



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΟΠΤΙΚΗΣ & ΟΠΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βιολογικός ιστός ως οπτικό υλικό

Τζουτζούκης Νικόλαος Α.Μ. 557

Σαλιχάι Αρμπιόν Α.Μ. 224

Επιβλέπων Καθηγητής : Θανόπουλος Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Αίγιο- 2017

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Παρούσα πτυχιακή εργασία με τίτλο «Βιολογικός ιστός ως οπτικό υλικό» εκπονήθηκε στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των προϋποθέσεων για την λήψη των πτυχίων μας από το Α.Τ.Ε.Ι Δυτικής Ελλάδας, σχολή επαγγελματιών υγείας και πρόνοιας, τμήμα Οπτικής και Οπτομετρίας, το οποίο στεγάζεται και εδρεύει στο Αίγιο Αχαΐας. Στην εργασία μας αναλύουμε και περιγράφουμε την αλληλεπίδραση μεταξύ του ορατού φωτός και των βιολογικών ιστών κυρίως μέσω των φαινομένων της σκέδασης και της απορρόφησης. Απλούστερα την ικανότητα του φωτός να προσπίπτει, και να διεισδύει σε έναν ιστό καθώς και τις οπτικές ιδιότητες ενός ιστού στον οποίο επιδρά το φως

Σκοπός μας κατά τη διάρκεια της συγγραφής, δεν ήταν μόνο η ορθή και όσο το δυνατόν πληρέστερη ανάλυση του θέματος. Έγινε προσπάθεια, έτσι ώστε το περιεχόμενο της εργασίας να είναι κατανοητό και σαφές, γι' αυτό και η ανάλυση του θέματος έγινε με τη χρήση πληθώρας διαγραμματικών αναπαραστάσεων, και πινάκων. Ελπίζουμε το περιεχόμενό της να καλύπτει, όχι μόνο το εξεταζόμενο θέμα, αλλά και να ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις των καθηγητών μας.

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας προς τον επιβλέποντα καθηγητή μας, κ. Ιωάννη Θανόπουλο για τη βοήθεια και τις χρήσιμες ιδέες του, που συνέβαλαν στην βελτίωση της εργασίας μας. Ευχαριστούμε επίσης το Ίδρυμα, τη σχολή και το τμήμα, καθώς και όλους τους καθηγητές της σχολής μας που συνέβαλαν στην απόκτηση των απαραίτητων γνώσεων για την επιτυχή έως τώρα φοίτησή μας αλλά και που δημιούργησαν μέσω της διδασκαλίας τους τις προϋποθέσεις να αγαπήσουμε τον κλάδο της Οπτικής και Οπτομετρίας και δυνητικά να επιτύχουμε σε αυτόν στο μέλλον.

Τέλος, και περισσότερο απ' όλους οφείλουμε να ευχαριστήσουμε τις οικογένειές μας διότι χωρίς εκείνους η δυνατότητα των σπουδών και της απόκτησης ενός πτυχίου θα ήταν ένα πολύ δύσκολο έως αδύνατο εγχείρημα. Τους ευχαριστούμε που στάθηκαν δίπλα μας και για την υπομονή που υπέδειξαν μέχρι την επιστροφή μας στην οικογενειακή εστία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<i>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</i>	1
<i>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</i>	2
<i>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</i>	3
<i>SUMMARY</i>	4
<i>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</i>	5
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΦΩΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΙΣΤΟΙ</u>	7
1.1 Σκέδαση	10
1.2 Απορρόφηση....	13
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΟΠΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΣΤΩΝ</u>	16
2.1 Εισαγωγή στις οπτικές ιδιότητες των ιστών.....	16
2.2 Ο Ανηγμένος συντελεστής σκέδασης των βιολογικών ιστών	17
2.3 Συντελεστής σκέδασης μ_s και ανισοτροπία g	23
2.4 Ο δείκτης διάθλασης n	29
2.5 Συντελεστής απορρόφησης μ_a	30
2.5.1 Αίμα	32
2.5.2 Νερό	33
2.5.3 Μελανίνη	34
2.5.4 Λιπόδης ιστός και λίπος	37
2.5.5 Κίτρινες χρωστικές	38
2.6 Γενικός τύπος ιστού	39
<i>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</i>	44
<i>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</i>	45

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μια επισκόπηση των οπτικών ιδιοτήτων που αφορούν σε βιολογικούς ιστούς, συνοψίζει τη συμπεριφορά ενός ιστού όταν σκεδάζει ή απορροφά ακτινοβολία διαφόρων μηκών κύματος. Παρουσιάζονται φόρμουλες για την περιγραφή των οπτικών ιδιοτήτων ενός τυπικού βιολογικού ιστού ο οποίος μπορεί να περιέχει διαφορετικά ποσοστά χρωμοφόρων (που μπορούν δηλαδή να απορροφήσουν ορατή ακτινοβολία) ουσιών όπως αίμα, νερό, μελανίνη, λίπος, κίτρινες χρωστικές) και μια μεταβλητή ποικιλία σκεδαστών μικρής κλίμακας και σκεδαστών μεγάλης κλίμακας που αποτελούν οι στιβάδες κυττάρων αλλά και ιστών.

SUMMARY

A review of reported tissue optical properties summarizes the wavelength-dependent behavior of scattering and absorption. Formulae are presented for generating the optical properties of a generic tissue with variable amounts of absorbing chromophores (blood, water, melanin, fat, yellow pigments) and a variable balance between small-scale scatterers and large-scale scatterers in the ultrastructures of cells and tissues.

Εισαγωγή

Οι οπτικές ιδιότητες ενός ιστού επηρεάζουν τόσο τις διαγνωστικές όσο και τις θεραπευτικές εφαρμογές του φωτός. Η ικανότητα του φωτός να διαπερνά έναν ιστό, αποκαλύπτοντας τα συστατικά του, όταν εξετάζουμε το φως που λαμβάνουμε μετά την σκέδαση του, είναι το κλειδί για πολλές διαγνωστικές εφαρμογές. 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. Ως εκ τούτου, με τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων ενός ιστού κάνουμε το πρώτο βήμα για τον σχεδιασμό κατάλληλων μηχανημάτων ανίχνευσης αλλά και ερμηνείας των μετρήσεων που λαμβάνουμε, ώστε να προκύψει μία διάγνωση ή να σχεδιαστούν θεραπευτικά πρωτόκολλα. Το δεύτερο βήμα είναι να χρησιμοποιήσουμε τις οπτικές ιδιότητες σε ένα απλοποιημένο μοντέλο μετάδοσης φωτεινής ενέργειας με το οποίο θα προβλέψουμε την κατανομή του φωτός και την αντίστοιχη εναπόθεση της ενέργειάς του. Η συγκεφαλαίωση αυτή δεν έχει σκοπό να περιγράψει θέματα φωτεινών μεταδόσεων αλλά θα επικεντρωθεί στις αναμενόμενες οπτικές ιδιότητες των διαφόρων τύπων ιστών, και κυρίως στο πώς μπορεί να συνοψίσει κανείς συστηματικά τις οπτικές ιδιότητες ενός ιστού για οποιοδήποτε δεδομένο μήκος κύματος.

Στο παρελθόν, μέσω άλλων αξιολογήσεων δημιουργήθηκαν πίνακες των οπτικών ιδιοτήτων (απορρόφηση, σκέδαση, ανισοτροπία, μειωμένη σκέδαση, δείκτης διάθλασης) διαφόρων ιστών που μετρήθηκαν για κάποια δεδομένα (λίγα ή περισσότερα) μήκη κύματος. Τέτοιοι εξαιρετικά χρήσιμοι πίνακες ήταν οι : Cheong 1995, Kim και Wilson 2011, Sandell και Zhu 2011, Bashkatov et al 2011. Αλλά αν κάποιος χρειαζόταν να ξέρει τις οπτικές ιδιότητες ενός συγκεκριμένου ιστού in vivo, θα ήταν σίγουρος για την ακρίβεια των αποτελεσμάτων του, αν λάμβανε υπόψη τις τιμές των πινάκων αυτών ;

Πρώτα από όλα, οι τιμές των πινάκων μπορεί να μην είναι ακριβείς λόγω ανακρίβειας μιας μέτρησης που προέρχεται από λανθασμένη οπτική εικόνα. Δεύτερον, ο ζωντανός ιστός ενός συγκεκριμένου ατόμου παρουσιάζει διακυμάνσεις στη περιεκτικότητα αίματος, στη περιεκτικότητα νερού, στη περιεκτικότητα κολλαγόνου και τη διαμόρφωση των ινών. Οι διακυμάνσεις αυτές είναι αξιοσημείωτες από άτομο σε άτομο, από περιοχή σε περιοχή του ιστού ή ακόμα και για την ίδια περιοχή στη πάροδο του χρόνου. Οι πίνακες τιμών μπορεί να μην περιλαμβάνουν το μήκος κύματος που μας ενδιαφέρει. Ίσως να είναι πιο χρήσιμο να κατανοήσουμε την αναμενόμενη τυπική συμπεριφορά των οπτικών ιδιοτήτων, και να προβλέψουμε εκείνη τη διακύμανση στη σύσταση του ιστού που μας δίνει τις οπτικές ιδιότητες του ιστού σε οποιοδήποτε επιθυμητό μήκος κύματος.

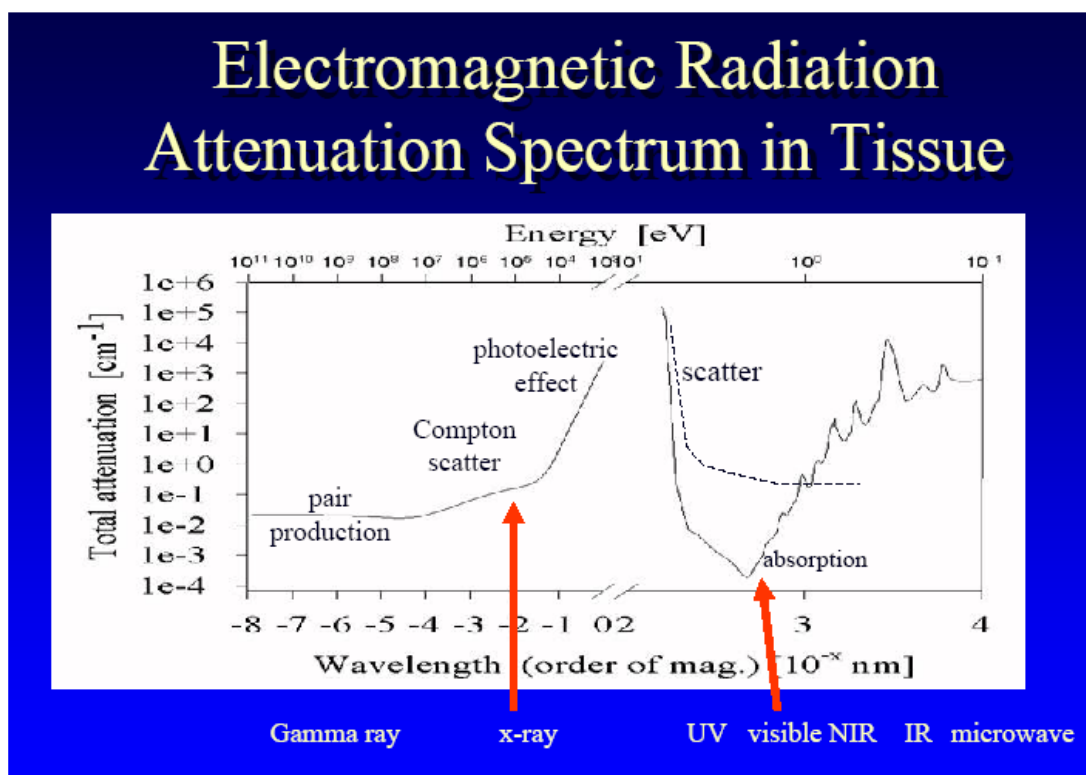
Αυτή η ανασκόπηση συνοψίζει το συντελεστή οπτικής απορρόφησης ενός ιστού, μ_a , σε όρους μέσης τιμής της αιμοσφαιρίνης (HGb) και της συγκέντρωσης της (CHGb) στον ιστό ή εναλλακτικά, ως κλάσμα του συνολικού όγκου του αίματος (B), η του αρτηριοφλεβικού κορεσμού (S) του οξυγόνου της HGb στο αίμα, ή της μέσης περιεκτικότητας σε νερό (W) και της μέσης περιεκτικότητας σε λίπος (F). Αυτές οι παράμετροι σχεδιάζονται σε ένα πρότυπο φάσμα απορρόφησης. Εάν υπάρχουν άλλες ουσίες στον ιστό με μικρή δυνατότητα απορρόφησης όπως μελανίνη, χολερυθρίνη, β-καροτένιο, κ.λ.π.), αυτές μπορούν να προστεθούν στη συνολική απορρόφηση του ιστού.

Η ανασκόπηση αυτή επίσης εξετάζει τον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης, μ'_s , από τις παραμέτρους (a , b), ή εναλλακτικά τις (a' , $f_{Rayleigh}$, b_{Mie}) (εξηγείται στη συνέχεια). Αυτές οι παράμετροι καθορίζουν ένα πρότυπο συμπεριφοράς σκέδασης σε σχέση με το μήκος κύματος. Ως εκ τούτου, τα δεδομένα για τουλάχιστον τρία μήκη κύματος είναι επαρκή για να γίνει πρόβλεψη της σκέδασης για όλα τα μήκη κύματος στο υπεριώδες, ορατό και κοντινό υπέρυθρο φάσμα ακτινοβολίας. Οι συντελεστές μ'_s και μ_a περιγράφουν τη διάχυση του φωτός σε έναν ιστό και την ανάκλαση του πολλαπλώς σκεδασμένου φωτός από τον ιστό. Αυτές οι οπτικές ιδιότητες διέπουν την ανακλαστικότητα ενός ιστού όπως αυτός παρατηρείται μέσω μιας φωτογραφικής μηχανής ή την παράπλευρη διάχυση του φωτός μέσα σε ένα ιστό όπως αυτή συλλέγεται από ένα ανιχνευτή οπτικής ίνας. Η ανασκόπηση συνεξετάζει επίσης τις αναφορές του συντελεστή σκέδασης ιστού, μ_s , και της φασικής συνάρτησης πιθανότητας απλής σκέδασης σε σχέση με τη γωνία σκέδασης, $p(\theta)$, που με τη σειρά της επιτρέπει τον υπολογισμό της ανισοτροπίας, g , η οποία χαρακτηρίζει την αποτελεσματικότητα της σκέδασης. Ο δείκτης πραγματικής διάθλασης (n') των ιστών συζητείται, σε συσχέτιση με μετρήσεις από συμβολόμετρο και ορισμένες εφαρμογές μικροσκοπίας.

Αυτές οι τρεις παράμετροι (μ'_s , g , n') επιδρούν στο πώς το φως διεισδύει κατά την εστίασή του και επιστρέφει μέσα από ένα μικροσκόπιο. Στην ενότητα 1 γίνεται μια εισαγωγή στις βασικές οπτικές ιδιότητες ενός ιστού. Στην ενότητα 2 εξετάζεται ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης των ιστών. Στην ενότητα 3 συζητείται ο συντελεστής σκέδασης και η ανισοτροπία της σκέδασης. Στην ενότητα 4 περιγράφεται ο δείκτης διάθλασης. Στην ενότητα 5 συνοψίζουμε τις ιδιότητες απορρόφησης του αίματος, του νερού, της μελανίνης, των λιπών και των κίτρινων χρωστικών. Τέλος στην ενότητα 6 παρουσιάζουμε ένα σχήμα πινάκων υπολογιστικής τάξης για την πρόβλεψη των οπτικών ιδιοτήτων ενός ιστού για οποιοδήποτε μήκος κύματος με βάση τα συστατικά αυτού του ιστού.

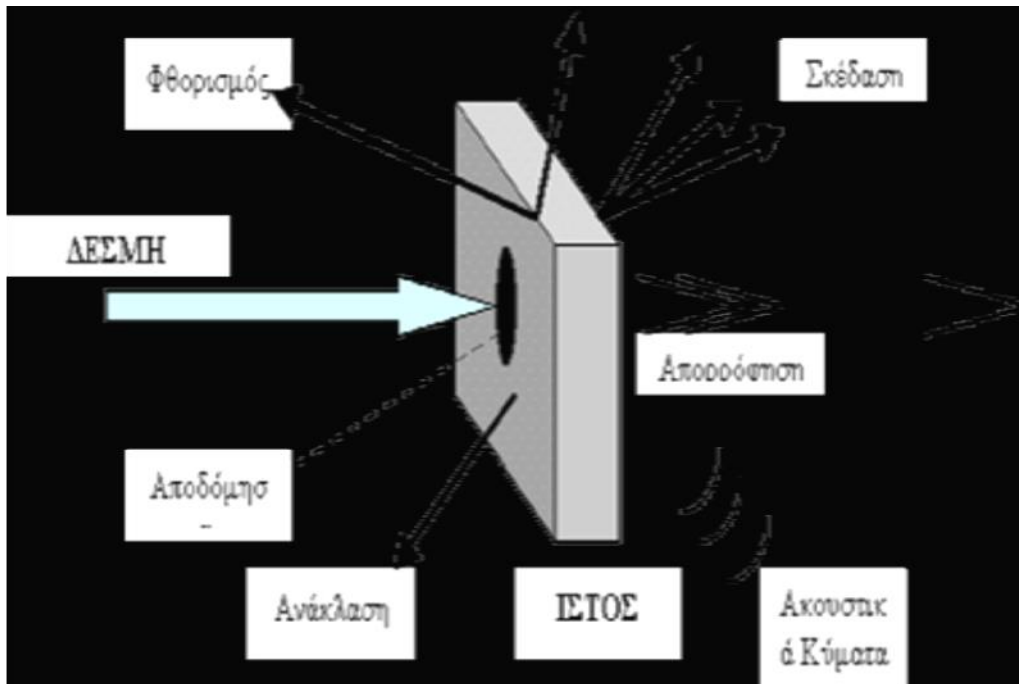
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Φως και βιολογικοί ιστοί

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία , μέρος της οποίας είναι και το ορατό φως αλληλεπιδρά με την ύλη είτε οργανική in vivo και in vitro, είτε ανόργανο. Πιο συγκεκριμένα η αλληλεπίδραση της με έναν βιολογικό ιστό είτε in vivo, είτε in vitro παρουσιάζεται σχηματικά στην πιο κάτω εικόνα 1 ως φάσμα της εξασθένησής της (total attenuation) μετά την αλληλεπίδραση με τον ιστό.



Εικόνα 1 :Αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και βιολογικού ιστού. [45]

Εύκολα παρατηρούμε ότι πολύ διαφορετικά και σημαντικά φαινόμενα συμβαίνουν αναλόγως του μήκους κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που αλληλεπιδρά με τον βιολογικό ιστό . Ειδικά στη περιοχή (φάσμα) του ορατού φωτός συμβαίνουν δύο βασικά φαινόμενα η σκέδαση και η απορρόφηση (βλέπε σχηματικά στην παρακάτω εικόνα 2)



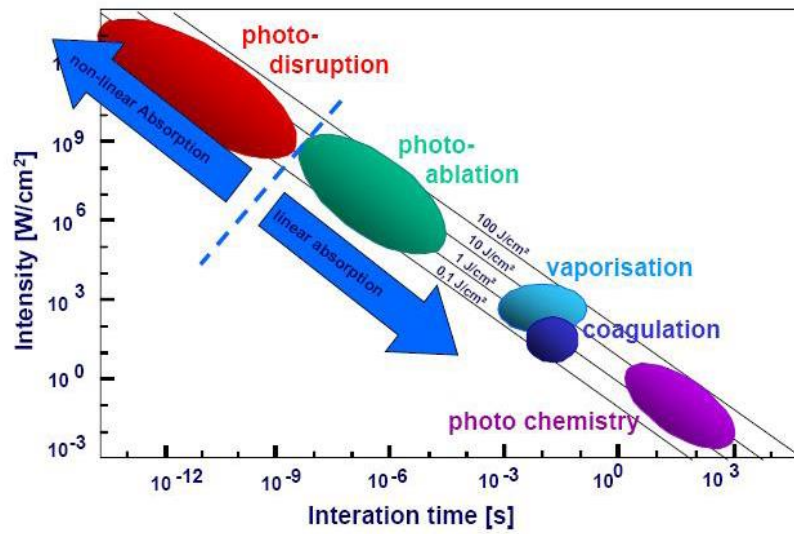
Εικόνα 2 : Αλληλεπίδραση ορατού φωτός και βιολογικού ιστού.

