

А.И. ЯКУШЕВА, А.В. ДУНАЕВ, К.В. ПОДМАСТЕРЬЕВ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАНИНА В ОПТИЧЕСКОЙ ТКАНЕВОЙ ОКСИМЕТРИИ

Данная работа посвящена анализу влияния меланина в коже на регистрируемые сигналы в оптической тканевой оксиметрии (ОТО). В статье приведена методика эксперимента, а также представлены результаты проведенных исследований. Полученные результаты статистической обработки зарегистрированных сигналов и расчетных медико-биологических параметров в ОТО позволили сделать вывод о необходимости учёта содержания меланина при диагностическом исследовании пациентов с различным уровнем содержания меланина в коже.

Ключевые слова: оптическая тканевая оксиметрия, тканевая сатурация, объемное кровенаполнение, меланин, калибровка.

Преимущество метода оптической тканевой оксиметрии (ОТО), основанного на абсорбционной спектрофотометрии, заключается в возможности *in vivo* оценивать динамику транспорта и потребления кислорода в системе микроциркуляции крови [1]. В настоящее время всё большее применение находит данная технология в функциональной диагностике микроциркуляторно-тканевых систем (МТС) организма человека, а также для оценки эффективности лечения различных заболеваний, связанных с нарушением МТС (синдром Рейно, сахарный диабет, онкология и др.). Существует ряд конструктивных и методологических преимуществ для использования метода ОТО, таких как достаточный диагностический объём биоткани, возможность расположения компактной оптической головки с излучателями и фотоприёмником на теле пациента в лёгком контакте с исследуемой биотканью, а также высокая чувствительность метода ОТО, что объективно показывают различные функциональные (нагрузочные) тесты и пробы (дыхательная, тепловая, холодовая, окклюзионная и др.) [2]. Однако, для корректного построения математических моделей ОТО, адекватно описывающих процессы оксигенации ткани, необходимо определять и оценивать влияние наибольшего количества оптико-физических параметров биологических тканей и ее компонентов на результат диагностики.

В ходе исследований методом ОТО оценивается доставка и потребление кислорода в микроциркуляторном русле [3]. В основе метода ОТО лежит различное поглощение света разными фракциями гемоглобина в видимом и ИК-диапазоне. Оптические свойства практически всех форм гемоглобина в той или иной степени различны. Спектры поглощения оксигемоглобина (HbO_2) и дезоксигемоглобина (Hb) для крови в видимом и ближнем ИК-диапазоне спектра достаточно изучены. Спектры поглощения данных фракций гемоглобина, воды и меланина представлены на рисунке 1 [4]. Как видно из рисунка 1, на длине волны около 530 нм при зондировании биоткани поглощение света этими формами гемоглобина практически одинаково, т. е. образуется так называемая изобестическая точка, которую выгодно использовать в качестве опорной при исследовании, когда возникает необходимость исключить разницу в измерениях, связанных с неодинаковым пропусканием света венозной и артериальной кровью. Также удобно использовать и те точки, где поглощение максимально различно, например, при зондировании биоткани красным светом с длиной волны около 630 нм или инфракрасным с 780 нм [5]. Однако существует хромофор, который носит индивидуальный характер поглощения, так как его концентрация может сильно отличаться для разных людей и в зависимости от места измерения, что может приводить к некорректным результатам диагностики. Им является один из сильно поглощающих пигментов кожи – меланин.

В общем виде модель, описывающая процессы в ОТО, представляет собой систему, состоящую из двух линейных алгебраических уравнений, которая при экспериментально измеренных коэффициентах поглощения и известных из литературы коэффициентах экстинкции решается относительно двух неизвестных концентраций CHb и $CHbO_2$, что позволяет определить основные медико-биологические параметры (МБП) в ОТО, к которым относят, главным образом, тканевую сатурацию оксигемоглобина в смешанной крови микроциркуляторного русла (тканевая сатурация – S_tO_2) и относительный объём всех фракций гемоглобина (объём крови) в тестируемом объеме биоткани (объемное кровенаполнение – V_b) как функции времени [6].

