

ΜΕΛΕΤΗ ΟΠΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΠΑΓΩΜΕΝΟ / ΜΗ-ΠΑΓΩΜΕΝΟ ΧΟΙΡΙΝΟ ΔΕΡΜΑ ΜΕ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΟΠΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ

(STUDY OF VISUAL PROPERTIES ON FROZEN / NON-FROZEN PORK SKIN WITH FIBER SENSOR)

ΘΩΜΑΣ ΝΤΑΛΑΓΙΑΝΝΗΣ Α.Μ. :727

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κρυοχειρουργική / κρυοθεραπεία (cryosurgery / cryotherapy) είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική ψύξης-απόψυξης για την ανανέωση ή την καταστροφή των παθολογικών ιστών, εφαρμόζοντας τοπική ταχεία ψύξη. Ωστόσο, η διαδικασία εφαρμογής της εξακολουθεί να βασίζεται στην υποκειμενική «ειδική γνώση» («κλινική εμπειρία») των ιατρών, χωρίς δυνατότητα παρακολούθησης της θεραπευτικής παρέμβασης σε πραγματικό χρόνο. Αυτή η εργασία επικεντρώνεται στην εκτίμηση του πάχους της ζώνης παγοποίησης από την επιφάνεια του ιστού («βάθους ψύξης»), αξιοποιώντας τις οπτικές ιδιότητες της διάδοσης, της σκέδασης (scattering) και της φασματοσκοπίας συγκριτικά σε δείγματα παγωμένου -και μη παγωμένου χοιρινού δέρματος (porcine skin), *ex-vivo*. Για τον προσδιορισμό του ενδοϊστικού βάθους της ψύξης, επομένως και της σχετιζόμενης ζώνης κυτταρικής θανάτωσης, κατά τη διάρκεια κύκλων ψύξης-απόψυξης με ακρίβεια μικρότερη των χιλιοστών, αναπτύχθηκε ένας αισθητήρας συστοιχίας οπτικών ινών.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

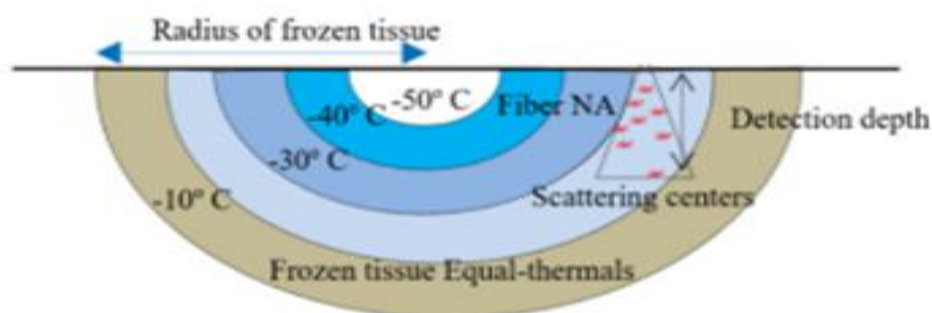
2.1 Κρυοχειρουργική / κρυοθεραπεία

Η κρυοχειρουργική / κρυοθεραπεία είναι η ιατρική εφαρμογή του ελεγχόμενου τοπικού παγώματος των ιστών για την ανανέωση τους ή την απομάκρυνση και την καταστροφή παθολογικών αλλοιώσεων [1]. Επιτυγχάνεται μέσω της ταχείας ψύξης σε ακραία χαμηλές θερμοκρασίες, τυπικά με ψεκασμό υγρού αζώτου ή με την άμεση επαφή με παγωμένους στείλους, η οποία επακολουθεί από μια σχετικά πιο αργή διαδικασία απόψυξης.

Ο τραυματισμός του ιστού από την διαδικασία ψύξης-απόψυξης μπορεί να αποδοθεί ευρύτερα σε τρεις διαδοχικούς, αλλά και αλληλεπικαλυπτόμενους, μηχανισμούς: (α) Μια αρχική «φυσική φάση» όπου η νέκρωση των κυττάρων είναι άμεσο αποτέλεσμα της έκθεσης του ιστού στην ιδιαίτερα χαμηλή θερμοκρασία (<-50 °C), με συνέπεια τον σχηματισμό ενδοκυττάρια καταστροφικών μικροκρυστάλλων και μικροφυσαλίδων, καθώς και μέσω φαινομένων όσμωσης κατά την απόψυξη που διασπούν τα κύτταρα [2]. (β) Μία «αγγειακή φάση» κατά την οποία η βλάβη στον ιστό επιτείνεται σαν συνέπεια διαταραχών στη ροή του αίματος. [3] Και (γ) μία «ανοσολογική - φλεγμονώδη» φάση, -όπου 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. Ο

τελευταίος μηχανισμός θεωρείται ιδιαίτερος σημαντικός στην θεραπεία καρκινικών όγκων [4].

Μετά από μία συνεδρία κρυοχειρουργικής ο ιστός θα αλλάξει σταδιακά με την πάροδο του χρόνου, λόγω των προαναφερθέντων μηχανισμών. Είναι επομένως κρίσιμο για την καλύτερη πρόβλεψη της τελικής έκτασης των αλλοιώσεων να παρακολουθείται σε πραγματικό χρόνο η επέκταση και το βάθος της περιοχής κατάψυξης του ιστού («σφαίρας πάγου») κατά την διαδικασία του κύκλου 'ψύξης-απόψυξης', ιδανικά μετρώντας τις αλλαγές της φυσικής κατάστασης και/ή τις δυναμικές βαθμίδες θερμοκρασίας (ισόθερμες) του ιστού σε πραγματικό χρόνο (Σχήμα 1). Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει εύκολος τρόπος αντικειμενικής παρακολούθησης σε πραγματικό χρόνο της διαδικασίας της ψύξης, ούτε είναι ο προσδιορισμός του βάθους των ισόθερμων σε ζωντανό ιστό (*in-vivo*) μια διαδικασία ρουτίνας. Έτσι η κλινική κρυοχειρουργική εξακολουθεί να βασίζεται στην εμπειρική «γνώση του ειδικού» («εμπειρία») του θεράποντος γιατρού.



Σχήμα 1: Δυναμικές βαθμίδες θερμοκρασίας (ισόθερμες) του ιστού.

Μέχρι σήμερα οι τεχνικές παρακολούθησης που χρησιμοποιούνται μόνο σε πειραματικές ή κλινικές δοκιμές, περιλαμβάνουν την άμεση μέτρηση θερμοκρασίας αξιοποιώντας την υπέρυθρη θερμογραφία [5] και μονά ή πολλαπλά Bragg gratings οπτικών ινών ή θερμοζεύγη σε βελόνες που τοποθετούνται σε κατάλληλα σημεία του ιστού για τη μέτρηση των θερμοκρασιών τοπικά [6,7]. Επίσης έχουν χρησιμοποιηθεί υπέρηχοι για την μέτρηση του πάχους της ζώνης παγοποίησης του ιστού [8], καθώς και άλλες τεχνικές απεικόνισης, όπως η τομογραφία οπτικού συντονισμού (optical coherent tomography, -OCT) [9], vibroacoustography [10], electrical impedance tomography (EIT) [11] και μαγνητική τομογραφία (MRI) [8,12,13]. Συγκεκριμένα η OCT είναι μια καθιερωμένη οπτική μέθοδος βασιζόμενη στην αρχή της συμβολομετρίας και έχει χρησιμοποιηθεί πειραματικά σε παρόμοιες μελέτες. Όμως, μια πρόσφατη κλινική μελέτη Themstrup et al. [14] καταλήγει στο συμπέρασμα ότι σε φυσιολογικό νεκρό δέρμα (*ex-vivo*) και σε αλλοιώσεις ζωντανού δέρματος (*in-vivo*) η αδιαφανής σφαίρα πάγου, που προκαλείται από την κρυοθεραπεία, δεν επιτρέπει τον προσδιορισμό του βάθους από την OCT.

Άλλες τεχνικές οπτικής απεικόνισης όπως κάμερα ή υψηλής ανάλυσης πολυφασματική απεικόνιση [15,16] μπορούν να ληφθούν υπόψη, αλλά οι αλλαγές στο περιβάλλον φώς και

η δημιουργία πάχνης στην επιφάνεια του δέρματος, κατά τη διάρκεια αλλά και λίγο μετά την ψύξη τους δημιουργούν προβλήματα αξιοπιστίας, αφού καλύπτουν την περιοχή εφαρμογής της κρυοθεραπείας, παρεμποδίζοντας την συλλογή δεδομένων από τα αρχικά στάδια της θεραπείας.

Τα μειονεκτήματα κατά την χρήση των παραπάνω τεχνικών είναι αρκετά : (α) Στον ασθενή («εν ζωή») το δέρμα παραμένει παγωμένο για ένα συγκριτικά μικρό χρονικό διάστημα καθιστώντας δύσκολη την συλλογή και επεξεργασία επαρκών δεδομένων. (β) Όργανα που μετρούν μέσω της επαφής δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν, επειδή δημιουργούν θερμική παρεμβολή στην κρυοθεραπεία. (γ) Τέλος μέθοδοι βασίζονται σε οργανολογία υψηλού κόστος, καθιστώντας τις μη πρακτικές για χρήση σε κρυοχειρουργική επέμβαση ρουτίνας.

Εδώ παρουσιάζουμε μια τεχνική, που 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 τοπολογία και το βάθος της παγωμένης περιοχής σε πραγματικό χρόνο.

Ας αναλύσουμε λίγο περισσότερο αυτή την τεχνική. Κατά την διάρκεια της ταχείας ψύξης με υγρό άζωτο οι πλούσιοι σε νερό ζωντανοί ιστοί αλλάζουν χρώμα και για ένα σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη λήξη της εφαρμογής κρυογόνου, αποκτούν ένα απαλό λευκό χρώμα. Αυτή η χαρακτηριστική «λεύκανση» του ιστού οφείλεται από την μια στην παροδική συστολή των αιμοφόρων αγγείων και στην επακόλουθη μείωση τοπικά του αίματος [3] και από την άλλη στη δημιουργία παγοκρυστάλλων και μικροφυσαλίδων μέσα στους ιστούς. Εργασία από τους Kletetschka et al. [17] έχει δείξει ότι η τελευταία διεργασία εξαρτάται από την παρουσία ενδοκυττάρων δομών, που λειτουργούν ως κέντρα πυρήνωσης, με συνέπεια τα υπερψυγμένα ενδοκυττάρια υγρά να ψύχονται απότομα σχηματίζοντας μικρές κρυσταλλικές δομές. Επιπλέον κάτω από τις συνθήκες της απότομης ψύξης τα διαλυμένα αέρια στο εσωτερικό των κυττάρων δεν μπορούν να διαφύγουν, με αποτέλεσμα να εγκλωβίζονται στον πάγο δημιουργώντας μικροσκοπικές φυσαλίδες [18,19].

Οι διαστάσεις αυτών των μικροφυσαλίδων είναι όμοιες ή μικρότερες από τα μήκη κύματος του ορατού φωτός και δρουν ως κέντρα σκέδασης. Ανάλογα με το μέγεθος των κυτταρικών δομών, η σκέδαση Mie [20] ή η σκέδαση Rayleigh κυριαρχεί στις διαδικασίες οπτικής διάχυσης στους ιστούς [21], η οποία μπορεί επίσης να συμβάλει στη χαρακτηριστική λευκή όψη των κατεψυγμένων ιστών όταν φωτίζονται με λευκό φως.

Στόχος μας είναι να εκμεταλλευτούμε τα προαναφερθέντα οπτικά φαινόμενα, για να διακρίνουμε την δυναμική γεωμετρία του παγώματος ή πιο συγκεκριμένα τις μεταβολές στην διάσταση της παγωμένης περιοχής («σφαίρας πάγου») σε πραγματικό χρόνο. Με άλλα λόγια, στόχος μας είναι να προσδιορίσουμε το βάθος μέχρι το οποίο το δέρμα παγώνει και να βοηθήσουμε στην βελτιστοποίηση της εφαρμογής κρυογόνου στην διαδικασία της κρυοχειρουργικής / κρυοθεραπείας.

Η παρούσα μέθοδος αξιοποιεί τις ιδιότητες των οπτικών ινών, όπως η φασματική διάδοση, το μικρό μέγεθός της γωνίας αποδοχής (acceptance angle) (αριθμητικό άνοιγμα (numerical aperture, NA) και την χαμηλή θερμική μάζα για τη μέτρηση των τοπικών μεταβολών έντασης λόγω αλλαγών στον ενεργό συντελεστή σκέδασης παγωμένου και μη παγωμένου πτωματικού ιστού (*ex vivo*). Συνεπώς οι διαστάσεις της «σφαίρας πάγου» καθορίζονται από την βαθμονόμηση της οπτικής διάδοσης και διάχυσης σε πολύ μικρές περιοχές του δέρματος. Τα πειράματα παρουσιάζονται σε δύο μέρη, το πρώτο μέρος επικεντρώνεται στη διαδικασία βαθμονόμησης της διαδικασίας οπτικής διάχυσης με χρήση οπτικών ινών σε επαφή και ενσωματωμένων σε ένα μικρό λεπτό τμήμα ιστού χοίρου. Στο δεύτερο μέρος αναπτύχθηκε ένας αισθητήρας συστοιχίας οπτικών ινών και χρησιμοποιήθηκε σε δείγματα πτωματικού χοιρινού δέρματος, που υποβλήθηκαν σε κύκλους ψύξης-απόψυξης, για τη μέτρηση της κατανομής της οπτικής έντασης της οπισθοσκέδασης από το δέρμα, που βρίσκεται κοντά σε θερμοκρασίες σώματος και τον καθορισμό του βάθους της ψύξης.

2.2. Οπτικές ίνες

Η χρήση των οπτικών ινών για την μέτρηση της αλλαγής των οπτικών ιδιοτήτων κατά την διάρκεια της κρυοχειρουργικής, γίνεται για διάφορους λόγους. Πρώτον 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 κρυοχειρουργικής / κρυοθεραπείας. Δεύτερον δεν δημιουργεί θερμική παρεμβολή. Και τέλος χρησιμοποιούμε φώς στο φάσμα του ορατού, το οποίο δεν επηρεάζει τη δομή του δέρματος.

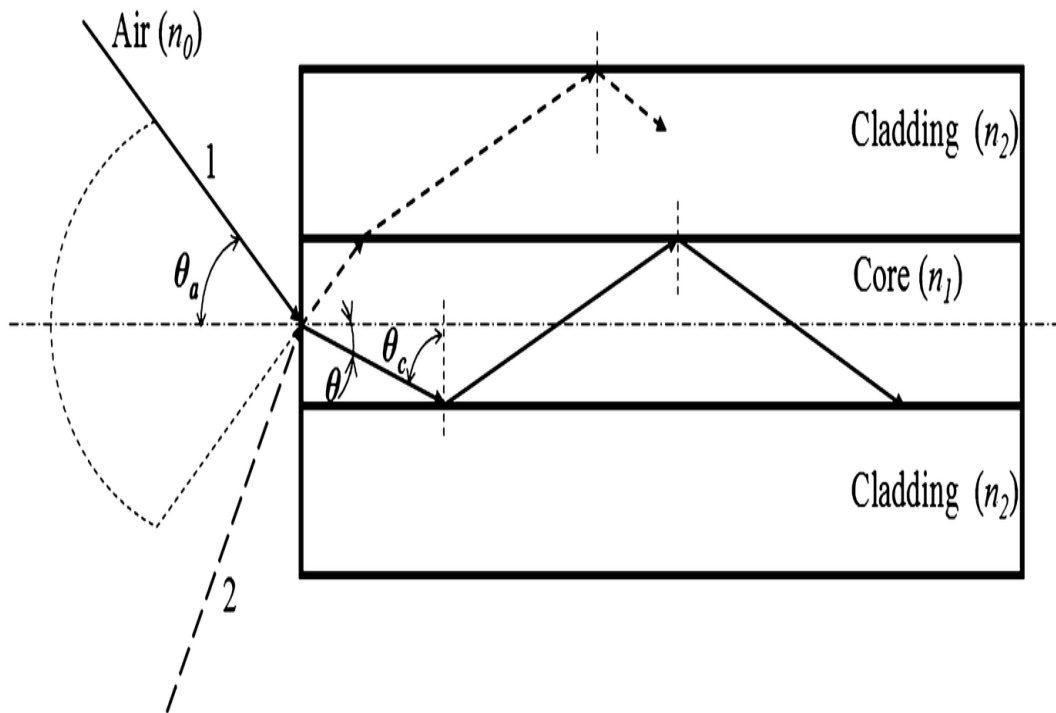
Η οπτική ίνα είναι εύκαμπτη και κατασκευασμένη από επιμηκυμένο (drawn) γυαλί ή πλαστικό διαμέτρου από 80 μm έως 1000μm. Αποτελείται από τον πυρήνα (core), στον οποίο διαδίδεται το φως, το περίβλημα (cladding) το οποίο έχει μικρότερο δείκτη διάθλασης, όπου μέσω της ολικής εσωτερικής ανάκλασης συγκρατεί το φως και την προστασία (coating).

