

СПЕЦИАЛЬНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ОПТИЧЕСКОЙ БИОФИЗИКЕ

IN VIVO ОТРАЖАТЕЛЬНАЯ И ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

*Допущено Минобразования РФ
в качестве учебного пособия для студентов вузов,
обучающихся по направлениям «Физика» (программе бакалавриата «Фи-
зика живых систем» и программе магистратуры «Биофотоника»)
и «Биотехнические системы и технологии» (программе бакалавриата
«Медицинская фотоника»)*

УДК [535.39:611.77]
ББК 22.34я73
С71

Авторы: Ю.П.Синичкин, Л.Е.Долотов, Д.А.Зимняков,
В.В.Тучин, С.Р.Утц

Специальный практикум по оптической биофизике.

С71 *In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека: Учеб. пособие для студентов вузов / Ю.П. Синичкин, Л.Е. Долотов, Д.А. Зимняков и др. 2-е изд.– Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2003. – 157 с.: ил.

ISBN 5-292-02916-5

Настоящее учебное пособие предназначено для экспериментального изучения одного из разделов биофизики – оптической биофизики, в частности, оптических явлений в биологических тканях. Единый блок из 9 лабораторных работ направлен на практическое воплощение методов *in vivo* отражательной и флуоресцентной спектроскопии кожи человека в целях диагностики ее функционально-морфологического состояния.

Для студентов старших курсов, аспирантов, преподавателей и научных работников, специализирующихся в области биомедицинской оптики, лазерной биофизики и применения лазеров в биомедицине.

Рекомендуют к печати:

Кафедра оптики и биофотоники Саратовского государственного университета
Доктор физико-математических наук А.В.Скрипаль

УДК [535.39:611.77]
ББК 22.34я73

ISBN 5-292-02916-5

© Ю.П.Синичкин, Л.Е.Долотов,
Д.А.Зимняков и др., 2003

ПРЕДИСЛОВИЕ

Практикум «*In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека» представляет собой практическое учебное пособие для экспериментального изучения одного из разделов биофизики – оптической биофизики, в частности, оптических явлений в биотканях. Его цель – показать, как на практике реализуются возможности комбинированного использования методов отражательной и флуоресцентной спектроскопии с целью получения информации о структуре биотканей на примере исследования кожной ткани, кровенаполненности кровеносных сосудов, пространственном распределении хромофоров и флуорофоров внутри кожи и их концентрации, интенсивности происходящих в коже метаболических процессов. Теоретические основы методов изложены в одноименной монографии Ю.П.Синичкина, С.Р.Утца.

Темы всех лабораторных работ, включенных в практикум, методически связаны, их содержание взаимно дополняет друг друга.

В лабораторной работе №1 «Исследование влияния содержания крови и меланина в коже человека на спектр ее диффузного отражения» исследования изменений в спектрах диффузного отражения кожи, вызванных изменением содержания в кожной ткани крови (эритематозная кожа или кожа в условиях внешней механической компрессии) и меланина (кожа с нанесенным на нее кремом, содержащим меланин), дают не только возможность знакомства с современным спектральным оборудованием, применяемым в *in vivo* измерениях, но и по приведенным методикам, основанным на доступной физической модели кожной ткани, проводить количественные оценки изменения содержания основных хромофоров кожной ткани.

Количественная оценка содержания гемоглобина крови и пигмента меланина в кожной ткани возможна путем измерений индексов эритемы и пигментации. Индекс эритемы позволяет проводить диагностику воспалительных процессов, определять состояние кожи под влиянием внешних воздействий, проводить диагностику состояния кожного покрова в процессе лечения и т.д. Индекс пигментации определяет эффективность защиты человека от неблагоприятного воздействия УФ излучения. В лабора-

торной работе №2 «Эритемо-меланинометр – прибор для определения индексов эритемы и меланина кожи человека» рассматриваются методики определения индексов по спектрам диффузного отражения, а само определение индексов производится по оригинальной методике на приборе, разработанном на кафедрах оптики и лазерной и компьютерной физики СГУ.

Методика определения одного из важнейших физиологических параметров состояния организма человека – степени оксигенации гемоглобина крови – по спектрам отражения кожи в средней части видимого диапазона положена в основу лабораторной работы №3 «Определение степени оксигенации гемоглобина крови по спектрам диффузного отражения кожи человека».

Возможности флуоресцентной спектроскопии для количественной оценки изменения содержания в коже ее основных хромофоров показаны в лабораторной работе №4 «Исследование влияния содержания крови и меланина в коже на ее спектр автофлуоресценции». Анализ изменений в спектрах автофлуоресценции кожи, происходящих в результате изменения содержания в ней крови или меланина, проводится с привлечением простой модели кожной ткани.

На цветовом восприятии спектров диффузного отражения кожи излучения в видимой области спектра основан традиционный метод хромотографии. В лабораторной работе №5 «Цветовое восприятие отраженного кожей белого света и ее автофлуоресценции» изложены основы диагностического метода оценки состояния кожной ткани, основанного на цветовом восприятии как отраженного кожей белого света, так и ее флуоресценции. Цветовой анализ спектров диффузного отражения и флуоресценции, проведенный на основе колориметрических систем xYz и $L^*a^*b^*$, позволяет количественно оценивать изменение состояния исследуемой ткани по изменению ее цветовых параметров.

Несомненный интерес для научной и практической биофизики и медицины представляют спектроскопические методы изучения диффузии наносимых на кожу лекарственных и косметических препаратов. Целым направлением в дерматологии и косметологии является разработка фотозащитных композиций в виде кремов, мазей, лосьонов и др., которые защищают кожу от разрушительного воздействия на нее УФ излучения. В основу лабораторной работы №6 «Исследование эффективности фотозащитных композиций комбинированным методом флуоресцентной и отражательной спектроскопии» положена разработанная авторами оригинальная флуоресцентная методика определения пропускания УФ излучения фотозащитной композицией.

Широкое внедрение в практическую биофизику и медицину компьютеризированных комплексов, позволяющих получать и обрабатывать видеоизображения исследуемых участков кожи, ставит на новый уровень степень объективности диагностики состояния кожной ткани. Лаборатор-

ная работа №7 «Цветовой анализ видеоизображения кожи» знакомит с методикой получения компьютерного изображения исследуемого участка кожи и методами компьютерной обработки изображения.

Новые возможности диагностики кожи на основе метода отражательной спектроскопии проявляются при использовании в качестве зондирующего излучения линейно поляризованного света. Выполнение лабораторной работы №8 «*In vivo* поляризационная отражательная спектроскопия кожи человека» дает представление о возможности исследования хромофорного состава кожи на основе анализа спектрального состава ко- и кросс-поляризованных компонентов отраженного кожей света и получении объективных данных о структуре кожной ткани.

Возможности метода диагностики кожи, основанного на анализе изображения кожи при ее освещении линейно поляризованным светом, когда в качестве параметра визуализации используется ко- или кросс-поляризованные компоненты отраженного света или его степень поляризации, проявляются при выполнении лабораторной работы №9 "Поляризационная визуализация кожной ткани".

Высокий технический уровень экспериментальных установок обусловлен компьютеризацией спектральных комплексов, позволяющих автоматизировать их управление и регистрацию экспериментальных данных, использованием волоконно-оптических систем регистрации отраженного кожей излучения или ее автофлуоресценции, а также применением совмещенных с персональным компьютером современных видеосистем для получения и обработки изображений кожной поверхности.

В целом, практикум разрабатывался и проходил апробацию на кафедрах оптики и лазерной и компьютерной физики физического факультета Саратовского государственного университета.

Авторы искренне благодарны своим коллегам за неоценимую помощь в разработке идеологии работ и их практическом воплощении.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КРОВИ И МЕЛАНИНА В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА НА СПЕКТР ЕЕ ДИФфуЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ

Введение

Спектр диффузного отражения кожи формируется в результате двух процессов, происходящих по мере проникновения света внутрь кожной ткани. Кожная ткань является сложной структурой, обладающей рассеивающими и поглощающими свойствами. Рассеяние приводит к диффузному распределению света по объему биоткани и формирует поток обратно рассеянного излучения, выходящего из среды. Выходящее из кожи излучение частично ослабляется в специфических спектральных областях, соответствующих диапазонам поглощения присутствующих в коже хромофоров, среди которых доминирующими являются содержащийся в эпидермисе пигмент меланин и гемоглобин дермальной крови [1-3].

Слой эпидермиса диффузно рассеивает падающее излучение, частично давая вклад в коэффициент отражения кожи в видимой области спектра и в основном формируя поток рассеянного вперед излучения, проникающего в дерму кожи. Излучение, проходящее эпидермальный слой, сильно поглощается содержащимся в нем меланином практически во всем видимом спектральном диапазоне, причем поглощение света в синезеленой области спектра сильнее (рис. 1.1).

Свет, проходящий через слой дермы, пронизанной кровеносными сосудами поверхностного сосудистого сплетения, частично поглощается гемоглобином, спектр поглощения которого приведен на рис. 1.2.

Оставшаяся непоглощенная часть излучения диффузно отражается от слоя ретикулярной дермы, представляющей собой плотную соединительную ткань, содержащую коллагеновые волокна, и, прежде чем выйти наружу, проходит еще раз через слои дермы и эпидермиса, содержащие гемоглобин и меланин.

В результате спектр диффузного отражения кожи характеризуется монотонным увеличением коэффициента отражения с ростом длины волны. При этом специфические полосы поглощения гемоглобина (405-430 нм, 535-575 нм) определяют локальные минимумы коэффициента отражения кожи в данных спектральных областях (рис. 1.3).

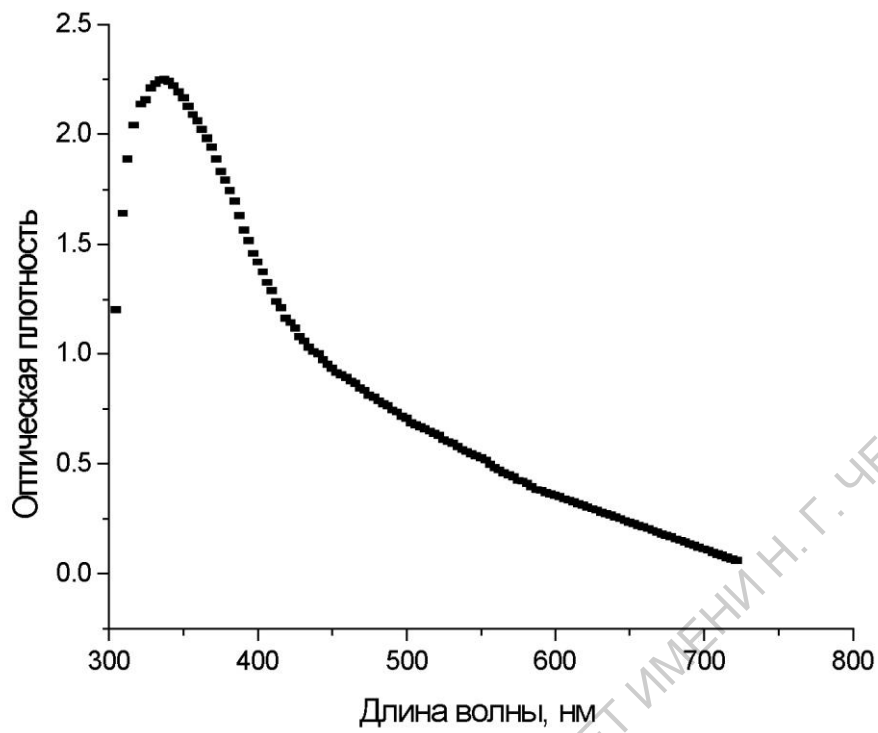


Рис. 1.1. Спектр поглощения эпидермального меланина. Тип кожи – IV

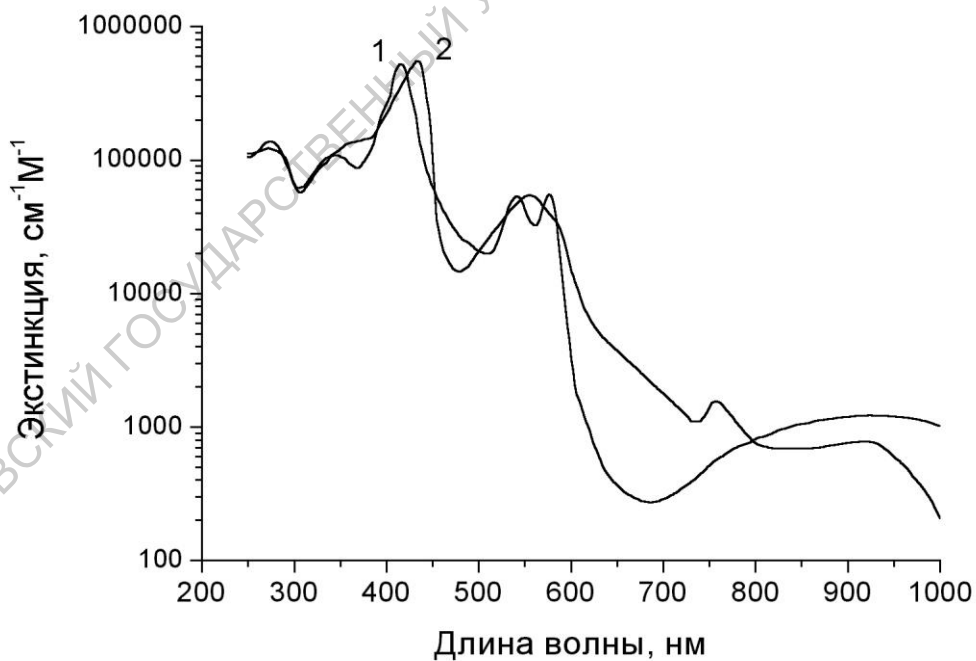


Рис. 1.2. Спектральная зависимость молярного коэффициента поглощения гемоглобина: 1 – оксигенированная форма; 2 – деоксигенированная форма

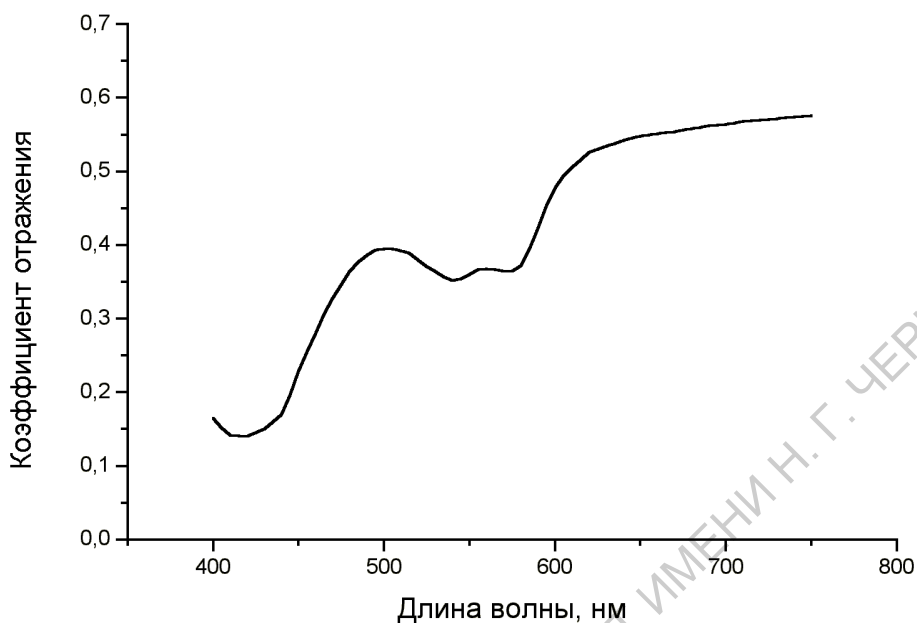


Рис. 1.3. Спектр диффузного отражения кожи человека

Положение и величина локальных минимумов коэффициента отражения кожи в спектральных областях, соответствующих полосам поглощения двух форм гемоглобина, позволяют проводить количественную оценку содержания гемоглобина в крови и степень его оксигенации.

Содержание гемоглобина в крови является важным параметром при диагностике состояния кожной ткани в процессе лечения происходящих в коже воспалительных процессов, аллергических реакций, внешних воздействий (тепло, излучение), при мониторинге состояния организма при нарушении кровообращения и т.д.

Количественное содержание крови в коже можно оценить введением индекса эритемы, который определяется на основании сравнения коэффициентов отражения кожи в спектральных областях, где поглощение гемоглобина велико и где оно минимально.

Эритема – это заметная реакция кожи человека на внешнее воздействие, проявляющаяся в виде покраснения кожи, причиной которого является увеличение объёма крови в поверхностных и глубоких кровеносных сплетениях дермы более чем на 38% от нормального уровня.

Эритема может проявляться при механических воздействиях на кожу, при кожных воспалительных или аллергических реакциях или в результате ультрафиолетового (УФ) излучения.

Для разных спектральных диапазонов определена величина минимальной эритемной дозы (МЭД), называемой иногда биодозой, то есть дозы, вызывающей минимальное покраснение, обнаруживаемое глазом человека через определенное время после облучения. Характеристики эритемы, вызываемые разными участками УФ спектра, значительно отличаются. Именно фотобиологические исследования на коже привели к необходимости разделить весь спектр УФ диапазона на три части: УФА (320-400 нм), УФВ (280-320 нм) и УФС (<280 нм) диапазоны.

УФА-эритема наименее эффективная. Эритемная эффективность (минимальная эритемная доза) при 365 нм в ~100-1000 раз ниже, чем при 297 нм. УФА-эритема появляется сразу же после облучения. При пороговой дозе (~ 130 кДж/м²) немедленно возникающее покраснение проходит за несколько минут. При дозе УФА-излучения порядка 500 кДж/м² покраснение сохраняется до 24 часов. В связи с этим эритема подразделяется на мгновенную эритему, определяемую плотностью мощности падающего на кожу УФ излучения, и длительную эритему, для возникновения которой необходима пороговая доза облучения. УФА-эритема имеет фиолетовый оттенок, что указывает на расширение глубоко расположенных сосудов дермы.

УФВ-эритеме всегда предшествует латентный период, длительность которого обратно пропорциональна дозе УФ облучения, но не превышает 8-10 часов. Длительность УФВ-эритемы пропорциональна дозе облучения. Степень покраснения кожи пропорциональна логарифму дозы. Наиболее яркое покраснение кожи наблюдается через 8-10 часов после облучения. После УФВ облучения гистологически обнаруживается воспалительная реакция как в дерме, так и в эпидермисе.

Содержащийся в коже пигмент меланин определяет эпидермальную меланиновую пигментацию кожи, которая включает в себя как естественную пигментацию, так и наведенную пигментацию, являющуюся результатом воздействия на кожу излучения УФ или видимого диапазонов спектра.

Меланин играет важную роль в определении глубины проникновения оптического излучения в кожную ткань. Он эффективно поглощает излучение во всем видимом диапазоне с увеличением поглощения в области УФ спектра и выполняет биологическую функцию экранирования падающего на кожу излучения. Особенно это касается УФ излучения, способного вызывать всесторонние и, в основном, весьма нежелательные воздействия на кожную ткань.

