδαση Rayleigh προκαλείται κυρίως από μόρια [28].



Σχήμα 2.22: Υπάρχει μια ιεραρχία της δομής των ιστών σε σχέση με το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, που εκτείνεται από τις κυτταρικές μεμβράνες (10 nm) έως τα κύτταρα ($> 10 \mu\text{m}$). Το μέγεθος των μηκών κύματος λ στην ορατή περιοχή εμφανίζεται ως ο μικρός πορτοκαλί κύκλος μεταξύ ($400\text{--}800 \text{ nm}$). Οι δομές που είναι συγκρίσιμες ή μεγαλύτερες από το ορατό λ σκεδάζουν προς τα εμπρός και η σκέδαση του φωτός τους αναφέρεται συνήθως ως Mie, η οποία μειώνεται με την αύξηση του μήκους κύματος, συνήθως ως $\lambda^{-b_{mie}}$, όπου το b_{mie} είναι στην περιοχή $0,2 - 1$. Οι δομές που είναι μικρότερες από το ορατό λ σκεδάζουν ισοτροπικά και η σκέδαση του φωτός τους αναφέρεται συνήθως ως σκέδαση Rayleigh, η οποία μειώνεται γρήγορα σε σχέση με το μήκος κύματος ως λ^{-4} [1, 11, 21].

Σε έναν βιολογικό ιστό σκέδαση φωτός είναι το φαινόμενο αυτό που παρατηρείται, όταν φως προσπίπτει πάνω σε αυτόν και αλλάζει την κατεύθυνση ή τις κατευθύνσεις των προσπίπτοντων φωτονίων, χωρίς να χάνεται μέρος της συνολικής ενέργειας. Το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο του φωτός επάγει δίπολο στο μόριο του βιοϋλικού και η κάτρευση του διπόλου επανεκπέμπει φωτόνιο. Το μοτίβο της επανεκπομπής έχει σχήμα «ντόνατ», το οποίο σχεδιάζει ισομερώς αλλά όχι κατά μήκος του βόρειου ή νότιου πόλου. Αυτό το μοτίβο προκαλεί φαινόμενα πόλωσης (σχήμα 2.24).



Σχήμα 2.23: Ένα γεγονός σκέδασης εκτρέπει ένα φωτόνιο από την τροχιά του, η γωνία εκτροπής ονομάζεται θ (ακτίνα). Ορισμένα κύτταρα και ιστοί σχεδιάζουν το φως προς τα εμπρός, ενώ άλλα σχεδιάζουν σε ένα πιο ευρύτερο γωνιακό φάσμα [21].

Εάν η πυκνότητα των μορίων που επάγει δίπολα είναι ομοιόμορφη, δεν υπάρχει σκέδαση, διότι υπάρχει εποικοδομητική συμβολή όλων των επανεκπεμπόμενων πεδίων από όλα τα δίπολα στην αρχική διεύθυνση πρόσπτωσης και καταστρεπτική συμβολή σε όλες τις εκτός άξονα γωνίες επανεκπομπής [29].

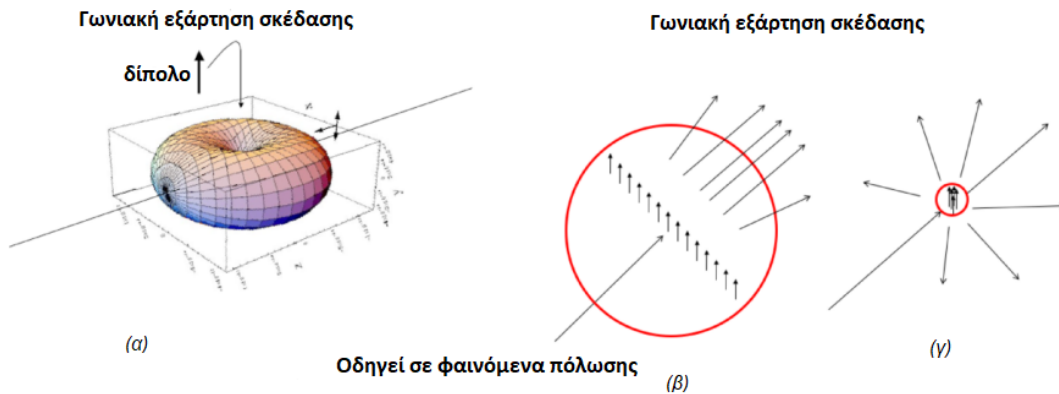
Οι δομές ή τα συστατικά ενός ιστού συμβάλλουν με διαφορετικό τρόπο και ποσοστό στο φαινόμενο της σκέδασης. Τόσο οι μακροσκοπικές δομές όπως οι ίνες όσο και εκείνες διαστάσεων μακρομορίων ή οργανιδίων των κυττάρων που ανήκουν στη μικροσκοπική κλίμακα. Επομένως, επειδή οι βιολογικοί ιστοί παρουσιάζουν μια ιεραρχία δομών (σχήμα 2.22), για τη σκέδαση του φωτός από τους βιολογικούς ιστούς γίνεται συζήτηση για την κατανομή του μεγέθους τόσο στη νανοαρχιτεκτονική όσο και τη μικροαρχιτεκτονική του εσωτερικού του κυτταρού και των εξωκυτταρικών δομών [11,29].

Ένα μίγμα από σφαίρες διαφορετικών μεγεθών μπορούν να μιμηθούν τη συμπεριφορά οπτικής σκέδασης ενός βιολογικού ιστού. Το σχετικό μέγεθος των σφαιρικών σωματιδίων (αδιάστατο) που σχεδιάζουν δίνεται από τη σχέση:

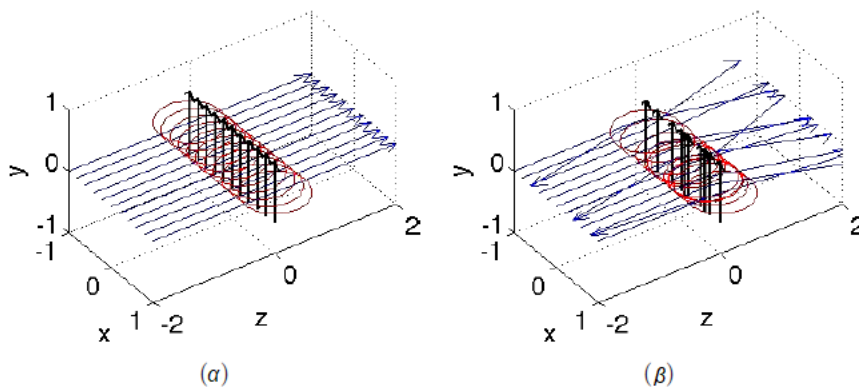
$$x = \frac{\pi D n_{med}}{\lambda}, \quad (2.20)$$

όπου $\frac{\lambda}{n_{med}}$ είναι το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός που διαδίδεται στο μέσο και D η διάμετρος του σφαιρικού σωματιδίου [1]. Ο όρος «σωματίδιο» χρησιμοποιείται εδώ χαλαρά για να αναφερθεί σε δομές που παρουσιάζουν μεταβολή του δείκτη διάθλασης, η οποία συνήθως αντιστοιχεί σε μεταβολή της τοπικής πυκνότητας μάζας, έτσι ώστε να εμφανίζεται μεταβολή των επαγωγίμων διπόλων, τα οποία σχεδιάζουν το φως. Ένα

τέτοιο σωματίδιο μπορεί να είναι μια διακριτή δομή, όπως ένας πυρήνας, ή μια συνεχής διακύμανση της πυκνότητας, όπως η διακύμανση της πυκνότητας των χρωμοσωμάτων εντός ενός πυρήνα [29].



Σχήμα 2.24: (α) Ένα να φωτόνιο αλληλεπιδρά με ένα μόριο και επάγει δίπολο. (β) Ένα κύμα φωτονίων αλληλεπιδρά με ένα μεγάλο σφαιρικό σωματίδιο και δημιουργεί πολλά δίπολα στο σωματίδιο. Όταν αυτά τα δίπολα καταρρεύσουν, η επανεκπομπή τους είναι «σε φάση» κατά μήκος της αρχικής τροχιάς. Τα κύματα που προέρχονται από όλα τα δίπολα αλληλεπιδρούν εποικοδομητικά. (γ) Ένα κύμα φωτονίων αλληλεπιδρά με ένα μικρό σφαιρικό σωματίδιο και δημιουργεί ένα τοπικό σύμπλεγμα διπόλων. Βρίσκονται σε τόσο κοντινή απόσταση μεταξύ τους ώστε η επανεκπομπή τους είναι «σε φάση» μεταξύ τους, ανεξάρτητα από τη γωνία επανεκπομπής. Δεν συμβάλουν καταστροφικά και έτσι σχεδιάζονται εξίσου σε όλες τις ισημερινές κατευθύνσεις [21].



Σχήμα 2.25: Σχηματική απεικόνιση της σκέδασης. (α) Μια ομοιόμορφη πυκνότητα διπόλων που προκαλείται από ένα προσπίπτον κύμα φως επανεκπέμπει έτσι ώστε η διάδοση εκτός άξονα να παρεμβάλλεται καταστροφικά και το διαδιδόμενο φως να παραμένει αδιάσπαστο. (β) Μια ανομοιόμορφη πυκνότητα διπόλων αποτυγχάνει να παρεμποδίσει καταστροφικά τη διάδοση εκτός άξονα και τα φωτόνια σχεδιάζονται [29].

Σύμφωνα με τη σχέση 2.20 για σκέδαση Mie ισχύει ότι $x \geq 1$ ενώ για σκέδαση Rayleigh $x \leq 1$. Ποιο από τα δύο είδη σκέδασης επικρατεί, εξαρτάται από το μήκος

κύματος ακτινοβολίας για δεδομένο δείγμα ιστού. Στην πραγματικότητα όμως, αυτό που συμβαίνει είναι ένας συνδυασμός των δύο σκεδάσεων, ανάλογα με το ποιες δομές κυριαρχούν στον βιολογικό ιστό π.χ τα λιπίδια μεμβρανών, το μέγεθος των πυρήνων, η παρουσία ινών κολλαγόνου, το ποσοστό λίπους ή νερού στον ιστό κ.ά. (σχήμα 2.22) [20, 30].



Οι πυρήνες φαίνονται σκοτεινοί ενώ ο κυτταροσκελετός λευκός.

Σχήμα 2.26: Η διάκριση μεταξύ εμπρόσθιας και ευρείας-ισοτροπικής σκέδασης είναι ιδιαίτερα εμφανής με τη χρήση συνεστιακής μικροσκοπίας ανάκλασης, στην οποία το φως παρέχεται στο κύτταρο από το μικροσκόπιο και το φως πρέπει να οπισθοσκεδαστεί στο μικροσκόπιο για να γίνει αντιληπτό. Μεγάλα σωματίδια όπως ο πυρήνας φαίνονται σκοτεινά επειδή σκεδάζονται σε μια κατεύθυνση προς τα εμπρός. Καμία ποσότητα φωτός δεν επιστρέφει στο μικροσκόπιο. Μικρές δομές όπως ο κυτταροσκελετός και οι μεμβράνες των μιτοχονδρίων φαίνονται φωτεινές επειδή διαχέονται προς τα εμπρός και προς τα πίσω, οπότε κάποια ποσότητα φωτός οπισθοσκεδάζεται στο μικροσκόπιο [21].

Η σκέδαση περιγράφεται από τον συντελεστή μ_s και είναι μια παράμετρος ανάλογη του συντελεστή απορρόφησης που συζητήθηκε προηγουμένως. Ο συντελεστής σκέδασης έχει διαστάσεις αντιστρόφου μήκους και μπορεί να οριστεί με διάφορους τρόπους.

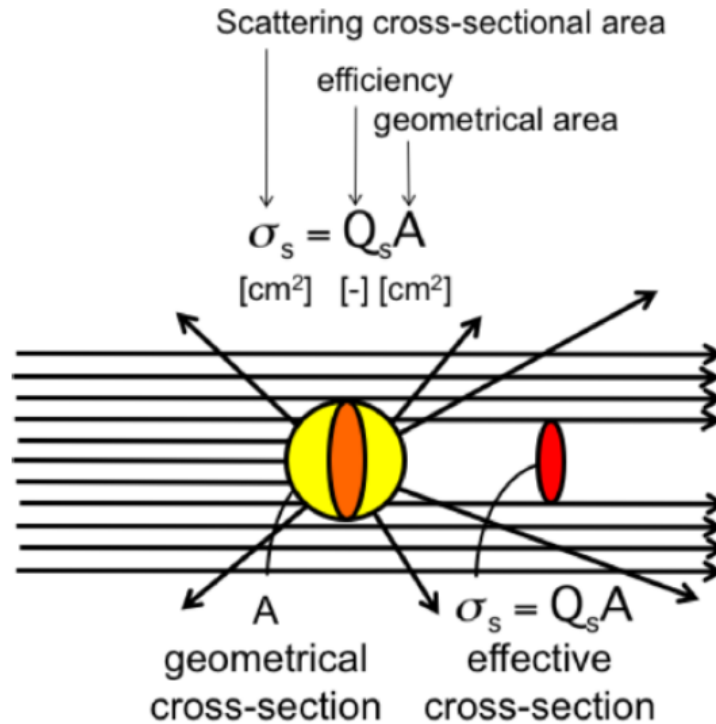
1. Όπως και στην απορρόφηση έτσι και εδώ, το σωματίδιο σκέδασης εξιδανικεύεται ως μια σφαίρα με ένα συγκεκριμένο γεωμετρικό μέγεθος. Αυτή η σφαίρα αλλάζει την κατεύθυνση των φωτονίων μετά την πρόσπτωσή τους, σε νέες κατευθύνσεις και έτσι αποτρέπει την προς τα εμπρός επί του άξονα μετάδοση φωτονίων, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια σκιά. Το μέγεθος της σκιάς σκέδασης καλείται αντίστοιχα ενεργός διατομή σκέδασης $\sigma_s (cm^2)$ και μπορεί να είναι μικρότερη ή μεγαλύτερη από το γεωμετρικό μέγεθος του σωματιδίου σκέδασης $A = \pi r^2 (cm^2)$ (σχήμα 2.27) [20, 30].

$$\sigma_s = A \cdot Q_s, \quad (2.21)$$

όπου Q_s (αδιάστατο μέγεθος) η σταθερά που σχετίζεται με την αναλογία γνωστή ως απόδοση σκέδασης. Συνεπώς, μέσω της ενεργού διατομής ο συντελεστής σκέδασης περιγράφεται από τη σχέση:

$$\mu_s = \rho_s \cdot \sigma_s, \quad (2.22)$$

όπου ρ_s η αριθμητική πυκνότητα των σωματιδίων σκέδασης - (αριθμός σωματιδίων που σκεδάζονται ανά μονάδα όγκου) (mol/cm^3).



Σχήμα 2.27: Απεικόνιση προσπίπτουσας ακτινοβολίας σε σκεδαζόμενο υλικό (χρωμοφόρο). Η εξασθένιση της ευθυγραμμισμένης δέσμης δίνεται από τη σχέση $\tau = e^{-\mu_s L}$ [21].

Η συνολική διατομή είναι το άθροισμα των διατομών σκέδασης και απορρόφησης, δηλαδή:

$$\sigma_t = \sigma_a + \sigma_s. \quad (2.23)$$

2. Επιπλέον, ο συντελεστής σκέδασης εκφράζει το μέσο μήκος ελεύθερης διαδρομής (mean free path, mfp) l_s μέχρι να συμβεί μία πιθανή σκέδαση, δηλαδή ισχύει:

$$l_s = \frac{1}{\mu_s}. \quad (2.24)$$

Παραδείγματος χάριν στην περιοχή του ερυθρού φωτός στο ανθρώπινο δέρμα, το μέσο ελεύθερο μήκος διαδρομής για να συμβεί απορρόφηση είναι 5 mm , ενώ το μέσο ελεύθερο μήκος διαδρομής για σκέδαση είναι 50 mm . Αυτό σημαίνει ότι στατιστικά, ένα φωτόνιο σκεδάζεται 100 φορές μέχρι να απορροφηθεί [20, 21].

3. Τέλος, ο συντελεστής μ_s μπορεί να οριστεί ως η πιθανότητα του μέσου ανά μονάδα μήκους διαδρομής να επανεκπέμψει τα φωτόνια σε νέες διευθύνσεις αποτρέποντας με αυτόν τον τρόπο την ευθύγραμμη πορεία τους. Αποτελεί δηλαδή, έναν μέσο όρο του πόσες φορές ένα φωτόνιο μπορεί να αλλάξει την κατεύθυνσή

του ανά μονάδα διαδρομής που σύμφωνα με τον νόμο Beer-Lambert μπορεί να εκφραστεί ως:

$$\mu_s = -\frac{\ln \tau}{L}, \quad (2.25)$$

όπου

$$\tau = \frac{I}{I_0} \quad (2.26)$$

είναι η πιθανότητα μετάδοσης του φωτονίου χωρίς ανακατεύθυνση από σκέδαση μετά από ένα μήκος διαδρομής L , I_0 η ένταση του εισερχόμενου φωτός, I η ένταση του οπισθοσχεδαζόμενου φωτός και L (cm) η διαδρομή που διανύει το φως μέσα στον ιστό [2, 21, 22].

Η μέτρηση του μ_s είναι ένα δύσκολο έργο αφού ο υπολογισμός του γίνεται συνήθως με τη μέτρηση του τ που προκύπτει από ευθυγραμμισμένη μετάδοση φωτός διαμέσου ιστού πάχους L . Όμως, τέτοιες μετρήσεις πρέπει να γίνονται μέσα από ένα λεπτό δείγμα ιστού, σε κλίμακα μιάς μέσης ελεύθερης διαδρομής l_s , το οποίο είναι τυπικά 100 μικρόμετρα ή και λιγότερο, αλλιώς θα συμβεί το φαινόμενο της πολλαπλής σκέδασης του φωτός πάνω στον ιστό. Αλλά και η παρασκευή ιστών τόσο λεπτής υφής δεν είναι εύκολη διότι παθαίνουν επιπλέον αφυδάτωση. Επίσης, σε τόσο λεπτά δείγματα ιστού γίνεται εμφανής κάποια ανομοιογένεια. Άλλο ένα σοβαρό θέμα είναι η στερεά γωνία συλλογής του ανιχνευτή, η οποία εάν είναι πολύ μεγάλη θα συλλέξει φωτόνια παρά την ήδη υπάρχουσα ελαφρά εκτροπή και έτσι δεν θα γίνει σωστή εκτίμηση του μ_s [2].

2.2.5 Συνάρτηση σκέδασης $p(\vartheta)$ και ανισοτροπία g

Όταν το φως προσπίπτει σε ένα σωματίδιο με δείκτη διάθλασης διαφορετικό από εκείνον του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται, τότε υπόκειται σε διάθλαση. Η γωνία διάθλασης είναι συνάρτηση του μεγέθους και του σχήματος του σωματιδίου, καθώς επίσης και του μήκους κύματος και της γωνίας πρόσπτωσης του φωτός. Γενικά κάθε σωματίδιο εμφανίζει διαφορετικό προφίλ σκέδασης, γνωστό ως συνάρτηση φάσης ή συνάρτηση σκέδασης.

Για τους περισσότερους βιολογικούς ιστούς, τα φωτόνια σκεδάζονται κατά προτίμηση κατά την εμπρόσθια κατεύθυνση (ανισοτροπική σκέδαση). Αυτό το φαινόμενο δεν μπορεί να εξηγηθεί από τη σκέδαση Rayleigh. Από την άλλη, η παρατηρούμενη εξάρτηση από το μήκος κύματος, είναι κάπως ισχυρότερη από την προβλεπόμενη μέσω της σκέδασης Mie. Συνεπώς, ούτε η σκέδαση Rayleigh, ούτε η σκέδαση Mie περιγράφουν πλήρως τη σκέδαση στους ιστούς. Είναι βολικό να οριστεί μια συνάρτηση σκέδασης $p(\vartheta)$ ή $p(\hat{s}, \hat{s}')$ που θα έχει μονάδες sr^{-1} και θα περιγράφει την πιθανότητα ένα φωτόνιο να σκεδαστεί υπό γωνία ϑ (σχήμα 2.28) [11].

Υπάρχει μια πληθώρα τρόπων, με τους οποίους η συνάρτηση σκέδασης μπορεί να εκφραστεί, αλλά η πιο κοινή μεθοδολογία είναι εκείνη που χρησιμοποιούν οι αστροφυσικοί. Αντιμετωπίζουν τη συνάρτηση σκέδασης σαν μια κατανομή πιθανότητας, με αποτέλεσμα η συνθήκη κανονικοποίησης που απαιτεί ολοκλήρωμα της συνάρτησης σκέδασης, σε όλες τις γωνίες να ισούται με την μονάδα:

$$\int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot d\omega = 1, \quad (2.27)$$

όπου $d\omega = \sin\vartheta d\vartheta d\phi$ είναι η διαφορική στερεά γωνία κατά την διεύθυνση \hat{s} . Η συνθήκη (2.27) δεν επιτρέπει στην συνάρτηση σκέδασης να περιγράψει γεγονότα απορρόφησης, αλλά μόνο γεγονότα κατανομής σκέδασης από το σωματίδιο [11, 20].

Επομένως, η κανονικοποιημένη συνάρτηση σκέδασης, $p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot d\omega$, εκφράζει τη γωνιακή πιθανότητα ένα φωτόνιο με κατεύθυνση παράλληλη προς το μοναδιαίο διάνυσμα \hat{s} , να σκεδαστεί προς την κατεύθυνση \hat{s}' . Για τυχαίους μαλακούς ιστούς μπορεί να θεωρηθεί ότι η κατανομή πιθανότητας της συνάρτησης φάσης είναι μια συνάρτηση της γωνίας μεταξύ προσπίπτοντος και σκεδαζόμενου φωτονίου και ότι δεν εξαρτάται από την γωνία που σχηματίζει το προσπίπτον φως με τον σκεδαστή. Με βάση αυτή την θεώρηση, η συνάρτηση φάσης μπορεί να εκφραστεί ως συνάρτηση του συνημιτόνου της γωνίας σκέδασης, δηλαδή:

$$p(\hat{s}, \hat{s}') = p(\hat{s} \cdot \hat{s}') = p[|\hat{s}| |\hat{s}'| \cos\vartheta] = p[\cos\vartheta]. \quad (2.28)$$

Σε πολλές πρακτικές εφαρμογές, η ακόλουθη Henyey-Greenstein σχέση αποτελεί μια καλή προσέγγιση της συνάρτησης σκέδασης:

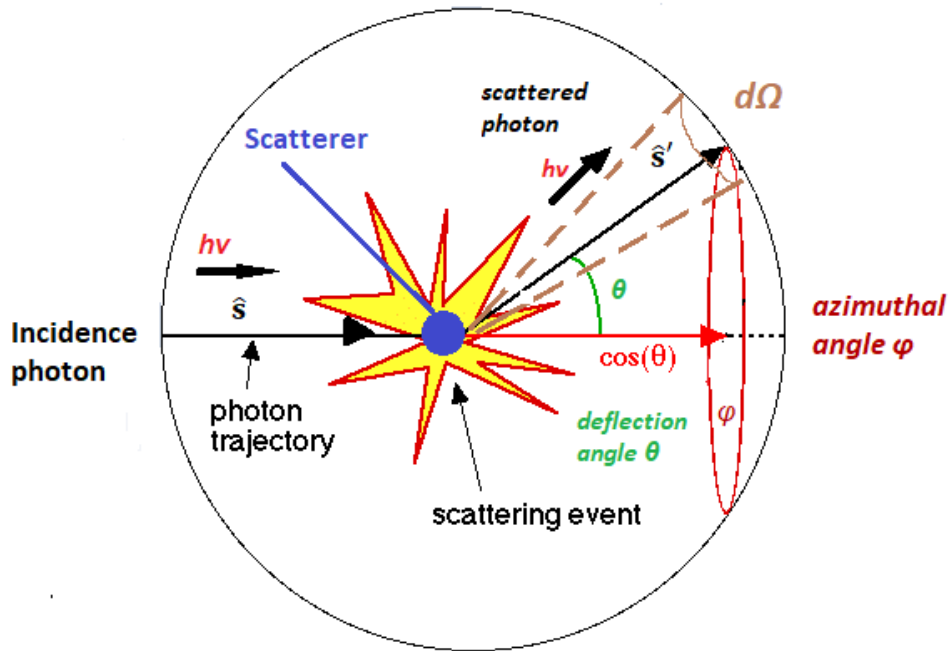
$$p(\vartheta) = \frac{1}{4\pi} \cdot \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g\cos\vartheta)^{\frac{3}{2}}}, \quad (2.29)$$

όπου g ο παράγοντας ανισοτροπίας. Η συνθήκη κανονικοποίησης θα αλλάξει μορφή ως ακολούθως:

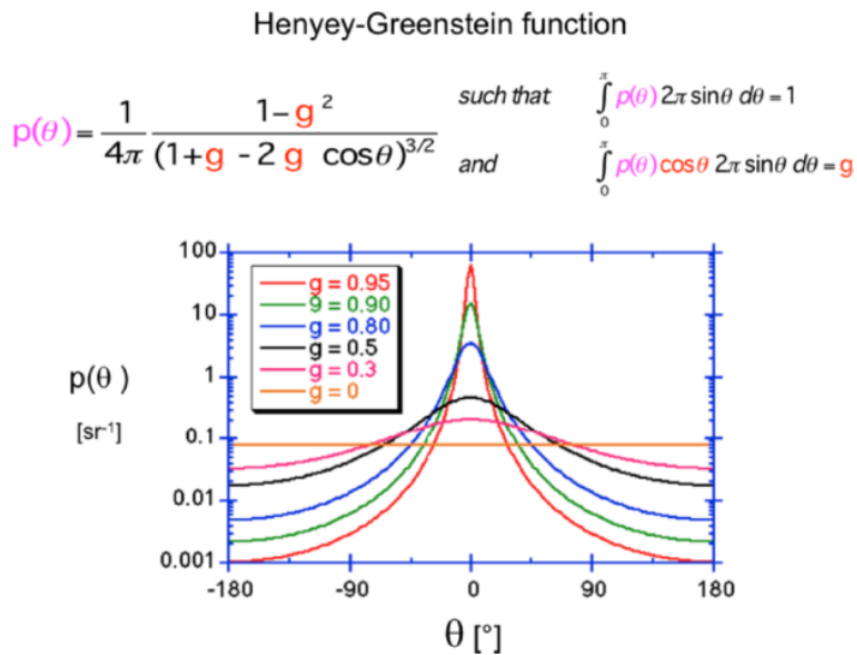
$$\int_{4\pi} p(\vartheta) \cdot d\omega = \int_0^\pi \int_0^{2\pi} p(\vartheta) \sin\vartheta d\vartheta d\phi = \int_0^\pi p(\vartheta) 2\pi \sin\vartheta d\vartheta = 1. \quad (2.30)$$

Αν η $p(\vartheta)$ δεν εξαρτάται από την γωνία ϑ , μιλάμε για ισοτροπική σκέδαση. Αλλιώς έχουμε την περίπτωση της ανισοτροπικής σκέδασης. Πρέπει να σημειωθεί ότι η συνάρτηση Henyey-Greenstein και άλλες συναρτήσεις $p(\vartheta)$ περιγράφουν μόνο τη γωνία εκτροπής ϑ [11, 20, 21].

Έστω ότι ένα φωτόνιο σκεδάζεται από ένα σωματίδιο έτσι ώστε η τροχιά του να εκτρέπεται υπό μια γωνία εκτροπής ϑ σε σχέση με την αρχική του τροχιά (σχήμα 2.28). Η κατεύθυνση της νέας τροχιάς παριστάνεται με κόκκινο χρώμα. Η μέση γωνία εκτροπής - σκέδασης και η μέση τιμή του $\cos(\vartheta)$ ορίζουν τον παράγοντα ανισοτροπίας. Υπάρχει επίσης και η αζιμουθιακή γωνία σκέδασης, ϕ , έτσι ώστε η $p(\vartheta, \phi)$ να είναι η πληρέστερη περιγραφή και θα ήταν σχετική με μετρήσεις όπου συλλέγεται σκέδαση από μεμονωμένα γεγονότα σκέδασης από προσανατολισμένους σκεδαστές. Αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις, οι σκεδαστές είναι τυχαία προσανατολισμένοι, έτσι η αζιμουθιακή εξάρτηση συχνά αγνοείται και η ποσότητα που επηρεάζει την τελική κατεύθυνση του φωτονίου είναι η γωνία εκτροπής ϑ [21].



Σχήμα 2.28: Τροχιά φωτονίου που σκεδάζεται κατά γωνία εκτροπής θ [21].



Σχήμα 2.29: Γραφική απεικόνιση της γωνιακής εξάρτησης της συνάρτησης σκέδασης $p(\theta)$. Καθώς το g πλησιάζει το 1.0, η σκέδαση γίνεται πολύ κατευθυνόμενη προς τα εμπρός. Οι τιμές του παράγοντα ανισοτροπίας για διάφορους ιστούς κυμαίνονται στην περιοχή $0.7 < g < 0.95$ [21].

Η ανισοτροπία ή ο παράγοντας ανισοτροπίας g (αδιάστατο μέγεθος), είναι το μέτρο της ποσότητας της ακτινοβολίας που διατηρείται στην ίδια κατεύθυνση μετά από μία

σκέδαση. Επειδή σε βιολογικούς ιστούς κυριαρχεί η ανισοτροπική σκέδαση είναι προτιμότερο να οριστεί μία μέση γωνία σκέδασης, η οποία περιγράφεται μέσω αυτού του παράγοντα ανισοτροπίας ως εξής:

$$g = \int_0^\pi p(\vartheta) \cos \vartheta 2\pi \sin \vartheta d\vartheta = \langle \cos \vartheta \rangle, \quad (2.31)$$

όπου ομοίως

$$\int_0^\pi p(\vartheta) 2\pi \sin \vartheta d\vartheta = 1. \quad (2.32)$$

Ο παράγοντας ανισοτροπίας μπορεί να πάρει τις εξής τιμές:

- $g = -1$ (για εξ ολοκλήρου οπισθοσκέδαση) έως 1 (για εξ ολοκλήρου εμπρόσθια σκέδαση),
- $g = 0$ για ισοτροπική σκέδαση - (με $p(\vartheta) = \frac{1}{4\pi}$ σύμφωνα με τη σχέση 2.30),
- $g = 0.8$ έως 0.95 για τους περισσότερους βιολογικούς ιστούς και
- $g = 0.7$ έως 0.99 για in vitro ιστούς στην περιοχή του ορατού και του κοντινού υπέρυθρου [2, 20, 21, 31].

Βέβαια η ποσότητα g μπορεί να υπολογιστεί και μέσω της σχέσης:

$$g = 1 - \frac{\mu'_s}{\mu_s}. \quad (2.33)$$

Μείωση του μ_s συνεπάγεται και μείωση της ανισοτροπίας g ενώ η μείωση του μ'_s συνεπάγεται αύξηση της ανισοτροπίας g (σχέση 2.35).

Μια πρόσφατη προσέγγιση έχει να κάνει με τη μέτρηση της εξασθένησης, της οπισθοσκεδαζόμενης ανάκλασης του φωτός που συλλέγεται από ένα ομοεστιακό μικροσκόπιο (confocal microscope) που εστιάζει πάνω στον ιστό που φωτίζεται. Μια υψηλή τιμή του g επιτρέπει στο φως που εστιάζεται να διεισδύσει στον ιστό, παρά το φαινόμενο της πολλαπλής σκέδασης και έτσι να επιστρέψει από το σημείο της εστίασης και να μπορεί να φθάσει στη μικρή διαστάσεων κεφαλής καρφίτσας οπή του συλλέκτη. Ωστόσο, μια υψηλή τιμή του g μειώνει την ποσότητα του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός που έρχεται από το σημείο της εστίασης με αποτέλεσμα να μειώνεται και η ποσότητα του ανακλώμενου φωτός που πηγαίνει στον συλλέκτη.

Η μέτρηση του συντελεστή ανάκλασης, $R(z)$ εξαρτάται από δύο παραμέτρους:

- την εξασθένιση μ (cm^{-1}) ως προς το βάθος της εστίασης και
- την απόλυτη τιμή του ανακλώμενου σήματος από την περιοχή της εστίασης (ρ , ένας καθρέφτης ορίζει $\rho = 1$).

Συνεπώς, ισχύει:

$$R(z) = \rho \cdot e^{\mu z}. \quad (2.34)$$

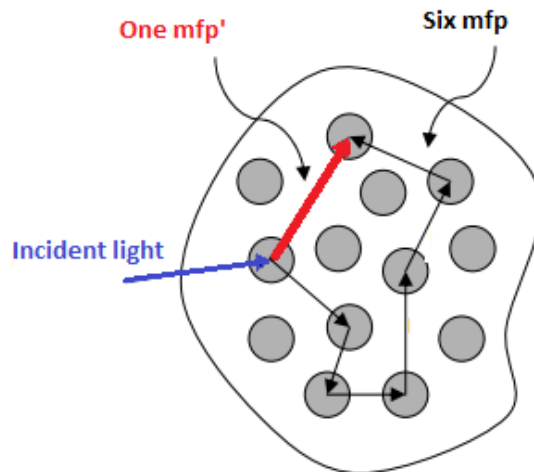
Μαζί τα μεγέθη μ και ρ καθορίζουν τις δυο άγνωστες τιμές μ_s και g (σχήμα 3.8) [2].