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

$$NA = n_0 \sin \theta_a$$

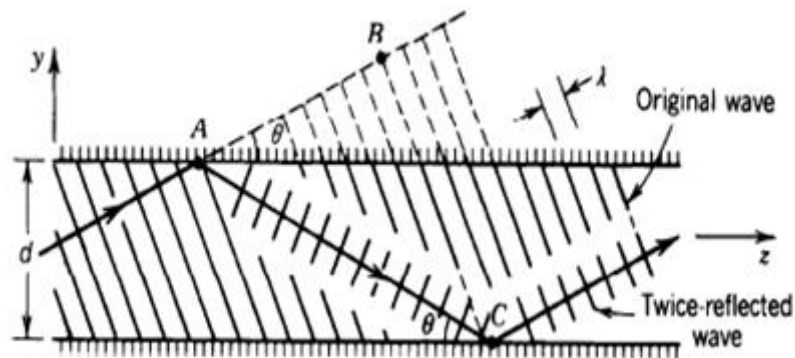
Όπου το n_0 είναι ο δείκτης διάθλασης στην είσοδο της οπτικής ίνας, που συνήθως είναι ο αέρας και το $\sin \theta_a$ είναι το συνημίτονο της γωνίας αποδοχής (acceptance angle) (Σχήμα 2). Άλλος ένας τρόπος ορισμού του NA είναι μέσω του σχετικού δείκτη διάθλασης Δ του πυρήνα (core) και του (cladding).

$$NA = n_1 (2\Delta)^{1/2} \quad \text{όπου} \quad \Delta = \frac{n_1^2 - n_2^2}{2n_1^2} \approx \frac{n_1 - n_2}{n_1}$$



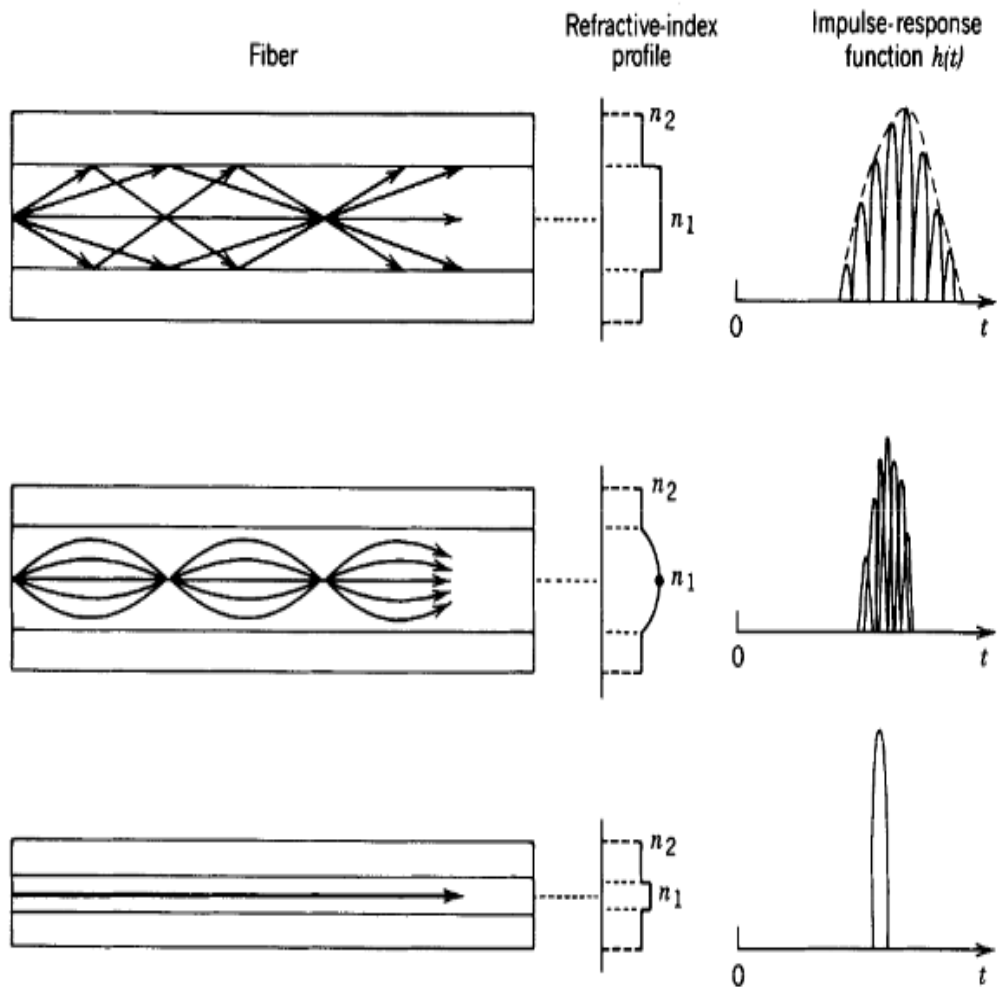
Σχήμα 2: Πλάγια διατομή οπτικής ίνας.

Άλλο ένα σημαντικό στοιχείο είναι η φάση του κύματος, που εισέρχεται στην οπτική ίνα, καθώς πρέπει να είναι η κατάλληλη, ούτως ώστε το κύμα να μπορεί να επαναλάβει τον εαυτό του, μετά την πρώτη του ανάκλαση, αλλιώς εξέρχεται από τον πυρήνα (Σχήμα 3), με αποτέλεσμα να μπορούν, να διαδοθούν κύματα συγκεκριμένων τρόπων (modes).



Σχήμα 3: Συμπεριφορά κυμάτων μέσα στην οπτική ίνα.

Οι οπτικές ίνες διακρίνονται σε τρία διαφορετικά είδη, σε σχέση με τους τρόπους (modes): (α) Τις stepped index πολύτροπες (multi-mode) ίνες, όπου διαδίδονται κύματα συγκεκριμένων τρόπων (modes). (β) Τις graded index πολύτροπες ίνες, οι οποίες έχουν δείκτη διάθλασης πυρήνα που μειώνεται από το κέντρο ως το περίβλημα. Με αποτέλεσμα να διαδίδονται κύματα λιγότερων τρόπων, αλλά και να υπάρχει μικρότερη διασπορά των κυμάτων. Και (γ) στις μονότροπες (single-mode) ίνες, που επιτρέπουν την διάδοση ελάχιστων ή ενός τρόπου (Σχήμα 4), οι οποίες έχουν μικρότερη διάμετρο πυρήνα.



Σχήμα 4: Διάκριση οπτικών ινών με βάση τα modes.

Πιο αναλυτικά, σε οπτικές ίνες με μικρή διάμετρο πυρήνα η γεωμετρική οπτική παύει να ισχύει. Αυτό συμβαίνει επειδή η θεωρία του ακτινικού μοντέλου, είναι μια μερική περιγραφή του χαρακτήρα της διάδοσης του φωτός, η οποία περιγράφει το τμήμα της κατεύθυνσης του επίπεδου κύματος μέσα στην οπτική ίνα, χωρίς όμως να λαμβάνει υπόψη το τμήμα της συμβολής αυτών των κυμάτων, σε αντίθεση με την κυματική θεωρία, όπου λαμβάνονται υπόψη τα φαινόμενα συμβολής και βρίσκουμε ότι κύματα με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά διαδίδονται στον πυρήνα της οπτικής ίνας. Έτσι η οπτική ίνα υποστηρίζει έναν διακριτό αριθμό καθοδηγούμενων τρόπων (guided modes). Αυτό είναι κρίσιμο για οπτικές ίνες μικρής διαμέτρου πυρήνα, οι οποίες υποστηρίζουν έναν ή λίγους τρόπους (modes) και οι οποίοι είναι Γκαουσιανοί (Gaussian) ή τους προσεγγίζουν (near-Gaussian), ανεξάρτητα τον τύπο της ίνας, όπως μπορούμε να δούμε στο Σχήμα 4. Σε αντίθεση με τις πολύτροπες που υποστηρίζουν πολλούς τρόπους (modes).

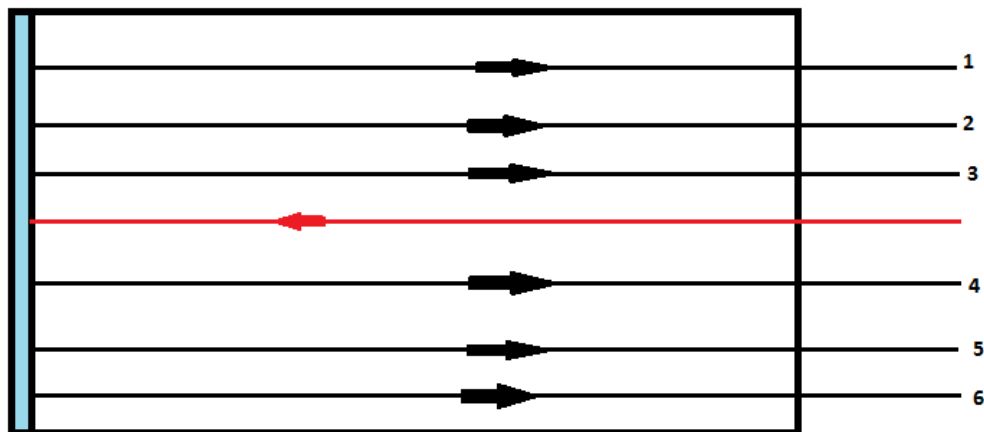
Τελικά επιλέξαμε να χρησιμοποιήσουμε stepped index πολύτροπες ίνες, για την κατασκευή του αισθητήρα, λόγω του ότι μπορούν να συλλέξουν περισσότερο φως, αφού θέλουμε την καλύτερη διακριτική ικανότητα.

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

3.1. Οπτικός αισθητήρας και ανάπτυξη

Για την διενέργεια των πειραμάτων αυτής της εργασίας κατασκευάσαμε αρχικά έναν αισθητήρα οπτικών ινών, ο οποίος αποτελείται από επτά πολύτροπες (multimode, MMF) οπτικές ίνες, με διαχωρισμό περίπου 1 mm. Οι οπτικές ίνες έχουν διάμετρο πυρήνα 240 μm και διάμετρο περιβλήματος 250 μm. Το NA των οπτικών ινών που χρησιμοποιήσαμε είναι 0.37. Όπως βλέπουμε στο Σχήμα 5, την κεντρική οπτική ίνα την χρησιμοποιούμε ως πηγή φωτός, δηλαδή είναι η οπτική ίνα από την οποία εκπέμπεται το φως, που χρειάζεται για τα πειράματά μας. Ακόμη τοποθετήθηκε γυαλί στο μπροστινό μέρος του αισθητήρα, για την προστασία του από το πάγωμα, στο οποίο υπάρχει κενό στο κέντρο, ώστε να μπορεί η κεντρική οπτική ίνα (πηγή) να κινείται ελεύθερα, μέσω μικρομέτρου. Ως πηγή φωτός χρησιμοποιήσαμε laser διάφορων μηκών κύματος (405 nm, 532 nm, 650nm), με οπτική ισχύ εξόδου 3-4 mW.

Οι βασικές οπτικές ίνες με τις οποίες μετράμε την οπισθοσκέδαση είναι οι 3 και 4. Ενώ οι υπόλοιπες οπτικές ίνες (1,2,5,6) βοηθούν περισσότερο στην μέτρηση της διάχυσης.

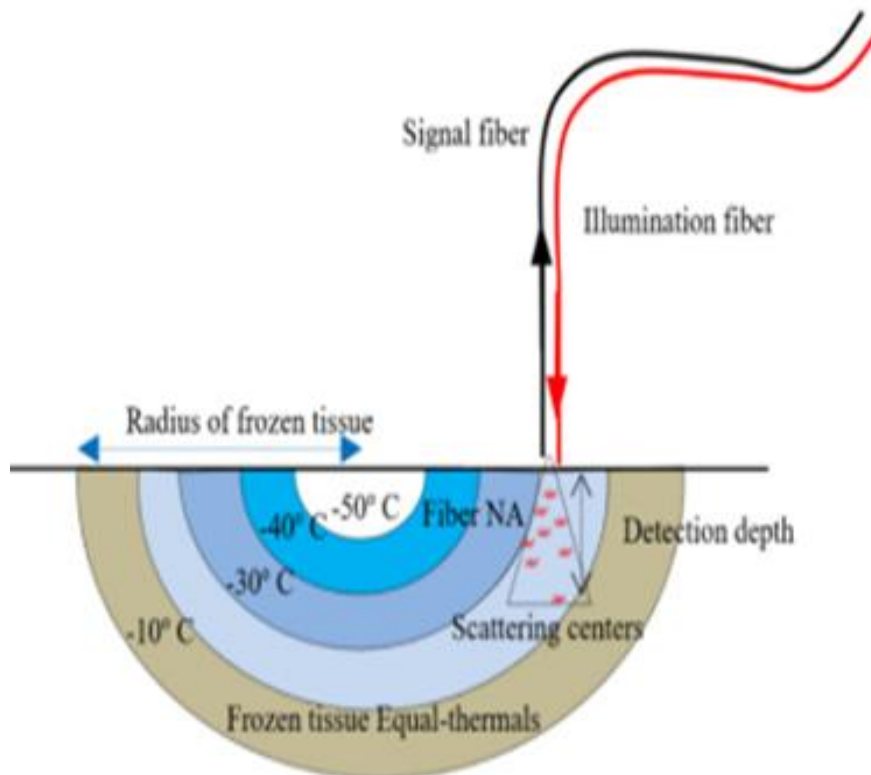


Σχήμα 5: Αισθητήρας οπτικών ινών με παράθυρο για την καταγραφή της οπισθοσκέδασης.



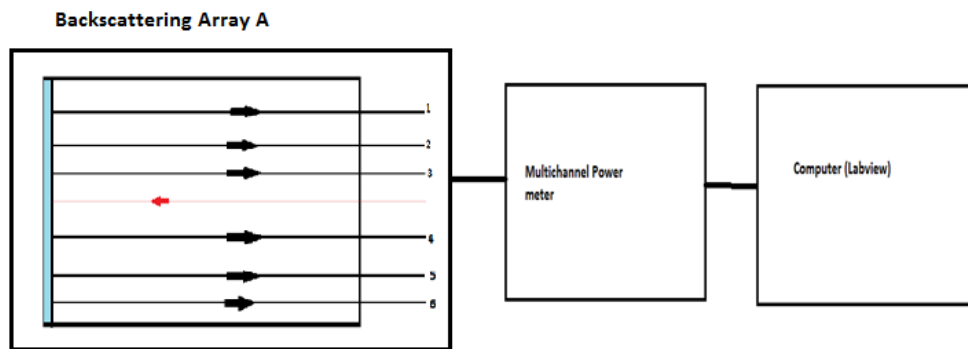
Σχήμα 6: Φωτογραφία αισθητήρα οπισθοσκέδασης.

Στο Σχήμα 7 μπορούμε να δούμε την πλάγια όψη, που μας δείχνει το κώνο φωτισμού και το βάθος ανίχνευσης στο «παγωμένο ημισφαίριο» του ιστού.



Σχήμα 7: Πλάγια όψη που δείχνει το κώνο φωτισμού και το βάθος ανίχνευσης στο <<παγωμένο ημισφαίριο>> του ιστού.

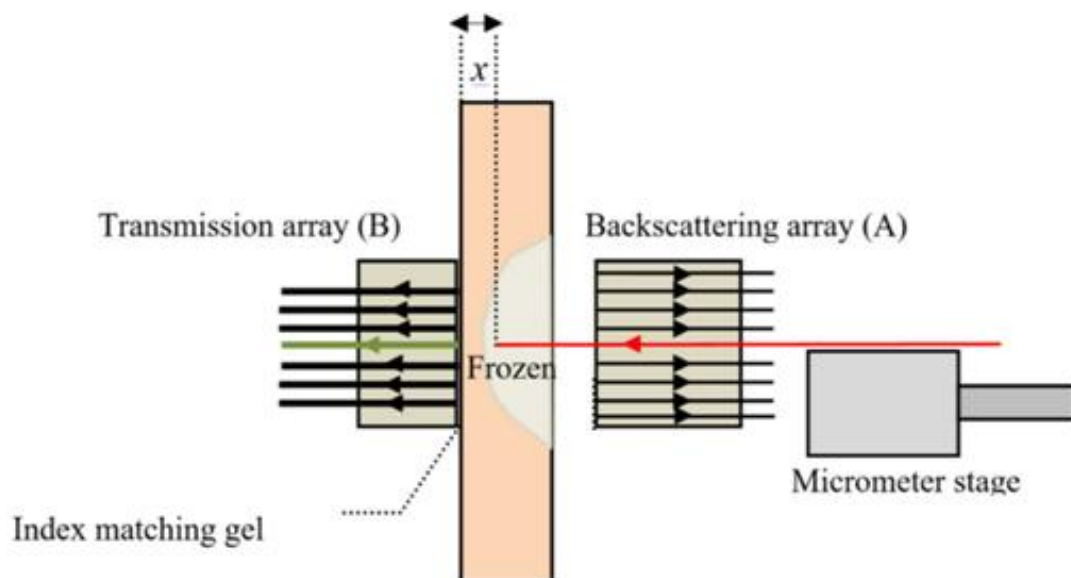
Η βασική μας οργανολογία, όπως φαίνεται στο Σχήμα 8, αποτελείται από τον αισθητήρα της οπισθοσκέδασης (Backscattering Array (A)), ο οποίος για τις μετρήσεις, συνδέεται με κατάλληλο πολυκάναλο μετρητή ισχύος (Multichannel Power-meter). Η καθεμία οπτική ίνα του αισθητήρα συνδέεται σε αντίστοιχη φωτοδίοδο του πολυκάναλου μετρητή. Τέλος η καταγραφή των πειραματικών δεδομένων γίνεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, σε περιβάλλον Labview.



Σχήμα 8: Βασική οργανολογία.

3.2. Βαθμονόμηση Βάθους Οπτική Διάδοση και Οπισθοσκέδαση

Σε αυτό το αρχικό πείραμα σκοπός μας είναι η βαθμονόμηση του βάθους. Δηλαδή εκμεταλλευόμεστε την παράλληλη μέτρηση των οπτικών φαινομένων της διάδοσης και της οπισθοσκέδασης για να μπορέσουμε να διακρίνουμε το βάθος στον ιστό (απόσταση x) μέχρι το οποίο μπορεί να δει ο αισθητήρας. (Σχήμα 9)



Σχήμα 9: Πειραματική διάταξη βαθμονόμησης βάθους.

Για την μέτρηση της διάδοσης του φωτός μέσα από το δέρμα, κατασκευάσαμε έναν δεύτερο αισθητήρα οπτικών ινών (Transmission Array (B)). Αποτελείται από επτά πολύτροπες οπτικές ίνες, με διαχωρισμό περίπου 2 mm. Έχουν διάμετρο πυρήνα 450 μm και διάμετρο περιβλήματος 500 μm. Το NA των οπτικών ινών που χρησιμοποιήσαμε είναι 0.43. Με αντίστοιχο τρόπο συνδέουμε και τον αισθητήρα διάδοσης στον πολυκάναλο μετρητή ισχύος και με αυτή τη διάταξη. Μπορούμε να μετρήσουμε την ενδοϊστική διάδοση του φωτός ταυτόχρονα με την οπισθοσκέδαση. Και αυτό το τελευταίο που μας βοηθά στην βαθμονόμηση του βάθους του παγώματος.