Тканевая сатурация (S_tO_2) определяется, как процентное содержание оксигемоглобина на фоне суммы всех форм гемоглобина по формуле (1), а объемное кровенаполнение определяется в процентах долю фракции крови в диагностическом объеме биоткани и рассчитывается по формуле (2):

$$S_{tO_2} = \frac{C_{HbO_2}}{C_{HbO_2} + C_{Hb}} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где S_{tO_2} – тканевая сатурация;

C_{HbO_2} – молярная концентрация оксигемоглобина;

C_{Hb} – молярная концентрация дезоксигемоглобина.

$$V_b = \frac{C_{HbO_2} + C_{Hb}}{C_{HbO_2} + C_{Hb} + C_{other}} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где V_b – объемное кровенаполнение;

C_{other} – молярная концентрация всех остальных (других, то есть сторонних) оптических поглотителей в ткани.

Считается, что кожа состоит из эпидермиса и дермы. Падающее излучение сначала проходит через эпидермис, где наибольший коэффициент поглощения имеет меланин, поэтому оптические свойства эпидермиса считаются равными свойствам меланина. Пройдя часть, попадает в дерму, где поглощается преимущественно гемоглобином, присутствующим в поверхностном слое дермы [7]. Таким образом, на расчет МБП в ОТО оказывает существенное влияние меланин кожи, так как в диапазоне длин волн зондирующего излучения меланин является одним из сильно поглощающих пигментов кожи.

Содержание меланина у людей, принадлежащих к разным этническим группам, значительно отличается. Так, например, у европейского (белого) типа кожи содержание меланина находится в диапазоне от 1,5 до 5 %, а у африканского типа кожи концентрация может достигать до 43 % [7], что в конечном счете может приводить к недостоверным результатам. Таким образом, возникает проблема корректного определения концентрации оксигемоглобина в методе ОТО у людей, принадлежащих к разным этническим группам, так как не учитываются различия оптических свойств кожи этих людей. Целью данной работы явился анализ влияния меланина кожи на регистрируемые сигналы и расчетные МБП в методе ОТО при зондировании излучением зеленого и красного лазеров.

Экспериментальные исследования осуществлялись на многофункциональном лазерном неинвазивном диагностическом комплексе (МЛНДК) «ЛАКК-М» (ООО НПП «ЛАЗ-МА», г. Москва), внешний вид которого представлен на рисунке 2 [8].

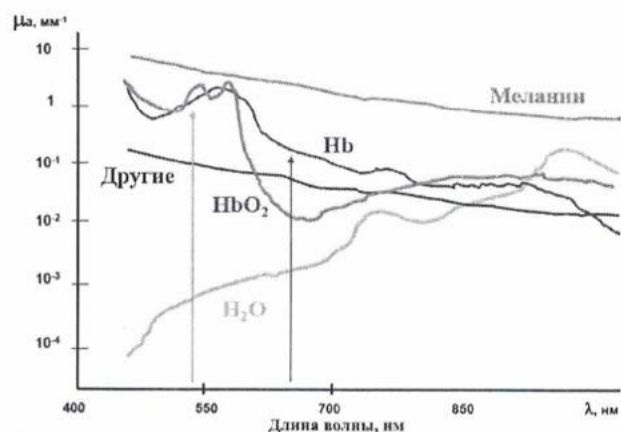


Рисунок 1 – Спектры поглощения оксигемоглобина (HbO_2), дезоксигемоглобина (Hb), воды (H_2O) и меланина



Рисунок 2 – МЛНДК «ЛАКК-М»

Комплекс предназначен для исследования состояния биологической ткани путем одновременного использования методов пульсоксиметрии, лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), ОТО и флуоресцентной спектроскопии [9]. Однако, данная модификация МЛНДК не предназначена для контроля уровня меланина в тканях пациента и калибрована для кожи среднего европейца с его минимальным содержанием (без загара). Поэтому, при практическом проведении диагностических обследований данное ограничение необходимо учитывать [10].

Экспериментальные исследования производились с использованием только канала ОТО, реализованного на двух длинах волн зондирования биоткани – 530 и 630 нм соответственно.