2.2.6 Ενεργός συντελεστής σκέδασης μ'_s

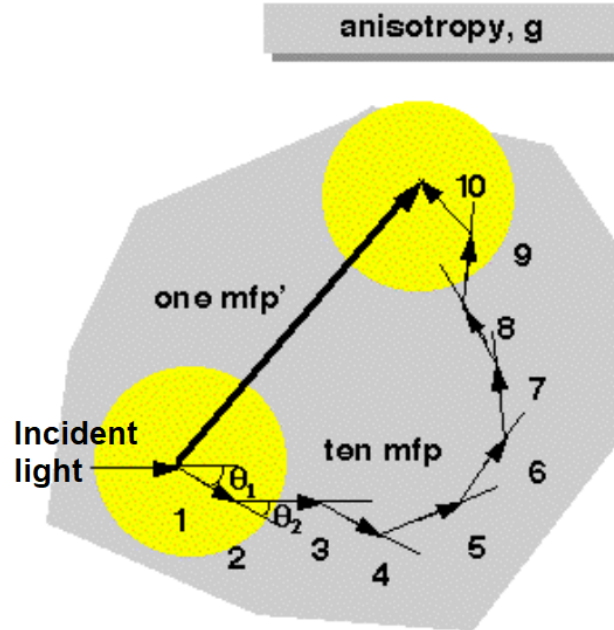
Ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μ'_s εξαρτάται από τον συντελεστή σκέδασης μ_s και την ανισοτροπία g και δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g). \quad (2.35)$$

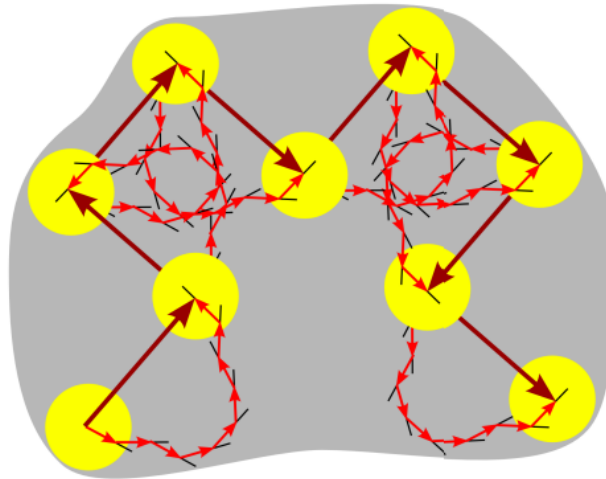
Ο σκοπός της μ'_s είναι να περιγράψει την διάχυση των φωτονίων σε μια πορεία από τυχαία βήματα μεγέθους $l'_s = \frac{1}{\mu'_s} \text{ cm}$, όπου κάθε βήμα περιλαμβάνει και μία ισοτροπική σκέδαση. Μια τέτοια περιγραφή είναι ισοδύναμη με την περιγραφή της κίνησης των φωτονίων χρησιμοποιώντας πολλά μικρά βήματα $l_s = \frac{1}{\mu_s}$ και το κάθε βήμα περιλαμβάνει μόνο ένα μέρος της γωνία εκτροπής, αν υπάρχουν πολλά γεγονότα σκέδασης (scattering events) πριν από ένα γεγονός απορρόφησης (absorption event), δηλαδή, $\mu_a \ll \mu'_s$. Αυτή η καθοδηγούμενη μεταφορά της σχεδασμένης ακτινοβολίας είναι χρήσιμη για την κατανόηση της διάδοσης του ορατού και εγγύς υπέρυθρου φωτός διαμέσου των βιολογικών ιστών [20, 21, 32].



Σχήμα 2.30: Τα σωματίδια σκέδασης απεικονίζονται ως δίσκοι σε χρώμα γκρί, τα έξι μικρά βέλη δείχνουν την κατεύθυνση της μετάβασης των φωτονίων μεταξύ διαδοχικών στοιχειωδών αλληλεπιδράσεων σκέδασης ενώ το μεγάλο κόκκινο βέλος δείχνει την κατεύθυνση της αποτελεσματικής μετάβασης των φωτονίων ως αποτέλεσμα πολλαπλής σκέδασης. Η ισοδυναμία του mfp' ή $l'_s = \frac{1}{\mu'_s}$ με το (mean free path)= mfp ή $l_s = \frac{1}{\mu_s}$. Έξι βήματα mfp ισοδυναμούν με ένα mfp' . Ως έξι mfp ορίζεται η σειρά των βημάτων [13, 16, 21].



Σχήμα 2.31: Ένα φωτόνιο που κάνει πολλά μικρά βήματα mfp ή $l_s = \frac{1}{\mu_s}$ όπου ($\mu_s \gg \mu_a$), ισοδυναμεί με το φωτόνιο που παίρνει ένα μεγάλο τυχαία προσανατολισμένο βήμα mfp', δηλαδή $l'_s = \frac{1}{\mu_s(1-g)}$. Με ανισοτροπία $g = \langle \cos \theta \rangle = 0.90$ και $\langle \theta \rangle = \theta_1 = \theta_2 = \theta_3 \dots = \theta_{10} = 26^\circ$ προκύπτει $\mu'_s = \mu_s(1-g) = 0.10\mu_s$ [16, 21, 32].



Σχήμα 2.32: Για πιο ανισότροπη συνάρτηση φάσης (δηλαδή, μεγαλύτερος συντελεστής g) απαιτούνται περισσότερα στοιχειώδη βήματα σκέδασης για τη μετατροπή της κατανομής των φωτονίων σε ισότροπη. Το παραπάνω σχήμα δείχνει πόσα τέτοια μεγάλα βήματα που περιλαμβάνουν ισότροπική σκέδαση είναι ισοδύναμα με πολλά μικρά ανισότροπα βήματα [16, 21, 32].

2.2.7 Βάθος διείσδυσης δ

Το βάθος διείσδυσης σε μονάδες μήκους cm , ορίζεται ως η μέση απόσταση που δύναται να ταξιδέψει το φως μέσα στον ιστό πριν απορροφηθεί ή/και σκεδαστεί. Υπολογίζεται ως το αντίστροφο του αθροίσματος των συντελεστών απορρόφησης και σκέδασης:

$$\delta = \frac{1}{\mu_a + \mu_s}. \quad (2.36)$$

Η παραπάνω σχέση ισχύει και για ανιστροπική σκέδαση αν γίνει αντικατάσταση του μ_s με το μ'_s . Το βάθος διείσδυσης εκφράζει το πάχος του ιστού στο οποίο το μέτρο της έντασης της ακτινοβολίας ελαττώνεται στο e^{-1} ($\sim 37\%$) της έντασης της αρχικής προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Ο ισχυρισμός αυτός αποδεικνύεται από τον νόμο του Lambert:

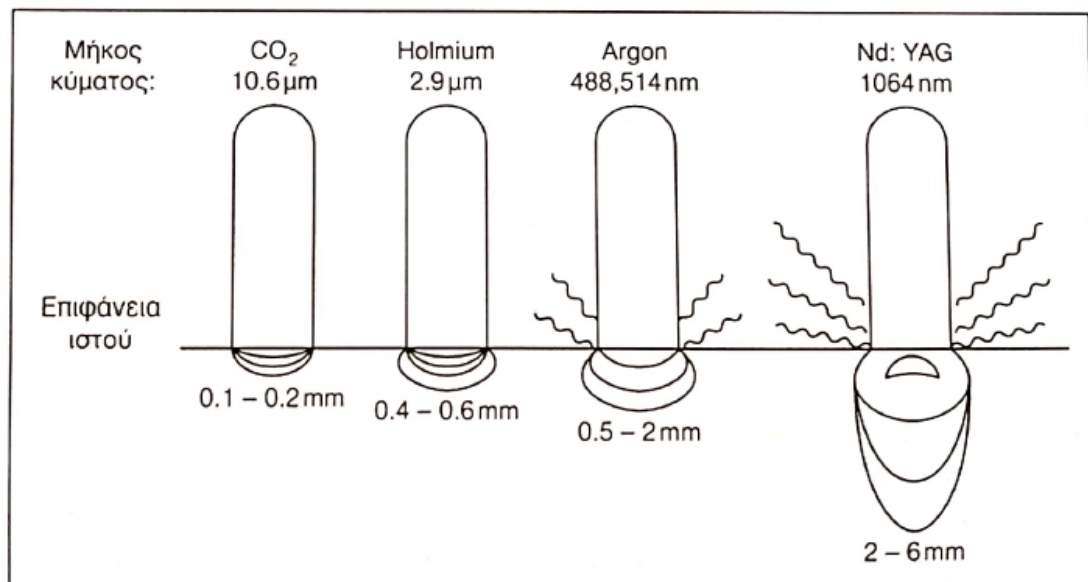
$$I(z) = I_0 e^{-(\mu_a + \mu_s) \cdot z}, \quad (2.37)$$

θέτοντας $I(z) = I_0/e$. Πράγματι με την αντικατάσταση αυτή η εξίσωση 2.37 καταλήγει στην εξίσωση 2.36, που αποτελεί και την εξίσωση ορισμού του βάθους διείσδυσης [11].

Μια ισοδύναμη όμως σχέση προσδιορισμού της είναι και η ακόλουθη [4]:

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}}. \quad (2.38)$$

Αξίζει να σημειωθεί, πως το βάθος διείσδυσης αποτελεί μια σημαντική παράμετρο για τον ορθό προσδιορισμό της δόσης ακτινοβολίας στην φωτοθερμική και φωτοδυναμική θεραπεία διαφόρων ασθενειών [4].



Σχήμα 2.33: Βάθη διείσδυσης για μήκη κύματος στα οποία εκπέμπουν ευρέως χρησιμοποιούμενα lasers [11].

Παρατηρώντας το σχήμα 2.33 γίνεται αντιληπτό πως το βάθος διείσδυσης αλλά και το είδος αλληλεπίδρασης με τον βιολογικό ιστό, εξαρτάται από τον τύπο laser που θα

χρησιμοποιηθεί. Τα lasers είναι πηγές φωτός οι οποίες παράγουν μια δέσμη σχεδόν μονοχρωματικού φωτός με υψηλό βαθμό συμφωνίας, ως αποτέλεσμα συντονισμένης εκπομπής από πολλά άτομα, χρησιμοποιούνται δε ευρύτατα στη Βιοφωτονική και Βιοϊατρική. Η χρήση τους εμπίπτει σε δυο κατηγορίες: η πρώτη χρησιμοποιεί τα lasers ως ισχυρή και κατάλληλη πηγή φωτονίων, η δεύτερη αξιοποιεί την υψηλή συμφωνία δέσμης lasers. Οι αρχές λειτουργίας του laser κατανοούνται με βάση τις έννοιες του φωτονίου και των ατομικών ενεργειακών σταθμών [11].

2.2.8 Ολικός συντελεστής εξασθένησης μ_t

Σκέδαση και απορρόφηση κατά την αλληλεπίδραση φωτός και βιολογικού ιστού συμβαίνουν ταυτόχρονα (σχήμα 2.4). Το άθροισμα του συντελεστή σκέδασης και του συντελεστή ανάκλασης ονομάζεται ολικός συντελεστής εξασθένησης μ_t :

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s. \quad (2.39)$$

Από την εξίσωση 2.36 καθίσταται εμφανής η σχέση αντιστροφής μεταξύ του ολικού συντελεστή εξασθένησης και του βάθους διείσδυσης. Οι μονάδες του ολικού συντελεστή εξασθένησης, όπως προκύπτει και από την εξίσωση 2.39, είναι μονάδες αντιστρόφου μήκους cm^{-1} . Κατά αναλογία με τη σχέση 2.39 και με την χρήση της σχέσης 2.35, ορίζεται ο ολικός ενεργός συντελεστής εξασθένησης (transport attenuation coefficient) μ_{tr} ως εξής [11]:

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu'_s. \quad (2.40)$$

2.2.9 Οπτικό βάθος β

Το οπτικό βάθος β , είναι το γινόμενο του πάχους του ιστού με το άθροισμα των συντελεστών σκέδασης και απορρόφησης:

$$\beta = L \cdot (\mu_a + \mu_s), \quad (2.41)$$

όπου L είναι το πάχος του ιστού. Στην περίπτωση που το οπτικό βάθος ισούται με τη μονάδα, η πιθανότητα το φως να ταξιδέψει την απόσταση L χωρίς να υποστεί σκέδαση ή απορρόφηση ισούται με e^{-1} , δηλαδή με 37% [11].

Κεφάλαιο 3

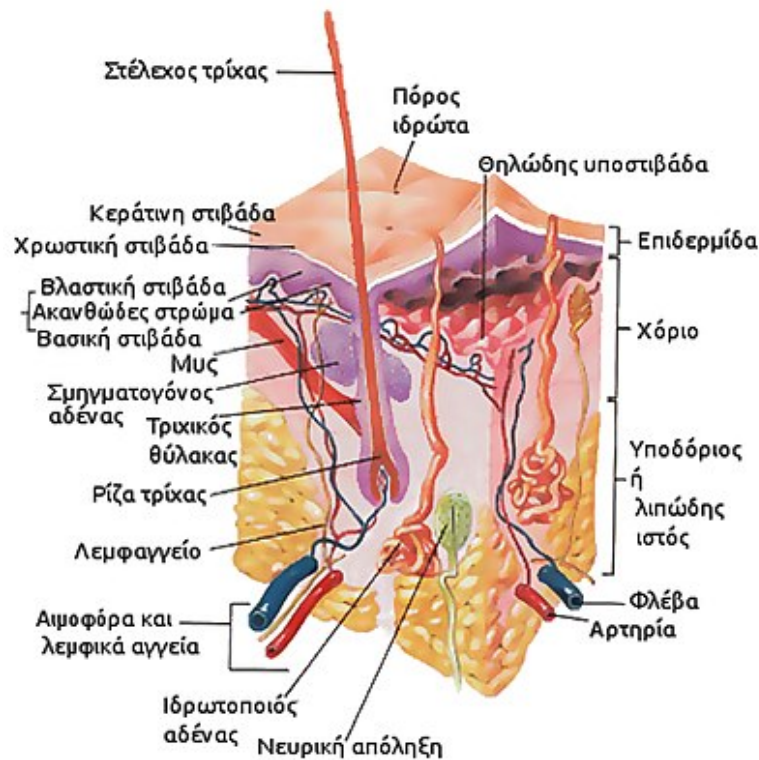
Θεωρητικό Υπόβαθρο Μελέτης και Πειραματικό Πλαίσιο διερεύνησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης του ανθρώπινου δέρματος

Η ανάπτυξη των οπτικών μεθόδων στη σύγχρονη ιατρική στους τομείς της διάγνωσης, της θεραπείας και της χειρουργικής έχει ενθαρρύνει τη διερεύνηση των οπτικών ιδιοτήτων διαφόρων βιολογικών ιστών, δεδομένου ότι η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με laser εξαρτάται από τη διάδοση των φωτονίων και την κατανομή του ρυθμού ροής εντός των ακτινοβολούμενων ιστών. Ωστόσο, οι οπτικές ιδιότητες πολλών ιστών δεν έχουν μελετηθεί σε ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος. Σε αυτή την ενότητα θα μελετηθούν οι οπτικές ιδιότητες διαφόρων βιολογικών ιστών - με κύρια έμφαση το δέρμα - σε ένα εύρος μηκών κύματος (400-2000) *nm*.

3.1 Ανατομία του δέρματος

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο ζωτικό όργανο του σώματος, αντιπροσωπεύοντας το 15-20 % της συνολικής μάζας του σώματος. Είναι η μαλακή εξωτερική κάλυψη των ιστών και προστατεύει τους μύες, τα οστά, τους συνδέσμους καθώς και τα εσωτερικά όργανα των οργανισμών. Εκτός του ότι προσφέρει κάλυμα για τους υποκείμενους μαλακούς ιστούς, το δέρμα επιτελεί πολλές επιπλέον σημαντικές λειτουργίες. Σχηματίζει ένα φυσικό φραγμό που αποκλείει τους μικροοργανισμούς και άλλες ξένες ουσίες ενώ ταυτόχρονα βοηθά το σώμα να διατηρήσει τα ζωτικά του υγρά. Οι πιο απομακρυσμένες στιβάδες προστατεύουν τους υποκείμενους ιστούς από την τριβή και από άλλες μηχανικές φθορές, χημικά, παθογόνα αλλά και από την υπεριώδη ακτινοβολία. Περιλαμβάνει ενεργούς μηχανισμούς μικροβιακής άμυνας που ενισχύουν τη λειτουργία του ως φραγμού, όταν παραβιαστεί. Το δέρμα υπηρετεί, επίσης, έναν ζωτικής σημασίας θερμορυθμιστικό ρόλο. Εκκρίνει υδατικά διαλύματα που αυξάνουν την απώλεια θερμότητας μέσω εξάτμισης. Επιπλέον, η ποσότητα του αίματος που ρέει μέσω του δέρματος διαμορφώνεται ως τρόπος διατήρησης ή αποβολής της θερμότητας του σώματος

στο περιβάλλον. Τέλος, το δέρμα είναι ένα αισθητήριο όργανο που περιλαμβάνει μεγάλη ποικιλία νευρών και ειδικών υποδοχέων που συλλέγουν αισθητήριες πληροφορίες για το εξωτερικό περιβάλλον και την αλληλεπίδραση με άλλα σώματα [33].



Σχήμα 3.1: Ανατομία του δέρματος [34].

Το δέρμα αποτελείται από δύο στρώματα που καλύπτουν ένα τρίτο λιπαρό στρώμα. Αυτά τα τρία στρώματα διαφέρουν ως προς τη λειτουργία, το πάχος και την αντοχή. Το εξωτερικό στρώμα που ονομάζεται επιδερμίδα (epidermis), είναι ένα σκληρό προστατευτικό στρώμα με πάχος έως $100\ \mu\text{m}$. Η επιδερμίδα μπορεί να υποδιαιρεθεί σε δύο υποστρώματα: τη μη ζωντανή και τη ζωντανή επιδερμίδα. Η μη ζωντανή επιδερμίδα ή κεράτινη στιβάδα (πάχους περίπου $20\ \mu\text{m}$) αποτελείται μόνο από νεκρά πλακώδη κερατινοκύτταρα (μη αγγειακό στρώμα), με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια και πρωτεΐνες και σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό. Η ζωντανή επιδερμίδα (πάχους $100\ \mu\text{m}$) περιέχει το μεγαλύτερο μέρος της μελάγχρωσης του δέρματος, κυρίως τη μελανίνη, η οποία παράγεται στα μελανοκύτταρα [1, 34].

Το δεύτερο στρώμα που βρίσκεται κάτω από την επιδερμίδα ονομάζεται χόριο (corium ή dermis). Είναι ένα αγγειωμένο και παχύτερο από την επιδερμίδα στρώμα, πάχους περίπου (1-4) mm αφού περιέχει μεγαλύτερου μεγέθους κύτταρα. Αποτελείται από νευρικά κύτταρα, πληθώρα αιμοφόρων αγγείων, ίνες ελαστικής οι οποίες παρέχουν την απαιτούμενη ελαστικότητα του δέρματος, καθώς και από ίνες κολλαγόνου οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη δομή και τη στήριξη του δέρματος [1, 13, 33, 34].

Κάτω από αυτά τα δύο στρώματα δέρματος βρίσκεται ένα λιπαρό στρώμα υποδόριου ιστού, γνωστό ως υποδόριο ή υποδερμίδα ή λιπώδης ιστός (subcutaneous tissue ή hypodermis). Έχει πάχος (1-9) mm, το οποίο διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο και εξαρτάται από την κατανομή του λίπους στο σώμα. Στον υποδόριο ιστό, ανάμεσα στις

πτυχές του δέρματος που διογκώνονται σε αυτό, υπάρχουν μικροσκοπικές κοιλότητες. Αυτές οι κοιλότητες είναι γεμάτες με ιστό αποθήκευσης κατασκευασμένο από λίπος και νερό. Το λίπος προστατεύει τα οστά και τις αρθρώσεις από τα χτυπήματα και χρησιμεύει και ως μόνωση. Επιπλέον, πολλές ορμόνες παράγονται στα λιπώδη κύτταρα του υποδέρματος [1, 13, 34, 35].

Συνεπώς, γίνεται σαφές πως το δέρμα είναι ένα πολυστρωματικό και ανομοιογενές όργανο. Από επιστημονικής πλευράς, οι διαδικασίες αλληλεπίδρασης του φωτός με το ανθρώπινο δέρμα έχουν θεμελιώδη σημασία για τις βιοϊατρικές επιστήμες. Μελετώντας τις διεργασίες που εμπλέκονται στην απομάκρυνση του φωτός από το δέρμα, μπορούν να αναπτυχθούν καλύτερα πρωτόκολλα - μοντέλα για την αυτόματη διάγνωση ιατρικών καταστάσεων, όπως ο ίκτερος (κιτρινωπή απόχρωση), το ερύθημα (ερυθρότητα), καθώς και όγκοι σε πρώιμα στάδια [35].

3.2 Εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης μ'_s από το μήκος κύματος λ

Ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μ'_s ενός βιολογικού ιστού, περιγράφεται με μαθηματική σχέση σαν συνάρτηση του μήκους κύματος λ του προσπίπτοντος φωτός η οποία δεν καλύπτει το θέμα στην ολότητα του, αλλά εκφράζει με πληρότητα το φαινόμενο της σκέδασης για επτά ομάδες ιστών: δέρματος, εγκεφάλου, στήθους, οστών, άλλων μαλακών ιστών, άλλων ινωδών ιστών και των λιπωδών ιστών. Τιμές για τον συντελεστή μ'_s προκύπτουν από τις ακόλουθες δύο εξισώσεις:

$$\mu'_s(\lambda) = a \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b}, \quad (3.1)$$

$$\mu'_s(\lambda) = a' \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right], \quad (3.2)$$

όπου οι παράμετροι a , b , a' , b_{Mie} , f_{Ray} καθορίζουν την τυπική συμπεριφορά σκέδασης ως προς το μήκος κύματος [2].

Στην εξίσωση 3.1 ο συντελεστής a αποτελεί την τιμή του ενεργού συντελεστή σκέδασης για μήκος κύματος $\lambda = 500 \text{ nm}$, δηλαδή: $a = \mu'_s(\lambda = 500 \text{ nm})$ ενώ ο συντελεστής b χαρακτηρίζει την εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος λ και είναι γνωστός ως ισχύς σκέδασης [2].

Στην εξίσωση 3.2, η εξάρτηση του συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος περιγράφεται ως προς τις ξεχωριστές συνεισφορές της σκέδασης Rayleigh και της σκέδασης Mie στο μήκος κύματος αναφοράς 500 nm .

Παρομοίως, ο συντελεστής $a' = \mu'_s(\lambda = 500 \text{ nm})$ ενώ η σκέδαση Rayleigh υποδηλώνεται από τον όρο $a' \cdot f_{Ray} \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-4}$ με $b = 4$ και η σκέδαση Mie υποδηλώνεται με τον όρο $a' \cdot (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b_{Mie}} = a' \cdot f_{Mie} \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b_{Mie}}$, όπου f_{Mie} εκφράζει το ποσοστό συνεισφοράς της σκέδασης Mie και b_{Mie} αποτελεί την ισχύς σκέδασης Mie [2].

Είναι σημαντικό σε αυτό το εδάφιο να κατανοηθεί πώς προέκυψε ο ενεργός συντελεστής σκέδασης να εκφράζεται μέσω ενός νόμου δύναμης. Διευκρινίζεται ότι ένας

νόμος δύναμης, σύμφωνα με τη στατιστική αποτελεί μια συναρτησιακή σχέση μεταξύ δύο ποσοτήτων, όπου μια ποσότητα μεταβάλλεται ως δύναμη της άλλης.

Στο δεύτερο Κεφάλαιο έχει αναφερθεί πως ο συνολικός δείκτης διάθλασης ενός μέσου είναι μια μιγαδική ποσότητα που περιγράφεται από τη σχέση $n = n' + ik$. Το φανταστικό μέρος του δείκτη διάθλασης προσδιορίζει το συντελεστή απορρόφησης σύμφωνα με τη σχέση $\mu_a = \frac{4\pi k}{\lambda}$, όπου λ είναι το μήκος κύματος του φωτός.

Επιπλέον, ο σχετικός δείκτης διάθλασης των σωματιδίων σκέδασης δίνεται από τον λόγο των δεικτών διάθλασης των σκεδαστών και του μέσου σύμφωνα με τη σχέση:

$$m = \frac{n_s}{n_{med}}. \quad (3.3)$$

Επιπροσθέτως, μελέτες έχουν δείξει πως η εξάρτηση της σκέδασης από το μήκος κύματος σχετίζεται με μια κατανομή μεγέθους της δομής (Fractal size distribution) μέσα σε έναν ιστό ή ένα κύτταρο που σκεδάζει. Αυτό συμβαίνει επειδή ο δείκτης διάθλασης του μέσου n_{med} συνδέεται με το σχετικό μέγεθος των σφαιρικών σωματιδίων που σκεδάζουν (σχέση 2.20) [1, 21, 29]. Συγκεκριμένα:

$$\eta(d) = A(d)^{-B}, \quad (3.4)$$

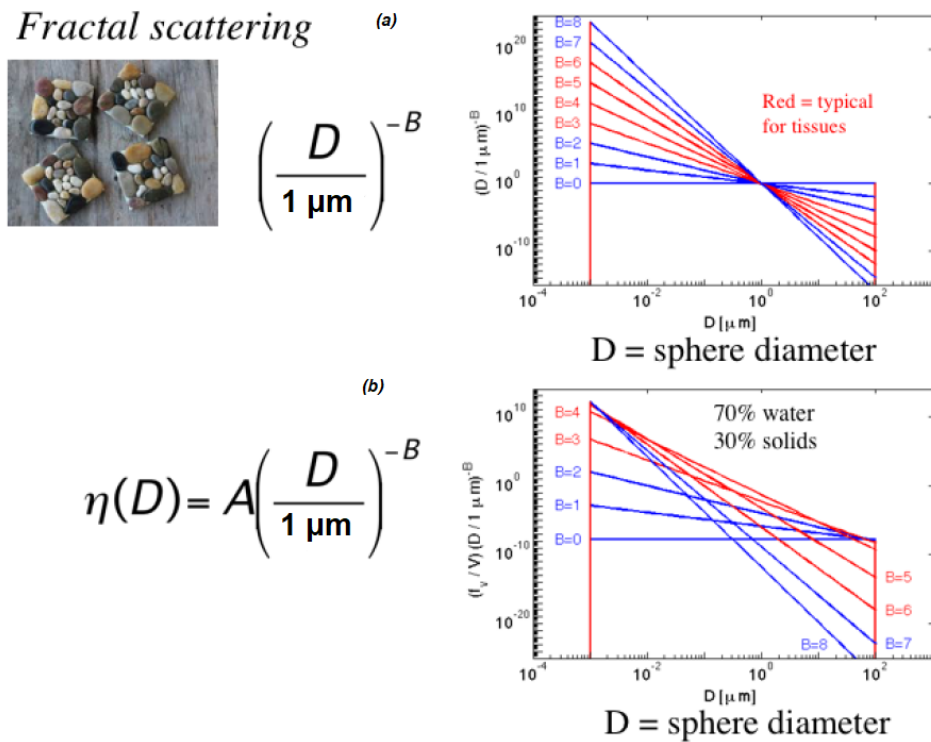
ή

$$\eta(D) = A \left(\frac{D}{1 \text{ nm}} \right)^{-B}, \quad (3.5)$$

όπου $\eta(d)$ αποτελεί μια συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας για το μέγεθος d (nm) των σωματιδίων ή $\eta(D)$ μια συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας σε σχέση με την διάμετρο των σφαιρικών σωματιδίων D (μm). Η ποσότητα A είναι ένας συντελεστής κανονικοποίησης με μονάδες $(\mu m)^{-1}$ και ο παράγοντας B καθορίζει το σχήμα της κατανομής έτσι ώστε:

$$\int_{D_{min}}^{D_{max}} \eta(D) dD = 1, \quad (3.6)$$

όπου D_{min} έως D_{max} είναι το εύρος των μεγεθών των σωματιδίων που σκεδάζουν το φως [29].



Σχήμα 3.2: Στα παραπάνω διαγράμματα απεικονίζονται:

- (a) Η κατανομή μεγέθους $\eta(D) = A \left(\frac{D}{1 \mu\text{m}} \right)^{-B}$, όπου D είναι η διάμετρος ενός σωματιδίου. Παρουσιάζεται ένα εύρος τιμών B ($B = 0 - 8$). Το υψηλό B οδηγεί σε ταχεία μείωση του αριθμού των σωματιδίων με δεδομένο μέγεθος D , καθώς το D αυξάνεται.
- (b) Κλίμακα $\eta(D)$ με έναν παράγοντα A , έτσι ώστε το κλάσμα όγκου των σωματιδίων στο μέσο να ισούται με 30 %, δηλαδή, η περιεκτικότητα σε νερό είναι 70 %. Οι κόκκινες καμπύλες αντιστοιχούν σε τιμές $3 \leq B \leq 6$, τυπικές για βιολογικούς ιστούς [29].

Επίσης, άλλες μελέτες υποστηρίζουν πως ο νόμος Cauchy που ορίζει τον δείκτη διάθλασης ως μια σειρά αντίστροφων δυνάμεων του μήκους κύματος λ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για βιολογικούς ιστούς (όπως σε in vivo ιστούς ζώων και ανθρώπων αλλά και το ανθρώπινο αίμα) [4]. Από τον νόμο Cauchy συνεπάγεται:

$$n_{med}(\lambda) = A_1 + \frac{B_1}{\lambda^2} + \frac{C_1}{\lambda^4} + \dots, \quad (3.7)$$

όπου A_1, B_1, C_1, \dots είναι κάποιοι εμπειρικοί συντελεστές.

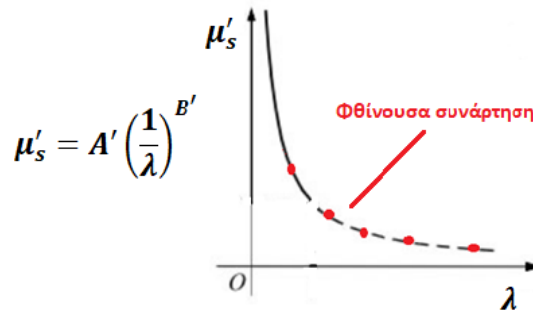
Ο συνδυασμός των σχέσεων 3.7 και 2.17 μπορεί να οδηγήσει σε μία σχέση εξάρτησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης ως ακολούθως:

$$\mu'_s = C \cdot \frac{n_{med}(\lambda)}{\lambda}, \quad (3.8)$$

με C να αποτελεί ένα συντελεστή με μονάδες αντιστρόφου μήκους.

Η σύγκριση των σχέσεων 3.8 και 3.7 οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μπορεί να εκφραστεί τελικά ως μια σχέση αντίστροφης δύναμης του μήκους κύματος:

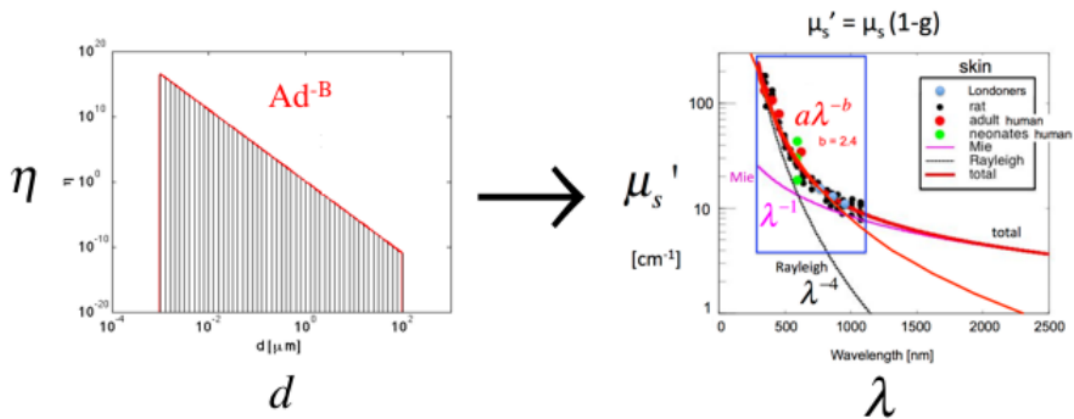
$$\mu'_s = A' \left(\frac{1}{\lambda}\right)^{B'} \quad (3.9)$$



Σχήμα 3.3: Γραφική απεικόνιση της εξάρτησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος.

Από το σχήμα 3.3 είναι φανερό ότι όσο αυξάνεται το μήκος κύματος λ , ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μ'_s μειώνεται. Παρόμοια όμως συμπεριφορά προκύπτει και από την απεικόνιση της κατανομής μεγέθους $\eta(d)$ με την αύξηση του μεγέθους των σωματιδίου.

$$\eta(d) = Ad^{-B'} \rightarrow \mu_{s'}(d) = a\lambda^{-b}$$



Σχήμα 3.4: Γραφική απεικόνιση της συσχέτισης του ενεργού συντελεστή σκέδασης με την κατανομή μεγέθους της δομής ενός βιολογικού ιστού [21].

Η επιλογή της τιμής αναφοράς $\lambda_{reference} = 500 \text{ nm}$ με την οποία κανονικοποιείται το μήκος κύματος λ στη σχέση 3.1 καθώς και επιλογή της τιμής αναφοράς $D_{reference} = 1 \text{ nm}$ με την οποία κανονικοποιείται η διάμετρος D του σωματιδίου στη σχέση 3.5 αντίστοιχα, σε καμία περίπτωση δεν είναι τυχαία. Τα φαινόμενα σκέδασης κυριαρχούν στην περιοχή μεταξύ 630 nm και 1300 nm - «Οπτικό παράθυρο» δεδομένου ότι σε αυτά τα μήκη κύματος δεν παρουσιάζουν σημαντική απορρόφηση. Συνεπώς, η τιμή των 500 nm αποτελεί την μέση τιμή του ορατού φάσματος που εμφανίζονται τα φαινόμενα

σκέδασης και η σκέδαση Mie εμφανίζεται επειδή αυτό το σωματίδιο έχει διάσταση συγκρίσιμη ή μεγαλύτερη από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός.

Αν και ο ενεργός συντελεστής σκέδασης εκφράζεται μέσω μιας σχέσης αντίστροφης δύναμης του μήκους κύματος, με κάποιες μικρές μαθηματικές τροποποιήσεις η εξίσωση 3.1 μπορεί εύκολα να αναχθεί σε μια γραμμική σχέση ως εξής:

$$\ln \mu'_s(\lambda) = \ln a - b \ln \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right). \quad (3.10)$$

Για την εύρεση των παραμέτρων a και b , στα πλαίσια της μεθόδου των ελαχίστων τετραγώνων, είναι απαραίτητη η δημιουργία μιας νέας συνάρτησης:

$$F(a, b) = \sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a \left(\frac{\lambda_i}{500 (nm)} \right)^{-b} \right\}^2, \quad (3.11)$$

τα κρίσιμα σημεία της οποίας θα βρεθούν από την επίλυση ενός συστήματος δυο εξισώσεων και δυο αγνώστων, δηλαδή:

$$\frac{\partial F(a, b)}{\partial a} = 2 \sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a \left(\frac{\lambda_i}{500 (nm)} \right)^{-b} \right\} \cdot \left(\frac{\lambda_i}{500 (nm)} \right)^{-b} = 0, \quad (3.12)$$

$$\frac{\partial F(a, b)}{\partial b} = 2 a \sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a \left(\frac{\lambda_i}{500 (nm)} \right)^{-b} \right\} \cdot \left(\frac{\lambda_i}{500 (nm)} \right)^{-b} \cdot \ln \left(\frac{\lambda_i}{500 (nm)} \right)^{-b} = 0, \quad (3.13)$$

όπου μ'_{s_i} και λ_i αποτελούν τα πειραματικά δεδομένα διαφόρων βιολογικών ιστών που δύναται να μελετηθούν.