Οι μετρήσεις γίνονται, τοποθετώντας τον αισθητήρα διάδοσης (B) στην πίσω πλευρά ('εν τω βάθει') του χοιρινού δέρματος και τον αισθητήρα οπισθοσκέδασης στην μπροστινή πλευρά χοιρινού δέρματος (από την επιδερμίδα Σχήμα 9). Κατά την διάρκεια των μετρήσεων η οπτική ίνα φωτισμού βρισκόταν εντός του δέρματος σε κάθετη θέση, αρχικά στη θέση $x=0$ mm και ευθυγραμμισμένη με μία από τις ίνες του αισθητήρα διάδοσης. Καθώς εν ζωή δεν έχουμε πρόσβαση στην 'πίσω', ('εν τω βάθει') πλευρά του δέρματος, είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι το πτωματικό χοιρινό δέρμα παρουσιάζει μια παρόμοια «λεύκανση» όταν υπόκειται σε κύκλους ψύξης – απόψυξης, όπως και εν ζωή, χωρίς καμία εμφανή καταστροφή της δομής του, που το κάνει ιδανικό μοντέλο για το πειραματικό μας έργο.

Εάν πτωματικός ιστός δέρματος φωτιστεί με μονοχρωματική πηγή φωτός, το φως θα διαδοθεί, ανακλαστεί και σκεδαστεί από την επιφάνεια και το εσωτερικό του. Όταν ο ιστός ψυχθεί απότομα με την εφαρμογή υγρού αζώτου, οι αναλογίες του φωτός που διαδίδεται, ανακλάται και σκεδάζεται μπορούν να μετρηθούν για τον καθορισμό των χρονικών και χωρικών μεταβολών των αντίστοιχων χαρακτηριστικών του. Για ένα κύκλο ψύξης-απόψυξης εφαρμόσαμε κρυογόνο στην πλευρά A για όσο χρόνο (δευτερόλεπτα) είναι απαραίτητο, μέχρι να φτάσει η πλευρά B σε μια θερμοκρασία μεταξύ -65° C και -100° C, που διαβαθμίζεται ανάλογα με την απόσταση αλλά και τον χρόνο εφαρμογής του κρυογόνου. Ακόμη παρατηρήθηκε ότι η παγωμένη περιοχή έχει διάμετρο μεταξύ 25 mm και 30 mm. Ακολούθως, ο ιστός αποψύχεται και παράλληλα παίρνουμε μετρήσεις των οπτικών σημάτων από τις δυο συστοιχίες οπτικών ινών, μαζί με τις θερμοκρασίες από την πίσω και την μπροστά πλευρά του χοιρινού δέρματος.

Άλλος ένας παράγοντας είναι η ενέργεια που απορροφάται από τον ιστό, η οποία μπορεί να καθοριστεί από τη μάζα του υγρού αζώτου που καταναλώθηκε και την λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης.

Και οι δυο συστοιχίες βρίσκονται στο ίδιο οριζόντιο επίπεδο, με την κεντρική οπτική ίνα πηγή και την κεντρική οπτική ίνα ανίχνευσης 4 (Σχήμα 5) της συστοιχίας B να είναι ευθυγραμμισμένες, ώστε να μπορούμε να μετρήσουμε το διαδιδόμενο φως μέσω του πάχους των x mm του ιστού, όπως φαίνεται στο Σχήμα 9. Επιπροσθέτως, για να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες διάδοσης από την επιφάνεια, λόγω της πάχνης που δημιουργείται κατά τη διάρκεια των κύκλων παγώματος, η συστοιχία B τοποθετήθηκε σε επαφή με το δέρμα και με την χρήση ζελέ αντιστοίχισης του δείκτη διάθλασης (index matching gel, IMG) για να γεφυρωθούν οι μικρές επιφανειακές ανωμαλίες ανάμεσα στο δέρμα και την συστοιχία (Σχήμα 9).

Κατά την διάρκεια αυτού του πειράματος μετρήθηκαν οι τοπικές εντάσεις διάδοσης και οπισθοσκέδασης για ένα κύκλο ψύξης – απόψυξης, χρησιμοποιώντας μια λεπτή διατομή πτωματικού χοιρινού δέρματος 2-4 mm ως δείγμα, ενώ συσχετίστηκαν με το αντίστοιχο βάθος ψύξης χρησιμοποιώντας τη διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω. Η πειραματική διάταξη φαίνεται σχηματικώς στο Σχήμα 9, με χοιρινό δέρμα πάχους 3 mm τοποθετημένο σε ένα πλαίσιο, το οποίο επιτρέπει την πρόσβαση σε αυτό και από τις δύο πλευρές. Μια συστοιχία οπτικών ινών που αποτελείται από επτά ίνες ανίχνευσης (Transmission Array-A) και μία κεντρική ίνα που φωτίζει (πηγή), τοποθετήθηκε στην μπροστινή επιφάνεια του ιστού, για να μετρήσουμε την οπισθοσκέδαση του φωτός από τον όγκο του ιστού.

Η ίνα φωτισμού που εκπέμπει στα 650 nm, τοποθετήθηκε σε μικρομετρικό και μπορούσε να μετατοπιστεί ελευθέρως μέσα στον όγκο του ιστού κατά μήκος μίας μικρής οπής συγκρίσιμου μεγέθους. Όπως αναφέραμε παραπάνω ο πολυκάναλος ανιχνευτής κατέγραψε τα σήματα από τις οπτικές ίνες και των δύο συστοιχιών A και B, ενώ δυο θερμοζεύγη υποδείκνυαν την θερμοκρασία στην πίσω και στη μπροστά επιφάνεια του ιστού. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα χαμηλά NA των οπτικών ινών, περιορίζουν τον φωτισμό και τον «οπτικό» όγκο μέσα στον ιστό, με μόνο το φως από ένα μικρό κώνο αποδοχής (acceptance cone) να μπορεί να ανιχνευτεί, με αποτέλεσμα να ενισχύεται η ανάλυση των μετρήσεων της οπτικής διάχυσης στις δύο συστοιχίες.

Η διαδικασία βαθμονόμησης ανίχνευσε την οπτική διάχυση και το μέγιστο βάθος ανίχνευσης στον παγωμένο και στον μη παγωμένο ιστό, μετρώντας τις αλλαγές των εντάσεων στο διαδιδόμενο και το οπισθοσκεδαζόμενο φως, για διάφορα βάθη x στον ιστό (Σχήμα 9), με εύρος το οποίο να αντιστοιχεί στο πάχος του χοιρινού δέρματος, που σημαίνει ότι μετακινήσαμε την ίνα φωτισμού έως 3 mm από την αρχική της θέση. Για την μέτρηση της διάδοσης η ίνα φωτισμού στην συστοιχία A ευθυγραμμίστηκε προσεκτικά με την κεντρική ίνα ανίχνευσης 4 (Σχήμα 5) της συστοιχίας B. Όμοια για την μέτρηση της οπισθοσκέδασης η κεντρική και οι περιφερειακές ίνες της συστοιχίας A χρησιμοποιήθηκαν για την μέτρηση της οπτικής διάχυσης στον ιστό για διάφορα βάθη τοποθέτησης x , της ίνας φωτισμού (Σχήμα 9).

Η συλλογή δεδομένων ξεκίνησε δέκα δευτερόλεπτα πριν την εφαρμογή του κρυογόνου, ούτως ώστε να καταγραφούν οι τιμές εκκίνησης των οπτικών εντάσεων του διαδιδόμενου και του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός. Ακολούθως, το υγρό άζωτο εφαρμόστηκε στην πλευρά A για περίπου 20 s, μέχρι να μετρηθούν θερμοκρασίες στις πλευρές A και B περίπου στους $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ και $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ αντίστοιχα. Κατόπιν γινόταν επάλειψη της παγωμένης επιφάνειας με ισοπροπανόλη (IPA) για την απομάκρυνση της πάχνης που θα επηρέαζε τις μετρήσεις και στη συνέχεια η ίνα – πηγή αποσυρόταν με βήματα των 100 μm ανάμεσα σε

δύο διαδοχικές μετρήσεις και η διαδικασία επαναλαμβανόταν μέχρις ότου η ίνα φωτισμού να φτάσει την επιφάνεια του δέρματος.

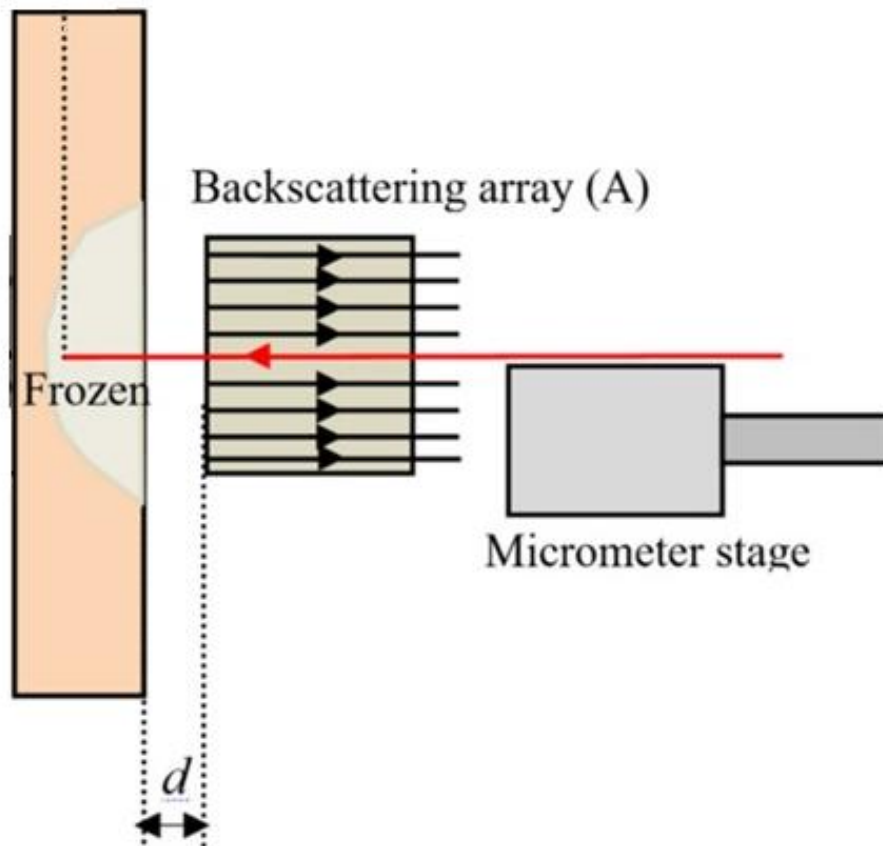
Χρησιμοποιώντας αυτή την διαδικασία βαθμονόμησης, τα οπτικά δεδομένα που παίρνουμε από τις δυο συστοιχίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την συσχέτιση των εντάσεων του διαδιδόμενου και το οπισθοσκεδαζόμενου φωτός και ως εκ τούτου με το βάθος του παγωμένου ιστού. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι σε πειράματα σε ζωντανό ιστό, οι μετρήσεις για τη διάδοση του φωτός δεν μπορούν να καταγραφούν και τα αποτελέσματα της βαθμονόμησης βοηθούν στη ανάπτυξη μιας διαδικασίας, βασισμένης μόνος στις εντάσεις του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός μόνο από την συστοιχία A για τον καθορισμό του βάθους του παγώματος, όπως θα περιγράψουμε στην επόμενη ενότητα.

3.3. Μετρήσεις του Βάθους Παγώματος του Ιστού Χοιρινού Δέρματος και βελτιστοποίηση του με fiber array sensor A

Το επόμενο μας βήμα είναι να προσδιοριστεί το βάθος του παγώματος στους ιστούς, χωρίς όμως αυτή την φορά να χρησιμοποιήσουμε την συστοιχία ινών B που μετρούσαμε την διάδοση. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, επειδή στον ζωντανό ιστό δεν έχουμε πρόσβαση σε 'πίσω' πλευρά. Άρα μόνο τα σήματα οπισθοσκέδασης μπορούν να αξιοποιηθούν για το προσδιορισμό του πάχους του στρώματος πάγου, δηλαδή του βάθους του παγώματος σε ζωντανό ιστό. Οπότε για τις συγκεκριμένες μετρήσεις η διάταξη του αισθητήρα περιορίζεται στην συστοιχία A μόνο.

Χρησιμοποιήθηκε ένας αισθητήρας συστοιχίας εννέα ινών, όπως αυτός που περιγράφηκε παραπάνω, με πολύτροπες ίνες MM, που έχουν NA στα 0.37, διατεταγμένες σε απόσταση ~2 mm μεταξύ τους και μια κεντρική 'ίνα πηγή', όπου χρησιμοποιούμε ως πηγές laser διόδων (LD) σε μήκη κύματος 650 nm, 532 nm και 405 nm και με οπτική ισχύ εξόδου 3-4 mW.

Ο άξονας της συστοιχίας τοποθετήθηκε οριζόντια με απόσταση διαχωρισμού d από την επιφάνεια του χοιρινού δέρματος (Σχήμα 10).

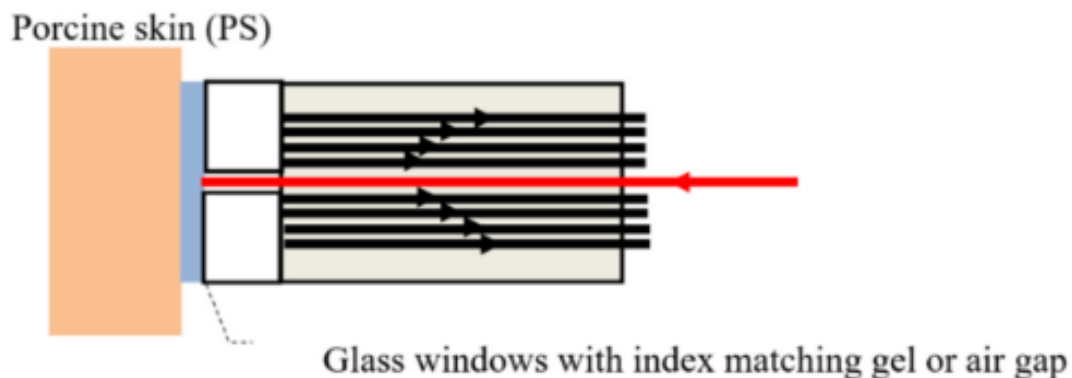


Σχήμα 10: Πειραματική διάταξη μέτρησης παγώματος.

Οι ίνες σήματος διαδίδουν το φως σε οκτώ φωτοδιόδους συνδεδεμένες με το σύστημα απόκτησης δεδομένων. Για την βελτιστοποίηση της περιοχής φωτισμού και ανίχνευσης, η απόσταση d διαχωρισμού αισθητήρα – δέρματος μεταβαλλόταν από 0 έως 3 mm χρησιμοποιώντας είτε παράθυρα διαφορετικού πάχους, κολλημένα στην συστοιχία ιών είτε αφήνοντας κενό να υπάρχει μόνο ο αέρας, όπως φαίνεται στα Σχήματα 10 και 11. Επιπλέον η επίδραση στις μετρήσεις από την δημιουργία επιφανειακής πάχνης, στην παγωμένη πλευρά του δέρματος αποφεύχθηκε χρησιμοποιώντας είτε ζελέ αντιστοίχισης του δείκτη διάθλασης (IMG) στο παράθυρο της συστοιχίας ιών A είτε ισοπροπανόλη (IPA) για την απομάκρυνση της πάχνης πριν την έναρξη συλλογής δεδομένων. Το βάθος του παγώματος καθορίστηκε από την μεταβολή στις οπτικές εντάσεις του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός, που μετρήθηκε κατά την διάρκεια της απόψυξης και συσχετίζοντας τις μετρήσεις με τα δεδομένα διάδοσης από τη διαδικασία βαθμονόμησης, όπως θα συζητηθεί στην επόμενη ενότητα. Για να προσομοιώσουμε τις συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας του σώματος, κάποια από τα δείγματα ιστών τοποθετήθηκαν σε ένα ορειχάλκινο υπόστρωμα σταθερά θερμαινόμενο στους 34°C, όπως φαίνεται στο Σχήμα 12.

Για την μελέτη της διαδικασίας ψύξης χρησιμοποιήθηκαν δείγματα πτωματικού χοιρινού δέρματος αποτελούμενα από την επιδερμίδα, το χόριο και από μια λεπτή στρώση υποδόριου λίπους, κατά προσέγγιση με συνολικό πάχος 3 mm, και κομμένο σε τμήματα 5cm x 4cm.

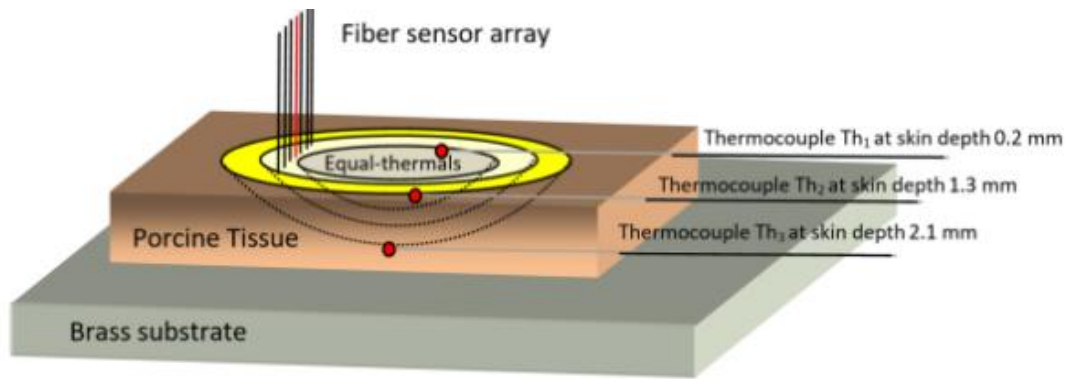
Παράλληλα παρακολουθούσαμε την θερμοκρασία, μέσω των ενδείξεων θερμομέτρων, τα οποία ήταν συνδεδεμένα με τρία τροποποιημένα θερμοζεύγη (thermocouples, με μέγεθος κεφαλών στα 0.3 mm). Τα θερμοζεύγη ενσωματώθηκαν σε διαφορετικά κάθετα βάθη από την επιφάνεια του δέρματος, όπως μετρήθηκε από την επιφάνεια από ένα κατά παραγγελία μικρόμετρο σύριγγας. Με το θερμοζεύγος Th_1 σε βάθος 0.2mm, το θερμοζεύγος Th_2 σε βάθος 1.3mm και το θερμοζεύγος Th_3 στα 2.1mm που είναι και αυτό εγγυτέρα στην ορειχάλκινη θερμαινόμενη πλάκα.