Естественная пигментация определяет тип кожи человека. Согласно принятой классификации (классификации по Фитцпатрику), тип кожи человека определяется по ее реакции на УФ облучение (приблизительно соответствующее дозе, эквивалентной трем минимальным эритемным дозам (МЭД)). В табл. 1.1 приведена такая классификация кожи человека.

Таблица 1.1. Определение типа кожи человека

Тип кожи	Реакция на УФ облучение	
	Эритема	Загар
I	Всегда	Никогда
II	Всегда	Легкий загар
III	Иногда	Всегда
IV	Никогда	Всегда

Приведенная классификация кожи по типам остается в настоящее время единственным критерием для определения начальной дозы в УФ-терапии, для определения степени риска человека к раку кожи (с увеличением пигментации степень риска уменьшается) и, соответственно, для рекомендаций по применению фотозащитных препаратов и т.д.

Облучение кожи светом УФ и видимого диапазонов спектра также ведет к меланиновой пигментации кожи, которая является защитным откликом кожи против дальнейшего облучения. Различают непрямую (замедленную) пигментацию, процесс образования которой начинается вслед за эритемой через 2-3 суток после облучения и достигает максимума на 13-21 день. Другой процесс – прямая (мгновенная) пигментация. В результате этого процесса пигментация образуется сразу же в процессе облучения, достигает максимума через 1-2 часа и уменьшается через 3-24 часа после облучения. Непрямая пигментация активизируется излучением с $\lambda < 320$ нм, в то время как для прямой пигментации спектр ее возбуждения представляет собой широкую неструктурированную полосу в области 300-700 нм с максимумом на 400-480 нм.

Процессы наведенной пигментации могут привести к гиперпигментации кожи, что может явиться причиной возникновения в коже злокачественных образований.

Таким образом, оценка содержания меланина в коже человека является исключительно важным диагностическим параметром. Количественным критерием содержания меланина в коже является индекс пигментации (или индекс меланина).

На практике определение индексов эритемы и меланина осуществляется не по спектрам диффузного отражения кожи $R_d(\lambda)$, а по спектрам ее «кажущейся» оптической плотности $OD(\lambda)$. Величина $OD(\lambda)$, определенная как

$$OD(\lambda) = \lg \left(\frac{1}{R_d(\lambda)} \right), \quad (1.1)$$

прямо пропорциональна поглощающим свойствам кожной ткани, поэтому может служить количественной характеристикой поглощения кожи.

Методики определения индекса меланина и концентрации меланина в коже человека

Индекс меланиновой пигментации рассчитывается по спектру оптической плотности кожи $OD(\lambda)$, при этом спектральной областью для определения индекса является область спектра выше 620 нм, где доминирующим хромофором является меланин, а поглощение гемоглобина имеет минимальное влияние на формирование спектра диффузного отражения.

Более того, в спектральной области 620-720 нм наклон зависимости оптической плотности кожи от длины волны прямо пропорционален количеству содержащегося в коже меланина, поэтому индекс меланиновой пигментации M (в единицах нм^{-1}) определяется углом наклона спектра $OD(\lambda)$ в спектральном диапазоне свыше 620-640 нм (рис. 1.4):

$$M = 100 \left(\frac{OD_{650} - OD_{710}}{60} \right), \quad (1.2)$$

где индексы определяют длины волн в нм, на которых определяется оптическая плотность кожи.

Абсолютная концентрация содержащегося в коже меланина затруднительна, за исключением случая, когда у одного и того же добровольца имеются участки нормальной кожи и кожи без меланина (*vitiligo*). В этом случае измерения спектров отражения участков кожи *vitiligo* и соседних с ними участков нормальной кожи дают возможность определить разностный спектр оптической плотности этих участков кожи, который является спектром поглощения содержащегося в коже меланина. Наклон линейного участка спектра оптической плотности в области длин волн 620-720 нм можно связать с абсолютной концентрацией ДОФА меланина, имеющего определенное сходство с меланином, содержащимся в коже человека. Соотношение, связывающее наклон спектральной зависимости разностного спектра оптической плотности с концентрацией водного раствора ДОФА меланина, имеет вид

$$-C_1 = 0,21 + 0,126C, \quad (1.3)$$

где C_1 – наклон разностного спектра в мкм^{-1} , а C – концентрация ДОФА меланина в мг/мл .

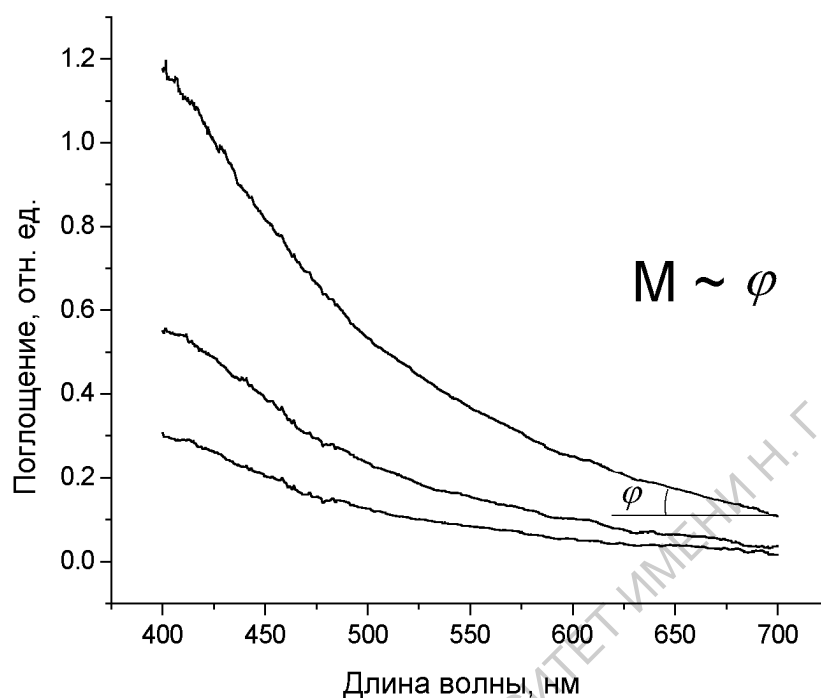


Рис. 1.4. Спектры поглощения растворов меланина разной концентрации.

Индекс меланина M пропорционален углу φ

Аналогичную методику можно применить для количественного определения меланина, внедренного в нормальную кожу путем нанесения на нее крема типа Foundation Cream (фирма Melasyn, The Vitiligo Solution), в состав которого входит меланин и который применяется на практике для защиты кожи *vitiligo* от солнечного излучения.

В этом случае разностный спектр оптической плотности участков кожи с нанесенным препаратом и кожи без препарата позволяет определить концентрацию внедренного в кожу меланина с помощью соотношения, аналогичного соотношению (1.3).

Методики определения индекса эритемы кожи человека

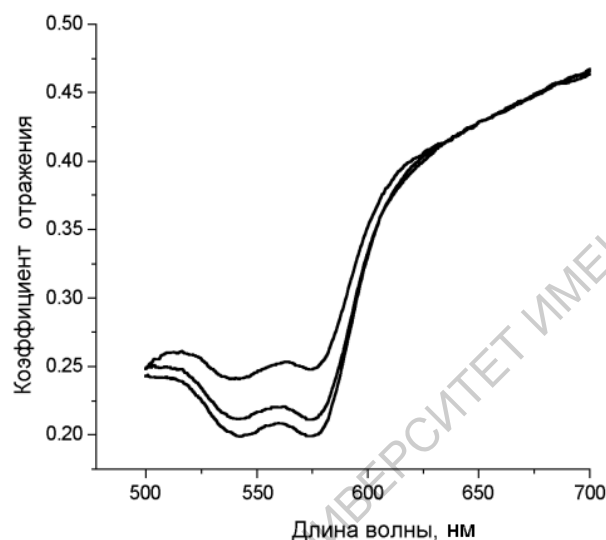
На рис. 1.5 приведены спектры диффузного отражения и оптической плотности кожи с разным содержанием крови.

Видно, что в зависимости от содержания крови изменяется площадь под кривой $OD(\lambda)$ в спектральной области 510 - 600 нм (на рис. 1.5,б эта область закрашена). Количественный параметр, пропорциональный отмеченной выше площади и называемый индексом эритемы E , с учетом "под-

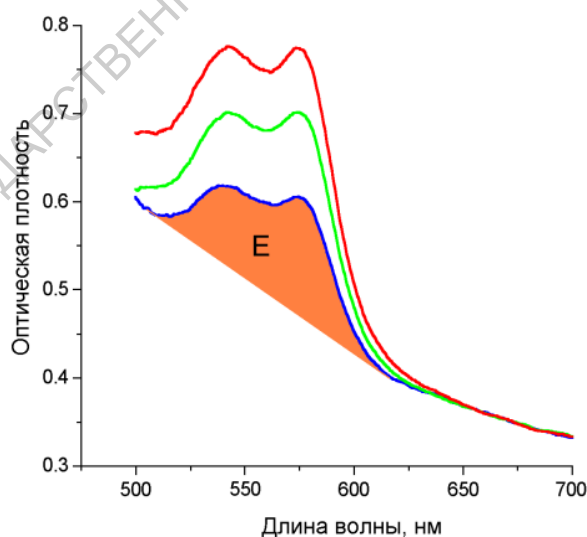
ставки", которая в спектре $OD(\lambda)$ кожи определяется поглощением других хромофоров, прежде всего меланином, а также рассеивающими свойствами кожной ткани, может быть определен следующим образом:

$$E = 100 [OD_{545} + 1.5 (OD_{560} + OD_{575}) - 2.0 (OD_{510} + OD_{610})], \quad (1.4)$$

где индексы при OD определяют длины волн в нм, на которых определяется величина оптической плотности.



а



б

Рис. 1.5. Спектры диффузного отражения (а) и оптической плотности (б) кожи с эритемой разной степени

Альтернативное приближение основано на сравнении величины OD в изобестических точках, то есть на таких длинах волн, где поглощение гемоглобина не зависит от состояния его оксигенации. В спектральной области 500-600 нм есть пять таких изобестических точек: 502, 529, 545, 570 и 584 нм (рис. 3.3). Если предположить, что рассеяние света влияет на значения OD в этих точках одинаково, то разности в значениях OD между двумя изобестическими точками будут пропорциональны содержанию гемоглобина в образце и не зависят от состояния оксигенации. Таким образом, используя разности в OD между двумя изобестическими точками, может быть определен индекс гемоглобина (аналог индекса эритемы) следующим образом:

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25}, \quad (1.5)$$

Как видно из выражений (14) и (15), для расчета индексов эритемы E и гемоглобина H необходимо измерение коэффициента отражения R_d кожи на нескольких длинах волн. Это возможно при использовании стационарного спектрального оборудования. Поэтому для широкого диагностического применения данного метода возникают значительные проблемы.

Для ряда диагностических и терапевтических целей, в частности, для мониторинга изменения состояния кровообращения или развития тепловой эритемы, т.е. в случае, если количество меланина (основного хромофора, дающего помимо гемоглобина вклад в поглощение света кожей в диапазоне 510-610 нм) не изменяется, можно упростить процесс определения индексов эритемы.

В этом случае индекс эритемы определяется разностью оптических плотностей кожи, определенных в спектральных интервалах, в которых поглощение крови доминирует, и в тех, где оно мало:

$$E = 100 [OD_{560} - OD_{650}]. \quad (1.6)$$

Трехволновая методика определения индексов эритемы и пигментации кожи человека

Трехволновая методика позволяет одновременно определить индексы эритемы и меланиновой пигментации кожи, при этом индекс эритемы определяется с учетом поглощения меланина.

Метод основан на измерении коэффициентов отражения кожи и последующем определении ее оптической плотности (OD) на трех длинах

волн ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$), две из которых ($\lambda_2 = 650$ нм, $\lambda_3 = 710$ нм) лежат в красной области спектра и служат для определения индекса меланина согласно соотношению, аналогичному (1.2):

$$M = k \left(\frac{OD_2 - OD_3}{\Delta\lambda_{23}} \right), \quad (1.7)$$

где $\Delta\lambda_{23} = \lambda_3 - \lambda_2$; k – нормировочный множитель.

Комбинация значений оптической плотности, одно из которых (OD_1) определено в желто-зеленой области спектра ($\lambda_1 = 560$ нм), а второе (OD_2) – в красной ($\lambda_2 = 650$ нм), позволяет определить индекс эритемы:

$$E = 100 \left[OD_1 - OD_2 - \frac{M}{k} \Delta\lambda_{12} \right], \quad (1.8)$$

где $\Delta\lambda_{12} = \lambda_2 - \lambda_1$.

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ формирования спектра диффузного отражения кожи человека и практическое ознакомление с методами *in vivo* определения индексов эритемы и пигментации кожи.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: исследование динамики изменения содержания крови в коже при наличии эритемы и при механическом сдавливании кожной ткани; количественное определение содержания меланина в коже после нанесения на нее крема, содержащего меланин.

Практическая часть

Описание установки

Измерение спектров диффузного отражения кожи человека в условиях *in vivo* проводится на установке (рис. 1.6) на базе миниатюрного волоконно-оптического спектрометра USB2000 (Ocean Optics, США), сопряженного с персональным компьютером. В состав установки входят также осветительное устройство HL-2000 (Ocean Optics, США) и разработанный волоконно-оптический датчик, который обеспечивает подвод возбуждающего излучения к исследуемому объекту и прием отраженного кожей излучения. Установка обеспечивала регистрацию спектров диффузно отраженного кожей света в диапазоне от 400 до 1000 нм.

Нормировка спектров отражения кожи, измеряемых в диапазоне 400-1000 нм, осуществляется по спектрам отражения образца $BaSO_4$.

Волоконно-оптический датчик (рис. 1.7) состоит из полукольца радиусом 40 мм с закрепленными в нем двумя волоконно-оптическими световодами (диаметр сердцевины 400 мкм, числовая апертура 0.2) для подвода излучения к поверхности кожи и сбора отраженного ей света. На конце подводящего световода фиксирована коллимирующая линза, которая обеспечивала подвод излучения к поверхности кожи в виде коллимированного пучка диаметром 5 мм. Положение торца собирающего отраженный кожей свет и расстояние его от поверхности кожи рассчитывались таким образом, чтобы отраженное излучение собиралось с поверхности кожи, площадь которой превышала размер пятна облучения кожи в 2 раза. Это было необходимо в связи с тем, что область выходящего из кожи обратно рассеянного излучения превышает область ввода излучения в биоткань, особенно в длинноволновом диапазоне спектра.

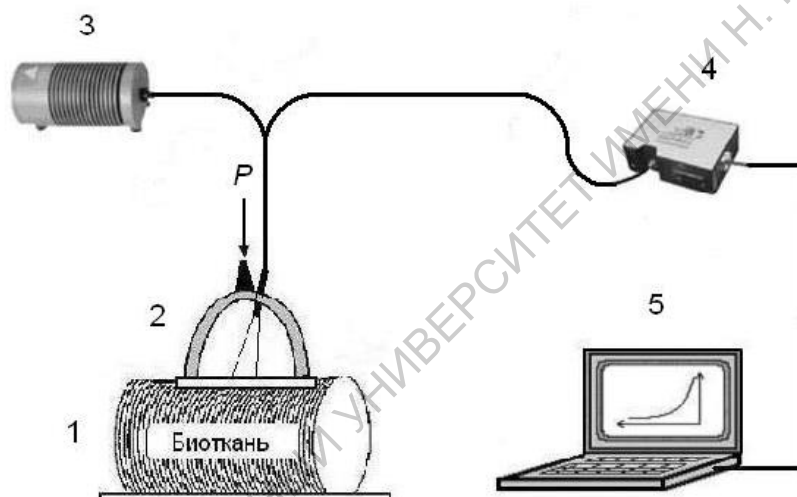


Рис. 1.6. Схема установки. 1 – объект исследования, 2 – волоконно-оптический датчик, 3 – осветительное устройство, 4 – спектрометр, 5 – персональный компьютер

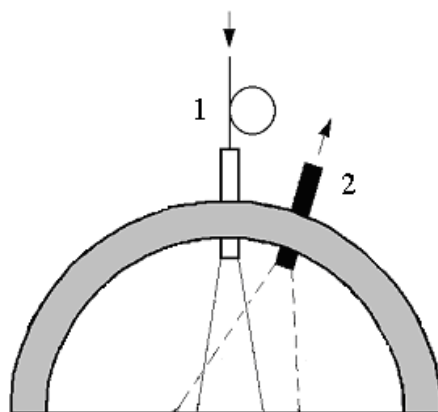


Рис. 1.7. Схема волоконно-оптического датчика

Конструкция датчика позволяла использовать его при регистрации спектров диффузного отражения кожи в условиях ее внешней механической компрессии. В данном случае между полукольцом волоконно-оптического датчика и поверхностью кожи помещалось тонкое кварцевое стекло диаметром 30 мм, на которое оказывалось давление p в диапазоне от 0 до $1,4 \times 10^5$ Па (рис. 1.8).

На свободный конец поперечной планки подвешиваются калиброванные гири массой m . В этом случае на стеклянную пластинку площадью $S = 7,065 \times 10^{-4}$ м² действует сила $F = 2mg$, создавая давление на исследуемый объект $p = 2mg/S$. В табл. 1.2 приведены величины оказываемого на исследуемый объект давления p в зависимости от массы m закрепленного на поперечной планке груза.

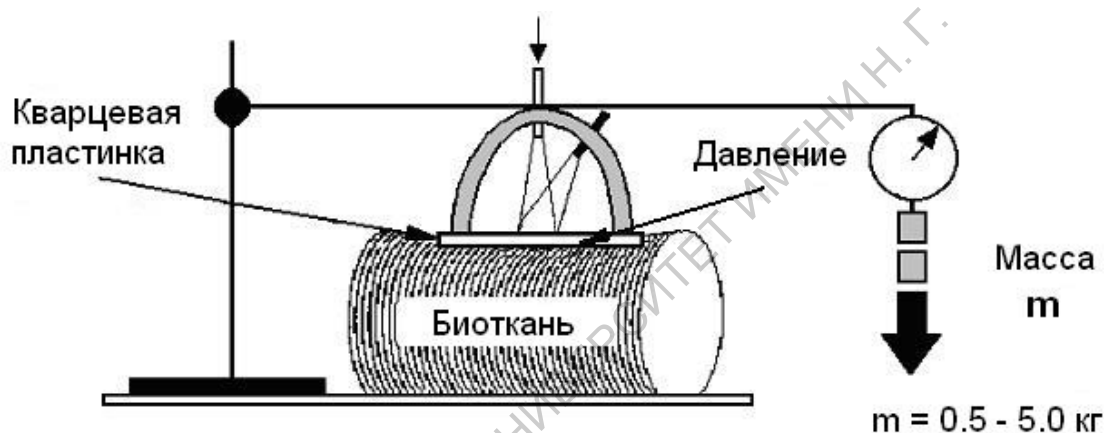


Рис. 1.8. Схема устройства для регистрации спектров диффузного отражения кожи в условиях ее внешней механической компрессии

Таблица 1.2. Зависимость давления, оказываемого на объект, от массы подвешиваемого груза

Масса m , кг	Давление p , Па
0,5	$1,387 \times 10^4$
1,0	$2,774 \times 10^4$
1,5	$4,161 \times 10^4$
2,0	$5,548 \times 10^4$
2,5	$6,935 \times 10^4$
3,0	$8,322 \times 10^4$
3,5	$9,709 \times 10^4$
4,0	$1,110 \times 10^5$
4,5	$1,248 \times 10^5$
5,0	$1,387 \times 10^5$

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека.