Η εξίσωση 3.2 μπορεί να αναχθεί με την βοήθεια της εξίσωσης 3.1 ως εξής:

$$\mu'_s(\lambda) = a \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b} = a \left[1 - f_{Ray} + f_{Ray} \right] \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b}. \quad (3.14)$$

Επειδή, ούτε η σκέδαση Rayleigh, ούτε η σκέδαση Mie περιγράφουν πλήρως τη σκέδαση στους βιολογικούς ιστούς εξαιτίας της ανομοιογένειας που τους χαρακτηρίζει, η σχέση 3.14 μπορεί να γραφτεί αν λάβουμε υπόψη και τα δυο είδη σκεδάσεων ως ακολούθως:

$$\mu'_s(\lambda) = a' \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b_{Ray}} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda}{500 (nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right], \quad (3.15)$$

όπου $b_{Ray} = 4$ λόγω της σκέδασης Rayleigh. Συνεπώς, η παραπάνω σχέση 3.15 οδηγεί στην εξίσωση 3.2, η οποία δεν μπορεί να αναχθεί σε μια γραμμική σχέση [28].

Ομοίως και για την εξίσωση 3.2 η εύρεση των παραμέτρων f_{Ray} , a' και b_{Mie} είναι απαραίτητη η δημιουργία μιας νέας συνάρτησης:

$$F'(a', b_{Mie}, f_{Ray}) = \sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a' \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right] \right\}^2, \quad (3.16)$$

τα κρίσιμα σημεία της οποίας θα βρεθούν από την επίλυση ενός συστήματος τριών εξισώσεων και τριών αγνώστων, δηλαδή:

$$\frac{\partial F'(a', b_{Mie}, f_{Ray})}{\partial a'} = 0 \Rightarrow$$

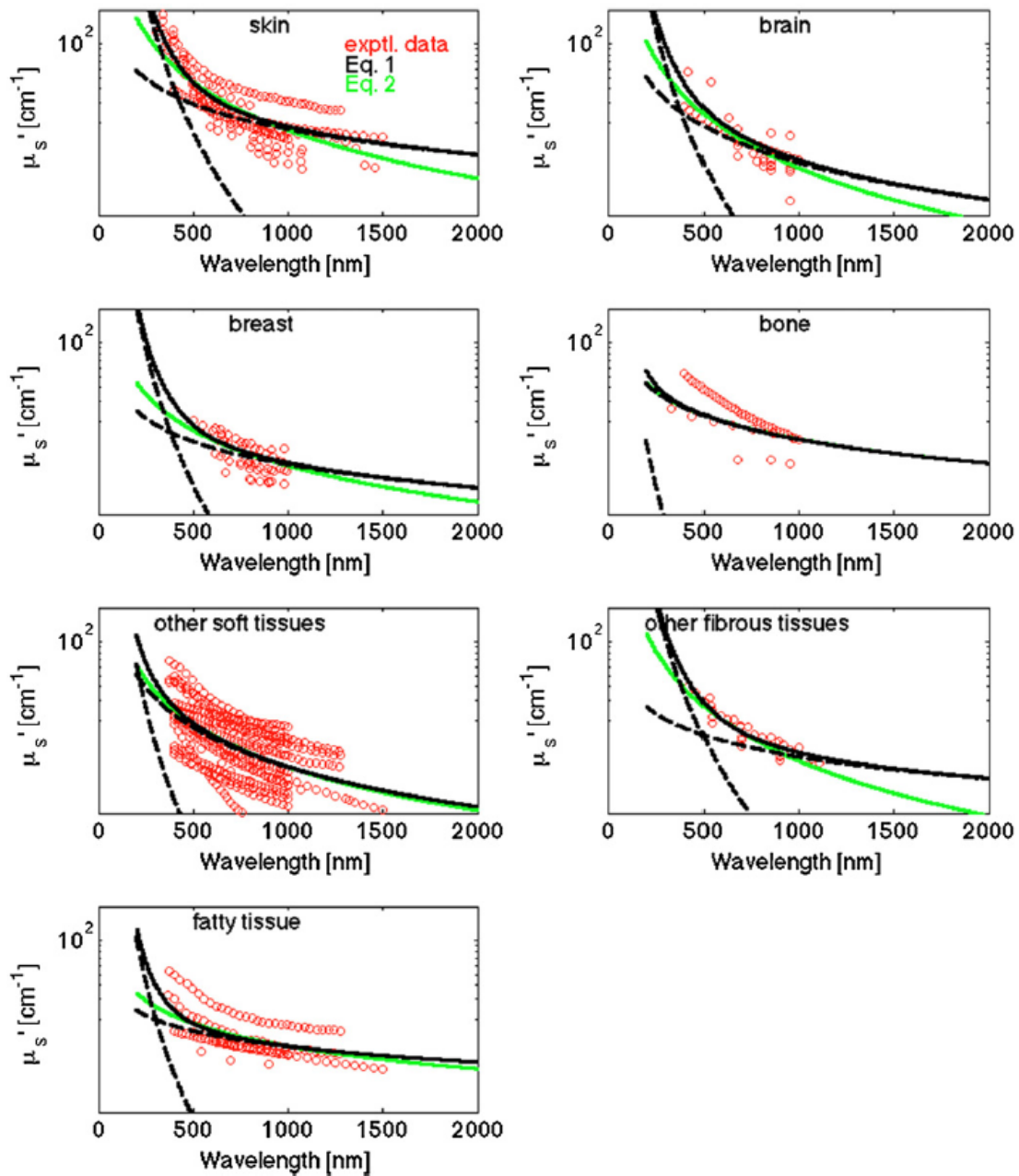
$$\sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a' \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right] \right\} \cdot \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right] = 0, \quad (3.17)$$

$$\frac{\partial F'(a', b_{Mie}, f_{Ray})}{\partial b_{Mie}} = 0 \Rightarrow$$

$$\sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a' \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right] \right\} \cdot \left[(1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \cdot \ln \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right) \right] = 0, \quad (3.18)$$

$$\frac{\partial F'(a', b_{Mie}, f_{Ray})}{\partial f_{Ray}} = 0 \Rightarrow$$

$$\sum_{i=1}^n \left\{ \mu'_{s_i} - a' \left[f_{Ray} \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right] \right\} \cdot \left[\left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-4} - \left(\frac{\lambda_i}{500(nm)} \right)^{-b_{Mie}} \right] = 0. \quad (3.19)$$



Σχήμα 3.5: Φάσματα ενεργού συντελεστή σκέδασης για τις επτά ομάδες ιστών (οι κόκκινοι κύκλοι είναι τα δεδομένα). Η πράσινη γραμμή προκύπτει από την επεξεργασία των δεδομένων μέσω της συνάρτησης 3.1. Η μαύρη συνεχής γραμμή προκύπτει από την επεξεργασία των δεδομένων μέσω της συνάρτησης 3.2. Οι διακεκομμένες μαύρες γραμμές δείχνουν τις συνιστώσες επιμέρους σκεδάσης Rayleigh και Mie στη κεντρική καμπύλη της συνάρτησης 3.2 [2].

Ο Πίνακας 1 συνοψίζει τις παραμέτρους των εξισώσεων 3.1 και 3.2 που έχουν ληφθεί από ανάλυση στοιχείων της υφιστάμενης βιβλιογραφίας που αφορούν στον $\mu_s'(\lambda)$. Επίσης, είναι εμφανής η ταύτιση με τα δεδομένα όταν γίνεται χρήση των μέσων τιμών των παραμέτρων του πίνακα 1, για τις εξισώσεις 3.1 και 3.2. Ο πίνακας 2 συνοψίζει τις μέσες τιμές των παραμέτρων των εξισώσεων 3.1 και 3.2 όπως αυτές εφαρμόζονται για κάθε έναν από τους επτά διαφορετικούς τύπους ιστών του Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Παράμετροι που χαρακτηρίζουν τον ενεργό συντελεστή σκέδασης: $a = \mu'_s(500\text{nm})$ και έτσι $\mu'_s(\lambda) = a(\lambda/500\text{nm})^{-b}$, εξίσωση 3.1. $a' = \mu'_s(500\text{nm})$ και έτσι $\mu'_s(\lambda) = a'(f_{Ray}(\lambda/500\text{nm})^{-b} + f_{Mie}(\lambda/500\text{nm})^{-b_{Mie}})$, εξίσωση 3.2 [2].

#	a (cm ⁻¹)	b	a' (cm ⁻¹)	f_{Ray}	b_{Mie}	Ref.	Tissue
Skin							
1	48.9	1.548	45.6	0.22	1.184	Skin	Anderson <i>et al</i> 1982
2	47.8	2.453	42.9	0.76	0.351	Skin	Jacques 1996
3	37.2	1.390	42.6	0.40	0.919	Skin	Simpson <i>et al</i> 1998
4	60.1	1.722	58.3	0.31	0.991	Skin	Saidi <i>et al</i> 1995
5	29.7	0.705	36.4	0.48	0.220	Skin	Bashkatov <i>et al</i> 2011
6	45.3	1.292	43.6	0.41	0.562	Dermis	Salomatina <i>et al</i> 2006
7	68.7	1.161	66.7	0.29	0.689	Epidermis	Salomatina <i>et al</i> 2006
8	30.6	1.100	na	na	na	Skin	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
Brain							
9	40.8	3.089	40.8	0.00	3.088	Brain	Sandell and Zhu 2011
10	10.9	0.334	13.3	0.36	0.000	Cortex (frontal lobe)	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
11	11.6	0.601	15.7	0.53	0.000	Cortex (temporal lobe)	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
12	20.0	1.629	29.1	0.81	0.000	Astrocytoma of optic nerve	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
13	25.9	1.156	25.9	0.00	1.156	Normal optic nerve	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
14	21.5	1.629	31.0	0.82	0.000	Cerebellar white matter	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
15	41.8	3.254	41.8	0.00	3.254	Medulloblastoma	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
16	21.4	1.200	21.4	0.00	1.200	Brain	Yi and Backman 2012
Breast							
17	31.8	2.741	31.8	0.00	2.741	Breast	Sandell and Zhu 2011
18	11.5	0.775	15.2	0.58	0.000	Breast	Sandell and Zhu 2011
19	24.8	1.544	24.8	0.00	1.544	Breast	Sandell and Zhu 2011
20	20.1	1.054	20.2	0.18	0.638	Breast	Sandell and Zhu 2011
21	14.6	0.410	18.1	0.41	0.000	Breast	Spinelli <i>et al</i> 2004
22	12.5	0.837	17.4	0.60	0.076	Breast, premenopausal	Cerussi <i>et al</i> 2001
23	8.3	0.617	11.2	0.54	0.009	Breast, postmenopausal	Cerussi <i>et al</i> 2001
24	10.5	0.464	10.5	0.00	0.473	Breast	Durduran <i>et al</i> 2002
Bone							
25	9.5	0.141	9.7	0.04	0.116	Skull	Bevilacqua <i>et al</i> 2000
26	20.9	0.537	20.9	0.00	0.537	Skull	Firbank <i>et al</i> 1993
27	38.4	1.470	na	na	na	Bone	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
Other soft tissues							
28	9.0	0.617	11.5	0.61	0.000	Liver	Parsa <i>et al</i> 1989
29	13.0	0.926	13.0	0.00	0.926	Muscle	Tromberg 1996
30	12.2	1.448	13.0	0.44	0.731	Fibroadenoma breast	Peters <i>et al</i> 1990
31	18.8	1.620	18.8	0.00	1.620	Mucous tissue	Bashkatov <i>et al</i> 2011
32	28.1	1.507	27.7	0.23	1.165	SCC	Salomatina <i>et al</i> 2006
33	42.8	1.563	42.5	0.10	1.433	Infiltrative BCC	Salomatina <i>et al</i> 2006
34	31.9	1.371	31.5	0.15	1.157	Nodular BCC	Salomatina <i>et al</i> 2006
35	16.5	1.240	na	na	na	Bowel	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
36	14.6	1.430	na	na	na	Heart wall	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
37	35.1	1.510	na	na	na	Kidneys	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
38	9.2	1.050	na	na	na	Liver&spleen	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
39	25.4	0.530	na	na	na	Lung	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
40	9.8	2.820	na	na	na	Muscle	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
41	19.1	0.970	na	na	na	Stomach wall	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
42	22.0	0.660	na	na	na	Whole blood	Alexandrakis <i>et al</i> 2005
43	16.5	1.640	16.5	0.00	1.640	Liver	Yi and Backman 2012
44	8.1	0.980	8.1	0.00	0.980	Lung	Yi and Backman 2012
45	8.3	1.260	8.3	0.00	1.260	Heart	Yi and Backman 2012

Πίνακας 1.(Συνέχεια)

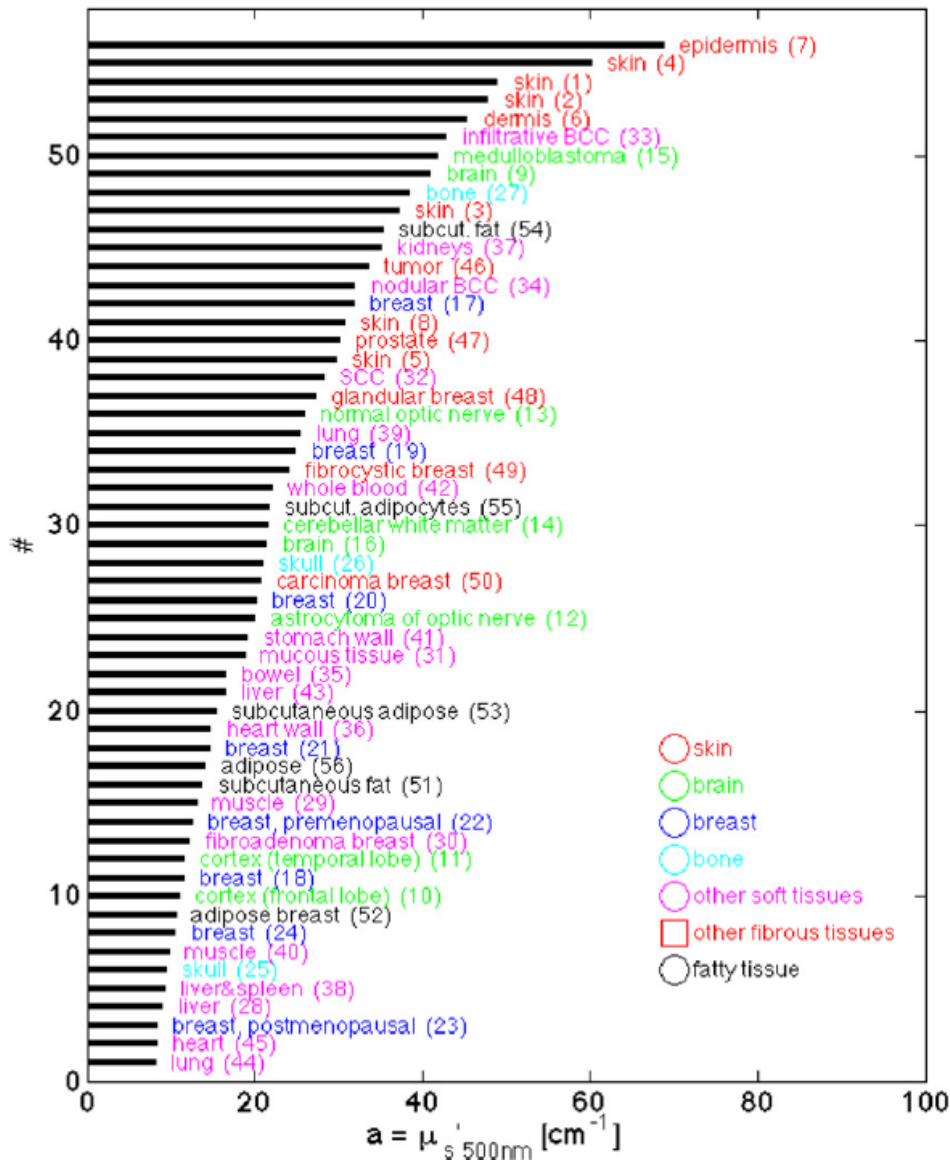
#	a (cm ⁻¹)	b	a' (cm ⁻¹)	f_{Ray}	b_{Mie}	Ref.	Tissue
Other fibrous tissues							
46	33.6	1.712	37.3	0.72	0.000	Tumor	Sandell and Zhu 2011
47	30.1	1.549	30.1	0.02	1.521	Prostate	Newman and Jacques 1991
48	27.2	1.768	29.7	0.61	0.585	Glandular breast	Peters <i>et al</i> 1990
49	24.1	1.618	25.8	0.49	0.784	Fibrocystic breast	Peters <i>et al</i> 1990
50	20.7	1.487	22.8	0.60	0.327	Carcinoma breast	Peters <i>et al</i> 1990
Fatty tissue							
51	13.7	0.385	14.7	0.16	0.250	Subcutaneous fat	Simpson <i>et al</i> 1998
52	10.6	0.520	11.2	0.29	0.089	Adipose breast	Peters <i>et al</i> 1990
53	15.4	0.680	15.4	0.00	0.680	Subcutaneous adipose	Bashkatov <i>et al</i> 2011
54	35.2	0.988	34.2	0.26	0.567	Subcut. fat	Salomatina <i>et al</i> 2006
55	21.6	0.930	21.1	0.17	0.651	Subcut. adipocytes	Salomatina <i>et al</i> 2006
56	14.1	0.530	na	na	na	Adipose	Alexandrakis <i>et al</i> 2005

Πίνακας 2: Μέσες τιμές των παραμέτρων του ενεργού συντελεστή σκέδασης μ'_s , για τις επτά ομάδες ιστών.

	a (cm ⁻¹)	b	a' (cm ⁻¹)	f_{Ray}	b_{Mie}
Skin					
Mean	46.0	1.421	48.0	0.409	0.702
SD	13.7	0.517	10.6	0.178	0.351
n	8	8	7	7	7
Brain					
Mean	24.2	1.611	27.4	0.315	1.087
SD	11.7	1.063	10.5	0.368	1.386
n	8	8	8	8	8
Breast					
Mean	16.8	1.055	18.7	0.288	0.685
SD	8.1	0.771	7.0	0.273	0.984
n	8	8	8	8	8
Bone					
Mean	22.9	0.716	15.3	0.022	0.326
SD	14.6	0.682	7.9	0.032	0.298
n	3	3	2	2	2
Other soft tissues					
Mean	18.9	1.286	19.1	0.153	1.091
SD	10.2	0.521	11.3	0.216	0.483
n	18	18	10	10	10
Other fibrous tissues					
Mean	27.1	1.627	29.2	0.489	0.644
SD	5.0	0.115	5.4	0.274	0.572
n	5	5	5	5	5
Fatty tissue					
Mean	18.4	0.672	19.3	0.174	0.447
SD	9.0	0.242	9.1	0.111	0.263
n	6	6	5	5	5

Πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι και οι δυο εξισώσεις είναι εξίσου καλές για τη συνήθη πρόβλεψη της συμπεριφοράς των ιστών στην φασματική περιοχή μηκών κύματος (400–1300) nm. Αλλά εκτός αυτού του εύρους, είτε στο υπεριώδες είτε στο μακρύτερο υπέρυθρο, οι δύο εξισώσεις αποκλίνουν. Χρειάζονται περισσότερα δεδομένα, ιδίως σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, για να αποφανθεί ποια εξίσωση είναι καλύτερη [2].

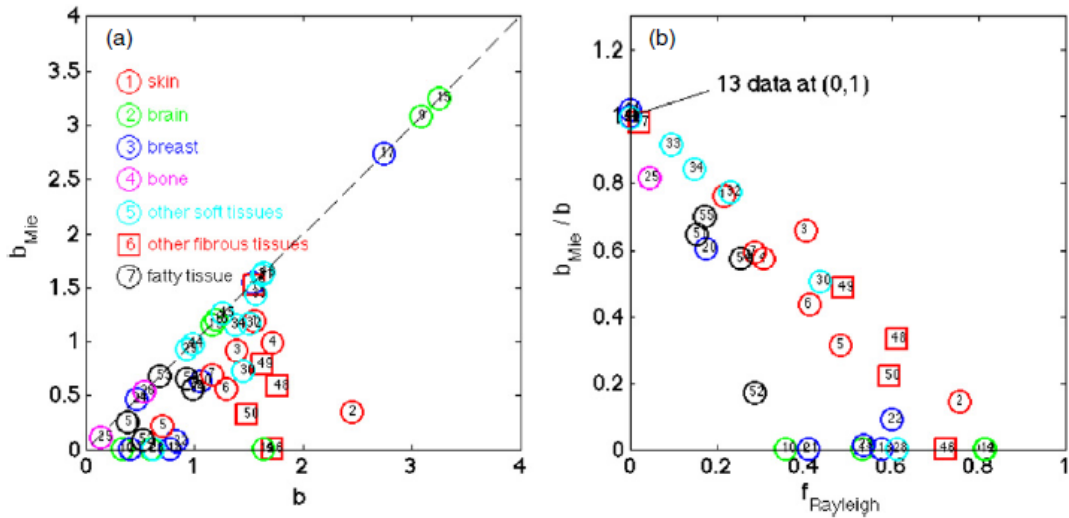
Το μεγαλύτερο πρόβλημα είναι η μεταβλητότητα των τιμών a και a' που επηρεάζουν τους εξαρτώμενους από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας όρους στις εξισώσεις 3.1 και 3.2. Ειδικότερα, η κατηγορία «άλλοι μαλακοί ιστοί» παρουσιάζει σημαντική μεταβλητότητα στα a και a' . Το σχήμα 3.6 κατατάσσει τα δεδομένα σύμφωνα με την τιμή του a στην εξίσωση 3.1, δείχνοντας ότι το δέρμα και άλλοι ινώδεις ιστοί έχουν υψηλότερες τιμές του $a = \mu'_s(500\text{ nm})$ από τους άλλους ιστούς.



Σχήμα 3.6: Κατάταξη των ιστών βάσει της σχεδασιμότητάς τους, για προσπίπτον φως μήκους κύματος 500 nm , με ενεργό συντελεστή σκέδασης μ'_s προσδιορισμένο από την παράμετρο a . Οι αριθμοί στις παρενθέσεις ανταποκρίνονται στους αντίστοιχους του Πίνακα 1 [2].

Αν κάποιος ενδιαφέρεται να χρησιμοποιήσει τις ιδιότητες σκέδασης για να χαρακτηρίσει τη δομή ενός κυττάρου κάτω των μm , τότε οι λεπτομέρειες των εξισώσεων 3.1 και 3.2 αποκτούν σημασία. Σε γενικές γραμμές, οι κυτταρικοί ιστοί θα παρουσιάζουν απλή συμπεριφορά λ^{-b} και η εξίσωση 3.1 είναι επαρκής. Οι κυτταρικοί ιστοί με υψηλή

πυκνότητα μιτοχονδρίων (Beauvoit et al 1995) ή λυσοσωμάτων (Wilson et al 2007) θα παρουσιάσουν σκέδαση Rayleigh λόγω της υψηλής πυκνότητας των λιπιδικών μεμβρανών, η οποία προκαλεί αύξηση των b στην εξίσωση 3.1 και μια ανύψωση της f_{Ray} στην εξίσωση 3.2. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται και στο σχήμα 2.22.



Σχήμα 3.7: (α) Γραφική αναπαράσταση του b_{Mie} ως προς b για τις εξισώσεις 3.2 και 3.1 αντίστοιχα. (β) Γραφική αναπαράσταση του $\frac{b_{Mie}}{b}$ ως προς την $f_{Rayleigh}$. Τα δεδομένα είναι από τον πίνακα 1. Όταν η $f_{Rayleigh}$ είναι σημαντική τότε ο b_{Mie} είναι μικρότερος από τον b [2].

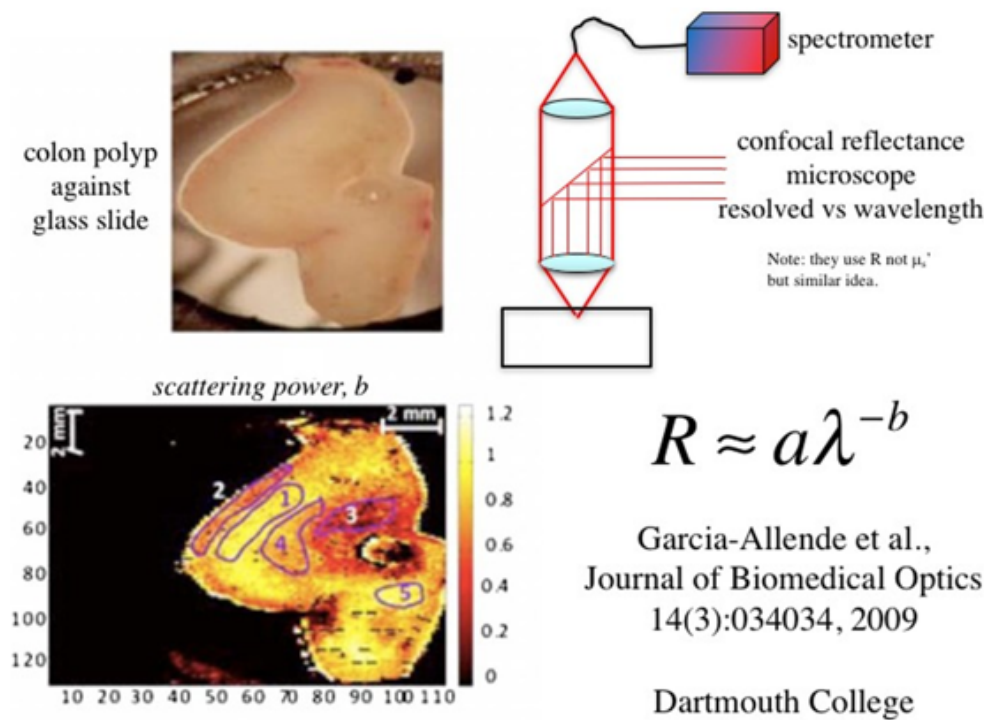
Οι ιστοί κολλαγόνου, όπως το δέρμα και ορισμένοι ινώδεις ιστοί, παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη σκέδαση Rayleigh, η οποία οφείλεται, υποθετικά, στην περιοδικότητα ανά 70 nm κατά μήκος των ινιδίων κολλαγόνου και στις αποστάσεις μεταξύ των ινιδίων κάτω των 100 nm (Saidi et al 1995, Jacques 1996), η οποία επίσης αυξάνει τα b και f_{Ray} [2] (Βλέπε σχήμα 2.22).

Στο σχήμα 3.7 (α) όπου αναπαριστάται γραφικά το b_{Mie} ως προς το b , φαίνεται ότι κάποιοι ιστοί ανιχνεύονται με $b_{Mie} = b$, ενώ άλλοι ιστοί, ειδικά το δέρμα και ινώδεις ιστοί, δείχνουν χαμηλότερο το b_{Mie} από το b . Όταν τα δεδομένα επιτρέπουν τόσο τον προσδιορισμό μίας μικρού μήκους κύματος ανόδου όσο και μίας μεγάλου μήκους κύματος σταθερότητας, για τον μ'_s , τότε η f_{Ray} μπορεί να αντιπροσωπεύει την σκέδαση κατά Rayleigh και το b_{Mie} να ευθύνεται για την βραδύτερη πτώση του μ'_s σε σχέση με τα μεγαλύτερα μήκη κύματος. Στο σχήμα 3.7 (β) αναπαριστάται γραφικά ο λόγος $\frac{b_{Mie}}{b}$ συναρτήσει της f_{Ray} , και εκεί είναι εμφανής η πτώση του b_{Mie} σε σχέση με το b καθώς η f_{Ray} μεγαλώνει [2].

Είναι απαραίτητα περισσότερα δεδομένα, ιδίως σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, για να διευκρινιστεί αν η σκέδαση Mie είναι πράγματι σχετικά ανεξάρτητη από το μήκος κύματος ($b_{Mie} \leq 1$). Αν ναι, τότε η εξίσωση 3.2 περιγράφει καλύτερα από την εξίσωση 3.1 την εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος, διότι η αύξηση του μ'_s σε μικρό μήκος κύματος προσδιορίζει μια f_{Ray} που γίνεται χρήσιμη παράμετρος για την ποσοτικοποίηση της σκέδασης λόγω οργανιδίων και ινιδίων κολλαγόνου. Αν όχι, τότε ολόκληρο το φάσμα είναι σύμφωνο με την εξίσωση 3.1 και η απλή συμπεριφορά του τύπου $a \cdot \left(\frac{\lambda}{\lambda_{reference}}\right)^{-b}$ συνεπάγεται την αντίστοιχη αυτοσυσχέτιση

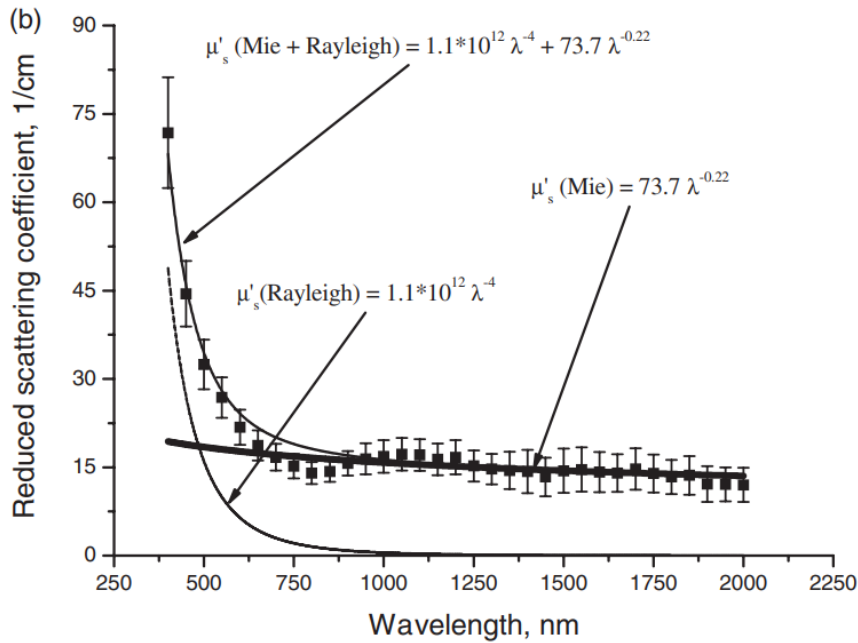
των διακυμάνσεων του δείκτη διάθλασης (λόγω των διακυμάνσεων της μάζας) να ακολουθεί επίσης μια απλή σχέση.

Στο σχήμα που ακολουθεί φαίνεται η σπουδαιότητα της χρήσης της ισχύς σκέδασης ως μια παράμετρος αντίθεσης b κατά την παρατήρηση και τη μακροσκοπική απεικόνιση των αλλαγών στη δομή των κυττάρων ή ιστών στην περιοχή των (50-600) nm .



Σχήμα 3.8: Απεικόνιση αποτελεσμάτων ενός φασματομέτρου συνεστιακής ανάκλασης που μετράει την ανάκλαση σε σχέση με το μήκος κύματος από έναν εστιακό όγκο, καθώς η εστία σαρώνεται πάνω στην επιφάνεια ενός ιστού. Σε αυτή την περίπτωση, ο ιστός ήταν ένας πολύποδας του παχέος εντέρου που πιέστηκε πάνω σε γυαλί. Στην επάνω εικόνα απεικονίζεται ο πολύποδας και υπάρχει μικρή αντίθεση στην εικόνα. Η κάτω εικόνα δείχνει την εικόνα χρησιμοποιώντας την ισχύ σκέδασης, b ως παράμετρο αντίθεσης. Η ετερογένεια του πολύποδα φαίνεται καθαρά [21].

Στο σχήμα 3.9 φαίνεται η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης ανθρώπινου δέρματος *in vitro* από το μήκος κύματος μέσω του νόμου δύναμης $\mu'_s(\lambda) = 73.7\lambda^{-0.22}$, όπου λ είναι το μήκος κύματος, σε νανόμετρα. Στη φασματική περιοχή από 600 nm έως 2000 nm , αυτός ο νόμος δύναμης προσεγγίζει καλά τα πειραματικά δεδομένα, σε αντίθεση με τα δεδομένα στη φασματική περιοχή από 400 έως 600 nm . Πολλοί ερευνητές έχουν υπολογίσει διαφορετικές τιμές του εκθέτη μήκους κύματος σε διαφορετικές φασματικές περιοχές. Πιθανή αιτία για τις μεγάλες διαφορές φαίνεται να αποτελεί η πολύπλοκη δομή των πολλαπλών συστατικών του δέρματος [4].



Σχήμα 3.9: Απεικόνιση της φασματικής εξάρτησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης μ'_s του ανθρώπινου δέρματος in vitro και η προσέγγισή του με νόμο δύναμης. Τα σύμβολα αντιστοιχούν στα μέσα πειραματικά δεδομένα και οι κάθετες γραμμές δείχνουν τις τιμές της τυπικής απόκλισης. Η έντονη και η διακεκομμένη γραμμή δείχνουν τη συνεισφορά της σκέδασης Mie και Rayleigh στο συνολικό φάσμα του ενεργού συντελεστή σκέδασης, αντίστοιχα. Η συμπαγής γραμμή δείχνει το συνδυασμό της σκέδασης Mie και Rayleigh [4].