Σχήμα 11: Συστοιχία ινών με γυάλινο παράθυρο και ζελέ αντιστοίχησης του δείκτη διάθλασης (IMG) ή με κενό που πληρώνεται με αέρα μπροστά από τις ίνες σήματος και την εκτεταμένη πηγή ινών.

Ο πλευρικός διαχωρισμός ήταν 3 mm όπως φαίνεται στο Σχήμα 10. Ο άξονας της συστοιχίας ινών ήταν κάθετος και τοποθετήθηκε πλευρικά και σε απόσταση περίπου 2 mm από τα θερμοζεύγη, για να αποφύγουμε οποιαδήποτε οπτική παρεμβολή ή ανακλάσεις από τα ενσωματωμένα μεταλλικά καλώδια.

Η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει συστοιχία ινών που μπορεί να μετακινηθεί, για να επιτρέψει την πρόσβαση του κρυογόνου και να παγώσει στους -80°C περίπου μια περιοχή ιστού 2.5cm^2 έως 3cm^2 . Μετά την εφαρμογή ισοπροπανόλης (IPA) ο αισθητήρας επανατοποθετήθηκε στη επιφάνεια του δέρματος και έγινε λήψη των δεδομένων από τις ίνες σήματος και των ενσωματωμένων θερμοζεύγων. Η απόψυξη διήρκεσε περίπου 85-100 s, με την θερμοκρασία της επιφάνειας μετρούμενη από το Th_1 να αλλάζει από τους -80°C στους -10°C .



Σχήμα 12: Κάτοψη Σχηματικής Αναπαράστασης της Πειραματικής Διάταξης του Χοιρινού Ιστού πάνω σε Ορειχάλκινο Υπόστρωμα μαζί με τα Θερμοζεύγη.

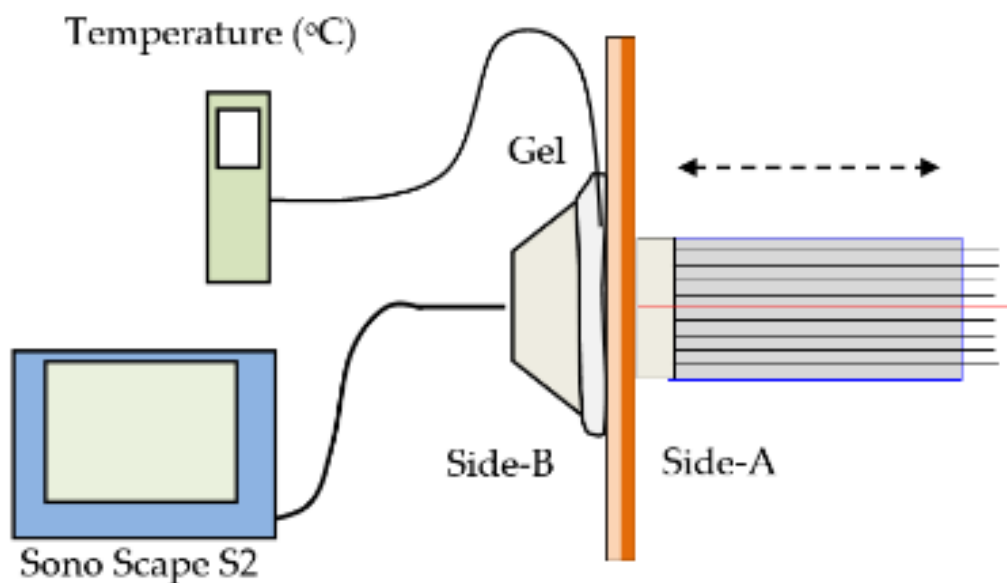
3.4. Μετρήσεις του βάθους με χρήση υπέρηχων.

Για να επαληθεύσουμε τις μετρήσεις που καταγράψαμε με την τεχνική της οπτικής οπισθοσκέδασης, απαιτείται μια ανεξάρτητη μέθοδος. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήσαμε μια μονάδα ιατρικού υπέρηχου σε αντιπαραβολή με τον αισθητήρα οπτικών ινών. Σε παρόμοια πειραματική διάταξη όπως η παραπάνω, που αποτελείται από δείγμα δέρματος με συνολικό πάχος ~ 3.1 mm ακινητοποιημένο σε πλαίσιο που δίνει πρόσβαση και στις δυο του πλευρές (επιφανειακή και εν τω βάθει). Ο αισθητήρας οπτικών ινών τοποθετείται σε επαφή με την πλευρά A (επιφανειακή) του δέρματος, ενώ ο αισθητήρας υπέρηχων (model SonoScape S2, ShenZhen Sonoscape Co. Ltd., Shenzhen, China) τοποθετείται στην αντίθετη ακριβώς πλευρά B, όπως φαίνεται στο Σχήμα 13. Το ζελέ υπέρηχων καλύπτει το μικρό κενό μεταξύ του δείγματος και του ακουστικού αισθητήρα μεταδίδοντας τους υπέρηχους από και προς το δέρμα. Ακόμη ένα θερμοζεύγος (Th_3) τοποθετείται στην ίδια πλευρά με τον αισθητήρα του υπέρηχου ώστε να προλάβουμε τυχόν πάγωμα του ζελέ, που θα είχε ως συνέπεια «τύφλωση» του υπέρηχου. Αντίστοιχα και στην «μπροστινή» επιφάνεια του δείγματος αποτρέψαμε την δημιουργία πάχνης με χρήση ισοπροπανόλης (IPA).

Όπως στα προηγούμενα πειράματα ο ιστός ψύχεται με ψεκασμό κρυογόνου στην πλευρά A. Κατά τη διάρκεια της ψύξης ο αισθητήρας οπτικών ινών απομακρύνεται και επανατοποθετείται στο παγωμένο ιστό, μετά την εφαρμογή ισοπροπανόλης IPA. Η θερμοκρασία παρακολούθηθηκε με θερμοζεύγος, που είναι σε επαφή με το δέρμα στην πλευρά B και μέσα στο ζελέ ανάμεσα στον ιστό και τον αισθητήρα των υπέρηχων όπως φαίνεται στο Σχήμα 13.

Όπως και πριν, τα δεδομένα από την συστοιχία των ινών αποθηκεύτηκαν σε υπολογιστή από το σύστημα συλλογής δεδομένων. Αντιθέτως η μονάδα υπέρηχων έχει περιορισμένη μνήμη, έτσι γινόταν καταγραφή της οθόνης της από ψηφιακή βιντεοκάμερα, ενώ παράλληλα καταγραφόταν και η ένδειξη του θερμομέτρου. Συγχρονίζοντας τα οπτικά σήματα με τα βίντεο της μονάδας υπέρηχων, ήταν δυνατόν να συσχετίσουμε τα αποτελέσματα των δυο συστημάτων και να μετρήσουμε το βάθος παγώματος. Ειδικά

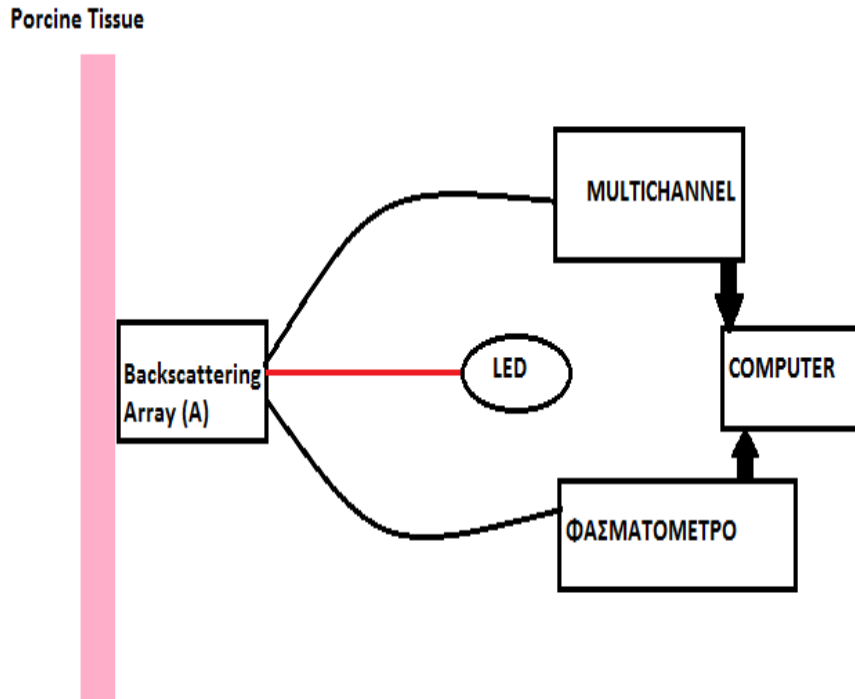
απομονώνοντας διαδοχικά καρτέ ανά 10s, μετρήσαμε τις παγωμένες δομές του ιστού με το πρόγραμμα ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>, v.1.52, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA).



Σχήμα 13: Διάταξη Επαλήθευσης με Υπέρηχους.

3.5.Μετρήσεις του Βάθους Παγώματος του Ιστού Χοιρινού Δέρματος Χρησιμοποιώντας την Φασματοσκοπία του Οπισθοσκεδαζόμενου Λευκού Φωτός από τον Αισθητήρα Συστοιχίας Α Οπτικών Ινών

Όταν ζωντανός ιστός υπόκειται σε ταχεία ψύξη, τα ενδοαγγειακά υγρά με την υψηλή περιεκτικότητα σε νερό σχηματίζουν μικροκρυστάλλους και μικροφουσαλίδες, προσδίδοντας την χαρακτηριστική λευκωπή χροιά, που, αποδίδεται κυρίως στη σκέδαση Mie από τις παγωμένες μικροδομές μέσα στον ιστό αλλά και σε παροδικές διαταραχές στην αιματική ροή τοπικά, λόγω της σύσπασης των επιφανειακών αγγείων και επιβράδυνσης της κυκλοφορίας. Η σημαντική αλλαγή στο χρώμα του δέρματος κατά την ψύξη μελετήθηκε στα πλαίσια κάποιων αρχικών πειραμάτων με την χρήση της φασματοσκοπίας.



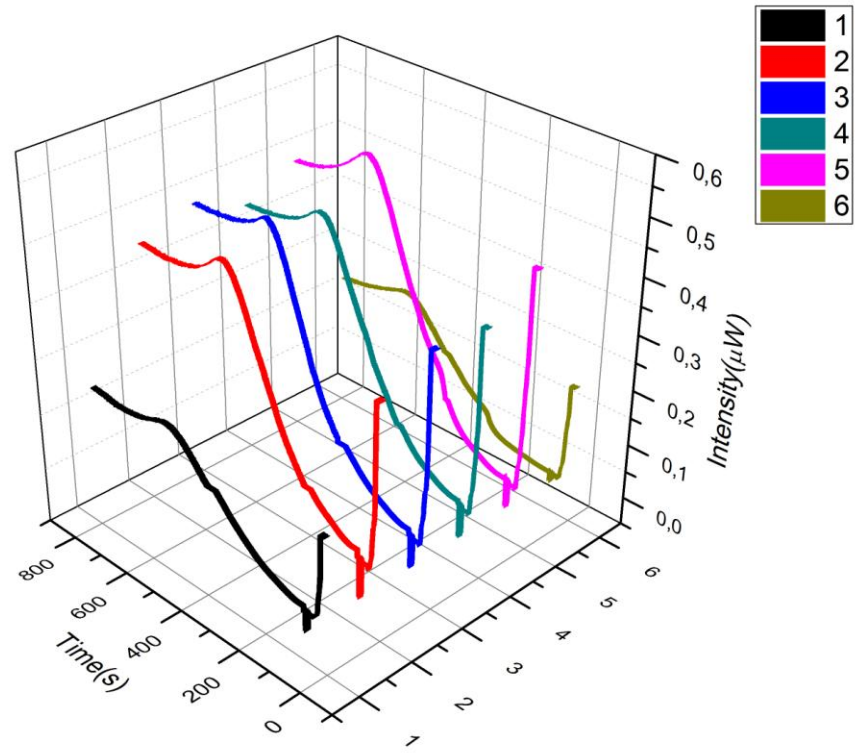
Σχήμα 14: Πειραματική διάταξη φασματοσκοπίας.

Ως φωτεινή πηγή χρησιμοποιήθηκε LED λευκού φωτός στα 2700 K με ισχύ εισόδου 6.9 mW. Από τον αισθητήρα συστοιχίας οπτικών ινών A πήραμε το σήμα της οπτικής ίνας 3 (Σχήμα 5), που είναι η μια από τις δυο πιο κοντινές οπτικές ίνες στην ίνα με την οποία φωτίζουμε το δέρμα, και την οποία συνδέσαμε με το φασματόμετρο (Avantes, Σχήμα 14). Η διακριτική ικανότητα του φασματόμετρου είναι 1 nm. Πήραμε 40 φάσματα ανά 10 s κατά την διάρκεια ψύξης απόψυξης και διάρκεια λήψης φάσματος 250 ms. Παράλληλα οι υπόλοιπες ίνες της συστοιχίας συνεχίζουν την μέτρηση της ισχύος του φωτός, όπως στα προηγούμενα πειράματα, το οποίο γίνεται ως επιβεβαίωση, ότι έχουμε τις ίδιες συνθήκες με τα παραπάνω.

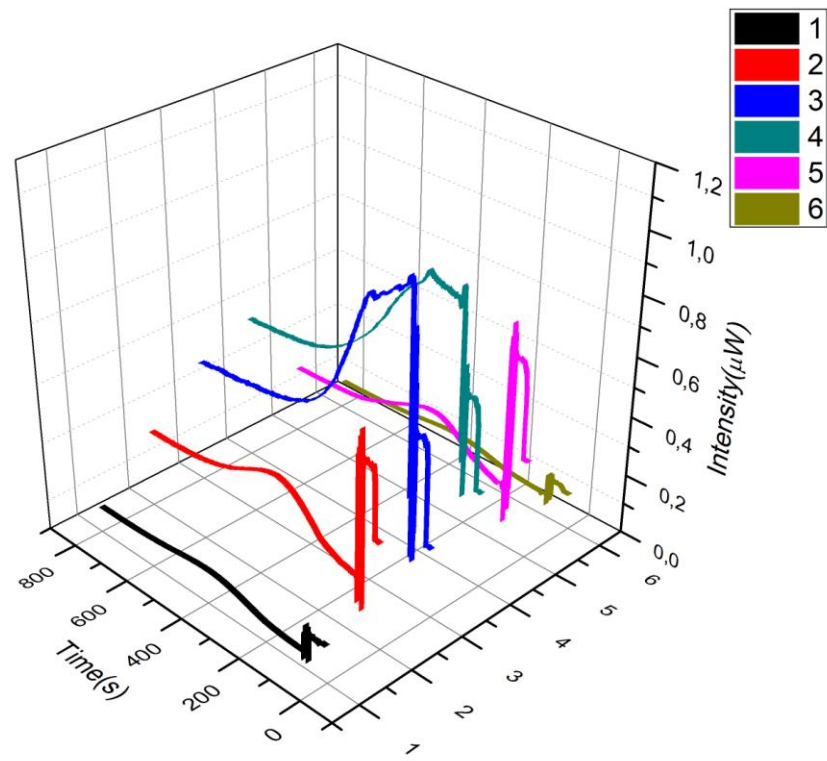
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Αποτελέσματα Βαθμονόμησης Βάθους και Θερμοκρασίας των Δειγμάτων

Τυπικά τρισδιάστατα διαγράμματα έντασης για τους αισθητήρες διάδοσης και οπισθοσκέδασης ως προς τον χρόνο, για βάθος της οπτικής ίνας πηγής $x = 2.0\text{mm}$ και μήκους κύματος 650 nm παρουσιάζονται στα Σχήματα 15a και 15b, αντίστοιχα.



Σχήμα 15a: Τρισδιάστατο διάγραμμα έντασης του αισθητήρα διάδοσης (B).