Исследование влияние содержания крови на спектр диффузного отражения кожи проводится путем измерения и анализа спектров диффузного отражения нормальной кожи, кожи с наведенной механической эритемой и кожи, подверженной внешней механической компрессии. Такие внешние воздействия обеспечивают изменение содержания крови в коже человека без изменений содержания меланина.

Искусственная эритема создается в коже предплечья в результате удаления поверхностных слоев эпидермиса с использованием технологии кожных отрывов с помощью адгезионной пленки. Толщина удаляемых слоев эпидермиса при этом составляет приблизительно 3 – 5 мкм. Послойное удаление эпидермиса в результате механического воздействия приводит к возрастанию уровня микроциркуляции и, соответственно, увеличению содержания крови в поверхностных слоях кожи.

Исследование влияние содержания меланина на спектр диффузного отражения кожи проводится путем измерения и анализа спектров отражения нормальной кожи и кожи с нанесенным на нее кремом Foundation Cream (фирма Melasyn, The Vitiligo Solution). Последний является препаратом, содержащим меланин. В зависимости от количества нанесенного на кожу крема изменяется и содержание в ней меланина, поэтому можно считать, что происходящие в этом случае изменения в спектрах диффузного отражения кожи обусловлены только изменением содержания в ней меланина.

Практические задания

Задание 1. Измерение спектра диффузного отражения кожи человека.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры диффузного отражения разных участков кожной поверхности предплечья.
2. Провести статистическую обработку полученных спектров. Оценить погрешность измерения спектров отражения.

Задание 2. Исследование динамики изменения индекса эритемы кожи человека в процессе развития эритемы.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи в процессе последовательных удалений поверхностных слоев эпидермиса с одного и того же места внутренней стороны предплечья.

2. По полученным спектрам рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (1.1).

3. По спектрам оптической плотности $OD(\lambda)$ определить индексы эритемы кожи в соответствии с выражениями (1.4), (1.5) (1.6) и (1.7). Сравнить полученные результаты.

4. Построить зависимость индекса эритемы от числа отрывов кожной поверхности. Провести анализ полученных результатов. Сравнить результаты, полученные с использованием выражений (1.4), (1.5) (1.6) и (1.7).

Задание 3. Исследование динамики изменения индекса эритемы кожи человека в процессе внешней механической компрессии кожи.

Порядок выполнения задания.

1. Подвесить груз массой 5 кг к свободному концу поперечной планки устройства для регистрации спектра отражения кожи в условиях внешней механической компрессии кожи (рис. 1.8).

2. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи в процессе вытеснения крови из кожи, подвергнутой механической компрессии. Рекомендуемое время между последовательными измерениями спектров - 20 сек.

3. По полученным спектрам рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (1.1).

4. По спектрам оптической плотности $OD(\lambda)$ определить индексы эритемы кожи в соответствии с выражениями (1.4) и 1.5).

5. Провести анализ временной динамики изменения индекса эритемы.

Задание 4. Исследование влияния внешней механической компрессии кожи на содержание в ней крови.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи в условиях внешней механической компрессии кожи грузами разных масс.

2. По полученным спектрам рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (1.1).

3. По спектрам оптической плотности $OD(\lambda)$ определить индексы эритемы кожи в соответствии с выражением (1.4) и 1.5).

4. Провести анализ зависимости индекса эритемы кожи от величины приложенного давления.

Задание 5. Измерение индекса меланиновой пигментации кожи человека.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения разных участков кожной поверхности предплечья в диапазоне длин волн 620-720 нм.

2. По полученным спектрам рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (1.1).

3. По спектрам оптической плотности $OD(\lambda)$ в соответствии с выражением (1.7) определить индексы меланиновой пигментации разных участков кожной поверхности предплечья.

4. Провести статистическую обработку полученных индексов. Оценить погрешность измерения индексов. Провести анализ изменения индексов.

Задание 6. Исследование влияния содержания крови в коже человека на величину ее индекса меланиновой пигментации.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения нормальной кожи и кожи, подвергнутой механической компрессии при давлении $p = 1,387 \times 10^5$ Па.

2. По полученным спектрам рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (1.1).

3. По спектрам оптической плотности $OD(\lambda)$ в соответствии с выражением (1.7) определить индексы меланиновой пигментации нормальной кожи и кожи, подверженной механической компрессии. Сравнить полученные результаты.

Задание 7. Количественное определение содержания меланина, внедренного в нормальную кожу путем нанесения на нее крема типа Foundation Cream.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения выбранного участка нормальной кожи.

2. Нанести на выбранный участок легким втиранием крем типа Foundation Cream. Рекомендуемый размер участка нанесения крема – 2×2 см². Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения участка кожи с нанесенным на нее кремом. Процесс повторить несколько раз.

3. По полученным спектрам $R_d(\lambda)$ рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (1.1).

4. Построить разностные спектры оптической плотности кожи с нанесенным препаратом и нормальной кожи. Определить наклоны линейных участков полученных спектров в диапазоне длин волн 620-720 нм (в единицах мкм⁻¹).

5. Определить абсолютные концентрации внедренного в кожу меланина (в единицах мг/мл) согласно соотношению (1.3).

ЭРИТЕМА-МЕЛАНИНОМЕТР – ПРИБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДЕКСОВ ЭРИТЕМЫ И МЕЛАНИНА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Введение

Прибор эритема-меланинометр предназначен для определения выраженности эритемы и степени пигментации кожи человека путем селективного спектрального измерения коэффициентов отражения кожи и расчета индексов эритемы и пигментации.

Оценка степени покраснения (эритемы) кожи человека – это диагностика воспалительных процессов, определение состояния кожи в результате внешних воздействий (тепло, излучение и др.), диагностика состояния кожи в процессе терапии, мониторинг состояния организма при нарушении и т. д.

Оценка содержания меланина в коже – это определение эффективности защиты человека от неблагоприятного воздействия ультрафиолетового излучения.

Области применения прибора – дерматология, радиология, аллергология, косметология, фотобиологические исследования, экспериментальная и клиническая фармакология.

Описание прибора

Принцип действия прибора

Принцип действия прибора основан на особенностях отражения кожей излучения в зеленой и красной областях спектра. Спектр отраженного кожей излучения формируется за счет происходящих в коже процессов светорассеяния и ослабления выходящего из кожи излучения ее хромофорами.

В видимом диапазоне спектра основными хромофорами, формирующими спектральный состав выходящего из кожи излучения,

являются гемоглобин крови и меланин. Меланин поглощает свет в широком диапазоне длин волн, от ультрафиолетового до инфракрасного, при этом наиболее сильно он поглощает свет в коротковолновой области спектра; гемоглобин имеет характерные полосы поглощения в спектральных областях 405-430 нм и 535-575 нм. Сравнение коэффициентов отражения кожей света в красной области спектра, где поглощение обусловлено главным образом меланином, и в зеленой области спектра, где поглощение обусловлено меланином и гемоглобином, позволяет оценить содержание в

коже гемоглобина и меланина путем определения индексов эритемы и пигментации.

Индексы определяются путем сравнения определенных по коэффициентам отражения величин оптической плотности кожи в разных спектральных интервалах: индекс меланина определяется как величина, пропорциональная наклону линейной спектральной зависимости оптической плотности кожи в красной области спектра; индекс эритемы – как величина, пропорциональная площади под кривой спектральной зависимости оптической плотности кожи в зеленой области спектра.

В основу прибора положен трехволновый метод (см. описание к лабораторной работе № 1), позволяющий измерить индексы эритемы и меланиновой пигментации, при этом индекс эритемы определяется с учетом поглощения меланина.

Метод основан на измерении коэффициентов отражения кожи и последующем определении оптической плотности кожи (OD) на трех длинах волн ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$), две из которых ($\lambda_2 = 650$ нм, $\lambda_3 = 710$ нм) лежат в красной области спектра и служат для определения индекса меланина согласно приведенному ниже соотношению:

$$M = k \left(\frac{OD_2 - OD_3}{\Delta\lambda_{23}} \right), \quad (2.1)$$

где $\Delta\lambda_{23} = \lambda_3 - \lambda_2$; k – нормировочный множитель.

Комбинация значений оптической плотности, одно из которых (OD_1) определено в желто-зеленой области спектра ($\lambda_1 = 560$ нм), а второе (OD_2) – в красной ($\lambda_2 = 650$ нм), позволяет определить индекс эритемы:

$$E = 100 \left[OD_1 - OD_2 - \frac{M}{k} \Delta\lambda_{12} \right], \quad (2.2)$$

где $\Delta\lambda_{12} = \lambda_2 - \lambda_1$.

Конструкция прибора

Конструктивно прибор выполнен в виде трех блоков: оптической головки, блока управления и обработки данных и блока питания. Схематично оптическая головка и блок управления и обработки данных приведены на рис. 2.1.

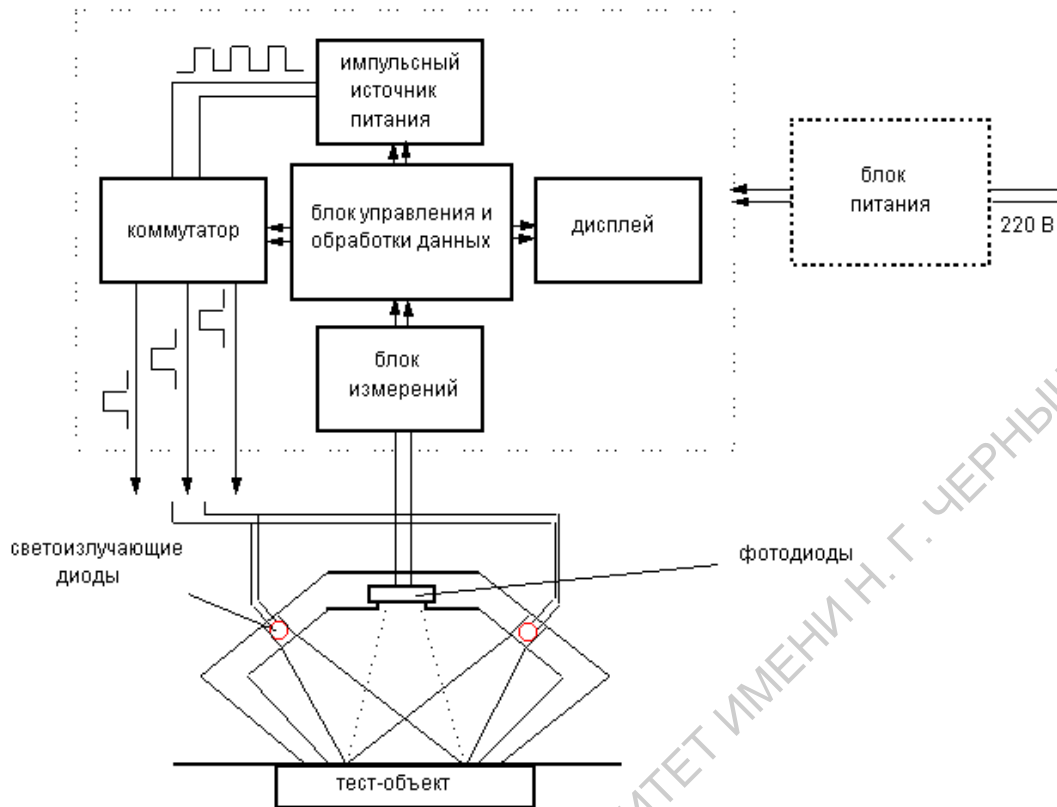


Рис. 2.1. Схема устройства прибора

В оптической головке прибора размещены светоизлучающие диоды трех спектральных диапазонов (560, 650 и 710 нм) и фотодиод для регистрации отраженного излучения.

Блок управления и обработки данных обеспечивает:

- последовательное импульсное включение светодиодов разных спектральных диапазонов;
- измерение фототоков, пропорциональных интенсивности отраженного света от полностью поглощающей поверхности J_{1i} (тест 1, позволяющий учесть паразитные засветки), от полностью диффузно отражающей (BaSO_4) поверхности J_{2i} (тест 2) и от диагностируемого участка кожи J_{3i} на трех длинах волн ($i = 1 \div 3$);
- расчет коэффициентов отражения кожи на трех длинах волн согласно соотношению:

$$R_i = \frac{J_{3i} - J_{1i}}{J_{2i} - J_{1i}}; \quad (2.3)$$

- расчет оптической плотности кожи на трех длинах волн согласно соотношению:

$$OD_i = \lg\left(\frac{1}{R_i}\right); \quad (2.4)$$

– расчет индексов пигментации и эритемы согласно соотношениям (2.1) и (2.2);

– индикацию индексов на дисплее.

Блок управления и обработки данных связан электрическим кабелем с оптической головкой и блоком питания. Внешний вид блока управления и обработки данных прибора схематично приведен на рис. 2.2.

На лицевой части блока расположены кнопка управления (1), черная кнопка перевода прибора в режим калибровки (2), красная кнопка вывода на дисплей значений измеренных коэффициентов отражения (3) и дисплей (4). На левой боковой стенке блока расположен разъем (5) подключения оптической головки, а на задней стенке – разъем (6) подключения блока питания.

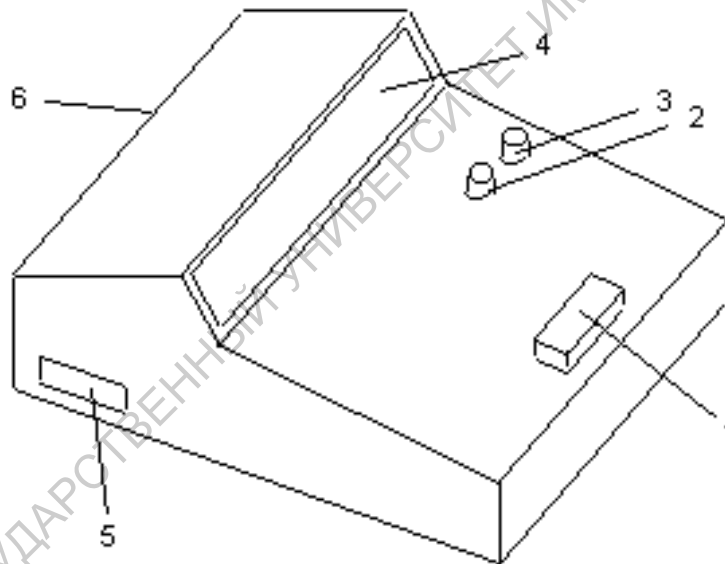


Рис. 2.2. Внешний вид блока управления и обработки данных

Работа с прибором

1. Порядок подготовки прибора к работе

1.1. Установить прибор на горизонтальную поверхность.

1.2. Подсоединить оптическую головку к блоку управления и обработки данных через разъем (5), расположенный на левой боковой стенке блока.

1.3. Подсоединить блок питания прибора к блоку управления и обработки данных через разъем (6), расположенный на задней стенке блока.

2. Порядок включения прибора

Вставить блок питания прибора в розетку питающей сети 220 В. При этом на дисплее высвечивается надпись:

— С А Р А Т О В — —

Через 15 с прибор автоматически переходит в режим калибровки.

3. Режим калибровки

3.1. Автоматический переход в режим калибровки сопровождается звуковым сигналом, при этом на дисплее высвечивается мигающая надпись “**ЧЕР**”:

О П О Р Н _ Ч Е Р

3.2. Открыть коробку с тест-объектами.

3.3. Установить оптическую головку на черный тест-объект.

3.4. Нажать кнопку (1).

3.5. В случае неправильно выполненного п. 5.3.3. после звукового сигнала на дисплее высвечивается надпись:

— E R R O R 1 3

(двухзначное число обозначает код ошибки прибора). Через 5 с прибор возвращается в начало режима калибровки. Повторить п. 5.3.3., 5.3.4.

3.6. В случае правильного выполнения операций согласно п. 5.3.3., 5.3.4. после звукового сигнала на дисплее высвечивается мигающая надпись “**БЕЛ**”:

О П О Р Н _ Б Е Л

3.7. Аккуратно поставить оптическую головку на белый тест- объект.

Внимание! Точность определения коэффициентов отражения зависит от качества белого тест-объекта. Поэтому необходимо следить за тем,

чтобы прикладываемая к тест-объекту поверхность оптической головки была чистой и сухой.

3.8. Нажать кнопку (1).

3.9. В случае неправильно выполненного п. 5.3.7. после звукового сигнала на дисплее высвечивается надпись:

— ERROR 13

(двухзначное число обозначает код ошибки прибора). Через 5 с прибор возвращается в начало режима калибровки. Повторить калибровку согласно п. 5.3.3. – 5.3.8.

3.10. В случае правильно выполненных операций после звукового сигнала на дисплее высвечивается мигающий знак готовности прибора к измерениям:

[.]

Выход в режим калибровки возможен:

- автоматически после включения прибора;
- автоматически через каждые 30 мин работы прибора;
- в любой момент времени, который осуществляется нажатием черной кнопки (2). В этом случае на дисплее высвечивается надпись:

О П О Р Н _ Ч Е Р

Далее следует выполнить операции согласно п.5.3.2. – 5.3.10.

4. Режим измерений

4.1. Приложить оптическую головку к диагностируемому участку кожи, стараясь держать ее вертикально.

Внимание! При надавливании оптической головки на кожу ее кровенаполнение меняется, что может привести к ошибке в измерении индекса эритемы. Поэтому оптическую головку необходимо прикладывать к коже без усилий.

4.2. Нажать кнопку (1).

4.3. В случае неправильно выполненного п.5.4.1. после звукового сигнала на индикаторном табло высвечивается надпись:

— ERROR	43
---------	----

В этом случае необходимо повторить операции согласно п. 5.2.4.3.1., 5.2.4.3.2.

4.4. В случае правильно выполненной операции на дисплее высвечиваются два числа: **первое – индекс пигментации, а второе – индекс эритемы:**

051	112	[.]
-----	-----	-----

Индекс пигментации Индекс эритемы

Мигающий знак "[.]" означает готовность прибора к следующему измерению.

Рекомендуется нажать кнопку (1) несколько раз до высвечивания на дисплее повторяющихся цифр.

4.5. Высвечивание на дисплее вместо цифрового значения знака “— —” означает, что значение индекса превышает величину 999.

