

# Μετρήσεις στο δερματικό ιστό με τη μέθοδο της διάχυτης ανακλαστικής φασματοσκοπίας: μια πρώτη προκαταρκτική προσέγγιση

Ιωάννης Α. Σιανούδης<sup>1</sup>, Ελένη Δρακάκη<sup>2</sup>, Ιωάννης Βαλαής<sup>3</sup>

1. Εργαστήριο Φυσικής, Τμήμα Φυσικής-Χημείας & Τεχνολογίας Υλικών, Α. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΤΕΙ) Αθήνας, Αγ. Σπυρίδωνος, 12210 Αιγάλεω, e-mail: [jansian@teiath.gr](mailto:jansian@teiath.gr).
2. Τομέας Φυσικής – Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Πολυτ/πολη, 15780, Ζωγράφου, email: [edrakaki@central.ntua.gr](mailto:edrakaki@central.ntua.gr).
3. Τμήμα Τεχνολογίας Ιατρικών Οργάνων, Α. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΤΕΙ) Αθήνας, Αγ. Σπυρίδωνος, 12210 Αιγάλεω, e-mail: [valais@teiath.gr](mailto:valais@teiath.gr).

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης στην περιοχή του ορατού και κοντινού υπέρυθρου φάσματος προσφέρεται ως μέθοδος στη διερεύνηση ζώντος ιστού, όπως είναι ο δερματικός, για την συλλογή πλείστων πληροφοριών που σχετίζονται με την φυσιολογία και λειτουργία του. Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται πρώτες, προκαταρκτικές και περιορισμένης εμβέλειας μετρήσεις από τη χρήση της μεθόδου φασματοσκοπίας διάχυτης ανάκλασης, οι οποίες έγιναν προκειμένου να διερευνηθούν, βάση της υπάρχουσας υποδομής και του διατιθέμενου εξοπλισμού, οι δυνατότητες και το εύρος των πιθανών εφαρμογών, στις οποίες συγκαταλέγονται η ταυτοποίηση του δερματικού τύπου, ο αντικειμενικός προσδιορισμός του χρωματότυπού του, καθώς επίσης προκειμένου να εκτιμηθεί η δυνατότητα άντλησης πληροφοριών μέσα από τα φάσματα για πιθανή διαπίστωση και πρόωρη διάγνωση δερματικών ασθενειών κλπ.

**Λέξεις κλειδιά:** *Φασματοσκοπία ανάκλασης, δέρμα, επιδερμίδα, φάσμα ανάκλασης, μελανίνη, αιμοσφαιρίνη.*

## Εισαγωγή

Οι οπτικές ιδιότητες του ανθρώπινου δέρματος έχουν γίνει το αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνών [1, 2, 3, 4]. Το ενδιαφέρον για την οπτική συμπεριφορά του δέρματος πηγάζει από το γεγονός ότι πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την φυσιολογία, μορφολογία και σύνθεση του δέρματος μπορούν να παρθούν με έναν μη επεμβατικό τρόπο και σε πραγματικό χρόνο, με την χρήση μιας οπτικής μεθόδου ανάλυσης.

Μια τέτοια οπτική μέθοδος είναι και η φασματοσκοπία διάχυτης ανακλαστικότητας, η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στην μελέτη του δέρματος, ειδικά στην μελέτη της αιμοδυναμικής και στην μελέτη των ερεθισμών, καθώς και του χρωματισμού του δέρματος. Η μέθοδος της οπτικής ανακλαστικότητας έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές εργασίες που έχουν ως αντικείμενο έρευνας τον ανθρώπινο δερματικό ιστό. Σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες εξελίσσονται σε ιστούς που αποκλίνουν των φυσιολογικών ιστών (μελανώματα, σπίλοι, εγκαύματα κλπ) με στόχο να αναπτυχθεί ένα σύστημα αξιόπιστου και εγκαίρου διαγνωστικού ελέγχου για ιατρική/κλινική χρήση. Παρότι η φασματική ανακλαστικότητα ποικίλων αλλοιώσεων του δέρματος έχει περιγραφεί και ερευνηθεί, η εφαρμογή της φασματοφωτομετρικής ανάκλασης στην δερματολογία είναι περιορισμένη, πιθανόν εξαιτίας της δυσκολίας της εξαγωγής

εσωτερικών χαρακτηριστικών της εκάστοτε αλλοίωσης από το φάσμα της. Η ποσοτική ανάλυση των φασμάτων ανάκλασης είναι πολύπλοκη, βάση του γεγονότος ότι το δέρμα έχει μια πολύ σύνθετη και μη ομογενή δομή [5, 6] με ένα χωρικά μεταβαλλόμενο δείκτη διάθλασης, που καθορίζεται από την παρουσία μελανίνης [melanin pigmentation], τον κορεσμό του οξυγόνου στο αίμα του δέρματος [oxygen saturation of cutaneous blood], από τον δείκτη του ερυθρήματος [index of erythema], της bilirubin, της b-carotene και άλλων χρωμοφόρων [7,8]. Στις περισσότερες από τις κλινικές εφαρμογές όπου είναι γνωστά τα φάσματα ανάκλασης, είναι αναγκαίο να εξαγάγουμε τις συγκεντρώσεις ποικίλων εκάστοτε χρωμοφόρων, για τα οποία ενδιαφερόμαστε, με κυριότερα την οξύ- και δυοξύ- αιμογλοβίνη, νερό και μελανίνη [4].

Αυτές οι αναλυτικές μέθοδοι εξαρτώνται από τα οπτικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε ιστού και ανθρώπινου οργάνου [9]. Η δέσμη του φωτός καθώς προσπίπτει πάνω σε μαλακούς ιστούς (ανθρώπινο στήθος) οπισθοσκεδάζεται, απορροφάται και εισχωρεί εντός τους, ενώ για παχύτερους ιστούς (ανθρώπινο πήχη χεριού), ένα μέρος από την προσπίπτουσα ακτινοβολία οπισθοσκεδάζεται και το υπόλοιπο μέρος απορροφάται. Αυτές οι διαδικασίες εξαρτώνται από το χρωματισμό του δέρματος [skin pigmentation], την σύνθεση του εκάστοτε ιστού, την αιμάτωση του, και την δομική φύση των ινών κολλαγόνου, η οποία καθορίζει την χωρική κατανομή των φωτονίων μέσα στους ακτινοβοληθέντες ιστούς. Η απορρόφηση του φωτός αποδίδεται κυρίως στα χρωμοφόρα συστατικά του εκάστοτε ιστού, όπως η μελανίνη, η αιμοσφαιρίνη, κτλ. Παρόμοια οι ασυνέχειες στον δείκτη διάθλασης σε μικροσκοπικό επίπεδο οδηγούν στην ύπαρξη σκέδασης από τους ιστούς [10]. Το φως απορροφάται από ποικίλα χρωμοφόρα του δέρματος [7] ενώ το φαινόμενο της σκέδασης εμφανίζεται κυρίως εξαιτίας μικρομεταβολών του δείκτη διάθλασης [11].