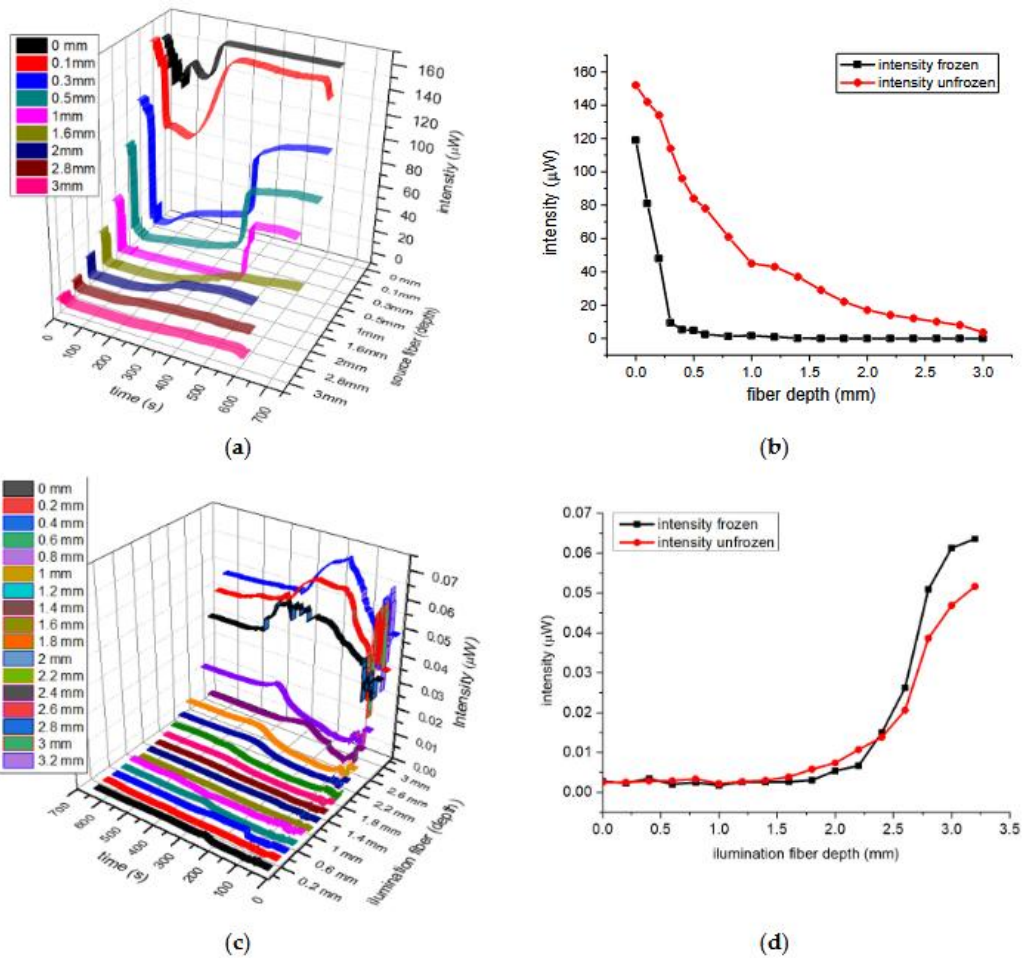
Σχήμα 15b: Τρισδιάστατο διάγραμμα έντασης του αισθητήρα οπισθοσκέδασης (A).

Για την διάδοση (Σχήμα 15a) έχουμε για όλες τις οπτικές ίνες την ένταση να ξεκινά στο ψηλότερο της σημείο και να πέφτει κατά την διάρκεια της ψύξης. Ακολουθεί η σταδιακή επαναφορά της κατά την απόψυξη.

Για την οπισθοσκέδαση (Σχήμα 15b) έχουμε για τις κεντρικές οπτικές ίνες 3 και 4 (Σχήμα 5) την ένταση να ξεκινά στο χαμηλότερο της σημείο και να ανεβαίνει κατά την διάρκεια της ψύξης, με σταδιακή της επαναφορά κατά την απόψυξη. Στις υπόλοιπες οπτικές ίνες έχουμε τις εντάσεις να είναι στα χαμηλότερα επίπεδα στον παγωμένο ιστό, όταν δηλαδή οι κεντρικές είναι στα υψηλότερα, και να αυξάνουν κατά την διάρκεια της απόψυξης, μέχρι να επανέλθουν στη αρχική τους ένταση. Η ένταση της οπισθοσκέδασης, που καταγράφεται από τις έκκεντρες ίνες εξαρτάται από τον βαθμό διάχυσης μέσα στον ιστό και η παρατηρούμενη διακύμανση των μετρήσεων των περιφερικών ινών αντανακλά την δραστική μείωση της διάχυσης όταν το δέρμα παγώνει και την σταδιακή επαναφορά της καθώς το δέρμα αποψύχεται.

Τυπικά αποτελέσματα για διαδοχικούς κύκλους ψύξης – απόψυξης για ένα δείγμα ιστού πάχους 3.0 mm φαίνονται στα Σχήματα 16 a,c , με την ένταση των διαδιδόμενων σημάτων από την οπτική ίνα 4 (Σχήμα 5) στην συστοιχία B και την οπτική ίνα 4 στην συστοιχία A, να είναι σχεδιασμένα ως συνάρτηση του χρόνου για διάφορα βάθη του ιστού.

Πιο αναλυτικά, στο σχήμα 16a βλέπουμε την ένταση της διάδοσης στον κάθετο άξονα και στους οριζόντιους άξονες τις αποστάσεις, για τις οποίες μετρήθηκε η ένταση της διάδοσης, μαζί με τον αντίστοιχο χρόνο. Το σχήμα 16c παριστάνει την ένταση της οπισθοσκέδασης στον κάθετο άξονα και στους οριζόντιους άξονες έχουμε τις αποστάσεις x του βάθους της οπτικής ίνας 'πηγής' μέσα στο δέρμα, για τις οποίες μετρήθηκε η ένταση της οπισθοσκέδασης, μαζί με τον χρόνο.



Σχήμα 16: (a)Τυπική διάδοση και (b) οπισθοσκέδαση από 0.0 mm έως 3.0 mm ενσωματωμένης οπτικής ίνας στον ιστό του δέρματος(c) συλλογική διάδοση και (d) συλλογική οπισθοσκέδαση σε παγωμένο και μη παγωμένο ιστό.

Γενικά τα ίχνη του Σχήματος 16α παρουσιάζουν μια αρχική γρήγορη μείωση της έντασης, λόγω του σχηματισμού πάγου στον ιστό, που μειώνει το διαδιδόμενο φως, ακολουθούμενη από μια σταθερή χαμηλή ένταση διάδοσης, η οποία εξαρτάται από την απόσταση διαχωρισμού των δυο ινών x . Η απόψυξη διαρκεί αρκετά λεπτά, με τον ιστό να επιστρέφει σταδιακά από το αχνό άσπρο στο αρχικό του χρώμα και την ένταση διάδοσης να επιστρέφει σταδιακά στην αρχική της τιμή.

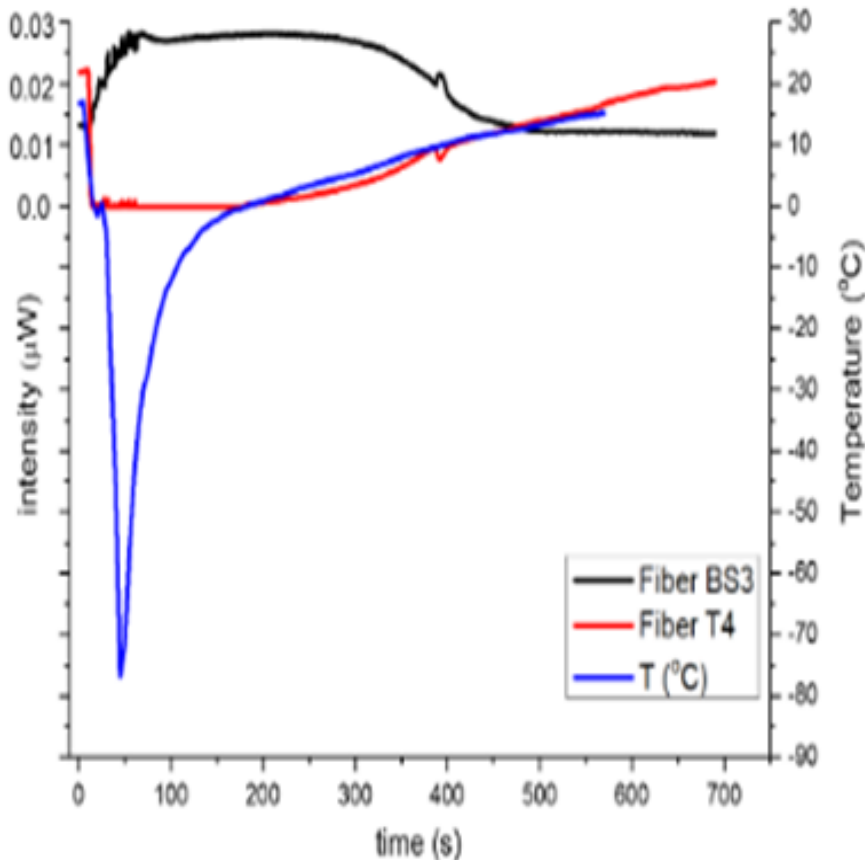
Στο Σχήμα 16b μπορούμε να δούμε στον κάθετο άξονα τις εντάσεις διάδοσης, ενώ στον οριζόντιο το πάχος του δέρματος x (Σχήμα 9). Το κόκκινο ίχνος να αντιστοιχεί στο μη παγωμένο δέρμα, ενώ το μαύρο ίχνος το παγωμένο δέρμα. Παρατηρούμε ότι το φως διαχέεται περισσότερο μέσα στον μη παγωμένο ιστό (κόκκινο ίχνος), σε αντίθεση με τον παγωμένο ιστό, όπου η ένταση της οπτικής διάχυσης μειώνεται σημαντικά και σχεδόν

μηδενίζεται όταν η οπτική ίνα εντοπίζεται σε βάθος μεγαλύτερο από 1.4 mm - 1.5 mm (μαύρο ίχνος).

Όμοια το Σχήμα 16d μπορούμε να δούμε στον κάθετο άξονα τις εντάσεις οπισθοσκεδάσης, ενώ στον οριζόντιο το πάχος του δέρματος x (Σχήμα 9), με το κόκκινο ίχνος να αναπαριστά το μη παγωμένο και το μαύρο το παγωμένο δέρμα. Εδώ η μεταβολή των εντάσεων ήταν αντίστροφη από αυτή στα σήματα διάδοσης, κάτι που είναι αναμενόμενο, καθώς το φως δεν μπορεί να διαδοθεί μέσω του παγωμένου ιστού και επομένως οπισθοσκεδάζεται.

Όταν η οπτική ίνα φωτισμού έχει αποσυρθεί και βρίσκεται σε επαφή με την επιφάνεια (απόσταση $x=3.0$ mm), το αντίστοιχο χρονοδιάγραμμα για τις εντάσεις του διαδιδόμενου, του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός και τη μεταβολή της θερμοκρασίας για ένα κύκλο ψύξης – απόψυξης, φαίνονται στο Σχήμα 17. Ο αριστερός κάθετος άξονας αντιστοιχεί στην ένταση του διαδιδόμενου και οπισθοσκεδαζόμενου φωτός, ο κάθετος δεξιά στις θερμοκρασίες και ο οριζόντιος αναπαριστά τον χρόνο.

Όταν εφαρμόζουμε το κρυογόνο, η θερμοκρασία πέφτει απότομα στους -80°C περίπου, ακολουθούμενη από απότομη αύξηση ως τους 0°C και από εκεί και πέρα αυξάνεται αργά (περίπου 0.05deg/s) το οποίο οφείλεται στην λανθάνουσα θερμότητα ψύξης του παγωμένου ιστού (μπλε ίχνος στο Σχήμα 17). Η μεταβολές των εντάσεων οπισθοσκεδάσης (μαύρο) μπορούν να χωριστούν σε τρεις περιοχές σε σχέση με την θερμοκρασία του ιστού, αγνοώντας τα πρώτα 100s όπου συμβαίνει η εξισορρόπηση της θερμοκρασίας. Η ένταση οπισθοσκεδάσης είναι υψηλή και σχεδόν σταθερή όταν ο ιστός είναι παγωμένος μεταξύ του εύρους θερμοκρασιών -70°C με -3°C (100 με 300s), χαμηλή και σταθερή για το μη παγωμένο στο εύρος θερμοκρασιών 5°C με 20°C (400 με 700s) και τελικά στην περιοχή των -2°C με 3°C τα οπτικά σήματα εμφανίζουν μια προοδευτική πτώση (300 με 450s).



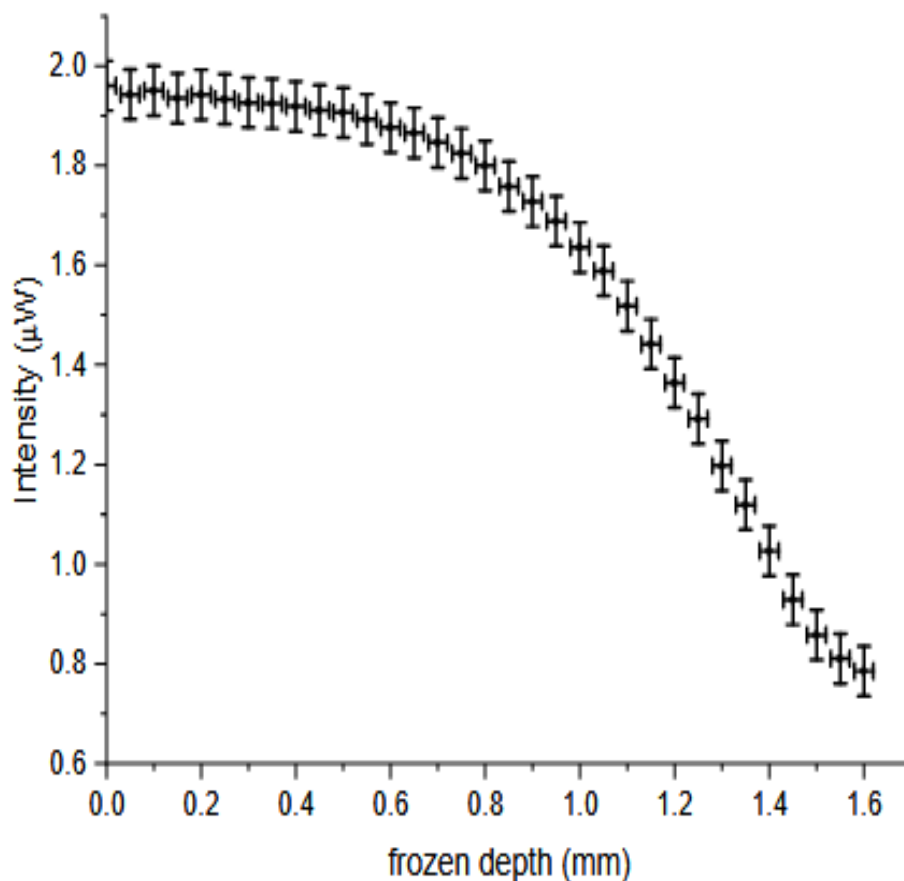
Σχήμα 17: Χρονοδιάγραμμα τυπικών εντάσεων οπισθοσκέδασης (μαύρο), διάδοσης (κόκκινο) και θερμοκρασίας(μπλε) κατά τη διάρκεια κύκλου ψύξης - απόψυξης για την ίνα φωτισμού κοντά στην επιφάνεια του ιστού $x=3.0\text{mm}$.

Αντιστρόφως το χρονοδιάγραμμα του σήματος διάδοσης (κόκκινο ίχνος) είναι, όπως αναμενόταν, αντίθετο του σήματος οπισθοσκέδασης. Αυτό οφείλεται στο συρρικνωμένο παγωμένο ημισφαίριο της «παγωμένης σφαίρας» κάτω από τον αισθητήρα οπτικών ινών, το οποίο οδηγεί σε μία αντίστοιχη σταδιακή μείωση στη σκέδαση. Με άλλα λόγια η μείωση του όγκου του πάγου κάτω από τον κώνο ανίχνευσης (NA) της συστοιχίας λόγω της συρρίκνωσης του παγωμένου ημισφαίριου μιμείται την προοδευτική μείωση του πάχους στον παγωμένο ιστό. Κατά την απόψυξη και τα δυο σήματα παραμένουν σταθερά, όσο η μέγιστη ανιχνεύσιμη οπτική διάδοση είναι περίπου στα 1.5 mm (βασιζόμενοι στη διαδικασία βαθμονόμησης διάδοσης) και όσο το φως εκπέμπεται από χαμηλότερα βάρη δεν μπορεί να ανιχνευτεί. Ως εκ τούτου ανεξαρτήτως του βάθους του παγώματος το σήμα της οπισθοσκέδασης δεν μπορεί να ανιχνευτεί από την συστοιχία A, όταν προέρχεται από το μέγιστο βάθος των 1.5 mm ή λιγότερο, ενώ για τον ίδιο λόγο το σήμα διάδοσης παραμένει χαμηλό μέχρι ο παγωμένος ιστός να υποχωρήσει στο 1.5 mm ή λιγότερο.

Έτσι το βάθος παγώματος μπορεί να προσδιοριστεί ως συνάρτηση της έντασης της οπισθοσκέδασης και χρησιμοποιήθηκε για να μετρήσουμε πρωτίστως την διαδικασία

απόψυξης για ένα πάχος ιστού μεταξύ 1.5 mm (μέγιστο) και 0 mm (επιφάνεια ιστού), με ακρίβεια περίπου ± 0.1 mm (Σχήμα 18).

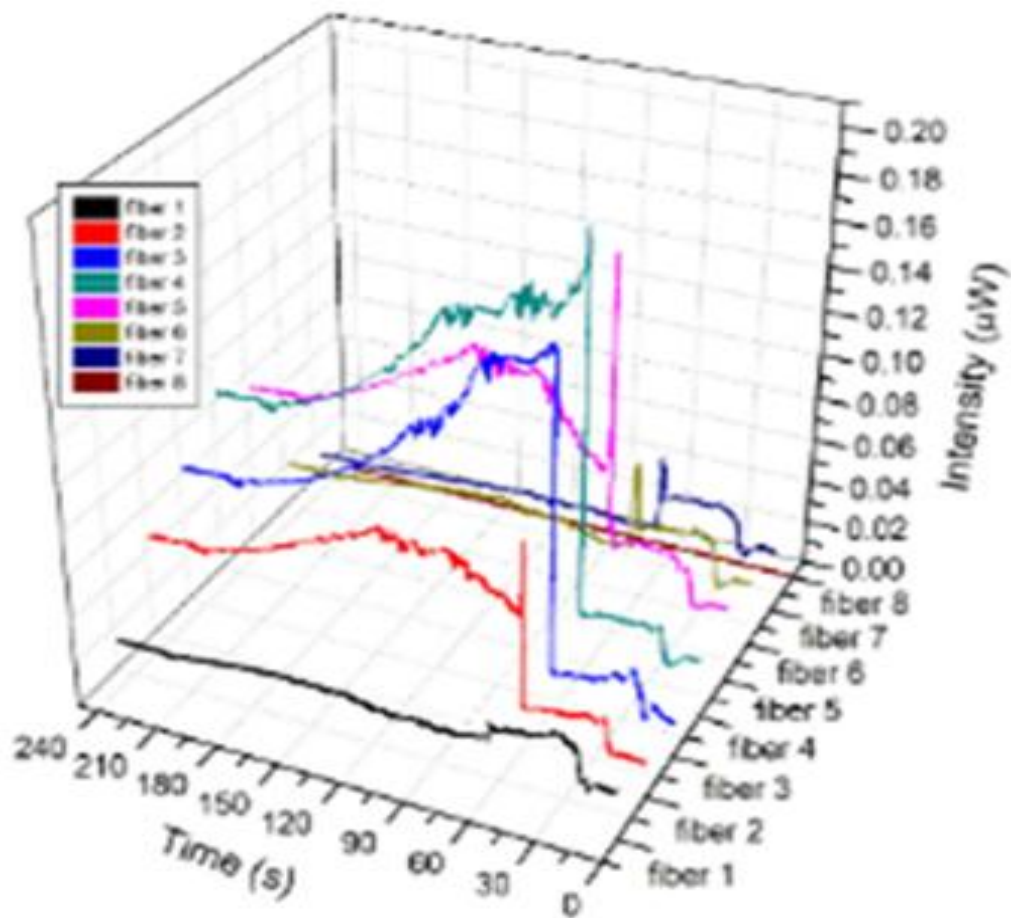
Σύμπερασματικά, το ανιχνεύσιμο βάθος παγώματος εξαρτάται από την οπτική διάχυση στον παγωμένο και μη παγωμένο ιστό και στην ευαισθησία του συστήματος καταγραφής δεδομένων.