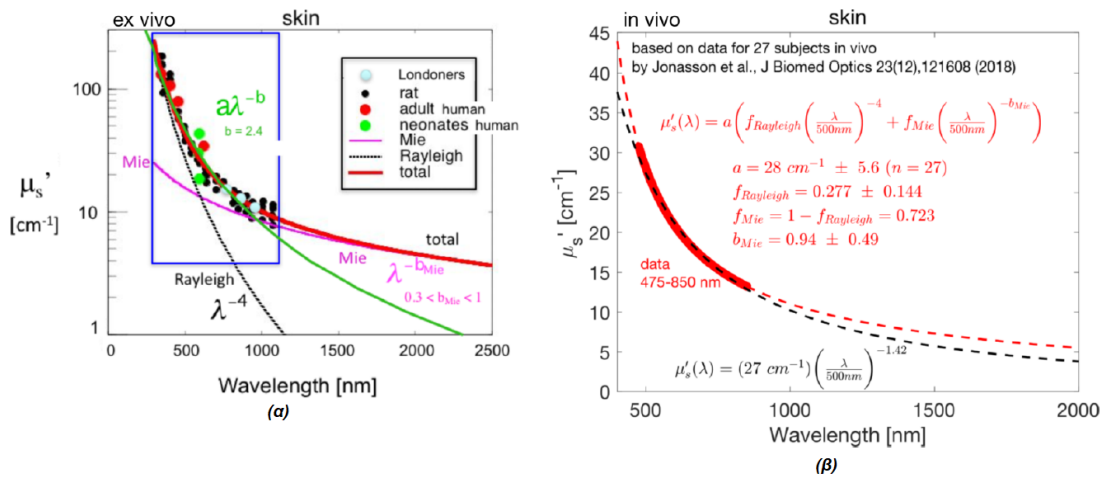
Η παρουσία των μεγάλων λεγόμενων σκεδαστών Mie προκαλεί μια ασθενή εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος στην φασματική του κοντινού υπέρυθρου. Ωστόσο, στην φασματική περιοχή (400-600) nm, η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος δεν μπορούσε να περιγραφεί από το νόμο δύναμης με $b = 0.22$. Σε αυτή τη φασματική περιοχή ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μειώθηκε απότομα και η μείωση αυτή μπορεί να εξηγηθεί από τη συμβολή των μικρών, λεγόμενων σκεδαστών Rayleigh, δηλαδή των ινιδίων κολλαγόνου και ελαστίνης. Η σκέδαση Rayleigh μπορεί να αναπαρασταθεί ως $\mu'_s(\lambda) = a\lambda^{-4}$, όπου ο παράγοντας a μεταβάλλεται μόνο με το μέγεθος της σκέδασης Rayleigh. Συνεπώς, το μετρούμενο φάσμα του ενεργού συντελεστή σκέδασης, το οποίο είναι συνδυασμός των φασμάτων σκέδασης Mie και Rayleigh, προσαρμόστηκε σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση:

$$\mu'_{s(Mie+Rayleigh)}(\lambda) = \mu'_s(Mie) + \mu'_s(Rayleigh) = 73.7\lambda^{-0.22} + a\lambda^{-4}, \quad (3.20)$$

όπου ο συντελεστής a έχει εκτιμηθεί από την προσαρμογή ως $1.1 \cdot 10^{12}$. Από το σχήμα 3.9 φαίνεται ότι ο συνδυασμός των εξαρτήσεων μήκους κύματος της σκέδασης Rayleigh και της σκέδασης Mie περιγράφει πολύ καλά τη μετρούμενη εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος [4].

Οι πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι ο ενεργός συντελεστής σκέδασης $\mu'_s(\lambda)$ για το δέρμα μειώνεται καθώς αυξάνεται το μήκος κύματος λ . Ενώ ο παράγοντας της ανισοτροπίας αυξάνεται με την αύξηση του μήκους κύματος σύμφωνα με τη σχέση 2.31. Αυτό συμβαίνει διότι καθώς το λ αυξάνεται, πλησιάζει το μέγεθος των κυττάρων και η

τιμή της ανισοτροπίας g επηρεάζεται πιο έντονα από τους πυρήνες, οι οποίοι αποτελούν τις μεγαλύτερες δομές που σχεδιάζον προς τα εμπρός (μοντέλο «plum-in-pudding»). Έτσι, διαπιστώνεται μια ευασθησία του παράγοντα ανισοτροπίας στην πυρηνική δομή των βιολογικών ιστών με την αύξηση του μήκος κύματος [21, 29].



Σχήμα 3.10: Στα ανωτέρω διαγράμματα παρατηρείται ότι το φάσμα του ενεργού συντελεστή σκέδασης για το δέρμα μειώνεται καθώς αυξάνεται το μήκος κύματος. (α) Στο αριστερό σχήμα απεικονίζονται τα αποτελέσματα διαφόρων μετρήσεων που έγιναν σε ανθρώπους και αρουραίους ex vivo για το φασματικό εύρος 300 έως 1200 nm. Όλα τα φάσματα είναι παρόμοια. Η προσαρμογή στα δεδομένα (κόκκινη γραμμή) είναι ένας συνδυασμός της σκέδασης Rayleigh (μαύρη γραμμή) και της σκέδασης Mie (φούξια γραμμή) σύμφωνα με τη σχέση 3.2. Άλλη προσαρμογή στα δεδομένα (πράσινη γραμμή) γίνεται σύμφωνα με τη σχέση 3.1 [21].

(β) Στο δεξί σχήμα απεικονίζονται τα αποτελέσματα μετρήσεων που έγιναν σε in vivo δείγμα ανθρώπινου δέρματος στην φασματική περιοχή 475 έως 850 nm. Η προσαρμογή στα δεδομένα (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή) είναι ένας συνδυασμός της σκέδασης Rayleigh και της σκέδασης Mie που γίνεται σύμφωνα με τη σχέση 3.2. Η προσαρμογή στα δεδομένα (μαύρη διακεκομμένη γραμμή) γίνεται σύμφωνα με τη σχέση 3.1 [21].

Η χρήση ενός γενικού μοντέλου μπορεί να μιμηθεί επαρκώς οποιονδήποτε πραγματικό ιστό και έχει το πλεονέκτημα της δημιουργίας ομαλά προβλέψιμων φασμάτων σκέδασης αλλά και απορρόφησης. Οι εξισώσεις 3.1, 3.2 για τη σκέδαση, επιτρέπουν τον υπολογισμό των αναμενόμενων οπτικών ιδιοτήτων συναρτήσει του μήκους κύματος των ιστών με διαφορετική περιεκτικότητα σε χρωμοφόρα και διαφορετικό υπερδομικό χαρακτήρα. Οι μέσες παράμετροι των ιστών ($a, b, a', f_{Ray}, b_{Mie}$) μπορούν να προσδιορίσουν την εξάρτηση των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών από το μήκος κύματος και να καθοδηγήσουν το σχεδιασμό συσκευών, διαγνωστικών και θεραπευτικών πρωτοκόλλων [2].

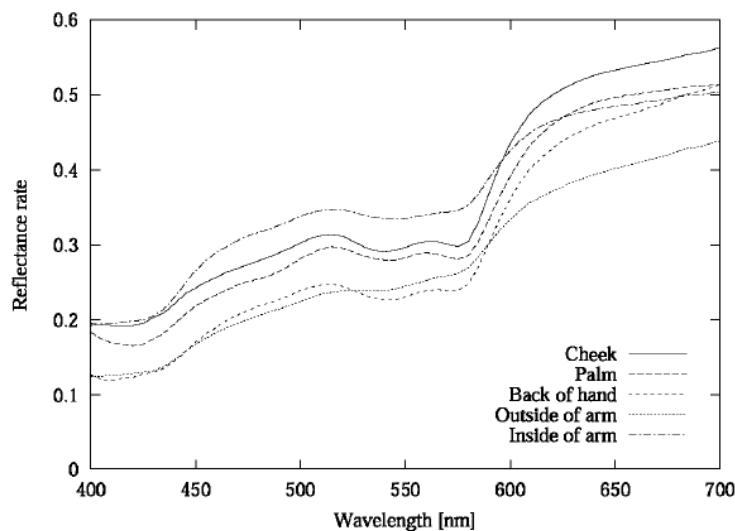
3.3 Η οπτική του ανθρώπινου δέρματος

Στην παρούσα ενότητα θα πραγματοποιηθεί μια περιγραφή των σχετικών μοντέλων που χρησιμοποιούνται σε βιοϊατρικές εφαρμογές και αφορούν την οπτική του δέρματος.

3.3.1 Οπτικό μοντέλο δέρματος

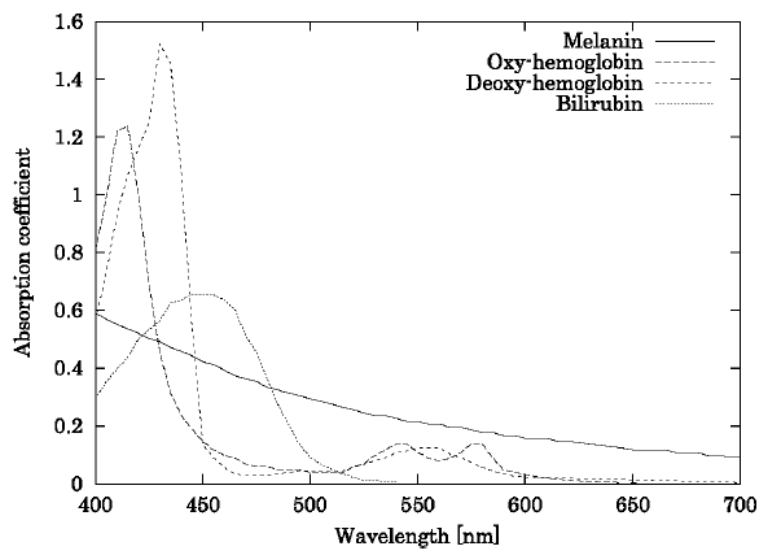
Η ανάλυση και η μοντελοποίηση του χρώματος του ανθρώπινου δέρματος είναι πολύ σημαντική σε πολλούς τεχνολογικούς τομείς, όπως τα γραφικά υπολογιστών, η ιατρική απεικόνιση και την ανάπτυξη καλλυντικών. Το χρώμα του δέρματος επηρεάζεται από μια ποικιλία συνθηκών, όπως η ψυχοσυναισθηματική κατάσταση του ανθρώπου, η φυσική κατάσταση του ηλιακού εγκαύματος και η ιατρική κατάσταση της φλεγμονής. Επιπλέον, το χρώμα του δέρματος έχει μεγάλες χρωματικές διαφορές μεταξύ των ατόμων και μεταξύ των τμημάτων του ανθρώπινου σώματος [36].

Υπήρχαν διάφορες μέθοδοι για τον σχηματισμό ενός μοντέλου χρωματισμού μέσα στο ανθρώπινο δέρμα. Οι περισσότερες από τις μεθόδους βασίστηκαν στην ανάλυση της απορρόφησης των κύριων χρωμοφόρων ουσιών, όπως η μελανίνη και η οξυαιμοσφαιρίνη, με τη χρήση του νόμου Beer-Lambert. Ο νόμος αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή μόνο των ιδιοτήτων μετάδοσης του φωτός. Από μια συνολική άποψη ωστόσο, το χρώμα του δέρματος παρατηρείται από την ανάκλαση του φωτός σε μια επιφάνεια του δέρματος. Επομένως, ο νόμος Beer-Lambert δεν είναι πάντα αρκετός για την οπτική ανάλυση του ανθρώπινου δέρματος. Η ανάκλαση της επιφάνειας του δέρματος επηρεάζεται από τα οπτικά χαρακτηριστικά της σκέδασης και της απορρόφησης μεταξύ των στρωμάτων του δερματικού ιστού. Τα οπτικά αυτά δεδομένα είναι οι συντελεστές φασματικής απορρόφησης και σκέδασης για τα μέσα της επιδερμίδας και του χόριου και οι συντελεστές φασματικής απορρόφησης για τις πέντε χρωμοφόρες ουσίες μελανίνη, καροτίνη, χολερυθρίνη, οξυαιμοσφαιρίνη και δεοξυαιμοσφαιρίνη. Το πάχος του δερματικού ιστού χρησιμοποιείται επίσης ως παράμετρος του μοντέλου, η τιμή της οποίας εξαρτάται από τα μέρη του σώματος [36].



Σχήμα 3.11: Φασματική ανάκλαση δέρματος [36].

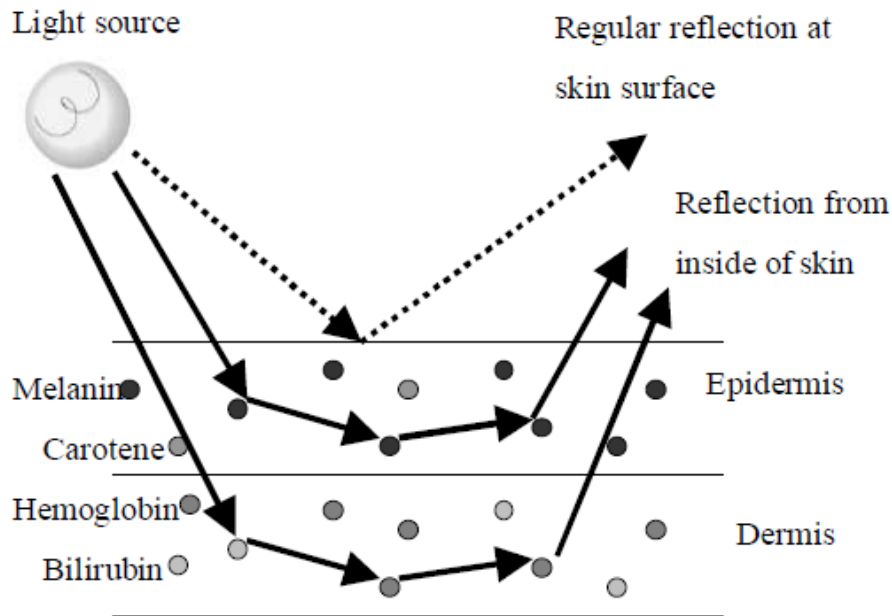
Το σχήμα 3.11 δείχνει το επιφανειακό φάσμα ανακλάσεων που μετρήθηκαν από τις επιφάνειες του δέρματος διαφόρων τμημάτων του σώματος. Όλα τα δεδομένα φασματικής ανάκλασης αντιπροσωπεύονται στην ορατή περιοχή μήκους κύματος από 400 nm έως 700 nm. Ένα χαρακτηριστικό είναι ότι οι ανακλάσεις αυξάνονται σχεδόν μονοτονικά καθώς αυξάνεται το μήκος κύματος. Αυτό οδηγεί στα χρώματα του δέρματος, ροζ, κίτρινο και καφέ. Ένα άλλο χαρακτηριστικό είναι το κοίλο σε σχήμα «W» ή «U» στην περιοχή από 520 nm έως 600 nm. Αυτή η μείωση της ανάκλασης προκαλείται από την απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης. Έτσι, η φασματική ανάκλαση του δέρματος βασίζεται στην επίδραση των διαφόρων χρωμοφόρων ουσιών στο εσωτερικό του δερματικού ιστού. Οι κύριες χρωμοφόρες ουσίες στο εσωτερικό του δέρματος είναι η μελανίνη που κάνει το χρώμα του δέρματος πιο σκούρο και η αιμοσφαιρίνη η οποία διακρίνεται σε οξυ-αιμοσφαιρίνη και δεοξυ-αιμοσφαιρίνη με διαφορετικά χαρακτηριστικά απορρόφησης καθεμία από αυτές [36].



Σχήμα 3.12: Φάσματα των συντελεστών απορρόφησης των χρωμοφόρων [36].

Το σχήμα 3.12 δείχνει την απορρόφηση αυτών των πέντε χρωμοφόρων. Οι φασματικές ανακλάσεις του ανθρώπινου δέρματος αλλάζουν μεταξύ των διαφόρων σημείων του σώματος και μεταξύ των ατόμων. Η αλλαγή των ψυχικών συνθηκών μπορεί επίσης να επηρεάσει τη φασματική ανάκλαση του δέρματος. Υποθέτουμε ότι οι αλλαγές αυτές προκαλούνται από δύο παράγοντες, την ποσότητα κάθε χρωστικής και το πάχος του δέρματος [36].

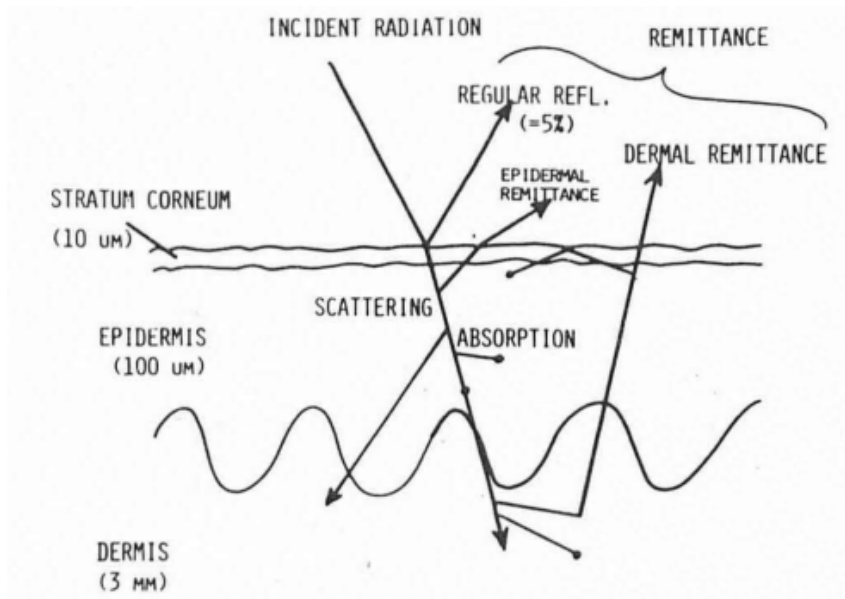
Προκειμένου να προσδιοριστεί μια σχέση μεταξύ της φασματικής ανάκλασης του δέρματος και αυτών των παραγόντων, γίνεται η υπόθεση ενός απλού οπτικού μοντέλου του δέρματος, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.13. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, ένα μέρος του προσπίπτοντος φωτός ανακλάται μεταξύ της επιφάνειας του δέρματος και του αέρα. Το υπόλοιπο φως που διεισδύει στην επιφάνεια απορροφάται και διαχέεται στα στρώματα (από τις χρωμοφόρες ουσίες της επιδερμίδας και του χορίου). Η φωτεινή ακτίνα που φτάνει στο στρώμα του υποδόριου ιστού ανακλάται ολικά (λόγω του λευκού λίπους που περιέχει) στην διεπιφάνεια μεταξύ των δύο στρωμάτων και επιστρέφει στο ανώτερο στρώμα [33, 34, 36].



Σχήμα 3.13: Οπτικό μοντέλο σκέδασης [36].

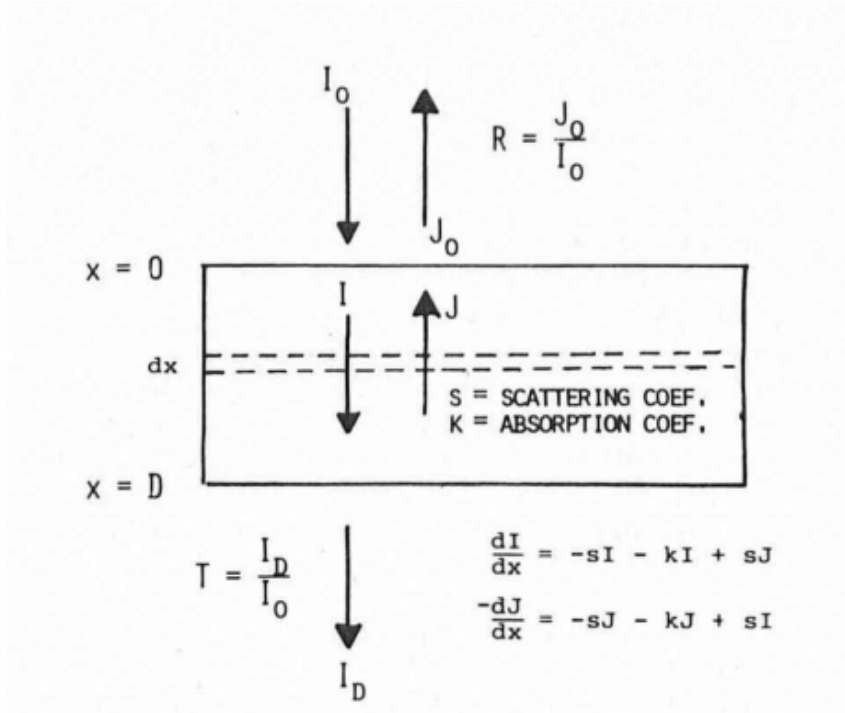
3.3.2 Μοντέλο Kubelka Munk

Η θεωρία των Kubelka Munk χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της φασματικής ανάκλασης του ανθρώπινου δέρματος με βάση το παραπάνω οπτικό μοντέλο. Γενικά, οι οπτικές τιμές της ανάκλασης και της διαπερατότητας σε στρώμα που αποτελείται από θολά υλικά μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας τη θεωρία Kubelka Munk, όπου δεν είναι απαραίτητο να εξεταστεί η σύνθετη διαδρομή του σκεδαζόμενου φωτός στο εσωτερικό του μέσου (σχήμα 3.14) [37].



Σχήμα 3.14: Σχηματικό διάγραμμα των οπτικής διαδρομής στο δέρμα [37].

Επειδή, θεωρείται ότι τα στρώματα του δέρματος (επιδερμίδα, χόριο) αποτελούνται από θολά υλικά, η χρήση της θεωρίας Kubelka Munk είναι λογική για την εκτίμηση της επιφανειακής ανάκλασης [37, 38].



Σχήμα 3.15: Το μοντέλο Kubelka-Munk για τη μεταφορά ακτινοβολίας σε ένα θολό, απορροφητικό μέσο [37].

Στο σχήμα 3.15 παρουσιάζεται το μοντέλο Kubelka Munk για τη μεταφορά ακτινοβολίας σε απορροφητικό μέσο από θολά υλικά. Ορίζεται το σύμβολο I ως η ένταση του φωτός που ταξιδεύει προς τα εμπρός και το σύμβολο J ως η ένταση του φωτός που ταξιδεύει προς τα πίσω για το προσπίπτον φως. Η σχέση μεταξύ των φωτεινών εντάσεων I και J περιγράφεται μέσω δύο διαφορικών εξισώσεων σε μια μεταβλητή βάθους x ως εξής:

$$\frac{dI}{dx} = -SI - KI + SJ, \quad (3.21)$$

$$-\frac{dJ}{dx} = -SJ - KJ + SI, \quad (3.22)$$

όπου S και K είναι, αντίστοιχα, οι συντελεστές σκέδασης (ή οπισθοσκέδασης) και απορρόφησης στα μέσα.

Πρέπει να τονιστεί πως ο συντελεστής σκέδασης (ή οπισθοσκέδασης) εισήχθη στη θεωρητική περιγραφή της διάχυτης ανάκλασης ως ημιεμπειρική παράμετρος για να ληφθούν υπόψη οι διαδικασίες εσωτερικής σκέδασης. Δεν αποτελεί ισχυρή συνάρτηση του μήκους κύματος ή του συντελεστή απορρόφησης, οπότε το μοντέλο Kubelka Munk το θεωρεί σταθερό. Στην πραγματικότητα, ο συντελεστής σκέδασης (ή οπισθοσκέδασης) μεταβάλλεται αργά με το μήκος κύματος αφού εξαρτάται στην πραγματικότητα

από το μέγεθος των σωματιδίων και τον δείκτη διάθλασης του δείγματος [16, 36, 37].

Επιπλέον, μπορεί να εξαχθεί η ανακλαστικότητα R και η διαπερατότητα T του θολού στρώματος με πάχος D από την επίλυση των εξισώσεων 3.22 και 3.21:

$$R = \frac{1}{a + b \coth bSD} \quad (3.23)$$

$$T = \frac{b}{a \sinh bSD + b \coth bSD} \quad (3.24)$$

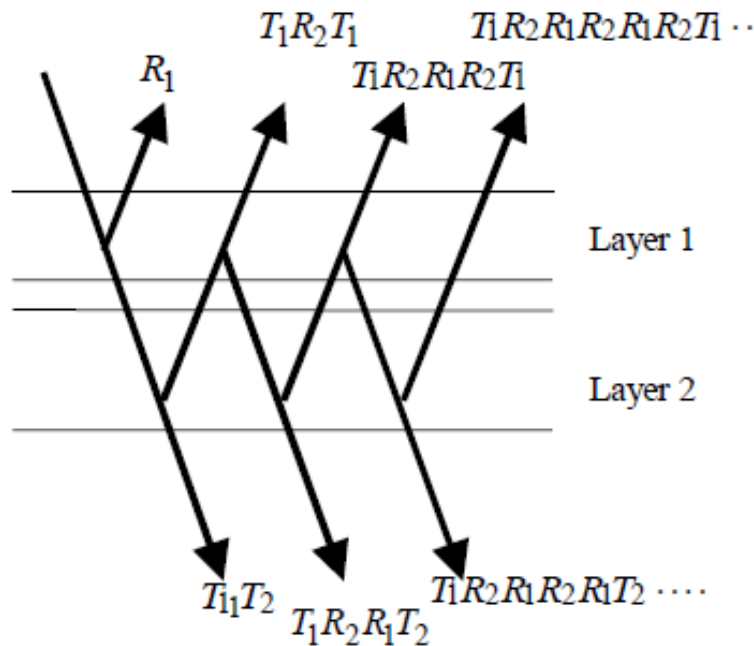
$$a = \frac{S + K}{S} \quad (3.25)$$

$$b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (3.26)$$

Επειδή το δέρμα αποτελείται από δύο στιβάδες θεωρούνται πολλαπλές ανακλάσεις στη διεπαφή μεταξύ του ανώτερου στρώματος (στρώμα 1) και του κατώτερου στρώματος (στρώμα 2). Στο μοντέλο των δύο στρωμάτων, η συνολική ανακλαστικότητα $R_{1,2}$ συμπεριλαμβανομένης της εσωτερικής ανάκλασης περιγράφεται ως:

$$R_{1,2} = R_1 + T_1^2 R_2 (1 + R_1 R_2 + R_1^2 R_2^2 + \dots) = R_1 \frac{T_1^2 R_2}{1 - R_1 R_2}, \quad (3.27)$$

όπου T_1 και R_1 είναι η διαπερατότητα και η ανακλαστικότητα του στρώματος 1, αντίστοιχα και R_2 είναι η ανακλαστικότητα του στρώματος 2 [36].



Σχήμα 3.16: Μοντέλο δυο στρωμάτων [36].

3.4 Πειραματική επαλήθευση βασικών θεωρητικών σχέσεων

Σε αυτό το εδάφιο θα πραγματοποιηθεί μια προσπάθεια επαλήθευσης των θεωρητικών τιμών των παραμέτρων ($a, b, a', f_{Ray}, b_{Mie}$) για κάποια πειραματικά δεδομένα δέρματος. Συγκεκριμένα από τον πίνακα 1 επιλέχθηκαν οι θεωρητικές τιμές του **Bashkatov et al 2001**.

Πίνακας 3: Θεωρητικές τιμές των ($a, b, a', f_{Ray}, b_{Mie}$) [2].

#	a (cm ⁻¹)	b	a' (cm ⁻¹)	f_{Ray}	b_{Mie}	Ref.	Tissue
Skin							
1	48.9	1.548	45.6	0.22	1.184	Skin	Anderson <i>et al</i> 1982
2	47.8	2.453	42.9	0.76	0.351	Skin	Jacques 1996
3	37.2	1.390	42.6	0.40	0.919	Skin	Simpson <i>et al</i> 1998
4	60.1	1.722	58.3	0.31	0.991	Skin	Saidi <i>et al</i> 1995
5	29.7	0.705	36.4	0.48	0.220	Skin	Bashkatov <i>et al</i> 2011
6	45.3	1.292	43.6	0.41	0.562	Dermis	Salomatina <i>et al</i> 2006
7	68.7	1.161	66.7	0.29	0.689	Epidermis	Salomatina <i>et al</i> 2006
8	30.6	1.100	na	na	na	Skin	Alexandrakis <i>et al</i> 2005

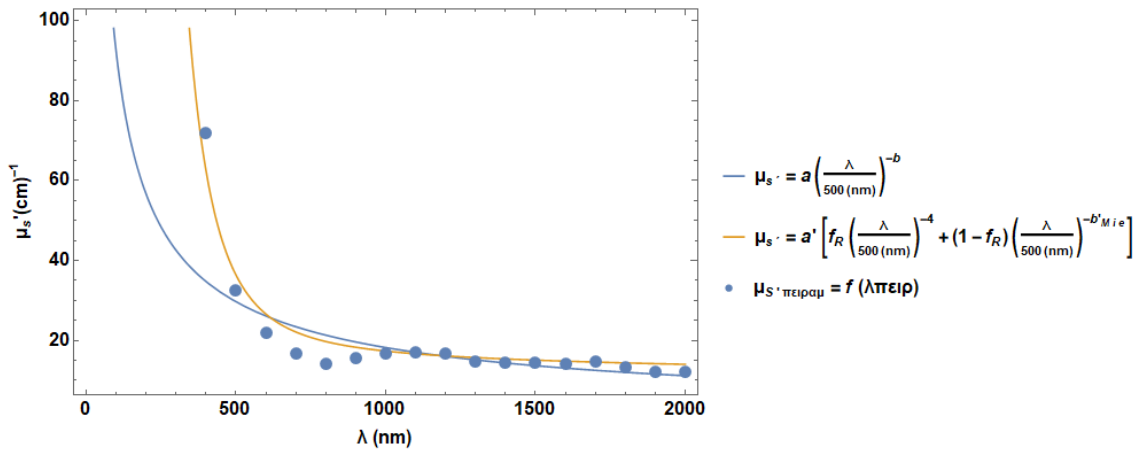
Τα πειραματικά δεδομένα φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 4: Πειραματικά δεδομένα για τα διατεταγμένα ζεύγη (μ'_s, λ) [4].

Tissue	λ , nm	μ_a , cm ⁻¹	μ_s , cm ⁻¹	g	μ'_s , cm ⁻¹	Remarks
Caucasian skin ($n = 21$)	400	3.76 (0.35)	—	—	71.8 (9.4)	IS, IAD; whole skin; in the spectral range of 400–2,000 nm: $\mu'_s = 1.1 \times 10^{12} \lambda^{-4} + 73.7 \lambda^{-0.22}$, [λ] in nanometers ³⁹
	500	1.19 (0.16)	—	—	32.5 (4.2)	
	600	0.69 (0.13)	—	—	21.8 (3.0)	
	700	0.48 (0.11)	—	—	16.7 (2.3)	
	800	0.43 (0.11)	—	—	14.0 (1.9)	
	900	0.33 (0.02)	—	—	15.7 (2.1)	
	1,000	0.27 (0.03)	—	—	16.8 (2.8)	
	1,100	0.16 (0.04)	—	—	17.1 (2.7)	
	1,200	0.54 (0.04)	—	—	16.7 (2.9)	
	1,300	0.41 (0.07)	—	—	14.7 (2.6)	
	1,400	1.64 (0.31)	—	—	14.3 (3.7)	
	1,500	1.69 (0.35)	—	—	14.4 (3.8)	
	1,600	1.19 (0.22)	—	—	14.2 (3.4)	
	1,700	1.55 (0.28)	—	—	14.7 (3.5)	
1,800	1.44 (0.22)	—	—	13.4 (2.9)		
1,900	2.14 (0.28)	—	—	12.2 (3.1)		
2,000	1.74 (0.29)	—	—	12.0 (2.9)		

Η εκτίμηση των παραμέτρων ($a, b, a', f_{Ray}, b_{Mie}$) θα πραγματοποιηθεί με την εύρεση των κρίσιμων σημείων των συναρτήσεων 3.11 για τη σχέση 3.1 και 3.16 για τη σχέση 3.2, μέσω της χρήσης της εντολής NonlinearModelFit στο Mathematica για τα πειραματικά σημεία του σχήματος 3.17.

Συγκεκριμένα, η επίλυση του συστήματος των δύο εξισώσεων 3.12 και 3.13 που προκύπτει από την συνάρτηση 3.11 δίνει τιμές για το $a = 30.4$ και για το $b = 0.71$.



Σχήμα 3.17: Απεικόνιση της φασματικής εξάρτησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης μ'_s του δείγματος και η προσέγγιση του με τον νόμο δύναμης των εξισώσεων 3.1 και 3.2 για τις θεωρητικές τιμές των παραμέτρων $(a, b, a', f_{Ray}, b_{Mie})$ του Πίνακα 3.

Παρομοίως, η επίλυση του συστήματος των τριών εξισώσεων 3.17, 3.18 και 3.19 που προκύπτει από την συνάρτηση 3.16 δίνει τις ακόλουθες τιμές $a' = 32.4$, $f_{Ray} = 0.42$ και $b_{Mie} = 0.25$. Οι πειραματικές τιμές των παραμέτρων $(a, b, a', f_{Ray}, b_{Mie})$ προσεγγίζουν αρκετά τις θεωρητικές τιμές των παραμέτρων του Πίνακα 3.

Σύμφωνα με το σχήμα 3.17 παρατηρείται ότι οι δύο εξισώσεις 3.1 και 3.2 που αντιστοιχούν στις θεωρητικές καμπύλες (μπλέ και πορτοκαλί αντίστοιχα) λειτουργούν εξίσου καλά μόνο στην φασματική περιοχή $(500 - 1300) \text{ nm}$. Η παρουσία των μεγάλων σκεδαστών Mie προκαλεί μια ασθενή εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος στην φασματική περιοχή του κοντινού υπερύθρου. Στη φασματική περιοχή $(400 - 800) \text{ nm}$ η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή από το μήκος κύματος δεν μπορεί να περιγραφεί καλά από το νόμο δύναμης με $\mu'_s(\lambda) = 30.4\lambda^{-0.71}$. Αυτό συμβαίνει διότι σε αυτή την φασματική περιοχή ο συντελεστής μ'_s μειώνεται απότομα λόγω της συμβολής των μικρών σκεδαστών Rayleigh μέσω της σχέσης $\mu'_s(\lambda) = \alpha\lambda^{-4}$, όπου α θα μεταβάλλεται μόνο με το μέγεθος της σκέδασης Rayleigh. Κατά συνέπεια, φαίνεται πως ο συνδυασμός της σκέδασης Rayleigh και της σκέδασης Mie περιγράφει λίγο καλύτερα την μετρούμενη εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος για τα πειραματικά δεδομένα σύμφωνα με την σχέση 3.2.

$$\mu'_s(\lambda) = 32.4 \left(0.42 \lambda^{-4} - 0.58 \lambda^{-0.22} \right). \quad (3.28)$$

Τέλος, τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με το μοντέλο Kubelka Munk αφού για μεγάλες τιμές του μήκους κύματος η παρουσία μεγάλων σκεδαστών του δείγματος οδηγεί τον ενεργό συντελεστή σκέδασης να μεταβάλλεται αργά με το μήκος κύματος.