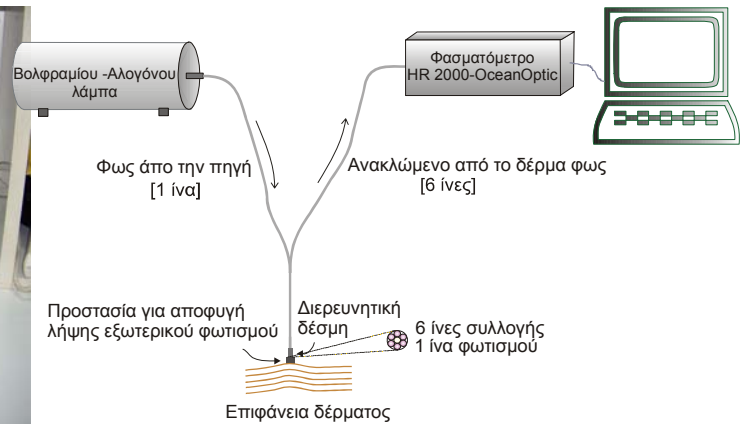
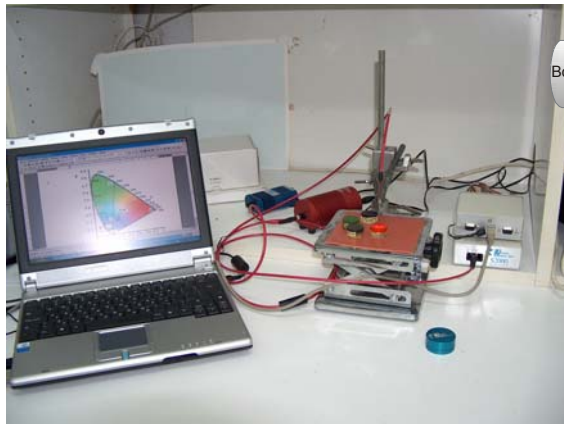
Με κατάλληλο όμως βελτιωμένο λογισμικό και μηχανήματα μπορούμε να αξιοποιήσουμε αυτή την τεχνική ως διαγνωστικό μέσο. Η ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια, αφ' ενός μεν σειράς από σύγχρονης τεχνολογίας φασματοσκοπικών συστημάτων, η αξιοποίηση της τεχνολογίας των οπτικών ινών, αφ' ετέρου δε η εφαρμογή σύγχρονων μεθόδων επεξεργασίας σήματος και εικόνας με την συμβολή του υπολογιστή, έδωσαν στην μέθοδο της οπτικής ανακλαστότητας μια νέα προοπτική για την χρησιμοποίηση της σε τομείς ιδιαίτερου ιατρικού ενδιαφέροντος.

## **Μέθοδος**

### **Ο εξοπλισμός**

Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για την απόκτηση των φασμάτων διάχυτης ανάκλασης από δερματικό ιστό φαίνεται σχηματικά στις *Εικόνες 1 και 2*. Αυτή αποτελείται από μια πηγή λευκού φωτός, ένα σύστημα *οπτικών ινών* που καταλήγουν σε κοινό δειγματολήπτη, ένα φορητό φασματόμετρο ορατού και κοντινού υπέρυθρου και έναν φορητό υπολογιστή με αυτό συνδέεται. Πιο συγκεκριμένα η πηγή φωτός είναι ένα σύστημα σταθεροποιημένης εκπομπής, από ψυχόμενη λάμπα βολφραμίου - αλογόνου για οπτικές ίνες (Avantes HL-2000). Οι οπτικές ίνες είναι τύπου διχάλας (bifurcated fiber optics), αποτελούμενες από 7 δέσμες διακριτών ινών, εκ των οποίων η μια δέσμη χρησιμοποιείται για την φωτισμό του δείγματος, αφού το άλλο άκρο της συνδέεται με την φωτεινή πηγή, ενώ οι υπόλοιπες 6 δέσμες ανιχνεύουν το ανακλώμενο φως και το επιστρέφουν στο φασματόμετρο, με το οποίο είναι συνδεδεμένες. Οι συνδέσεις των οπτικών ινών γίνονται με standard συνδέσμους SMA905. Οι τύποι οπτικών ινών που χρησιμοποιήθηκαν στις μετρήσεις είναι QR200-7-UV/NIS-BX της εταιρείας OceanOptics και FCB-UV400-2 της εταιρείας Avantes.

Η συνολική διάμετρος και το αριθμητικό άνοιγμα ήταν 200  $\mu\text{m}$  και 0.22 αντίστοιχα, ενώ η διαπερατότητα τους κάλυπτε την περιοχή του ορατού και κοντινού υπεράυθρου (200 – 1100 nm).



**Εικόνα 1.:** Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται.

**Εικόνα 2.:** Σχέδιο της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται

### Το λογισμικό

Η σύλληψη, καταγραφή και φασματική ανάλυση του ανακλώμενου από το δείγμα φωτός πραγματοποιείται από το φορητό και συνδεδεμένο με υπολογιστή φασματόμετρο τύπου HR2000 της εταιρείας OceanOptic, με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (ανιχνευτής φωτός CCD αισθητήρας 2048 διευθύνσεων, οπτικό φράγμα 600 γραμμών/mm, φίλτρο για περίθλαση δεύτερης τάξης, σχισμή 5  $\mu\text{m}$ ). Η σύνδεση του φασματόμετρου με τον υπολογιστή γίνεται μέσω της θύρας USB.

Στον υπολογιστή, ένα φορητό PC Pentium M (Centrino 1.8 GHz) τα λογισμικά που χρησιμοποιήθηκαν για την καταγραφή των φασμάτων και την επεξεργασία του ήταν: α) το λειτουργικό σύστημα OOIBase32, β) τα λογισμικά εφαρμογής OOIRrad-C και OOIColor, αμφότερα της εταιρείας OceanOptics, καθώς επίσης γ) το λογισμικό OriginPro 7.5 της εταιρείας OriginLab Co για την επεξεργασία και παρουσίαση των φασμάτων.

### Η βαθμονόμηση

Κρίσιμη διαδικασία, βασική για την επίτευξη σωστών αποτελεσμάτων αποτελεί η βαθμονόμηση του φασματόμετρου και ως προς τον οριζόντιο άξονα, των μηκών κύματος στα φάσματα, αλλά και ως προς τον κατακόρυφο άξονα τους, ο οποίος σχετίζεται με τις σχετικές και απόλυτες εντάσεις ανακλώμενου φωτός.

**Εικόνα 3.:** Φωτογραφία από την ανάκλαση φωτός στην επιφάνεια του στάνταρτ Spectralon που χρησιμοποιείται για τη βαθμονόμηση του φάσματος ανάκλασης.