Σχήμα 18: Καμπύλη Βαθμονόμησης Βάθους Παγώματος.

4.2.Αποτελέσματα Μέτρησης του Πάχους Παγωμένου Δέρματος με Βάση τις Μεταβολές στην ένταση Οπισθοσκέδασης

Το Σχήμα 19 παριστά ένα τυπικό τρισδιάστατο διάγραμμα της έντασης του αισθητήρα οπισθοσκέδασης A ως προς τον χρόνο για απόσταση $d = 1$ mm του αισθητήρα οπισθοσκέδασης A από το δέρμα και πηγή μήκους κύματος 650 nm.



Σχήμα 19: Τυπικό τρισδιάστατο διάγραμμα έντασης του αισθητήρα οπισθοσκέδασης A.

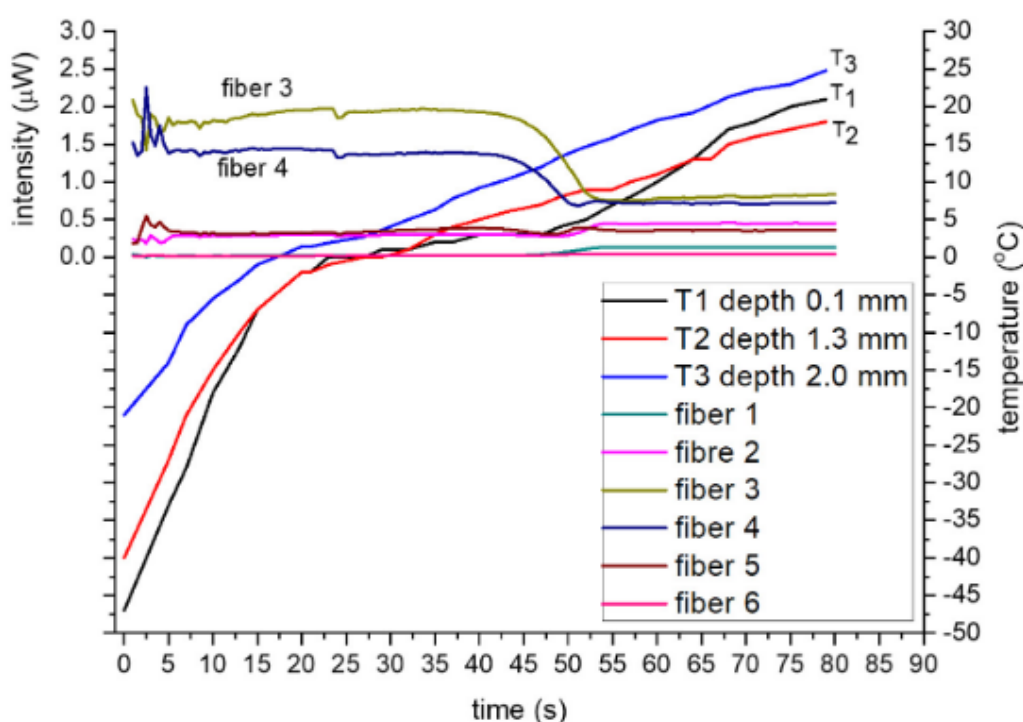
Η ένταση της οπισθοσκέδασης για τις κεντρικές οπτικές ίνες 3 και 4 ξεκινά στο χαμηλότερο της σημείο, στα 60 s όπου ο αισθητήρας είναι στην κατάλληλη θέση μέτρησης. Η ένταση αυξάνεται κατά την διάρκεια της ψύξης και ακολουθεί σταδιακή επαναφορά της κατά την απόψυξη. Στις υπόλοιπες οπτικές ίνες η ένταση είναι στα χαμηλότερα επίπεδα, όταν οι κεντρικές είναι στα υψηλότερα και αυξάνει κατά την διάρκεια της απόψυξης, μέχρι να επανέλθει στη αρχική της τιμή. Η παρατηρούμενη διακύμανση αντιστοιχεί στην ελάττωση της διάχυσης όταν το δέρμα είναι παγωμένο και την αύξηση της ξανά κατά την απόψυξη, όπως είδαμε στο προηγούμενο πείραμα. Μόνο που εδώ έχουμε πιο καθαρή εικόνα, λόγω των περισσότερων ινών στον αισθητήρα οπισθοσκέδασης A, αλλά και της καλύτερης μεθόδου μέτρησης.

Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για πάνω από δέκα φορές για διάφορες θέσεις του δέρματος και διαφορετικά τμήματα του παίρνοντας σχεδόν πανομοιότυπα αποτελέσματα. Όπως και στα προηγούμενα πειράματα τα σήματα από τις εσωτερικές οπτικές ίνες μέτρησαν υψηλότερες εντάσεις, οι οποίες και έπεφταν με τον χρόνο καθώς το δείγμα αποψύχονταν [10,11]. Ωστόσο στα χρονοδιαγράμματα από τις καταγραφές των εξωτερικών οπτικών ινών οι εντάσεις μειώνονται όσο ο ιστός ψύχεται, ενώ αυξάνονται όσο αποψύχεται, εύρημα που εξηγείται από την αντίστοιχη αυξομείωση της οπισθοσκέδασης,

καθώς αύξησή της μειώνει την οπτική διάχυση με συνέπεια λιγότερο φως να φτάνει στις εξωτερικές οπτικές ίνες και το ανάποδο.

Βασιζόμενοι σε αυτά τα αποτελέσματα και στην διαδικασία βαθμονόμησης που περιγράφηκε παραπάνω (Σχήμα 16b), το βάθος της ψύξης μπορεί να μετρηθεί από το σήμα οπισθοσκέδασης, για μέγιστο βάθος 1.5 mm και ως την επιφάνεια του δέρματος.

Το Σχήμα 20 δείχνει τα χρονοδιαγράμματα των εντάσεων του αισθητήρα της οπισθοσκέδασης στον αριστερό άξονα, μαζί με την μεταβολή της θερμοκρασίας στον δεξιό άξονα και εύρους από τους -50°C έως τους $+10^{\circ}\text{C}$, με τον χρόνο να αναπαρίσταται στον οριζόντιο άξονα.



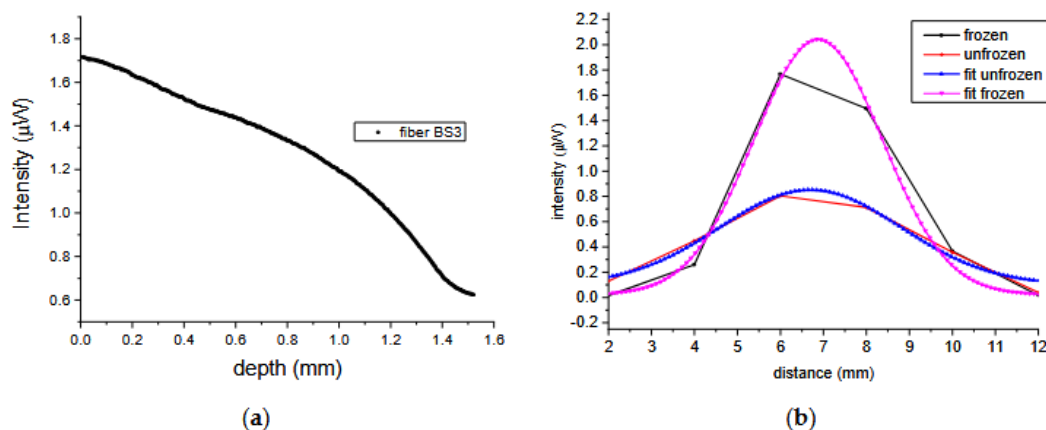
Σχήμα 20: 2D Χρονοδιαγράμματα Εντάσεων και Θερμοκρασίας που δείχνει Χρονική, Θερμοκρασιακή και ένταση Οπισθοσκέδασης για τα 3 βάθη (0.2mm,1.3mm,2.1mm).

Για την θερμοκρασία παρατηρούμε ότι οι ενδείξεις του θερμοζεύγους T_{H1} μειώνεται έως την χαμηλότερη θερμοκρασία, το οποίο είναι αναμενόμενο, εφόσον είναι πρακτικά στην επιφάνεια του δέρματος και άρα εγγύτερα στο σημείο εφαρμογής του κρυογόνου. Η θερμοκρασιακή αλλαγή κοντά στους 0°C ήταν μικρή και σχεδόν σταθερή για όλα τα θερμοζεύγη, το οποίο οφείλεται στην λανθάνουσα θερμότητα τήξης του πάγου, δηλαδή έμειναν σταθερές μέχρι να λιώσει ο πάγος.

Σύμφωνα με το Σχήμα 20 η ένταση της οπισθοσκέδασης στα χρονοδιαγράμματα για τις δυο πιο εσωτερικές οπτικές ίνες 3 και 4 (Σχήμα 5) είναι υψηλότερη και σχεδόν σταθερή, όταν ο ιστός είναι παγωμένος, σε εύρος θερμοκρασιών -50°C έως 0°C , όπως μετρήθηκε

κοντά στην επιφάνεια από το θερμοζεύγος Th_1 (0-25 s) και χαμηλότερη και σταθερή για το μη παγωμένο σε εύρος θερμοκρασιών από 5°C έως 20°C (55–80 s). Αντίστοιχα για την περιοχή κοντά στους 0°C (0°C έως 3°C, 40–55 s), τα οπτικά σήματα παρουσιάζουν ξεκάθαρη και προοδευτική μείωση με τον χρόνο, δηλαδή από την υψηλή ένταση που σχετίζεται με τον παγωμένο ιστό, στην χαμηλή ένταση που σχετίζεται με τον μη παγωμένο ιστό.

Βασιζόμενοι στα παραπάνω αποτελέσματα, στην βαθμονόμηση της διάδοσης (Σχήμα 16b) και τα χρονοδιαγράμματα οπισθοσκέδασης (Σχήμα 16d), το βάθος του παγώματος για τον αισθητήρα μπορεί να προσδιοριστεί στα 1.5 ± 0.2 mm, όπως φαίνεται στο Σχήμα 21a. Αυτό το αποτέλεσμα εξάγεται από την σχέση της καμπύλη βαθμονόμησης (Σχήμα 18) η οποία όρισε το μέγιστο βάθος στα 1.5mm και από την αντίστοιχη περιοχή στα 40–45 s του Σχήματος 20 και επίσης επαληθεύεται από ένα ανεξάρτητο πείραμα που αναλύεται παρακάτω. Δεδομένου ότι το ανθρώπινο δέρμα έχει πάχος 1.5mm, η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί, για τον προσδιορισμό του πάχους της παγωμένης ζώνης του ιστού κατά την απόψυξη, χρησιμοποιώντας παρόμοια διάταξη και μεθοδολογία, με αυτή που περιγράφηκε παραπάνω.

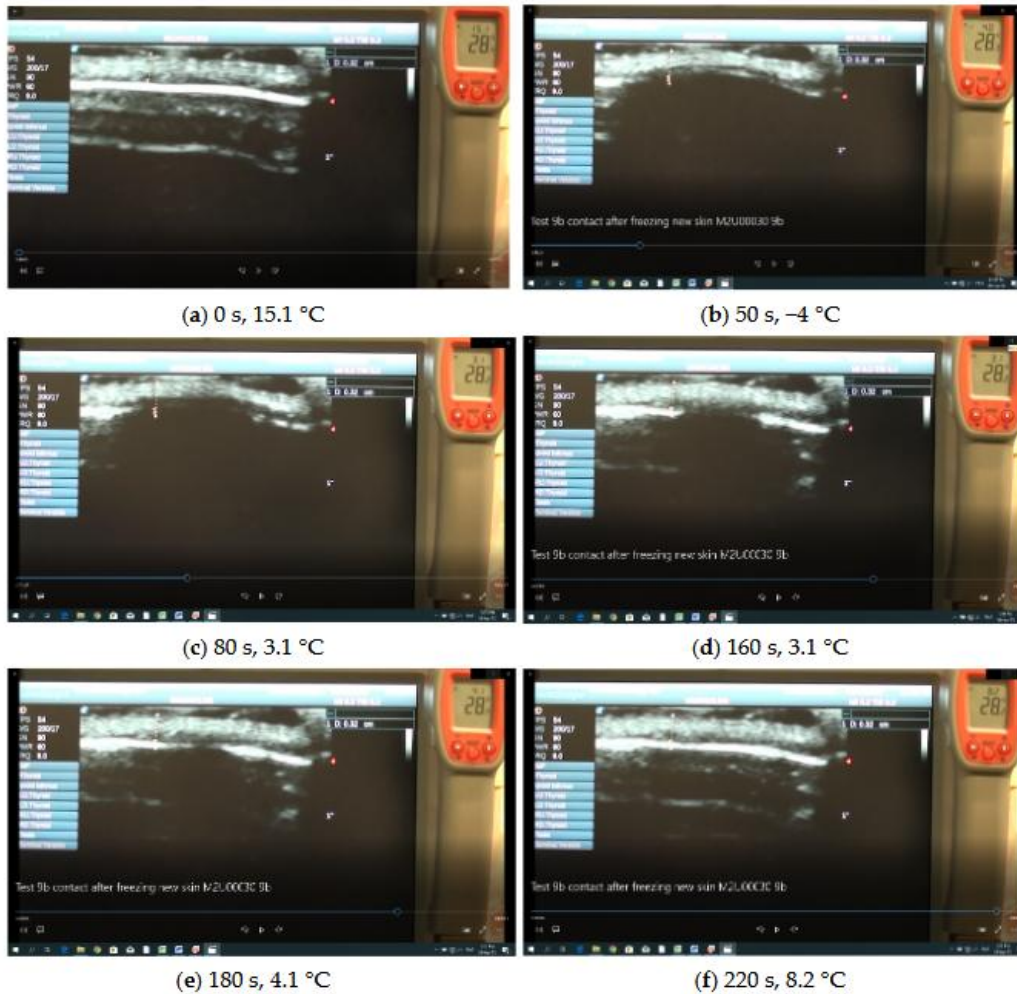


Σχήμα 21: (a) Μεταβολή Έντασης Οπισθοσκέδασης ανάλογα με το Βάθος Παγώματος για τον Αισθητήρα (b) Οπτική Διάχυση σε mm.

Επιπροσθέτως η οπτική διάχυση στο ιστό μπορεί να προσδιοριστεί από την γεωμετρία και τα χρονοδιαγράμματα της έντασης από τις εξωτερικές οπτικές ίνες κατά τον κύκλο ψύξης – απόψυξης. Καθώς το φως οπισθοκεδάζεται περισσότερο στον παγωμένο ιστό, διαχέεται λιγότερο, έτσι οι εξωτερικές οπτικές ίνες μετρούν χαμηλότερη ένταση, όταν ο ιστός είναι παγωμένος. Στο Σχήμα 21b, και αφού γνωρίζουμε τον διαχωρισμό ανάμεσα στις οπτικές ίνες, οι σχετικές εντάσεις σχετίζονται απευθείας με την οπτική διάχυση μέσω του FWHM μετρημένο από την συστοιχία οπτικών ινών, όπου για παγωμένο είναι 3.5mm, ενώ για μη παγωμένο επεκτείνεται σχεδόν στα 5mm.

4.3. Επαλήθευση της Οπτικής Μεθόδου με Χρήση Μετρήσεων με Υπέρηχους

Η ανάλυση του συστήματος των υπέρηχων ήταν περίπου 0.1 mm έως 0.2 mm, με τα τυπικά αποτελέσματα να φαίνονται στο Σχήμα 22a-f.



Σχήμα 22 (a-f): Διακριτά διαδοχικά καρέ του βίντεο που τραβήχτηκαν κατά την απόψυξη.