В ходе выполнения работы произведены серии тестовых экспериментов, в которых приняли участие 4 группы условно здоровых добровольцев, отличающихся по этническому типу кожи: белые европейцы (7 человек), арабы (1 человек), индийцы (1 человек) и африкан-

цы (3 человека). Исследования проводились днем, примерно в одно и тоже время, в условиях психического и физического покоя. Базовые тесты ОТО–грамм (длительностью 3 мин) проводились последовательно на двух различных участках – на коже подушечки (волярная поверхность) среднего пальца, которая богата вегетативными и сенсорными нервными волокнами, артериоло–венулярными анастомозами (АВА) и часто используется для оценки нейрососудистой функции, а также в так называемой зоне Захарьина – Геда («точке сердца») на предплечье, расположенной по срединной линии на 4 см выше шиловидных отростков локтевой и лучевой костей. Данная область бедна АВА (кожа без АВА) и характеризует в большей степени нутритивный кровоток [9]. Выбор данных участков исследований связан также с существенной разницей в уровне меланина в этих зонах, что наглядно демонстрирует различие цвета кожи. Кроме того, производилось измерение напряжений с двух фотодиодов, регистрирующих вторичные излучения из биоткани при зондировании красным и зеленым лазерным излучением.

Примеры типовых записей S_tO_2 и V_b –грамм для европейского и африканского типов кожи (область на предплечье) представлены на рисунке 3,а и 3,б соответственно. Параметр тканевой сатурации для европейского типа кожи в данной области исследований равен среднестатистическому, так как в норме данный параметр примерно находится в диапазоне 60–80%. Однако на представленной ОТО–грамме для африканского типа кожи тканевая сатурация равна 39%, что наглядно демонстрирует некорректность проведения исследований на людях с повышенным содержанием меланина кожи.

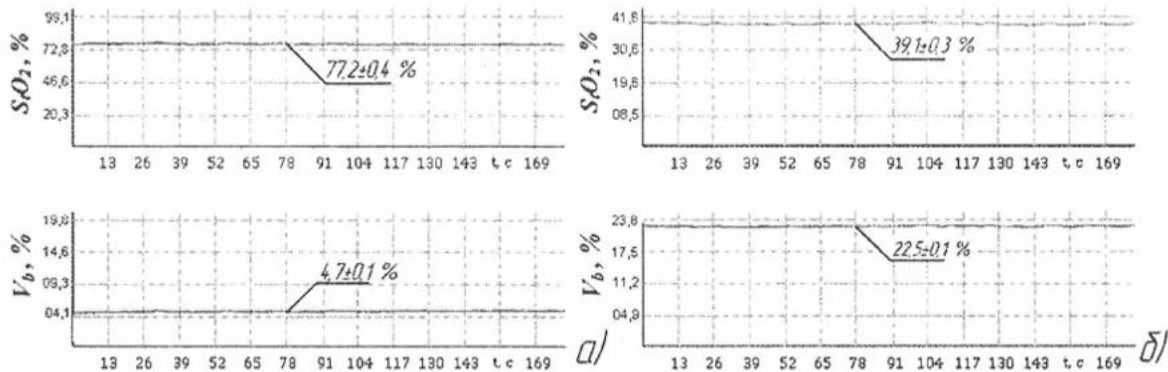


Рисунок 3 – Типовые S_tO_2 и V_b –граммы, зарегистрированные на предплечье для европейского (а) и африканского (б) типов кожи

Полученные значения зарегистрированных в ОТО сигналов (напряжений и расчётных МБП) в ходе проведения исследований были статистически обработаны по критерию Манна–Уитни. Выбор данного критерия связан с тем, что он является непараметрическим и, как следствие, может использоваться для сравнения двух независимых (несвязанных) групп, вид распределения которых не анализировался [11]. В результате анализа обнаружено статистическое различие значений напряжений, зарегистрированных при измерениях на коже в области с АВА (на мякише пальца), у этнических групп с повышенным содержанием меланина по отношению к белому европейскому типу кожи ($p < 0,05$). Результаты измерений напряжений и значения МБП (S_tO_2 , V_b) в области с АВА представлены в таблице 1, где n – количество измерений в группах условно здоровых добровольцев, отличающихся по этническому типу кожи.