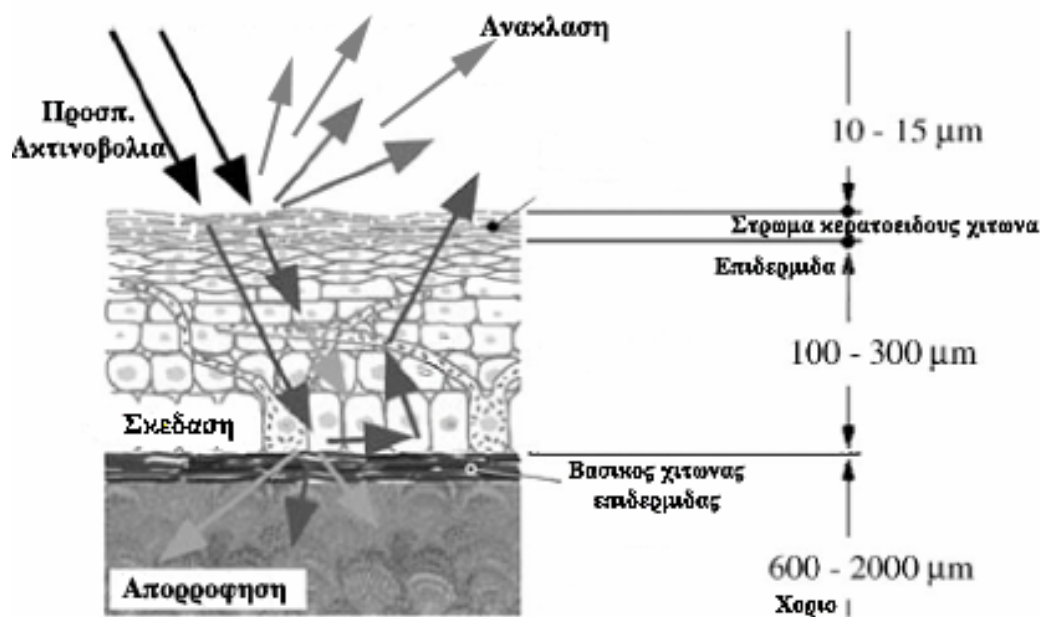


Προκειμένου τα αποτελέσματα των μετρήσεων να είναι μεταξύ τους συγκρίσιμα, είναι υποχρεωτικό και απαραίτητη να γίνεται πριν από κάθε σειρά μετρήσεων βαθμονόμηση. Γι' αυτόν τον σκοπό χρησιμοποιήθηκαν δύο πρότυπες πηγές φωτός, γνωστών χαρακτηριστικών: α) την πρότυπη πηγή συνεχούς φάσματος LS-1-CAL Radiometric Calibration Standard για την περιοχή 300 – 1050 nm και β) την πρότυπη πηγή γραμμικού φάσματος HG-1 Mercury Argon Calibration Source με χαρακτηριστικές φασματικές γραμμές στην περιοχή από 253-922 nm. Η βαθμονόμηση έγινε με χρήση του λογισμικού OOPIrad-C.

Οι σχετικές τιμές ανάκλασης στα φάσματα προέκυψαν από την σύγκριση κάθε μέτρησης με ένα πρότυπο, το οποίο θεωρήθηκε ως στάνταρτ ανακλαστικότητας 100% στην φασματική περιοχή του ορατού. Γι' αυτόν τον σκοπό χρησιμοποιήθηκε το πρότυπο Spectralon, WS-2 της OceanOptics (Εικόνα 3). Αντίστοιχα για την ρύθμιση της έντασης του προσπίπτοντος φωτός στην επιφάνεια του δέρματος χρησιμοποιήθηκαν διάφορα ουδέτερα φίλτρα της σειράς ND 1-9 της εταιρείας Edmunds.

### Το σύστημα «δερματικός ιστός»

Το δέρμα είναι ένα πολυστρωματικό και ανομοιογενές όργανο. Τα βιολογικά χαρακτηριστικά των κυρίων συστατικών και επιμέρους στρωμάτων, τα οποία επηρεάζουν την μετάδοση και απορρόφηση του φωτός είναι τα ακόλουθα όπως φαίνονται στις παρακάτω Εικόνα 4.



**Εικόνα 4.:** Οπτικές διεργασίες σε ένα τυπικό ανθρώπινο δερματικό ιστό

[Από «Study on radiation transfer in human skin for cosmetics», Jun Yamada, Ayumu Kawamura, Yoshimasa Miura, Sadaki Takata, Katsuki Ogawa, Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer, Vol. 93, Is. 1-3, June 2005, Σελ. 219-230 ]

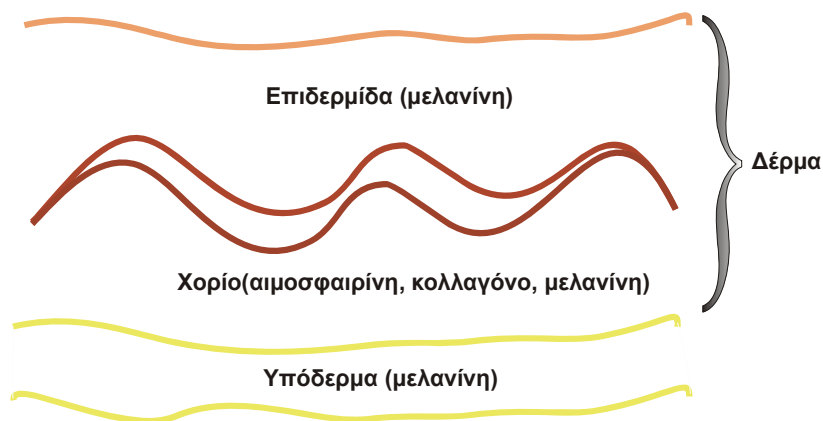
Το πιο εξωτερικό στρώμα του δέρματος λέγεται στρώμα κερατοειδούς χιτώνα (stratum corneum) και είναι μέρος της επιδερμίδας. Η δομή του αποτελείται από 10 επιμέρους στρώματα με συνολικό πάχος περίπου 10-15 μm. Τα κύτταρα τα οποία δημιουργούν το

κερατοειδή χιτώνα της επιδερμίδας είναι νεκρά και πεπλατυσμένα keratinocytes, τα οποία λέγονται corneocytes εμπεδωμένα σε μια ιδιαίτερη βάση από λιπίδια [12]. Το στρώμα κερατοειδούς χιτώνα [stratum corneum] μοιάζει με περίβλημα με μορφή sandwich. Μορφοποιεί ένα σύνορο, το οποίο συγκρατεί το νερό μέσα και ανεπιθύμητα συστατικά εκτός του σώματος. Η απορρόφηση του φωτός σε αυτόν τον ιστό είναι χαμηλή, με μέρος του μεταδιδόμενου φωτός να διαδίδεται σχετικά ομοιόμορφα στην ορατή περιοχή του φάσματος [13].