5. Режим индикации коэффициентов отражения

В этом режиме в приборе предусмотрен вывод на дисплей измеренных значений коэффициента отражения. Для этого после проведения измерений индексов согласно п.5.4. необходимо нажать красную кнопку (3). На индикаторном табло высвечиваются три числа, соответствующие значениям коэффициента отражения кожи на длинах волн 560 нм, 650 нм и 710 нм соответственно, выраженным в процентах:

032	043	046
-----	-----	-----

$\lambda = 560 \text{ нм}$ $\lambda = 650 \text{ нм}$ $\lambda = 710 \text{ нм}$

Выход в режим измерений индексов происходит через 30 с автоматически, либо нажатием любой кнопки.

6. Порядок выключения прибора

Отсоединить шнур блока питания прибора от розетки питающей сети 220 В.

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ формирования спектра диффузного отражения кожи человека; ознакомление с методами *in vivo* определения индексов эритемы и меланиновой пигментации кожи; овладение практическими навыками работы с эритемо-меланинометром.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: определение индексов эритемы и пигментации нормальной кожи, кожи при наличии эритемы и кожи с нанесенным на нее кремом, содержащим меланин; определение типа кожи человека.

Практическая часть

Объект исследований

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека. Проводятся измерения индексов эритемы и меланиновой пигментации нормальной кожи, кожи с наведенной УФ и механической эритемой и кожи с нанесенным на нее кремом Foundation Cream (фирма Melasyn, The Vitiligo Solution), содержащим меланин.

Искусственная механическая эритема создается в коже предплечья в результате удаления поверхностных слоев эпидермиса с использованием технологии кожных отрывов с помощью адгезионной пленки. Толщина удаляемых слоев эпидермиса при этом составляет приблизительно 4 – 8 мкм. Послойное удаление эпидермиса в результате механического воздействия приводит к возрастанию уровня микроциркуляции и, соответственно, увеличению содержания крови в поверхностных слоях кожи.

Применение используемой в настоящее время стандартной биологической методики определения чувствительности кожи к УФ излучению (определения биодозы УФ излучения), изложенной в приложении, позволяет провести измерения индексов эритемы кожи с разной степенью наведенной УФ-эритемой, а также провести сравнительные сопоставления индекса эритемы с величиной биодозы для разных типов кожи. Для этого с помощью биодозиметра Горбачева-Дальфельда проводится облучение кожной поверхности внутренней стороны предплечья с последующим определением биодозы (по участку с минимальным покраснением) и индексов эритемы всех шести участков кожной поверхности.

Исследование влияния содержания меланина в коже на индекс меланина проводится путем измерения индексов меланина нормальной кожи

и кожи с нанесенной на нее кремом Foundation Cream. Последний является препаратом, содержащим меланин. В зависимости от количества нанесенного на кожу крема изменяется и содержание в ней меланина, что приводит к изменению индекса меланиновой пигментации.

Практические задания

Задание 1. Измерение индексов эритемы и меланиновой пигментации кожи человека.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить индексы эритемы и меланиновой пигментации разных участков кожной поверхности предплечья. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием правил работы с прибором.
2. Провести статистическую обработку полученных индексов. Оценить погрешность измерения индексов. Провести анализ изменения индексов.

Задание 2. Исследование динамики изменения индексов эритемы и меланиновой пигментации кожи человека в процессе развития эритемы.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить индексы эритемы и меланиновой пигментации кожи в процессе последовательных удалений поверхностных слоев эпидермиса с одного и того же места внутренней стороны предплечья.
2. Построить зависимость величины индексов от числа отрывов кожной поверхности. Провести анализ полученных результатов.

Задание 3. Исследование влияния внешней механической компрессии кожи на индексы эритемы и меланиновой пигментации.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить индексы эритемы и меланиновой пигментации кожи, подверженной внешней механической компрессии разной степени.
2. Провести анализ зависимости величины индекса эритемы кожи от приложенного давления.

Задание 4. Исследование влияния дозы ультрафиолетового излучения на индексы эритемы и меланиновой пигментации.

Задание выполняется с надетыми светозащитными очками

Порядок выполнения задания.

1. Укрепить биодозиметр с закрытыми окошками на соответствующем участке кожной поверхности внутренней стороны предплечья. Участки тела, не подлежащие УФ-облучению, закрыть куском материи.
2. Измерить индексы эритемы и меланиновой пигментации участков кожи во всех шести отверстиях биодозиметра.

3. Установить источник УФ излучения на расстоянии 30 см от объекта исследования.

4. Провести облучение поверхности кожи в соответствии с приведенной в приложении методикой определения биодозы.

5. Провести измерение индексов пигментации и эритемы участков кожи, подвергнутых УФ облучению с разными дозами*.

6. Построить зависимость индекса эритемы от дозы УФ облучения. Проанализировать полученные результаты.

7. Определить минимальную эритемную дозу (МЭД). Сопоставить ее с индексом меланина нормальной кожи.

Задание 5. Исследование влияния содержания меланина в коже на величину ее индекса меланиновой пигментации.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить индекс меланина выбранного участка нормальной кожи.

2. Нанести на выбранный участок кожи легким втиранием крем типа Foundation Cream. Рекомендуемый размер участка нанесения крема – 2x2 см². Измерить индекс меланина участка кожи с нанесенным на нее кремом. Процесс повторить несколько раз.

3. Провести анализ изменения величины индекса меланина кожи при увеличении содержания в ней меланина.

П р и л о ж е н и е

Дозиметрия ультрафиолетового облучения

При УФ-облучении кожи пользуются биологическим методом определения необходимой дозы облучения. Он основан на определенной индивидуальной чувствительности кожи к УФ излучению. За единицу дозирования берется одна биодоза – время облучения, после которого через определенный промежуток времени (латентный период) на коже проявляется самая слабая эритема, но с четко очерченными краями. Биодозу чаще всего определяют с расстояния 50 см от лампы до поверхности кожи. Для этого применяют биодозиметр (БД-2) Горбачева-Дарфельда, состоящего из металлической пластинки размером 10x6 см с шестью прямоугольными отверстиями, закрывающимися передвигающейся заслонкой. Биодозиметр шит в клеенку и снабжен тесьмой для его фиксации на теле добровольца.

* В работе исследуется кожа с 24-часовой эритемой, поэтому облучение кожи следует проводить накануне выполнения лабораторной работы.

Методика определения биодозы [4]

1. Положение добровольца – лежа на спине. Доброволец надевает светозащитные очки.

2. Биодозиметр с закрытыми окошками укрепляют на соответствующем участке кожной поверхности. Участки тела, не подлежащие ультрафиолетовому облучению, закрывают куском материи.

3. Устанавливают лампу по отвесной линии к биодозиметру, отмеряя сантиметровой лентой необходимое расстояние от лампы до поверхности биодозиметра.

4. Открывают последовательно через каждые 30 с отверстия биодозиметра и проводят облучение.

5. После облучения шестого отверстия быстро отводят рефлектор с лампой в сторону.

Таким образом, кожа под первым отверстием облучается 3 мин, под вторым – 2,5 мин и т. д., а под шестым отверстием – 30 с. Кожная эритема проявляется через 6-8 часов. Определять биодозу следует через 24 часа (24-часовая эритема). Необходимо установить, какой продолжительности облучения соответствует эритема минимальной интенсивности. Если имеется 5 полосок возрастающей яркости, то одна биодоза равна 1 мин, если 4 полоски – 1,5 мин и т. д. Эта биодоза свойственна данному добровольцу при той лампе и расстоянии, какие взяты при облучении.

В зависимости от терапевтических задач облучение проводят с различных расстояний: 100; 75; 50; 25 см. При этом необходимо произвести пересчет биодозы на новое расстояние. Для этого можно воспользоваться формулой:

$$X = A \frac{B^2}{C^2}, \quad (2.5)$$

где X – искомая биодоза в минутах; A – биодоза в минутах с расстояния 50 см; B – расстояние, с которого необходимо проводить облучение; C – стандартное расстояние для определения биодозы (50 см).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ОКСИГЕНАЦИИ ГЕМОГЛОБИНА КРОВИ ПО СПЕКТРАМ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Введение

Одним из наиболее важных параметров, определяющих жизнедеятельность биологических тканей, является степень насыщенности крови кислородом, переносчиком которого является содержащийся в эритроцитах крови гемоглобин. Отражательная спектроскопия дает уникальную возможность достаточно простыми методами в реальном масштабе времени оценивать и объем содержащейся в кожной ткани крови, и степень оксигенации гемоглобина крови. При этом использование волоконно-оптических датчиков регистрации спектров отражения биоткани позволяет проводить такую оценку *in vivo* с различных участков тела человека.

В настоящее время разработан ряд спектральных методов, позволяющих определять степень оксигенации гемоглобина в кровеносной сосудистой системе человека. Мониторинг степени оксигенации гемоглобина артериальной крови, показывающий, какое количество кислорода поступает в организм, осуществляется с помощью метода пульс-оксиметрии [1, 2]. Не менее важной является информация о насыщении кислородом венозной крови, так как она отражает баланс между доставкой и потреблением кислорода в биотканях. Мониторинг оксигенации венозной крови тканей головного мозга возможен с помощью метода церебральной оксиметрии [2]. Методы пульс-оксиметрии или церебральной оксиметрии, основанные на абсорбционной спектроскопии в красной и ближней инфракрасной областях спектра, используются для измерений насыщения кислородом чисто артериальной или чисто венозной крови.

Несомненный интерес представляет состояние насыщения кислородом гемоглобина в микроциркуляторном русле биотканей, так как такие измерения затрагивают как артериальную, так и венозную капиллярные сети, которые, в свою очередь, определяют кислородный статус биоткани, в которой располагаются капиллярные кровеносные сосуды. Методы определения тканевой насыщенности кислородом в большинстве своем также основаны на абсорбционной спектроскопии в ИК диапазоне [2]. Мониторинг кровенаполненности капиллярных сетей и степени оксигенации крови в сосудистых сплетениях биоткани, в частности, кожной ткани, возможен также с использованием метода отражательной спектроскопии в видимом диапазоне спектра в области длин волн 500-600 нм, где отчетливо проявляются полосы поглощения двух форм гемоглобина [1, 2].

В данной работе акцент сделан на методах, основанных на анализе спектров отражения кожи в видимом диапазоне спектра.

Методы определения количества крови и степени оксигенации гемоглобина крови по спектрам диффузного отражения кожи в видимом диапазоне

Методы определения количества крови в кожной ткани и степени оксигенации гемоглобина крови по спектрам диффузного отражения кожи в видимом диапазоне основаны на простой оптической модели кожной ткани. Простая модель для анализа спектра диффузного отражения кожи основана на следующих предположениях: кожа состоит из трех или четырех слоев, каждый из которых однородно пропускает и рассеивает свет; пропускание и рассеяние света каждым из слоев могут быть описаны формулами, обычно используемыми для объяснения диффузного рассеяния света порошками; границы между слоями не влияют существенно на пропускание и отражение света всей системой в целом [1, 2].

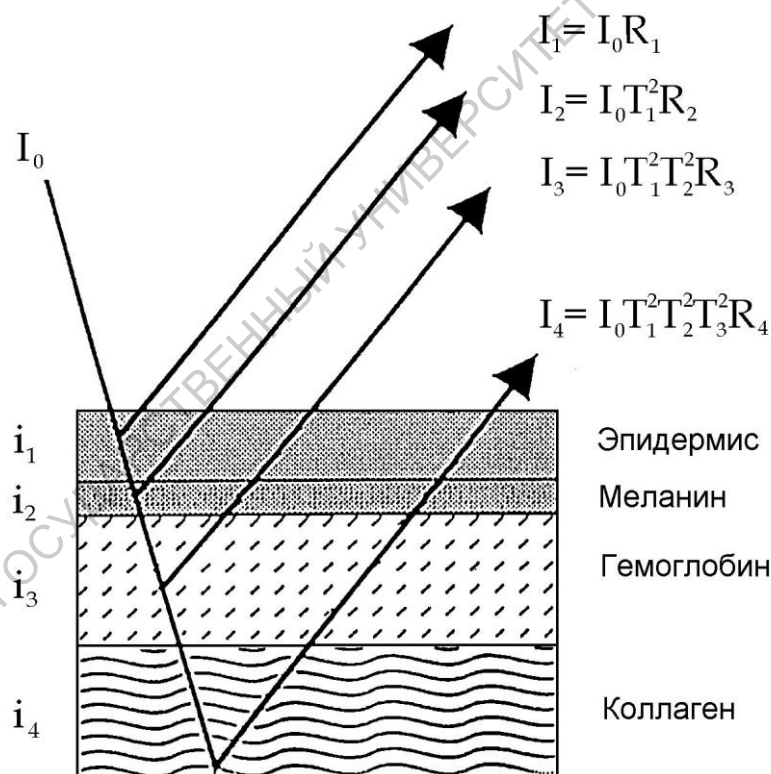


Рис. 3.1. Простая модель кожи

Соответствие такой упрощенной модели (рис. 3.1) анатомической структуре кожи очевидна: роговой слой (слой 1) диффузно отражает только около 5-7% (включая френелевское отражение) нормально падающего на поверхность кожи оптического излучения и главным образом наводит

диффузное рассеяние вперед; в эпидермисе свет интенсивно поглощается эпидермальным меланином (слой 2); непоглощенная часть света достигает содержащую кровь папиллярную дерму (слой 3), где также частично поглощается гемоглобином; оставшаяся часть диффузно рассеивается коллагеном дермы (слой 4); диффузно рассеянный свет выходит из кожи, по пути еще раз испытывая поглощение в слоях, содержащих кровь и меланин.

Таким образом, модельная система предполагает наличие процессов поглощения и рассеяния света в каждом из слоев однородными частицами, которые хаотически распределены в слое и чьи размеры значительно меньше толщины слоя.

В результате интенсивность света I , отраженного от четырехслойной структуры кожи, может быть представлена в следующем виде

$$I = I_0 (R_{d,1} + R_{d,2} T_1^2 + R_{d,3} T_1^2 T_2^2 + R_{d,4} T_1^2 T_2^2 T_3^2), \quad (3.1)$$

где I_0 - интенсивность света, падающего на кожу; $R_{d,1}$, $R_{d,2}$, $R_{d,3}$, $R_{d,4}$ - коэффициенты отражения света слоями структуры кожи; T_1 , T_2 и T_3 - коэффициенты пропускания света тремя верхними слоями структуры кожи.

Предполагая, что величина обратно рассеянного света тремя первыми слоями мала по сравнению с четвертым слоем ($R_{d,1}$, $R_{d,2}$, $R_{d,3} \ll R_{d,4}$), из уравнения (3.1) легко получить коэффициент отражения целой кожи:

$$R = \frac{I}{I_0} = T_1^2 T_2^2 T_3^2 R_{d,4}, \quad (3.2)$$

причем можно считать, что поглощение света меланином и гемоглобином является доминирующим процессом по сравнению с рассеянием света в первых трех слоях, то есть пропускание слоев T_i ($i = 1, 2, 3$) достаточно хорошо описывается законом Беера-Ламберта и $T_1 \approx 1$.

Для рассеивающей среды коэффициент диффузного отражения R_d определяет «кажущуюся оптическую плотность» OD среды:

$$OD = -\lg R_d. \quad (3.3)$$

В дальнейшем под термином «оптическая плотность кожи» будем подразумевать «кажущуюся оптическую плотность» среды, определенную согласно соотношению (3.3).

Для кожи оптическая плотность может быть выражена согласно выражению (3.2) следующим образом:

$$OD = 2(\lg e) \left(\sum_i \varepsilon_i d_i \right) - \lg(R_{d,4}), \quad (3.4)$$

где ε_i – коэффициент экстинкции i -го слоя толщиной d_i .

Так как OD определяется в виде суммы оптических плотностей слоев структуры кожи, то *in vivo* измерения спектра отражения кожи дает возможность проводить *in vivo* количественную оценку хромофорного состава кожи (меланина и гемоглобина, содержащихся во втором и третьем слоях):

$$OD = 2(\lg e) \left[(\varepsilon_{ext}^{mel} c_1 d_2)_{mel} + (\varepsilon_{ext}^{oxy} c_2 d_3)_{oxy} + (\varepsilon_{ext}^{deoxy} c_3 d_3)_{deoxy} \right] - \lg(R_4), \quad (3.5)$$

где ε_{ext} – коэффициент экстинкции, c_i – концентрация и d_i – оптическая толщина i -го слоя.

Из рисунка 3.2, где приведен типичный спектр оптической плотности кожи, отчетливо виден эффект проявления в области длин волн 500-600 нм полос поглощения гемоглобина. Поэтому эта область спектра может быть использована для оценки его содержания в кожной ткани.

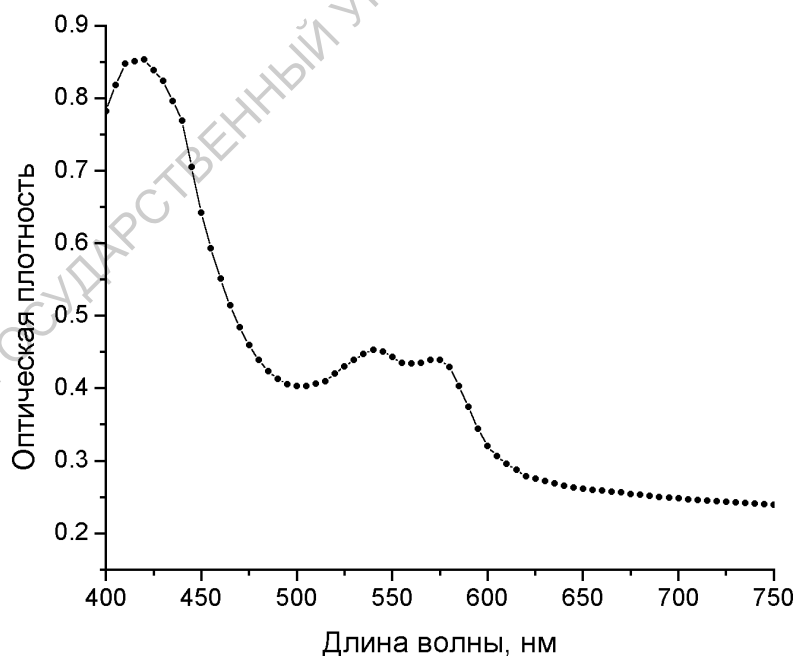


Рис. 3.2. Спектр оптической плотности кожи

При более детальном рассмотрении выражения (3.5) видно, что оптическая плотность кожи в этом спектральном диапазоне определяется аддитивным вкладом поглощения меланина (OD_{mel}), гемоглобина (OD_{hem}) и рассеивающими свойствами собственно ткани кожи (OD_{tissue}):

$$OD = OD_{mel} + OD_{hem} + OD_{tissue}, \quad (3.6)$$

где

$$OD_{mel} = 2(\lg e) \left[(\epsilon_{ext}^{mel} c_1 d_2)_{mel} \right],$$

$$OD_{hem} = 2(\lg e) \left[(\epsilon_{ext}^{oxy} c_2 d_3)_{oxy} + (\epsilon_{ext}^{deoxy} c_3 d_3)_{deoxy} \right],$$

$$OD_{tissue} = -\lg(R_4).$$

Первый метод определения степени оксигенации гемоглобина основан на *a priori* известных спектральных зависимостях коэффициентов экстинкции входящих в выражение (3.6) хромофоров и спектральной зависимости рассеивающих свойств кожи. В этом случае измерения OD кожи на нескольких длинах волн и применение стандартной процедуры регрессионного анализа позволяет оценить концентрации оксигемоглобина ($c_2 \equiv c_{oxy}$) и деоксигемоглобина ($c_3 \equiv c_{deoxy}$), а также степень оксигенации гемоглобина Y :

$$Y = \frac{c_{oxy}}{c_{oxy} + c_{deoxy}}. \quad (3.7)$$

Спектральная зависимость коэффициентов экстинкции двух форм гемоглобина в видимом диапазоне хорошо известна (рис. 3.3.).