Таблица 1 – Результаты измерений напряжений и значения МБП (S_tO_2 , V_b) в области с АВА

Параметры	Этнический тип кожи			
	Европейцы ($n=82$)	Индийцы ($n=16$)	Арабы ($n=8$)	Африканцы ($n=3$)
Напряжение, В ($\lambda=530$ нм)	$1,8 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,1^*$	$1,3 \pm 0,1^*$	$1,4 \pm 0,3^{**}$
Напряжение, В ($\lambda=630$ нм)	$1,2 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,1^*$	$0,9 \pm 0,1^*$	$0,7 \pm 0,3^*$
S_tO_2 , %	$81,2 \pm 8,5$	$73,8 \pm 3,4^*$	$68,1 \pm 4,7^*$	$68,9 \pm 7,8^*$
V_b , %	$8,6 \pm 2,0$	$12,2 \pm 1,8^*$	$11,5 \pm 1,2^*$	$14,3 \pm 2,2^*$

* различия значений параметров по отношению к европейскому типу кожи значимы при доверительной вероятности 95 % ($p < 0,05$) по критерию Манна–Уитни.

** различие значения параметра по отношению к европейскому типу кожи значимо при доверительной вероятности 94,2 % ($p < 0,058$) по критерию Манна–Уитни.

В то же время полученные данные в области без АВА (на предплечье) показывают ещё большее статистически значимое различие этнических типов кожи с повышенным содержанием меланина по отношению к коже белых европейцев ($p < 0,05$). Результаты измерений напряжений и значения расчётных МБП ($S_i O_2$, V_b) в области без АВА представлены в таблице 2.

Так, например, значение напряжения при зондировании зеленым лазером европейского типа кожи составило $1,8 \pm 0,2$ В, в то время как для африканского – всего $0,3 \pm 0,1$ В. Значительное отличие наблюдается и при зондировании красным лазером, т.е. если для европейского типа кожи уровень напряжения составил $1,7 \pm 0,3$ В, то для африканского – всего лишь около $0,1 \pm 0,1$ В. В результате и расчётные МБП являются различными и могут достигать разницы в два раза.

Таблица 2 – Результаты измерений напряжений и значения МБП ($S_i O_2$, V_b) в области без АВА

Параметры	Этнический тип кожи			
	Европейцы ($n=82$)	Индийцы ($n=16$)	Арабы ($n=8$)	Африканцы ($n=3$)
Напряжение, В ($\lambda=530$ нм)	$1,8 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1^*$	$0,9 \pm 0,1^*$	$0,3 \pm 0,1^*$
Напряжение, В ($\lambda=630$ нм)	$1,7 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,2^*$	$0,6 \pm 0,1^*$	$0,1 \pm 0,1^*$
$S_i O_2$, %	$69,1 \pm 8,5$	$63,0 \pm 4,9^*$	$55,9 \pm 3,5^*$	$36,0 \pm 2,2^*$
V_b , %	$5,9 \pm 1,4$	$10,8 \pm 1,8^*$	$15,4 \pm 1,3^*$	$28,3 \pm 4,3^*$

* различия значений анализируемых параметров по отношению к европейскому типу кожи значимы при доверительной вероятности 95 % ($p < 0,05$) по критерию Манна–Уитни.

Таким образом, полученные экспериментальные данные являются яркой иллюстрацией того, что уровень регистрируемых в ОТО сигналов при зондировании кожи излучением зеленого и красного лазеров для групп людей с различными этническими типами кожи существенно различен. И, как следствие, расчётные значения МБП ($S_i O_2$, V_b) являются некорректными для этнических типов кожи, имеющих повышенный уровень содержания меланина в отличие от европейского типа, под который и осуществляется калибровка текущей приборной реализации канала ОТО. Следовательно, можно сделать вывод о необходимости индивидуального учета оптических параметров кожи человека, а именно вклада в общее поглощение меланина в коже, как при создании математических моделей для данной диагностической технологии, так и для ее приборной реализации за счёт создания калибровочного фантома, учитывающего различную концентрацию меланина в коже.

Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки ФГБОУ ВПО «Государственный университет – УНПК» (№ 310) и внутривузовского гранта Государственного университета – УНПК (ВК–3–2013) с использованием оборудования регионального центра коллективного пользования контрольно-измерительным оборудованием ФГБОУ ВПО «Государственный университет – УНПК».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Макаров, Д.С. Физиологический разброс индивидуальных параметров микроциркуляции крови как источник ошибок в неинвазивной медицинской спектрофотометрии / Д.С. Макаров, Д.А. Рогаткин // Труды IX Международной конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии». – 2010. – С. 78–82.
2. Дунаев, А.В. К вопросу о возможности использования методов неинвазивной спектрофотометрии для контроля эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии / А.В. Дунаев, Д.А. Рогаткин // Известия ОрелГТУ. Серия «Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии». – 2009. – № 3/275(561). – С. 110–115.
3. Рогаткин, Д.А. Базовые принципы организации системного программного обеспечения многофункциональных неинвазивных спектрофотометрических диагностических приборов и комплексов / Д.А. Рогаткин // Медицинская техника. – № 2. – 2004. – С. 8–12.
4. Тучин, В.В. Оптическая медицинская диагностика: в 2 т. – М.: Физматлит. – 2007. – Т. 1. – 559 с.
5. Рогаткин, Д.А. Физические основы оптической оксиметрии. Лекция / Д.А. Рогаткин // Медицинская физика. – 2012. – № 2. – С. 97–114.
6. Подмастерьев, К.В. Метрологическое обеспечение биомедицинских приборов и технологий для функциональной диагностики / К.В. Подмастерьев, А.В. Дунаев, А.В. Козюра, Е.А. Жеребцов // Биотехносфера. – 2012. – № 5–6(23–24). – С. 101–105.
7. Пушкарёва, А.Е. Методы математического моделирования в оптике биоткани: учебное пособие / А.Е. Пушкарёва. – СПб: СПбГУ ИТМО, 2008. – 103 с.
8. Rogatkin, D.A Multifunctional laser noninvasive spectroscopic system for medical diagnostics and some metrological provisions for that / D.A Rogatkin, L.G. Lapaeva, E. N. Petritskaya et al. // Proc. SPLE. 2009. Vol. 7368. 73681Y.
9. Дунаев, А.В. Анализ физиологического разброса параметров микроциркуляторно–тканевых систем / А.В. Дунаев, И.Н. Новикова, А.И. Жеребцова, А.И. Крупаткин, С.Г. Соколовский, Э.У. Рафаилов // Биотехносфера. – 2013. – № 5(29). – С. 44–53.

10. Свешникова, А.И., Анализ регистрируемых сигналов в абсорбционной спектрофотометрии тканей при различных уровнях содержания меланина в коже [Электронный ресурс] / А.И. Свешникова, А.В. Дунаев // Сетевое СМИ Режим доступа: <http://youconf.ru/itnop2014/materials/manager/view/1996>.

11. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.

Якушева Алена Игоревна
ФГБОУ ВПО «Государственный университет – УНПК», г. Орёл.
Студент кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация»
Тел.: +7 953–623–73–57
E-mail: alenka_sveshniko@mail.ru

Дунаев Андрей Валерьевич
ФГБОУ ВПО «Государственный университет – УНПК», г. Орёл.
Ведущий научный сотрудник научно-образовательного центра «Биомедицинская инженерия», к.т.н., доцент кафедры «Приборостроение, метрология и сертификация»
Тел.: +7 919–261–99–06
E-mail: dunaev@bmecenter.ru

Подмастерьев Константин Валентинович
ФГБОУ ВПО «Государственный университет – УНПК», г. Орёл.
Д.т.н., профессор, заведующий кафедрой «Приборостроение, метрология и сертификация», директор учебно-научно-исследовательского института информационных технологий
Тел. (4862)41–98–21;
E-mail: pms35@ostu.ru

A.I. YAKUSHEVA, A.V. DUNAEV, K.V. PODMASTERYEV

STUDY OF INFLUENCE OF MELANIN CONTENT IN TISSUE REFLECTANCE OXIMETRY

This work is devoted to analysis of the influence of skin melanin on the registered signals in the tissue reflectance oximetry (TRO). The article presents the experimental method and the results of the research. The obtained results of statistical processing of registered signals and calculated medical-biological parameters in the TRO led to the conclusion about the necessity accounting melanin content during the diagnostic study of patients with different levels of skin melanin.

Keywords: tissue reflectance oximetry, tissue oxygen saturation, blood volume, melanin, calibration.