[39]

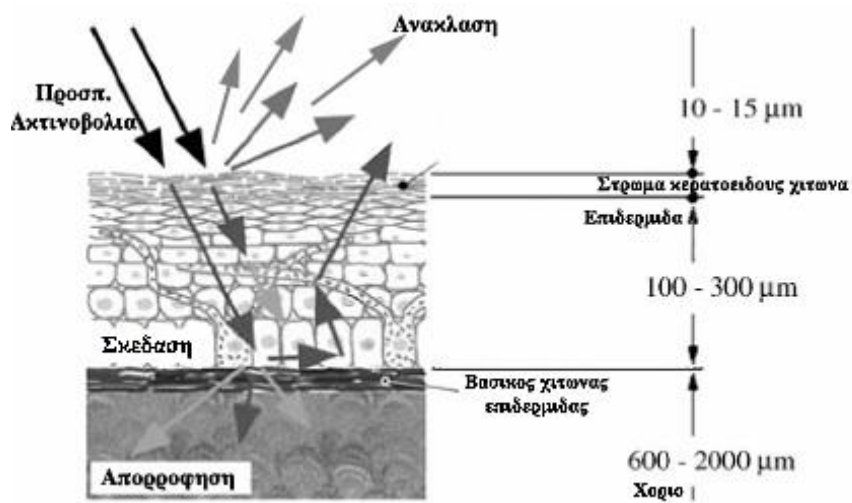
Συνέπεια των φαινομένων αυτών και κυρίως της απορρόφησης είναι σταδιακά η υπερθέρμανση του βιολογικού ιστού, η χημική αλλοίωση του, η πήξη, η εξάχνωση και τελικά, όταν το ποσό της φωτεινής ενέργειας είναι πολύ μεγάλο και συγκεντρωμένο (όπως στο οπτικό LASER), η αποκοπή τμημάτων του ιστού ή τέλος η εκρηκτική του αποσύνθεση και εξάλειψη (εικόνα 3). Μέσω των προηγούμενων φαινομένων οδηγούμαστε σε συσκευές χειρουργείου ή θεραπείας πολλών παθήσεων. Αντίθετα εκμεταλλευόμενοι το φαινόμενο της σκέδασης μπορούμε μέσω του 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.

Ως παραγωγικό παράδειγμα φέρνουμε παρακάτω στις εικόνες 3 και 4 τον περισσότερο γνωστό μας δερματικό ιστό, και τις ανάλογες οπτικές διεργασίες πάνω σε αυτόν.

Laser Tissue Interaction



Εικόνα 3 : Δράσεις φωτός επί δερματικού βιολογικού ιστού . [2]



Εικόνα 4 : Φαινόμενα επί δερματικού βιολογικού ιστού σε βάθος. [66]

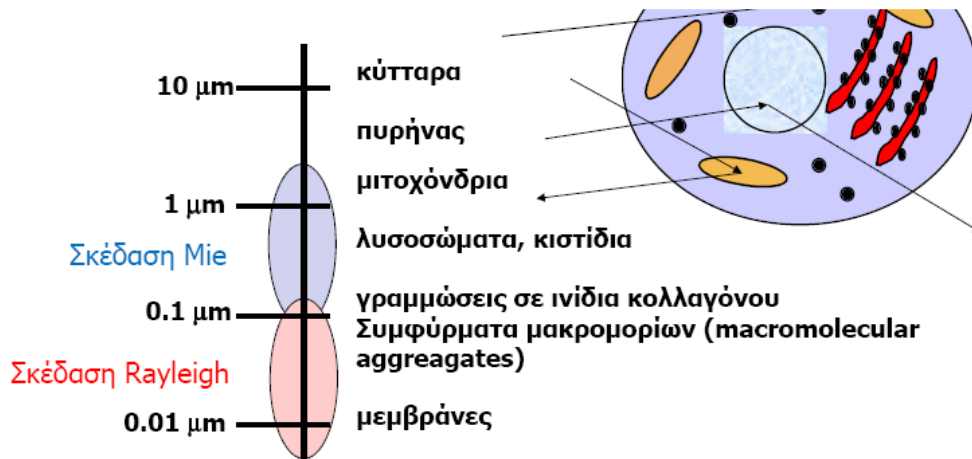
Στην εικόνα 5 παρουσιάζονται ακόμη οι ουσίες που εμπεριέχονται στον προτεινόμενο ιστό και φυσικά συνεισφέρουν τόσο στη σκέδαση όσο και την απορρόφηση φωτός .



Εικόνα 5 : Χρωμοφόρες ουσίες βιολογικών ιστών (όχι μόνο δερματικών). [20]

1.1 Σκέδαση

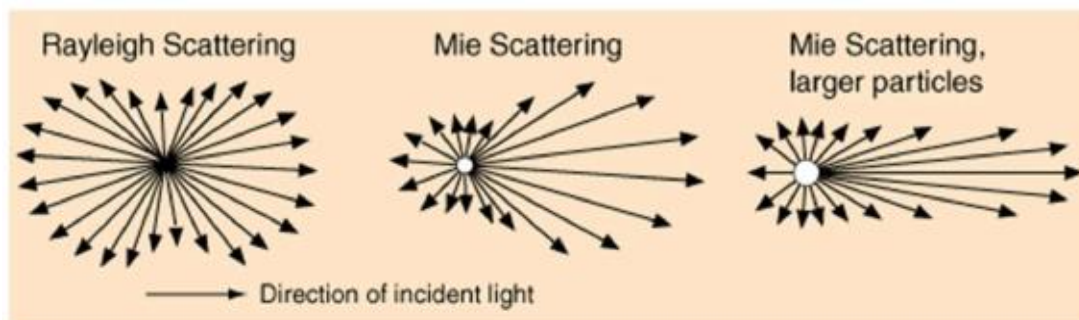
Το φαινόμενο αυτό που παρατηρείται όταν φώς προσπίπτει πάνω σε έναν βιολογικό ιστό και αλλάζει κατεύθυνση ή κατευθύνσεις, χωρίς να χάνεται μέρος της συνολικής ενέργειας. Οι δομές ή συστατικά ενός ιστού συμβάλλουν με διαφορετικό τρόπο και ποσοστό στο φαινόμενο αυτό. Τόσο οι μακροσκοπικές δομές όπως οι ίνες όσο και εκείνες διαστάσεων μακρομορίων ή οργανιδίων των κυττάρων που ανήκουν στη μικροσκοπική κλίμακα. Γενικά η σκέδαση είναι αντικείμενο μελέτης της φυσικής οπτικής και διακρίνεται σε δύο κατηγορίες. Την σκέδαση τύπου Rayleigh όταν το πάχος του ιστού στη περίπτωση μας είναι πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος ακτινοβολίας και την σκέδαση τύπου Mie, όπου το πάχος του ιστού είναι μεγαλύτερο ή ίσο του μήκος κύματος. Στην πραγματικότητα, 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 ιών κολλαγόνου, το ποσοστό λίπους ή νερού στον ιστό κ. ά. (Εικόνα 6)



Εικόνα 6 : Τύποι σκέδασης σε βιολογικούς ιστούς . [1]

Η σκέδαση Rayleigh είναι μάλλον ιστροπική (εικόνα 7) δηλαδή το φως εκτρέπεται προς όλες τις κατευθύνσεις κατά το ίδιο ποσοστό και εξαρτάται οπωσδήποτε από το μήκος κύματος, ως εξής :

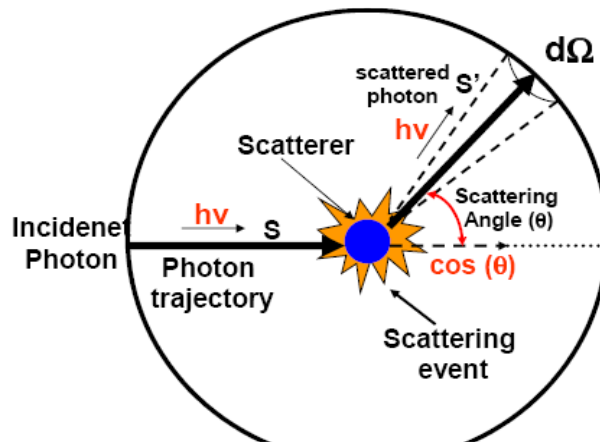
$$I \propto \frac{1}{\lambda^4}$$



Εικόνα 7 : Τύποι σκέδασης και κατεύθυνση. [22]

Αντιθέτως η σκέδαση τύπου Mie δεν εξαρτάται από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, αλλά παρουσιάζει μεγαλύτερη ανισο- τροπία κατά τη διάχυση του φωτός.

Ο όρος αυτός μας εισάγει ένα μέγεθος μελέτης της σκέδασης πολύ σημαντικό, τον συντελεστή ανισοτροπίας ή απλά ανισοτροπία g . Σχετική περιγραφή βλέπουμε στην εικόνα 8.



Εικόνα 8 : Ανισοτροπία σκέδασης φωτός. [22]

Παρατηρούμε ότι κατά τη σκέδαση έχουμε διάφορες γωνίες εκτροπής χωρίς να μεταβάλλεται όπως είπαμε η ενέργεια του φωτός. Έτσι για $g = 1$ έχουμε εξ' ολοκλήρου εμπρόσθια σκέδαση, για $g = -1$ εξ' ολοκλήρου οπίσθια σκέδαση και για $g = 0$ ιστροπική σκέδαση.

Ταυτόχρονα εισάγουμε ένα ακόμη μέγεθος για να χαρακτηρίσουμε κατά κάποιο τρόπο την ένταση της σκέδασης. Αυτό το μέγεθος είναι ο συντελεστής σκέδασης μ .

Εκφράζεται σε μονάδες αντίστροφου μήκους και έχει σχέση με την μέση ελεύθερη διαδρομή l_s του φωτός μέσα στον βιολογικό ιστό ως εξής :

$$l_s = \frac{1}{\mu_s}$$

Εξαρτάται δε και από τον αριθμό των σκεδαστών και τη διατομή σκέδασης ανά μονάδα όγκου του βιολογικού ιστού ως εξής :

$$\mu_s = N_s \sigma_s$$

Όπου N_s η αριθμητική πυκνότητα των σκεδαστών και σ_s η διατομή της σκέδασης (το εμβαδό του μετρούμενου δίσκου από ανιχνευτή, επί του ιστού που φωτίζεται).

Ο συντελεστής σκέδασης πρακτικά εκφράζει το μέσο μήκος ελεύθερης διαδρομής μέχρι να συμβεί μία πιθανή σκέδαση. Παραδείγματος χάριν στη περιοχή του ερυθρού φωτός και στο ανθρώπινο δέρμα, το μέσο ελεύθερο μήκος διαδρομής για να συμβεί απορρόφηση (θα δούμε στη συνέχεια το φαινόμενο αυτό) είναι 5 mm, ενώ το μέσο ελεύθερο μήκος διαδρομής για σκέδαση είναι 50 μm. Αυτό σημαίνει ότι, στατιστικά, ένα φωτόνιο σκεδάζεται 100 φορές μέχρι να απορροφηθεί.

Η λογική της σκέψης ότι μία εκτεταμένη ανισοτροπική σκέδαση μπορεί να αναλυθεί σε πολλές μικρές βήμα – βήμα ισοτροπικές, μας οδήγησε σε ένα νέο μέγεθος, τον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης μ_s' , ο οποίος συνδέει τον συντελεστή σκέδασης και την ανισοτροπία μέσω της σχέσης :

$$\mu_s' = (1 - g)\mu_s$$

Ουσιαστικά λοιπόν ο μ_s' αποτελεί τον ισοδύναμο ισοτροπικό συντελεστή μίας πραγματικής σκέδασης (που πάντα είναι ανισοτροπική) και είναι εξαιρετικά σημαντικός για τη μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των βιολογικών ιστών.

1.2 Απορρόφηση

Το φαινόμενο αυτό αφορά στη μετατροπή της ενέργειας μίας φωτεινής ακτίνας (ενός φωτονίου) σε θερμότητα ή σε δονήσεις των μορίων του βιολογικού ιστού πάνω στον οποίο προσπίπτει . Η απορρόφηση εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, από την χημική σύσταση του ιστού ή των επί μέρους συστατικών του (ουσιαστικά το ηλεκτρονιακό διάγραμμα καταστάσεων, αφού αυτές επηρεάζονται) καθώς και τη θερμοκρασία του. Εδώ πλέον ορίζουμε ένα νέο μέγεθος που καθορίζει την απορρόφηση τον συντελεστή απορρόφησης μ_a , με διαστάσεις αντιστρόφου μήκους κατ' αναλογία με τον συντελεστή σκέδασης , ως εξής :

$$\mu_a = N_a \cdot \sigma_a$$

Όπου όμως N_a ο αριθμός απορροφητικών σωματιδίων ανά μονάδα όγκου (mol/cm³) και σ_a η ενεργός διατομή απορρόφησης (το μέγεθος της σκιάς που ανιχνεύεται). Ο

νόμος Lambert – Beer δίνει τη σχέση μεταξύ απορρόφησης και συγκέντρωσης του υλικού που απορροφά ως εξής :

$$I = I_0 e^{-\mu_a \cdot b}$$

Όπου I_0 η ένταση του εισερχόμενου φωτός και I η ένταση του εξερχόμενου, μετά την απορρόφηση, φωτός και b η διαδρομή που διανύει το φως μέσα στον ιστό.

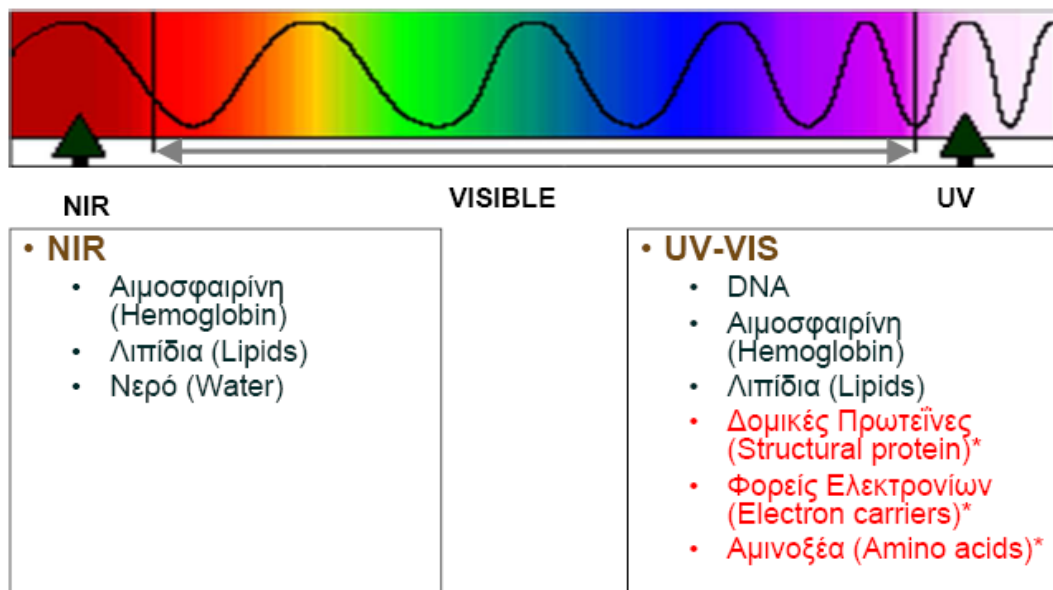
Ταυτόχρονα ορίζουμε και έναν ακόμη συντελεστή αυτόν της διαπερατότητας του ιστού T ως εξής :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Καθώς και τον λογάριθμό του που ονομάζεται «εξασθένιση» ή αλλιώς «οπτική πυκνότητα» που είναι ο λογάριθμός του :

$$A = -\log(T) = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Στους βιολογικούς ιστούς τα μόρια, τα οποία ευθύνονται κατά κύριο λόγο για την απορρόφηση είναι η αιμοσφαιρίνη, η μελανίνη, η ρετινόλη, τα πυρηνικά οξέα, το δεσοξυριβονουκλεϊνικό οξύ (DNA), το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA) κ.ά. Στην περιοχή του εγγύς υπέρυθρου (NIR) και του κεντρικού υπέρυθρου (MIR), η απορρόφηση που λαμβάνει χώρα στους ιστούς οφείλεται κυρίως στα μόρια του νερού, με μέγιστο βάθος στην περιοχή των 2,5 με 3 μm (εικόνα 10).



Εικόνα 9 : Απορρόφηση φωτός από τα συστατικά βιολογικών ιστών. [2]

Σκέδαση και απορρόφηση κατά την αλληλεπίδραση φωτός και βιολογικού ιστού συμβαίνουν ταυτόχρονα. Το άθροισμα του συντελεστή σκέδασης και του συντελεστή ανάκλασης ονομάζεται ολικός συντελεστής εξασθένησης μ_t (αναφορά και στην εικόνα 1) :

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

Η μέτρηση των παραπάνω οπτικών σταθερών των βιολογικών ιστών είναι μία απαιτητική εργασία . Ο ολικός συντελεστής εξασθένησης μπορεί να μετρηθεί στην περίπτωση, όπου μία παράλληλη δέσμη προσπίπτει σε ένα δείγμα βιολογικού ιστού με συγκεκριμένο πάχος και μόνο τα φωτόνια που διέρχονται από μέσο σκέδασης φτάνουν στον ανιχνευτή. Οι οπτικές παράμετροι του ιστού δεν μπορούν να μετρηθούν άμεσα. Μάλιστα απαιτούνται διαφορετικές θεωρήσεις και πολύπλοκες διαδικασίες μέτρησης για τον προσδιορισμό τους. Επιγραμματικά ονομάζουμε, χρήση μοντέλου Monte Carlo, θεωρία μεταφοράς, θεωρία διάχυσης. Για τις μετρήσεις μιλάμε στο δεύτερο κεφάλαιο (ανάλυση επιστημονικού άρθρου).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Οπτικές ιδιότητες των βιολογικών ιστών: Επισκόπηση

2.1 Εισαγωγή στις οπτικές ιδιότητες των ιστών.

Οι οπτικές ιδιότητες ενός ιστού περιγράφονται από τον συντελεστή απορρόφησης, μ_a (cm^{-1}), τον συντελεστή σκέδασης $\mu_s(\text{cm}^{-1})$ και τη φασική συνάρτηση πιθανότητας σκέδασης $p(\theta, \psi)(\text{sr}^{-1})$ όπου θ είναι η γωνία εκτροπής της διασποράς, ψ είναι η γωνία αζιμουθίου της διασποράς, και n' ο πραγματικός δείκτης διάθλασης του ιστού. Μια εισαγωγή σε αυτές τις ιδιότητες παρουσιάζεται και σε άλλες αναφορές (Cheong 1995, Jacques και Pogue 2008, Welch και van Gemert 2011).

Η $p(\theta, \psi)$ είναι κατάλληλη όταν συζητάμε για ένα μοναδικό ή έστω μερικά γεγονότα σκέδασης, όπως κατά τη διάρκεια μικροσκοπικής παρατήρησης λεπτών τομών ενός ιστού ή κατά τη διάρκεια ομοεστιακής μικροσκοπίας, η οποία περιλαμβάνει οπτική τομογραφία συνοχής. Σε παχύτερους ιστούς όπου λαμβάνουν χώρα πολλαπλές σκεδάσεις και οι προσανατολισμοί της σκεδαζόμενων ακτίνων στον ιστό είναι τυχαίοι, ο ψ τελεστής της σκέδασης είναι μεσοσταθμικός και κατά συνέπεια αγνοείται, και η πολλαπλή σκέδαση σταθμίζει τον θ στο μέσο όρο του ώστε να πάρει την μορφή $g = \langle \cos \theta \rangle$, η οποία ονομάζεται ανισοτροπία της διασποράς, και η οποία χαρακτηρίζει τη σκέδαση σε ιστούς, από την άποψη της σχετικής προς τα εμπρός σε σχέση με την προς τα πίσω κατεύθυνση της διασποράς. Το σχήμα 1 συνοψίζει αυτές τις ιδιότητες και τις σχέσεις μεταξύ τους.

Μια οπτική σκέδαση μπορεί να περιγραφεί είτε ως σκέδαση από σωματίδια που έχουν διαφορετικό δείκτη διάθλασης από το μέσο που τα περιβάλλει, είτε ως σκέδαση από ένα μέσο με συνεχή δείκτη διάθλασης ο οποίος όμως παρουσιάζει διακυμάνσεις. Η περιγραφή των σωματιδίων προσεγγίζεται από τη θεωρία Mie, η οποία περιγράφει τη σκέδαση από τέλειες και ιδανικές σφαίρες οι οποίες βρίσκονται μέσα σε ένα μέσο (Prah1 και Zak 2012).

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

Σχήμα 1: Οι οπτικές ιδιότητες ενός ιστού (Absorption : απορρόφηση, Scattering : σκέδαση, Scattering function : συνάρτηση σκέδασης, Anisotropy : ανισοτροπία, Real refractive index : πραγματικός συντελεστής διάθλασης, Reduced scattering : εξασθενημένη σκέδαση. [14, 32, 77]

Ένα μίγμα από σφαίρες διαφορετικών μεγεθών μπορούν να μιμηθούν τη συμπεριφορά οπτικής σκέδασης ενός βιολογικού ιστού. Η θεωρία σκέδασης συνεχούς φάσματος περιγράφει σκέδαση σε βιολογικούς ιστούς από την άποψη της

συνάρτησης αυτοσυσχέτισης για τη χωρική κατανομή του κυμαινόμενου δείκτη διάθλασης των ιστών (Schmitt και Kumar 1996, Xu και Alfano 2005, Rogers et al 2009, Yi και Backman 2012).

Το θεώρημα των Wiener-Khinchin συνδυάζει μια συνάρτηση αυτοσυσχέτισης με τις αντίστοιχες εντάσεις του φάσματος, και η θεωρία σκέδασης συνεχούς φάσματος συσχετίζει τη χωρική αυτοσυσχέτιση των διακυμάνσεων του δείκτη διάθλασης με την εξάρτηση μίας, σκέδασης από το μήκος κύματος. Και οι δύο προσεγγίσεις χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία πειραματικών δεδομένων έτσι μπορούμε να πούμε ότι και οι δύο περιγράφουν σωστά την σκέδαση φωτός σε βιολογικούς ιστούς.