Κάτω από τον κερατοειδή χιτώνα κείται το πολύτιμο στρώμα της ζωντανής επιδερμίδας. Η επιδερμίδα είναι το πιο επιφανειακό και το πιο ανθεκτικό κύριο στρώμα του δέρματος με πάχος δομής 0.027-0.15 mm [14, 15]. Η επιδερμίδα είναι ένας ιστός φτιαγμένος κυρίως από κερατινοκύτταρα keratinocytes. Αποτελείται από 5 υποστρώματα: τον κερατοειδή χιτώνα [stratum corneum], το υπόστρωμα lucidum [the stratum lucidum] (παρών μόνο σε περιοχές με πολύ παχύ δέρμα, όπως οι παλάμες, και οι πατούσες), το υπόστρωμα granulosum [stratum granulosum κοκκώδη], το υπόστρωμα spinosum [stratum spinosum] και το υπόστρωμα germinatum [stratum germinatum βλαστικό][16] με πιο σημαντικά το κοκκώδη υπόστρωμα και το βλαστικό υπόστρωμα. Η επιδερμίδα συνεχώς αναγεννιέται δηλαδή τα κύτταρα της αναπαράγονται και για αυτή τη λειτουργία είναι υπεύθυνο το βλαστικό υπόστρωμα που βρίσκεται στην κατώτερη στοιβάδα. Όσο αφορά τη συμπεριφορά της στο φως, η επιδερμίδα απορροφά και επιτρέπει την διέλευση φωτός. Η απορρόφηση προέρχεται κυρίως από την μελανίνη ένα φυσικό χρωμοφόρο του δέρματος.

Το χορίο είναι το κύριο εσωτερικό στρώμα του δέρματος. Υποστηρίζει το αγγειακό δίκτυο, το οποίο παρέχει στην μη αγγειωμένη επιδερμίδα θρεπτικά συστατικά. Το χορίο περιέχει κυρίως κύτταρα συνδετικού ιστού [fibroblasts], κολλαγόνο, ελαστίνη και άλλη ενδοκυτταρική ύλη, στοιχεία τα οποία δίνουν την υποστήριξη και την ελαστικότητα στο δέρμα. Το χορίο αποτελείται από δυο κύρια υποστρώματα : το επιθηλιακό στρώμα [papillary layer] (το εξωτερικό υπόστρωμα), το οποίο περιέχει το αγγειακό δίκτυο και το δικτυακό υπόστρωμα [reticular layer], το οποίο στεγάζει εκτός από πολλά άλλα στοιχεία, και τριχοφυείς αδένες, θυλακώματα των τριχών και αδένες εκκρίσεως. Το χορίο επί το πλείστον περιέχει κολλαγόνο σε ποσοστό περίπου 70% του καθαρού, ξηρού της βάρους. Το χορίο επίσης φιλοξενεί και ένα ειδικό γκρουπ κυττάρων, τα κύτταρα συνδετικού ιστού [fibroblasts], τα οποία είναι υπεύθυνα για την παραγωγή κολλαγόνου. Δομικά το πάχος του χορίου είναι 0.6-3 mm [14, 15], ενώ οπτικά, επίσης όπως η επιδερμίδα απορροφά και αφήνει την διέλευση φωτός.

Το υπόδερμα είναι ένα υποδερμικό στρώμα συνδετικού ιστού (κάτω από το κύριο μέρος Το υπόδερμα είναι ένας λιπώδης ιστός [adipose tissue], που χαρακτηρίζεται από ελάχιστη απορρόφηση του φωτός στο ορατή περιοχή του φάσματος [17]. Συνήθως αυτό το στρώμα δεν θεωρείται μέρος του δέρματος και το μέγεθος του ποικίλει σημαντικά ανάλογα με την περιοχή του σώματος. Μπορεί να φθάσει μέχρι και το πάχος των 3 cm στη κοιλιά (abdomen) και να είναι απών από άλλα μέρη όπως τα βλέφαρα. Το υπόδερμα παρουσιάζει σημαντικές εναποθέσεις από λευκό λίπος, του οποίου τα κύτταρα είναι κατά ομάδες δημιουργώντας συστοιχίες. Εξαιτίας της παρουσίας αυτών των στρωμάτων λευκού λίπους, περισσότερη από την ορατή ακτινοβολία η οποία φθάνει σε αυτό τον ιστό, ανακλάται πίσω στα ανώτερα στρώματα [14].



**Εικόνα 5.:** Διαφαίνεται η επιδερμίδα, το χορίο και το υπόδερμα από τη δομή του δερματικού ιστού και τα χρωμοφόρα τους.

Όσο αφορά τα χρωμοφόρα στοιχεία του δέρματος (Εικόνα 5), το κυριότερο από αυτά στην επιδερμίδα είναι η μελανίνη. Η μελανίνη είναι ένα βιολογικό πολυμερές που έχει ως αρχικό συστατικό του την τυροσίνη. Σε κάθε άτομο η απορρόφησή της ηλιακής ακτινοβολίας που επικρατεί στην επιδερμίδα, οφείλεται στην απορρόφησή της από τη μελανίνη. Το ακριβές φάσμα της μελανίνης και η χημική δομή της μελανίνης στους ανθρώπους είναι άγνωστα και για αυτό δεν μπορεί να μελετηθεί ή να αναπαραχθεί. Γενικά έχει βρεθεί ότι το φάσμα απορρόφησης αυτού του χρωμοφόρου επιδεικνύει μια πτωτική μονοτονική συμπεριφορά στη ορατή περιοχή του φάσματος, σε σχέση με το μήκος κύματος, ενώ το φάσμα ανάκλασης στην ίδια φασματική περιοχή έχει μονοτονικά ανοδική τάση με μέγιστο στην περιοχή του υπεριώδους [16].

Το καροτένιο είναι ένα από τα χρωμοφόρα του επόμενου στρώματος του δέρματος του χορίου, αλλά επίσης μπορεί να βρεθεί και στο αίμα. Είναι ένας ακόρεστος υδρογονάνθρακας, ο οποίος βρίσκεται ως χρωμοφόρο σε πολλά φυτά, ιδιαίτερα τα καρότα, τις γλυκοπατάτες και λαχανικά με πολλά φύλλα και για αυτό και η παρουσία του στους ανθρώπινους οργανισμούς εξαρτάται από τη διατροφή τους. Απορροφά κυρίως γύρω από τα 480 nm, με χαμηλή επίδραση στην χροιά και χρώμα του δέρματος [18].

Το κολλαγόνο είναι μια ινώδη πρωτεΐνη, και βρίσκεται στο χορίο. Οι ίνες του είναι η κύρια πηγή σκέδασης της ακτινοβολίας του φωτός σε αυτό το στρώμα. Παρόλο, που έχουν γίνει εντατικές αναλύσεις για τα αποτελέσματα σκέδασης του κολλαγόνου, δεν υπάρχει αναφορά για την επίδρασή της στο φάσμα ανάκλασης του δέρματος [16].