Значение коэффициента экстинкции на любой длине волны можно пересчитать в значение коэффициента поглощения $\mu_a(\lambda)$, имеющего размерность $[cm^{-1}]$:

$$\mu_a = \frac{\epsilon_{ext} x}{66500}, \quad (3.8)$$

где x - молярная концентрация (для цельной крови $x = 150$ г/литр), 66500 – грамм-молекулярный вес гемоглобина, выраженный в г/моль¹.

¹ Prahl S. <http://omlc.ogi.edu>.

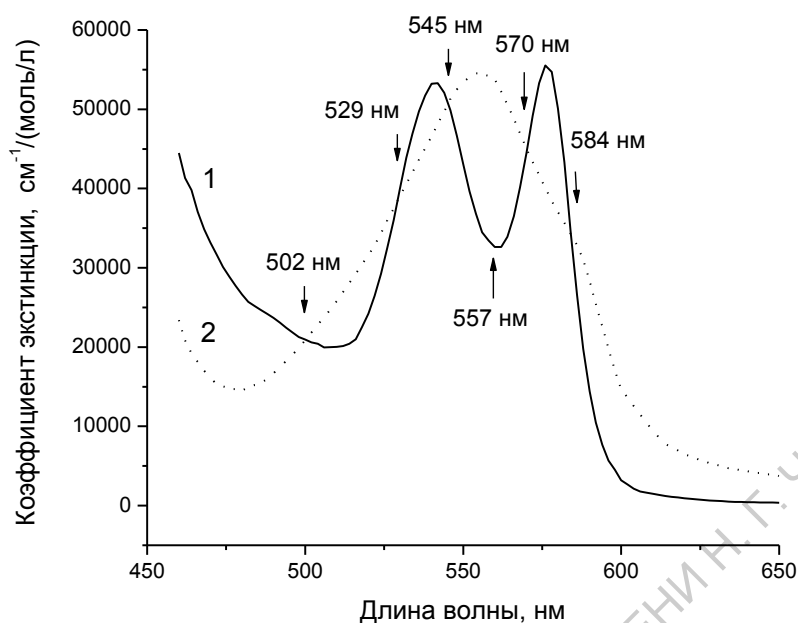


Рис. 3.3. Спектральная зависимость коэффициента экстинкции гемоглобина: 1 – оксигемоглобин; 2 - деоксигемоглобин

Характер спектральной зависимости коэффициента поглощения эпидермального меланина также известен (рис. 3.4). В области свыше 620 нм он представлен прямой линией, а в рассматриваемой области спектра – близок к ней.

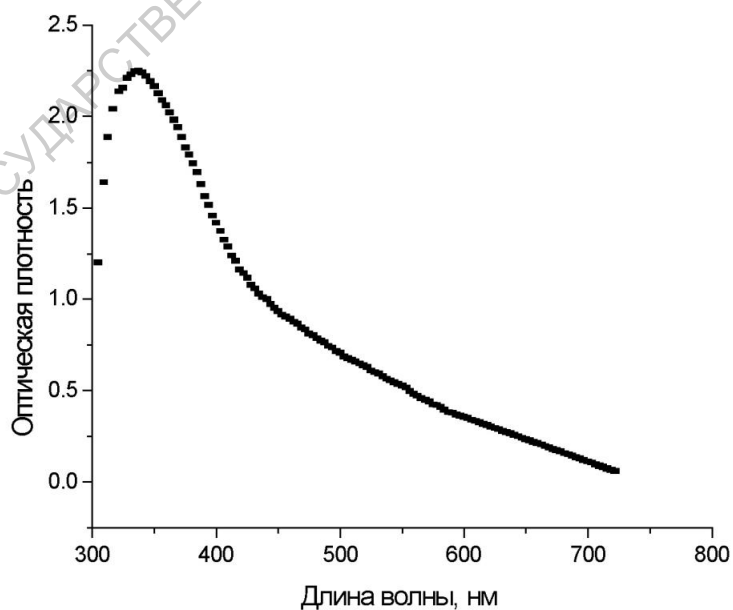


Рис. 3.4. Спектр поглощения эпидермального меланина. Тип кожи – IV

Для практической реализации метода необходимы измерения коэффициента отражения кожи и определения значений ее оптической плотности на длинах волн $\lambda_1 = 540$ нм, $\lambda_2 = 556$ нм, $\lambda_3 = 577$ нм, $\lambda_4 = 630$ и $\lambda_5 = 700$ нм. Дальнейшая процедура определения степени оксигенации гемоглобина включает два этапа.

На первом этапе экстраполяция линейной спектральной зависимости измеренной оптической плотности кожи в диапазоне длин волн 620-720 нм в коротковолновую область позволяет определить вклад меланина и рассеивающих свойств кожи в оптическую плотность в желто-зеленой области спектра.

Если оптическая плотность кожи на длинах волн λ_3 и λ_4 имеет значения OD_{630} и OD_{700} соответственно, то экстраполяция линейной зависимости в коротковолновую область дает значения оптической плотности

$$\begin{aligned} OD_{540}^* &= OD_{630} \frac{OD_{630} - OD_{700}}{\Delta\lambda_{45}} \Delta\lambda_{14}, \\ OD_{556}^* &= OD_{630} \frac{OD_{630} - OD_{700}}{\Delta\lambda_{45}} \Delta\lambda_{24}, \\ OD_{577}^* &= OD_{630} \frac{OD_{630} - OD_{700}}{\Delta\lambda_{45}} \Delta\lambda_{34}, \end{aligned} \quad (3.9)$$

являющиеся вкладом поглощения меланина и рассеивающих свойств кож-ной ткани в измеренные величины OD_{566} и OD_{577} . В соотношениях (3.9) $\Delta\lambda_{14} = \lambda_4 - \lambda_1$; $\Delta\lambda_{24} = \lambda_4 - \lambda_2$; $\Delta\lambda_{34} = \lambda_4 - \lambda_3$; $\Delta\lambda_{45} = \lambda_5 - \lambda_4$; индекс при OD соответствует длине волны λ в нм.

Выражение (3.6), написанное для разных длин волн с учетом (3.9), дает систему линейных уравнений:

$$\begin{aligned} OD_{540} - OD_{540}^* &= const \left[\mu_{540}^{oxy} c_{oxy} d_3 + \mu_{540}^{deoxy} c_{deoxy} d_3 \right], \\ OD_{556} - OD_{556}^* &= const \left[\mu_{556}^{oxy} c_{oxy} d_3 + \mu_{556}^{deoxy} c_{deoxy} d_3 \right], \\ OD_{577} - OD_{577}^* &= const \left[\mu_{577}^{oxy} c_{oxy} d_3 + \mu_{577}^{deoxy} c_{deoxy} d_3 \right], \end{aligned} \quad (3.10)$$

где неизвестными являются $c_{oxy}d_3$ и $c_{deoxy}d_3$.

Второй этап заключается в применении стандартной процедуры регрессионного анализа, позволяющей осуществить подходящий выбор величин $c_{oxy}d_3$ и $c_{deoxy}d_3$. Необходимые для этого значения коэффициентов поглощения гемоглобина приведены в таблице.

**Значения коэффициента поглощения
окси- и деоксигемоглобина¹**

λ , нм	μ^{oxy} , см ⁻¹	μ^{deoxy} , см ⁻¹
540	120,08	105,09
556	77,77	123,02
577	124,36	88,60

Недостатком изложенного метода является неопределенность значения гематокрита крови, поскольку эта величина входит в уравнения (3.6), (3.10) неявным образом.

В основе второго метода определения степени оксигенации гемоглобина лежат различия в спектрах поглощения двух форм гемоглобина в спектральной области 510-590 нм.

Две формы гемоглобина имеют хорошо известные различия в спектрах поглощения (см. рис. 3.3). Оксигенированная форма гемоглобина показывает два характерных максимума вблизи длин волн 540 нм и 577 нм, в то время как восстановленная форма гемоглобина характеризуется одним максимумом вблизи длины волны 556 нм. Кроме того, в этой спектральной области имеется пять изобестических точек (502, 529, 545, 570 и 584), где коэффициент поглощения гемоглобина не зависит от степени его оксигенации.

Очевидно, что соотношение между максимумами поглощения двух форм гемоглобина может служить основой для определения степени оксигенации, а изобестические точки могут служить своеобразным репером, свидетельствующим об общей концентрации гемоглобина в крови биоткани: увеличение поглощения в этих точках свидетельствует об увеличении концентрации гемоглобина и наоборот.

Реализация метода требует измерения коэффициента диффузного отражения и определения соответствующих значений оптической плотности кожи на длинах волн: $\lambda_1 = 529$ нм, $\lambda_2 = 545$ нм, $\lambda_3 = 557$ нм, $\lambda_4 = 570$ нм на длинах волн, соответствующих изобестическим точкам.

Если предположить, что рассеяние света влияет на значения OD в этих точках одинаково, то разности в значениях OD между двумя изобестическими точками будут пропорциональны содержанию гемоглобина в образце и не зависят от состояния оксигенации. Таким образом, используя разности в OD между двумя изобестическими точками, может быть определены индекс гемоглобина и степень тканевой оксигенации гемоглобина крови следующим образом:

¹ *Prahl S.* <http://omlc.ogi.edu>.

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25}, \quad (3.11)$$

$$Y = \alpha \left(\left(\frac{OD_{570} - OD_{557}}{13} - \frac{OD_{557} - OD_{545}}{12} \right) \frac{1}{H} + \beta \right), \quad (3.12)$$

где α и β – эмпирические константы, определяемые для конкретной схемы измерения коэффициентов отражения путем сравнения полученных значений H и Y с результатами определения H и Y известными методиками: $\alpha = 31$, $\beta = 1$.

Обычно *in vivo* измеренные значения индекса гемоглобина не превышают величину 0.5. Рассчитанный согласно соотношению (3.11) индекс гемоглобина является функцией количества гемоглобина в папиллярной дерме. В предположении, что эта функция носит линейный характер и что *in vitro* модель соответствует *in vivo* оптическим свойствам кожи, из индекса гемоглобина H можно определить массу гемоглобина на единицу площади поверхности кожи:

$$\text{Hemoglobin content} = H \times 3.8 \times 10^{-4} \text{ g cm}^{-2} \quad (3.13a)$$

или

$$\text{Hemoglobin content} = H \times 2.3 \times 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2}. \quad (3.13b)$$

В случае окклюзии кровеносных сосудов изменяется как общее количество крови в кожной ткани (величина H), так и степень оксигенации крови Y . Соотношения (3.11), (3.12) позволяют исследовать в данном случае временную динамику изменения величин H и Y .

Если интерес представляет время деоксигенации гемоглобина при окклюзии кровеносных сосудов и время восстановления первоначальной степени оксигенации при прекращении окклюзии, то в этом случае можно ограничиться исследованием относительного изменения степени оксигенации гемоглобина. Определение относительного изменения степени оксигенации гемоглобина удобно проводить с помощью соотношения (3.12).

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ формирования спектра диффузного отражения кожи человека; практическое ознакомление с методами *in vivo* определения кровенаполненности кровеносных сосудов в кожной ткани и степени оксигенации гемоглобина крови, основанными на измерении спектров диффузного отражения кожи в видимом диапазоне спектра.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: исследование динамики изменения содержания крови и степени оксигенации гемоглобина

крови в коже при искусственно наведенной окклюзии кровеносных сосудов и физических нагрузках.

Практическая часть

Описание установки

Измерение спектров диффузного отражения кожи человека проводится на установке, схема которой приведена на рис. 1.6 в описании к лабораторной работе № 1.

Измерение спектров отражения кожи в условиях *in vivo* проводится с помощью волоконно-оптического датчика, который обеспечивает подвод возбуждающего излучения к исследуемому объекту и прием отраженного кожей излучения.

Объект исследований

Объектами исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья и кожная поверхность подушечки пальца человека. Проводятся измерения спектров отражения нормальной кожи, кожи в процессе окклюзии кровеносных сосудов и кожи в процессе выполнения добровольцем физической нагрузки. Окклюзия кровеносных сосудов предплечья достигается сжатием мышечной ткани руки с помощью манжеты, а окклюзия кровеносных сосудов пальца – сжатием мышечной ткани проксимальной фаланги пальца с помощью адгезионной пленки. Физическая нагрузка осуществляется с помощью велотренажера.

Задание 1. Определение степени оксигенации гемоглобина и гематокрита крови, содержащейся в коже здорового человека.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи выбранного участка кожной поверхности предплечья.

2. По полученному спектру $R_d(\lambda)$ рассчитать спектр $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (3.3).

3. Используя соотношение (3.11), определить индекс гемоглобина крови, содержащейся в коже.

4. Используя соотношение (3.12), определить степень оксигенации гемоглобина крови.

Задание 2. Исследование временной динамики изменения степени оксигенации гемоглобина крови в процессе окклюзии кровеносных сосудов предплечья.

Порядок выполнения задания.

1. Закрепить волоконно-оптический датчик на выбранном участке кожной поверхности предплечья.

2. Закрепить на руке выше исследуемого участка предплечья манжет тонометра.

3. Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи при нормальных условиях.

4. Максимально быстро создать давление воздуха в манжете $p = 220$ мм рт. ст. Провести измерение спектров $R_d(\lambda)$ в течение 5 мин.

5. Максимально быстро вернуть давление воздуха в манжете в исходное состояние. Провести измерение спектров $R_d(\lambda)$ до восстановления их формы, соответствующей спектру отражения исходного состояния кожи¹.

6. По полученным спектрам $R_d(\lambda)$ рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (3.3).

7. По рассчитанным спектрам $OD(\lambda)$ определить динамику изменения индекса гемоглобина H , рассчитанного в соответствии с выражением (3.11).

8. По рассчитанным спектрам $OD(\lambda)$ определить динамику изменения степени оксигенации гемоглобина Y , рассчитанного в соответствии с выражением (3.12).

9. Провести анализ временной динамики изменения содержания крови и степени оксигенации ее гемоглобина.

Задание 3. Исследование временной динамики изменения степени оксигенации гемоглобина крови в процессе окклюзии кровеносных сосудов пальца.

Порядок выполнения задания.

1. Закрепить волоконно-оптический датчик на выбранном участке кожной поверхности подушечки пальца.

2. Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи при нормальных условиях.

3. Максимально быстро сжать мышечную ткань третьей фаланги пальца с помощью изоляционной ленты или скотча. Провести измерение спектров $R_d(\lambda)$ в течение 5 мин.

4. Максимально быстро вернуть палец в исходное состояние. Провести измерение спектров $R_d(\lambda)$ до восстановления их формы, соответствующей спектру отражения исходного состояния кожи.

5. По полученным спектрам $R_d(\lambda)$ рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (3.3).

6. По рассчитанным спектрам $OD(\lambda)$ определить динамику изменения индекса гемоглобина H , рассчитанного в соответствии с выражением (3.11).

7. По рассчитанным спектрам $OD(\lambda)$ определить динамику изменения степени оксигенации гемоглобина, рассчитанной согласно выражению (3.12).

8. Провести анализ временной динамики изменения содержания крови и степени оксигенации ее гемоглобина.

Задание 4. Исследование временной динамики изменения степени оксигенации гемоглобина крови в процессе физической нагрузки человека.

Порядок выполнения задания.

1. Сесть на велотренажер.
2. Закрепить волоконно-оптический датчик на выбранном участке кожной поверхности предплечья добровольца.

3. Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи при нормальных условиях.

4. Установить максимальную физическую нагрузку по показанию прибора велотренажера.

5. Вращать педали велотренажера в течение 10 мин., периодически проводя измерения спектров $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи.

6. Прекратить вращение педалей велотренажера. Провести измерение спектров $R_d(\lambda)$ до восстановления их формы, соответствующей спектру отражения исходного состояния кожи.

7. По полученным спектрам $R_d(\lambda)$ рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению (3.3).

8. По рассчитанным спектрам $OD(\lambda)$ определить динамику изменения индекса гемоглобина H , рассчитанного в соответствии с выражением (3.11) и степени оксигенации гемоглобина Y , рассчитанной в соответствии с выражениями (3.12).

9. Провести анализ временной динамики изменения содержания крови в кожной ткани и степени оксигенации ее гемоглобина.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КРОВИ И МЕЛАНИНА В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА НА СПЕКТР ЕЕ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Введение

Кожа как биологическая ткань содержит большое число разнообразных естественных (эндогенных) флуорофоров [1-3], которые определяют ее собственную (авто) флуоресценцию. Спектр автофлуоресценции (АФ) кожи формируется в результате трех процессов, происходящих по мере проникновения возбуждающего света внутрь кожной ткани и выхода флуоресценции из объема биоткани.

Кожная ткань является сложной структурой, обладающей рассеивающими и поглощающими свойствами. Рассеяние и поглощение возбуждающего излучения приводит, с одной стороны, к диффузному распределению излучения по объему биоткани, и, с другой стороны, определяет глубину проникновения света внутрь кожи. В результате в объеме биоткани формируется неоднородно распределенный источник флуоресценции.

Пространственная неоднородность источника флуоресценции внутри кожной ткани определяется не только затуханием возбуждающего излучения по мере его проникновения вглубь среды, но и различным пространственным расположением внутри ткани различных молекул, являющихся естественными флуорофорами (например, основными флуорофорами эпидермиса, дающими вклад во флуоресценцию в спектральном диапазоне 400-480 нм, являются кофермент никотинамид аденин динуклеотид и кератин, в то время, как в дерме флуоресценция в данном спектральном диапазоне обусловлена коллагеном и эластином). В результате сформированное внутри биоткани излучение флуоресценции имеет довольно сложный спектральный состав, который дополнительно усложняется из-за рассеяния света флуоресценции и его частичного поглощения по мере выхода излучения из среды.

По спектральным областям возбуждения флуоресценции и ее эмиссии содержащиеся в коже флуорофоры можно условно разделить на четыре группы.

АФ кожи в ультрафиолетовом диапазоне (максимум возбуждения $\lambda_{EX} \approx 250-290$ нм, $\lambda_{FL} \approx 320-370$ нм) обусловлена ароматическими аминокислотами, в основном тирозином и триптофаном.