Οι όροι σκέδαση Rayleigh και σκέδαση Mie χρησιμοποιούνται συνήθως στον τομέα της Βιοϊατρικής Οπτικής, όπου 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 Mie σκέδαση αναφέρεται σε σκέδαση από σωματίδια με διάσταση συγκρίσιμη ή μεγαλύτερη από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός.

Αλλά η συνηθισμένη χρήση των όρων αυτών δεν είναι πραγματικά η σωστή. Η σκέδαση Mie είναι η γενική ονομασία για σκέδαση από σφαίρες οποιουδήποτε μεγέθους, μικρές και μεγάλες, και ο όρος σκέδαση Rayleigh αναφέρεται στο όριο Rayleigh εκείνης της σκέδασης Mie όπου τα σωματίδια είναι πολύ μικρότερα από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός. Παρ' όλα αυτά, η κοινή χρήση των όρων Rayleigh και Mie ακολουθείται στην παρούσα ανασκόπηση, επειδή είναι οικεία σε πολλούς στον τομέα μας.

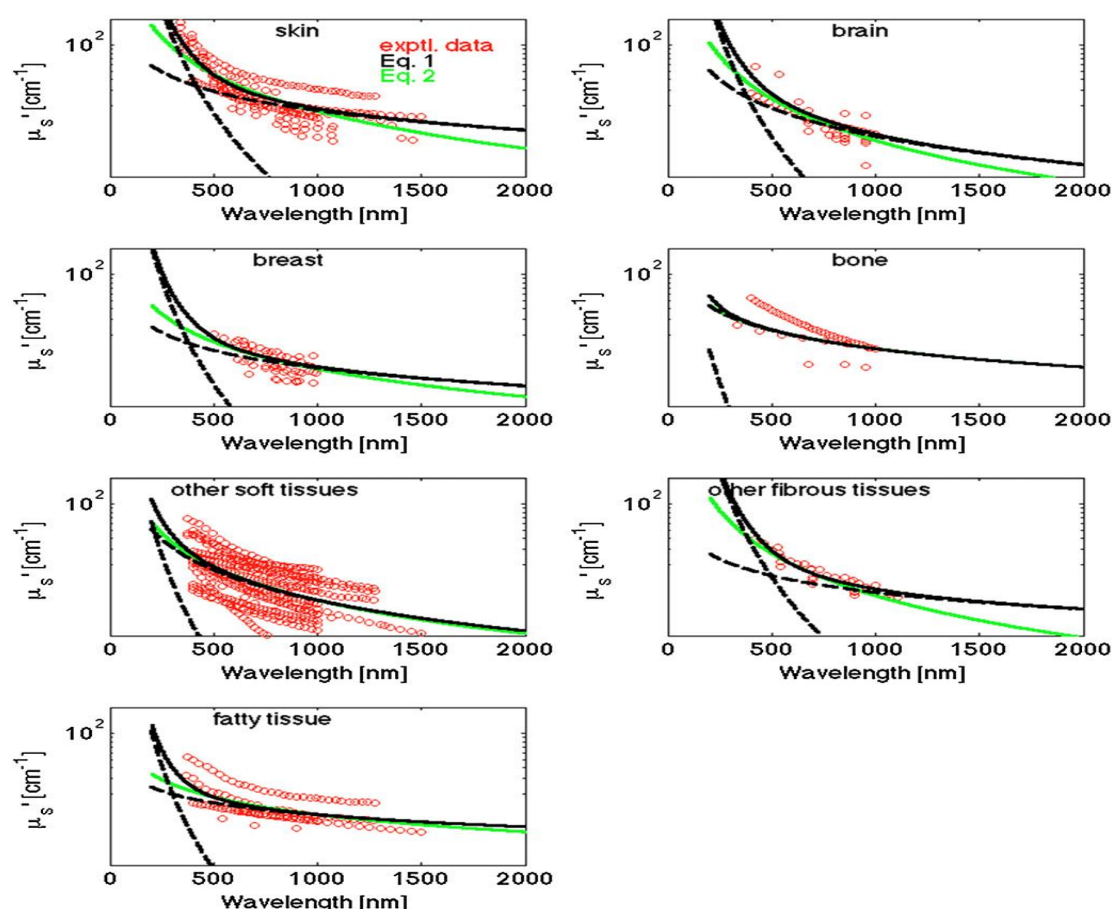
2.2 Ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης των βιολογικών ιστών.

Ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης μ'_s ενός βιολογικού ιστού, περιγράφεται με μαθηματική σχέση σαν συνάρτηση του μήκους κύματος 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.

$$\mu'_s = a \left(\frac{\lambda}{500 \text{ (nm)}} \right)^{-b} \quad (1)$$

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

Στην εξίσωση (1) το μήκος κύματος λ κανονικοποιείται ως προς μία τιμή αναφοράς 500 nm (μέση τιμή του ορατού φάσματος) δίνοντας έτσι μία αδιάστατη τιμή η οποία στη συνέχεια υψώνει τον a στη δύναμη b . Ο μ'_s ονομάζεται και σκεδαστική ισχύς. Ο συντελεστής a είναι η τιμή του μ'_s για $\lambda = 500$ nm. Στην εξίσωση (2) η εξάρτηση της σκέδασης από το μήκος κύματος, περιγράφεται με διακριτούς όρους συνεισφοράς, τόσο της κατά *Rayleigh* σκέδασης όσο και της κατά *Mie* σκέδασης, για ένα δεδομένο μήκος κύματος. Ο κλιμακούμενος συντελεστής a' είναι και σε αυτή την περίπτωση η τιμή του μ'_s για $\lambda = 500$ nm. Ο όρος της εξίσωσης που αφορά στη σκέδαση κατά *Rayleigh* είναι ο $a' f \text{Ray}(\lambda/500 \text{ nm})^{-4}$ και ο όρος που αφορά στην κατά *Mie* σκέδαση είναι ο $a'(1 - f \text{Ray})(\lambda/500 \text{ nm})^{-b \text{Mie}}$ όπου το $1 - f \text{Ray}$ είναι το ποσοστό συνεισφοράς (ως κλάσμα) της *Mie* σκέδασης.



Σχήμα 2 : Φάσμα τιμών για τον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης και για τις επτά ομάδες ιστών (οι κόκκινοι κύκλοι είναι οι τα δεδομένα μας). Η πράσινη γραμμή προκύπτει από την επεξεργασία των δεδομένων μέσω της συνάρτησης (1). Η μαύρη συνεχής γραμμή προκύπτει από την επεξεργασία των δεδομένων μέσω της συνάρτησης (2). Οι διακεκομμένες μαύρες γραμμές δείχνουν τις συνιστώσες επιμέρους σκεδάσεις *Rayleigh* και *Mie* στη κεντρική καμπύλη της συνάρτησης (2). [4, 5, 7, 10, 13, 19, 23, 29, 44, 47, 48, 54, 55, 58, 63, 65, 71, 81]

Ο πίνακας 1 συνοψίζει τις παραμέτρους των εξισώσεων (1) και (2) που έχουν ληφθεί από ανάλυση στοιχείων της υφιστάμενης βιβλιογραφίας που αφορούν στον $\mu'_s(\lambda)$. Στο σχήμα 2 παρουσιάζονται δεδομένα για κάθε έναν από τους επτά τύπους ιστών που

προαναφέραμε. Επίσης είναι εμφανής η ταύτιση με τα δεδομένα όταν γίνεται χρήση των μέσων τιμών των παραμέτρων του πίνακα 1, για τις εξισώσεις 1 και 2. Ο πίνακας 2 συνοψίζει τις μέσες τιμές των παραμέτρων των εξισώσεων 1 και 2 όπως αυτές εφαρμόζονται για κάθε έναν από τους επτά διαφορετικούς τύπους ιστών του πίνακα

Πίνακας 1 : Παράμετροι που χαρακτηρίζουν τον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης : $a = \mu's$ (500 nm) και έτσι $\mu's(\lambda) = a(\lambda/500 \text{ nm})-b$, εξίσωση (1). $aa = \mu's$ (500 nm) και έτσι $\mu's(\lambda) = aa(f \text{ Ray}(\lambda/500 \text{ nm})-b + f \text{ Mie}(\lambda/500 \text{ nm})-b\text{Mie})$, εξίσωση (2). Και $f \text{ Mie} = 1 - f \text{ Ray}$. (na =μη διαθέσιμο). [4, 5, 7, 10, 13, 19, 23, 29, 44, 47, 48, 54, 55, 58, 63, 65, 71, 81]

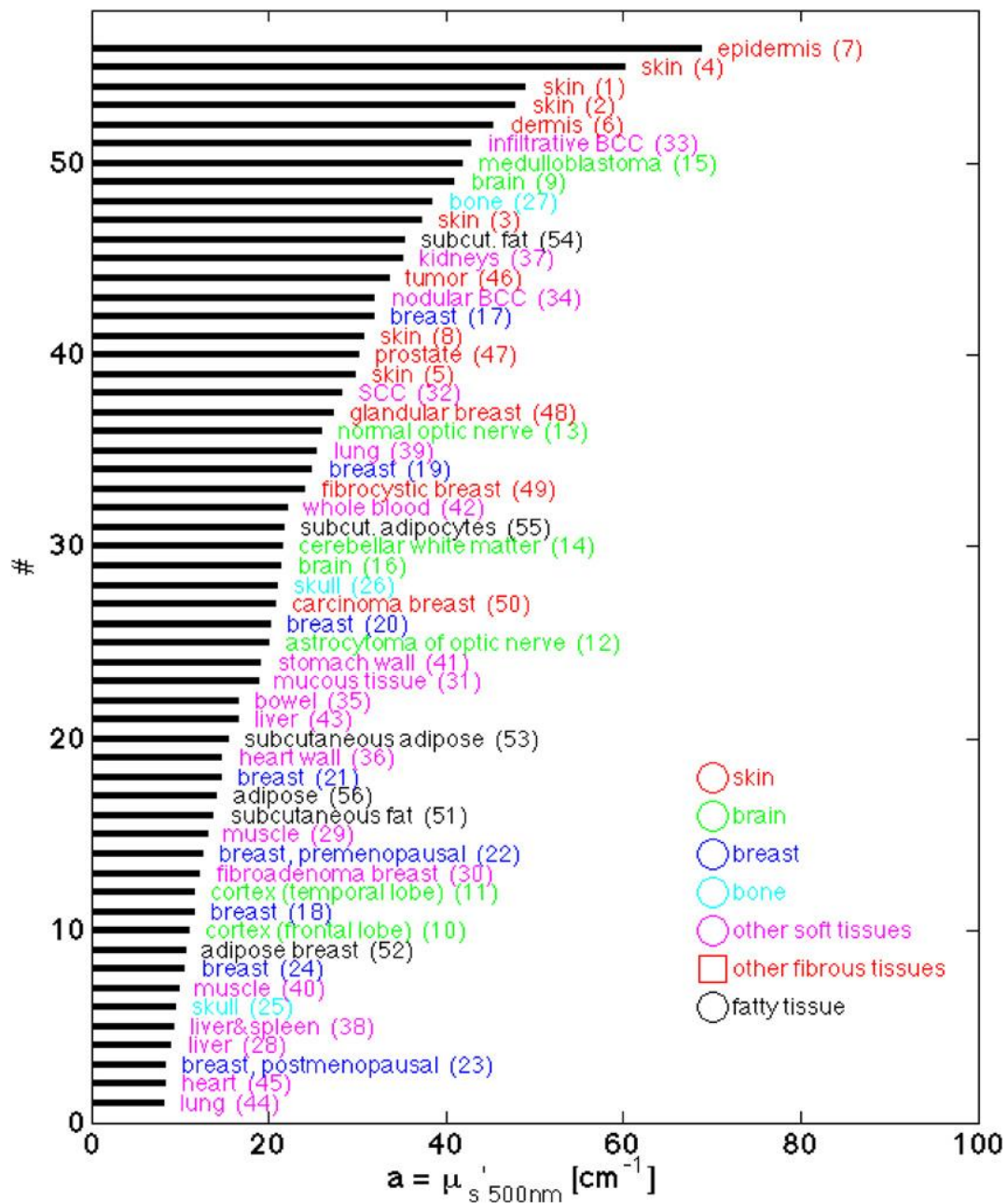
#	a (cm ⁻¹)	b	a' (cm ⁻¹)	f_{Ray}	b_{Mie}	Ref.	Tissue
Skin							
1	48.9	1.548	45.6	0.22	1.184	Skin	Anderson <i>et al</i> 1982
2	47.8	2.453	42.9	0.76	0.351	Skin	Jacques 1996
3	37.2	1.390	42.6	0.40	0.919	Skin	Simpson <i>et al</i> 1998
4	60.1	1.722	58.3	0.31	0.991	Skin	Saidi <i>et al</i> 1995
5	29.7	0.705	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

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 ανηγμένου συντελεστή σκέδασης μ' 's, για τις επτά ομάδες ιστών. [4, 5, 7, 10, 13, 19, 23, 29, 44, 47, 48, 54, 55, 58, 63, 65, 71, 81]

	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

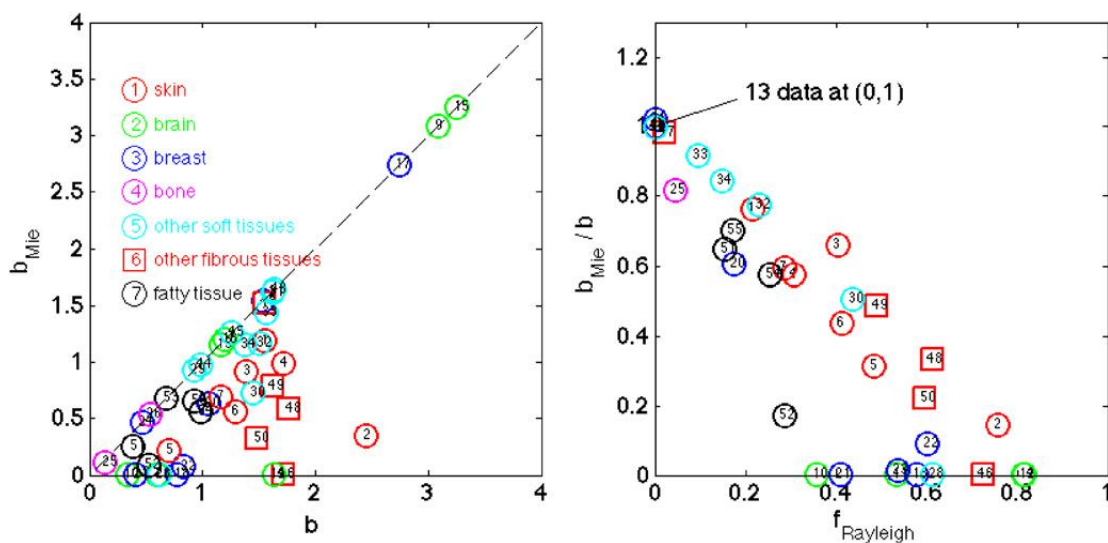
Ποια τελικά είναι καλύτερη, η εξίσωση (1) ή η εξίσωση (2); Οι δύο εξισώσεις είναι εξίσου καλές για την πρόβλεψη του φαινόμενου της σκέδασης προσπίπτοντος και μετά διαχεόμενου φωτός σε ιστούς για μήκη φωτός μεταξύ 400 και 1300 νανομέτρων. Έξω όμως από αυτό το φάσμα είτε προς την πλευρά του υπεριώδους είτε προς εκείνη του μακρού υπέρυθρου οι δύο εξισώσεις αποκλίνουν ως προς τα αποτελέσματα. Χρειάζονται τότε περισσότερα δεδομένα για να αποδείξουμε ποια εξίσωση αποδίδει καλύτερα και ειδικά στη περίπτωση πολύ μεγάλου μήκους κύματος.



Σχήμα 3. Κατάταξη των ιστών βάσει της σκεδασιμότητάς τους, για προσπίπτον φως μήκους κύματος 500 νανομέτρων, με ανηγμένο συντελεστή σκέδασης $\mu's$ προσδιορισμένο από την παράμετρο a . Οι αριθμοί στις παρενθέσεις ανταποκρίνονται στους αντίστοιχους του πίνακα 1. [4, 5, 7, 10, 13, 19, 23, 29, 44, 47, 48, 54, 55, 58, 63, 65, 71, 81]

Το μεγαλύτερο πρόβλημα είναι η μεταβλητότητα των τιμών των a και a' , όταν επηρεάζουν τους εξαρτώμενους από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας όρους στις εξισώσεις (1) και (2). Ιδιαίτερα δε στην κατηγορία ‘ άλλοι μαλακοί ιστοί ’ η μεταβλητότητα αυτή είναι σημαντική. Στο σχήμα 3 κατατάσσουμε τα δεδομένα μας σύμφωνα με την τιμή της a στην εξίσωση (1), έτσι γίνεται εμφανές ότι το δέρμα και άλλοι ινώδεις ιστοί έχουν υψηλότερες τιμές της a ($\mu's$ 500 nm) από άλλους ιστούς. Ιστοί στήθους φαίνονται το ίδιο τόσο σε χαμηλή όσο και σε υψηλή σκέδαση ίσως λόγω του σχετικώς πιο ινώδους χαρακτήρα τους σε σχέση με τον λιπώδη χαρακτήρα τους.

Αν κάποιος ενδιαφέρεται να χρησιμοποιήσει τις ιδιότητες σκέδασης για τον χαρακτηρισμό της μικρότερης από μικρόμετρο (μm) δομής ενός κυττάρου, τότε οι λεπτομέρειες των εξισώσεων (1) και (2) γίνονται σημαντικές. Σε γενικές γραμμές, οι κυτταρικοί ιστοί παρουσιάζουν πιά απλή συμπεριφορά σε σχέση με το λ - b , και η εξίσωση (1) είναι επαρκής. Κυτταρικοί όμως ιστοί με υψηλή πυκνότητα των μιτοχονδρίων (Beauvoit et al 1995) ή λυσοσωμάτων (Wilson et al 2007) θα παρουσιάσουν σκέδαση κατά Rayleigh λόγω της υψηλής πυκνότητας των λιπιδικών μεμβρανών, που προκαλεί μια αύξηση του b στην εξίσωση (1), και μία αύξηση της f_{Ray} στην εξίσωση (2).



Σχήμα 4. (α) Γραφική αναπαράσταση του b_{Mie} ως προς b για τις εξισώσεις (2) και (1) αντίστοιχα. (β) Γραφική αναπαράσταση του 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 . [8, 29, 54, 78]

Ιστοί κολλαγόνου, όπως το δέρμα και μερικοί ινώδεις ιστοί, παρουσιάζουν πολύ περισσότερη σκέδαση κατά Rayleigh, κάτι που πιθανώς οφείλεται στη περιοδική πυκνότητα της τάξης των 70 nm που παρουσιάζουν οι ίνες κολλαγόνου κατά το μήκος τους καθώς επίσης και τις κάτω των 100 nm αποστάσεις μεταξύ των ινών (Saidi κ.ά.1995, Jacques 1996), συνεπώς έτσι αυξάνεται το b και η f_{Ray} .

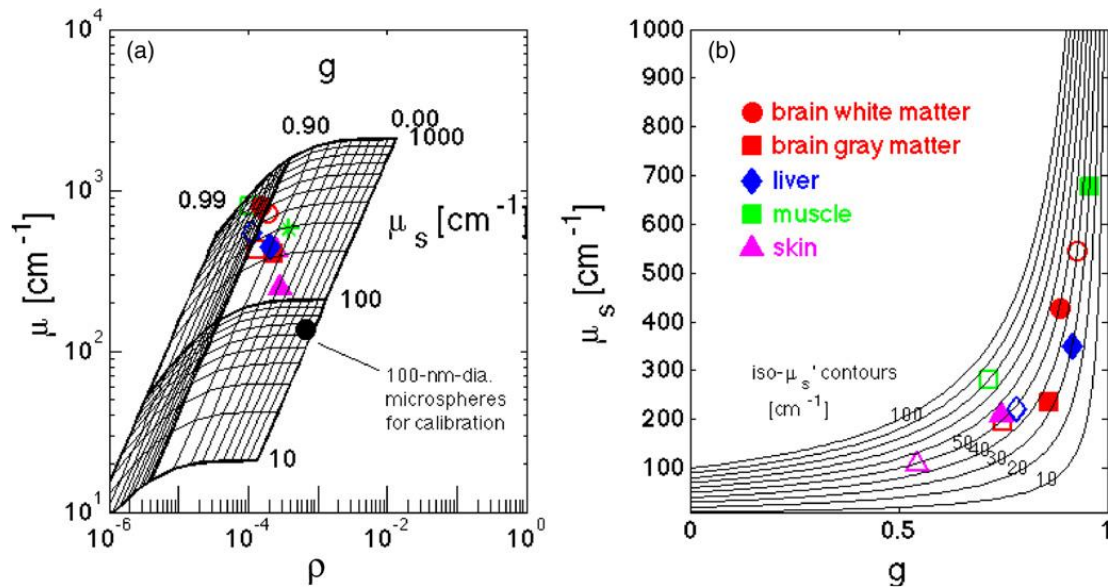
Στο Σχήμα 4 (α) όπου αναπαριστάται γραφικά το $bMie$ ως προς το b , φαίνεται ότι κάποιοι ιστοί ανιχνεύονται με $bMie = b$, ενώ άλλοι ιστοί, ειδικά το δέρμα και ινώδεις ιστοί, δείχνουν χαμηλότερο το $bMie$ από το b . Όταν τα δεδομένα επιτρέπουν τόσο τον προσδιορισμό μίας μικρού μήκους κύματος ανόδου όσο και μίας μεγάλου μήκους κύματος σταθερότητας, για τον $\mu's$, τότε η $fRay$ μπορεί να αντιπροσωπεύει την σκέδαση κατά *Rayleigh* και το $bMie$ να ευθύνεται για την βραδύτερη πτώση του $\mu's$ σε σχέση με τα μεγαλύτερα μήκη κύματος. Το Σχήμα 4 (β) αναπαριστάται γραφικά ο λόγος $bMie/b$ έναντι της $fRay$, και εκεί είναι εμφανής η πτώση του $bMie$ σε σχέση με το b καθώς η $fRay$ μεγαλώνει. Περισσότερα δεδομένα είναι απαραίτητα, ειδικά στη περίπτωση μεγαλύτερων μηκών κύματος, για να διευκρινιστεί αν η σκέδαση κατά *Mie* είναι πράγματι σχετικά ανεξάρτητη από το μήκος κύματος ($bMie \leq 1$). Αν ναι, τότε η εξίσωση (2) είναι καλύτερη σε σχέση με την (1) προκειμένου να περιγράψουμε τη σκέδαση και η άνοδος του μικρού μήκους κύματος στον $\mu's$ προσδιορίζει μία συνάρτηση $fRay$ που γίνεται χρήσιμη παράμετρος για την ποσοτικοποίηση της σκέδασης, που οφείλεται σε οργανίδια και ίνες κολλαγόνου. Αν όχι, τότε ολόκληρο το φωτεινό φάσμα καλύπτεται από την εξίσωση (1) και η απλή τότε συμπεριφορά του τύπου $a(\lambda/\lambda_{reference})-b$ συνεπάγεται την αντίστοιχη αυτοσυσχέτιση των διακυμάνσεων του δείκτη διάθλασης (λόγω των διακυμάνσεων της μάζας) να ακολουθεί επίσης σε μια απλή σχέση. Τώρα απομένει να δούμε ποιά μορφή από τις δύο είναι περισσότερο χρήσιμη. Αυτό το ερώτημα απαντάται από ένα άλλο επιστημονικό πεδίο, που σκοπεύει να χρησιμοποιήσει τις αλλαγές στη δομή των κυττάρων και των ιστών, στο φάσμα ακτινοβολίας από 50 ως 600 νανόμετρα μήκους κύματος, σαν αντίθετη παράμετρο κατά την μακροσκοπική παρατήρηση κυττάρων ή ιστών.