Το χορίο διασχίζεται αρκετά πυκνά από αιμοφόρα αγγεία, τα οποία περιέχουν αιμοσφαιρίνη αιμοσφαιρίνη Hb. Η αιμοσφαιρίνη βρίσκεται στο μικροαγγειακό δίκτυο του χορίου, τυπικά 50-500 μm κάτω από την επιφάνεια του δέρματος. Είναι μια πρωτεΐνη, που περιέχεται στα ερυθροκύτταρα σε ποσοστό 95% σε σχέση με το ξηρό βάρος τους. Είναι υπεύθυνη για την κόκκινη απόχρωση του δέρματος. Η αιμοσφαιρίνη δένεται πολύ εύκολα με το οξυγόνο και αυτό την κάνει το ιδανικό 'μεταφορικό' για τη μεταφορά οξυγόνου από τους πνεύμονες

στους ιστούς. Οι δυο διαφορετικοί τύποι της αιμοσφαιρίνης, η οξυγονωμένη και η δυοξυγονωμένη, έχουν διαφορετικά φάσματα απορρόφησης. Η αιμοσφαιρίνη έχει ένα μοναδικό φάσμα απορρόφησης με χαρακτηριστικές περιοχές γύρω από τα 420nm και μέσα στην περιοχή των 545 nm-575 nm, όπου και παρατηρείται το φασματικό “W” pattern [19]. Η δι-οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη παρουσιάζει μετατοπισμένες περιοχές απορρόφησης και το χαρακτηριστικό φασματικό “W” pattern δεν εμφανίζεται εδώ. Παρόλα αυτά η πλειοψηφία της αιμοσφαιρίνης στα αιμοφόρα αγγεία είναι οξυγονωμένη.

Δυο άλλα χρωμοφόρα που προέρχονται από το αίμα βρίσκονται επίσης στο χορίο και είναι η bilirubin και η  $\beta$ -carotene. Συνεισφέρουν στην κιτρινωπή χροιά του δέρματος. Η  $\beta$ -carotene μπορεί επίσης να βρεθεί και στην επιδερμίδα και ειδικά στο κερατοειδή χιτώνα [stratum corneum][20, 21].

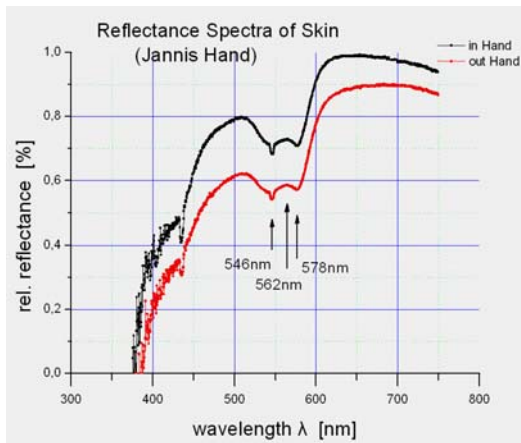
Η κερατίνη είναι μια ινώδης πρωτεΐνη η οποία βρίσκεται στην επιδερμίδα. Διαμορφώνεται μέσα στα keratinocytes, κατά την διάρκεια της διαδικασίας κερατίνωσης [keratinisation]. Οι ίνες της προκαλούν σκέδαση φωτός, αλλά είναι τόσο λεπτές ώστε δεν έχουν αποφασιστική επίδραση στην ανάκλαση του φωτός [16].

### **Αποτελέσματα και σχολιασμός**

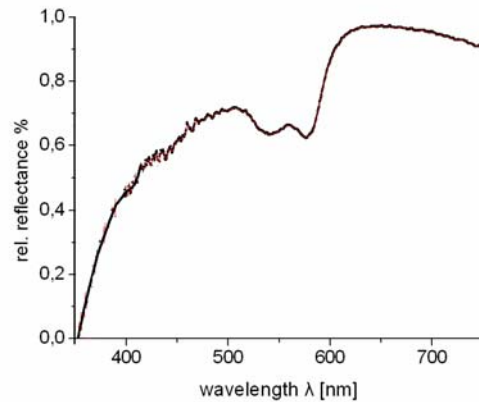
Ως αποτελέσματα παρουσιάζονται κατ’ αρχήν τα ίδια τα φάσματα που πάρθηκαν από διαφορετικούς ιστούς, προκειμένου να αξιολογηθεί η ικανότητα παροχής πληροφοριών από την μορφή τους και να αξιολογηθεί με τον υφιστάμενο εξοπλισμό η μέθοδος της φασματοσκοπίας διάχυτης ανάκλασης στην συγκεκριμένη φασματική περιοχή. Τα φάσματα που δείχνονται στα σχήματα 1, και 2 αποτελούν αντιπροσωπευτικά φάσματα που έχουν παρθεί από τα σημεία α) της εσωτερικής επιφάνειας παλάμης χεριού, β) της αντίστοιχης εξωτερικής της επιφάνειας και γ) των χειλιών ανθρώπου. Η μορφή της συνεχούς καμπύλης που αποδίδει την κατανομή των σχετικών ανακλάσεων στα μήκη κύματος από 350 – 750 nm που παριστάνονται στα επιμέρους φάσματα είναι χαρακτηριστική και σε συμφωνία με αντίστοιχες μετρήσεις άλλων εργασιών [8, 9, 16, 22-26]. Οι όποιες διαφορές οφείλονται στις χαρακτηριστικές του συστήματος φασματογράφου που χρησιμοποιεί κανείς, στη βαθμονόμηση του, καθώς και στην γεωμετρία της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και της διάταξης λήψης της ακτινοβολίας από ανάκλαση στο δερματικό ιστό.

Στα φάσματα αυτά η κλίμακα στον κατακόρυφο άξονα που παριστάνει την σχετική ανάκλαση ως % έχει κανονικοποιηθεί, έτσι ώστε οι διαφορές που παρουσιάζονται στην μορφή του να προβληθούν καλύτερα. Κάθε σειρά δεδομένων έχει διαιρεθεί δια της μέγιστης τιμής σχ. ανάκλασης κάθε φάσματος, με αποτέλεσμα μέγιστη τιμή του κατακόρυφου άξονα να προκύπτει το 1% (Σχήματα 1, 2).

Η μορφή του φάσματος ανάκλασης είναι τέτοια ώστε το ανακλώμενο φως να αποδίδει το προσπίπτον στην επιφάνεια του δέρματος φως, προερχόμενο από την φωτεινή πηγή που χρησιμοποιείται (λευκό φως πυράκτωσης, 2950 °K), διαμορφούμενο από τα οπτικά χαρακτηριστικά του δέρματος, ήτοι, τις διάφορες χρωμοφόρες ουσίες που εμπεριέχονται στα επιμέρους στρώματα του δέρματος. Σ’ αυτά μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται και ένα μέρος σκεδάζεται προς κάθε κατεύθυνση.