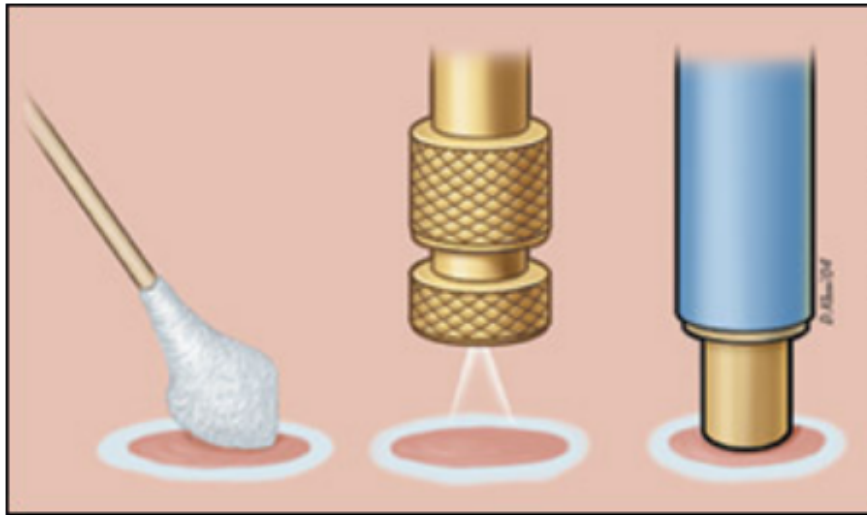
Κεφάλαιο 4

Βασικές έννοιες Κρυοχειρουργικής

Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική ψύξης - απόψυξης για την ανανέωση ιστών ή την καταστροφή των παθολογικών αλλοιώσεων, εφαρμόζοντας τοπική ταχεία ψύξη είναι η κρυοχειρουργική / κρυοθεραπεία (cryosurgery / cryotherapy). Ωστόσο, η μέχρι στιγμής εφαρμογή της εξακολουθεί να βασίζεται στην υποκειμενική «ειδική γνώση» (κλινική εμπειρία) των ιατρών, καθώς δεν υπάρχει η δυνατότητα παρακολούθησης της όποιας θεραπευτικής παρέμβασης σε πραγματικό χρόνο. Στόχος αυτής της εργασίας είναι η μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων του δέρματος στα πλαίσια της τεχνικής της κρυοχειρουργικής με τη χρήση αισθητήρα οπτικών ινών. Η εργασία θα επικεντρωθεί στην ανάπτυξη ενός αριθμητικού μοντέλου βασικών αρχών που θα προσδιορίζει την εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης σε πραγματικό χρόνο από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία, αξιοποιώντας τις οπτικές ιδιότητες της διάδοσης, της σκέδασης και της φασματοσκοπίας συγκριτικά σε δείγματα παγωμένου και μη παγωμένου χοιρινού δέρματος (porcine skin), (ex-vivo) αλλά και ανθρώπινου δέρματος (in vivo).

4.1 Εισαγωγή στην Κρυοχειρουργική

Η σύγχρονη κρυογονική τεχνολογία αναπτύσσεται από τα τέλη του 19ου αιώνα, εφόσον η υγροποίηση του οξυγόνου, του αζώτου, του διοξειδίου του άνθρακα και του υδρογόνου, καθώς και η βιομηχανική παραγωγή και αποθήκευση υγρών ψυκτικών μέσω επέτρεψαν την ανάπτυξη κρυοβιολογίας και τη χρήση εξαιρετικά χαμηλών θερμοκρασιών στην ιατρική. Ο όρος «κρυοθεραπεία» χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τη θεραπεία των δερματικών βλαβών με πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Επί του παρόντος, η κρυοθεραπεία αναφέρεται σε διάφορες θεραπείες που αποσκοπούν στη μείωση της θερμοκρασίας της επιφάνειας του σώματος χωρίς καταστροφή ιστού, ενώ στην «κρυοχειρουργική» ασθενείς ιστοί καταστρέφονται μέσω της κατάψυξης [39]. Οι κρυοχειρουργικές τεχνικές είναι λιγότερο επεμβατικές και έχουν χαμηλότερη νοσηρότητα σε σύγκριση με τη χειρουργική εκτομή. Ωστόσο, η χρήση της κρυοχειρουργικής περιορίστηκε από την έλλειψη καλής κατανόησης των υποκείμενων μηχανισμών καταστροφής ιστών. Για την κλινική εφαρμογή της κρυοχειρουργικής και για την επέκταση της χρήσης της, είναι σημαντικό να κατανοηθούν οι μηχανισμοί της καταψύξεως των κυττάρων και ο έλεγχος των θερμικών παραμέτρων [5].



Σχήμα 4.1: Συσκευές Κρυοχειρουργικής. (Αριστερά) Ακροφύσιο βαμβακιού. (Κέντρο) Ψεκαστικό Υγρού αζώτου. (Δεξιά) Κρυο-καθετήρας [40].

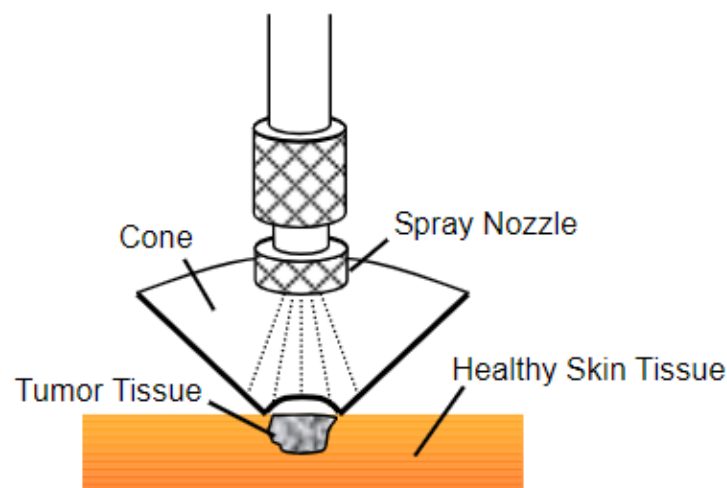
Η διαδικασία της κρυοχειρουργικής σχετίζεται με υγροποιημένα αέρια όπως:

- Άζωτο: με σημείο βρασμού -196°C .
- Οξυγόνο: με σημείο βρασμού -78.5°C .
- Διοξείδιο του Άνθρακα: με σημείο βρασμού -183°C .
- Υδρογόνο: με σημείο βρασμού -253°C .

Αρκετές τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δερματική κρυοχειρουργική, συμπεριλαμβάνοντας τις μεθόδους μπατονέτας, καθετήρα και ψεκασμού 4.1 [39–41].

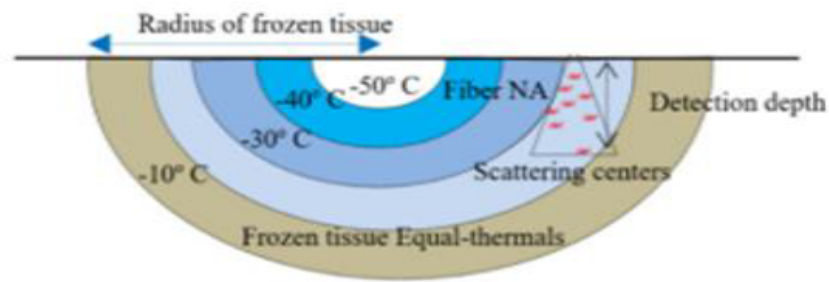
Για δερματική κρυοχειρουργική μέθοδο ψεκασμού με υγρό άζωτο, το ακροστόμιο έχει τοποθετηθεί στα 1 με 1.5 cm από την επιφάνεια του δέρματος και στοχεύει προς το κέντρο της δερματικής βλάβης. Μια κωνική ασπίδα χρησιμοποιείται για να περιορίσει τον ψεκασμό στην επιθυμητή περιοχή και να αποτρέψει ανεπιθύμητη έκθεση σε περιβάλλον υγιή ιστό. Όταν ενεργοποιηθεί το πιστόλι ψεκασμού, ένας συνδυασμός αερίου αζώτου και λεπτών σταγονιδίων υγρού αζώτου προσκρούουν στην επιφάνεια του δέρματος και σχηματίζεται μια μεμβράνη υγρού αζώτου. Λόγω της ισχυρής εξάτμισης του υγρού αζώτου, ο δερματικός ιστός-στόχος ψύχεται ταχέως. Όταν η θερμοκρασία του δέρματος πέφτει στη θερμοκρασία αλλαγής της φάσης του ιστού, αρχίζει η διαδικασία κατάψυξης. Αναπτύσσεται μια «μπάλα πάγου» διαμέσου της επιδερμίδας στο χόριο και τελικά περιβάλλει τον όγκο. Μόλις σταματήσει ο ψεκασμός, αν δεν υπάρχει καμία εξωτερική πηγή θερμότητας, ο κατεψυγμένος ιστός θα θερμανθεί γύρω από τον μη κατεψυγμένο ιστό και θα συμβεί η αργή απόψυξη. Η κατάψυξη που προκαλείται από ψεκασμό και η επακόλουθη απόψυξη περιγράφονται συνήθως ως **κύκλος ψύξης-απόψυξης**. Μπορεί να παρατηρηθεί τραυματισμός του ιστού λόγω της ψύξης - απόψυξης που οφείλεται σε τρεις διαδοχικούς ή και αλληλοεπικαλυπτόμενους μηχανισμούς [3, 41]:

- Αρχική «**φυσική φάση**» όπου παρατηρείται μια κυτταρική νέκρωση εξαιτίας της άμεσης έκθεσης του ιστού σε χαμηλές θερμοκρασίες. Στο στάδιο αυτό σχηματίζονται μικροκρύσταλλοι και μικροφουσαλλίδες και παρατηρούνται φαινόμενα όσμωσης κατά την διαδικασία απόψυξης που συμβάλουν στην διάσπαση των κυττάρων ($T = -40^{\circ}C$).
- Ακολουθεί η «**αγγειακή φάση**», όπου οι βλάβες στον δερματικό ιστό αποδίδονται σε διαταραχές στην ροή του αίματος ($T = -30^{\circ}C$).
- Τέλος, υπάρχει η «**ανοσολογική-φλεγμονώδης φάση**», όπου ο κρύο-τραυματισμός μπορεί να πυροδοτήσει φλεγμονώδεις διεργασίες και συνεπώς το ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίζει τα τραυματισμένα κύτταρα ως ξένα και να τους επιτίθεται καταστρέφοντάς τα ($T = -10^{\circ}C$). Η διαδικασία αυτή μπορεί να διαρκέσει αρκετές εβδομάδες και θεωρείται πολύ σημαντική στην αντιμετώπιση καρκινικών όγκων [3].

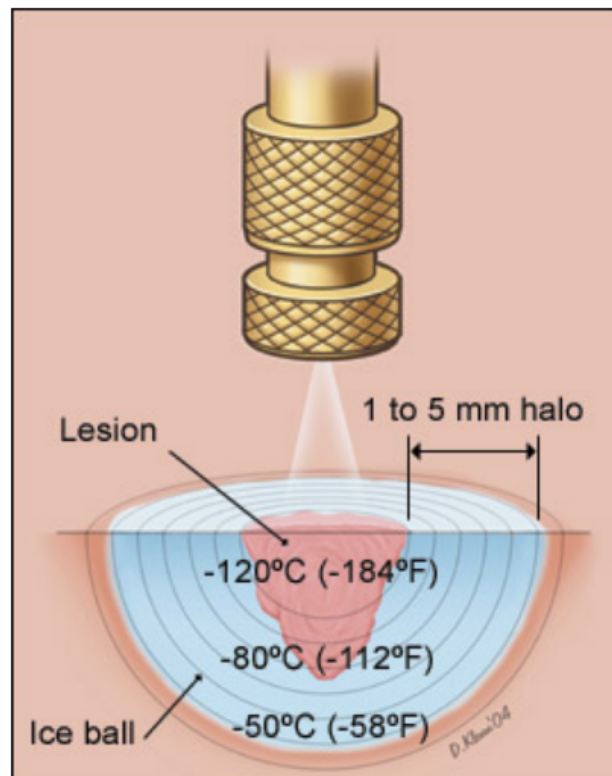


Σχήμα 4.2: Σχηματική απεικόνιση της δερματικής κρυοχειρουργικής χρησιμοποιώντας ψεκασμό υγρού αζώτου. Το ακροφύσιο ψεκασμού τοποθετείται περίπου 1 έως 1.5 cm πάνω από τον ιστό-στόχο [42].

Λόγω των παραπάνω μηχανισμών ο ιστός θα αλλάξει σταδιακά και προκειμένου να γίνει η βέλτιστη πρόβλεψη της τελικής κατάστασης των αλλοιώσεων, συστήνεται η παρακολούθηση ιστού σε πραγματικό χρόνο και η μελέτη του βάθους της περιοχής κατάψυξης «σφαίρα πάγου» (βλέπε σχήμα 4.4). Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της μέτρησης των αλλαγών και των δυναμικών βαθμίδων θερμοκρασίας του ιστού σε πραγματικό χρόνο (σχήμα 4.3). Παρόλα αυτά δεν είναι εύκολη και αντικειμενική η παραπάνω διαδικασία μέτρησης και παρακολούθησης της ψύξης σε πραγματικό χρόνο, ειδικά σε ζωντανό (in vivo) ιστό. Συνεπώς η κλινική κρυοχειρουργική βασίζεται στην εμπειρική γνώση του θεράποντος ιατρού [3].



Σχήμα 4.3: Δυναμικές βαθμίδες θερμοκρασίας (ισόθερμες) του ιστού [3].



Σχήμα 4.4: Τεχνική παγώματος που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία μιας κακοήθειας (πιθανώς ενός μικρού βασικοκυτταρικού καρκίνου), που καταδεικνύει το σχηματισμό μπάλας παγώματος και τα περιθώρια θεραπείας 5 mm που είναι απαραίτητα για την επίτευξη θερμοκρασίας -50°C και, συνεπώς, το απαιτούμενο βάθος 4 έως 5 mm [40].

Στη παρούσα εργασία τα δεδομένα του πειράματος θα προκύψουν από μια νέα τεχνική που αξιοποιεί την γεωμετρία της συστοίχιας οπτικών ινών και συγκεκριμένα τις ιδιότητες της οπτικής οπισθοσκέδασης διάχυσης προκειμένου να βοηθήσει στον προσδιορισμό του ενεργού συντελεστή σκέδασης στη διαδικασία της κρυοχειρουργικής. Κατά την διάρκεια της ταχείας ψύξης με χρήση υγρού αζώτου, ο ζωντανός ιστός που περιέχει νερό μεταβάλλει το χρώμα του για σύντομο χρονικό διάστημα μετά την λήξη εφαρμογής του κρυογόνου αποκτώντας ένα απαλό λευκό χρώμα. Αυτό οφείλεται στην παροδική συστολή των αιμοφόρων αγγείων και την επακόλουθη μείωση του

αίματος λόγω δημιουργίας παγοκρυστάλλων και μικροφυσαλίδων που λειτουργούν ως σχεδαστές Mie [3]. Η δημιουργία των παγοκρυστάλλων και μικροφυσαλίδων συμβαίνει εξαιτίας της απότομης ψύξης διότι διαλυμένα αέρια εγκλωβίζονται στο εσωτερικό υγρό των κυττάρων τα οποία δεν προλαβαίνουν να διαφύγουν. Οι διαστάσεις των δημιουργούμενων μικροφυσαλίδων είναι της τάξης μεγέθους του μήκους κύματος του ορατού φωτός και μπορούν να δράσουν ως κέντρα σκέδασης (Mie) (βλέπε σχήμα 4.3) [3]. Γενικά το μέγεθος των κυτταρικών δομών καθορίζει και το είδος της σκέδασης (Mie ή Rayleigh) του φωτός στις διαδικασίες της οπτικής διάχυσης [2]. Όλα τα ανωτέρα φαινόμενα επηρεάζουν τον ενεργό συντελεστή σκέδασης και είναι απαραίτητη μια μελέτη που θα διερευνά το πώς επηρεάζεται ο ενεργός συντελεστής σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία προκειμένου να βοηθήσει στη συνέχεια στην κατανόηση της μείωσης του πλήθους αλλά και του μεγέθους των σχεδαστών Mie σε πραγματικό χρόνο σε μια διαδικασία παγοποίησης ενός βιολογικού ιστού με χρήση αισθητήρα οπτικών ινών (βλέπε σχήμα 4.10). Μια τέτοια διερεύνηση θα συμβάλει πιθανώς στον προσδιορισμό του βάθους παγοποίησης σε ένα in vivo βιολογικό ιστό σε πραγματικό χρόνο, οδηγώντας στην βελτιστοποίηση της μεθόδου της κρυσταλλοχειρουργικής ή κρυστοθεραπείας.

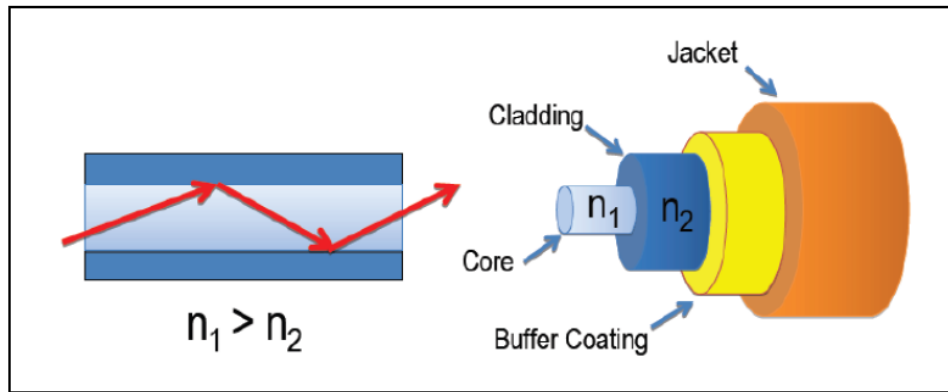
4.2 Πειραματική Διάταξη

4.2.1 Οπτικές ίνες

Οι λόγοι για τους οποίους γίνεται η χρήση των οπτικών ινών για την μέτρηση της αλλαγής των οπτικών ιδιοτήτων κατά την διάρκεια της κρυσταλλοχειρουργικής είναι οι ακόλουθοι:

- Ένας αισθητήρας οπτικών ινών μπορεί να κατασκευαστεί σε κατάλληλο μέγεθος, ώστε να είναι κοντά στη γεωμετρία του παγώματος και το βασικότερο να μην εμποδίζει την διαδικασία της κρυσταλλοχειρουργικής ή της κρυστοθεραπείας.
- Δεύτερον δεν δημιουργεί θερμική παρεμβολή.
- Και τέλος επιτρέπει την χρήση ακτινοβολίας στο φάσμα του ορατού, το οποίο δεν επηρεάζει τη δομή του δέρματος. [3]

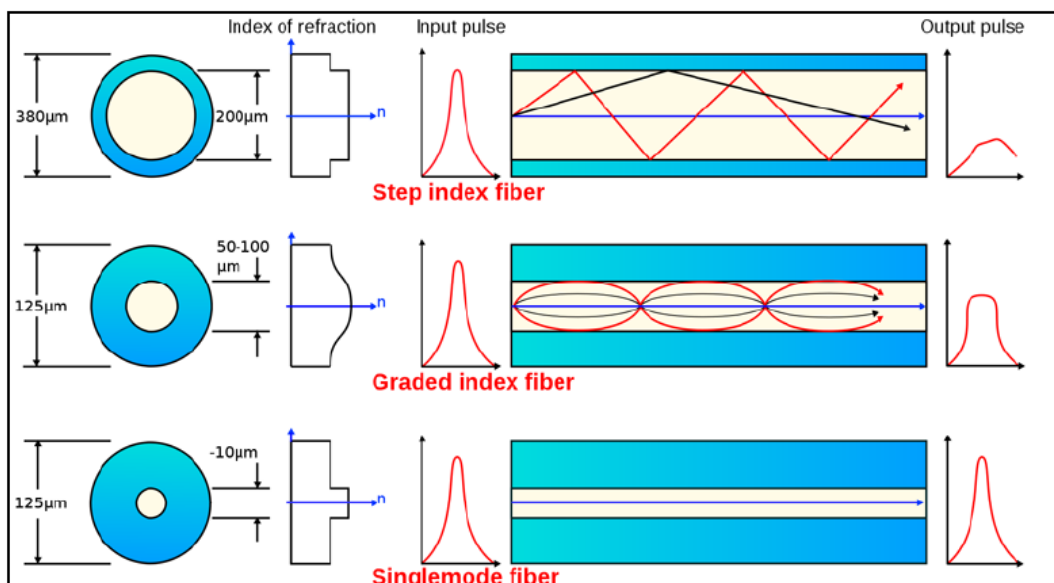
Παρόλο που χρειάζεται η θεωρία των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων για να μελετηθεί η διάδοση του φωτός μέσα στις οπτικές ίνες, στην πράξη μπορούν να χρησιμοποιηθούν απλοί νόμοι της οπτικής για να γίνει αυτή κατανοητή. Μπορούμε να θεωρήσουμε το φως ως ακτίνες που ταξιδεύουν σε ευθείες γραμμές και μεταδίδονται μέσα στις οπτικές ίνες εξαιτίας του φαινομένου της εσωτερικής ανάκλασης. Οι οπτικές ίνες διαθέτουν έναν πυρήνα με μεγάλο δείκτη διάθλασης, ο οποίος περιβάλλεται από μια επικάλυψη μικρότερου δείκτη διάθλασης (σχήμα 4.5). Το φως ανακλάται στα όρια μεταξύ του πυρήνα της ίνας και της επικάλυψής του. Όσο ο πυρήνας περιβάλλεται από την επικάλυψή του, τόσο το φως που βρίσκεται μέσα σε αυτόν ανακλάται ξανά και ξανά και έτσι καθοδηγείται μέσα στην οπτική ίνα [43].



Σχήμα 4.5: Σχηματική αναπαράσταση οπτικής ίνας [44].

Ο πυρήνας (core) και η επικάλυψη (cladding) μιας τυπικής οπτικής ίνας κατασκευάζονται από (drawn) γυαλί ή πλαστικό διαμέτρου από $80 \mu\text{m}$ έως $1000 \mu\text{m}$. Ο πυρήνας κατασκευάζεται με τέτοιο τρόπο ώστε να έχει μεγαλύτερο δείκτη διάθλασης από την επικάλυψή του. Συνήθως η διαφορά του δείκτη διάθλασης είναι μικρότερη του 1%. Ο αυστηρός ποιοτικός έλεγχος κατά την διάρκεια της κατασκευής μιας οπτικής ίνας, εξασφαλίζει την σταθερότητα των ιδιοτήτων της καθ' όλο το μήκος της. Οι ίνες έχουν μεγάλη αντοχή αλλά είναι ταυτόχρονα και εύκαμπτες. Στο τέλος μια εξωτερική επένδυση (jacket), συνήθως ακρυλική ή πολυαμιδική (σε σπάνιες περιπτώσεις μεταλλική) εφαρμόζεται στις ίνες για προστασία από το περιβάλλον. Η εξωτερική επένδυση μπορεί να αποτελείται από πολλά στρώματα ανάλογα με την προστασία που χρειάζεται [44].

Οι αισθητήρες οπτικών ινών χωρίζονται σε πολλές υποκατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο που αυτοί λειτουργούν, με βάση την θέση τους ως προς την οπτική ίνα, ανάλογα με την χρήση τους κ.α. Ένας από τους βασικότερους διαχωρισμούς είναι ο αριθμός των καταστάσεων που μπορεί να υποστηρίξει μια οπτική ίνα. Διαχωρίζονται σε δύο ομάδες, τις μονότροπες ή μονής κατάστασης (single mode) και τις πολύτροπες ή πολλών καταστάσεων (multimode).



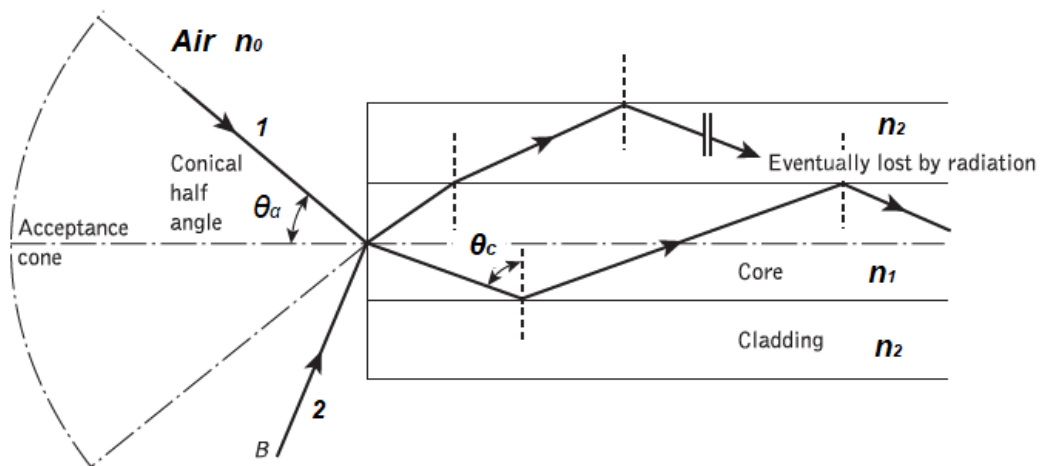
Σχήμα 4.6: Είδη οπτικών ινών, ανάλογα με την κατάσταση τους (mode) [45].

Οι ίνες με πολύ μικρή διάμετρο πυρήνα επιτρέπουν να μεταδίδεται το φως μόνο σε μια κατάσταση (single mode). Το φως μέσα σε αυτές διαδίδεται ομοιόμορφα. Αντίθετα οι ίνες με μεγαλύτερη διάμετρο πυρήνα μπορούν να διαδίδουν το φως σε παραπάνω από μία καταστάσεις (multimode) και πιο συγκεκριμένα με δυο διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με το προφίλ του δείκτη διάθλασης. Όταν ο δείκτης διάθλασης διατηρεί σταθερό προφίλ σε όλη την διατομή της ίνας τότε η ίνα ονομάζεται σταθερού βήματος (step index). Ενώ όταν το προφίλ του δείκτη διάθλασης είναι μη γραμμικό, περιστροφικό και συμμετρικό τότε η ίνα ονομάζεται κεκλιμένου βήματος (gradient index) [46] (σχήμα 4.6).

Για τον αισθητήρα είναι σημαντικό το αριθμητικό άνοιγμα (numeric aperture, NA) που είναι το μέγεθος που καθορίζει την ικανότητα της κάθε οπτικής ίνας να συλλέγει φως. Το αριθμητικό άνοιγμα μέσω του νόμου του Snell, ορίζεται από την σχέση:

$$NA = n_0 \sin \theta_a, \quad (4.1)$$

όπου το n_0 είναι ο δείκτης διάθλασης στην είσοδο της οπτικής ίνας, που συνήθως είναι ο αέρας και το $\sin \theta_a$ είναι το ημίτονο της γωνίας αποδοχής (acceptance angle) (σχήμα 4.7).



Σχήμα 4.7: Η γωνία αποδοχής θ_a κατά την πρόσπτωση φωτός σε μια οπτική ίνα [46].

Άλλος ένας τρόπος ορισμού του NA είναι μέσω του σχετικού δείκτη διάθλασης Δ του πυρήνα και της επικάλυψης [3, 46].

$$NA = n_1 (2\Delta)^{1/2}, \quad (4.2)$$

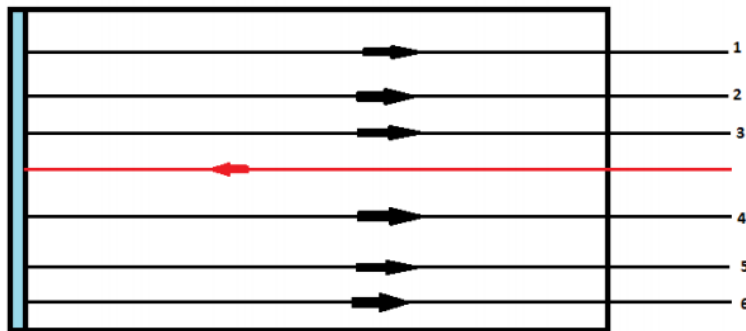
όπου

$$\Delta = \frac{n_1^2 + n_2^2}{2n_1^2} \approx \frac{n_1 + n_2}{n_1}. \quad (4.3)$$

Στην πειραματική διάταξη ο αισθητήρας κατασκευάστηκε από (stepped index) πολύτροπες ίνες, λόγω του ότι μπορούν να συλλέξουν περισσότερο φως, αφού θέλουμε την καλύτερη διακριτική ικανότητα για την συλλογή των πειραματικών δεδομένων.

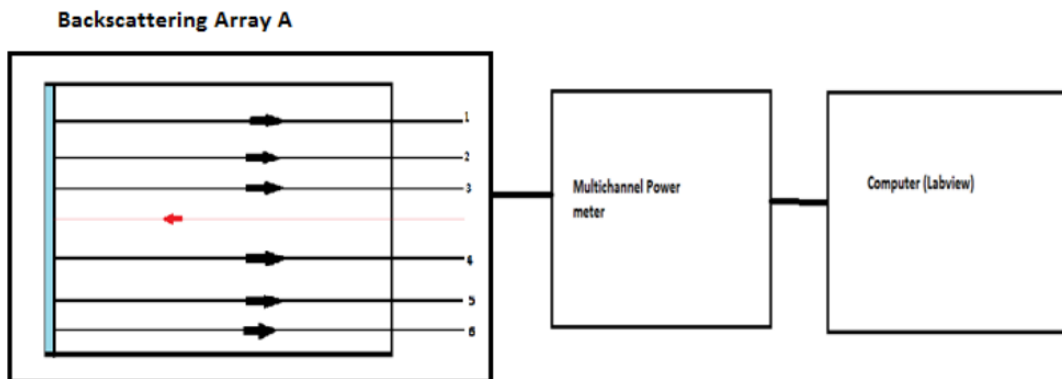
4.2.2 Οπτικός αισθητήρας

Στην παρούσα υποενότητα περιγράφεται η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για την λήψη των δεδομένων κατά την διενέργεια των πειραματικών μετρήσεων. Βασικό πειραματικό όργανο αποτελεί ένας πολυτροπικός αισθητήρας οπτικών ινών (multimode, MMF) που χαρακτηρίζεται από χωρικό διαχωρισμό περίπου 1 mm , διάμετρο πυρήνα κάθε οπτικής ίνας $240\ \mu\text{m}$ και διάμετρο περιβλήματος $250\ \mu\text{m}$. Στο σχήμα 4.8 απεικονίζεται μια αναπαράσταση του αισθητήρα, όπου η κεντρική οπτική ίνα λειτουργεί ως φωτοεκπομπός, ενώ οι εγγύτερες στην κεντρική ίνα, οπτικές ίνες 3 και 4 χρησιμεύουν για την καταγραφή της έντασης του οπισθοσχεδαζόμενου φωτός. Επιπλέον, οι ίνες 1, 2, 5, 6 χρησιμεύουν στην περαιτέρω μέτρηση του σχεδαζόμενου φωτός [3].



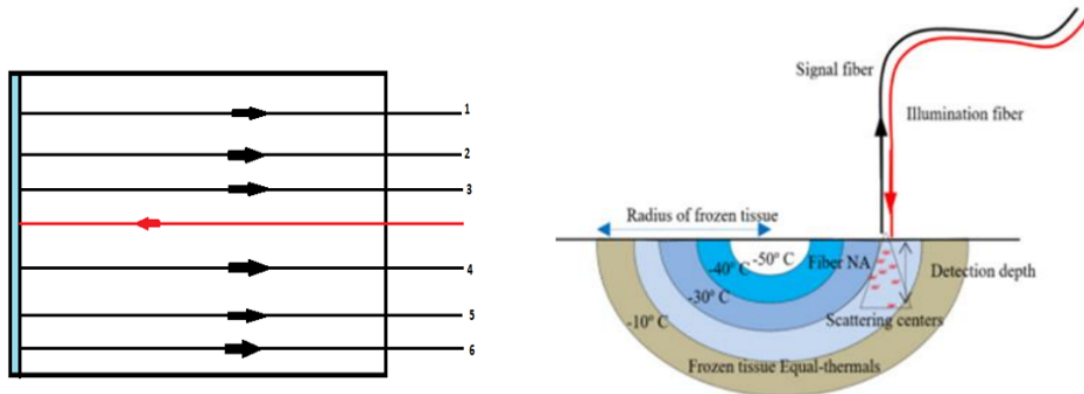
Σχήμα 4.8: Αισθητήρας οπτικών ινών με παράθυρο για την καταγραφή της οπισθοσκέδασης [3].

Η πηγή Laser εκπέμπει φως σε ένα εύρος μηκών κύματος $170\text{ nm} < \lambda < 2000\text{ nm}$ και έχει ισχύ εξόδου $3 - 4\text{ mW}$. Επιπρόσθετα, προκειμένου να προστατευθεί ο αισθητήρας από το στρώμα πάγου που αναπτύσσεται στην επιφάνεια του δείγματος, έχει τοποθετηθεί προστατευτικό γυαλί στο πρόσθιο τμήμα του, επιτρέποντας όμως στην οπτική ίνα να κινηθεί ελεύθερα δια μέσω χρήσης ειδικού μικρομέτρου. Ο βασικός αισθητήρας καταγραφής της οπισθοσχεδαζόμενης δέσμης συνδέεται με έναν πολυκάναλο μετρητή ισχύος (Multichannel Power - meter) όπου η κάθε ίνα που αποτελεί τον αισθητήρα συνδέεται με μια αντίστοιχη φωτοδίοδο του παλυκάναλου μετρητή. Τέλος, τα δεδομένα των μετρήσεων μεταφέρονται προς επεξεργασία σε κατάλληλο σύστημα ηλεκτρονικού υπολογιστή (βλέπε σχήμα 4.9) [3].



Σχήμα 4.9: Βασική οργάνολογία [3].

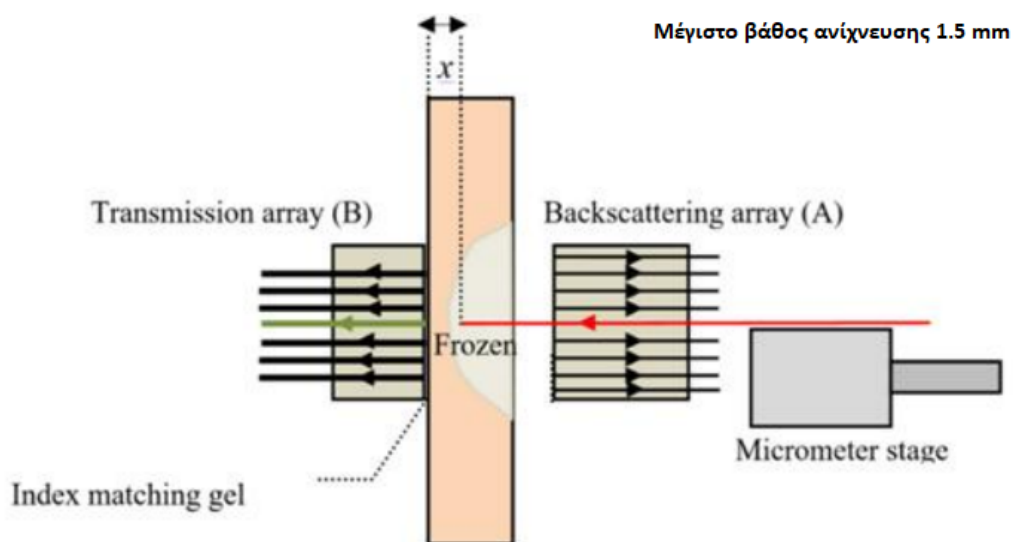
Στο σχήμα 4.10 φαίνεται η κεντρική οπτική ίνα (κόκκινη) που διαδίδει το φως στον παγωμένο ιστό (σφαίρα πάγου) ενώ οι υπόλοιπες οπτικές ίνες (μαύρες) καταγράφουν την ένταση της οπισθοσχεδαζόμενης ακτινοβολίας.