Αυτού του είδους η προσέγγιση μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη στην παρατήρηση και απεικόνιση των ορίων (περιγραμμάτων) των καρκινικών όγκων για παράδειγμα.

2.3 Συντελεστής σκέδασης μ_s και ανισοτροπία g

Η μέτρηση του μ_s μπορεί να είναι ένα δύσκολο έργο. Ο υπολογισμός του μ_s γίνεται συνήθως με μέτρηση του (T_c) που προκύπτει από ευθυγραμμισμένη μετάδοση φωτός διαμέσου ιστού πάχους L και καθορίζεται ως $\mu_s = -\ln(T_c)/L$. Αλλά τέτοιες μετρήσεις πρέπει να γίνονται μέσα από ένα λεπτό δείγμα ιστού, σε κλίμακα μίας μέσης ελεύθερης διαδρομής ($mfp = 1/\mu_s$), 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 επιπλέον παθαίνουν 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 .



Σχήμα 5. Συντελεστής σκέδασης μ_s ως προς την ανισοτροπία g στα 488 νανόμετρα μήκους κύματος φωτός. (α) Πειραματικά δεδομένα από εξασθένιση ομοεστιακής ανάκλασης (μ (cm^{-1})) ως προς το βάθος εστίασης και της απόλυτης τιμής του ανακλώμενου σήματος (ρ , ο καθρέπτης καθορίζει $\rho = 1$). Στο πλέγμα παρουσιάζονται οι αναμενόμενες τιμές των μ , ρ για διαφορετικές τιμές των μ_s , g . Με ανοικτά χρωματιστά σύμβολα παριστάνονται ιστοί εντός φυσιολογικού ορού. Με κλειστά χρωματικά σύμβολα παριστάνονται ιστοί εκτός φυσιολογικού ορού αλλά σε υγρό περιβάλλον με ψεκάσμο. (β) Γραφική παράσταση του μ_s ως προς το g χρησιμοποιώντας τιμές που καθορίζονται στο σχήμα 4(α). Μερικές iso- μ_s καμπύλες έχουν χαραχθεί, για ιστούς διαστάσεων κυρίως περί τα 30–50 cm^{-1} . [56]

Παρομοίως, η μέτρηση του g μπορεί να είναι δύσκολη. Η άμεση μέτρηση της συνάρτησης ρ (θ) χρησιμοποιώντας γωνιομετρία, περιλαμβάνει μέτρηση της γωνιακής σκέδασης του φωτός από ένα λεπτό δείγμα ιστού, η οποία επιτρέπει στη συνέχεια τον υπολογισμό της g (βλέπε παρακάτω). Στη περίπτωση της γωνιομετρίας το πρόβλημα της ετερογένειας του πολύ λεπτού δείγματος είναι σημαντικό. Επίσης, οι μετρήσεις στην προς τα πίσω κατεύθυνση μετά τη σκέδαση είναι συχνά χαμηλές και πρέπει να είναι πολύ πάνω από το επίπεδο θορύβου της μέτρησης, παίζουν δε κρίσιμο ρόλο στον υπολογισμό της καθαρής τιμής του g . Κατά τη μέτρηση μιας λεπτής πλάκας ιστού, η γωνία και η ένταση της εξερχόμενης από τον ιστό ακτινοβολίας μπορεί να τροποποιηθεί λόγω διάθλασης κατά τη μετάβαση (διεπαφή) από τον ιστό στον αέρα ή από τον ιστό στο γυαλί ή από το γυαλί στο αέρα. Χρησιμοποιώντας ένα ζευγάρι ημισφαιρικών φακών σε σύζευξη με τον ιστό τα εξερχόμενα φωτόνια συναντούν κάθετα μια διεπαφή γυαλιού αέρα, η οποία μετριάζει το φαινόμενο της διάθλασης. Οι μετρήσεις της σκέδασης γύρω από $\theta = 90$ μοίρες, μπορεί να είναι περίπλοκη πειραματικά. Μία άλλη προσέγγιση της μέτρησης του g με άμεσο τρόπο είναι να χρησιμοποιήσουμε τις τιμές του ανηγμένου συντελεστή σκέδασης μ'_s από μετρήσεις του διαχεόμενου φωτός και τιμές του ανηγμένου

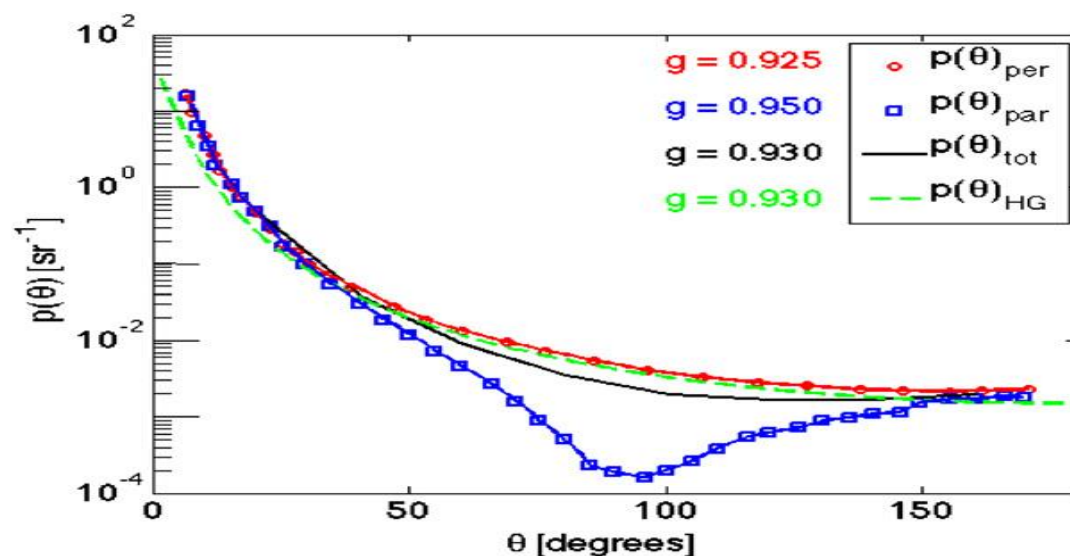
συντελεστή σκέδασης $\mu's$ από μετρήσεις παράλληλων ακτίνων μετάδοσης ώστε να έχουμε τον g : $g = 1 - \mu's/\mu s$.

Ενώ η τιμή της $\mu's$ είναι συνήθως ισχυρή, η τιμή της μs μπορεί να μην είναι τόσο αξιόπιστη όπως έχει αναλυθεί προηγουμένως. Μια εξ'αιτίας τεχνικού σφάλματος μείωση του $\mu's$ έχει ως αποτέλεσμα μια αντίστοιχη μείωση του g .

Μια πρόσφατη προσέγγιση (Gareau 2006, Samatham και άλλοι 2008, Jacques και άλλοι 2008), έχει να κάνει με τη μέτρηση της εξασθένησης, της οπισθοσκεδαζόμενης ανάκλασης του φωτός που συλλέγεται από ένα ομοεστιακό μικροσκόπιο 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 στην 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, $R(zf) = \rho \exp(-\mu zf)$, εξαρτάται από δύο παραμέτρους: (1) την εξασθένηση (μ (cm⁻¹)) ως προς το βάθος της εστίασης και (2) την απόλυτη τιμή του ανακλώμενου σήματος από την περιοχή της εστίασης (ρ , ένας καθρέφτης ορίζει $\rho = 1$). Μαζί, μ και ρ καθορίζουν τις δύο άγνωστες τιμές μs και g .

Το Σχήμα 5 (α) δείχνει τις μετρήσεις στα 488 nm μήκος κύματος Samatham (2012) πάνω σε νωπούς αφαιρεθέντες ιστούς ποντικιού. Έτσι απεικονίζεται το πώς μ και ρ καθορίζουν τους συντελεστές μs και g .

Στο σχήμα 5 (β) είναι η γραφική παράσταση του συντελεστή μs ως προς τον g , καθώς επίσης και οι καμπύλες iso- $\mu's$. Τα στοιχεία δείχνουν ότι οι συντελεστές μs και g αυξάνουν παράλληλα, ενώ ο όρος $\mu s(1 - g)$ παραμένει κάπως σταθερός στην περιοχή των 30-50 cm⁻¹.

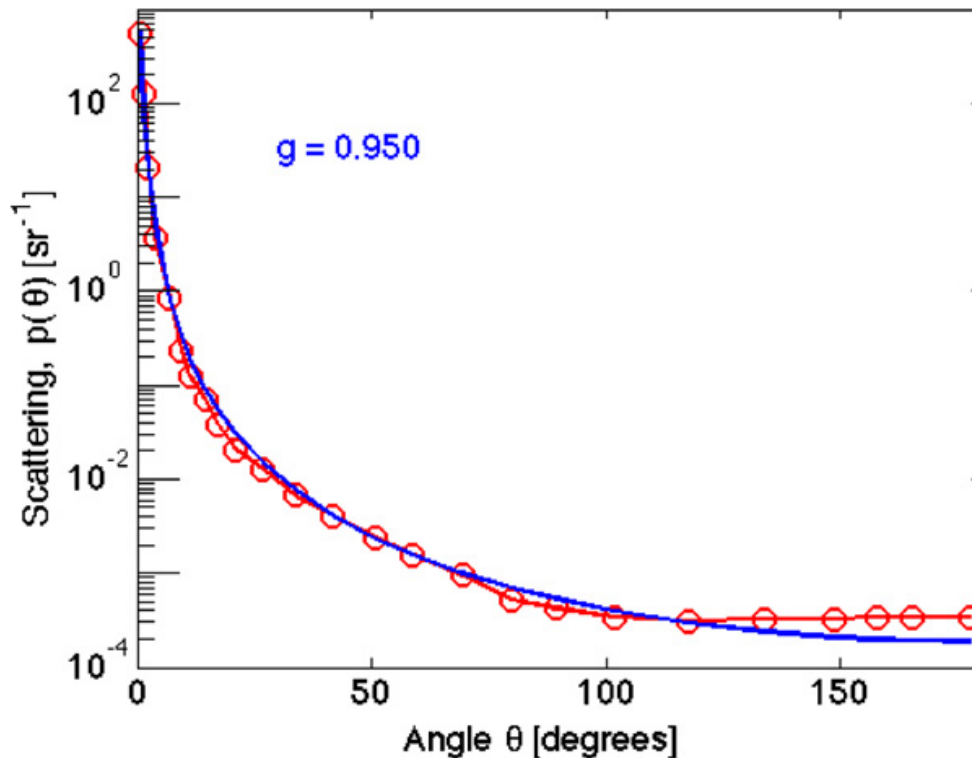


Σχήμα 6. Γωνιακή συνάρτηση σκέδασης φωτός, $p(\theta)$ (sr⁻¹), πάνω σε κύτταρα ευρισκόμενα σε εναιώρημα (κύτταρα κακοήθους προστατικού ιστού από αρσενικά ποντίκια). Η γραφική παράσταση έγινε μετά από κανονικοποίηση, έτσι η εξίσωση (6) ισχύει για $p(\theta)_{tot} = 0.5(p(\theta)_{per} + p(\theta)_{par})$. Η $p(\theta)_{per}$ και η $p(\theta)_{par}$ είναι οι εξισώσεις σκέδασης για πολωμένο φως κάθετα και αντιστοίχως παράλληλα με το επίπεδο σκέδασης (βλέπε κείμενο). Οι ανισοτροπίες της σκέδασης, g , φαίνονται σε κάθε καμπύλη. Η πράσινη γραμμή περιγράφει την εξίσωση Henyey–Greenstein για $g = 0.930$, που αποτελεί την τιμή του g για την συνολική σκέδαση, δείχνοντας έτσι μια προσέγγιση της κυτταρικής σκέδασης, [43]

Ο Mourant και άλλοι (2002) αναφέρονται στις ιδιότητες σκέδασης φωτός από καλλιεργημένα κυττάρα σε εναιώρημα. Το σχήμα 6 δείχνει τη συνάρτηση σκέδασης $p(\theta)$ (sr⁻¹) για φως πολωμένο κάθετα προς το επίπεδο σκέδασης ως $(p(\theta)_{per})$ και για φως πολωμένο παράλληλα προς το επίπεδο σκέδασης ως $(p(\theta)_{par})$. Ως επίπεδο σκέδασης ορίζουμε το επίπεδο που περιέχει την πηγή πολωμένου φωτός (συνήθως laser), τον ιστό (δείγμα κυττάρων) και τον ανιχνευτή.

Η προς τα εμπρός σκέδαση αφορά σε γωνία $\theta = 0^\circ$, και η ευθεία οπισθοσκέδαση σε γωνία $\theta = 180^\circ$. Τα κύτταρα παρουσιάζουν πολύ μεγάλη, προς την εμπρός κατεύθυνση, σκέδαση, με ανισοτροπίες $g = 0,925$, $0,950$ και $0,930$ αντίστοιχα για τις κάθετη, παράλληλη και συνολική συναρτήεις σκέδασης ($\arccos(0,925) = 22.3^\circ$, $\arccos(0.950) = 18.2^\circ$ και $\arccos(0,930) = 21.6^\circ$).

Ο Xu και άλλοι (2008) αναφέρεται στη γωνιακή και από το μήκος του φωτεινού κύματος εξάρτηση της σκέδασης μέσω της γνωστής συνάρτησης $p(\theta, \lambda)$. Το Σχήμα 7 δείχνει τη $p(\theta)$ για κύτταρα (κύτταρα SiHa σε ρυθμισμένο με φωσφορικό, αιώρημα φυσιολογικού ορού) και σε μήκος κύματος 633 nm. Η αναφορά αυτή είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα, επειδή δείχνει ότι στις πρώτες 10 μοίρες της γωνιακής εκτροπής τα κύτταρα συμπεριφέρονται ως ενιαία στη σκέδαση (σαν να υπάρχει μόνο ο πυρήνας) δηλαδή σύμφωνα με μία τύπου Mie σκέδαση από μεγάλες σφαίρες. Σε γωνίες $> 10^\circ$, η σκέδαση οφείλεται στις μικρής κλίμακας διακυμάνσεις του δείκτη διάθλασης εξαιτίας των οργανιδίων, συσσωματωμάτων και μεμβρανών του κυττάρου. Αυτή η ευρεία σκέδαση περιγράφεται από ένα συνεχές μοντέλο (δηλαδή μια θεώρηση που εξηγεί τη σταδιακή μετάβαση από μία κατάσταση σε άλλη χωρίς απότομες αλλαγές).



Σχήμα 7. Γωνιακή συνάρτηση σκέδασης φωτός, $p(\theta)$ (sr^{-1}), για κύτταρα σε φως των 633 nm μήκους κύματος. Η μπλε γραμμή είναι η εξίσωση Henyey-Greenstein προσαρμοσμένη στα δεδομένα. Η συνάρτηση $p(\theta)$ έχει κατάλληλα κανονικοποιηθεί ώστε να ικανοποιεί την εξίσωση (6). [80]

Ο Jacques και άλλοι (1987) και ο Hall και άλλοι (2012) μελέτησαν την γωνιομετρία της μετάδοσης του φωτός μέσω δειγμάτων ιστών διαφορετικού πάχους. Το σκεδασμένο φως θα μπορούσε να περιγραφεί με μία ισοδύναμη Henyey-Greenstein συνάρτηση με μια φαινομενική g . Καθώς λεπταίνουν τα δείγματα ιστού, η τιμή της φαινομενικής g συγκλίνει προς την αναμενόμενη τιμή g της συνάρτησης απλής σκέδασης τύπου Henyey-Greenstein. Αυτές οι αναφορές παραθέτουν τιμές του g μεγαλύτερες από 0,90 για μήκη κύματος φωτός στο ορατό φάσμα (βλέπε σχήμα 8).

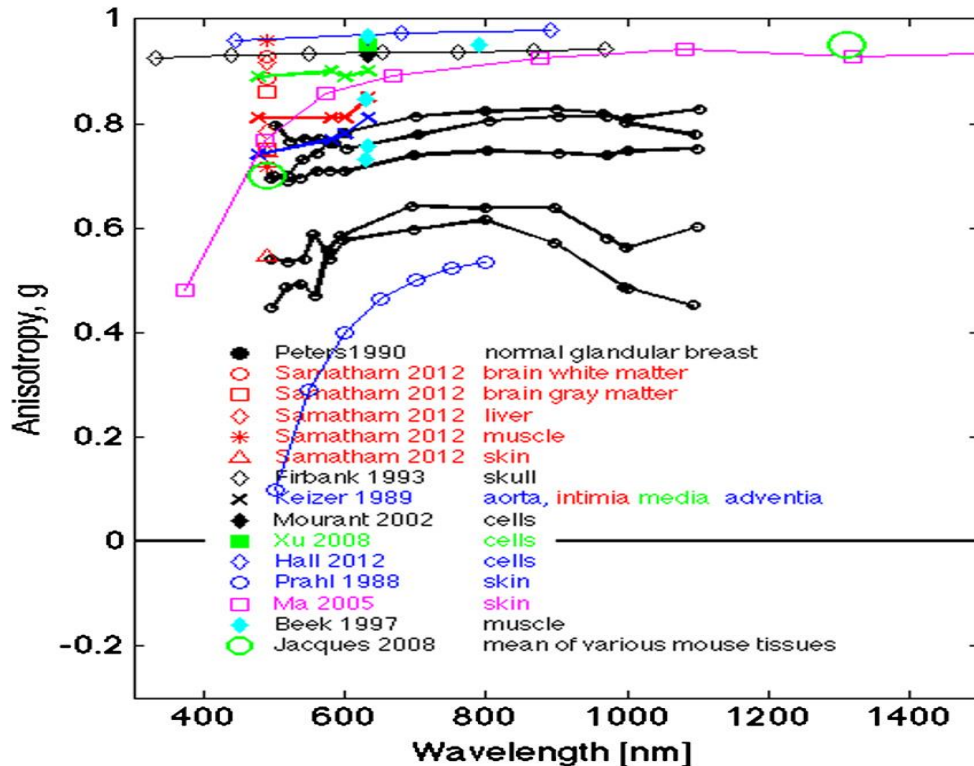
Αυτή η μέθοδος προσφέρει μια προσέγγιση άμεσης μέτρησης της $p(\theta)$ με γωνιομετρία χρησιμοποιώντας παχύτερα δείγματα ιστού.