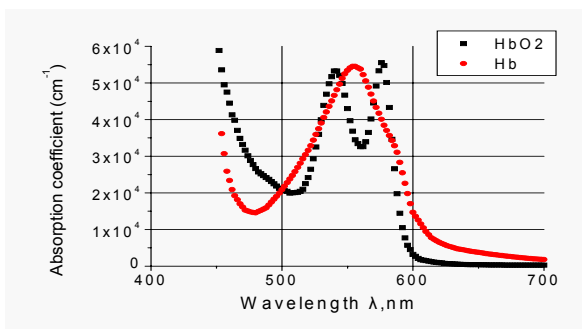
**Σχήμα 1.:** Φάσμα ανάκλασης επιδερμίδας από α) την εσωτερική επιφάνεια και β) την εξωτερική επιφάνεια στο χέρι ανθρώπου. Στον κατακόρυφο άξονα η σχετική ανάκλαση, ως ποσοστό, έχει υποστεί κανονικοποίηση. (χρόνος μέτρησης  $3 \cdot 10^3$  ms)



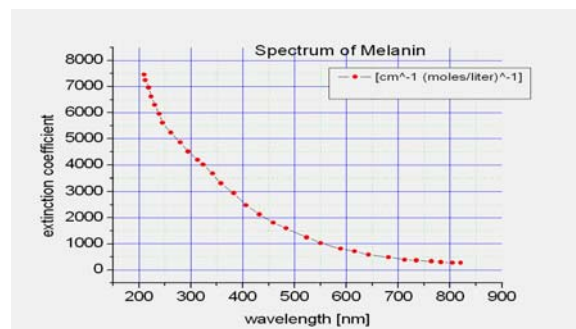
**Σχήμα 2.:** Φάσμα ανάκλασης από την περιοχή των χειλιών στο πρόσωπο ανθρώπου. Στον κατακόρυφο άξονα η σχετική ανάκλαση, ως ποσοστό, έχει υποστεί κανονικοποίηση. (χρόνος μέτρησης  $3 \cdot 10^3$  ms)

Σκέδαση και απορρόφηση οδηγούν σε μια εξασθένηση γενικότερα της έντασης του προσπίπτοντος φωτός κατά την ανάκλασή του, ενώ ειδικότερα διαμορφώνουν επίσης την φασματική κατανομή του. Έτσι φαίνεται εύκολα να αποδίδεται κατ' αντίστροφο τρόπο στο φάσμα του δέρματος στην περιοχή από 540 - 580 nm η μορφή που έχει το φάσμα της αιμοσφαιρίνης στις δύο της εκδοχές, οξυγονωμένη και μη.

Το σχήμα 1 μας δείχνει το φάσμα ανάκλασης από το εσωτερικό και εξωτερικό μέρος ενός χεριού. Και τα δυο φάσματα επιδεικνύουν μια βαθμιαία αύξηση σε σχέση με το μήκος κύματος με ένα βύθισμα γύρω στα (540 – 580) nm. Με σκοπό να δοκιμάσουμε αν οι μεταβολές κατά την μέτρηση του ίδιου δείγματος στο φάσμα ανάκλασης οφείλονται στη μελανίνη και σε τοπικές δομές του δέρματος (τρίχες, πόροι, κ.α) μετρήσαμε το εξωτερικό και εσωτερικό μέρος του χεριού, καθώς και από την περιοχή των χειλιών (Σχήμα 2). Και στα τρία φάσματα διαφαίνεται γενικά το ίδιο φασματικό προφίλ. Η ύπαρξη του μοτίβου “W”, υποδηλώνει την ύπαρξη αιμοσφαιρίνης στην μη οξυγονωμένη της μορφή.



**Σχήμα 3.:** Φάσμα απορρόφησης στην ορατή περιοχή από διάλυμα αιμοσφαιρίνης στην οξυγονωμένη και μη οξυγονωμένη μορφή της. Στον κατακόρυφο άξονα έχουν χρησιμοποιηθεί σχετικές μονάδες (arbitrary units) που αντιστοιχούν στον μοριακό συντελεστή απορρόφησης. [27]



**Σχήμα 4.:** Φάσμα απορρόφησης στην ορατή περιοχή από διάλυμα μελανίνης. Στον κατακόρυφο άξονα έχουν χρησιμοποιηθεί μονάδες  $[cm^{-1} (moles/liter)^{-1}]$  που αντιστοιχούν στον μοριακό συντελεστή απορρόφησης [27].