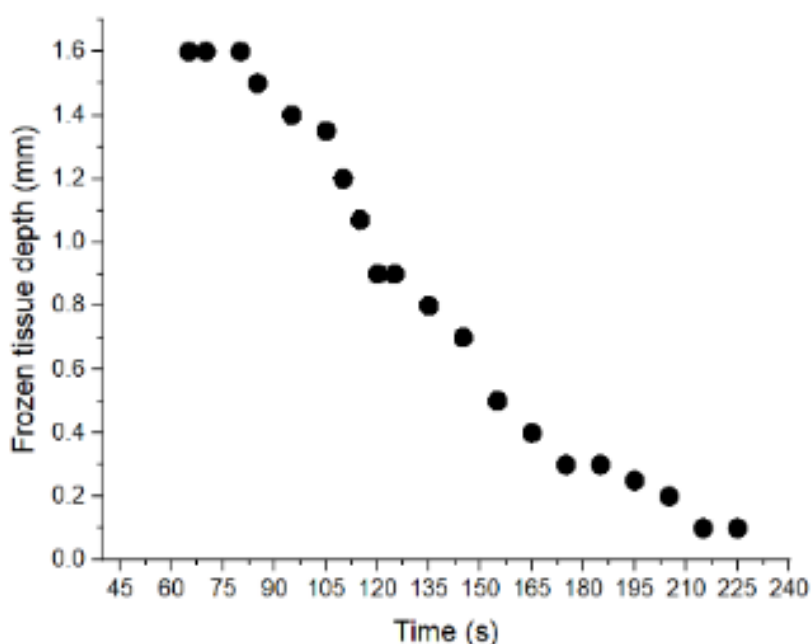
Ειδικά το Σχήμα 22a-f δείχνει διακριτά διαδοχικά καρέ του βίντεο που τραβήχτηκαν πριν την ψύξη (Σχήμα 22a) και κατά την διάρκεια της απόψυξης (Σχήμα 22b-f).

Το λευκό πυκνό στρώμα είναι η επιδερμίδα, ενώ η από πάνω και λιγότερο πυκνή περιοχή αντιστοιχεί στο χόριο του χοιρινού δέρματος, ενώ οι λευκές αμυδρές δομές 'κάτω' από το δείγμα οφείλονται σε ανακλάσεις από το υπέρηχο. Η θερμοκρασία πίσω από το δείγμα μετρήθηκε με ψηφιακό διπλό θερμόμετρο, που μετρά μέσω υπέρυθρης ακτινοβολίας (IR) (μεγάλα ψηφία) και θερμοζεύγος τύπου K (μικρά ψηφία).

Πιο συγκεκριμένα το Σχήμα 22a είναι στιγμιότυπο πριν το πάγωμα και οι δύο κόκκινοι δείκτες καθορίζουν τον μη παγωμένο ιστό, ο οποίος έχει πάχος περίπου 3.2 mm (επίσης υποδεικνύεται από το κάθετο ίχνος). Ακολούθως βλέπουμε στα στιγμιότυπα 22b,c να εξαφανίζεται σταδιακά το λευκό στρώμα, που μας υποδεικνύει ότι παγώνει το δέρμα. Και στα Σχήματα 22d,e βλέπουμε την σταδιακή επανεμφάνιση του λευκού στρώματος, που μας υποδεικνύει ότι το δέρμα ξεπαγώνει. Τέλος στο Σχήμα 22f έχουμε την πλήρη απόψυξη και την επαναφορά στην αρχική κατάσταση.

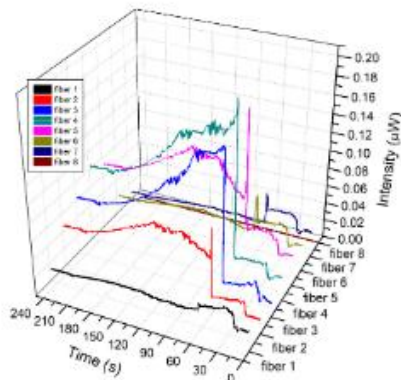
Ο ανιχνευτής υπερήχων τοποθετήθηκε στην κάτω πλευρά του ιστού (υποδόριο) και ο αισθητήρας οπτικών ινών στην επιφανειακή πλευρά (επιδερμίδα). Το Σχήμα 22b δείχνει το ίδιο δείγμα μετά την ψύξη με τον αισθητήρα οπτικών ινών να έχει επανατοποθετηθεί σε επαφή με τον ιστό, όπου η μπροστινή πλευρά Α και η πίσω πλευρά Β έχουν φτάσει περίπου στους -110°C και -7°C αντίστοιχα. Υπάρχουν αρκετές παρατηρήσεις που πρέπει να σημειωθούν σε αυτά τα καρέ: (α) καθώς ψύχεται ο ιστός, ο υπέρηχος δεν ανακλά προς τον αισθητήρα και ο παγωμένος ιστός εμφανίζεται σκοτεινός, έτσι προσδιορίζει το βάθος του παγώματος, (β) για να αποφύγουμε το πάγωμα του ζελέ του υπέρηχου, που έχει ως βάση το νερό, προσδιορίσαμε ότι η θερμοκρασία στην πίσω πλευρά πρέπει να πέφτει μόνο μέχρι στους -5°C με -7°C , (γ) όσο ο ιστός αποψύχεται, επανεμφανίζεται στην οθόνη του υπέρηχου (Σχήμα 22c-f).

Χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα ImageJ, μετρήσαμε τα όρια του παγωμένου ιστού, και τα αποτελέσματα φαίνονται στο Σχήμα 23, όπου το βάθος παγώματος (κάθετος άξονας) εμφανίζεται σε συνάρτηση με τον χρόνο (οριζόντιος άξονας). Είναι σημαντικό να σημειώσουμε, ότι όπως φαίνεται από το γράφημα Σχήμα 23 το μέγιστο βάθος που μετράει ο υπέρηχος είναι επίσης από 1.6 mm έως 0.1 mm περίπου, δηλαδή μετρά περίπου στα 1.5 mm.

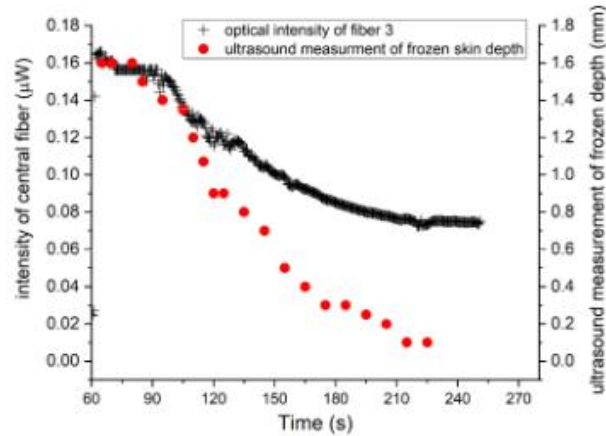


Σχήμα 23: Μέτρηση Βάθους παγώματος (mm) με Υπέρηχους σε συνάρτηση με τον χρόνο Απόψυξης (s) μετρημένο από την πλευρά Α.

Για να συσχετίσουμε τις μετρήσεις των υπερήχων με αυτές της οπτικής έντασης οπισθοσκέδασης, ο αισθητήρας τοποθετήθηκε σε επαφή με τον παγωμένο ιστό στην πλευρά Α και συγχρονίσαμε και τα δύο χρονοδιαγράμματα κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Στο Σχήμα 24a φαίνεται η ένταση του αισθητήρα οπισθοσκέδασης στον κάθετο άξονα και στους οριζόντιους άξονες να έχουμε τον χρόνο και αριθμημένη την κάθε ίνα του αισθητήρα.



(a)

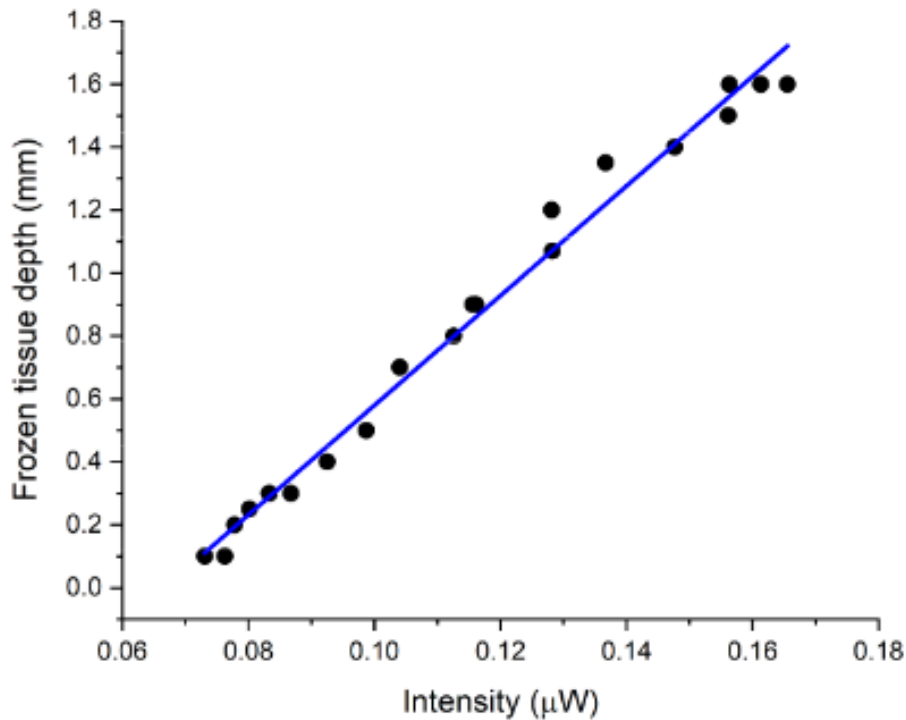


(b)

Σχήμα 24: (a) Χρονοδιάγραμμα έντασης (b) Οπτική Ένταση και Βάθος παγωμένου δέρματος με χρήση Υπερήχων.

Στο Σχήμα 24b έχουμε τον συγχρονισμό των δύο χρονοδιαγραμμάτων. Όπου έχουμε την ένταση της ίνας 3 (Σχήμα 5) στον αριστερό κάθετο άξονα, με την μέτρηση του βάθους με χρήση υπέρηχων να βρίσκεται στον δεξιά κάθετο άξονα και με τον χρόνο να βρίσκεται στον οριζόντιο άξονα. Βλέπουμε ακόμη ότι ο συγχρονισμός ξεκινά στα 60s, η οποία είναι η χρονική στιγμή που ο αισθητήρας τοποθετείται σε επαφή με το παγωμένο δέρμα. Επιπλέον δεν καταγράφεται κάποια αλλαγή στην ένταση των κεντρικών οπτικών ινών 3 και 4 (Σχήμα 5), μέχρι τα 90s, αντίστοιχα με τον χρόνο που απαιτείται για να φτάσει το πάγωμα περίπου στα 1.5 mm, το οποίο είναι και το μέγιστο βάθος ανίχνευσης.

Ακόμη η μέτρηση βάθους παγώματος με υπέρηχους επέδειξε παρόμοια χρονοδιαγράμματα, τα οποία είναι ευθέως ανάλογα ($R^2=0.98$) με την οπτική ένταση που μετρήθηκε από τον αισθητήρα οπτικών ινών. Ακριβώς όπως βλέπουμε στο Σχήμα 25, την μέτρηση του βάθους με υπέρηχους στον κάθετο άξονα και την μέτρηση του βάθους με την ένταση της οπισθοσκέδασης στον οριζόντιο άξονα, να σχηματίζουν μια ευθεία σχεδόν.

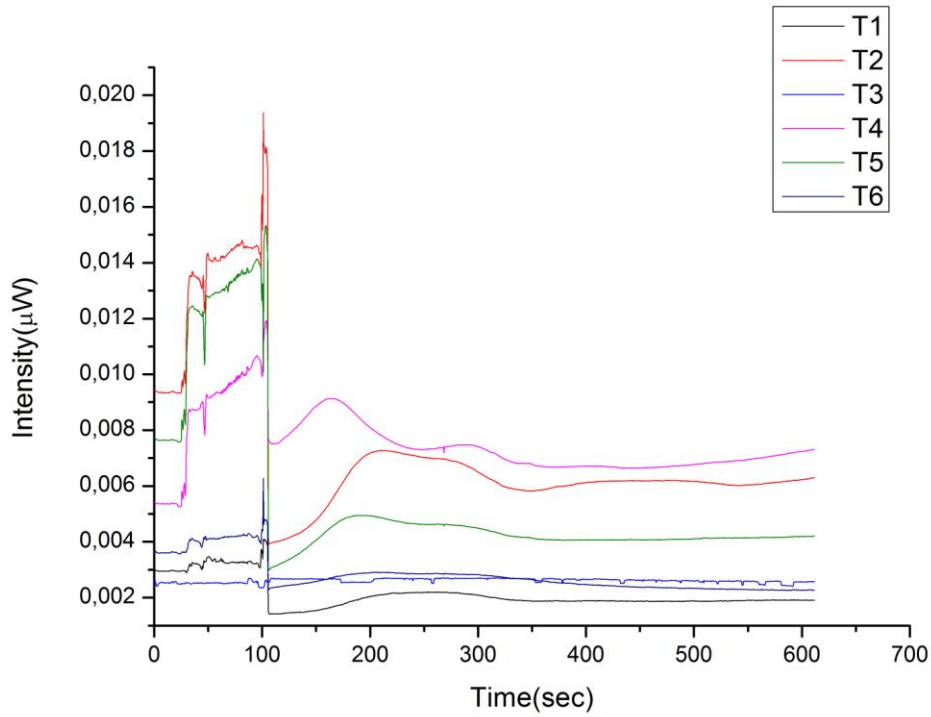


Σχήμα 25: Συσχετισμένα Δεδομένα από την Ένταση της Οπισθοσκέδασης από την ίνα 3, που απεικονίζονται ως συνάρτηση του Βάθους του παγωμένου δέρματος όπως μετρήθηκε με τον υπέρηχο.

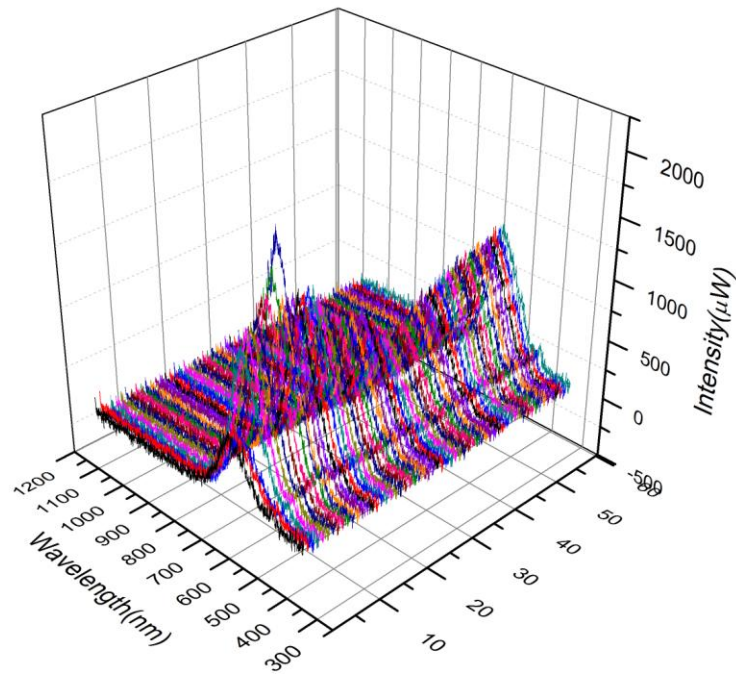
Τα αποτελέσματα που φαίνονται στο Σχήμα 25 είναι σε συμφωνία με τα προηγούμενα πειράματα βαθμονόμησης στο Σχήμα 24a, το οποίο μας δείχνει ότι οι δύο μέθοδοι βρίσκονται σε συμφωνία. Και εφόσον είναι πλήρως ανεξάρτητες μπορούμε να πούμε, πως η μέθοδος μέτρησης βάθους με υπέρηχους επαληθεύει την μέτρηση βάθους μέσω της ένταση της οπισθοσκέδασης, το οποίο είναι ιδιαίτερα σημαντικό, επειδή η μέτρηση του βάθους παγώματος με υπέρηχους αποτελεί αποδεδειγμένη μέθοδο.

4.4.Αποτελέσματα Φασματοσκοπίας Οπισθοσκεδαζόμενου Λευκού Φωτός

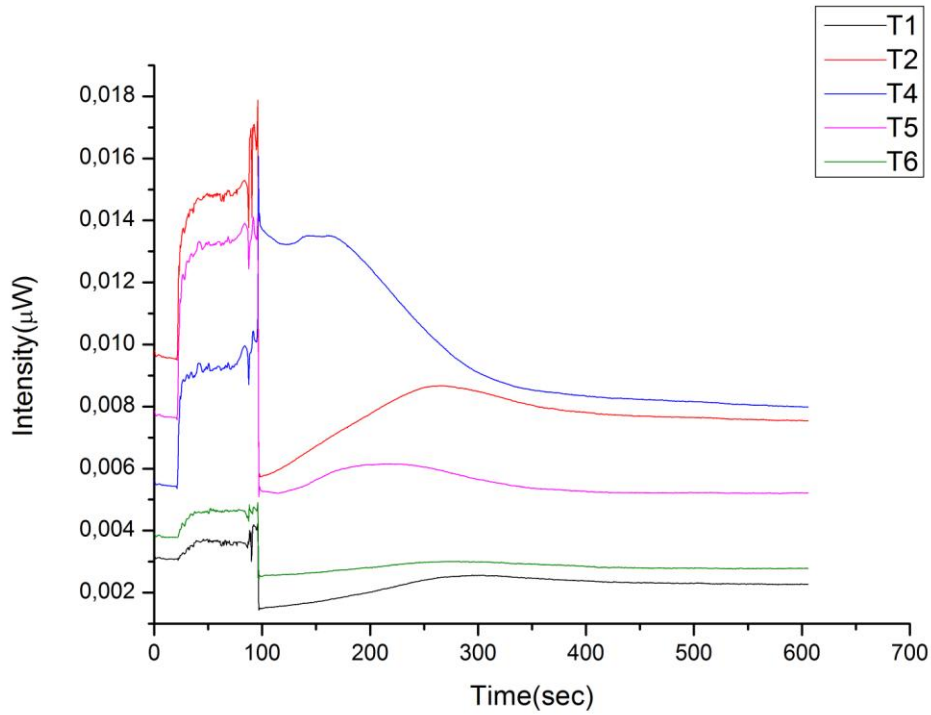
Οι μετρήσεις έγιναν με τον αισθητήρα να είναι σε επαφή με το χοιρινό δέρμα, αλλά και σε απόσταση από αυτό. Συγκεκριμένα μετρήσεις έγιναν για τις αποστάσεις d των 0.2mm, 0.5mm και 1.0 mm.