Στο Σχήμα 8 είναι μία γραφική αναπαράσταση δεδομένων της βιβλιογραφίας σε ότι αφορά τη σχέση της ανισοτροπίας ως προς το μήκος κύματος του φωτός που προσπίπτει στον ιστό. Αν και υπάρχουν πολλές παραλλαγές στα δεδομένα, σε γενικές γραμμές οι τιμές των g είναι μάλλον υψηλές. Φαίνεται να υπάρχει μία τάση αύξησης του g καθώς το μήκος κύματος αυξάνεται. Η παρατήρηση αυτή, αν αληθεύει, αποτελεί μία έκπληξη. Εάν οι μικρές δομές του κυττάρου, μικρότερες από το μήκος

κύματος, σκεδάζουν το φως τότε καθώς αυξάνει το μήκος κύματος και συνεπώς ο λόγος του μεγέθους της δομής ως προς το μήκος κύματος μειώνεται, η σκέδαση αρχίζει να προσεγγίζει τη μορφή της Rayleigh δηλαδή μίας σκέδασης με πολύ μικρότερο συντελεστή g . Γιατί αλήθεια αυξάνει ο g όταν μεγαλώνει το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός λ ; Αυτή η αντίφαση μεταξύ πειράματος και προσδοκώμενου αποτελέσματος μας δίνει τη δυνατότητα να κατανοήσουμε καλύτερα τη φύση του φαινομένου της σκέδασης του φωτός πάνω σε βιολογικούς ιστούς

Ίσως η σκέδαση τύπου Mie από τους πυρήνες των κυττάρων κυριαρχεί σε ορισμένα πειράματα, διατηρώντας υψηλή την ανισοτροπία g . Ίσως υπάρχει κάποια μέσης κλίμακας δομή ιστού στα 10 μm , η οποία παράγει επιπλέον παρεμβολή, με αποτέλεσμα περισσότερο φως να σκεδάζεται προς τα εμπρός και ως εκ τούτου να αυξάνεται η ανισοτροπία g . Η αποτελεσματικότητα των μικρότερων σκεδαστών μειώνεται καθώς αυξάνεται το μήκος κύματος λ , και ίσως η συνεισφορά τους στην φαινομενική g απλά μειώνεται, δίδοντας έτσι μια υψηλότερη τιμή της g σε μεγαλύτερα μήκη κύματος.

Λόγω της σπουδαιότητας της g στη μικροσκοπία και την συμβολομετρία, είναι επιτακτική ανάγκη να δοθεί προτεραιότητα στη σε βάθος μελέτη της ανισοτροπίας

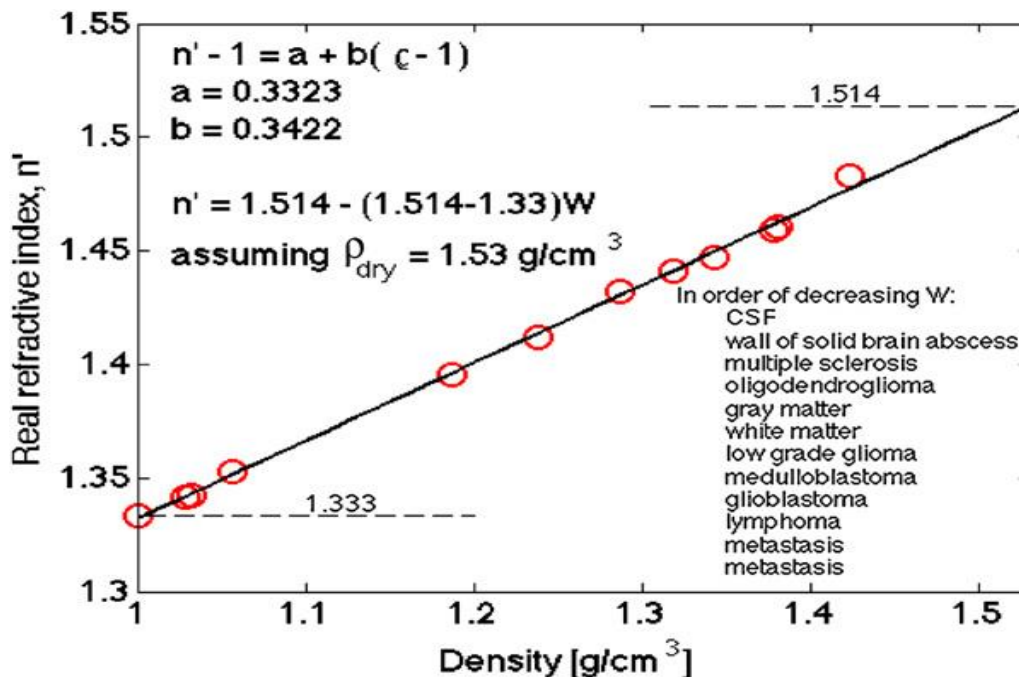


Σχήμα 8. Η ανισοτροπία της σκέδασης σε συνάρτηση με το μήκος κύματος του φωτός. [27, 30]

2.4 Ο δείκτης διάθλασης, n

Ο σύνθετος δείκτης διάθλασης $n = n' + jn''$, περιλαμβάνει τον πραγματικό δείκτη διάθλασης n' , ο οποίος περιγράφει την εναπόθεση ενέργειας στο μέσο και ως εκ τούτου επηρεάζει την ταχύτητα του φωτός στο μέσο αυτό. Ο φανταστικός δείκτης διάθλασης, n'' , περιγράφει την απορρόφησης ενέργειας μέσω της διάχυσης του φωτός στο μέσο και καθορίζει τον συντελεστή απορρόφησης ως $\mu_a = 4\pi n''/\lambda$. Σε μια πρώτη προσέγγιση, η τιμή του n' κλιμακώνεται, ανάλογα με την περιεκτικότητα σε νερό (W) του ιστού $n' = n'_{dry} - (n'_{dry} - n'_{water})W$, (3) όπου n'_{dry} είναι ο δείκτης διάθλασης της ξηρής μάζας του ιστού και το n'_{water} ο δείκτης διάθλασης του νερού.

Οι Jacques και Prah1 (1987) υπολόγισαν ότι $n'_{water} = 1.33$ και $n'_{dry} = 1.50$, με βάση μια παλαιά γραφική παράσταση Bausch and Lomb που αναπαριστούσε τον n' ως προς την περιεκτικότητα σε νερό για διάφορα βιολογικά υλικά και προϊόντα διατροφής. Μια πιο πρόσφατη έκθεση των Biswas και Luu (2011) για μια σειρά από βιολογικούς ιστούς με τη χρήση απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού (MRI) υποδεικνύει ότι είναι $\rho_{dry} = 1.53 \text{ g/cm}^3$ και $n'_{dry} = 1.514$. Στο Σχήμα 9 συνοψίζονται τα δεδομένα τους αποτυπώνοντας αυτή τη σχέση.



Σχήμα 9. Ο πραγματικός δείκτης διάθλασης για βιολογικούς ιστούς, όπως προέκυψε από μετρήσεις με ένα συμβολόμετρο Abbe, σε συνάρτηση με την πυκνότητα του ιστού (g cm^{-3}). Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν MRI για να προσδιορίσουν την περιεκτικότητα σε νερό (W), η οποία προτείνεται για ξηρή μάζα πυκνότητας $\rho_{dry} = 1.53 \text{ g cm}^{-3}$. Χρησιμοποιώντας αυτή την τιμή η συνάρτηση του n' ως προς W μπορεί να εκφραστεί από την εξίσωση (3). [12,33]

2.5 Συντελεστής απορρόφησης μ_a

Ένα μέσο απορρόφησης φωτός θα απορροφήσει ένα κλάσμα του προσπίπτοντος φωτός ανάλογα με το μήκος της διαδρομής που θα διανύσει εντός του μέσου. Ο συντελεστής απορρόφησης μ_a (cm⁻¹) ορίζεται ως,

$$\mu_a = -\frac{1}{T} \frac{\partial T}{\partial L}, \quad (4)$$

όπου T (αδιάστατο) είναι το κλάσμα του προσπίπτοντος φωτός που δεν απορροφάται από το μέσο μετά από προοδευτικά αυξανόμενη ∂L διαδρομή (cm). Αυτή η κλασματική αλλαγή $\partial T / T$ ανά μήκος διαδρομής ∂L ισοδυναμεί με μια εκθετική μείωση στην ένταση του φωτός ως συνάρτηση της αυξανόμενης σε μήκος διαδρομής L:

$$T = e^{-\mu_a L} = 10^{-\epsilon CL} = e^{-4\pi n'' L / \lambda}, \quad (5)$$

Η εξίσωση (5) παραπέμπει επίσης σε δύο εναλλακτικές εκφράσεις που χρησιμοποιούν εναλλακτικές περιγραφές για την απορρόφηση. Η πρώτη μετράει φασματοσκοπικά τη μετάδοση φωτός μέσα από ένα μη-σκεδαστικό μέσο που περιέχει ένα χρωμοφόρο έτσι ώστε, $T = 10^{-\epsilon CL}$ όπου C είναι η συγκέντρωση ((mol L⁻¹) ή (M)) και ϵ ο συντελεστής απόσβεσης (cm⁻¹ M⁻¹) για το χρωμοφόρο. Η κυματική οπτική περιγράφει την ένταση του φωτός ως

$T = \exp(-4\pi n'' L / \lambda)$, όπου n'' είναι ο φανταστικός δείκτης διάθλασης του μέσου και ως εκ τούτου, $\mu_a = 4\pi n'' / \lambda$. Μπορεί κανείς να βρεί την απορρόφηση από το χρωμοφόρο με αυτούς τους τρεις διαφορετικούς τρόπους, ϵ , μ_a και n'' , που τελικά είναι ισοδύναμοι.

Ο συντελεστής απορρόφησης μ_a ενός ιστού είναι το άθροισμα των απορροφήσεων από όλα τα χρωμοφόρα που βρίσκονται μέσα στον ιστό.

$$\mu_a = \ln(10) \sum_i C_i \epsilon_i \quad (6)$$

Για παράδειγμα, ας συζητήσουμε για την HGb. Η συγκέντρωση μάζας της HGb στο αίμα, $C_m.HGb$ (g L⁻¹), ποικίλλει και είναι για τους άνδρες (138 έως 172 g L⁻¹), για τις γυναίκες (121 έως 151 g L⁻¹) για τα παιδιά (110 έως 160 g L⁻¹) και για τις έγκυες γυναίκες (110 έως 120 g L⁻¹) (Tresca 2012). Αλλά και ο όγκος του αίματος (B) σε έναν ιστό μεταβάλλεται επίσης. Το μοριακό βάρος της HGb είναι $MW = 64\,458$ g mol⁻¹ (Van Beekvelt et al 2001). Αν $B = 0.01$ και $C_m.HGb = 150$ g L⁻¹, τότε η φαινόμενη μέση μοριακή συγκέντρωση της HGb στον ιστό είναι $CHGb = BC_m.HGb / MW = (0.01) (150 \text{ g L}^{-1}) / (64\,458 \text{ g mol}^{-1}) = 2,33 \times 10^{-5}$ M. Ο συντελεστής απόσβεσης της HGb ποικίλλει επίσης ανάλογα με τον κορεσμό οξυγόνου της και με το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός. Στο ισοσβεστικό σημείο περίπου στα 806 nm, τόσο η oxyHGb όσο και η deoxyHGb έχουν την ίδια απορρόφηση, και η τιμή του ϵ είναι ~ 818 cm⁻¹ M⁻¹. Στα 806 nm, η συμβολή του αίματος ($B = 0,01$) στην απορρόφηση ενός ιστού είναι $\mu_a = \ln(10) CHGb\epsilon = (2,302) (2,33 \times 10^{-5} \text{ M}) (818) = 0.0438$ cm⁻¹.

Μερικές φορές κάποιος επιθυμεί να περιγράψει τις ιδιότητες απορρόφησης ενός υλικού το οποίο δεν έχει μια καλά καθορισμένη συγκέντρωση, και πρέπει να χρησιμοποιηθεί μία εναλλακτική συγκέντρωση, για παράδειγμα, C (mg mL⁻¹), και έναν εναλλακτικό συντελεστή αποσβέσεως, ϵ (cm⁻¹ (mg mL⁻¹)⁻¹).

Το προϊόν ϵC εξακολουθεί να έχει μονάδες cm⁻¹, και ϵCL είναι αδιάστατο. Έτσι, ενώ στην βιβλιογραφία συνήθως συναντάται C(M), ϵ (cm⁻¹ M⁻¹) και L (cm), εναλλακτικές μονάδες για τα C, ϵ και L, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τέτοιο τρόπο ώστε το ϵCL να παραμένει αδιάστατο. Μελέτες πάνω στις οπτικές ιδιότητες των ιστών, παρουσιάζουν τιμές για έναν σταθμισμένο μέσο συντελεστή απορρόφησης μ_a ενός ιστού, δεδομένου ότι η μοριακή σύνθεση του ιστού δεν είναι καλά καθορισμένη. Είναι βολικό να τροποποιήσουμε την εξίσωση (6) ώστε να χρησιμοποιούμε το κλάσμα όγκου ενός συστατικού του ιστού ($f_{v,i}$ (L L⁻¹) ή (αδιάστατο)) και τον συντελεστή απορρόφησης αυτού του συγκεκριμένου καθαρού συστατικού ($\mu_{a,i}$ (cm⁻¹)). Με τη χρήση αυτής της προσέγγισης η εξίσωση (6) μπορεί να ξαναγραφεί ως

$$\mu_a = \sum_i f_{v,i} \mu_{a,i} \quad (7)$$

Για παράδειγμα, μερικές φορές είναι πιο χρήσιμο να περιγραφεί ο φαινόμενος όγκος του αίματος, το κλάσμα B, σε έναν ιστό παρά να επικαλούμαστε μια μέση CHGb

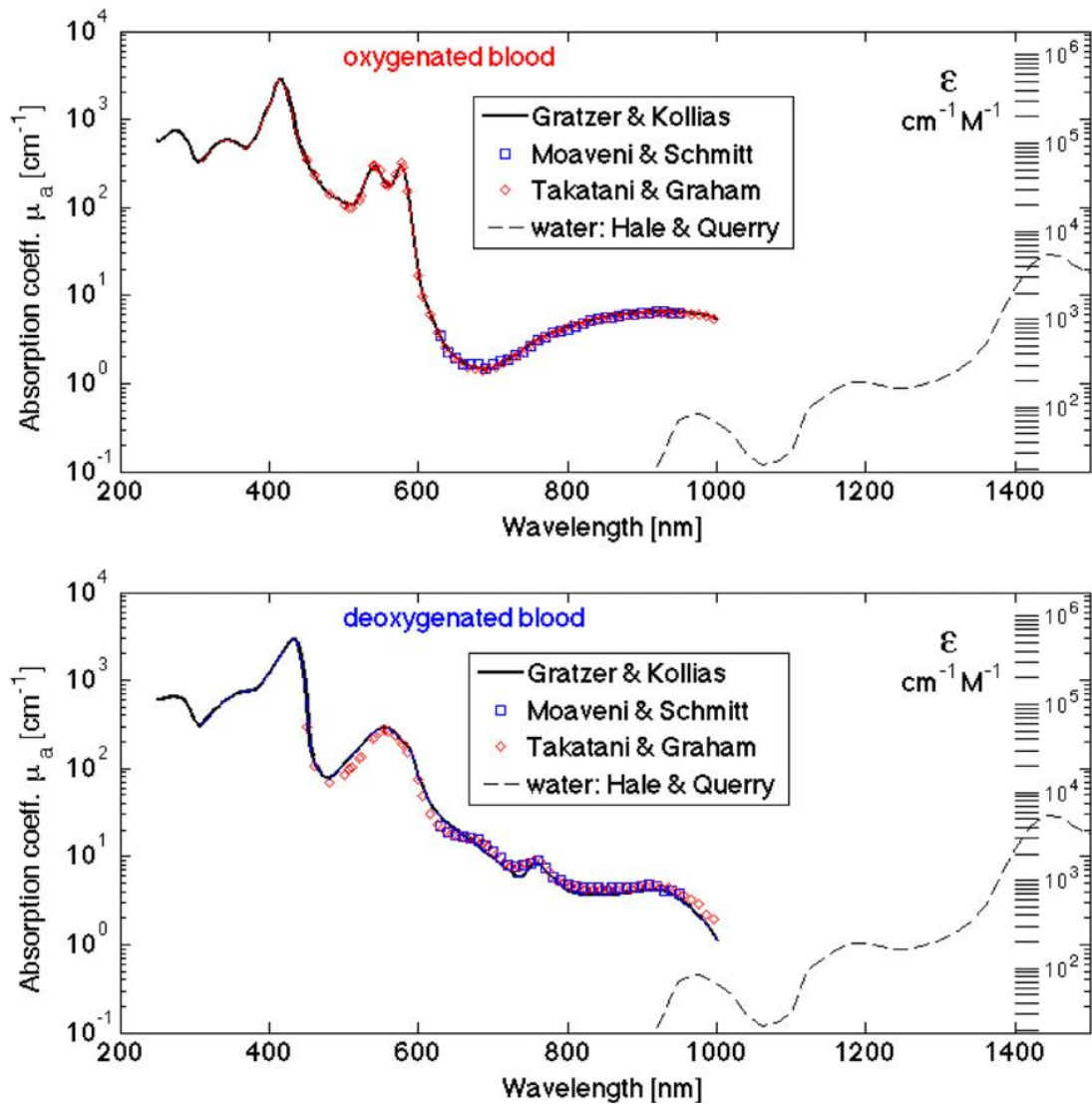
στον ιστό. Επικαλούμενοι το B εκφράζουμε καλύτερα μια πιο ανατομική αίσθηση της πυκνότητας των αγγείων στον ιστό. Αν κάποιος υιοθετεί την συνθήκη που ακολουθείται από τον Prahl (2012a) της αντιστοίχισης για όλο το αίμα της συγκέντρωσης μάζας της HGb ως $Cm.HGb = 150 \text{ g L}^{-1}$, τότε στην εξίσωση (7) η $f_{v.blood}$ θα ισούται B . Η $\mu_{a.blood}$ θα ισούται $\epsilon_{blood} \ln(10) Cm.HGb / MW = \epsilon_{blood} \ln(10) (150 \text{ g L}^{-1}) / (64458 \text{ g mol}^{-1}) = 0.0536 \epsilon_{blood}$, όπου ϵ_{blood} ποικίλλει ανάλογα με το μήκος κύματος. Στο ισοσβεστικό σημείο $\epsilon_{blood} = 818 \text{ cm}^{-1}$, όπως παραπάνω, και η τιμή του $\mu_{a.blood}$ γίνεται $4,38 \text{ cm}^{-1}$. Εάν ένας ιστός έχει ένα μέσο κλάσμα όγκου ($f_{v.blood} = B = 0,01$) του αίματος, τότε η συνεισφορά του αίματος στην μ_a ίσον $(0,01)(4,38 \text{ cm}^{-1}) = 0,0438 \text{ cm}^{-1}$. Ένα άλλο παράδειγμα είναι το περιεχόμενο νερού. Ο φανταστικός δείκτης διάθλασης του νερού στα 970 nm είναι $n'' = 3,47 \times 10^{-6}$. Ο συντελεστής απορρόφησης του νερού σε $\lambda = 970 \text{ nm}$ είναι $\mu_{a.water} = 4\pi n'' / \lambda = 0,45 \text{ cm}^{-1}$. Εάν ένας ιστός έχει ένα κλάσμα όγκου νερού $f_{v.water} = 0,65$, τότε η συνεισφορά του νερού στη συνολική απορρόφηση από τον ιστό στα 970 nm είναι $\mu_a = f_{v.water} \mu_{a.water} = (0.65) (0.45 \text{ cm}^{-1}) = 0,29 \text{ cm}^{-1}$.

Υπάρχει μία ποικιλία από χρωμοφόρα, τόσο φυσικά όσο και εξωγενώς παρεχόμενα, τα οποία μπορεί να συμβάλλουν στην μ_a στην εξίσωση (6) ή (7). Συνήθως όμως, το αίμα και το νερό κυριαρχούν στο φαινόμενο της απορρόφησης.

Μερικές φορές η μελανίνη, το λίπος, η χολερυθρίνη, το β -καροτένιο ή ένα πρόσθετο όπως το πράσινο ινδοκυανίνης πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Άλλα χρωμοφόρα προσφέρουν αρκετά μικρότερες συνεισφορές. Σε αυτόν που ενδιαφέρεται για την φασματική ανίχνευση τότε οι μικρότερες συνεισφορές δεν είναι αμελητέες αλλά πολύ σημαντικές. Αν κάποιος ενδιαφέρεται για την κατανόηση της διεύθυνσης και του φωτός σε έναν ιστό προκειμένου να εκπονήσει ένα θεραπευτικό πρωτόκολλο, τότε σε αυτή την περίπτωση οι δευτερεύουσες μικρές συνεισφορές που προείπαμε δεν διαταράσσουν σημαντικά την μετάδοση του φωτός.

2.5.1 Αίμα

Ο συντελεστής απορρόφησης του πλήρους αίματος παριστάνεται στο σχήμα 10, χρησιμοποιώντας τα στοιχεία του Prahl (2012a), επίσης στοιχεία από Gratzer και Κόλλιας (1999), Moaveni (1970), Schmitt (1986), Takatani και Graham (1987). Το σχήμα 10 (α) δείχνει πλήρως οξυγονωμένο αίμα, και το σχήμα 10 (β) δείχνει πλήρως αποξυγονωμένο αίμα. Αξιόπιστα στοιχεία πέρα από το μήκος κύματος των 1000 nm είναι δύσκολο να βρει κανείς στη βιβλιογραφία. Στο σχήμα 10, οι διακεκομμένες κόκκινες γραμμές δείχνουν μια προέκταση των δεδομένων πέραν των 1000 nm , χρησιμοποιώντας είτε μια Gaussian είτε μία εκθετική καμπύλη, η οποία θα δείχνει σε ποιο σημείο η απορρόφηση του νερού θα μπορούσε να είναι ισχυρότερη από την απορρόφηση της HGb.