Σχήμα 4.10: Χρήση αισθητήρα οπτικών ινών σε μετρήσεις οπισθοσχεδαζόμενης ακτινοβολίας [3].

4.2.3 Βαθμονόμηση και περιγραφή της διαδικασίας μέτρησης

Αρχικά πραγματοποιείται η βαθμονόμηση της μετρητικής συσκευής που συνίσταται στην ταυτόχρονη μέτρηση των φαινομένων οπισθοσκέδασης (Backscattering Array A) και διάδοσης (Transmission Array B) του φωτός προκειμένου να εκτιμηθεί το βάθος εντός του ιστού μέχρι το οποίο είναι δυνατόν να ανιχνεύσει ο αισθητήρας (Βλέπε σχήμα 4.11).



Σχήμα 4.11: Πειραματική διάταξη βαθμονόμησης βάθους [3].

Επειδή είναι προφανές ότι σε ένα *in vivo* δείγμα δέρματος δεν μπορούμε να έχουμε πρόσβαση στην πίσω πλευρά, η διαδικασία βαθμονόμησης της μετρητικής συσκευής

πραγματοποιείται με χρήση *ex vivo* δείγματος χοίρου. Η επιλογή του δέρματος χοίρου σχετίζεται με το γεγονός ότι κατά την διάρκεια του κύκλου ψύξης - απόψυξης το *ex vivo* δέρμα χοίρου εμφανίζει μια χαρακτηριστική «λεύκανση» παρόμοια με την περίπτωση ενός *in vivo* δείγματος και επιπλέον δεν παρουσιάζει εμφανείς αλλοιώσεις, γεγονός που το καθιστά ιδανικό για την πραγματοποίηση πειραμάτων που προσομοιώνουν ένα «εν ζωή» δείγμα [3].

Στην περίπτωση ενός πτωματικού ιστού, ο φωτισμός από μονοχρωματική δέσμη προκαλεί ανάκλαση, διάδοση και σκέδαση από την επιφάνεια, ενώ μια απότομη ψύξη του ιστού μέσω χρήσης υγρού αζώτου, οδηγεί στην μέτρηση των αναλογιών του φωτός που διαδίδεται, ανακλάται ή σκεδάζεται. Οι συγκεκριμένες αναλογίες του φωτός σχετίζονται με χωροχρονικές μεταβολές των χαρακτηριστικών του ιστού. Συγκεκριμένα για έναν κύκλο ψύξης - απόψυξης εφαρμόζεται κρουογόνο στην μια πλευρά για όσο χρόνο θεωρηθεί απαραίτητο ώστε η θερμοκρασία στην πίσω πλευρά να κυμαίνεται στην περιοχή από -65°C μέχρι -100°C και αυτό επιτυγχάνεται ρυθμίζοντας κατάλληλα την απόσταση, τον χρόνο εφαρμογής και την ποσότητα εφαρμογής του κρουογόνου. Οι συστοιχίες των οπτικών ινών που χρησιμοποιούνται για την μέτρηση βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο, όπου η κεντρική ίνα πηγή (της συστοιχίας A) και η κεντρική ίνα ανίχνευσης (της συστοιχίας B) είναι ευθυγραμμισμένες, ενώ το διαδιδόμενο φως μετριέται διαμέσω του πάχους του ιστού (Βλέπε σχήμα 4.11). Ακολουθεί μια διαδικασία απόψυξης κατά την διάρκεια της οποίας η οπτική ίνα φωτισμού (κόκκινη) της συστοιχίας A απομακύνεται σταδιακά από την συστοιχία οπτικών ινών B καθώς η σφαίρα πάγου ξεπαγώνει. Λαμβάνονται μετρήσεις οπτικών σημάτων μέσω συστοιχίας οπτικών ινών A και B (οπισθοσκεδαζόμενης και διαδιδόμενης ακτινοβολίας αντίστοιχα) καθώς και οι θερμοκρασίες από τις δύο πλευρές του δείγματος, η καταγραφή των οποίων οδηγεί στην βαθμονόμηση βάρους του παγώμενου ιστού. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν οι ενεργειακές απώλειες διάδοσης στην επιφάνεια, μεταξύ της συστοιχίας B και του δέρματος, χρησιμοποιήθηκε ειδική γέλη προσαρμογής του δείκτη διάθλασης, η οποία συμβάλλει επίσης και στην εξομάλυνση των επιφανειακών ανωμαλιών στις διεπαφές μεταξύ δέρματος και συστοιχίας. Το μέγιστο βάθος ανίχνευσης για ένα *ex vivo* βιολογικό ιστό ήταν περίπου 1.5 mm [3].

Κεφάλαιο 5

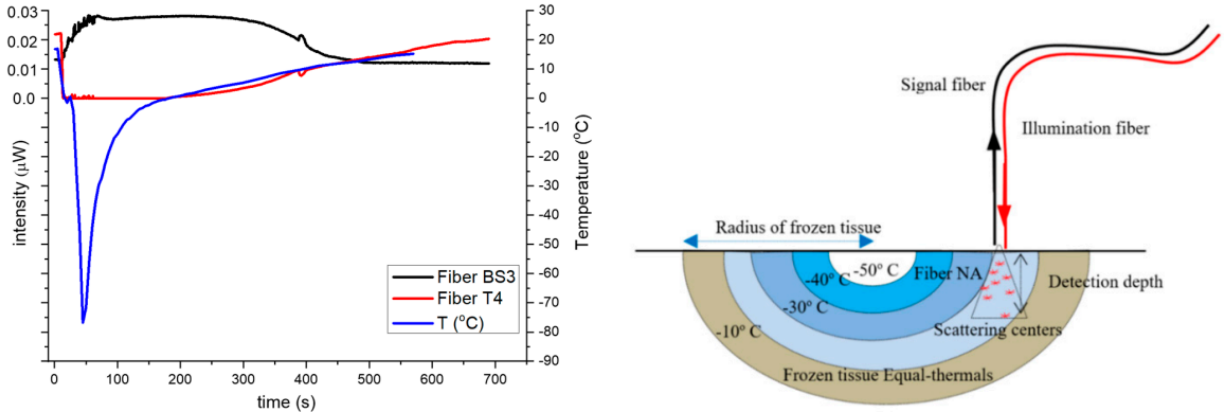
Ανάλυση και Επεξεργασία δεδομένων του μ'_s σε παγωμένο και μη παγωμένο δέρμα μέσω χρήσης αισθητήρα οπτικών ινών

5.1 Προσδιορισμός της χρονικής εξάρτησης της θερμοκρασίας του δείγματος

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο ακριβής προσδιορισμός της σχέσης εξάρτησης μεταξύ της θερμοκρασίας του υπο μελέτη δείγματος από τον χρόνο. Στην πειραματική διαδικασία το δείγμα αφορά τμήμα δέρματος χοίρου το οποίο αρχικά ψύχεται απότομα, έπειτα υποβάλλεται σε μια σχετικά ταχεία διαδικασία απόψυξης και τελικά ακολουθεί μια πιο ομαλή θερμοκρασιακή προσαρμογή πλησιάζοντας την θερμοκρασία δωματίου. Αν και το δείγμα αφορά ex vivo δέρμα χοίρου το οποίο ψύχεται σε αρκετά χαμηλές θερμοκρασίες (ελάχιστη θερμοκρασία -80°C), μπορεί κανείς να χρησιμοποιήσει τμηματικά το συγκεκριμένο χρονοδιάγραμμα ψύξης-απόψυξης προκειμένου να μελετήσει την χρονική εξάρτηση της θερμοκρασίας για in vivo ανθρώπινο δείγμα δέρματος. Αυτό συμβαίνει καθώς το δέρμα χοίρου βρέθηκε να αποτελεί το πιο ακριβές μοντέλο για το ανθρώπινο δέρμα, αφού από άποψη της ανατομίας και της φυσιολογίας, της ανοσογονικότητας, της κυτταρικής σύνθεσης και της μορφολογίας παρουσιάζουν αρκετές ομοιότητες [47].

Στο σχήμα 5.1 απεικονίζεται η χρονική εξάρτηση της θερμοκρασίας κατά την διάρκεια ψύξης-απόψυξης για το ex vivo δέρμα χοίρου (μπλέ καμπύλη) βάσει των πειραματικών δεδομένων στην αναφορά [3]. Δίνεται έμφαση στην καμπύλη απόψυξης - (δηλαδή στον κλάδο της μπλέ καμπύλης που η συνάρτηση είναι αύξουσα). Επιχειρείται η εύρεση μιας κατά τμήματα συνεχούς συνάρτησης θερμοκρασίας χρόνου, $T(t)$ ξεχωριστά για

την περίπτωση του ανθρώπινου δέρματος και του δέρματος χοίρου, μέσω κατάλληλης συναρτησιακής παρεμβολής σε επιλεγμένα σημεία της καμπύλης.



Σχήμα 5.1: Χρονοδιάγραμμα τυπικών εντάσεων οπισθοσκέδασης (μαύρο), διάδοσης (κόκκινο) και θερμοκρασίας (μπλε) κατά τη διάρκεια κύκλου ψύξης - απόψυξης για την ίνα φωτισμού κοντά στην επιφάνεια του *ex vivo* βιολογικού ιστού $x = 3.0 \text{ mm}$ [3].

Συγκεκριμένα, στην περίπτωση του ανθρώπινου δέρματος επιλέγεται η θερμοκρασιακή περιοχή $-2^{\circ}\text{C} < T < 7^{\circ}\text{C}$, δεδομένου ότι στην εν λόγω περιοχή παρατηρούνται σημαντικά φαινόμενα που αφορούν την λανθάνουσα θερμότητα απόψυξης του *in vivo* δείγματος. Στη συγκεκριμένη θερμοκρασιακή περιοχή η εξάρτηση θερμοκρασίας χρόνου παρουσιάζει προσεγγιστικά μια γραμμική συμπεριφορά και μπορεί να περιγραφεί από την συνάρτηση:

$$T(t) = 0.05t - 2. \quad (5.1)$$

Η χρονική στιγμή έναρξης του πειράματος τοποθετείται όταν η θερμοκρασία είναι -2°C (λανθάνουσα θερμότητα). Από το γράφημα 5.1 παρατηρείται ότι αυτή η θερμοκρασία επιτυγχάνεται για $t = 155 \text{ sec}$ και αυτή η χρονική στιγμή επανονομάζεται $t = 0 \text{ sec}$, κάνοντας μια μετατόπιση στον χρονικό άξονα.

Αντίστοιχα στην περίπτωση του δέρματος χοίρου, δεδομένου ότι πρόκειται για *ex vivo* δείγμα, η περιοχή ψύξης μπορεί να επεκταθεί σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (έως και -75°C). Παρατηρώντας το σχήμα 5.1 γίνεται αντιληπτή μια αρχική μη γραμμική χρονική εξάρτηση της θερμοκρασίας η οποία ακολουθείται από μια γραμμική εξάρτηση. Χρησιμοποιώντας παρεμβολή (αξιοποιώντας την εντολή FindFit στο Mathematica) σε επιλεγμένα σημεία της καμπύλης στην περιοχή $-75^{\circ}\text{C} < T < 22^{\circ}\text{C}$, η χρονική εξάρτηση της θερμοκρασίας περιγράφεται από την συνάρτηση:

$$T(t) = (0.04t - 7.13) \vartheta(t - 185.1) - \frac{155 [\vartheta(t - 45.1) - \vartheta(t - 185.1)]}{0.7 + e^{\frac{t-40}{22}}}, \quad (5.2)$$

όπου στην παραπάνω έκφραση $\vartheta(t - t_0)$ είναι η συνάρτηση βήματος η οποία ορίζεται ως ακολούθως:

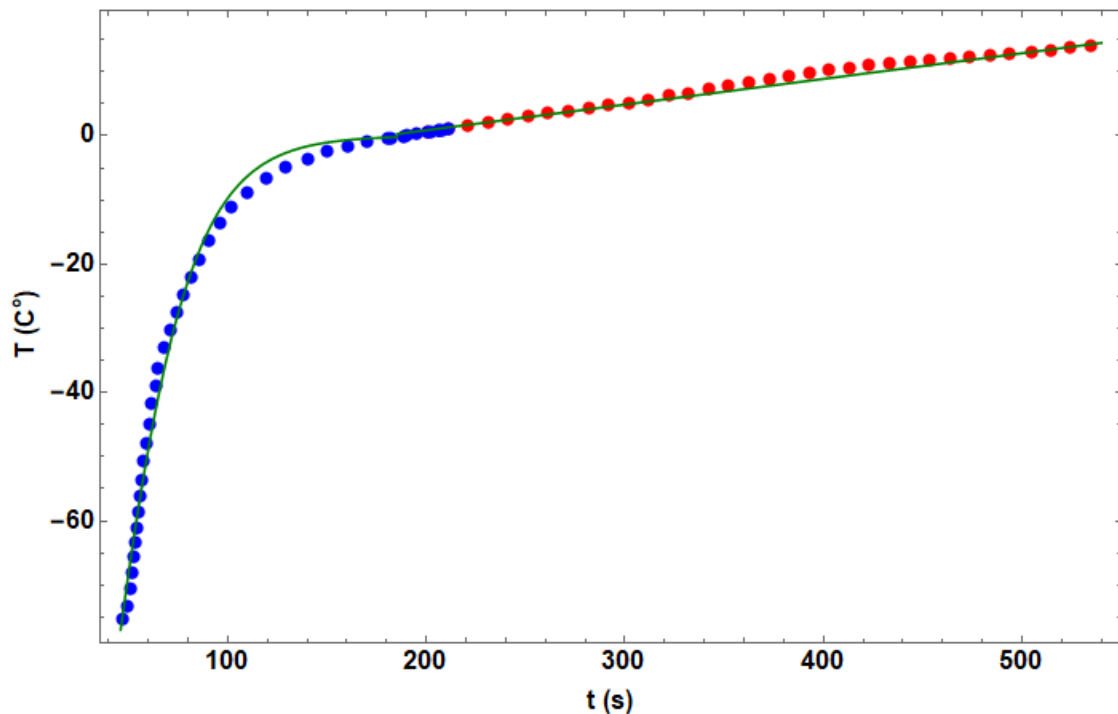
$$\vartheta(t - t_0) = \begin{cases} 1, & t > t_0 \\ 0, & t < t_0. \end{cases} \quad (5.3)$$

Στην παρούσα μελέτη έχει επιλεγεί ως ελάχιστη θερμοκρασία δείγματος η τιμή -27°C και ως μέγιστη η θερμοκρασία 7°C . Όπως και στην περίπτωση της εξίσωσης 5.1, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην χρονική στιγμή έναρξης της πειραματικής διαδικασίας. Παρατηρώντας το σχήμα 5.1, η θερμοκρασία -27°C αντιστοιχεί στην χρονική στιγμή $t = 75.5 \text{ sec}$ την οποία χρονική στιγμή επανονομάζουμε $t = 0 \text{ sec}$, κάνοντας μια μετατόπιση στον χρονικό άξονα. Συνεπώς, η νέα χρονική εξάρτηση της θερμοκρασίας θα περιγράφεται από τη συνάρτηση:

$$T(t_{met}) = (0.04t - 4.11) \vartheta(t - 109.6) - \frac{155 [\vartheta(t + 30.1) - \vartheta(t - 109.6)]}{0.7 + e^{\frac{t+35.5}{22}}}. \quad (5.4)$$

Στο σχήμα 5.2 απεικονίζεται ένα σύνολο προεπιλεγμένων σημείων από την πειραματική καμπύλη απόψυξης σε συνδυασμό με την καμπύλη που προκύπτει από την γραφική παράσταση σύμφωνα με την εξίσωση 5.2. Παρατηρείται μια αρκετά ικανοποιητική προσαρμογή της καμπύλης στα πειραματικά σημεία.

Οι σχέσεις 5.1 και 5.4 ή 5.2 θα χρησιμοποιηθούν για την αντιστοίχιση μεταξύ θερμοκρασίας και χρόνου καταγραφής των δεδομένων για την περίπτωση του δείγματος που περιέχει ανθρώπινο δέρμα (αντιβράχιο) και δείγματος που περιέχει δέρμα χοίρου αντίστοιχα.

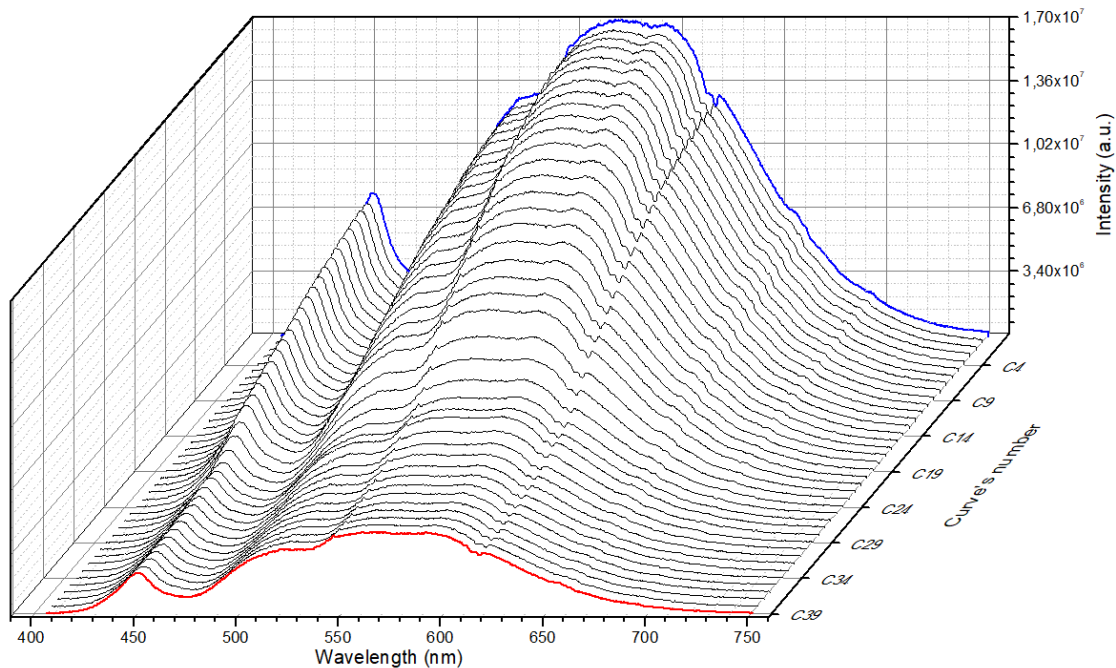


Σχήμα 5.2: Επιλεγμένα σημεία (μπλέ-κόκκινα) στο χρονοδιάγραμμα θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια κύκλου απόψυξης δείγματος χοίρου σε συνδυασμό με την καμπύλη προσαρμογής (πράσινη) θερμοκρασίας χρόνου 5.2.

5.2 Εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε δείγμα δέρματος χοίρου

Σε αυτή την ενότητα διερευνάται η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε ένα δείγμα δέρματος χοίρου. Επειδή πρόκειται για ένα ex vivo δείγμα, υπάρχει η δυνατότητα χρήσης ενός πιο εκτεταμένου εύρους θερμοκρασιών που μπορεί να συμπεριλάβει και εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες (έως και -80°C). Όμως, η πειραματική διαδικασία θα περιοριστεί σε ένα σχετικά πιο στενό θερμοκρασιακό εύρος, συγκεκριμένα στην περιοχή $-27^{\circ}\text{C} < T < 11.5^{\circ}\text{C}$.

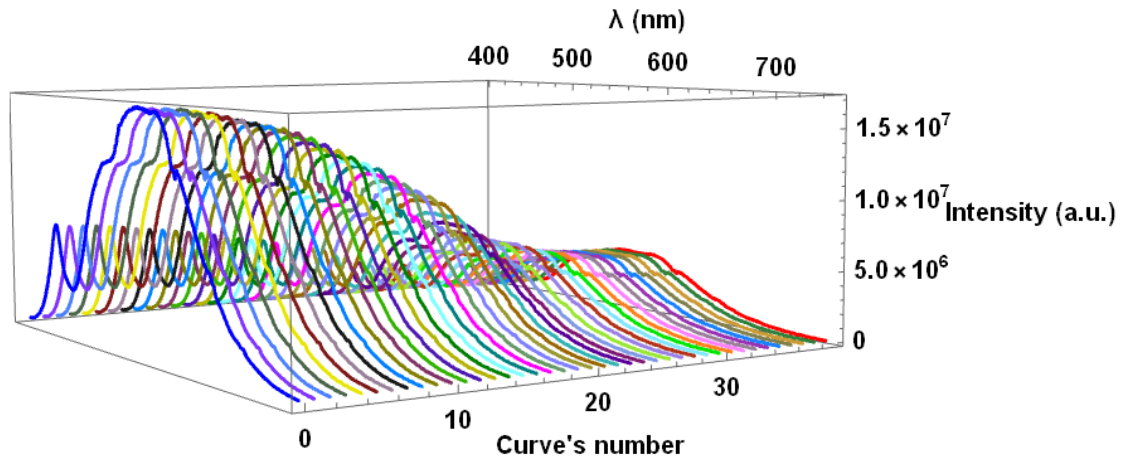
Όπως παρατηρείται στο σχήμα 5.2, στη συγκεκριμένη θερμοκρασιακή περιοχή η εξάρτηση θερμοκρασίας - χρόνου δεν είναι γραμμική. Στην ανάλυση που ακολουθεί η σχέση αυτή περιγράφεται από την εξίσωση 5.4. Στην περίπτωση του δείγματος χοίρου τα αρχικά πειραματικά δεδομένα αποτελούνται από διατεταγμένες δυάδες, όπου το πρώτο στοιχείο αντιπροσωπεύει τιμές μήκους κύματος σε nm , ενώ το δεύτερο στοιχείο αντιπροσωπεύει τιμές φωτεινής έντασης σε αυθαίρετες μονάδες (arbitrary units, a.u.). Οι τιμές του μήκους κύματος της φωτεινής ακτινοβολίας βρίσκονται στην περιοχή $400 \text{ nm} < \lambda < 750 \text{ nm}$.



Σχήμα 5.3: Φασματική απεικόνιση της φωτεινής έντασης της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας (στο Origin). Οι τιμές της έντασης δίνονται σε αυθαίρετες μονάδες (a.u.). Η μπλέ καμπύλη αφορά την χρονική στιγμή $t = 0 \text{ sec}$ που το δείγμα έχει ψυχθεί στους $T = -27^{\circ}\text{C}$, ενώ η κόκκινη καμπύλη την χρονική στιγμή που το δείγμα έχει φτάσει σχεδόν στους $T = 11.5^{\circ}\text{C}$.

Κατά την διάρκεια του πειράματος λαμβάνονται μετρήσεις έντασης σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές που απέχουν μεταξύ τους περίπου 10 δευτερόλεπτα. Συνολικά πραγματοποιούνται περίπου 40 διαδοχικές μετρήσεις, συνολικής διάρκειας 400 δευτε-

ρολέπτων. Κάθε μια από αυτές τις διαδοχικές μετρήσεις αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και οδηγεί σε ένα σύνολο δεδομένων φωτεινής έντασης και μήκους κύματος. Επομένως, θα προκύψουν 40 διαφορετικές καμπύλες (λ, I) καθεμία από τις οποίες θα αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη θερμοκρασία, η οποία υπολογίζεται από τη σχέση 5.4.



Σχήμα 5.4: Φασματική απεικόνιση της φωτεινής έντασης της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας (στο Mathematica) σε ένα κύκλο ψύξης-απόψυξης στο θερμοκρασιακό εύρος $-27^{\circ}C < T < 11.5^{\circ}C$.

Στα σχήματα 5.3, 5.4 απεικονίζονται οι διαφορετικές καμπύλες (Origin και Mathematica) που προκύπτουν από την απεικόνιση των πρωτογενών τιμών της οπισθοσκεδαζόμενης έντασης. Στους οριζόντιους άξονες των σχημάτων παριστάνεται αντίστοιχα το μήκος κύματος της ακτινοβολίας σε nm και ο αριθμός της εκάστοτε καμπύλης, ο οποίος μέσω της σχέσης 5.4 θα μετατραπεί σε τιμές θερμοκρασίας T σε βαθμούς Κελσίου $^{\circ}C$. Στην περιοχή $410\text{ nm} < \lambda < 490\text{ nm}$ παρατηρείται ένα τοπικό μέγιστο της έντασης. Στην ανάλυση που ακολουθεί το τοπικό αυτό μέγιστο θεωρείται ως τεχνικό σφάλμα (artifact) και αγνοείται. Όλες οι πειραμτικές καμπύλες αντιστοιχούν σε μια ομαλή απόψυξη του δείγματος δέρματος του χοίρου και άρα απεικονίζουν μια σταδιακή και συνεχή μεταβολή.

Προκειμένου να ολοκληρωθεί η πλήρης ανάλυση, στα πρωταρχικά δεδομένα πραγματοποιούνται οι ακόλουθες τρεις τροποποιήσεις:

1. Κάθε τιμή φωτεινής έντασης διαιρείται με μια τιμή φωτεινής έντασης αναφοράς I_0 που αντιστοιχεί στο ολικό μέγιστο της έντασης του δείγματος, δημιουργώντας κατά αυτό τον τρόπο μια κανονικοποιημένη δυάδα πειραματικών δεδομένων.
2. Σε κάθε μια κανονικοποιημένη δυάδα που προκύπτει από το προηγούμενο βήμα, εισάγουμε ένα επιπλέον στοιχείο που αντιστοιχεί στην θερμοκρασία του δείγματος.
3. Λαμβάνονται μετρήσεις οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας, η επεξεργασία των οποίων θα οδηγήσει στην εύρεση της σχέσης εξάρτησης $\mu'_s = \mu'_s(\lambda, T)$. Συγκεκριμένα λόγω διατήρησης της ενέργειας μπορούμε να γράψουμε:

$$I_0 = I_{\Delta} + I_{O\Sigma} + I_{\text{ΑΠ}}, \tag{5.5}$$

όπου I_0 η ένταση της προσπίπτουσας δέσμης, I_Δ η ένταση της διερχόμενης δέσμης, $I_{O\Sigma}$ η ένταση της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας και τέλος $I_{\text{ΑΠ}}$ η ένταση της απορροφούμενης δέσμης.

Λόγω παγοποίησης του δέρματος οι $I_{\text{ΑΠ}}$ και I_Δ θεωρούνται αμελητέες, ενώ για τη $I_{O\Sigma}$ ισχύει ο νόμος Beer-Lambert:

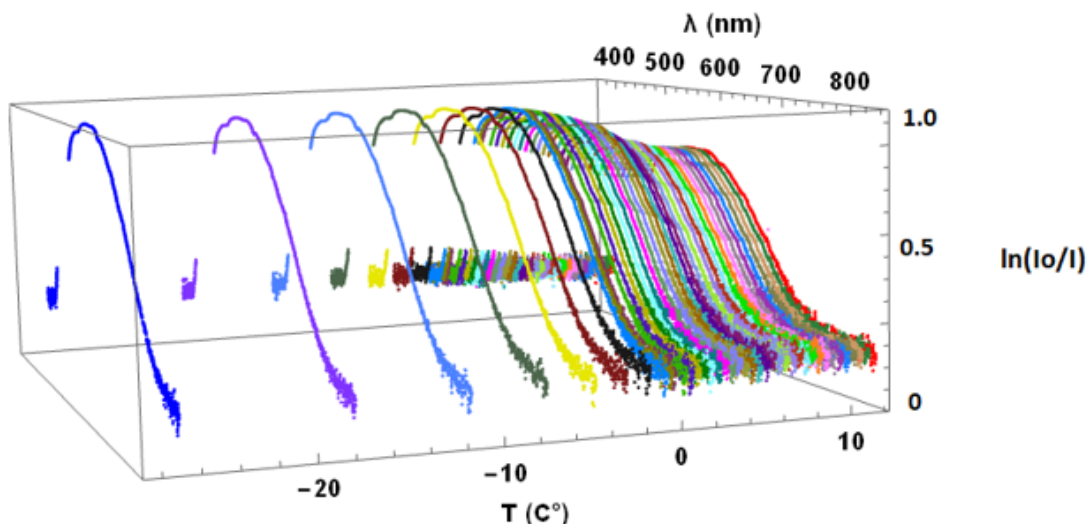
$$I_{O\Sigma} = I_0 e^{-\mu'_s(\lambda, T)L}, \quad (5.6)$$

όπου L το μήκος διαδρομής του φωτός στον ιστό και $I_0 = I_{max}$ θα είναι από τα πειραματικά δεδομένα η οπισθοσκεδαζόμενη ένταση της ακτινοβολίας την χρονική στιγμή της ψύξης. Λύνοντας την εξίσωση 5.6 ως προς τον ενεργό συντελεστή σκέδασης προκύπτει:

$$\mu'_s(\lambda, T)L = -\ln\left(\frac{I_{O\Sigma}}{I_0}\right). \quad (5.7)$$

Κάνοντας χρήση των εξισώσεων 5.1 και 5.7 προκύπτουν διατεταγμένες τριάδες $(\lambda, T, -\ln(I_{O\Sigma}/I_0))$ που οδηγούν σε ένα τρισδιάστατο διάγραμμα η ανάλυση του οποίου οδηγεί στην εύρεση της σχέσης $\mu'_s = \mu'_s(\lambda, T)$.

Στο σχήμα 5.5 απεικονίζονται συλλογικά οι καμπύλες από την C_0 μέχρι την C_{39} του σχήματος 5.4 που αντιστοιχούν στο εύρος θερμοκρασιών $-27^\circ\text{C} \leq T \leq 11.5^\circ\text{C}$, ύστερα από την αφαίρεση του τεχνικού σφάλματος (artifact). Η μετάβαση από τον αριθμό καμπύλης σε τιμές θερμοκρασίας πραγματοποιείται λαμβάνοντας υπόψη ότι η αρχική καμπύλη C_0 (μπλέ καμπύλη στο σχήμα 5.5) αντιστοιχεί σε χρόνο $t = 0 \text{ sec}$ και οι διαδοχικές καμπύλες απέχουν μεταξύ τους χρονικό διάστημα $\Delta t = 10 \text{ sec}$. Δεδομένου ότι η σχέση θερμοκρασίας - χρόνου στην παραπάνω θερμοκρασιακή περιοχή δεν είναι γραμμική, η μεταροπή αυτή βασίζεται στη σχέση 5.4 και οι αντίστοιχες τιμές φαίνονται στον Πίνακα 5.1.



Σχήμα 5.5: Φασματική απεικόνιση της έντασης οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε ένα κύκλο ψύξης-απόψυξης στο θερμοκρασιακό εύρος $-27^\circ\text{C} < T < 11.5^\circ\text{C}$. Η απεικόνιση αυτή έγινε σύμφωνα με τις τρεις τροποποιήσεις που έχουν αναφερθεί ύστερα από την αφαίρεση του τεχνικού σφάλματος (artifact). Η τιμή του $I_0 = I_{max}$ για $T = -27^\circ\text{C}$ την $t = 0 \text{ sec}$.

Πίνακας 5.1: Αντιστοίχιση αριθμού πειραματικής καμπύλης, χρόνου λήψης δεδομένων και θερμοκρασίας δείγματος χοίρου για το ακόλουθο θερμοκρασιακό εύρος $-27^{\circ}C < T < 11.5^{\circ}C$.

Καμπύλη	t (sec)	T (C°)
C0	0	-27.093
C1	10	-18.001
C2	20	-11.776
C3	30	-7.623
C4	40	-4.899
C5	50	-3.135
C6	60	-2.001
C7	70	-1.810
C8	80	-0.810
C9	90	-0.515
C10	100	-0.327
C11	110	0.29
C12	120	0.69
C13	130	1.09
C14	140	1.49
C15	150	1.89
C16	160	2.29
C17	170	2.69
C18	180	3.09
C19	190	3.49
C20	200	3.89
C21	210	4.29
C22	220	4.69
C23	230	5.09
C24	240	5.49
C25	250	5.89
C26	260	6.29
C27	270	6.69
C28	280	7.09
C29	290	7.49
C30	300	7.89
C31	310	8.29
C32	320	8.69
C33	330	9.09
C34	340	9.49
C35	350	9.89
C36	360	10.29
C37	370	10.69
C38	380	11.09
C39	390	11.49

Σε πρώτο στάδιο θα γίνει προσπάθεια να εκτιμηθεί η εξάρτηση της οπισθοσκεδαζόμενης έντασης από το μήκος κύματος για μια δεδομένη τιμή της θερμοκρασίας. Επιλέγεται η καμπύλη που παρουσιάζει την μέγιστη τιμή της και αυτή αντιστοιχεί στην ελάχιστη θερμοκρασία του δείγματος που είναι $T = -27^{\circ}C$ και στην αρχική χρονική στιγμή $t = 0 \text{ sec}$ (μπλέ καμπύλη του σχήματος 5.5) καθώς πρόκειται για διαδικασία ψύξης.