Определить природу АФ кожи в диапазоне 400-480 нм (с максимумом между 440-460 нм) представляется достаточно сложным. В данном случае пик возбуждения и пик флуоресценции не являются спектральными постоянными. Из флуорофоров кожи, дающих наибольший вклад в АФ кожи в этом спектральном диапазоне, можно выделить протеины соединительной ткани (дермы) – коллаген и эластин (максимум возбуждения $\lambda_{EX} \approx 320$ нм, $\lambda_{FL} \approx 390-420$ нм), на характер спектра флуоресценции которых существенное влияние оказывают хромофоры кожи, прежде всего гемоглобин. Определенный вклад в АФ кожи в этом спектральном диапазоне могут давать содержащиеся в эпидермисе восстановленная (НАД-Н) и связанная (НАД⁺) формы кофермента никотинамид аденин динуклеотида (НАД) (максимумы флуоресценции - 460 нм и 435 нм, соответственно) и кератин (максимальная $\lambda_{FL} \approx 450$ нм).

При возбуждении в видимой области спектра (400-500 нм) в АФ кожи в зеленой области спектра дают вклад флавиновые ферменты (максимум возбуждения $\lambda_{EX} \approx 450$ нм, $\lambda_{FL} \approx 520-535$ нм), а АФ кожи в красной области обусловлена порфириновыми соединениями, прежде всего протопорфирином IX (максимум возбуждения – 405 нм, есть ряд полос поглощения в диапазоне 500-600 нм, максимум флуоресценции – 630 нм).

Модель для анализа спектров автофлуоресценции кожи

В настоящей работе изучается УФА возбужденная АФ кожи, типичный спектр которой приведен на рис. 4.1.

Анализ представленного спектра можно провести на основе простой модели кожи. Согласно этой модели кожу можно представить как трехслойную структуру, состоящую из эпидермиса, папиллярной дермы и слоя дермы под папиллярной дермой (рис. 4.2).

Предполагается однородное пространственное распределение флуорофоров, дающих вклад в АФ: НАД-Н и кератина - в эпидермисе, коллагена - в дерме. Вклад флуоресценции рогового слоя и эпидермиса в общую флуоресценцию кожи мало меняется при эритеме или внешнем механическом давлении. Как возбуждающее излучение, так и флуоресценция коллагена при распространении в коже частично поглощается слоями, содержащими кровь и меланин.

Интенсивность I_{AF} АФ кожи определяется флуоресценцией I_1 эпидермиса (НАД-Н, кератин) и флуоресценцией I_4 дермы (коллаген).

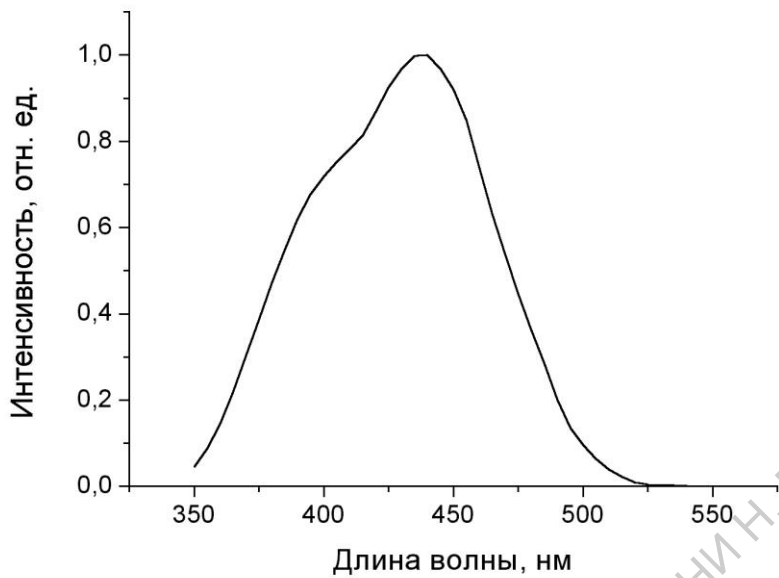


Рис. 4.1. Спектр автофлуоресценции кожи ($\lambda_{EX} = 337$ нм)

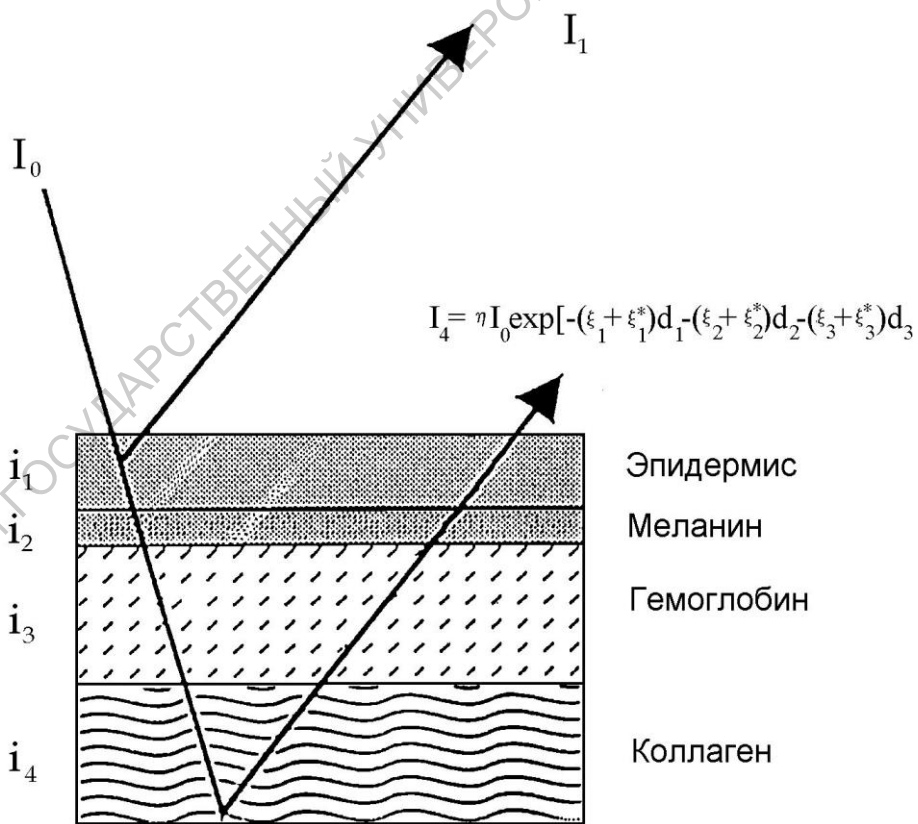


Рис. 4.2. Простая модель для анализа автофлуоресценции кожи

В одномерном приближении интенсивность выходящей из кожи флуоресценции дермального слоя I_4 может быть представлена в виде

$$I_4(\lambda_{FL}) = \int_z \Phi(\lambda_{EX}, z) \eta(\lambda_{FL}, \lambda_{EX}) T(\lambda_{FL}, z) dz, \quad (4.1)$$

где λ_{EX} и λ_{FL} – длины волн возбуждения и флуоресценции; $\Phi(\lambda_{EX}, z)$ – плотность потока возбуждающего излучения внутри 4-го слоя; $\eta(\lambda_{FL}, \lambda_{EX})$ – квантовый выход флуоресценции коллагена.

Функция $T(\lambda_{FL}, z)$ определяет ослабление интенсивности флуоресценции коллагена в верхних слоях по мере ее выхода из кожной ткани и может быть представлена следующим образом:

$$T(\lambda_{FL}) = \exp \left[- \sum_i \varepsilon_i^*(\lambda_{FL}) d_i \right], \quad (4.2)$$

где $\varepsilon_i^*(\lambda_{FL})$ – коэффициент экстинкции i -го слоя толщиной d_i на длине волны флуоресценции.

Усредненное значение плотности потока возбуждающего излучения в 4-ом слое может быть представлено в виде

$$I(\lambda_{EX}) = I_0(\lambda_{EX}) \exp \left[- \sum_i \varepsilon_i(\lambda_{EX}) d_i \right], \quad (4.3)$$

где $I_0(\lambda_{EX})$ – интенсивность возбуждающего излучения, падающего в виде коллимированного пучка на поверхность кожи; $\varepsilon_i(\lambda_{EX})$ – коэффициент экстинкции i -го слоя на длине волны возбуждающего излучения.

Тогда интенсивность выходящей из кожи флуоресценции можно выразить следующим образом:

$$I_4(\lambda_{FL}) = \eta(\lambda_{FL}, \lambda_{EX}) I_0(\lambda_{EX}) \exp \left[- \sum_i [\varepsilon_i(\lambda_{EX}) + \varepsilon_i^*(\lambda_{FL})] d_i \right]. \quad (4.4)$$

Нормировка интенсивности флуоресценции $I_4(\lambda_{FL})$ на величину $\eta(\lambda_{FL}, \lambda_{EX}) I_0(\lambda_{EX})$ позволяет определить величины

$$R^* = \frac{I_4(\lambda_{FL})}{\eta(\lambda_{FL}, \lambda_{EX}) I_0(\lambda_{EX})}, \quad (4.5)$$

$$OD^* = \lg\left(\frac{1}{R^*}\right) = \log e \left(\sum_i \left\{ \left[\varepsilon_i(\lambda_{EX}) + \varepsilon_i^*(\lambda_{FL}) \right] d_i \right\} \right). \quad (4.6)$$

Величина OD^* может быть названа “кажущейся эффективной оптической плотностью» кожи, так как она прямо пропорциональна ее поглощающим свойствам. В отличие от оптической плотности OD , полученной из спектров диффузного отражения кожи, изменения OD^* определяются изменением в поглощении кожи на длинах волн возбуждения и излучения, но так как поглощение хромофоров кожи (гемоглобина и меланина) пропорционально концентрации этих компонентов независимо от длины волны излучения, то изменение величины “кажущейся эффективной оптической плотности” однозначно определяется изменением содержания крови и меланина в коже.

Из результатов измерения спектров АФ кожи чрезвычайно трудно получить абсолютную количественную информацию о содержащихся в ней флуорофоров (и/или хромофоров), прежде всего из-за сложности определения квантового выхода флуоресценции η , поэтому флуоресцентный анализ обычно используется для определения относительных изменений содержания флуорофоров (и/или хромофоров) в биоткани. В отличие от отражательной спектроскопии, где нормировка отраженного кожей света на известный высокоотражающий эталон (типа $BaSO_4$) дает возможность определять абсолютные значения коэффициента отражения R_d и оптической плотности OD , флуоресцентная спектроскопия позволяет измерять только относительные изменения поглощающих свойств кожи.

Изменения OD^* определяются только изменениями в интенсивности флуоресценции:

$$\Delta OD^* = OD_2^* - OD_1^* = \lg\left(\frac{\eta l_0}{I_{FL}^2}\right) - \lg\left(\frac{\eta l_0}{I_{FL}^1}\right) = \lg\left(\frac{I_{FL}^1}{I_{FL}^2}\right), \quad (4.7)$$

где I_{FL}^1 и I_{FL}^2 – два сравниваемых значения интенсивности АФ кожи (при идентичных условиях измерения).

Так как изменения OD^* не зависят от величины ηl_0 , то ηl_0 можно выбрать таким образом, чтобы значения R^* и R_d были одного порядка.

Флуоресценция эпидермиса вносит постоянный вклад в АФ кожи и мало влияет на зависимость OD^* от содержания в коже гемоглобина и меланина.

Флуоресцентная методика определения содержания крови и меланина в коже человека

Оценка содержания крови и меланина в коже возможна на основе определения индексов эритемы и меланина кожи, которые обычно определяются на основании анализа спектров отражения кожи в разных спектральных областях [1].

Измерения интенсивности АФ кожи также дают возможность *in vivo* определения индексов эритемы и пигментации кожи. Согласно соотношениям (4.5) и (4.6), оптическую плотность нормальной кожи (OD_N^*) и кожи с эритемой (OD_E^*) можно определить следующим образом:

$$OD_N^* = \lg \left(\frac{\eta I_0}{I_{FL}^N} \right); \quad (4.8a)$$

$$OD_E^* = \lg \left(\frac{\eta I_0}{I_{FL}^E} \right), \quad (4.8b)$$

где интенсивности I_{FL}^N АФ нормальной кожи и I_{FL}^E кожи с эритемой измеряются на длине волны $\lambda_{FL} = 460$ нм. Очевидно, что разность

$$OD_E^* - OD_N^* = \lg \left(\frac{I_{FL}^N}{I_{FL}^E} \right) \quad (4.9)$$

определяет изменение поглощения света кожей за счет изменения содержания крови. Величину

$$E \equiv k(OD_E^* - OD_N^*) \quad (4.10)$$

можно определить как показатель содержания крови в кожной ткани (индекс эритемы). Коэффициент k введен для того, чтобы определенные данным методом индексы эритемы привести к шкале индексов, измеренных методом отражательной спектроскопии.

Как уже отмечалось выше, в отличие от величины оптической плотности OD , измеренной по спектру отражения биоткани, в определении абсолютного значения эффективной оптической плотности OD^* (см. выражения (4.8)) имеет место определенный произвол, связанный с неопределенностью величины η . В связи с этим флуоресцентный метод определения оптической плотности биоткани эффективен при оценке относительных изменений поглощающих свойств среды. В этом случае обычно изме-

нения оцениваемой физической величины нормируются на ее начальное значение и определяется ее относительное изменение. Удобно и обоснованно в этом случае считать величину OD_N^* равной единице, то есть полагать $\eta I_0 = 10 I_{FL}^N$. Тогда эффективную оптическую плотность эритематозной кожи можно определить из выражения (4.8б) как

$$OD_E^* = \lg \left(10 \frac{I_{FL}^N}{I_{FL}^E} \right), \quad (4.11)$$

и выражение (4.9) определяет относительное изменение эффективной оптической плотности кожи при развитии эритемы.

Индекс меланина определяется согласно выражениям, аналогичным (4.9) и (4.10), где интенсивности I_{FL}^N и I_{FL}^E измеряются в случае кожи, подвергнутой давлению $\sim 10^5$ Па (бескровная дерма).

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ формирования спектра АФ кожи человека; практическое ознакомление с флуоресцентными методами *in vivo* определения индексов эритемы и пигментации кожи.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: количественное определение флуоресцентным методом изменения содержания крови в коже при наличии эритемы и при механическом сдавливании кожной ткани; количественное определение флуоресцентным методом изменения содержания меланина в коже при нанесении на нее содержащий меланин крем.

Практическая часть

Описание установки

Измерение спектров АФ кожи человека проводится на установке, схема которой приведена на рис.1.6 в описании к лабораторной работе № 1, где вместо источника сплошного спектра осветительного устройства НЛ-2000 используется источник ультрафиолетового излучения.

Измерение спектров АФ кожи в условиях *in vivo* проводится с помощью волоконно-оптического датчика, который обеспечивает подвод возбуждающего излучения к исследуемому объекту и прием излучения флуоресценции кожи (см. описание к лабораторной работе № 1).

Для записи спектров в условиях внешней механической компрессии кожи между полукольцом волоконно-оптического датчика и объектом помещалось тонкое кварцевое стекло диаметром 3 см, на которое оказывалось давление с помощью устройства, рассмотренного в описании к лабораторной работе № 1.

В качестве источника возбуждения флуоресценции используется импульсный азотный лазер ЛГИ-505 (длина волны излучения 337 нм, максимальная частота следования импульсов 1 кГц, максимальная средняя мощность 120 мВт). С целью предотвращения эритемных и пигментных изменений зондируемых участков кожи рекомендуется возбуждать флуоресценцию кожи излучением лазера мощностью, не превышающей 40 мВт.

Объект исследований

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека.

Определение индексов эритемы проводится на основе измерения спектров АФ нормальной кожи, кожи с наведенной механической эритемой и кожи, подверженной внешней механической компрессии. Такие внешние воздействия обеспечивают количественные изменения крови в коже человека без изменений содержания меланина.

Определение индексов меланина проводится на основе измерения спектров АФ нормальной кожи и кожи с нанесенной на нее кремом Foundation Cream. Последний является препаратом, содержащим меланин. В зависимости от количества нанесенного на кожу крема изменяется и количественное содержание в ней меланина, поэтому можно считать, что происходящие в этом случае изменения в спектрах АФ кожи обусловлены только изменением содержания в ней меланина.

Практические задания

Задание 1. Измерение спектра УФА возбужденной АФ кожи человека.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры АФ разных участков кожной поверхности предплечья.
2. Провести статистическую обработку полученных спектров в соответствии с [4]. Оценить погрешность измерения спектров отражения.

Задание 2. Исследование динамики изменения индекса эритемы кожи человека в процессе развития эритемы.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр $I_{FL}^N(\lambda)$ АФ кожи с выбранного участка внутренней стороны предплечья добровольца. Определить величину интенсивности флуоресценции (в относительных единицах) I_{FL}^N на длине волны $\lambda_{FL} = 460$ нм.

2. Измерить спектры $I_{FL}^E(\lambda)$ АФ кожи в процессе последовательных удалений поверхностных слоев эпидермиса с выбранного участка кожной поверхности. Для измеренных спектров определить величины интенсивности флуоресценции I_{FL}^E (в выбранных относительных единицах) на длине волны $\lambda_{FL} = 460$ нм.

3. По полученным значениям I_{FL}^N и I_{FL}^E согласно выражению (4.11) определить значения эффективной оптической плотности кожи OD^* в процессе развития эритемы.

4. Определить индексы эритемы кожи в соответствии с выражением (4.10). Коэффициент k принять равным 50. Построить зависимость индекса эритемы от числа отрывов кожной поверхности. Провести анализ полученных результатов.

Задание 3. Исследование влияния внешней механической компрессии кожи на содержание в ней крови.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр $I_{FL}^N(\lambda)$ АФ кожи с выбранного участка внутренней стороны предплечья добровольца. Определить величину интенсивности флуоресценции (в относительных единицах) I_{FL}^N на длине волны $\lambda_{FL} = 460$ нм.

2. Измерить спектры $I_{FL}^E(\lambda)$ АФ кожи с выбранного участка кожной поверхности в условиях внешней механической компрессии кожи грузами разных масс. Для измеренных спектров определить величины интенсивности флуоресценции I_{FL}^E (в выбранных относительных единицах) на длине волны $\lambda_{FL} = 460$ нм.

3. По полученным значениям I_{FL}^N и I_{FL}^E согласно выражению (4.11) определить значения эффективной оптической плотности кожи OD^* в процессе развития эритемы.

4. Определить индексы эритемы кожи в соответствии с выражением (4.10). Коэффициент k принять равным 50. Построить зависимость индекса эритемы от числа отрывов кожной поверхности. Провести анализ полученных результатов.

Задание 4. Количественное определение изменения содержания меланина в коже при нанесении на нее содержащий меланин крем.

Порядок выполнения задания.

1. На внутренней поверхности предплечья водостойким маркером отметить два расположенные рядом участка кожной поверхности размером 2×2 см². На один из них нанести содержащий меланин крем Foundation Cream, который затем равномерно распределить в пределах обозначенного участка и втирать в течение 5 мин легким движением с помощью пальца в напалечнике. Второй участок служит для измерения АФ кожи без крема.