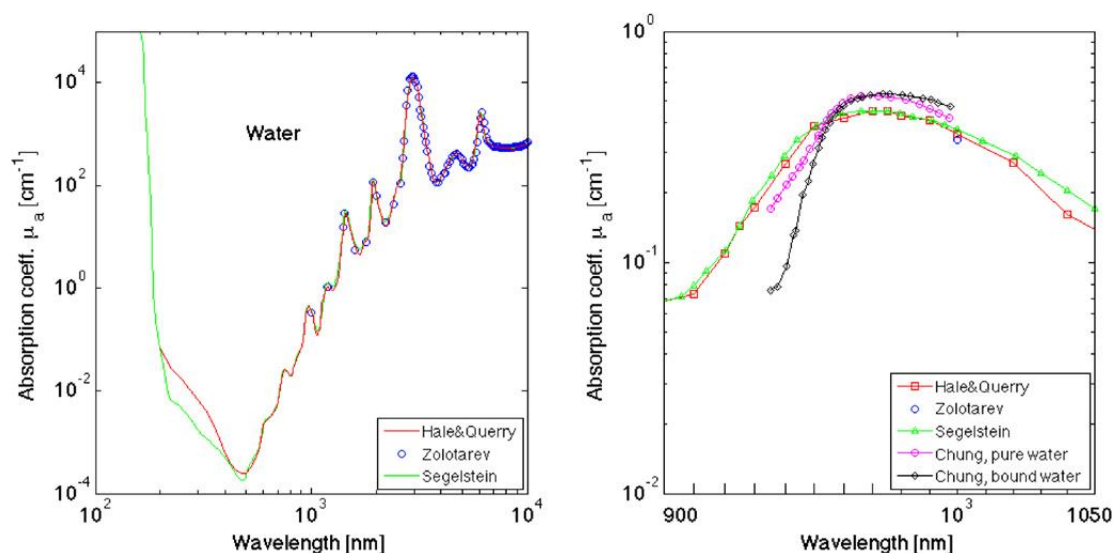
Σχήμα 10. Συντελεστής απορρόφησης του αίματος ως προς το μήκος κύματος του φωτός. Κόκκινες διακεκομμένες γραμμές προεκτείνουν τα δεδομένα πέρα από τα 1000 nm, είτε με χρήση Gaussian ή εκθετικής καμπύλης, δείχνοντας σε ποιο σημείο η απορρόφηση από το νερό αρχίζει να κυριαρχεί σε σχέση με εκείνη της HGb. (α) Οξυγονωμένο αίμα. (β) Από-οξυγονωμένο αίμα. [25, 42, 50, 68]

2.5.2 Νερό

Το φάσμα απορρόφησης νερού παριστάνεται στο σχήμα 11 (α), με βάση τις εργασίες των Hale και Querry (1973), Zolotarev και άλλοι (1969) και Segelstein (1981), όπως αναφέρεται στην ιστοσελίδα του Prahl (2012b). Το Σχήμα 11 (β) δείχνει τη διαφορά μεταξύ ελεύθερου νερού και δεσμευμένου νερού όπως αναφέρθηκε από τους Chung και άλλοι (2012), στην οποία η απορρόφηση του δεσμευμένου νερού οξύνει ελαφρώς

το μέγιστο απορρόφησης στα περίπου 970 nm, δηλ, η απορρόφηση του δεσμευμένου νερού μειώνεται πάνω και κάτω από τα 970 nm σε σχέση με το ελεύθερο νερό.

Αν κάποιος ενδιαφέρεται για την απορρόφηση από το νερό κατά τη διάρκεια της έκθεσης του σε παλμούς λέιζερ υψηλής ενέργειας, τότε η έκθεση των Cummings και Walsh (1993) περιγράφει το πώς η απορρόφηση από το νερό στη μέση υπέρυθρη ακτινοβολία κοντά στα 3 μm , διευρύνεται και η αιχμή της απορρόφησης μειώνεται καθώς η εναπόθεση ενέργειας (J cm^{-3}) από το παλμικό λέιζερ στο νερό αυξάνεται

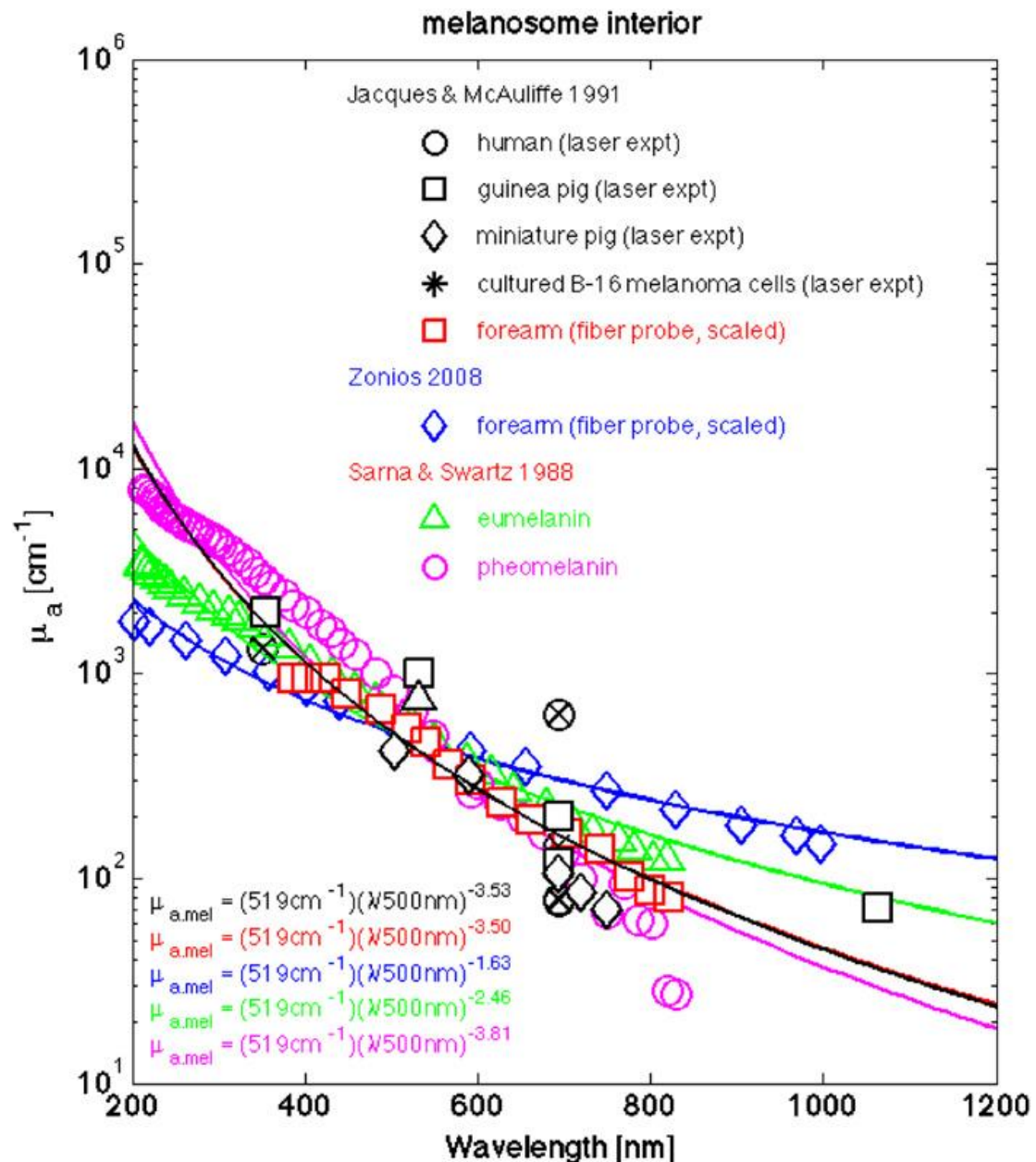


Σχήμα 11. Συντελεστής απορρόφησης του νερού ως προς το μήκος κύματος. [16, 26, 62, 83]

2.5.3 Μελανίνη

Ο συντελεστής απορρόφησης του εσωτερικού ενός τυπικού δερματικού μελανοκυττάρου (μελανοσώματος), $\mu_a.melanosome$ (cm^{-1}), παρουσιάζεται στο σχήμα 12 (με ανοικτά μαύρα σύμβολα), με βάση την εργασία των Jacques και McAuliffe (1991). Στην επιστημονική αυτή αναφορά, το κατώφλι της ακτινοβολίας, H (J cm^{-3}), που εκπέμπεται από λέιζερ ρουμπινίου (690 nm μήκος κύματος) για να προκληθεί εκρηκτική εξάτμιση των δερματικών μελανοσωμάτων σε πτωματικό ιστό, ελέγχθηκε ως συνάρτηση της αρχικής θερμοκρασίας του ιστού. Για μια ψυχρότερη αρχική θερμοκρασία απαιτείται ένας υψηλότερης ενεργειακής στάθμης παλμός του λέιζερ προκειμένου να εκραγούν τα μελανοσώματα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η προβλεπόμενη θερμοκρασία για την εκρηκτική εξάτμιση πρέπει να είναι 112 °C. Αυτή η τιμή χρησιμοποιείται στις βιβλιογραφικές αναφορές για την περαιτέρω ερμηνεία των τιμών κατωφλίου της H , για πρόκληση έκρηξης δερματικών μελανοσωμάτων, χρησιμοποιώντας μια ποικιλία από λέιζερ σε διάφορα μήκη

κύματος. Η ανάλυση προσδιορίζει το μ_a για το εσωτερικό των δερματικών μελανοσωμάτων. Το προκύπτον φάσμα ήταν σύμφωνο με τα φάσματα οπτικής ίνας για την κοιλιακή χώρα συγκρινόμενα με εκτιθέμενη στον ήλιο δερματική επιφάνεια του ραχιαίου αντιβράχιου. Η διαφορά στην οπτική πυκνότητα που δόθηκε στη δερματική μελανίνη (κόκκινοι κύκλοι, κλιμακούμενοι ώστε να ταιριάζουν με τα αποτελέσματα των λέιζερ).



Σχήμα 12. Συντελεστής απορρόφησης από το εσωτερικό ενός τυπικού δερματικού μελακωτάρου (μελανοσώματος ως προς το μήκος κύματος, μ_a .melanosome (cm^{-1})). [59, 84]

Το ίδιο σχήμα (12) δείχνει επίσης τις μετρήσεις από καθετήρα οπτικής ίνας, Zonios και άλλοι (2008), με τέτοια κλιμάκωση ώστε να ταιριάζουν με τα αποτελέσματα του λέιζερ. Τα δεδομένα του Sarna και Swartz (1988) καθορίζουν τον συντελεστή

απόσβεσης ϵ ($\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) των μονομερών για ευμελανίνη και φαιομελανίνη. Στο σχήμα 11, τα δεδομένα αυτά κλιμακώνονται από μια ενδο-μελανοσώματική συγκέντρωση των 461 mM για μονομερή ευμελανίνης και από 564 mM για μονομερή φαιομελανίνης, προκειμένου να ταιριάζουν με τα φάσματα *μα.melanosome* στα 500 nm. Οι ταυτίσεις χρησιμοποιούν μία καμπύλη ισχύος,

$$\mu_{a,melanosome} = (519 \text{ cm}^{-1}) \left(\frac{\lambda}{500 \text{ nm}} \right)^{-m}, \quad (8)$$

όπου η τιμή 519 cm^{-1} στα 500 nm καθορίστηκε από τα πειράματα με το λέιζερ. Η τιμή του συντελεστή ισχύος m παρατίθεται από διαφορετικές επιστημονικές αναφορές και ποικίλλει, όπως φαίνεται στο σχήμα 11, κατά προσέγγιση δε μπορούμε να εκλάβουμε τιμή για το $m = 3$. Απαιτείται περισσότερη εργασία σε βάθος για το φάσμα απορρόφησης της *in vivo* μελανίνης.

Για τον υπολογισμό της συνεισφοράς της μελανίνης ενός ιστού στον *μα*, μπορούμε να υπολογίσουμε το ισοδύναμο κλάσμα όγκου (*fv.melanosome*) των δερματικών μελανοσωμάτων μέσα σε έναν ιστό, *f vmelanin*, η οποία πολλαπλασιάζεται στη συνέχεια με αυτό το *μα.melanosome* για να αποδώσει την συνεισφορά στον συνολικό *μα* ενός ιστού:

$$\mu_a \text{ από συνεισφορά της μελανίνης} = f_{v,melanosome} \mu_{a,melanosome}. \quad (9)$$

Χρησιμοποιώντας το *f v.melanosome* ως συγκέντρωση της μελανίνης, μπορεί να φαίνεται περίεργο, αλλά η μελανίνη είναι ένα εκτεταμένο πολυμερές το οποίο δεν έχει ένα μοναδικό μοριακό βάρος. Επίσης, η ιστολογία μπορεί να τεκμηριώσει τον αριθμό και την πυκνότητα μελανοσωμάτων ενός ιστού, έτσι η χρήση του *fv.melanosome* είναι περισσότερο οικεία υπολογιστική προσέγγιση σε κάποιους επιστήμονες, όπως οι παθολόγοι. Οποσδήποτε τα μελανοσώματα δεν περιέχουν όλα το ίδιο ποσό μελανίνης. Ο *μα.melanosome* του σχήματος 12 αφορά ένα τυπικό δερματικό μελανόσωμα κυρίως ευμελαμίνης, που χρησιμοποιούμε στη μελέτη μας. Στο σχήμα παρουσιάζεται η διαφορά μεταξύ της ευμελαμίνης (με μαύρο) και φαιομελαμίνης (με κόκκινο). Εναλλακτικά μπορεί κάποιος να αναφέρει την φαινομενική συγκέντρωση των μονομερών (*Ceumelanin* και *Cpheomelanin* (M)) σε έναν ιστό και να χρησιμοποιήσει τους συντελεστές απόσβεσης των Sarna και Swartz (1988),

$$\begin{aligned} \epsilon_{ceumelanin} &= (2.37 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}) e^{-0.0056\lambda}, \\ \epsilon_{pheomelanin} &= (1.01 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}) e^{-0.0087\lambda}, \end{aligned} \quad (10)$$

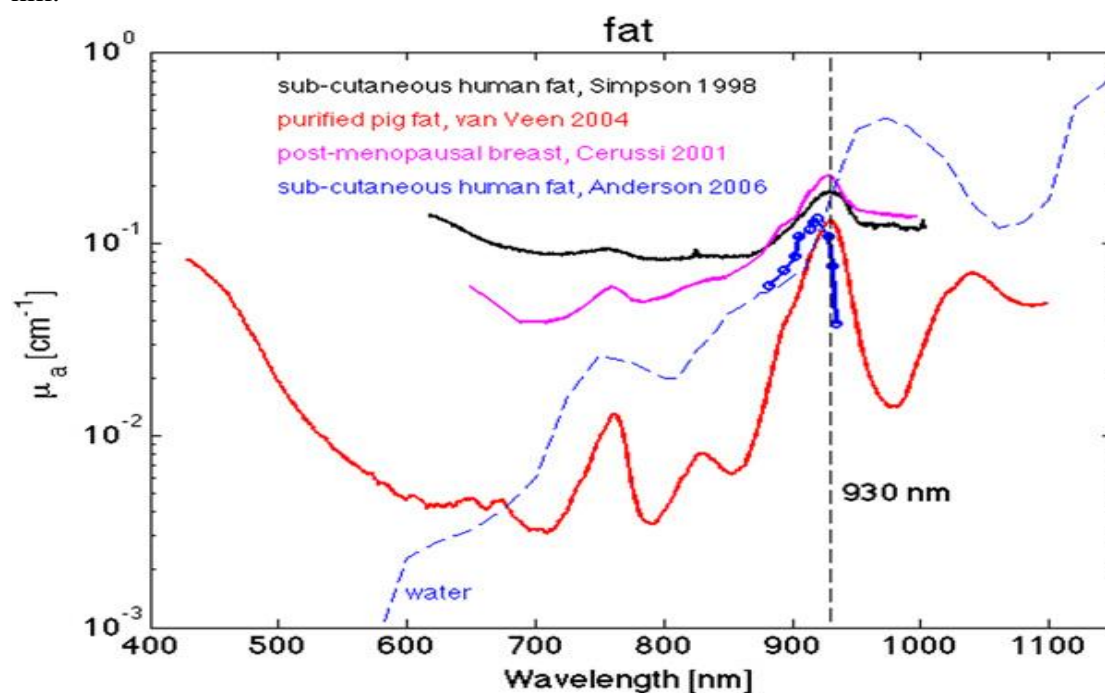
έτσι ώστε η απορρόφηση που οφείλεται στην μελανίνη είναι

μα από συνεισφορά της μελανίνης = $\epsilon\text{umelanin}$ Ceumelanin + $\epsilon\text{pheomelanin}$
 Cpheomelanin $\ln(10)$

(11)

2.5.4 Λιπώδης ιστός και λίπος

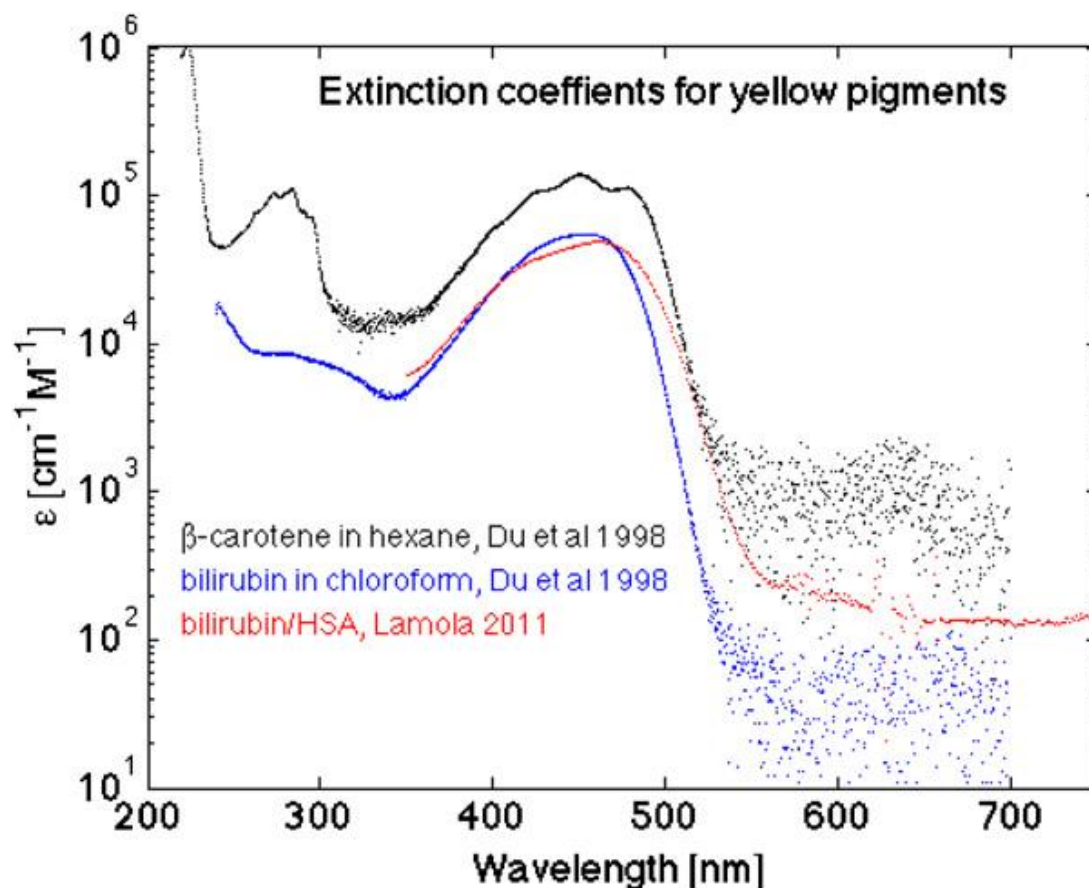
Τα φάσματα του συντελεστή απορρόφησης διαφόρων λιπαρών ιστών φαίνονται στο σχήμα 13. Η εργασία των van Veen και άλλων (2004) αφορά στον προσεκτικό καθαρισμό και την αφυδάτωση λιπαρού ιστού από χοίρους πριν την λήψη μέτρησης, και αποτελούν ίσως τα καλύτερα διαθέσιμα φάσματα. Άλλες μετρήσεις υπάρχουν όμως σε ιστούς άγνωστης περιεκτικότητας σε λίπος και σε νερό. Μια προσπάθεια για διόρθωση σε ότι αφορά την περιεκτικότητα σε λίπος και νερό έχει γίνει, και τα φάσματα είναι σε μία γενική συμφωνία, όταν το μέγιστο απορρόφησης είναι στα 930 nm.



Σχήμα 13. Συντελεστής απορρόφησης λιπωδών ιστών ως προς το μήκος κύματος. [75]

2.5.5 Κίτρινες χρωστικές

Οι κίτρινες χρωστικές ουσίες, χολερυθρίνη και β-καροτένιο, συνεισφέρουν μερικές φορές σε μικρό όμως βαθμό στα φάσματα απορρόφησης των ιστών. Η απορρόφηση φωτός από την χολερυθρίνη στο δέρμα χρησιμοποιείται συνήθως για την ανίχνευση της υπερχολερυθριναιμίας στα νεογνά. Το β-καροτένιο μπορεί επίσης να δώσει μία κίτρινη απόχρωση στους ιστούς. Στο Σχήμα 14 παρουσιάζεται ο συντελεστής απόσβεσης για την χολερυθρίνη και το β-καροτένιο. Ο Δρ Angelo Lamola διατύπωσε την υπόθεση ότι το φάσμα της χολερυθρίνης σχετίζεται με την λευκοματίνη του ανθρώπινου ορού του αίματος (χολερυθρίνη / HSA) (Lamola 2011). Μια άλλη μελέτη, της χολερυθρίνης σε χλωροφόρμιο που παρουσιάστηκε από τους (Du και άλλοι 1998), απεικονίζει την επίδραση του διαλύτη στην απορρόφηση. Το φάσμα του β-καροτενίου σε έναν διαλύτη, εξάνιο, παρουσιάζεται στη μελέτη των (Du και άλλοι 1998) και η *in vivo* τιμή αναμένεται να διαφέρει ελαφρώς.