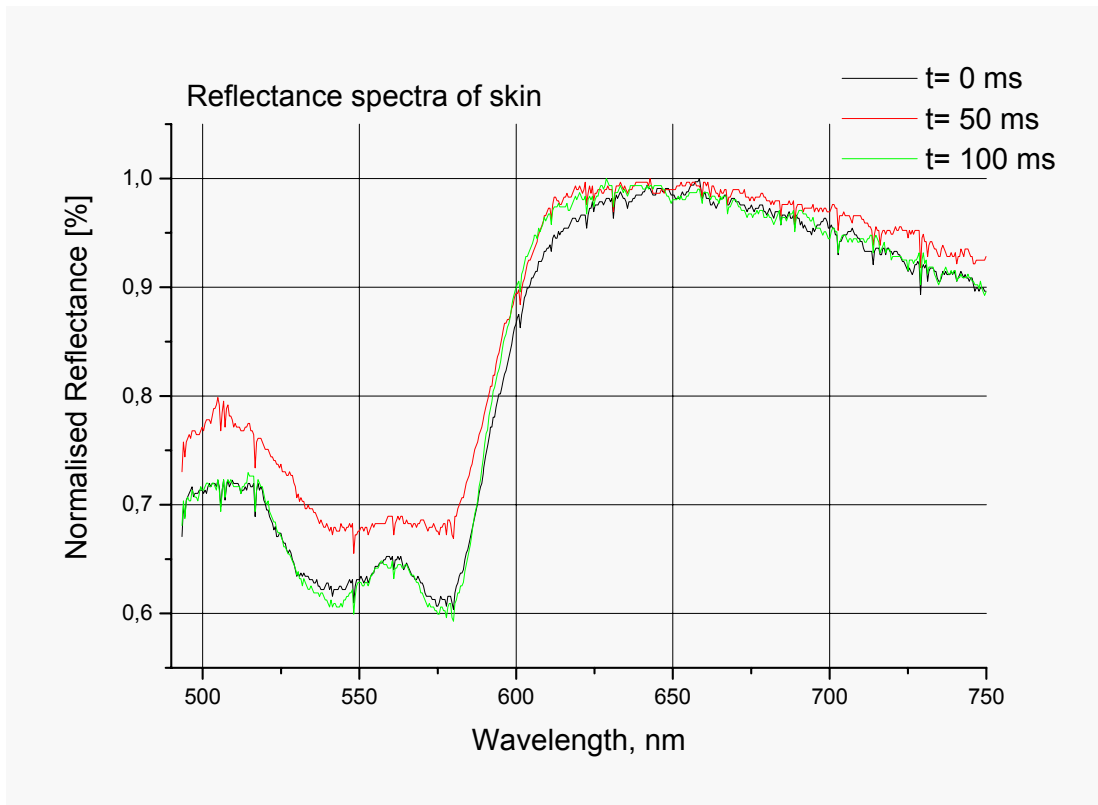


Όπως φαίνεται στο *σχήμα 3*, όπου τα φάσματα της αιμοσφαιρίνης, στην οξυγονωμένη της μορφή, κυρίαρχες φαίνονται οι δύο κορυφές, φασματικές ταινίες, γνωστές ως α και β, οι οποίες εξαφανίζονται υπέρ της μιας ταινίας στα 554 nm, όταν το μόριο έχει πλήρως απολέσει τα μόρια οξυγόνων του.

Η ακτινοβολία του φωτός πρώτα συναντά την επιδερμίδα. Η μελανίνη στην επιδερμίδα δρα ως ένα φίλτρο, όπου το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας αυξάνεται με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας (*σχήμα 4*). Το φως το οποίο δεν απορροφάται από την μελανίνη, διαπερνά την επιδερμίδα και φθάνει στο χόριο.

Στο χόριο, η αιμοσφαιρίνη στα αγγεία προκαλεί το φασματικό προφίλ “W”, στο φάσμα ανάκλασης. Το χόριο βάση βιβλιογραφίας περιέχει αγγεία αίματος, δηλαδή αιμοσφαιρίνη. Η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη έχει χαρακτηριστικές κορυφές απορρόφησης στα 420 nm, 542nm, 560nm και 576nm, ακριβώς εκεί όπου παρατηρούμε το “W” προφίλ (*Σχήμα 3*).

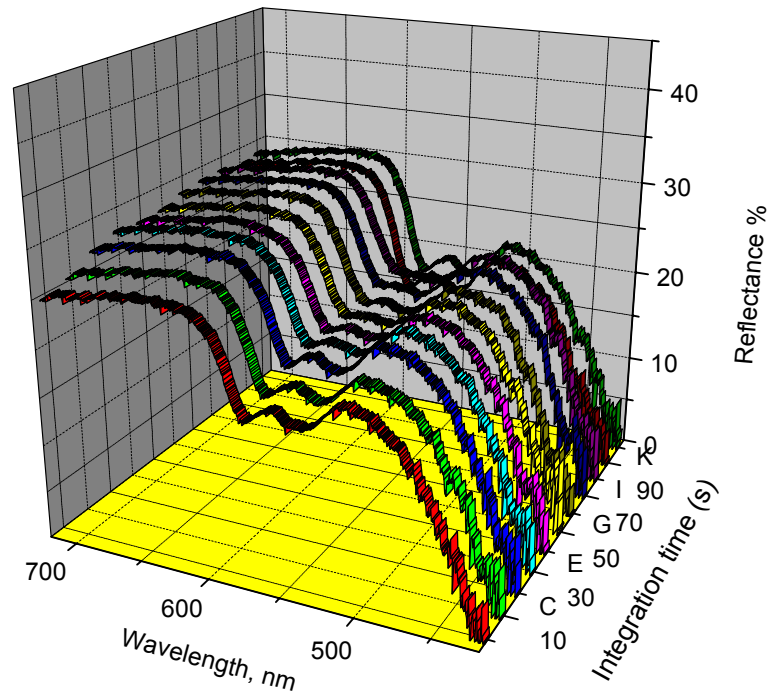
Παρατηρήθηκε με επιπρόσθετα πειράματα που κάναμε με σκουρότερα δέρματα μια μείωση στην ένταση της ανάκλασης, η οποία αποδίδεται στην αυξημένη παρουσία μελανίνης.



**Σχήμα 5.:** Φάσμα ανάκλασης επιδερμίδας (%) σε τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές πριν την υποξία, I, κατά την υποξία, II (με χρήση πίεσης), και μετά την οξυγονώση, III ( 10 s μετά την χαλάρωση της πίεσης) Στον κατακόρυφο άξονα η σχετική ανάκλαση, ως ποσοστό, έχει υποστεί κανονικοποίηση. (Χρόνος μέτρησης 60 s).

Από την γραφική παράσταση της διάχυτης ανάκλασης του σχήματος 5 βλέπουμε ότι η απόφραξη της αιμάτωσης μιας δερματικής περιοχής έχει ως αποτέλεσμα ένα σταδιακό κοκκίνισμα του δέρματος, το οποίο φαίνεται αρχικά από την μείωση στην ένταση της ανάκλασης (*Σχήμα 6*). Η ανακλαστικότητα μειώνεται γρήγορα, φθάνοντας σε κορεσμό σε 30

sec αργότερα (καμπύλη II) (Σχήμα 5). Η μείωση της ανάκλασης σε όλο το φάσμα είναι σύμφωνο με την αύξηση της χωρικής συγκέντρωσης του αίματος, όπως προβλέπεται από το μοντέλο διάχυσης [28]. Κατά την υποξία έχουμε εξαφάνιση των δυο χαρακτηριστικών κορυφών της οξυ-αιμοσφαιρίνης στα 542 και 577 nm, μαζί και την αύξηση στην κορυφή της δυοξυ-αιμοσφαιρίνης στα 760 nm, μια και αυτή δημιουργείται με αυτές τις συνθήκες [26, 29], όπως φαίνεται εμφανώς στο αρχικό φάσμα πριν την κανονικοποίηση (Σχήμα 6). Μετά την χαλάρωση της πίεσης η οξυγόνωση και η χωρική συγκέντρωση του αίματος επιστρέφουν με πιο ταχείς ρυθμούς στις βασικές τους τιμές (καμπύλη III) ( Σχήμα 5)



**Σχήμα 6.:** Φάσμα ανάκλασης επιδερμίδας (%) σε διαφορετικές χρονικές στιγμές πριν την υποξία, I, κατά την υποξία, II (με χρήση πίεσης), και μετά την οξυγόνωση, III ( 10 s μετά την χαλάρωση της πίεσης) Στον κατακόρυφο άξονα η ανάκλαση [%]. (Χρόνος μέτρησης 60 s).

## Συμπεράσματα

Οι πρώτες ενδείξεις από τις μετρήσεις στα διάφορα συστήματα και παραδείγματα που αναφέρονται δείχνουν ότι είναι δυνατή με την υφισταμένη υποδομή και εξοπλισμό που διατίθεται στο Εργαστήριο Φυσικής του ΑΤΕΙ Αθηνών να πραγματοποιηθούν ακριβείς και αξιόπιστες μετρήσεις, σύμφωνες με αντίστοιχες άλλων εργαστηρίων με διεθνή πείρα, καθώς και με αξιοποιήσιμα αποτελέσματα ιατρικού ενδιαφέροντος.