2. Подвесить груз массой 5 кг к свободному концу поперечной планки устройства для регистрации спектра отражения кожи в условиях внешней механической компрессии кожи (см. описание к лабораторной работе № 1).

3. Измерить спектр $I_{\text{FL}}^{\text{N}}(\lambda)$ АФ кожи с отмеченного участка кожной поверхности без крема. Определить величину интенсивности флуоресценции (в относительных единицах) I_{FL}^{N} на длине волны $\lambda_{\text{FL}} = 460$ нм.

4. Измерить спектр $I_{\text{FL}}^{\text{E}}(\lambda)$ АФ кожи с отмеченного участка кожной поверхности с кремом. Определить величину интенсивности флуоресценции I_{FL}^{E} (в выбранных относительных единицах) на длине волны $\lambda_{\text{FL}} = 460$ нм.

5. По полученным значениям I_{FL}^{N} и I_{FL}^{E} согласно выражению (4.11) определить значения эффективной оптической плотности кожи OD^* для нормальной кожи и кожи с нанесенным кремом.

6. В соответствии с выражением (4.10) определить индекс меланина кожи с нанесенным на нее кремом. Коэффициент k принять равным 100. Значение индекса определит относительное увеличение содержания меланина в коже в процентах.

ЦВЕТОВОЕ ВОСПРИЯТИЕ ОТРАЖЕННОГО КОЖЕЙ БЕЛОГО СВЕТА И АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КОЖИ

Введение

Кожа является уникальным органом, который доступен непосредственному визуальному осмотру. Основным акцент при визуальном осмотре кожной поверхности направлен на анализ изменения цвета кожи и классификацию морфологических проявлений ("текстуру" кожной поверхности), вызванных различными процессами, происходящими в коже. Визуальное обследование кожной морфологии является опорой клинической дерматологии, однако оно является чисто субъективным процессом, и его результаты сильно зависят от опыта и квалификации дерматолога.

Объективность оценки восприятия цвета кожи и особенностей ее поверхностной и субповерхностной структур основана на физических принципах формирования и оценки воспринимаемого цвета кожи, воплощенных в колориметрических методах измерения цвета и компьютерных методах цифровой визуализации кожной поверхности [5-8].

Цветовые ощущения и цвет излучения

Зрительная система человека обладает способностью оценивать количественный и качественный состав поступающего извне электромагнитного излучения определенного спектрального диапазона. Этот спектральный диапазон называют видимым, а излучение этого диапазона – светом. Количественный уровень поступающего извне излучения, определяемый уровнем зрительных ощущений, называют *светлотой*, а качественную характеристику – *цветностью*.

Способность органа зрения дифференцировать *цветовые* оттенки излучения, определяемые их спектральным составом, обусловлена наличием трех видов рецепторов (колбочками), обладающих различными спектральными чувствительностями: *к*-рецепторы реагируют на красный свет, *з*-рецепторы – на зеленый и *с*-рецепторы – на синий.

На рис. 5.1 приведены кривые спектральной чувствительности цветовоспринимающих рецепторов среднего глаза. Комплекс зрительного ощущения, определяемый общим уровнем возбуждения органа зрения соотношением уровней возбуждения трех его *кзс*-рецепторов, принято называть *ощущением цвета*.

Наряду с количественной и качественной оценками ощущения цвета можно говорить о цвете излучения как о его комплексной качественной и количественной оценке. *Цвет* – это некоторое свойство излучения, опре-

деляющее результат его действия на средний глаз по ощущению цветности и светлоты глаза.*

Количественная оценка цвета излучения (*яркость* цвета) тесно связана с количественной оценкой цветового ощущения (светлотой), хотя эта связь и достаточно сложная (если освещенность сетчатки глаза пропорциональна яркости наблюдаемого объекта, то связь между уровнем освещенности сетчатки и возникающими ощущениями более сложная).

Качественная оценка цвета излучения (цветность излучения), как и цветность цветового ощущения, определяется спектральным составом излучения, причем заданному спектральному составу излучения соответствует единственно возможная цветность, так как любой спектральный состав однозначно определяет соотношение уровней реакции КЗС-приемников органа зрения человека.

Цвет излучения и цветность излучения, как и ощущение цвета и ощущение цветности, являются величинами многомерными.

Цветность является двумерной величиной, так как ее количественное выражение можно однозначно определить двумя параметрами: *цветовым тоном* и *цветовой насыщенностью* излучения.

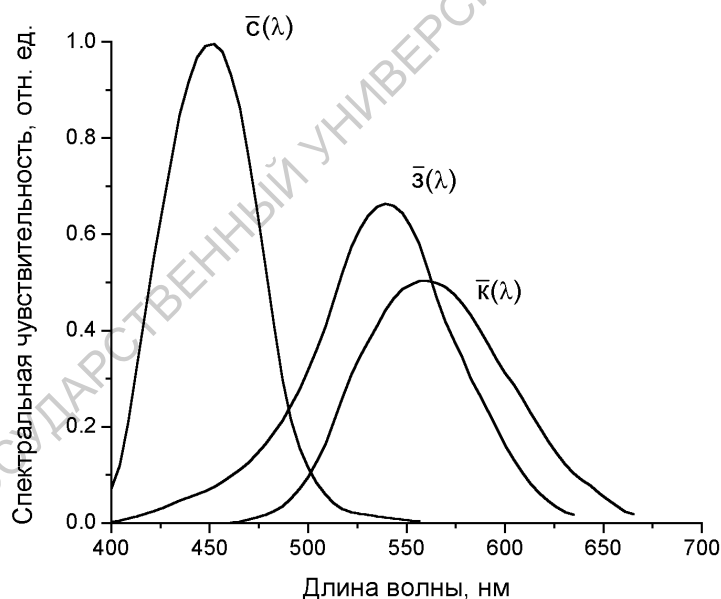


Рис. 5.1. Спектральная чувствительность цветовоспринимающих рецепторов глаза

* Под *средним глазом* понимают некоторый гипотетический трехкомпонентный приемник, спектральная чувствительность каждого компонента которого зависит только от длины волны и с достаточной точностью воспроизводит стандартизованные средние значения спектральной чувствительности КЗС-рецепторов органа зрения человека в относительных единицах.

С точки зрения цветовых ощущений под цветовым тоном понимают свойство цвета, позволяющее наблюдателю оценивать цвет как красный, желтый, зеленый и т.д. Цветовой тон проявляется, когда раздражение рецепторов неодинаково, при этом он определяется рецепторами, дающими наибольшую реакцию.

В случае, когда излучение раздражает все рецепторы одинаково, его цвет воспринимается как белый, серый или черный и носит название *ахроматического*. В случае неодинакового раздражения рецепторов разного типа возникает ощущение *хроматического* цвета. Степень отличия хроматического цвета от ахроматического называют насыщенностью. Насыщенность цвета определяется реакцией рецепторов, получивших наименьшее раздражение.

Цветовой тон излучения определяется длиной волны того монохроматического излучения, которое в определенной пропорции смеси с белым светом обеспечивает зрительное тождество с исследуемым излучением. При этом долю монохроматического излучения в этой смеси, обеспечивающую данное тождество, называют *чистотой цвета* (очевидно, что максимальная чистота цвета, равная единице, достигается при отсутствии в смеси белого света, то есть для монохроматического света). Чистота цвета количественно выражается величиной, носящей название *насыщенности цвета*, которая определяется числом *порогов цветоразличения по насыщенности* на участке изменения цветности от белого цвета до цвета смеси. Понятие порога цветоразличения введена в связи с тем, что при изменении чистоты цвета качество цвета меняется скачкообразно, по мере того как прирост величины чистоты цвета достигает некоторой пороговой величины.

Законы аддитивного смешения цветов

Ощущение цвета, оцениваемое светлотой и двумя параметрами цветности, так же как и цвет излучения, оцениваемой яркостью и двумерной величиной цветности, являются трехмерными величинами. Трехмерность ощущения цвета, так же как и цвета излучения, определяется трехкомпонентностью органа зрения как приемника излучения.

Тот факт, что любой воспринимаемый цвет можно представить как суперпозицию трех основных цветов (красного, зеленого и синего), носит фундаментальный характер, отраженный в законах аддитивного смешения цветов Грасмана.

Первый закон Грасмана (закон трехмерности) утверждает, что любые четыре цвета находятся в линейной зависимости, хотя существует неограниченное число линейно независимых совокупностей из трех цветов. Иначе этот закон гласит, что любой цвет однозначно выражается тремя,

если они линейно независимы. Последнее означает, что нельзя получить никакой из указанных трех цветов сложением двух остальных.

Второй закон Грасмана (закон непрерывности) утверждает, что непрерывному изменению излучения соответствует также непрерывное изменение цвета. Этот закон устраняет возможность существования какого-то отдельного цвета, не премыкающего непосредственно ко всем остальным, так как любое излучение путем непрерывных изменений можно превратить в любое другое.

Третий закон Грасмана (закон аддитивности) утверждает, что цвет смеси излучений зависит только от цветов смешиваемых компонентов и не зависит от их спектрального состава. Из этого закона следует факт, имеющий первостепенное значение для теории цвета, – аддитивность цветовых уравнений.

Элементы теории цвета

Цветовое пространство

Цвет – величина трехмерная, характеризуемая тремя параметрами: яркостью, цветовым тоном и насыщенностью цвета. Он может быть представлен в пространстве трех измерений вектором \mathbf{C} , начало которого помещается в начало координат, а конец – в данной точке пространства, представляющей цвет. При этом длина вектора характеризует яркость цвета, направление вектора определяет его цветность (цветовой тон и насыщенность). Такое пространство, в котором находятся цветовые векторы, называется *цветовым пространством*.

Введение понятия цветового пространства является весьма удобным, так как позволяет путем векторного сложения двух векторов, представляющих разные цвета, найти характеристики суммарного цвета. Это является отражением третьего закона Грасмана об аддитивности цветовых уравнений: при сложении двух цветов суммарный цвет имеет цветовые координаты, равные сумме координат складываемых цветов.

Из первого закона Грасмана следует, что если в качестве основных цветов взять красный (\mathbf{R}), зеленый (\mathbf{G}) и синий (\mathbf{B}), то в векторном пространстве основных цветов RGB вектор произвольного цвета \mathbf{C} можно количественно представить как результат векторного сложения векторов, соответствующих трем основным цветам \mathbf{R} , \mathbf{G} и \mathbf{B} :

$$\mathbf{C} = \mathbf{R} + \mathbf{G} + \mathbf{B}. \quad (5.1)$$

Единичными векторами цветового пространства можно считать векторы $\hat{\mathbf{R}}$, $\hat{\mathbf{G}}$ и $\hat{\mathbf{B}}$, соответствующие единичным количествам основных

цветов. Тогда вектор \mathbf{C} , определяющий количество данного цвета, можно представить в виде

$$\mathbf{C} = R\hat{R} + G\hat{G} + B\hat{B}, \quad (5.2)$$

где R , G и B определяют количество единиц смешиваемых цветов.

Уравнение (5.2) носит название *цветового уравнения*, а множители R , G и B называются *цветовыми координатами* (координатами цвета, количествами трех стимулов) цвета \mathbf{C} в системе основных цветов RGB. Отметим, что в уравнении (5.2) координаты цвета R , G и B входят со своими знаками.

Длину вектора \mathbf{C} , определяющую количество данного цвета, можно выразить в единицах основных цветов, то есть

$$\mathbf{C} = m\hat{\mathbf{C}}, \quad (5.3)$$

где $\hat{\mathbf{C}}$ – единичное количество цвета \mathbf{C} в системе основных цветов RGB. Величина m , определяющая количество единиц $\hat{\mathbf{C}}$ (то есть модуль вектора \mathbf{C}), называется *цветовым модулем цвета \mathbf{C}* :

$$m = R + G + B. \quad (5.4)$$

Уравнение (5.2) с учетом (5.3), (5.4) может быть переписано в виде

$$m\hat{\mathbf{C}} = R\hat{R} + G\hat{G} + B\hat{B}, \quad (5.5)$$

откуда получаем *единичное уравнение цветности*:

$$\hat{\mathbf{C}} = r\hat{R} + g\hat{G} + b\hat{B}. \quad (5.6)$$

Коэффициенты r , g и b в уравнении (5.6) определяются как

$$r = \frac{R}{R+G+B}, \quad g = \frac{G}{R+G+B}, \quad b = \frac{B}{R+G+B} \quad (5.7)$$

и носят название *координат цветности* в системе RGB.

Цветовое уравнение (5.2) определяет ориентацию вектора \mathbf{C} в цветовом пространстве и его модуль, то есть определяет как количество, так и качество цвета излучения, в то время как единичное цветовое уравнение (5.6) определяет только качество цвета излучения, то есть его цветность.

Из уравнений (5.6) и (5.7) легко видеть, что цветность излучения определяется двумя из трех координат цветности, так как только две из них являются линейно независимыми:

$$r + g + b = 1. \quad (5.8)$$

Из этого следует, что цветность является двухмерной величиной, однозначно определяемой любой парой трехцветных коэффициентов.

Система количественного определения цвета с помощью уравнения (5.2) называется *трихроматической* (*трехцветной*), а единичные векторы цветов \hat{R} , \hat{G} , \hat{B} называются *трихроматическими единицами цветов*. Модули векторов \hat{R} , \hat{G} , \hat{B} равны одной трихроматической единице, обозначаемой буквой Т.

Единичные векторы основных цветов не должны лежать в одной плоскости (в противном случае они были бы линейно зависимы), при этом угол между ними может быть любым. Для удобства можно взять прямоугольную систему координат. В цветовом пространстве на единичных векторах \hat{R} , \hat{G} , \hat{B} может быть построен единичный параллелепипед, диагональ которого, проходящая через начало координат, представляет собой вектор равностимульного цвета $\mathbf{Ц}_Б$ с координатами $R = G = B = 1Т$ (рис. 5.2), в качестве которого обычно выбирается белый цвет. Очевидно, что начало координат соответствует черному цвету. Количество цвета $\mathbf{Ц}$ в трихроматических единицах равно его модулю.

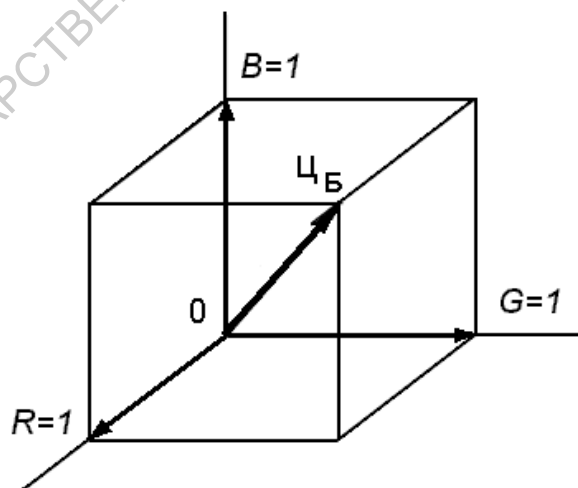


Рис. 5.2. Вектор белого цвета $\mathbf{Ц}_Б$ в пространстве RGB

Трихроматические единицы цветов являются относительными величинами. Абсолютные значения величины Т для каждого основного цвета в

разных колориметрических системах определяются абсолютным количеством этого цвета и условием его выбора (т. е. его световым потоком, яркостью, освещенностью и т. д.). Они различны для разных цветов.

Соотношение между трихроматическими единицами основных цветов определяется соотношением их яркостных характеристик.

Если компоненты цветности являются величинами, определяющими уровни действия излучения на три различных приемника, и поэтому качественно неодинаковы, то составляющие яркости цвета могут отличаться друг от друга только по значению. Следовательно, *RGB*-составляющие яркости являются величинами, количественно характеризующими *RGB*-компоненты цвета.

Яркостные выражения каждого компонента цвета (L_R, L_G, L_B) можно рассматривать как составляющие яркости L_{Π} исследуемого излучения:

$$L_{\Pi} = L_R + L_G + L_B . \quad (5.9)$$

Яркости $\hat{L}_R, \hat{L}_G, \hat{L}_B$ единичных количеств основных цветов $\hat{R}, \hat{G}, \hat{B}$ носят название *абсолютных яркостных коэффициентов основных цветов* (имеют размерность кд/м²). С учетом абсолютных яркостных коэффициентов выражение (5.9) для яркости цвета Π (в кд/м²) имеет вид

$$L_{\Pi} = R\hat{L}_R + G\hat{L}_G + B\hat{L}_B . \quad (5.10)$$

Яркость единичного количества $\hat{\Pi}$ цвета Π равна

$$\hat{L}_{\Pi} = \frac{L_{\Pi}}{m} = r\hat{L}_R + g\hat{L}_G + b\hat{L}_B . \quad (5.11)$$

В любой колориметрической системе единичные векторы $\hat{L}_R, \hat{L}_G, \hat{L}_B$ количественно различаются. Соотношение между ними определяется выбором основных цветов системы и согласованием по яркости основных цветов с белым цветом.

Особые плоскости и линии цветового пространства

Плоскость, проходящая через концы единичных векторов, называется *единичной плоскостью* (рис. 5.3). Ее описывает уравнение (5.8):

$$r + g + b = 1 .$$

В цветовом пространстве все цвета (концы цветовых векторов), подчиняющиеся условию (5.8), лежат в единичной плоскости и их количества равны одной трихроматической единице T .

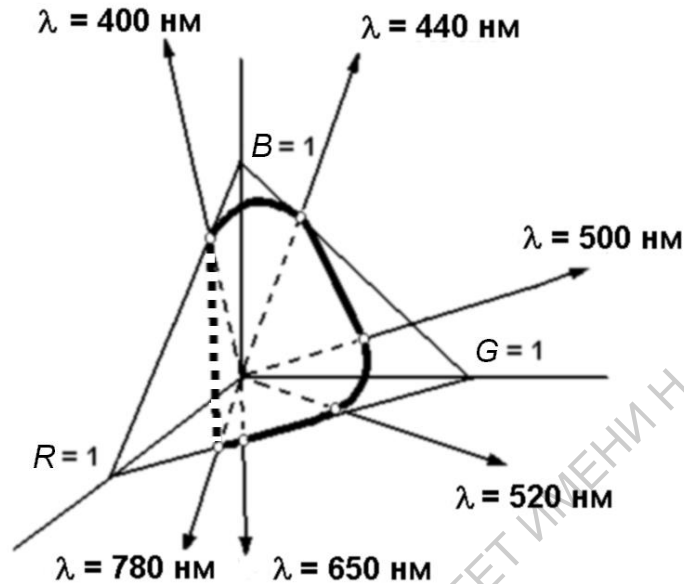


Рис. 5.3. Сечение цветового пространства плоскостью единичных цветов

Единичная плоскость пересекает координатные оси в точках $R = 1$, $G = 1$, $B = 1$. Если соединить эти точки прямыми линиями, то получим *цветовой треугольник* (рис. 5.4). Точка, соответствующая равностимульному белому цвету ($r = g = b = 1/3$), располагается внутри цветового треугольника и совпадает с его «центром тяжести». Эта точка соответствует единичному ахроматическому цвету.