Στο σχήμα 5.6 παρουσιάζεται μια προσαρμογή καμπύλης στα πειραματικά δεδομένα, που αφορούν την ποσότητα $\mu'_s L$ για θερμοκρασία $T = -27^{\circ}C$. Από το σχήμα υποδηλώνεται ότι η εξάρτηση της ποσότητας $\mu'_s L$ από το μήκος κύματος ακολουθεί και εδώ μια Γκαουσιανή κατανομή της οποίας τις παραμέτρους αναζητούμε κάνοντας χρήση της εντολής FindFit στο υπολογιστικό πακέτο Mathematica. Η συνεχής συνάρτηση που θα προσαρμοστεί στα πειραματικά δεδομένα αναζητείται και αυτή στην μορφή:

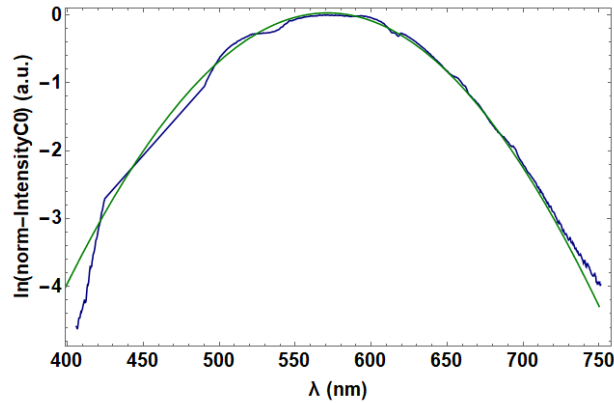
$$\mu'_s(\lambda) L = a_1 e^{-\frac{(\lambda-\lambda_0)^2}{b_1^2}} + c_1, \tag{5.8}$$

όπου a_1, b_1, c_1, λ_0 είναι προσδιοριστέες παράμετροι. Η βέλτιστη προσαρμογή στα πει-

ραματικά δεδομένα, οδήγησε στις ακόλουθες τιμές των παραμέτρων:

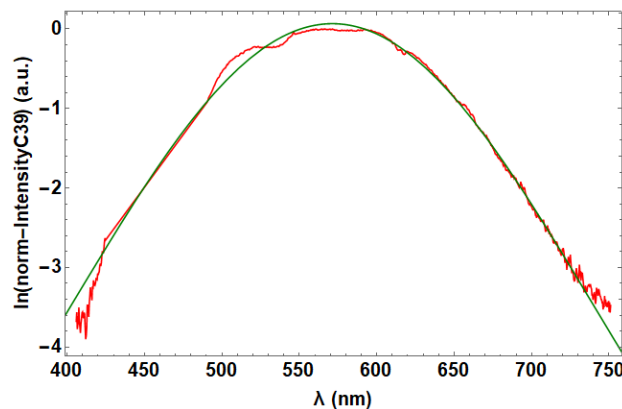
$$a_1 \rightarrow 61.738, b_1 \rightarrow 663.38 \text{ nm}, c_1 \rightarrow -61.709, \lambda_0 \rightarrow 571.32 \text{ nm}. \quad (5.9)$$

Έτσι και στην περίπτωση του χοίρου η παράμετρος a_1 αναφέρεται στο ύψος της καμπύλης, η παράμετρος b_1 σχετίζεται με το εύρος της καμπύλης, η τιμή $\lambda_0 \rightarrow 571.32 \text{ nm}$ αναφέρεται στο μήκος κύματος στο οποίο αντιστοιχεί το μέγιστο της καμπύλης ενώ η παράμετρος c_1 αναφέρεται στην τιμή του υποβάθρου των πειραματικών δεδομένων.



Σχήμα 5.6: Παρεμβολή της καμπύλης προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα που αντιστοιχούν στην καμπύλη ψύξης (μπλέ καμπύλη C_0) του σχήματος 5.5 για θερμοκρασία $T = -27^\circ\text{C}$.

Παρόμοια ανάλυση πραγματοποιείται και στην περίπτωση που αντιστοιχεί στην ακραία θέση της φάσης απόψυξης όπου η θερμοκρασία του δείγματος είναι $T = 11.5^\circ\text{C}$. Η περίπτωση αυτή αντιστοιχεί στην κόκκινη καμπύλη C_{39} του σχήματος 5.5 και η προσαρμογή της καμπύλης στα πειραματικά δεδομένα απεικονίζεται στο σχήμα 5.7.

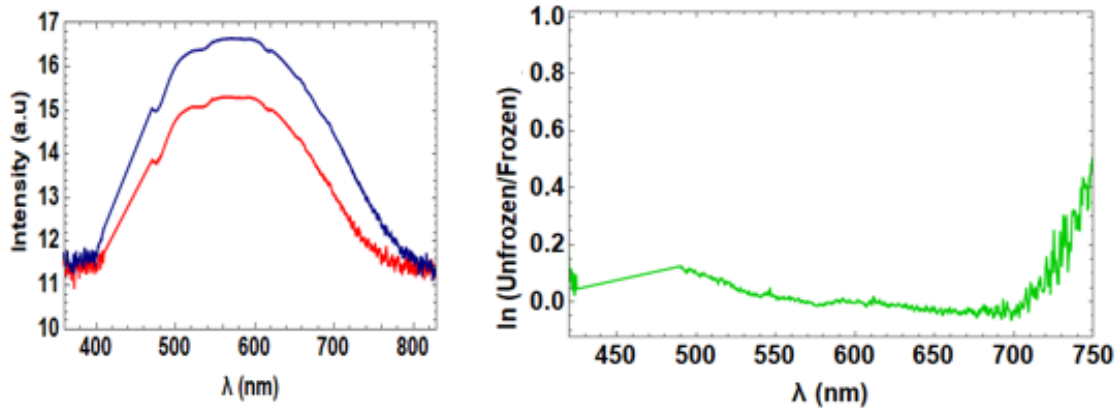


Σχήμα 5.7: Παρεμβολή της καμπύλης προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα που αντιστοιχούν στην καμπύλη απόψυξης (κόκκινη καμπύλη C_{39}) του σχήματος 5.5 για $T = 11.5^\circ\text{C}$.

Η καμπύλη προσαρμογής είναι της μορφής 5.13, όπου οι παράμετροι έχουν τις ακόλουθες τιμές όπως λαμβάνονται με χρήση της εντολής FindFit:

$$a_1 \rightarrow 9.018, b_1 \rightarrow 238.86 \text{ nm}, c_1 \rightarrow -8.951, \lambda_0 \rightarrow 571.32 \text{ nm}. \quad (5.10)$$

Στα δύο σχήματα 5.7 για $t = 400 \text{ sec}$ και 5.6 για $t = 0 \text{ sec}$ ο ενεργός συντελεστής σκέδασης φαίνεται να διαφέρει ελάχιστα. Η διαφορά του λογαρίθμου των εντάσεων του ex vivo βιολογικού ιστού στην διαδικασία απόψυξης συναρτήσει του μήκους κύματος που απεικονίζεται στο σχήμα 5.8, αντιπροσωπεύει την απορρόφηση.



Σχήμα 5.8: Φασματική απεικόνιση της ικανότητας απορρόφησης σε ένα κύκλο ψύξης-απόψυξης του ex vivo δείγματος χοίρου συναρτήσει του μήκους κύματος.

Παρατηρείται, ότι η διαφορά του λογαρίθμου των εντάσεων είναι κοντά στο μηδέν. Αυτό προφανώς οφείλεται στην απουσία αίματος στο δείγμα χοίρου.

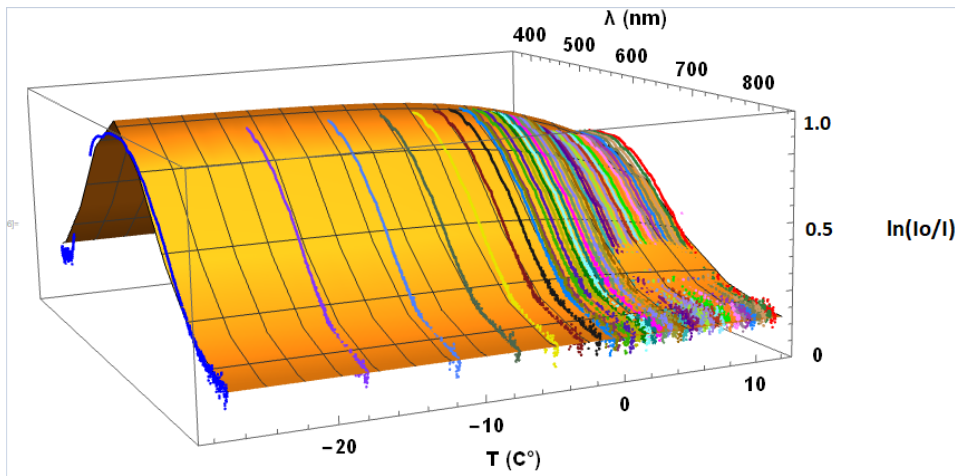
Η προσαρμογή της βέλτιστης επιφάνειας στις πειραματικές καμπύλες του σχήματος 5.5 για το δείγμα ex vivo δέρμα χοίρου, πραγματοποιείται με την χρήση της συνάρτησης η μορφή της οποίας είναι:

$$\mu'_s(\lambda, T) L = c_1 + \frac{a_1 e^{-\left(\frac{\lambda-\lambda_0}{d_1}\right)^2}}{1 + e^{\left(\frac{T-T_1}{b_1}\right)}} \quad (5.11)$$

όπου L βάθος παγοποίησης που φτάνει έως 1.5 mm . Διαμέσου χρήσης της εντολής FindFit βρίσκουμε:

$$\begin{aligned} a_1 &\longrightarrow 5.9105, b_1 \longrightarrow 6.16954^\circ\text{C}, c_1 \longrightarrow 11.2855, \\ d_1 &\longrightarrow 140.252 \text{ nm}, \lambda_0 \longrightarrow 571 \text{ nm}, T_1 \longrightarrow 15.1083^\circ\text{C}. \end{aligned} \quad (5.12)$$

Χρησιμοποιώντας τις παραπάνω παραμέτρους κατασκευάζεται η συνεχής επιφάνεια που αντιστοιχεί στην εξίσωση 5.11, ενώ στο σχήμα 5.9 απεικονίζεται η προσαρμογή της επιφάνειας αυτής στις πειραματικές καμπύλες.



Σχήμα 5.9: Προσαρμογή των πειραματικών καμπυλών στην επιφάνεια προσαρμογής που αντιστοιχεί στην εξάρτηση της ποσότητας $\mu'_s L$ από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε δείγμα δέρματος χοίρου.

Κατά την διάρκεια της ταχείας ψύξης με υγρό άζωτο παρατηρείται ο πτωματικός ιστός να αλλάζει χρώμα για ένα σύντομο χρονικό διάστημα και να αποκτά ένα απαλό λευκό χρώμα. Αυτή η χαρακτηριστική «λεύκανση» του ιστού οφείλεται όπως έχει αναφερθεί στο σχηματισμό μικροφυσαλίδων και παγοκρυστάλλων μέσα στα ενδοαγγειακά υγρά εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητας τους σε νερό. Οι διαστάσεις των μικροφυσαλίδων και των παγοκρυστάλλων είναι της τάξης μεγέθους του μήκους κύματος του ορατού φωτός [3]. Συνεπώς, θα κυριαρχήσει η σκέδαση Mie σύμφωνα με το σχήμα 2.22.

Έτσι, την χρονική στιγμή $t = 0 \text{ sec}$ η ένταση ακτινοβολίας λευκού που εκπέμπεται από την πηγή, αλληλεπιδρά μόνο με τη «σφαίρα πάγου», δηλαδή με τους λεγόμενους σκεδαστές Mie (παγοκρυστάλλοι και μικροφυσαλίδες) και η ένταση οπισθοσκεδάζεται σε όλα τα μήκη κύματος του ορατού φάσματος, με αποτέλεσμα την εμφάνιση αυτής της λευκής όψης στην επιφάνεια του δέρματος. Με την πάροδο του χρόνου λόγω της μεταφοράς θερμότητας από το περιβάλλον αυτή η σφαίρα πάγου θα λιώσει και η δέσμη της ακτινοβολίας θα διαχέεται μέσα στον βιολογικό ιστό σύμφωνα με τον νόμο της οπτικής διάχυσης Beer-Lambert.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία φασματική περιοχή (600–800) nm (βλ. σχήματα 2.17 και 2.18) χαρακτηρίζεται από έντονα φαινόμενα σκέδασης και όχι απορρόφησης μιας που υπάρχει και απουσία αίματος στο εν λόγω δείγμα [21]. Επιπλέον, κάθε καμπύλη του σχήματος 5.9 εμφανίζει μέγιστο γύρω από το μήκος κύματος $\lambda = 571 \text{ nm}$ και αυτό σημαίνει πως σε αυτό το μήκος κύματος ο ενεργός συντελεστής σκέδασης λαμβάνει την μέγιστη τιμή του. Η τιμή αυτή του μήκους κύματος υποδεικνύει ότι τα φαινόμενα σκέδασης που κυριαρχούν σε αυτή την περιοχή περιγράφονται από την σκέδαση Mie καθώς οι μεγάλοι σκεδαστές του δέρματος αποτελούνται από σωματίδια που έχουν διαστάσεις συγκρίσιμες ή μεγαλύτερες από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός.

Αναλυτικότερα, συνδυάζοντας τον Πίνακα 4 και το σχήμα 5.9, παρατηρείται ότι μετά την διαδικασία ψύξης του ex vivo δείγματος χοίρου η θερμοκρασία του αυξάνει κάθε 10 sec με έναν μη γραμμικό τρόπο μέχρι την θερμοκρασία των -0.8°C . Σε αυτό το χρονικό διάστημα η ένταση της ακτινοβολίας αντιδρά μόνο με τον πάγο και τους σκεδαστές Mie και όχι με τον βιολογικό ιστό. Αυτό γίνεται σαφές και από το τελευταίο

σχήμα καθώς ο ενεργός συντελεστής σκέδασης παραμένει σχεδόν σταθερός.

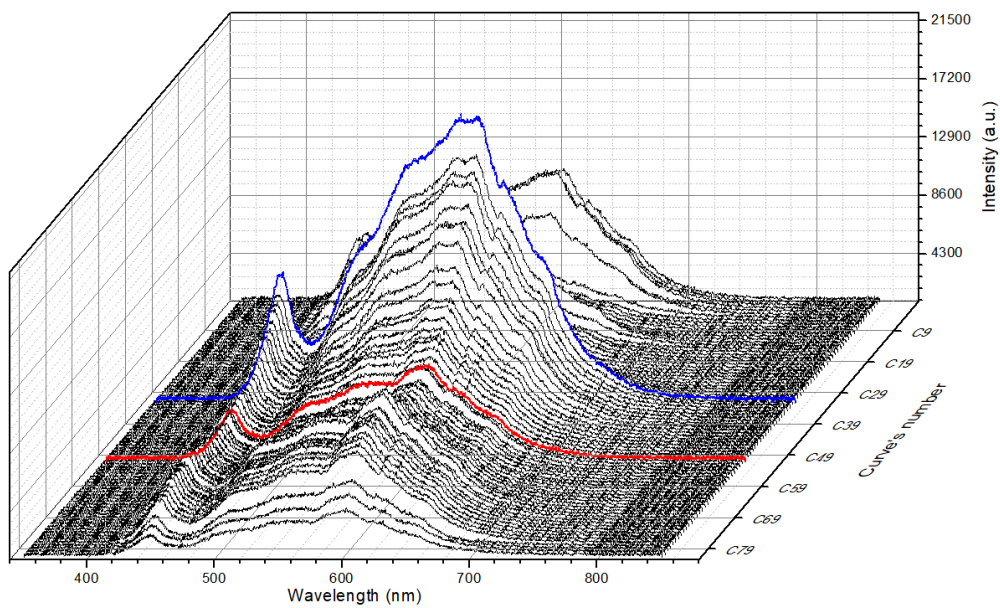
Από τους $-0.5^{\circ}C$ έως $-0.29^{\circ}C$ η θερμοκρασία αυξάνει με ένα πολύ μικρό ρυθμό της τάξεως των $\sim 0.2^{\circ}C$ και αυτό δείχνει ότι το δείγμα βρίσκεται σε μια κατάσταση λανθάνουσας θερμότητας (σχεδόν σταθερής θερμοκρασίας $\sim 0^{\circ}C$), για χρόνο ($80 \text{ sec} < t < 100 \text{ sec}$) που αντιστοιχεί στις καμπύλες C_8 , C_9 , C_{10} .

Σε αυτό το χρονικό διάστημα ο πάγος αλλάζει την φυσική του κατάσταση (από στερεή σε υγρή) πράγμα το οποίο επιβεβαιώνεται όχι μόνο από το σχήμα 5.9 με τη μείωση του ενεργού συντελεστή σκέδασης αλλά και από το σχήμα 5.4 με την μείωση της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας, η «ραχοκοκαλιά» της οποίας θυμίζει το χρονοδιάγραμμα των τυπικών εντάσεων οπισθοσκέδασης του σχήματος 5.1. Στη συνέχεια ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μειώνεται με σταθερό ρυθμό κατά $0.4^{\circ}C$ κάθε 10 sec .

Για το θερμοκρασιακό εύρος ($-27^{\circ}C < T < 11.5^{\circ}C$) του ex vivo δείγματος χοίρου μπορεί να ποσοτικοποιηθεί ο «χρόνος κύκλου ψύξης-απόψυξης» στα 390 sec .

5.3 Εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε δείγμα ανθρώπινου δέρματος

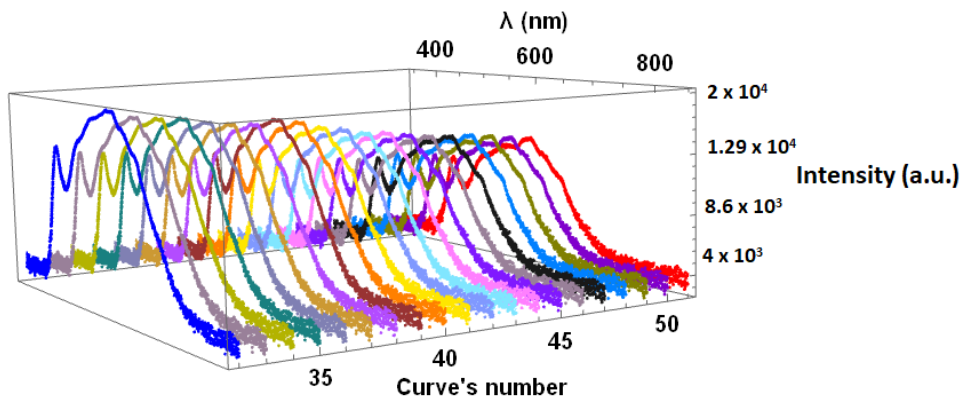
Στην παρούσα ενότητα διερευνάται η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε ένα δείγμα ανθρώπινου δέρματος. Ως δείγμα ανθρώπινου δέρματος επιλέγεται το αντιβράχιο επειδή βρίσκεται σε τέτοιο σημείο στο σώμα που δεν έχει υποστεί φωτογήρανση και επιπλέον είναι εύκολα προσβάσιμο. Η πειραματική διαδικασία περιορίζεται σε ένα σχετικά στενό θερμοκρασιακό εύρος, συγκεκριμένα στην περιοχή $-2^{\circ}\text{C} < T < 7^{\circ}\text{C}$. Όπως παρατηρείται από το σχήμα 5.2, στη συγκεκριμένη θερμοκρασιακή περιοχή η εξάρτηση θερμοκρασίας χρόνου είναι γραμμική. Στην ανάλυση που ακολουθεί η σχέση αυτή περιγράφεται από την εξίσωση 5.1. Τα αρχικά πειραματικά δεδομένα αποτελούνται από διατεταγμένες δυάδες όπου το πρώτο στοιχείο αντιπροσωπεύει τιμές μήκους κύματος σε nm , ενώ το δεύτερο στοιχείο αντιπροσωπεύει τιμές φωτεινής έντασης σε αυθαίρετες μονάδες (arbitrary units, a.u.). Οι τιμές του μήκους κύματος της φωτεινής ακτινοβολίας βρίσκονται στην περιοχή $350\text{ nm} < \lambda < 850\text{ nm}$.



Σχήμα 5.10: Φασματική απεικόνιση της φωτεινής έντασης της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας (Origin). Οι τιμές της έντασης δίνονται σε αυθαίρετες μονάδες (a.u.). Η μπλέ καμπύλη C_{32} αντιστοιχεί στην χρονική στιγμή $t = 0\text{ sec}$ που το ανθρώπινο δείγμα έχει ψυχθεί στους $T = -2^{\circ}\text{C}$ ενώ η κόκκινη καμπύλη C_{51} στην χρονική στιγμή $t = 190\text{ sec}$ που το δείγμα έχει φτάσει σχεδόν στους $T = 7^{\circ}\text{C}$. Οι θερμοκρασίες έχουν υπολογιστεί λαμβάνοντας υπόψη τη σχέση 5.1 (Βλέπε Πίνακα 5.2).

Κατά την διάρκεια του πειράματος λαμβάνονται μετρήσεις έντασης της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές που απέχουν μεταξύ τους περίπου 10 δευτερόλεπτα. Πραγματοποιούνται συνολικά περίπου 20 διαδοχικές μετρήσεις, συνολικής διάρκειας 200 δευτερολέπτων. Κάθε μια από αυτές τις διαδοχικές μετρήσεις αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και οδηγεί σε ένα σύνολο δεδομένων φωτει-

νής έντασης και μήκους κύματος. Επομένως, θα προκύψουν 20 διαφορετικές καμπύλες (λ, I) καθεμία από τις οποίες θα αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη θερμοκρασία, η οποία υπολογίζεται από τη σχέση 5.1.



Σχήμα 5.11: Φασματική απεικόνιση της φωτεινής έντασης της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας (Mathematica) για την ομαλή απόψυξη του δείγματος στο θερμοκρασιακό εύρος $-2^{\circ}C < T < 7^{\circ}C$.

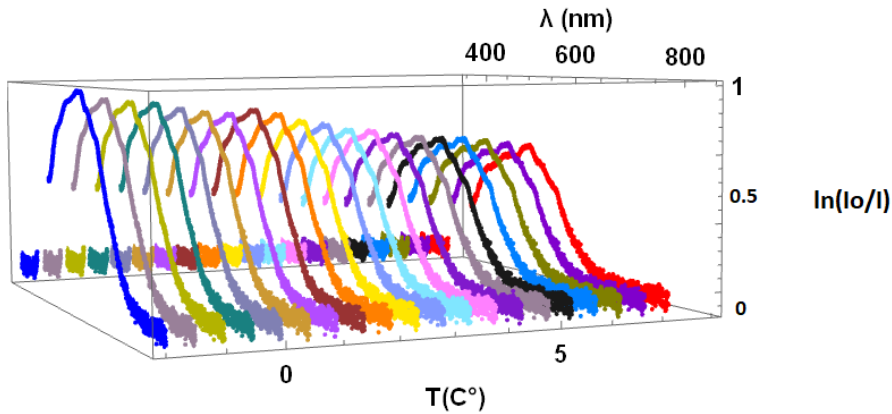
Στα σχήματα 5.10 και 5.11 απεικονίζονται οι διαφορετικές καμπύλες που προκύπτουν από την απεικόνιση των πρωτογενών τιμών της οπισθοσκεδαζόμενης έντασης. Στους οριζόντιους άξονες του σχήματος παριστάνεται αντίστοιχα το μήκος κύματος της ακτινοβολίας σε nm και ο αριθμός της εκάστοτε καμπύλης, ο οποίος μέσω της σχέσης 5.1 θα μετατραπεί σε τιμές θερμοκρασίας T σε βαθμούς Κελσίου $^{\circ}C$. Στην περιοχή $410\text{ nm} < \lambda < 470\text{ nm}$ παρατηρείται ένα τοπικό μέγιστο της έντασης. Στην ανάλυση που ακολουθεί το τοπικό αυτό μέγιστο θεωρείται ως τεχνικό σφάλμα (artifact) και αγνοείται.

Επιπλέον, σε αυτά τα σχήματα παρατηρείται ότι όλες οι καμπύλες παρουσιάζουν ένα τοπικό μέγιστο γύρω από το μήκος κύματος $\lambda \approx 580\text{ nm}$. Τέλος, οι πειραματικές καμπύλες που αντιστοιχούν σε αριθμό καμπύλης μικρότερο του C_{32} και μεγαλύτερο του C_{51} αγνοούνται καθώς στις περιπτώσεις αυτές παρατηρούνται απότομες και ασυνεχείς μεταβολές της έντασης που δυσχεραίνουν την ανάλυση. Αντιθέτως, οι πειραματικές καμπύλες μεταξύ C_{32} και C_{51} αντιστοιχούν στην ομαλή απόψυξη του δείγματος και άρα απεικονίζουν μια σταδιακή και συνεχή μεταβολή.

Στο σχήμα 5.12 απεικονίζονται συλλογικά οι καμπύλες από την C_{32} μέχρι την C_{51} του σχήματος 5.11 που αντιστοιχούν στο εύρος θερμοκρασιών $-2^{\circ}C \leq T \leq 7^{\circ}C$. Η απεικόνιση αυτή έγινε σύμφωνα με τις τρεις τροποποιήσεις που αναφέρθηκαν και αγνοώντας τα σημεία του τεχνικού σφάλματος (artifact). Η μετάβαση από τον αριθμό καμπύλης σε τιμές θερμοκρασίας πραγματοποιείται λαμβάνοντας υπόψη ότι η αρχική καμπύλη C_{32} αντιστοιχεί σε χρόνο $t = 0\text{ sec}$ και οι διαδοχικές καμπύλες απέχουν μεταξύ τους χρονικό διάστημα $\Delta t = 10\text{ sec}$. Δεδομένου ότι η σχέση θερμοκρασίας - χρόνου στην παραπάνω θερμοκρασιακή περιοχή είναι γραμμική, η μεταροπή αυτή βασίζεται στη σχέση 5.1 και οι αντίστοιχες τιμές φαίνονται στον Πίνακα 5.2. Διαπιστώνεται πως ο ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας είναι σχεδόν σταθερός ($\sim 0.5^{\circ}C/10\text{ sec}$).

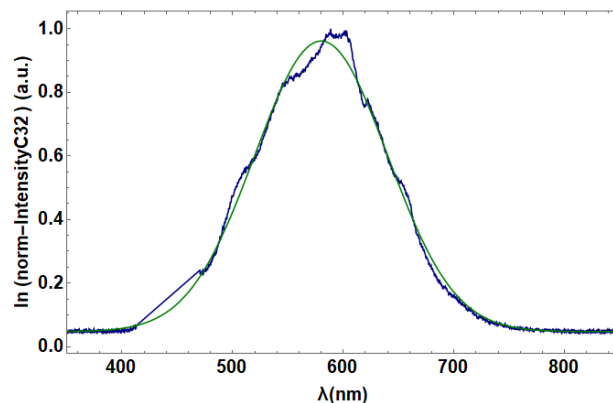
Πίνακας 5.2: Αντιστοίχιση αριθμού πειραματικής καμπύλης, χρόνου λήψης δεδομένων και θερμοκρασίας δείγματος ανθρώπινου βιολογικού ιστού (Αντιβράχιο). Ο ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας είναι σχεδόν σταθερός στους ($\sim 0.5^{\circ}C/10 sec$).

Αριθμός καμπύλης	C ₃₂	C ₃₃	C ₃₄	C ₃₅	C ₃₆	C ₃₇	C ₃₈	C ₃₉	C ₄₀	C ₄₁	C ₄₂	C ₄₃	C ₄₄	C ₄₅	C ₄₆	C ₄₇	C ₄₈	C ₄₉	C ₅₀	C ₅₁
t(sec)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190
T (°C)	-2	-1.52	-1.04	-0.56	-0.08	0.4	0.88	1.36	1.84	2.32	2.8	3.28	3.76	4.24	4.72	5.2	5.68	6.16	6.64	7.12



Σχήμα 5.12: Φασματική απεικόνιση της έντασης οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε ένα κύκλο ψύξης-απόψυξης στο θερμοκρασιακό εύρος $-2^{\circ}C < T < 7^{\circ}C$ σε in vivo δείγμα, λαμβάνοντας υπόψη τις τροποποιήσεις.

Θα εκτιμηθεί η εξάρτηση της οπισθοσκεδαζόμενης έντασης από το μήκος κύματος για μια δεδομένη τιμή της θερμοκρασίας. Λόγω ευκρίνειας επιλέγεται η καμπύλη που παρουσιάζει την μέγιστη τιμή της και αυτή αντιστοιχεί στην ελάχιστη θερμοκρασία του δείγματος που είναι $T = -2^{\circ}C$ και στην αρχική χρονική στιγμή $t = 0 sec$ - (μπλέ καμπύλη του σχήματος 5.12) καθώς πρόκειται για διαδικασία ψύξης.



Σχήμα 5.13: Παρεμβολή της καμπύλης προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα που αντιστοιχούν στην καμπύλη ψύξης (μπλέ καμπύλη C₃₂) του σχήματος 5.12 για θερμοκρασία $T = -2^{\circ}C$.

Στο σχήμα 5.13 παρουσιάζεται μια καμπύλη προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα, που αφορούν την ποσότητα $\mu'_s L$ για θερμοκρασία $T = -2^\circ C$. Στην περίπτωση όμως του ανθρώπινου δείγματος η ποσότητα L που εκφράζει το βάθος παγοποίησης δεν είναι γνωστή. Από το σχήμα υποδηλώνεται ότι η εξάρτηση της ποσότητας $\mu'_s L$ από το μήκος κύματος ακολουθεί μια Γκαουσιανή κατανομή, της οποίας τις παραμέτρους αναζητούμε κάνοντας χρήση της εντολής FindFit στο υπολογιστικό πακέτο Mathematica. Η συνεχής συνάρτηση που θα προσαρμοστεί στα πειραματικά δεδομένα αναζητείται στην μορφή:

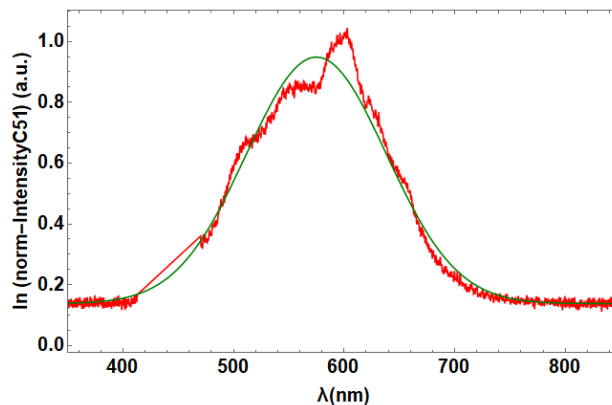
$$\mu'_s(\lambda) L = a_1 e^{-\frac{(\lambda-\lambda_0)^2}{b_1^2}} + c_1, \quad (5.13)$$

όπου a_1 , b_1 , c_1 , λ_0 είναι προσδιοριστέες παράμετροι. Η βέλτιστη προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα, αντιστοιχεί στις ακόλουθες τιμές των παραμέτρων:

$$a_1 \rightarrow 0.9384, \quad b_1 \rightarrow 84.956 \text{ nm}, \quad c_1 \rightarrow 0.04473, \quad \lambda_0 \rightarrow 588.54 \text{ nm}. \quad (5.14)$$

Η παράμετρος a_1 αναφέρεται στο ύψος της καμπύλης, η παράμετρος b_1 σχετίζεται με το εύρος της καμπύλης, η τιμή $\lambda_0 \rightarrow 588.54 \text{ nm}$ αναφέρεται στο μήκος κύματος στο οποίο αντιστοιχεί το μέγιστο της καμπύλης και τέλος η παράμετρος c_1 αναφέρεται στην τιμή του υποβάθρου των πειραματικών δεδομένων.

Παρόμοια ανάλυση, πραγματοποιείται και στην περίπτωση που αντιστοιχεί στην ακραία θέση της φάσης απόψυξης του δείγματος όπου η θερμοκρασία του είναι $T = 7^\circ C$. Η περίπτωση αυτή αντιστοιχεί στην καμπύλη C_{51} (κόκκινη καμπύλη) του σχήματος 5.12 και η προσαρμογή της καμπύλης στα πειραματικά δεδομένα απεικονίζεται στο σχήμα 5.14.

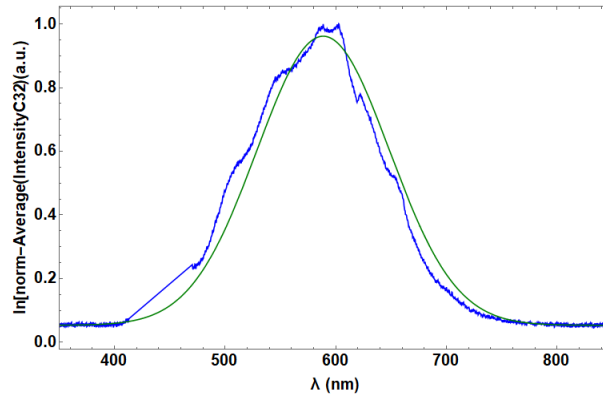


Σχήμα 5.14: Παρεμβολή της καμπύλης προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα που αντιστοιχούν στην καμπύλη απόψυξης (κόκκινη καμπύλη C_{51}) του σχήματος 5.12 για $T = 7^\circ C$.

Η καμπύλη προσαρμογής είναι της μορφής 5.13, όπου οι παράμετροι έχουν τις ακόλουθες τιμές όπως λαμβάνονται με χρήση της εντολής FindFit:

$$a_1 \rightarrow 0.8101, \quad b_1 \rightarrow 89.520 \text{ nm}, \quad c_1 \rightarrow 0.1383, \quad \lambda_0 \rightarrow 588.54 \text{ nm}. \quad (5.15)$$

Για λόγους πληρότητας τόσο στην ακραία ψυχρή ($T = -2^{\circ}C$) όσο και στην ακραία θερμή περιοχή ($T = 7^{\circ}C$) θερμοκρασιών του δείγματος, λαμβάνεται ο μέσος όρος των μετρήσεων από τρεις γειτονικές καμπύλες, συγκεκριμένα (C_{32}, C_{33}, C_{34}) για την περίπτωση της ψυχρής περιοχής και (C_{49}, C_{50}, C_{51}) για την περίπτωση της θερμής περιοχής του σχήματος 5.12. Υπολογίζεται στις δυο ακραίες περιπτώσεις η ποσότητα $\mu'_s L$ και όπως απεικονίζεται στα σχήματα 5.15 και 5.16 η εξάρτηση της από το μήκος κύματος είναι ίδιας μορφής με την εξίσωση 5.13.

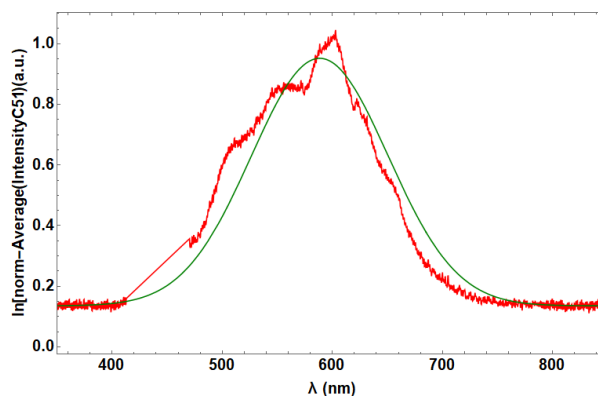


Σχήμα 5.15: Παρεμβολή της καμπύλης προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα που αντιστοιχούν στον μέσο όρο που λαμβάνεται από τις καμπύλες (C_{32}, C_{33}, C_{34}) του σχήματος 5.12 για $T = -2^{\circ}C$.