Επιπλέον πειράματα είναι υπό εξέλιξη για ταυτοποίηση του δερματικού τύπου, για αντικειμενικό προσδιορισμό του χρωματότυπού του, καθώς επίσης προκειμένου για την εκτίμηση της δυνατότητας άντλησης πληροφοριών μέσα από τα φάσματα για πιθανή διαπίστωση και πρόωρη διάγνωση δερματικών ασθενειών κλπ.

Επιπρόσθετη διερεύνηση της κινητικής οξυγόνωσης είναι υπό μελέτη, καθώς και μια στατιστική επεξεργασία των φασμάτων.

## Βιβλιογραφία

1. Edwards EA, Duntley SQ: The pigment and color of human skin. *Am J Anat* 65:1-33, 1939
2. Anderson RR, Parrish JA: The optics of human skin. *J Invest Dermatol* 77:13-19, 1981
3. Van Gemert MJC, Jacques SL, Sterenborg HJCM, Star WM: Skin optics. *IEEE Trans. Biomed. Eng* 36:1146-1154, 1989
4. Graaff R, Dassel ACM, Koelink MH, de Mul FFM, Aarnoudse JG, Zijlstra WG: Optical properties of human dermis in vitro and in vivo. *Appl Opt* 32:435-447, 1993
5. K.S. Stenn, The skin, in: L. Weiss (Ed.), *Cell and Tissue Biology*, Urban & Schwarzenberg, Baltimore, MD, 1988, pp. 541- 572.
6. G.F. Odland, Structure of the skin, in: L.A. Goldsmith (Ed.), *Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin*, vol. I, Oxford University Press, Oxford, 1991, pp.3-62.
7. A.R. Young: Chromophores in human skin. *Phys. Med.Biol.* 42: pp.789- 802, 1997
8. I.V. Meglinski, S.J. Matcher: Computer simulation of the skin reflectance spectra. *Computer Methods and Programs in Biomedicine.* 70: 179-186, 2003
9. Shanthi S, Singh M. Laser reflectance imaging of mammalian organs under in vitro conditions., *Innov Technol Biol Med* 17: 443 –451, 1996
10. D. Kumar, R. Srinivasan, Megha Singh: Optical characterization of mammalian tissues by laser reflectometry and Monte Carlo simulation. *Medical Engineering & Physics* 26: 363–369, 2004
11. Schmitt JM, Kumar G: Turbulent nature of refractive-index variations in biological tissue. *Opt Lett* 21: 1310-1312, 1996
12. P.S. Talreja, G.B. Kasting, N.K. Kleene, W.L. Pickens, and T. Wang: Visualization of the lipid barrier and measurement of lipid pathlength in human stratum corneum. *AAPS PharmSci*, 3:1–9, 2001
13. M.A. Everett, E. Yeagers, R.M. Sayre, and R.L. Olsen: Penetration of epidermis by ultraviolet rays. *Photochemistry and Photobiology* 5:533–542, 1966
14. M. Doi and S. Tominaga: Spectral estimation of human skin color using the Kubelka-Munk theory. In *SPIE/IS&T Electronic Imaging*, pp. 221–228. SPIE, vol. 5008, 2003
15. I.V. Meglinsky and S.J. Matcher: Modelling the sampling volume for skin blood oxygenation. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 39:44–49, 2001
16. E Angelopoulou: The Reflectance Spectrum of Human Skin Technical Report MS-CIS-99-29, 1999.
17. R. Flewelling. Noninvasive optical monitoring. In J.D. Bronzino (ed), *The Biomedical Engineering Handbook*, pp. 1–11, Boca Raton, FL, USA, 1981. IEEE Press. Section 86.
18. Brunsting, L. A. and Sheard, C: The Color of the Skin as Analyzed by Spectrophotometric Methods: II. The Role of Pigmentation. *The Journal of Clinical Investigation*, 7:574-592, 1929
19. W.G. Zijlstra, A. Buursma and W.P. Meeuwse-van der Roest,: Absorption Spectra of Human Fetal and Adult Oxyhemoglobin, De-oxyhemoglobin, Carboxyhemoglobin, and Methemoglobin. *Clinical Chemistry* 37: 1633- 1638, 1991
20. S. Alaluf, U. Heinrich, W. Stahl, H. Tronnier, and S. Wiseman. Dietary carotenoids contribute to normal human skin color and uv photosensitivity. *Journal of Nutrition*, 132:399–403, 2002
21. R. Lee, M.M. Mathews-Roth, M.A. Pathak, and J.A. Parris: The detection of carotenoid pigments in human skin. *Journal of Investigative Dermatology* 64: 175–177, 1975
22. Spectrophotometric assessment of pigmented skin lesions: methods and feature selection for evaluation of diagnostic performance, V P Wallace, D C Crawford, P S Mortimer, R J Ott and J C Bamber, *Phys. Med. Biol.* 45: 735–751, 2000.
23. Increase of Dermal Blood Volume Fraction Reduces the Threshold for Laser-Induced Purpura: Implications for Port Wine Stain Laser Treatment Lars O. Svaasand, Guillermo Aguilar, John A. Viator, Lise L. Randeberg, Sol Kimel, and J. Stuart Nelson, *Lasers in Surgery and Medicine* 34:182–188, 2004
24. Melanin and blood concentration in human skin studied by multiple regression analysis: experiments, M Shimada, Y Yamada, M Itoh and T Yatagai, *Phys. Med. Biol.* 46: 2385–2395, 2001
25. Pigmented skin lesions studied by VIS- NIR reflectance spectroscopy in the Canary Islands: preliminary study, M. Cordo Chinaea, J. R. Sendra Sendra, S. M. López Silva, A. Viera Ramirez, *Proc.SPIE*, 5119: 189-198, 2003

26. Skin Melanin, Hemoglobin, and Light Scattering Properties can be Quantitatively Assessed In Vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy, George Zonios, Julie Bykowski, and Nikiforos Kollias, J Invest Dermatol. 117:1452-1457, 2001
27. <http://omlc.orgi.edu/spectra/>
28. Tissue parameters determining the visual appearance of normal skin and port-wine stains, Svaasand LO, Norvang LT, Fiskerstrand EJ, Stopps EKS, Berns MW, Nelson JS., Lasers Med Sci. 10: 55-65, 1995
29. <http://omlc.orgi.edu/spectra/hemoglobin/summary.html>

### **Αναφορές**

Η εργασία αυτή εντάσσεται σε ερευνητικό πρόγραμμα «ΑΘΗΝΑ 2004» που έχει εγκριθεί και χρηματοδοτείται μέσα από τα κονδύλια έρευνας του Ειδικού Λογαριασμού του ΤΕΙ Αθήνας.