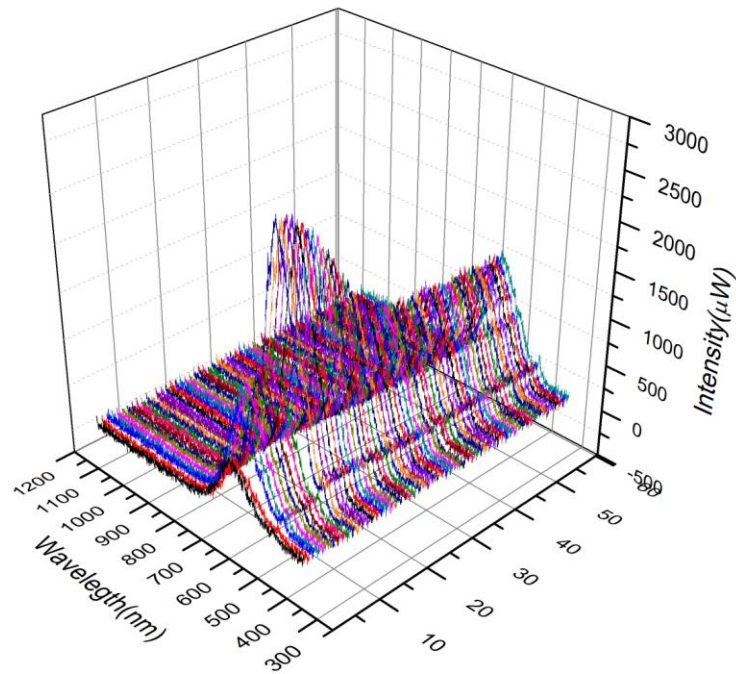
Σχήμα 26α: Ένταση που μετράμε κατά την επαφή του αισθητήρα με το χοιρινό δέρμα.



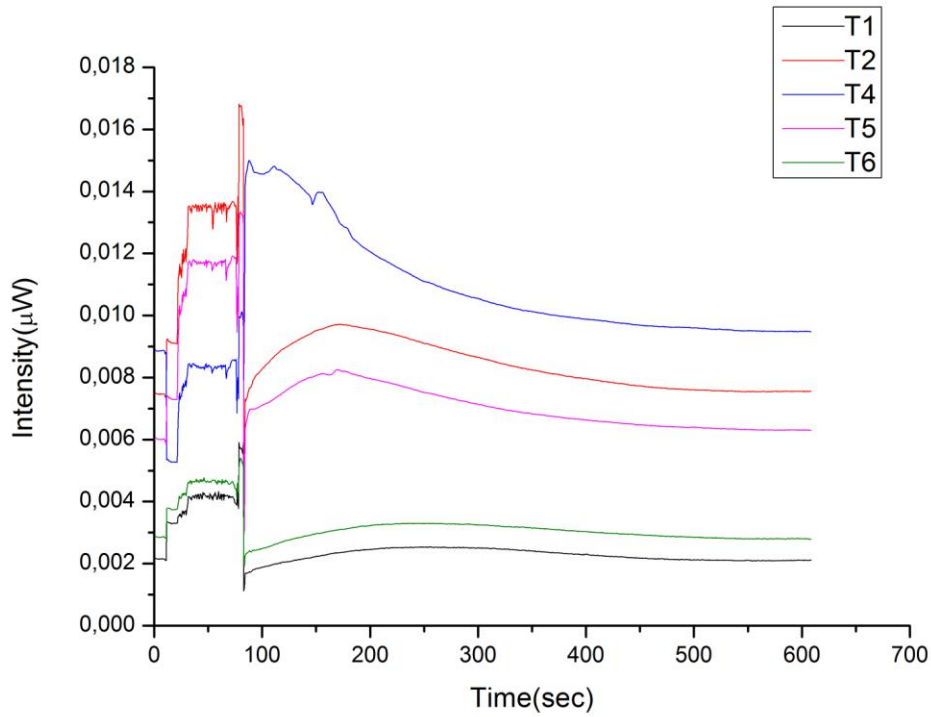
Σχήμα 26b: Φάσμα που μετράμε κατά την επαφή του αισθητήρα με το χοιρινό δέρμα.



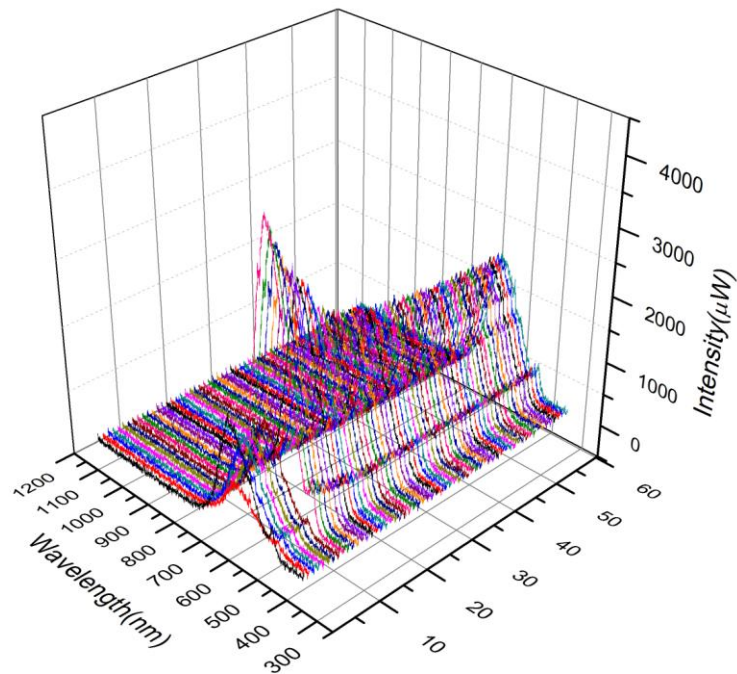
Σχήμα 26c: Ένταση που μετράμε σε απόσταση 0.2mm του αισθητήρα από το χοιρινό δέρμα.



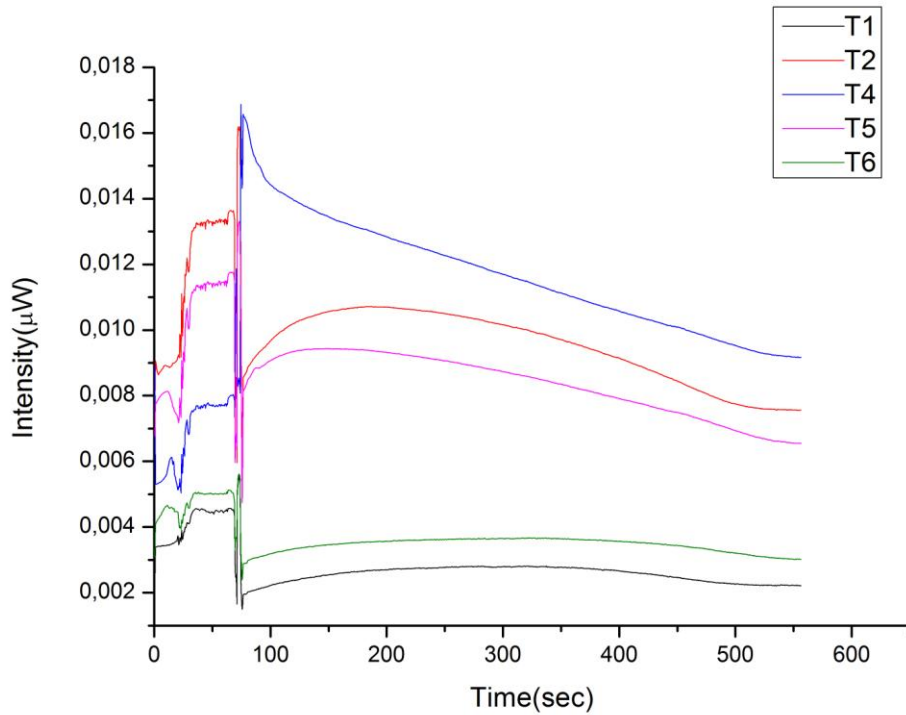
Σχήμα 26d: Φάσμα που μετράμε σε απόσταση 0.2mm του αισθητήρα από το χοιρινό δέρμα.



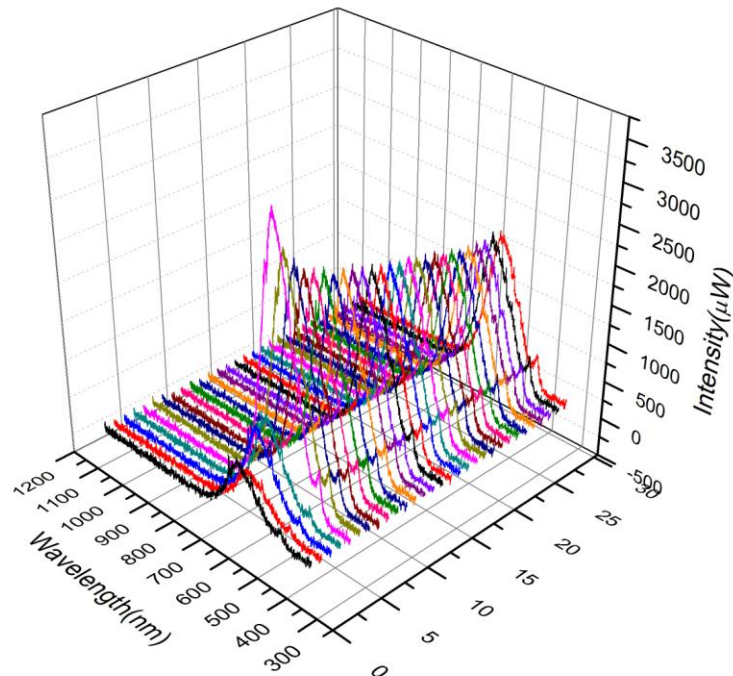
Σχήμα 26e: Ένταση που μετράμε σε απόσταση 0.5mm του αισθητήρα από το χοιρινό δέρμα.



Σχήμα 26f: Φάσμα που μετράμε σε απόσταση 0.5mm του αισθητήρα από το χοιρινό δέρμα.



Σχήμα 26g: Ένταση που μετράμε σε απόσταση 1.0mm του αισθητήρα από το χοιρινό δέρμα.



Σχήμα 26h: Φάσμα που μετράμε σε απόσταση 1.0mm του αισθητήρα από το χοιρινό δέρμα.

Στα σχήματα 26 a,c,f,g έχουμε την ένταση της οπισθοσκέδασης (κάθετος άξονας) των υπόλοιπων οπτικών ινών ως προς τον χρόνο (οριζόντιος άξονας) και όπως βλέπουμε οι

αλλαγές της έντασης δείχνουν ίδια συμπεριφορά με τα προηγούμενα πειράματα. Αυτό έγινε κυρίως για να μπορούμε να ελέγξουμε ότι επικρατούν οι ίδιες συνθήκες.

Στα σχήματα 26 b,d,e,h έχουμε τον κάθετο άξονα να αναπαριστά το μέγεθος της έντασης, όπως μετρήθηκε από το φασματομέτρο, ενώ στους οριζόντιους άξονες έχουμε το μήκη κύματος και την εκάστοτε μέτρηση. Μπορούμε να πούμε πως, έχουμε την δυνατότητα να διαχωρίσουμε το παγωμένο με το μη παγωμένο, επειδή όπως βλέπουμε στα σχήματα 26 b,d,e,h, από την μέτρηση δ που συμπίπτει με τα 60 s , όπου ο αισθητήρας τοποθετείται στην θέση μέτρησης, η ένταση ξεκινά από την μέγιστη τιμή της στο παγωμένο και η οποία μειώνεται κατά την απόψυξη. Μια συμπεριφορά όμοια με τα προηγούμενα πειράματα. Και τέλος έχουμε μια πιο καθαρή εικόνα των μετρήσεων, όταν μετράμε σε απόσταση $d=1.0 \text{ mm}$ του αισθητήρα οπισθοσκέδασης από το δέρμα.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αυτά που βρήκαμε στο πρώτο πείραμα, ήταν ότι η οπισθοσκέδαση από τα τμήματα κατεψυγμένου ιστού ήταν υψηλότερη και περιορίστηκε κοντά στην πηγή. Κατά συνέπεια, η οπτική διάχυση ήταν αρχικά χαμηλότερη και επεκτάθηκε περαιτέρω στον ιστό του δέρματος κατά την απόψυξη. Ίσως αργότερα να χρειαστεί, η κατασκευή ενός αισθητήρα με περισσότερες ίνες για καλύτερη απεικόνιση της διάχυσης. Ακόμη βρήκαμε ότι η θέση και οι διαστάσεις του βάθους παγώματος που μετριέται με μονοχρωματική πηγή, μπορούν να προσδιοριστούν εντός $0,1 \text{ mm}$ με βάση την οπτική ένταση μετά τις μετρήσεις βαθμονόμησης. Και τέλος μπορέσαμε να προσδιορίσουμε το βάθος παγώματος στα 1.5 mm .

Αντίστοιχα στο δεύτερο πείραμα βρήκαμε ότι η θέση και οι διαστάσεις του βάθους παγώματος που μετριέται με μονοχρωματική πηγή, μπορούν να προσδιοριστούν και με τον αισθητήρα να βρίσκεται σε απόσταση από το δέρμα. Και προσδιορίσαμε την βέλτιστη απόσταση δέρματος αισθητήρα. Ακόμη βρήκαμε μέσω της οπτικής διάχυσης το FWHM είναι για παγωμένο 3.5 mm , ενώ για μη παγωμένο επεκτείνεται στα 5 mm σχεδόν.

Στο τρίτο πείραμα προσδιορίσαμε ότι το βάθος παγώματος στον ιστό του δέρματος, μετρώντας το με υπέρηχους, είναι $1,6 \text{ mm}$. Και επειδή είναι μια εντελώς ανεξάρτητη μέθοδος μέτρησης, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το αποτέλεσμά της, για την επαλήθευση της βασικής μας μεθόδου, ο οποίος ήταν και ο κύριος λόγος χρήσης των υπέρηχων σ' αυτή την εργασία.

Στο τέταρτο και τελευταίο πείραμα βρήκαμε ότι μπορούμε να διακρίνουμε την διάφορα παγωμένου και μη παγωμένου. Και μπορούμε να διακρίνουμε την διαφορά στην ποιότητα των μετρήσεων, ανάλογα με την απόσταση του αισθητήρα από το δέρμα.

Συνολικά, τα ευρήματά μας είναι αποδεικτικά της αρχής της μεθόδου προσδιορισμού του βάθους παγοποίησης στον ιστό με την χρήση διάταξης οπτικών ινών για την μέτρηση της έντασης οπισθοσκεδαζόμενου φωτός. Επιπλέον, υποδεικνύουν την διαδικασία για την βελτιστοποίηση του αισθητήρα στο μέλλον, πιθανόν και με την ενσωμάτωση δεδομένων φασματοσκοπίας.

6.ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Gage, A.A.; Baust, J.G. Cryosurgery for Tumors. *J. Am. Coll. Surg.*2007, 205, 342–356.
2. Toner, M.; Cravalho, E.G.; Karel, M. Thermodynamics and Kinetics of Intracellular Ice Formation during Freezing of Biological Cells. *J. Appl. Phys.*1990, 67, 1582–1593
3. Hoffmann, N.E.; Bischof, J.C. The Cryobiology of Cryosurgical Injury.*Urology*2002, 60, 40–49.
- 4.Gaitanis, G.; Nomikos, K.; Vava, E.; Alexopoulos, E.; Bassukas, I. Immunocryosurgery for Basal Cell Carcinoma: Results of a Pilot, Prospective, Open-Label Study of Cryosurgery during Continued Imiquimod Application .*J. Eur. Acad. Dermatol.*2009,23, 1427–1431.
- 5 .Yan, J.; Wang, H.; Liu, J.; Deng, Z.; Rao, W.; Xiang, S. Feasibility Study on Using an Infrared Thermometer for Evaluation and Administration of Cryosurgery .*Minim. Invasive Ther. Allied Technol.*2007, 16, 173–180.
- 6.Samset, E.; Mala, T.; Edwin, B.; Gladhaug, I.; Søreide, O.; Fosse, E. Validation of Estimated 3D Temperature Maps during Hepatic Cryo Surgery . *Magn. Reson. Imaging*2001, 19, 715–721.
7. Torre, D. Cryosurgical Instrumentation and Depth Dose Monitoring. *Clin. Dermatol.*1990,8, 48–60.
- 8.Tacke, J.; Speetzen, R.; Heschel, I.; Hunter, D.W.; Rau, G.; Günther, R.W. Imaging of Interstitial Cryotherapy —An in Vitro Comparison of Ultrasound, Computed Tomography, and Magnetic Resonance Imaging.*Cryobiology*1999,38, 250–259.

9. Choi, B.; Milner, T.E.; Kim, J.; Goodman, J.N.; Vargas, G.; Aguilar, G.; Nelson, J.S. Use of Optical Coherence Tomography to Monitor Biological Tissue Freezing during Cryosurgery. *J. Biomed. Opt.* 2004, 9, 282–286.
10. Mitri, F.G.; Davis, B.J.; Alizad, A.; Greenleaf, J.F.; Wilson, T.M.; Mynderse, L.A.; Fatemi, M. Prostate Cryotherapy Monitoring Using Vibroacoustography: Preliminary Results of an Ex Vivo Study and Technical Feasibility. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2008, 55, 2584–2592.
11. Edd, J.F.; Ivorra, A.; Horowitz, L.; Rubinsky, B. Imaging Cryosurgery with EIT: Tracking the Ice Front and Post-Thaw Tissue Viability. *Physiol. Meas.* 2008, 29, 899–912.
12. Butts, K.; Sinclair, J.; Daniel, B.L.; Wansapura, J.; Pauly, J.M. Temperature Quantitation and Mapping of Frozen Tissue. *J. Magn. Reson. Imaging* 2001, 13, 99–104.
13. Overduin, C.G.; Fütterer, J.J.; Scheenen, T.W.J. 3D MR Thermometry of Frozen Tissue: Feasibility and Accuracy during Cryoablation at 3T. *J. Magn. Reson. Imaging* 2016, 44, 1572–1579.