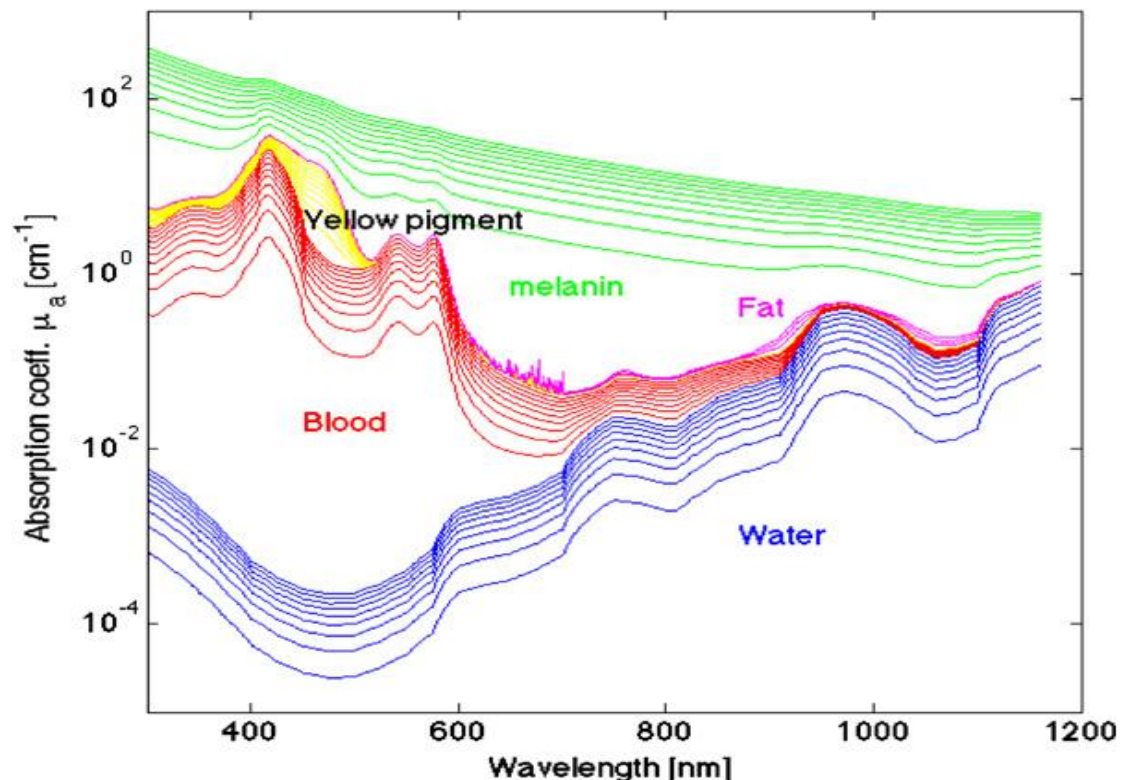


Σχήμα 14. Ο συντελεστής απόσβεσης της χολερυθρίνης (ευρισκόμενης σε χλωροφόρμιο ή ενωμένης με λευκοματίνη ανθρώπινου ορού) και του β-καροτενίου (μέσα σε εξάνιο). [18, 38]

2.6 Γενικός τύπος ιστού

Οι οπτικές ιδιότητες των ιστών θα πρέπει να θεωρείται ότι μεταβάλλονται από ιστό σε ιστό, από άτομο σε άτομο και ακόμη με το πέρασμα του χρόνου. Οι μέθοδοι για τη μέτρηση των οπτικών ιδιοτήτων συνεχίζουν να βελτιώνονται και είναι εφικτό να κάνει κανείς ταχεία αξιολόγηση ενός συγκεκριμένου ιστού, πιο εύκολα και από τη λήψη της θερμοκρασίας του με ένα θερμόμετρο.

Για τον αναγνώστη που επιθυμεί να εκτιμήσει τις οπτικές ιδιότητες και να χειριστεί μια συσκευή ή να σχεδιάσει ένα πρωτόκολλο, ένας γενικός ιστός που μπορεί να δομηθεί, καθορίζεται απαραίτητα από τα απορροφώντα χρωμοφόρα του ιστού αυτού και από την ισορροπία μεταξύ των δύο τύπων σκεδάσεως του φωτός πάνω στον ιστό αυτό, Rayleigh και Mie.



Σχήμα 15. Συνολικός συντελεστής απορρόφησης μ_a (cm^{-1}), καθώς προστίθεται νερό (κλάσμα όγκου $f_{v.\text{water}} = 0.1$ από 0.1 to 0.9), αίμα με 75 κορεσμό οξυγόνου (μέση τιμή $f_{v.\text{blood}} =$ από 10^{-4} έως 2×10^{-3}), χολερυθρίνη (1 από 1 σε 20 mg dL^{-1} , όπου $20 \text{ mg dL}^{-1} = 342 \mu\text{M}$ είναι η συγκέντρωση χολερυθρίνης στο αίμα νεογνού με ίκτερο), λίπος ($f_{v.\text{fat}} = 0.3$ από 0.3 to 0.9), και μελανίνη ($f_{v.\text{melanosome}} = 0.01$ by 0.01 to 0.10). [75]

Το Σχήμα 15 δείχνει τον *μα* συντελεστή απορρόφησης να αυξάνεται καθώς προστίθενται διαδοχικά οι συνεισφορές από το νερό, το αίμα, την χολερυθρίνη, το λίπος και την μελανίνη. Το σχήμα αυτό δεν περιγράφεται ένας πραγματικός ιστός, αλλά απλώς απεικονίζεται η φασματική επίπτωση των διαφόρων απορροφητικών χρωμοφόρων ουσιών. Κάθε ιστός μπορεί να χαρακτηρίζεται από :

- S HGb κορεσμός οξυγόνου σε μικτό αρτηριοφλεβικό ιστό.
- B μέση τιμή κλάσματος όγκου του αίματος (*f v. blood*)
- W περιεκτικότητα σε νερό (*f v. water*)
- Bili συγκέντρωση χολερυθρίνης (C (M))
- βc συγκέντρωση β -καροτένιου (C (M))
- F περιεκτικότητα σε λίπος (*f v. fat*)
- M κλάσμα όγκου μελανοσωμάτων (*f v. melanosome*), ή εναλλακτικά η μοριακή συγκέντρωση των μονομερών μελανίνης (C (M)).

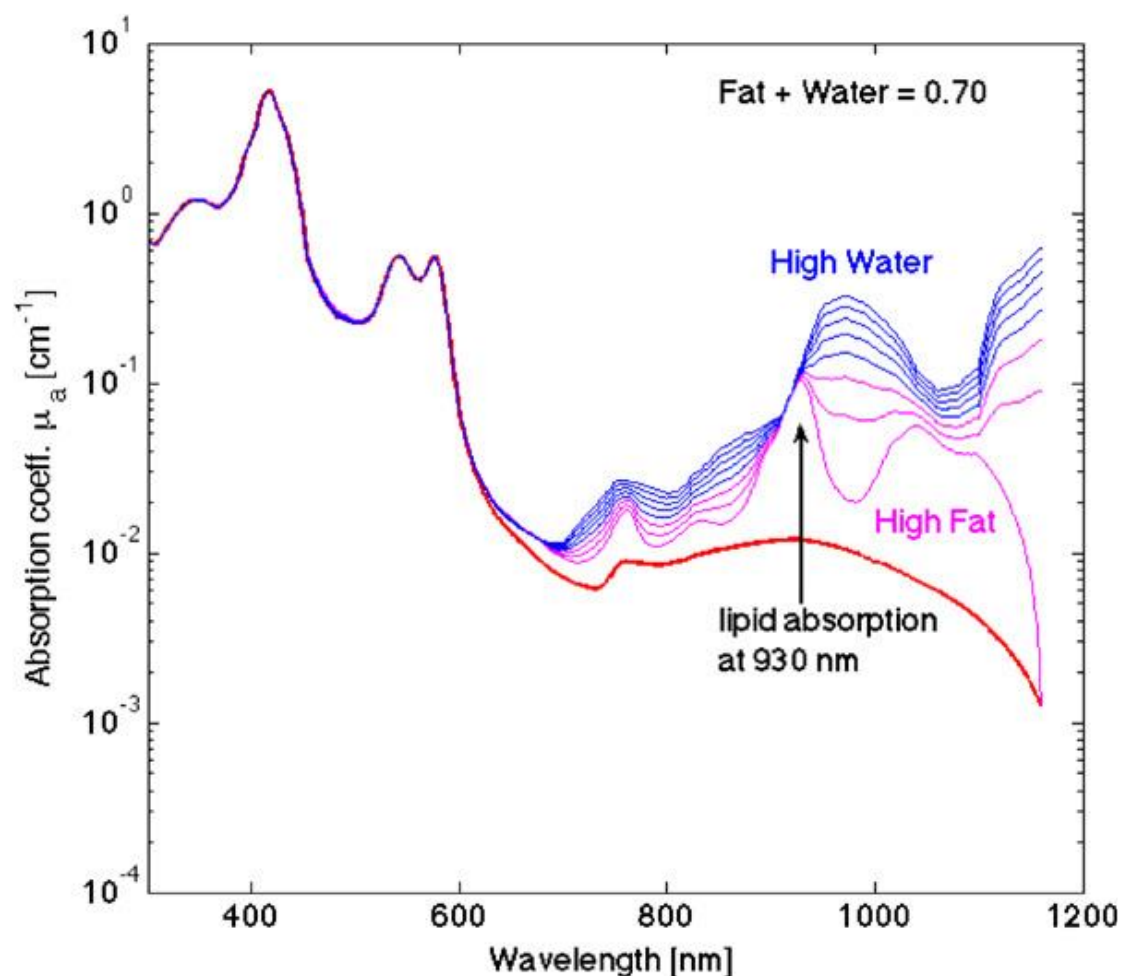
Ο συνολικός συντελεστής απορρόφησης υπολογίζεται ως

$$\begin{aligned} \mu_a = & BS\mu_{a.oxy} + B(1 - S)\mu_{a.deoxy} + W\mu_{a.water} + F\mu_{a.fat} \\ & + M\mu_{a.melanosome} + 2.3C_{\text{bili}}\epsilon_{\text{bili}} + 2.3C_{\beta c}\epsilon_{\beta c}. \end{aligned} \quad (12)$$

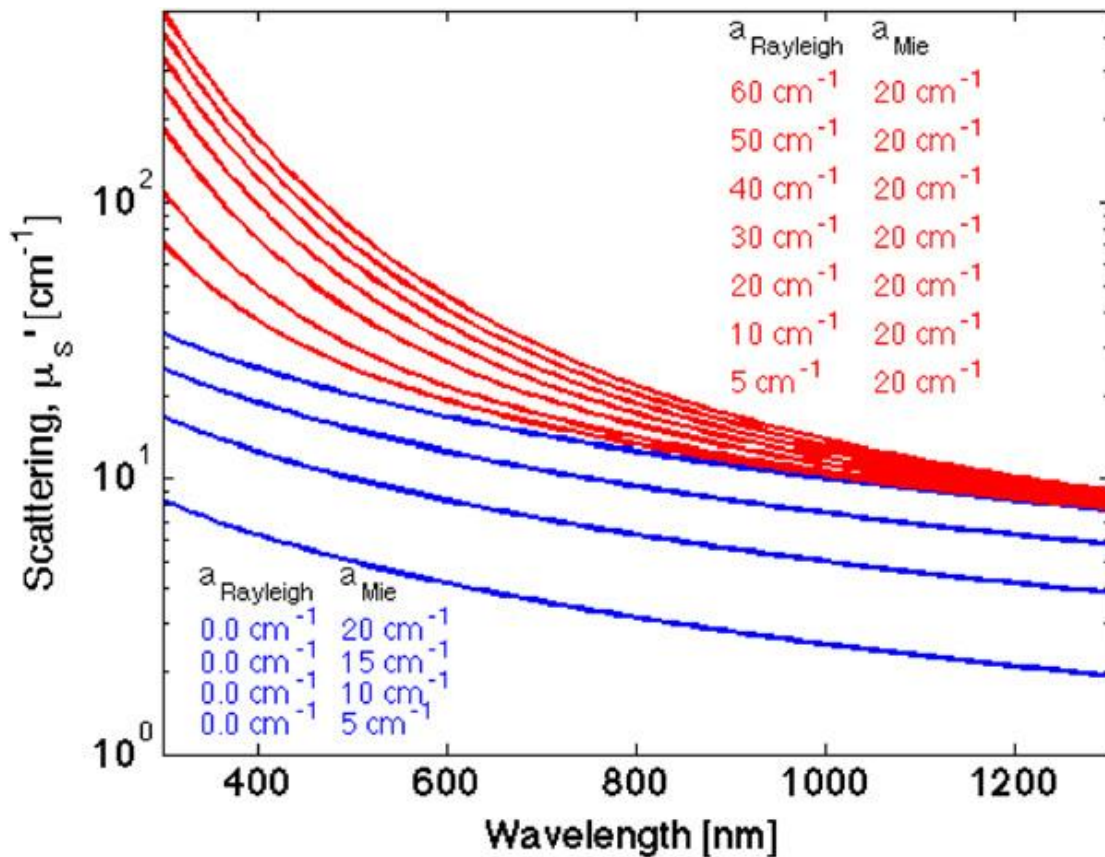
Το Σχήμα 16 δείχνει έναν πιο πραγματικό ιστό, στον οποίο η περιεκτικότητα του αίματος καθορίζεται σε $B = 0,002$, $S = 0,75$, και υπάρχει και ένα απαραίτητο ελάχιστο κλάσμα όγκου ινώδους υλικού, $f v.fibrous = 0,30$. Οι περιεκτικότητες του ιστού σε λίπος και νερό αλληλοεξουδετερώνονται, με $F = [0 \text{ από } 0,1 \text{ έως } 0,7]$ εφόσον $W = [0,7 \text{ από } - 0,1 \text{ έως } 0,1]$ τέτοια ώστε το λίπος + νερό = 0,70. Η συνεισφορά του λίπους είναι εμφανής σε περιεκτικότητες νερού κάτω από 30, αλλά είναι λιγότερο εμφανής σε υψηλότερες περιεκτικότητες νερού.

Το Σχήμα 17 δείχνει τον γενικό ανηγμένο συντελεστή σκέδασης των ιστών, με βάση την εξίσωση (2).

Η συμβολή της σκέδασης τύπου Mie (α_{mie}) εμφανίζεται με μπλέ γραμμές. Η συμβολή της σκέδασης τύπου Rayleigh ($\alpha_{Rayleigh}$) προστίθεται στην πολύ υψηλή Mie και το άθροισμα ($\alpha_{mie} + \alpha_{Rayleigh}$) παρουσιάζεται με κόκκινες γραμμές. Καθώς η συνιστώσα της σκέδασης κατά Rayleigh αυξάνεται η σκέδαση των μικρών μηκών κύματος αυξάνει σημαντικά.



Σχήμα 16. Το φάσμα απορρόφησης ενός ιστού ($B = 0.002, S = 0.75, f_{v.fibrous} = 0.30$) το οποίο ποικίλλει από το περιεχόμενο νερό του, θ από 0.1 σε 0.7, καθώς το περιεχόμενο λίπος ποικίλλει 0.7 από 0.1 σε 0, έτσι ώστε λίπος + νερό = 0.7. Οι ροζ γραμμές είναι για πυκνό λίπος, λίγο νερό και η υπογραφή του λίπους είναι καθαρά παρούσα στα 930 nm (τόξο). Οι μπλέ γραμμές είναι για αραιό λίπος, ($W \geq 0.3$) και η υπογραφή του λίπους είναι αρκετά προφανής. [75]



Σχήμα 17. Γενικός τύπος σκέδασης. Ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης, μ'_s (cm^{-1}), ενός γενικού τύπου ιστού με μεταβαλλόμενες συνεισφορές από τις σκεδάσεις τύπου Rayleigh και Mie. Η συνεισφορά της σκέδασης τύπου Mie παρουσιάζεται με μπλέ γραμμές ($a_{\text{Mie}} = 5$ to 20 cm^{-1} , $a_{\text{Rayleigh}} = 0$). Το άθροισμα των δύο ($a_{\text{Rayleigh}} + a_{\text{Mie}}$) φαίνεται με κόκκινες γραμμές. [75]

Οι εξισώσεις (1), (2) και (6), (7) μπορεί να μιμηθούν τις οπτικές ιδιότητες ενός γενικού τυπικού ιστού σε οποιοδήποτε μήκος κύματος, αλλά κάποιος πρέπει να ορίσει τις παραμέτρους του ιστού σε αυτές τις εξισώσεις. Η βιβλιογραφία περιορίζεται στις αναφορές της από τις in vivo οπτικές ιδιότητες. Σκοπός μας τώρα είναι να κατανοήσουμε καλύτερα τη σύσταση των ιστών σε όρους χρωμοφόρων στοιχείων και τις παραμέτρους ιστού που διέπουν την απορρόφηση φωτός από αυτόν για να καταστεί έτσι δυνατή η χρήση του γενικού μοντέλου. Στον πίνακα 3 παρατίθεται μια σύντομη επισκόπηση των in vivo οπτικών παραμέτρων που επηρεάζουν την απορρόφηση φωτός από έναν ιστό ($CHGb$, B , S , W , M , F).

Πίνακας 3. Οι *in vivo* παράμετροι ενός ιστού που καθορίζουν την οπτική απορρόφηση. CHGb = total HGb συγκέντρωση (μM), B = κλάσμα όγκου αίματος X 100% (θεωρώντας αίμα των 150 g HGb L⁻¹), S = κορεσμός οξυγόνου της HGb X 100%, W = κλάσμα όγκου νερού X 100%, M = κλάσμα όγκου μελανοσωμάτων X 100%. Ανθρώπινοι ιστοί εκτός αν ονοματίζονται αλλιώς. (na = όχι διαθέσιμο). [3,10,15,19,21,28,35,41,46,64,65,67,69,73,76,82]

Tissue (reference)	C_{HGB} (μM)	$B\%$	$S\%$	$W\%$	$F\%$	$M\%$
1 Breast, normal (Tromberg <i>et al</i> 1997)	23.6	1.02	67.6	14.4	65.6	0
2 Breast, normal (Bevilacqua <i>et al</i> 2000)	24.2	1.04	75.5	29.2	51.7	0
3 Breast, normal (Durduran <i>et al</i> 2002)	34.0	1.46	68.0	na	na	0
4 Breast, normal (Jakubowski <i>et al</i> 2004)	16.0	0.69	62.6	6.0	74.0	0
5 Breast, normal (Spinelli <i>et al</i> 2004)	15.7	0.67	66.4	14.5	58.0	0
6 Breast, tumor (Jakubowski <i>et al</i> 2004)	41.0	1.76	61.1	41.0	39.0	0
7 Abdomen (Jakubowski <i>et al</i> 2004)	12.5	0.54	76.0	11.0	69.0	0
8 Dermis (Choudhury <i>et al</i> 2010)	4.7	0.20	39.0	65.0	0	0
9 Epidermis (Choudhury <i>et al</i> 2010)	0	0	0	na	na	2.50
10 Skin I-II (500–600 nm) (Tseng <i>et al</i> 2011)	1.1	0.05	75.7	na	na	1.65
11 Skin I-II (600–1000 nm) (Tseng <i>et al</i> 2011)	7.9	0.34	98.5	21.4	27.7	0.87
12 Skin III-IV (500–600 nm) (Tseng <i>et al</i> 2011)	8.2	0.35	96.2	na	na	1.98
13 Skin III-IV (600–1000 nm) (Tseng <i>et al</i> 2011)	9.6	0.41	99.2	26.1	22.5	1.15
14 Skin V-VI (600–1000 nm) (Tseng <i>et al</i> 2011)	2.7	0.12	99.3	16.6	18.7	1.65
15 Forearm (Matcher <i>et al</i> 1997)	117.0	5.03	64.1	na	na	na
16 Head (Matcher <i>et al</i> 1997)	78.0	3.35	64.1	na	na	na
17 Calf (Matcher <i>et al</i> 1997)	84.0	3.61	69.0	na	na	na
18 Neonatal brain (Zhao <i>et al</i> 2004)	39.7	1.71	58.7	na	na	0
19 Neonatal brain (Ijichi <i>et al</i> 2005)	64.7	2.78	70.0	na	na	0
20 Prostate (Svensson 2007)	215.0	9.24	76.0	na	na	0
21 Canine bowel (Solonenko <i>et al</i> 2002)	119.0	5.11	80.0	na	na	0
22 Canine kidney (Solonenko <i>et al</i> 2002)	340.0	14.61	70.0	na	na	0
23 Canine prostate (Solonenko <i>et al</i> 2002)	51.0	2.19	50.0	na	na	0
24 Canine myocardium (Eliassen <i>et al</i> 1982)	100.1	4.30	na	na	na	0
25 Rat brain cortex (Todd <i>et al</i> 1992)	58.2	2.50	na	na	na	0
26 Rat brain cortex (Abookasis <i>et al</i> 2009)	87.3	3.75	60.7	na	na	0
27 Rat brain cortex normal (O'Sullivan <i>et al</i> 2012)	71.0	3.05	59.0	na	na	0
28 Rat brain cortex occluded (O'Sullivan <i>et al</i> 2012)	65.0	2.79	na	na	na	0
29 Sheep&horse brain (Weaver <i>et al</i> 1989)	32.9	1.42	na	na	na	0
30 Sheep&horse heart (Weaver <i>et al</i> 1989)	160.6	6.90	na	na	na	0
31 Sheep&horse lung (Weaver <i>et al</i> 1989)	1355.5	58.25	na	na	na	0
32 Sheep&horse liver (Weaver <i>et al</i> 1989)	1151.9	49.50	na	na	na	0
33 Sheep&horse kidney (Weaver <i>et al</i> 1989)	723.7	31.10	na	na	na	0
34 Sheep&horse small intestine (Weaver <i>et al</i> 1989)	214.1	9.20	na	na	na	0
35 Sheep&horse large intestine (Weaver <i>et al</i> 1989)	151.3	6.50	na	na	na	0
36 Sheep&horse muscle (Weaver <i>et al</i> 1989)	27.0	1.16	na	na	na	0
37 Sheep&horse tongue (Weaver <i>et al</i> 1989)	216.4	9.30	na	na	na	0
38 Sheep&horse skin (Weaver <i>et al</i> 1989)	36.4	1.57	na	na	na	0
39 Sheep&horse subcut. fat (Weaver <i>et al</i> 1989)	17.7	0.76	na	na	na	0
40 Sheep&horse omental fat (Weaver <i>et al</i> 1989)	60.7	2.61	na	na	na	0
41 Sheep&horse cortical bone (Weaver <i>et al</i> 1989)	31.6	1.36	na	na	na	0
42 Sheep&horse rib bone (Weaver <i>et al</i> 1989)	69.8	3.00	na	na	na	0
43 Sheep&horse adrenal (Weaver <i>et al</i> 1989)	274.6	11.80	na	na	na	0
44 Sheep&horse pancreas (Weaver <i>et al</i> 1989)	300.2	12.90	na	na	na	0
45 Sheep&horse ovary (Weaver <i>et al</i> 1989)	74.0	3.18	na	na	na	0
46 Sheep&horse uterus (Weaver <i>et al</i> 1989)	131.5	5.65	na	na	na	0
47 Sheep&horse mammary (Weaver <i>et al</i> 1989)	1.0	0.04	na	na	na	0