Συνεπώς, η βέλτιστη προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα που αφορά στον μέσο όρο που λαμβάνεται από τις καμπύλες (C_{32}, C_{33}, C_{34}), αντιστοιχεί στις ακόλουθες τιμές των παραμέτρων:

$$a_1 \longrightarrow 0.9083, b_1 \longrightarrow 84.493 \text{ nm}, c_1 \longrightarrow 0.05371, \lambda_0 \longrightarrow 588.54 \text{ nm}. \quad (5.16)$$

Ενώ η βέλτιστη προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα που αφορά στον μέσο όρο που λαμβάνεται από τις καμπύλες (C_{49}, C_{50}, C_{51}), αντιστοιχεί στις ακόλουθες τιμές των παραμέτρων:



Σχήμα 5.16: Παρεμβολή της καμπύλης προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα που αντιστοιχούν στον μέσο όρο που λαμβάνεται από τις καμπύλες (C_{50}, C_{51}, C_{52}) του σχήματος 5.12 για $T = 7^{\circ}C$.

$$a_1 \rightarrow 0.81644, b_1 \rightarrow 87.670 \text{ nm}, c_1 \rightarrow 0.1355, \lambda_0 \rightarrow 588.54 \text{ nm}. \quad (5.17)$$

Σε όλα τα ανωτέρω γραφήματα φαίνεται ότι η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος είναι Γκαουσιανής μορφής.

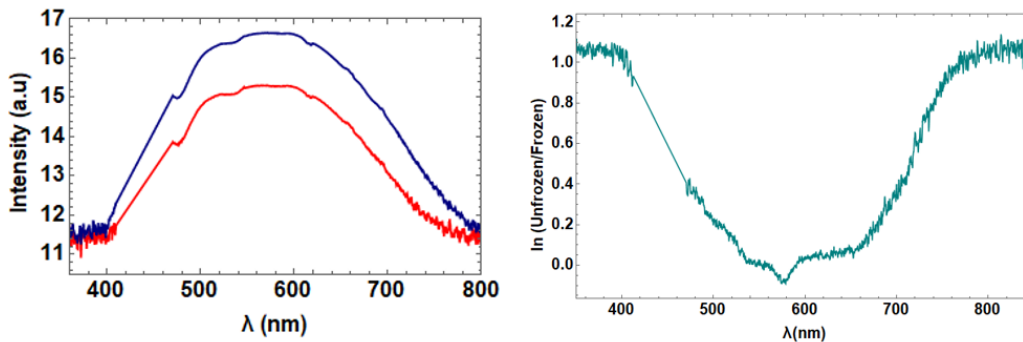
Στον παρακάτω πίνακα παρατίθεται το σύνολο των αντίστοιχων παραμέτρων προκειμένου να συγκριθούν μεταξύ τους.

Πίνακας 5.3: Σύγκριση των παραμέτρων που υπολογίστηκαν.

DATA SET4	a1	b1	c1
Norm-Frozen	0.91071	84.5414	0.0470
Norm-av Frozen	0.90831	84.4936	0.0534
Norm-unfrozen	0.81096	87.3241	0.1388
Norm-avunfrozen	0.81644	87.6705	0.1355

Παρατηρείται ότι και οι δύο τρόποι είναι ισοδύναμοι για την εύρεση των παραμέτρων.

Η διαφορά του λογαρίθμου των εντάσεων των καμπυλών C_{51} και C_{32} για την μέγιστη ($T = 7^\circ C$) και την ελάχιστη θερμοκρασία ($T = -2^\circ C$) του ανθρώπινου δείγματος απεικονίζεται στο σχήμα 5.17:



Σχήμα 5.17: Φασματική απεικόνιση της ικανότητας οπισθοσκέδασης σε ένα κύκλο ψύξης-απόψυξης (καμπύλες C_{51} και C_{32}) του in vivo βιολογικού ιστού συναρτήσει του μήκους κύματος.

Αυτή η διαφορά του λογαρίθμου των εντάσεων οφείλεται και στην απορρόφηση ακτινοβολίας από την αιμοσφαιρίνη λόγω της διαφοροποίησης στη ροή του αίματος στις δύο παραπάνω θερμοκρασίες ($T = -2^\circ C$ και $T = 7^\circ C$).

Η προσαρμογή της βέλτιστης επιφάνειας στις πειραματικές καμπύλες του σχήματος 5.12 πραγματοποιείται με χρήση μιας συνάρτησης της μορφής:

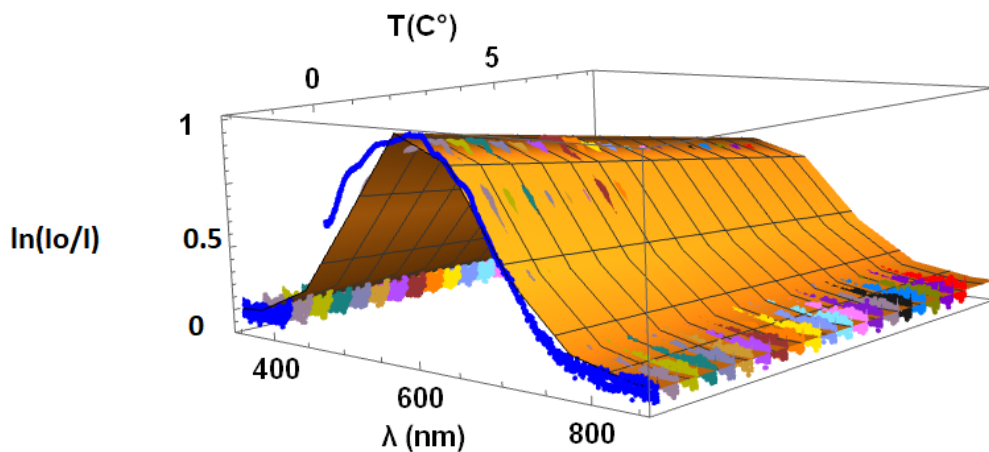
$$\mu'_s(\lambda, T) L = (a_1 + a_2 T) e^{-\frac{(\lambda-\lambda_0)^2}{b_1^2}} + c_1. \quad (5.18)$$

Η γραμμική εξάρτηση από την θερμοκρασία που παρατηρείται στην παραπάνω εξίσωση, υποδηλώνεται από την μορφή των κορυφών που έχουν οι διαδοχικές καμπύλες του

σχήματος 5.12. Επιπλέον, στη σχέση 5.18 φαίνεται ξεκάθαρα ότι η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος ακολουθεί Γκαουσιανή κατανομή. Διαμέσου χρήσης της εντολής FindFit στο Mathematica βρίσκουμε:

$$\begin{aligned} a_1 &\longrightarrow 2.93, a_2 \longrightarrow -0.099 \text{ (}^\circ\text{C)}^{-1}, b_1 \longrightarrow 113.25 \text{ nm}, \\ c_1 &\longrightarrow 6.96, \lambda_0 \longrightarrow 588.54 \text{ nm}. \end{aligned} \quad (5.19)$$

Χρησιμοποιώντας τις παραπάνω παραμέτρους κατασκευάζεται η συνεχής επιφάνεια που αντιστοιχεί στην εξίσωση 5.18, ενώ στο σχήμα 5.18 απεικονίζεται η προσαρμογή της επιφάνειας αυτής στις πειραματικές καμπύλες.



Σχήμα 5.18: Προσαρμογή των πειραματικών καμπυλών στην επιφάνεια παρεμβολής που αντιστοιχεί στην εξάρτηση της ποσότητας $\mu'_s L$ από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε δείγμα ανθρώπινου δέρματος.

Από το παραπάνω σχήμα για το θερμοκρασιακό εύρος $-2^\circ\text{C} < T < 7^\circ\text{C}$ του in vivo ανθρώπινου δέρματος μπορεί να ποσοτικοποιηθεί ο «**χρόνος κύκλου ψύξης-απόψυξης**» στα 190 sec.

Κατά την διάρκεια της ταχείας ψύξης με υγρό άζωτο παρατηρείται ο ζωντανός ιστός να αλλάζει χρώμα για ένα σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη λήξη της εφαρμογής κρυογόνου και να αποκτά ένα απαλό λευκό χρώμα. Αυτή η χαρακτηριστική «**λεύκανση**» του ιστού οφείλεται από την μια στην παροδική συστολή των αιμοφόρων αγγείων και στην επακόλουθη τοπική επιβράδυνση της κυκλοφορίας αίματος και από την άλλη στο σχηματισμό μικροφουσαλίδων μέσα στα ενδοαγγειακά υγρά εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε νερό, οι οποίοι λειτουργούν σαν σχεδαστές Mie. Αναλυτικότερα, την χρονική στιγμή $t = 0 \text{ sec}$ η ένταση ακτινοβολίας λευκού φωτός που εκπέμπεται από την πηγή, αλληλεπιδρά μόνο με τη «**σφαίρα πάγου**», δηλαδή τους σχεδαστές Mie οι οποίοι οπισθοσκεδάζουν την ένατη της ακτινοβολίας σε όλα τα μήκη κύματος του ορατού φάσματος, με αποτέλεσμα την εμφάνιση αυτής της λευκής όψης στην επιφάνεια του δέρματος.

Με την πάροδο του χρόνου λόγω της μεταφοράς θερμότητας από το περιβάλλον αλλά και της ομοίωσης του ζωντανού οργανισμού να επαναφέρει την θερμοκρασία του δέρματος στα φυσιολογικά επίπεδα, αυτή η σφαίρα πάγου θα λιώσει. Οι διαστάσεις

και το πλήθος των μικροφυσαλίδων και των παγοκρυστάλλων που έχουν δημιουργηθεί κατά την διαδικασία της παγοποίησης στα ενδοαγγειακά υγρά λόγω της υψηλής τους περιεκτικότητας σε νερό, θα μειώνονται. Συνεπώς, η δέσμη της ακτινοβολίας θα διαχέεται μέσα στον βιολογικό ιστό σύμφωνα με τον νόμο της οπτικής διάχυσης Beer-Lambert.

Όμοια με την προηγούμενη περίπτωση δείγματος, κάθε καμπύλη του σχήματος 5.12 εμφανίζει μέγιστο γύρω από το μήκος κύματος $\lambda = 588 \text{ nm}$ και αυτό σημαίνει πως σε αυτό το μήκος κύματος ο ενεργός συντελεστής σκέδασης λαμβάνει την μέγιστη τιμή του. Η τιμή αυτή του μήκους κύματος υποδεικνύει ότι τα φαινόμενα σκέδασης που κυριαρχούν σε αυτή την περιοχή περιγράφονται από την σκέδαση Mie καθώς οι μεγάλοι σχεδαστές του δέρματος αποτελούνται από σωματίδια που έχουν διαστάσεις συγκρίσιμες ή μεγαλύτερες από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός.

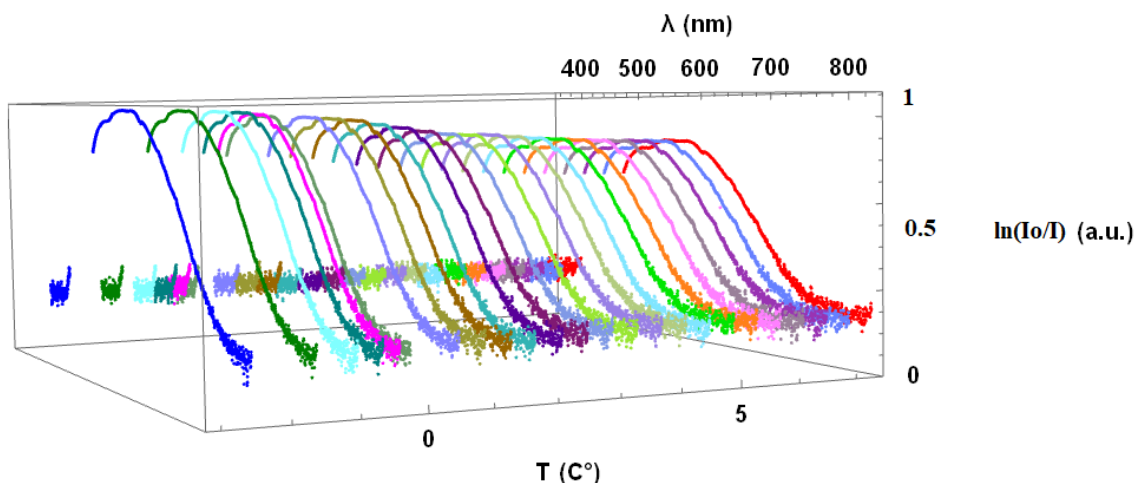
Την στιγμή ψύξης $t = 0 \text{ sec}$ (καμπύλη C_{32}) του βιολογικού ιστού, ο ενεργός συντελεστής σκέδασης έχει την μέγιστη τιμή του (εξαιτίας της αλληλεπίδρασης πηγής-λευκού πάγου) και αυτό σημαίνει ότι το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας στον ιστό θα είναι το ελάχιστο δυνατό - (μικρή διαπερατότητα). Το χρονικό διάστημα $t = (10 - 190) \text{ sec}$ (καμπύλη $C_{33} - C_{51}$) λόγω της διάχυσης της ακτινοβολίας σύμφωνα με τον νόμο Beer-Lambert αλλά και σε συνδυασμό με την αύξηση της ροής του αίματος στα αιμοφόρα αγγεία, παρατηρείται στο διάγραμμα 5.12 πτώση του ενεργού συντελεστή σκέδασης. Επίσης, σε αυτό το εύρος θα υπάρξει απορρόφηση λόγω της αιμοσφαιρίνης που μέσω των αιμοφόρων αγγείων προσπαθεί να αυξήσει την θερμοκρασία του δέρματος. Την στιγμή της απόψυξης $t = 190 \text{ sec}$ ο ενεργός συντελεστής σκέδασης θα έχει την ελάχιστη δυνατή τιμή.

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα προαναφερθέντα φαινόμενα και σε συνδυασμό μιας περαιτέρω επέκτασης της παρούσας μελέτης, πιθανόν να είναι εφικτό να βρεθεί κάποια σχέση μεταξύ του ενεργού συντελεστή σκέδασης και του πλήθους και του μεγέθους των σχεδαστών Mie που θα οδηγήσει στον προσδιορισμό του βάθους παγοποίησης L ενός in vivo βιολογικού ιστού σε πραγματικό χρόνο. Μια τέτοια μελέτη πιθανόν να οδηγήσει στην βελτιστοποίηση της μεθόδου της κρυοχειρουργικής ή κρυοθεραπείας που δε θα στηρίζεται μόνο στην κλινική εμπειρία των ιατρών.

5.4 Σύγκριση του $\mu'_s(\lambda, T)$ στο ίδιο θερμοκρασιακό εύρος σε δείγματα δέρματος ex vivo και in vivo

Είναι εξίσου σημαντικό να διερευνηθεί η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία για το δείγμα δέρματος χοίρου στο ίδιο περίπου θερμοκρασιακό εύρος με το ανθρώπινο δείγμα, δηλαδή κοντά στην περιοχή $-2^\circ\text{C} < T < 7^\circ\text{C}$. Όπως παρατηρείται από το σχήμα 5.2, στη συγκεκριμένη θερμοκρασιακή περιοχή η εξάρτηση θερμοκρασίας - χρόνου είναι μόνο γραμμική. Στην ανάλυση που ακολουθεί η σχέση αυτή περιγράφεται από τον πρώτο όρο της εξίσωσης 5.2. Σύμφωνα με το σχήμα 5.2 την χρονική στιγμή $t = 130 \text{ sec}$ η θερμοκρασία φαίνεται να είναι κοντά στους $T = -2^\circ\text{C}$ ενώ την χρονική στιγμή $t = 360 \text{ sec}$ να είναι κοντά στους $T = 7^\circ\text{C}$.

Στο σχήμα 5.19 απεικονίζονται συλλογικά οι καμπύλες από την C_{13} μέχρι την C_{36} του σχήματος 5.5 που αντιστοιχούν στο εύρος θερμοκρασιών $-2^\circ\text{C} \leq T \leq 7^\circ\text{C}$, ύστερα από την αφαίρεση του τεχνικού σφάλματος (artifact). Η μετάβαση από τον αριθμό καμπύλης σε τιμές θερμοκρασίας πραγματοποιείται λαμβάνοντας υπόψη ότι η αρχική καμπύλη C_{13} (μπλέ καμπύλη του σχήματος 5.19) αντιστοιχεί σε χρόνο $t = 130 \text{ sec}$ και οι διαδοχικές καμπύλες απέχουν μεταξύ τους χρονικό διάστημα $\Delta t = 10 \text{ sec}$. Συγκεκριμένα, την χρονική στιγμή $t = 130 \text{ sec}$ η σχέση 5.2 δίνει θερμοκρασία $T = -2.56^\circ\text{C}$ ενώ για $t = 360 \text{ sec}$ η σχέση 5.2 δίνει θερμοκρασία $T = 7.27^\circ\text{C}$. Οι θερμοκρασίες των υπόλοιπων καμπυλών φαίνονται στον Πίνακα 5.4.



Σχήμα 5.19: Απεικόνιση της ποσότητας $\mu'_s L$ από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία για το σύνολο των καμπυλών από C_{13} μέχρι την C_{36} του σχήματος 5.5. Η μπλέ καμπύλη (αριστερά) αφορά την χρονική στιγμή $t = 130 \text{ sec}$ που αντιστοιχεί σε θερμοκρασία ψύξης $T = -2.56^\circ\text{C}$ του δείγματος, ενώ η κόκκινη καμπύλη (δεξιά) αντιστοιχεί στην χρονική στιγμή που το δείγμα έχει φτάσει σχεδόν στους $T = 7.27^\circ\text{C}$.

Πίνακας 5.4: Αντιστοίχιση αριθμού πειραματικής καμπύλης, χρόνου λήψης δεδομένων και θερμοκρασίας δείγματος δέρματος χοίρου για το θερμοκρασιακό εύρος $-2.56^\circ C \leq T \leq 7.27^\circ C$.

Καμπύλες	t (sec)	T (C °)
C13	130	-2,56
C14	140	-1,633
C15	150	-1,039
C16	160	-0,67
C17	170	-0,419
C18	180	-0,267
C19	190	0,47
C20	200	0,87
C21	210	1,27
C22	220	1,64
C23	230	2,07
C24	240	2,47
C25	250	2,87
C26	260	3,27
C27	270	3,67
C28	280	4,07
C29	290	4,47
C30	300	4,87
C31	310	5,27
C32	320	5,67
C33	330	6,07
C34	340	6,47
C35	350	6,87
C36	360	7,27

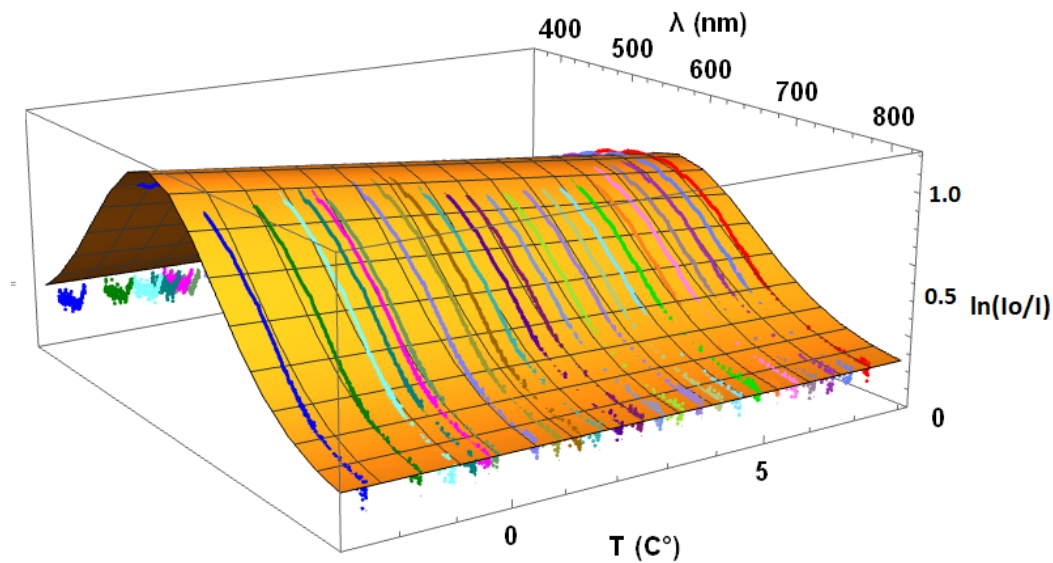
Η προσαρμογή της βέλτιστης επιφάνειας στις πειραματικές καμπύλες του σχήματος 5.19 για το ex vivo δείγμα χοίρου στο θερμοκρασιακό εύρος $-2.56^\circ C \leq T \leq 7.27^\circ C$, πραγματοποιείται με την χρήση της συνάρτησης που χρησιμοποιήθηκε για το δείγμα ανθρώπινου δέρματος μιας που η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από τη θερμοκρασία είναι και εδώ γραμμική.

$$\mu'_s(\lambda, T) L = (a_1 + a_2 T) e^{-\frac{(\lambda-\lambda_0)^2}{b_1^2}} + c_1. \quad (5.20)$$

Διαμέσου χρήσης της εντολής FindFit βρίσκουμε:

$$\begin{aligned} a_1 &\longrightarrow 5.189, \quad a_2 \longrightarrow -0.1621 (^\circ C)^{-1}, \quad b_1 \longrightarrow 136.54 \text{ nm}, \\ c_1 &\longrightarrow 11.314, \quad \lambda_0 \longrightarrow 588.54 \text{ nm}. \end{aligned} \quad (5.21)$$

Χρησιμοποιώντας τις παραπάνω παραμέτρους κατασκευάζεται η συνεχής επιφάνεια που αντιστοιχεί στην εξίσωση 5.18, ενώ στο σχήμα 5.20 απεικονίζεται η προσαρμογή της επιφάνειας αυτής στις πειραματικές καμπύλες.



Σχήμα 5.20: Προσαρμογή συνεχούς επιφάνειας στις πειραματικές καμπύλες που περιγράφουν την εξάρτηση της ποσότητας $\mu'_s L$ από το μήκος κύματος και την θερμοκρασία σε ένα δείγμα δέρματος χοίρου στο θερμοκρασιακό εύρος $-2.56^\circ C \leq T \leq 7.27^\circ C$.

Χρησιμοποιώντας το τελευταίο γράφημα που απεικονίζει τη γραμμική εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης συναρτήσει της θερμοκρασίας, είναι εφικτό να υπολογιστεί στο ίδιο θερμοκρασιακό εύρος με το ανθρώπινο δείγμα ο «χρόνος κύκλου ψύξης-απόψυξης» του δέρματος χοίρου ο οποίος εκτιμάται περίπου στα 360 sec. Το συμπέρασμα αυτό είναι αναμενόμενο καθώς ο ανθρώπινος βιολογικός ιστός θα αποψυχθεί γρηγορότερα λόγω της ομοιοστατικής ιδιότητας του ανθρώπινου δέρματος να ρυθμίζει την θερμοκρασία του οργανισμού στους $36.6^\circ C$.

Κεφάλαιο 6

Συμπεράσματα

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη ενός αριθμητικού μοντέλου βασικών αρχών που να προσδιορίζει τον ενεργό συντελεστή σκέδασης συναρτήσει της θερμοκρασίας και του μήκους κύματος, με σκοπό την συσχέτιση του με το πλήθος και το μέγεθος των σκεδαστών Mie για την πρόβλεψη του βάθους παγοποίησης *in vivo* βιολογικού δείγματος σε πραγματικό χρόνο ώστε να βελτιστοποιηθεί μελλοντικά ή μέθοδος της κρυοχειρουργικής. Αρχικά η εργασία επικεντρώθηκε στον προσδιορισμό της χρονικής εξάρτησης της θερμοκρασίας του δείγματος σε μια διαδικασία κύκλου ψύξης-απόψυξης. Αυτό έδωσε την δυνατότητα να αναπτυχθεί μια συνάρτηση που εκφράζει την χρονική εξάρτηση της θερμοκρασίας για οποιοδήποτε θερμοκρασιακό εύρος μελετάται ένα δείγμα σε κύκλους ψύξης-απόψυξης. Κάνοντας χρήση της συνάρτησης αυτής, προσδιορίζεται η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από την θερμοκρασία και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας σε (*ex vivo*) δείγμα χοίρου και (*in vivo*) δείγμα ανθρώπου (αντιβράχειο). Και στις δυο περιπτώσεις η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος ακολουθεί μια Γκαουσιανή κατανομή γύρω από το μέσο μήκος κύματος $\lambda \sim 600 \text{ nm}$.

Η εξάρτηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης από την θερμοκρασία για το δείγμα δέρματος ανθρώπου ήταν γραμμική ενώ για το δείγμα χοίρου ακολουθούσε μια μη γραμμική σχέση. Η διαφορά αυτή της εξάρτησης του ενεργού συντελεστή σκέδασης από την θερμοκρασία οφείλεται στο γεγονός ότι έχουμε διαφορετικά θερμοκρασιακά εύρη για τα δύο δείγματα. Επιπλέον, ο παράγοντας που παίζει ρόλο στην διαφοροποίηση του ενεργού συντελεστή σκέδασης είναι η παρουσία αίματος στο ανθρώπινο δείγμα και απουσία αίματος στο πτωματικό δείγμα χοίρου.

Η συγκεκριμένη συμπεριφορά του $\mu'_s(\lambda, T)$ μπορεί να αξιοποιηθεί από θεωρητικά μοντέλα που περιγράφουν τις οπτικές ιδιότητες της διάδοσης, της σκέδασης και της φασματοσκοπίας σε πολυστρωματικά και ετερογενή μέσα όπως είναι ένας βιολογικός ιστός. Η παραπάνω μελέτη που πραγματοποιήθηκε μπορεί να αυτοματοποιηθεί ώστε να βελτιώσει τις διαγνωστικές/επεμβατικές τεχνικές της κρυοχειρουργικής επεκτείνοντας τις μέχρι τώρα εμπειρικές μεθόδους που έχουν εφαρμοστεί.

Βιβλιογραφία

- [1] A. N. Bashkatov, E. Genina, V. Kochubey, and V. Tuchin, “Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm.” <https://doi.org/10.1142/S1793545811001319>, 2005.
- [2] S. L. Jacques, “Optical properties of biological tissues: a review.” <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0031-9155/58/11/R37/pdf>, 2013.
- [3] D. Spasopoulos, G. Rattas, A. Kaisas, T. Dalagiannis, I. D. Bassukas, N. Kourkoumelis, and A. Ikiades, “Fiber optic sensor for real-time monitoring of freezing–thawing cycle in cryosurgery.” <https://doi.org/10.3390/app10031053>, 2020.
- [4] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, and V. V. Tuchin, “Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review.” <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/s1793545811001319>, 2011.
- [5] W.-k. Yiu, M. T. Basco, J. E. Aruny, S. W. Cheng, and B. E. Sumpio, “Cryosurgery: a review.” <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0031-1278235>, 2007.
- [6] J.-F. Yan, H.-W. Wang, J. Liu, Z.-S. Deng, W. Rao, and S.-H. Xiang, “Feasibility study on using an infrared thermometer for evaluation and administration of cryosurgery.” <https://doi.org/10.1080/13645700701384074>, 2007.
- [7] E. Samset, T. Mala, B. Edwin, I. Gladhaug, O. Søreide, and E. Fosse, “Validation of estimated 3d temperature maps during hepatic cryo surgery.” [https://doi.org/10.1016/S0730-725X\(01\)00389-7](https://doi.org/10.1016/S0730-725X(01)00389-7), 2001.
- [8] D. Torre, “Cryosurgical instrumentation and depth dose monitoring.” [https://doi.org/10.1016/0738-081X\(90\)90065-9](https://doi.org/10.1016/0738-081X(90)90065-9), 1990.
- [9] B. Choi, T. E. Milner, J. Kim, J. N. Goodman, G. Vargas, G. Aguilar, and J. S. Nelson, “Use of optical coherence tomography to monitor biological tissue freezing during cryosurgery.” <https://doi.org/10.1117/1.1648647>, 2004.
- [10] J. Tacke, R. Speetzen, I. Heschel, D. W. Hunter, G. Rau, and R. W. Günther, “Imaging of interstitial cryotherapy anin vitrocomparison of ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance imaging.” <https://doi.org/10.1006/cryo.1999.2168>, 1999.
- [11] Y. Dido, *Introduction to nanobiophysics and optical imaging - Chapter 6: Non-Ionising Radiation and Laser*. Symmetry Publications, 2011.

- [12] C. F. Bohren and D. R. Huffman, “Absorption and scattering of light by small particles.” <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9783527618156>, 2008.
- [13] V. Maria, “The effect of uv radiation on biological systems. from nano to macro dimensions,” *Uoi*, 2021.
- [14] M. Z. Vardaki and N. Kourkouvelis, “Tissue phantoms for biomedical applications in raman spectroscopy: a review.” <https://doi.org/10.1177/1179597220948100>, 2020.
- [15] M. Markopoulou, “Biophysical mechanisms of laser action,” 2020.
- [16] V. V. Tuchin, “Tissue optics and photonics: light-tissue interaction.” <https://cyberleninka.ru/article/n/tissue-optics-and-photonics-light-tissue-interaction/viewer>, 2015.
- [17] N. Kourkouvelis, “Notes of medical physics - laser - medical applications.” <https://sites.google.com/site/medphysioa/>, 2022.
- [18] J. Yamada, A. Kawamura, Y. Miura, S. Takata, and K. Ogawa, “Study on radiation transfer in human skin for cosmetics.” <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2004.08.022>, 2004.
- [19] E. Angelopoulou, “The reflectance spectrum of human skin.” https://repository.upenn.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1616&context=cis_reports, 1999.
- [20] A. Wax and V. Backman, *Biomedical applications of light scattering*. McGraw-Hill Education, 2010.
- [21] S. L. Jacques, *Tissue Optics*. PhD thesis, SPIE Photonics West Short Course SC029 San Francisco, University of Washington, Seattle, WA, USA, 2020.
- [22] I. Oshina and J. Spigulis, “Beer–lambert law for optical tissue diagnostics: current state of the art and the main limitations.” <https://doi.org/10.1117/1.JBO.26.10.100901>, 2021.
- [23] E. Georgiou, *Medical Physics - Diagnostic and therapeutic applications of radiation*. Paschalidis Publications, Second Edition, 2014.
- [24] F. A. Duck, *Physical Properties of Tissue A Comprehensive Reference*. McGraw Hill Education, 1990.
- [25] M. A. CARRUTH J.A.S., *MEDICAL LASERS Science and Clinical Practice*. Hilger, 1986.
- [26] I. S. Saidi, S. L. Jacques, and F. K. Tittel, “Mie and rayleigh modeling of visible-light scattering in neonatal skin.” <https://doi.org/10.1364/AO.34.007410>, 1995.
- [27] M. Howard, A. Luttman, D. Marks, and D. Frayer, “Mie scattering analysis.” <https://doi.org/10.2172/1755228>, 2016.

- [28] S. Barnhart and S. Gunasekaran, *Design and Development of a Coherent Detection Rayleigh Doppler Lidar System for Use as an Alternative Velocimetry Technique in Wind Tunnels*. PhD thesis, 08 2020.
- [29] S. L. Jacques, “Fractal nature of light scattering in tissues.” <https://doi.org/10.1142/S1793545811001289>, 2011.
- [30] H. D. Young, R. A. Freedman, and R. Bhathal, *University physics: Australian edition*. Pearson Higher Education AU, 2010.
- [31] V. S. Hollis, *Non-invasive monitoring of brain tissue temperature by near-infrared spectroscopy*. University of London, University College London (United Kingdom), 2002.
- [32] S. A. P. Steven L. Jacques, “Biomedical optics.” <https://omlc.org/classroom/ece532/class3/musp.html>, 1998.
- [33] R. R. Preston and T. E. Wilson, *Physiology*, vol. 1. Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
- [34] L. Ioanna, “Anatomy of the skin.” http://training.seer.cancer.gov/ss-module14_melanoma/unit02_sec01_anatomy.html, 2003.
- [35] G. V. Baranoski and A. Krishnaswamy, “An introduction to light interaction with human skin.” <https://doi.org/10.22456/2175-2745.5961>, 2004.
- [36] M. Doi and S. Tominaga, “Spectral estimation of human skin color using the kubelka-munk theory.” <https://doi.org/10.1117/12.472026>, 2003.
- [37] R. R. Anderson and J. A. Parrish, “The optics of human skin.” <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12479191>, 1981.
- [38] H.-J. Wei, D. Xing, G.-Y. Wu, Y. Jin, and H.-M. Gu, “Optical properties of human normal small intestine tissue determined by kubelka-munk method in vitro.” <https://doi.org/10.3748/wjg.v9.i9.2068>, 2003.
- [39] A. Lubkowska, “Cryotherapy: Physiological considerations and applications to physical therapy.” <https://www.cryohd.com/wp-content/uploads/sites/3/2016/12/Cryotherapy-Applications-to-Physical-Therapy.pdf>, 2012.
- [40] M. D. Andrews, “Cryosurgery for common skin conditions.” <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2004/0515/p2365.html>, 2004.
- [41] K. M. Kelly, F. Sun, G.-X. Wang, and G. Aguilar, “Numerical modeling of the tissue freeze-thaw cycle during cutaneous cryosurgery using liquid nitrogen spray.” [semanticscholar.org/paper/Numerical-modeling-of-the-tissue-freeze-thaw-cycle-Kelly-Sun/750981e45f50e38e8a2c5a3b7919e3a1544b5cb0?p2df](https://www.semanticscholar.org/paper/Numerical-modeling-of-the-tissue-freeze-thaw-cycle-Kelly-Sun/750981e45f50e38e8a2c5a3b7919e3a1544b5cb0?p2df), 2005.
- [42] L. Wang and S. L. Jacques, “Use of a laser beam with an oblique angle of incidence to measure the reduced scattering coefficient of a turbid medium,” *Applied optics*, vol. 34, no. 13, pp. 2362–2366, 1995.

- [43] W. Staszewski, G. Tomlinson, C. Boller, and G. Tomlinson, “Health monitoring of aerospace structures,” 2004.
- [44] N. Vlachopoulos and B. Forbes, “The use of distributed optical sensing techniques to optimize tunnel support; not all fiber optic methods are similar.,” 10 2017.
- [45] B. Forbes, N. Vlachopoulos, and A. J. Hyett, “The application of distributed optical strain sensing to measure the strain distribution of ground support members.” <https://doi.org/10.1139/facets-2017-0093>, 2018.
- [46] J. M. Senior and M. Y. Jamro, *Optical fiber communications: principles and practice*. Pearson Education, 2009.
- [47] S. Ranamukhaarachchi, S. Lehnert, S. Ranamukhaarachchi, L. Sprenger, T. Schneider, I. Mansoor, K. Rai, U. Häfeli, and B. Stoeber, “A micromechanical comparison of human and porcine skin before and after preservation by freezing for medical device development.” <https://rdcu.be/cUIBM>, 2016.