BIBLIOGRAPHY

1. Makarov, D.S. Fiziologicheskiv razbros individual'nykh parametrov mikrotsirkulyatsii krovi kak istochnik oshibok v neinvazivnykh meditsinskoy spektrofotometrii / D.S. Makarov, D.A. Rogatkin // Trudy IX Mezhdunarodnoy konferentsii «Fizika i radioelektronika v meditsine i ekologii». – 2010. – S. 78–82.

2. Dunayev, A.V. K voprosu o vozmozhnosti ispol'zovaniya metodov neinvazivnykh spektrofotometrii dlya kontrol'va effektivnosti nizkointensivnykh lazernoy terapii / A.V. Dunayev, D.A. Rogatkin // Izvestiya OrelGTU. Seriya «Fundamental'nyye i prikladnyye problemy tekhniki i tekhnologii». – 2009. – № 3/275(561). – S. 110–115.

3. Rogatkin, D.A. Bazovnyye printsipy organizatsii sistemnogo programmnoy obespecheniya mnogofunktsional'nykh neinvazivnykh spektrofotometricheskikh diagnosticheskikh priborov i kompleksov / D.A. Rogatkin // Meditsinskaya tekhnika. – № 2. – 2004. – S. 8–12.

4. Tuchin, V.V. Opticheskaya meditsinskaya diagnostika: v 2 t. – М.: Fizmatlit. – 2007. – Т. 1. – 559 s.

5. Rogatkin, D.A. Fizicheskiye osnovy opticheskoy oksimetrii. Lektsiya / D.A. Rogatkin // Meditsinskaya fizika. – 2012. – № 2. – S. 97–114.

6. Podmaster'ev, K.V. Metrologicheskoye obespecheniye biomeditsinskikh priborov i tekhnologiy dlya funktsional'noy diagnostiki / K.V. Podmaster'ev, A.V. Dunayev, A.V. Kozyura, Ye.A. Zherebtsov // Biotekhnosfera. – 2012. – № 5–6(23–24). – S. 101–105.

7. Pushkarova, A.Ye. Metody matematicheskogo modelirovaniya v optike biotkani: uchebnoye posobiye / A.Ye. Pushkarova. – SPb: SPbGU ITMO, 2008. – 103 s.

8. Rogatkin, D.A. Multifunctional laser noninvasive spectroscopic system for medical diagnostics and some metrological provisions for that / D.A. Rogatkin, L.G. Lapaeva, E. N. Petritskaya et al. // Proc. SPLE. 2009. Vol. 7368. 73681Y.

9. Dunayev, A.V. Analiz fiziologicheskogo razbrosa parametrov mikrotsirkulyatorno–tkanevnykh sistem / A.V. Dunayev, I.N. Novikova, A.I. Zherebtsova, A.I. Krupatkin, S.G. Sokolovskiy, E.U. Rafailov // Biotekhnosfera. – 2013. – № 5(29). – S. 44–53.

10. Sveshnikova, A.I., Analiz registriruemyykh signalov v absorbtionnykh spektrofotometrii tkaney pri razlichnykh urovnnykh soderzhaniva melanina v kozhe [Elektronnyy resurs] / A.I. Sveshnikova, A.V. Dunayev // Sетевое SMI Rezhim dostupa: <http://youconf.ru/itnop2014/materials/manager/view/1996>

11. Rebrova, O.Yu. Statisticheskiv analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA / O.Yu. Rebrova. – М: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.

Yakusheva Alena Igorevna
FGBOU VPO "State University–ESPC", Orel,
Student of the Department "Instrument making, metrology and certification"
Tel.: +7 953–623–73–57
E-mail: alenka_sveshniko@mail.ru

Dunayev Andrey Valerievich
FGBOU VPO "State University – UNPK" Orel,
Associate Professor of "Instrument making, metrology and certification"
Tel.: +7 919–261–99–06
E-mail: dunaev@bmecenter.ru

Podmasteriev Konstantin Valentinovich
VPO "State University–ESPC" Orel
Professor, Head of the Chair "Instrument making, metrology and certification", the director of training and research institute of information technology
Tel. (4862) 41–98–21;
E-mail: pms35@ostu.ru