Τα δεδομένα στον πίνακα 3 είναι οι μέσες τιμές των παραμέτρων ενός ιστού που επηρεάζουν την σκέδαση φωτός από αυτόν (α , b , α' , $fRay$, $fMie$). Πολλά από αυτά τα δεδομένα μετρήθηκαν σε δείγματα εκτομής ιστών. Οι οπτικές ιδιότητες σκέδασης των αποκομμένων ιστών είναι σχετικά σταθερές για ένα μικρό χρονικό διάστημα (ώρες) εάν αποφύγουμε την υπερυδάτωση με εμβάπτιση σε φυσιολογικό ορό ή αποξήρανση με έκθεση σε αέρα περιβάλλοντος, και τα δεδομένα του πίνακα 2 είναι αντιπροσωπευτικά των *in vivo* οπτικών ιδιοτήτων σκέδασης. Αλλά υπάρχει μία ιδιαίτερα διακριτή εξαίρεση. Η οπτική σκέδαση της λευκής ουσίας του εγκεφάλου μειώνεται δραστικά μετά την εκτομή του δείγματος του ιστού, μέσα σε λίγα μόνο λεπτά της ώρας.

Βέβαια, απαιτείται αρκετά περισσότερη δουλειά πάνω στις *in vivo* μετρήσεις ενός ιστού, αναφορικά τόσο ως προς τις οπτικές ιδιότητες όσο και τις παραμέτρους ενός ιστού όπως φαίνεται στους πίνακες 1-3.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η χρήση ενός γενικού τύπου ιστού μπορεί να μιμηθεί επαρκώς οιονδήποτε πραγματικό ιστό, και έχει το πλεονέκτημα της δημιουργίας ομαλά προβλέψιμων φασμάτων για την απορρόφηση και σκέδαση του φωτός. Οι γενικές εξισώσεις (1) ή (2) για τη σκέδαση και οι εξισώσεις (6) ή (7) 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. Οι μέσες τιμές των παραμέτρων ενός ιστού ($CHGb$ ή B , S , W , M , F , και α , b ή α' , $fRay$, $bmie$) 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.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Γιόβα Διδώ. *Εισαγωγή στη νανοβιοφυσική και οπτική απεικόνιση*. Αθήνα: Εκδόσεις Συμμετρία 2011
- 2) “Ιατρικά lasers: Επιστήμη και κλινική εφαρμογή”, G. Carruth and A. McKenzie, μετάφραση, σύγχρονη ενημέρωση και επιμέλεια Α.Α. Σεραφετινίδης και Μ.Ι. Μακροπούλου, Εκδόσεις Συμμετρία, Αθήνα, 1994.
- 3) Abookasis D, Lay C C, Mathews M S, Linskey M E, Frostig R D and Tromberg B J 2009 Imaging cortical absorption, scattering, and hemodynamic response during ischemic stroke using spatially modulated nearinfrared illumination *J. Biomed. Opt.* **14** 024033
- 4) Alexandrakis G, Rannou F R and Chatziioannou A F 2005 Tomographic bioluminescence imaging by use of a combined optical-PET (OPET) system: a computer simulation feasibility study *Phys.Med. Biol.* **50** 4225–41
- 5) Anderson R R and Parrish J A 1982 Optical properties of human skin in *The Science of Photomedicine* ed J D Regan and J A Parrish (New York: Plenum Press) chapter 6, pp 147–94
- 6) Anderson R R *et al* 2006 Selective photothermolysis of lipid-rich tissues: A free electron laser study *Laser Surg. Med.* **38** 913–19
- 7) Bashkatov A N, Genina E A and Tuchin V V 2011 Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review *J. Innovative Opt. Health Sci.* **4** 9–38
- 8) Beauvoit B, Evans S M, Jenkins T W, Miller E E and Chance B 1995 Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors *Anal. Biochem.* **226** 167–74
- 9) Beek J P, van Staveren H J, Posthumus P, Sterenborg H J C M and van Gemert M J C 1997 The optical properties of lung as a function of respiration *Phys. Med. Biol.* **42** 2263–72
- 10) Bevilacqua F, Berger A J, Cerussi A E, Jakubowski D and Tromberg B J 2000 Broadband absorption spectroscopy in turbid media by combined frequency-domain and steady-state methods *Appl. Opt.* **39** 6498–507
- 11) Bevilacqua F, Piguet D, Marquet P, Gross J D, Tromberg B J and Depeursinge C 1999 *In vivo* local determination of tissue optical properties: applications to human brain *Appl. Opt.* **38** 4939–50
- 12) Biswas T K and Luu T M 2011 *In vivo* MR measurement of refractive index, relative water content and T2 relaxation time of various brain lesions with clinical application to discriminate brain lesions *Internet. J. Radiol.* **13** No 1

- 13) Cerussi A E, Berger A J, Bevilacqua F, Shah N, Jakubowski D, Butler J, Holcombe R F and Tromberg B J 2001 Sources of absorption and scattering contrast for near-infrared optical mammography *Acad. Radiol.* **8** 211–8
- 14) Cheong W F 1995 Appendix to chapter 8: Summary of optical properties *Optical-Thermal Response of Laser- Irradiated Tissue* 1st edn ed A J Welch and M J C van Gemert (New York: Plenum)
- 15) Choudhury N, Samatham R and Jacques S L 2010 Linking visual appearance of skin to the underlying optical properties using multi-spectral imaging *Proc. SPIE* **7548** 75480G-1
- 16) Chung S H, Yu H, Su M-Y, Cerussi A E and Tromberg B J 2012 Molecular imaging of water binding state and diffusion in breast cancer using diffuse optical spectroscopy and diffusion weighted MRI *J. Biomed. Opt.* **17** 071304
- 17) Cummings J P and Walsh J T 1993 Erbium laser ablation: the effect of dynamic optical properties *Appl. Phys. Lett.* **62** 1988–90
- 18) Du H, Fuh R A, Li J, Corkan A and Lindsey J S 1998 PhotochemCAD: a computer-aided design and research tool in photochemistry *Photochem. Photobiol.* **68** 141–2
- 19) Durduran T, Choe R, Culver J P, Zubkov L, Holboke M J, Giammarco J, Chance B and Yodh A G 2002 Bulk optical properties of healthy female breast tissue *Phys. Med. Biol.* **47** 2847–61
- 20) E Angelopoulou: The Reflectance Spectrum of Human Skin Technical Report MS-CIS-99-29, 1999
- 21) Eliassen P, Amtorp O, Tøndevold E and Haunsø S 1982 Regional blood flow, microvascular blood content and tissue haematocrit in canine myocardium *Cardiovasc. Res.* **16** 593–8
- 22) F. A. Duck, "Physical Properties of Tissue: A Comprehensive Reference Book" (1990)
- 23) Firbank H, Hiraoka M, Essenpreis M and Delpy D T 1993 Measurement of the optical properties of the skull in the wavelength range 650–950 nm *Phys. Med. Biol.* **38** 503–10
- 24) Gareau D S 2006 *In vivo* confocal microscopy in turbid media *PhD Dissertation* Oregon Health & Science University
- 25) Gratzer WB and Kollias N 1999 Personal communication from Gratzer, Med. Res. Council Labs, Holly Hill, London, and N Kollias, Wellman Laboratories, Harvard Medical School, Boston (as compiled and posted on <http://omlc.org/spectra/hemoglobin/> by S A Prahl)

- 26) Hale G M and Querry M R 1973 Optical constants of water in the 200 nm to 200 μm wavelength region *Appl. Opt.* **12** 555–63
- 27) Hall G, Jacques S L, Eliceiri K W and Campagnola P J 2012 Goniometric measurements of thick tissue using Monte Carlo simulations to obtain the single scattering anisotropy coefficient *Biomed. Opt. Express* **3** 2707–19
- 28) Ijichi S, Kusaka T, Isobe K, Okubo K, Kawada K, Namba M, Okada H, Nishida T, Imai T and Itoh S 2005 Developmental changes of optical properties in neonates determined by near-infrared time-resolved spectroscopy *Pediatr. Res.* **58** 568–73
- 29) Jacques S L 1996 Origins of tissue optical properties in the UVA, visible and NIR regions *OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration* vol 2 ed R R Alfano and J G Fujimoto (Washington DC: Optical Society of America) pp 364–71
- 30) Jacques S L, Alter C A and Prahl S A 1987 Angular dependence of HeNe laser light scattering by human dermis *Lasers Life Sci.* **1** 309–34
- 31) Jacques S L and McAuliffe D J 1991 The melanosome: threshold temperature for explosive vaporization and internal absorption coefficient during pulsed laser irradiation *Photochem. Photobiol.* **53** 769–76
- 32) Jacques S L and Pogue B W 2008 Tutorial on diffuse light transport *J. Biomed. Opt.* **13** 041302
- 33) Jacques S L and Prahl S A 1987 Modeling optical and thermal distributions in tissue during laser irradiation *Lasers in Surg. Med.* **6** 494–503
- 34) Jacques S L, Samatham R, Choudhury N, Fu Y and Levitz D 2008 Measuring tissue optical properties *in vivo* using reflectance-mode confocal microscopy and OCT *Proc. SPIE* **6864** 68640B
- 35) Jakubowski D B, Cerussi A E, Bevilacqua F, Shah N, Hsiang D, Butler J and Tromberg B J 2004 Monitoring neoadjuvant chemotherapy in breast cancer using quantitative diffuse optical spectroscopy: a case study *J. Biomed. Opt.* **9** 230–8
- 36) Keijzer M, Jacques S L, Prahl S A and Welch A J 1998 Light distributions in artery tissue: Monte Carlo simulations for finite-diameter laser beams *Laser Surg. Med.* **9** 148–54
- 37) Kim A and Wilson B C 2011 Measurement of *ex vivo* and *in vivo* tissue optical properties: methods and theories *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue* 2nd edn ed A J Welch and M J C van Gemert (Berlin:Springer) chapter 8, DOI:10.1007/978-90-481-8831-4
- 38) Lamola A 2011 The extinction coefficient of bilirubin associated with albumin in human serum personal communication

- 39) LaserBiophysics-2008_SEMFE_enotita1.pdf
- 40) Ma X, Lu J Q, Ding H and Hu X-H 2005 Bulk optical parameters of porcine skin dermis at eight wavelength from 325 to 1557 nm *Opt. Lett.* **30** 412414
- 41) Matcher S J, Cope M and Delpy D T 1997 *In vivo* measurements of the wavelength dependence of tissue-scattering coefficients between 760 and 900 nm measured with time-resolved spectroscopy *Appl. Opt.* **36** 386–96
- 42) Moaveni M K 1970 A multiple scattering field theory applied to whole blood *PhD Dissertation* Department of Electrical Engineering, University of Washington
- 43) Mourant J R, Johnson T M, Carpenter S, Guerra A, Aida T and Freyer J P 2002 Polarized angular dependent spectroscopy of epithelial cells and epithelial cell nuclei to determine the size scale of scattering structures *J. Biomed. Opt.* **7** 378–87
- 44) Newman C and Jacques S L 1991 Laser penetration into prostate for various wavelengths *Lasers Surg. Med.* (Suppl 3) 75 abstract 310
- 45) Optics in the Molecular Imaging Race Brian W. Pogue ,
[Issues / 2015 / September 2015](#)
- 46) O’Sullivan T D, Cerussi A E, Cuccia D J and Tromberg B J 2012 Diffuse optical imaging using spatially and temporally modulated light *J. Biomed. Opt.* **17** 071311
- 47) Parsa P, Jacques S L and Nishioka N 1989 Optical properties of the liver between 350 and 2200 nm *Appl. Opt.* **28** 2325–30
- 48) Peters V G, Wymant D R, Patterson M S and Frank G L 1990 Optical properties of normal and diseased human breast tissues in the visible and near infrared *Phys. Med. Biol.* **35** 1317–34
- 49) Prahl S A 1988 Light transport in tissue *PhD Dissertation* University of Texas at Austin, Texas
- 50) Prahl S A 2012a <http://omlc.org.edu/spectra/hemoglobin> A compendium of tissue optical properties
- 51) Prahl S A 2012b <http://omlc.org.edu/spectra/water/> Optical absorption of water
- 52) Prahl S A and Jacques S L 2012 <http://omlc.org.edu/software/mie/> Mie theory
- 53) Rogers J D, Capoglu I R and Backman V 2012 Nonscalar elastic light scattering from continuous random media in the Born approximation *Opt. Lett.* **34** 1891–3

- 54) Saidi I S, Jacques S L and Tittel F K 1995 Mie and Rayleigh modeling of visible-light scattering in neonatal skin *Appl. Opt.* **34** 7410–8
- 55) Salomatina E, Jiang B, Novak J and Yaroslavsky A N 2006 Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range *J. Biomed. Opt.* **11** 064026
- 56) Samatham R 2012 Determination of optical scattering properties of tissues using reflectance-mode confocal microscopy *Dissertation Oregon Health & Science University PhD*
- 57) Samatham R, Jacques S L and Campagnola P 2008 Optical properties of mutant vs wildtype mouse skin measured by reflectance-mode confocal scanning laser microscopy (rCSLM) *J. Biomed. Opt.* **13** 041309
- 58) Sandell J L and Zhu T C 2011 A review of *in-vivo* optical properties of human tissues and its impact on PDT *J. Biophotonics* **4** 773–87
- 59) Sarna T and Swartz H M 1988 The physical properties of melanins *The Pigmentary System* ed J J Nordlund *et al* (Oxford: Oxford University Press) posted on (<http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/extcoeff.html> by S L Jacques)
- 60) Schmitt J M 1986 Optical measurement of blood oxygenation by implantable telemetry *Technical Report G558-15*, Stanford (as compiled and posted on <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/> by S A Prahl)
- 61) Schmitt J MandKumarG1996 Turbulent nature of refractive-index variations in biological tissue *Opt. Lett.* **21** 1310–2
- 62) Segelstein D J 1981 The complex refractive index of water *MS Thesis* Department of Physics, University of Missouri-Kansas City
- 63) Simpson C R, Kohl M, Essenpreis M and Cope M 1998 Near infrared optical properties of *ex-vivo* human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo inversion technique *Phys. Med. Biol.* **43** 2465–78 posted on the website (<http://www.medphys.ucl.ac.uk/research/borg/research/NIRtopics/skin/skinoptprop.htm>)
- 64) Solonenko M, Cheung R, Busch T M, Kachur A, Griffin G M, Vulcan T, Zhu T C, Wang H-W, Hagn S MandYodh A G 2002 *In vivo* reflectance measurement of optical properties, blood oxygenation and motexafin lutetium uptake in canine large bowels, kidneys and prostates *Phys. Med. Biol.* **47** 857–73
- 65) Spinelli L, Torricelli A, Pifferi A, Taroni P, Danesini G M and Cubeddu R 2004 Bulk optical properties and tissue components in the female breast from multiwavelength time-resolved optical mammography *J. Biomed. Opt.* **9** 1137–42

- 66) «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
- 67) Svensson T, Andersson-Engels S, Einarsdottir M and Svanberg K 2007 *In vivo* optical characterization of human prostate tissue using near-infrared time-resolved spectroscopy *J. Biomed. Opt.* **12** 014022
- 68) Takatani S and Graham M D 1987 Theoretical analysis of diffuse reflectance from a two-layer tissue model *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **26** 656–64 as compiled and posted on (<http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/> by S A Prahl)
- 69) Todd M M, Weeks J B and Warner D S 1992 Cerebral blood flow, blood volume, and brain tissue hematocrit during isovolemic hemodilution with hetastarch in rats *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **263** H75–82
- 70) Tresca A 2012 About.com Guide (<http://ibdcrohns.about.com/od/diagnostictesting/p/testhemo.htm> 26 October 2012)
- 71) Tromberg B 1996 Beckman Laser Institute and Medical Clinic, University of California-Irvine, personal communication
- 72) Tromberg B J, Coquoz O, Fishkin J B, Pham T, Anderson E R, Butler J, Cahn M, Gross J D, Venugopalan V and Phan D 1997 Non-invasive measurements of breast tissue optical properties using frequency-domain photon migration *Phil. Trans. R. Soc. B* **352** 661–8
- 73) Tseng T-Y, Chen C-Y, Li Y-S and Sung K-B 2011 Quantification of the optical properties of two-layered turbid media by simultaneously analyzing the spectral and spatial information of steady-state diffuse reflectance spectroscopy *Biomed. Opt. Express* **2** 901–14
- 74) van Beekvelt M C P, Colier W N J M, Wevers R A and Van Engelen B G M 2001 Performance of near-infrared spectroscopy in measuring local O₂ consumption and blood flow in skeletal muscle *J. Appl. Physiol.* **90** 511–9
- 75) van Veen R L P, Sterenborg H J C M, Pifferi A, Torricelli A and Cubeddu R 2004 Determination of VIS–NIR absorption coefficients of mammalian fat, with time- and spatially resolved diffuse reflectance and transmission spectroscopy *OSA Annual BIOMED Topical Meeting* posted on (<http://omlc.ogi.edu/spectra/fat/> by S A Prahl)
- 76) Weaver B M Q, Standdon G E and Pearson M R B 1989 Tissue blood content in anaesthetised sheep and horses *Comp. Biochem. Physiol. A* **94** 401–4
- 77) Welch A J and van Gemert M J C 2011 Overview of optical and thermal laser-tissue interaction and nomenclature *Optical-Thermal Response of Laser-*

Irradiated Tissue 2nd edn ed A J Welch and M J C van Gemert (Berlin: Springer) chapter 1 (DOI:[10.1007/978-90-481-8831-4](https://doi.org/10.1007/978-90-481-8831-4))

- 78) Wilson J D, Cottrell W J and Foster T H 2007 Index-of-refraction-dependent subcellular light scattering observed with organelle-specific dyes *J. Biomed. Opt.* **12** 014010
- 79) Xu M and Alfano R R 2005 Fractal mechanisms of light scattering in biological tissue and cells *Opt. Lett.* **30** 3051–3
- 80) Xu M, Wu T T and Qu J Y 2008 Unified Mie and fractal scattering by cells and experimental study on application in optical characterization of cellular and subcellular structures *J. Biomed. Opt.* **13** 024015
- 81) Yi J and Backman V 2012 Imaging a full set of optical scattering properties of biological tissues by inverse spectroscopic optical coherence tomography *Opt. Lett.* **37** 4443–5
- 82) Zhao J, Ding H S, Hou L, Zhou C L and Chance B 2004 *In vivo* determination of the optical properties of infant brain using frequency-domain near-infrared spectroscopy *J. Biomed. Opt.* **10** 024028
- 83) Zolotarev V M, Mikhilov B A, Alperovich L L and Popov S I 1969 Dispersion and absorption of liquid water in the infrared and radio regions of the spectrum *Opt. Spectrosc.* **27** 430–2
- 84) Zonios G, Dimou A, Bassukas I, Galaris D, Tsolakidis A and Kaxiras E 2008 Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection *J. Biomed. Opt.* **13** 014017