Цветовой треугольник позволяет определить не только цветовые координаты отдельного цвета (на рис. 5.4 координаты цвета C равны соответственно $r = 0.2$, $g = 0.6$, $b = 0.2$) и его яркость [5-8], но и определять характеристики цвета, являющегося суперпозицией двух других.

Правило, согласно которому определяется положение точки, соответствующей смеси двух цветов с цветовыми модулями m_1 и m_2 , гласит: цвет смеси двух цветов лежит в цветовом треугольнике на прямой, соединяющей их, и разделяет эту прямую на отрезки, длины которых обратно пропорциональны модулям смешиваемых цветов (правило «центра тяжести»), то есть (рис. 5.5)

$$\frac{l_1}{l_2} = \frac{m_2}{m_1}. \quad (5.12)$$

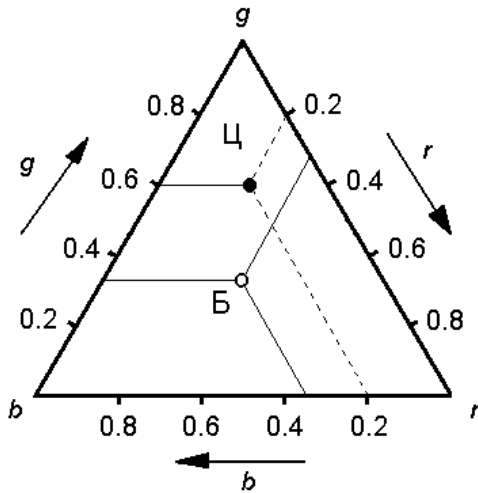


Рис. 5.4. Треугольник цветности

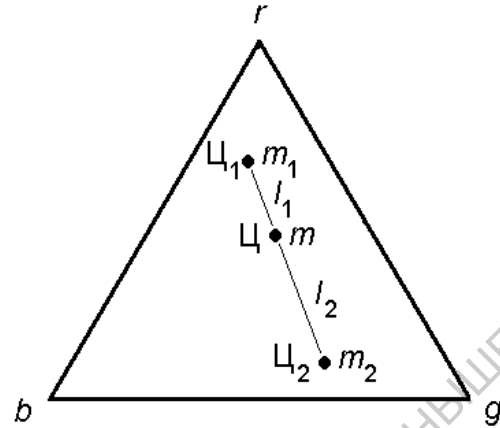


Рис. 5.5. Сложение цветов в треугольнике цветности

Из начала координат цветового пространства выходит множество векторов цвета, каждому из которых соответствует вполне определенная цветность. Каждый цвет в природе является результатом смешения белого цвета с монохроматическим. В связи с этим векторы всех *реальных* цветов расположены в пределах части цветового пространства, ограниченной конической поверхностью, образующими которой являются векторы цветов монохроматических излучений и чистых пурпурных цветов (смесь фиолетового с $\lambda = 380$ нм и красного с $\lambda = 780$ нм) (см. рис. 5.3).

Линия, являющаяся результатом пересечения единичной плоскости образующей конуса, носит название *спектрального локуса*, а ее проекция на координатную плоскость называется *диаграммой цветности* или *цветовым графиком*. На рис. 5.3 locus показан жирной линией, сплошная часть которой соответствует цветностям монохроматических излучений с длинами волн от 380 нм до 780 нм, а штриховая часть является геометрическим местом точек цветности чистых пурпурных цветов, являющихся результатом смешения в разных пропорциях спектрально чистого фиолетового с $\lambda = 380$ нм и красного с $\lambda = 780$ нм.

Цвета одинаковой яркости в цветовом пространстве представлены векторами одной длины, то есть концы соответствующих им цветовых векторов лежат на сферической поверхности, называемой *поверхностью постоянной яркости*.

Яркость цвета смеси основных цветов определяется уравнением (5.10), которое в системе координат $\hat{L}_R, \hat{L}_G, \hat{L}_B$ представляет собой совокупность плоскостей, соответствующих разным значениям яркости цвета $L_{Ц}$, в том числе и плоскость нулевой яркости. Эти плоскости носят название *плоскостей равной яркости*.

Так как в любой колориметрической системе единичные векторы \hat{L}_K , \hat{L}_3 , \hat{L}_C количественно различаются, то плоскости постоянной яркости не параллельны единичной плоскости. Пересечение единичной плоскости и плоскости нулевой яркости является линией, носящей название *алихны*. По определению, на алихне размещаются нереальные цвета нулевой яркости.

Диаграмма цветности

На практике выражения цветности в трехкоординатной системе нет необходимости, поскольку третья координата цветности является линейно зависимой. Поэтому громоздкую трехкоординатную систему заменяют двухмерной прямоугольной, при этом область реальных цветов в цветовом пространстве, ограниченная локусом, проецируется на одну из координатных плоскостей.

Такое проецирование поля реальных цветов на одну из координатных плоскостей сохраняет всю информацию о цветовых характеристиках излучения. На рис. 5.6 приведена проекция ограниченного локусом поля реальных цветов на одну из координатных плоскостей. Сетка прямоугольных координат с нанесенным на нее локусом, замкнутым прямой пурпурных цветов, называется *диаграммой цветности* или *цветовым графиком*.

Основные свойства диаграммы цветности кратко можно сформулировать следующим образом.

1. Белая точка имеет координаты $B(1/3; 1/3)$.
2. Локус является границей спектральных цветов.
3. На прямой, проходящей от белой точки до локуса, лежат цветности цветов постоянного цветового тона. На рис. 5.6 цвет C_1 имеет цветовой тон, соответствующий длине волны $\lambda = 550$ нм (доминирующая длина волны). Так как пурпурного цвета в спектре излучения тел нет, то для характеристики такого излучения вводится цветовой тон дополнительного к пурпурному цвету. На рис. 5.6 пурпурному цвету C_2 соответствует дополнительный цвет с тоном, соответствующим длине волны $\lambda = 510$ нм.
4. Насыщенность цветов возрастает от белой точки к локусу.
5. На прямой, соединяющей точки двух цветностей, находится точка их суммарного цвета, при этом расстояния от точки суммарного цвета до точек складываемых цветов обратно пропорциональны модулям последних (см. уравнение (5.12)).
6. Алихна остается линией нулевых яркостей.

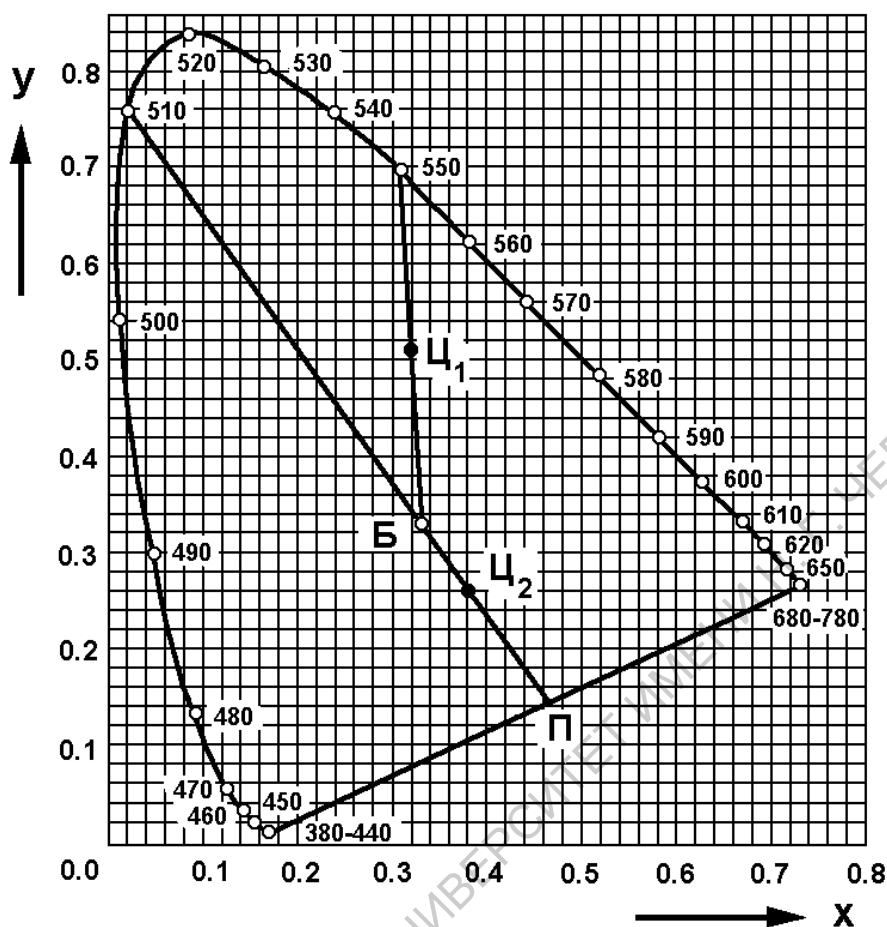


Рис. 5.6. Диаграмма цветности

Удельные координаты цвета спектральных цветов

Яркость цвета определяется уровнем возбуждения трех различных приемников, имеющих разную спектральную чувствительность: спектральная чувствительность среднего глаза носит нелинейный характер и имеет максимальное значение в средней части видимого диапазона.

На рис. 5.7 приведена *относительная спектральная световая эффективность излучения (видность)*, представляющая собой спектральную чувствительность $V(\lambda)$ среднего глаза, нормированную на ее максимальное значение.

Зависимость яркостного восприятия цвета излучения от длины волны излучения отражается путем введения понятия *удельных координат цвета* \bar{r} , \bar{g} , \bar{b} , численные значения которых удовлетворяют выражению:

$$V(\lambda) = \bar{r}(\lambda)\hat{L}_R + \bar{g}(\lambda)\hat{L}_G + \bar{b}(\lambda)\hat{L}_B. \quad (5.13)$$

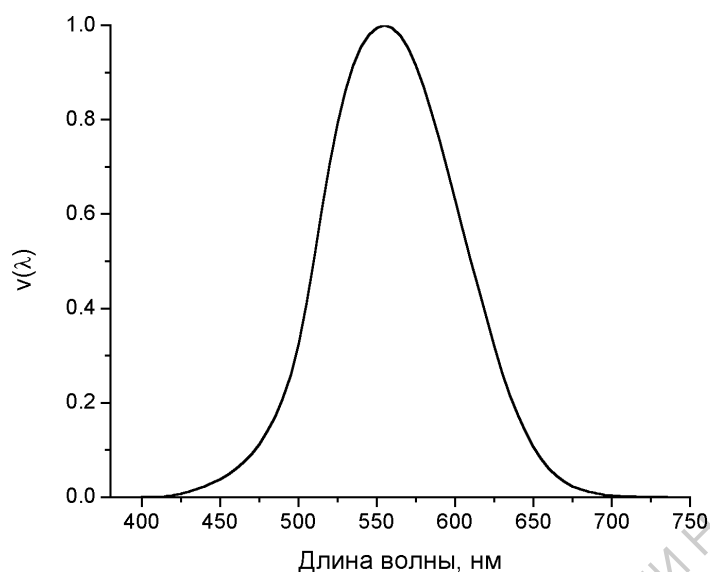


Рис. 5.7. Относительная спектральная световая эффективность $V(\lambda)$ среднего глаза

Удельные координаты цвета \bar{r} , \bar{g} , \bar{b} принципиально отличаются от координат r , g , b . Во-первых, в отличие от r , g , b , которые являются координатами цветности, введенные величины являются координатами цвета. Во-вторых, координаты \bar{r} , \bar{g} , \bar{b} называются удельными, так как они относятся к единице мощности, то есть они задают распределение цветовых координат по спектру монохроматических излучений, имеющих мощность, равную 1 Вт (графики соответствующих функций называют *кривыми сложения*).

Очевидно, что удельные координаты цвета должны удовлетворять уравнению, аналогичному (5.6):

$$\hat{C}(\lambda) = \bar{r}(\lambda)\hat{R} + \bar{g}(\lambda)\hat{G} + \bar{b}(\lambda)\hat{B}, \quad (5.14)$$

где в левой части цвет $\hat{C}(\lambda)$ имеет определенное значение мощности, равное 1 Вт.

Если единичное количество спектрального цвета $\hat{C}(\lambda)$ создано излучением мощностью $P(\lambda)$, то из (5.6) можно получить выражение для количества цвета, созданного излучением мощностью 1 Вт:

$$\bar{C}(\lambda) = \frac{\hat{C}(\lambda)}{P(\lambda)} = \frac{r}{P(\lambda)}\hat{R} + \frac{g}{P(\lambda)}\hat{G} + \frac{b}{P(\lambda)}\hat{B}. \quad (5.15)$$

Из сравнения (5.14) и (5.15) получаем выражения, связывающие удельные координаты цвета с координатами цветности:

$$\bar{r}(\lambda) = \frac{r}{P(\lambda)}, \quad \bar{g}(\lambda) = \frac{g}{P(\lambda)}, \quad \bar{b}(\lambda) = \frac{b}{P(\lambda)}. \quad (5.16)$$

Выражения (5.16) позволяют найти координаты цветности r , g , b и координаты цвета R , G , B излучения с известным спектральным распределением мощности $P(\lambda)$:

$$r = \bar{r}(\lambda)P(\lambda), \quad g = \bar{g}(\lambda)P(\lambda), \quad b = \bar{b}(\lambda)P(\lambda), \quad (5.17)$$

$$R = \int \bar{r}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad G = \int \bar{g}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad B = \int \bar{b}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad (5.18)$$

где интегрирование производится в пределах всего видимого спектра ($\lambda_{\min} = 380$ нм, $\lambda_{\max} = 780$ нм).

Если речь идет о цветах тел, не испускающих свет, а отражающих его, то под знаки интегралов в уравнениях (5.18) необходимо ввести значения монохроматических коэффициентов отражения поверхности, цвет которой оценивается:

$$\begin{aligned} R &= \int \bar{r}(\lambda)P_0(\lambda)R(\lambda)d\lambda; \\ G &= \int \bar{g}(\lambda)P_0(\lambda)R(\lambda)d\lambda; \\ B &= \int \bar{b}(\lambda)P_0(\lambda)R(\lambda)d\lambda, \end{aligned} \quad (5.19)$$

где $P_0(\lambda)$ – спектр излучения белого света, падающего на поверхность; $R(\lambda)$ – спектр отражения поверхности.

Для расчета цвета излучения, прошедшего через среду с известным спектральным распределением ее пропускания $T(\lambda)$, пользуются аналогичными формулами, в которых спектральное распределение коэффициента отражения заменяют на спектр пропускания среды:

$$\begin{aligned} R &= \int \bar{r}(\lambda)P_0(\lambda)T(\lambda)d\lambda; \\ G &= \int \bar{g}(\lambda)P_0(\lambda)T(\lambda)d\lambda; \\ B &= \int \bar{b}(\lambda)P_0(\lambda)T(\lambda)d\lambda. \end{aligned} \quad (5.20)$$

Практические колориметрические системы

В основе любой колориметрической системы в соответствии с первым законом Грасмана находятся три линейно независимых цвета, называемых *триадой*. Этому требования отвечают излучения красного, зеленого и синего цветов. Формально в качестве основных цветов можно взять любые из перечисленных выше диапазонов спектра. Однако число триад, используемых для создания практически используемых колориметрических систем, ограничено. Это связано с тем, что колориметрия предъявляет к основным цветам не только требование их линейной независимости, но и другие, в частности, возможность легкого и точного их воспроизведения и возможность большей насыщенности воспроизводимых триадой цветов.

Стандартная трихроматическая система основных цветов RGB МКО – 1931 г.

В данной системе в качестве основных цветов взяты спектральные цвета **R**, **G**, **B** с длинами волн соответственно $\lambda_R = 700$ нм; $\lambda_G = 546,1$ нм; $\lambda_B = 435,8$ нм.

Единичное цветовое уравнение в соответствии с (5.6) имеет вид

$$\hat{C} = r\hat{R} + g\hat{G} + b\hat{B}, \quad (5.21)$$

где

$$r + g + b = 1.$$

В качестве единичных количеств основных цветов **R**, **G**, **B** выбраны такие их количества, смесь которых согласуется с равностимульным цветом, в качестве которого взят равноэнергетический белый цвет **E**, то есть такой белый цвет, у которого все спектральные составляющие имеют одинаковую мощность излучения.

Для такого цвета $R = G = B = 1T$, то есть

$$E = m\hat{E} = 1\hat{R} + 1\hat{G} + 1\hat{B}. \quad (5.22)$$

Координаты цветности такого цвета равны

$$r = g = b = 1/3 = 0,333. \quad (5.23)$$

Опыт показывает, что если взять одну произвольную единицу красного излучения **R**, то для получения белого цвета его нужно смешать с 4,5907 таких же единиц зеленого **G** и 0,0601 единиц синего **B**, то есть со-

гласование по яркости основных цветов с белым цветом требует, чтобы яркости единичных количеств основных цветов соотносились как

$$\hat{L}_R : \hat{L}_G : \hat{L}_B = 1 : 4,5907 : 0,0601. \quad (5.24)$$

В таком же отношении соотносятся между собой и световые потоки единичных количеств основных цветов. Тогда за единичные количества основных цветов R , G , B можно принять их количества, создаваемые световыми потоками

$$\begin{aligned} F_R &= 1 \text{ световВт}^* = 683 \text{ лм}; \\ F_G &= 4,5907 \text{ световВт} = 3135 \text{ лм}; \\ F_B &= 0,0601 \text{ световВт} = 41 \text{ лм}. \end{aligned} \quad (5.25)$$

Соотношения (5.25) позволяют определить значения мощности излучений на длинах волн $\lambda = 700$ нм, $\lambda = 546,1$ нм и $\lambda = 435,8$ нм, дающих при сложении белый цвет:

$$\begin{aligned} P_R &= \frac{F_R}{V_R} = 243,9 \text{ Вт}; \\ P_G &= \frac{F_G}{V_G} = 4,663 \text{ Вт}; \\ P_B &= \frac{F_B}{V_B} = 3,384 \text{ Вт}, \end{aligned} \quad (5.26)$$

где $V_R = 0,00410$; $V_G = 0,98433$; $V_B = 0,01777$ (см. рис. 5.6).

На рис. 5.8 приведены кривые сложения $\bar{r}(\lambda)$, $\bar{g}(\lambda)$, $\bar{b}(\lambda)$ для системы RGB МКО – 1931 г.

Эти кривые обладают следующими свойствами: 1) площади под кривыми одинаковы; 2) значения удельных координат $\bar{r}(\lambda)$, $\bar{g}(\lambda)$ и $\bar{b}(\lambda)$ удовлетворяют уравнению

$$V(\lambda) = \bar{r}(\lambda)\hat{L}_R + \bar{g}(\lambda)\hat{L}_G + \bar{b}(\lambda)\hat{L}_B, \quad (5.27)$$

где $\hat{L}_R = 1$, $\hat{L}_G = 4,5907$, $\hat{L}_B = 0,0601$.

* В колориметрии световой поток на длине волны λ измеряют в световаттах, то есть в ваттах, умноженных на значение видности $V(\lambda)$ на этой длине волны.

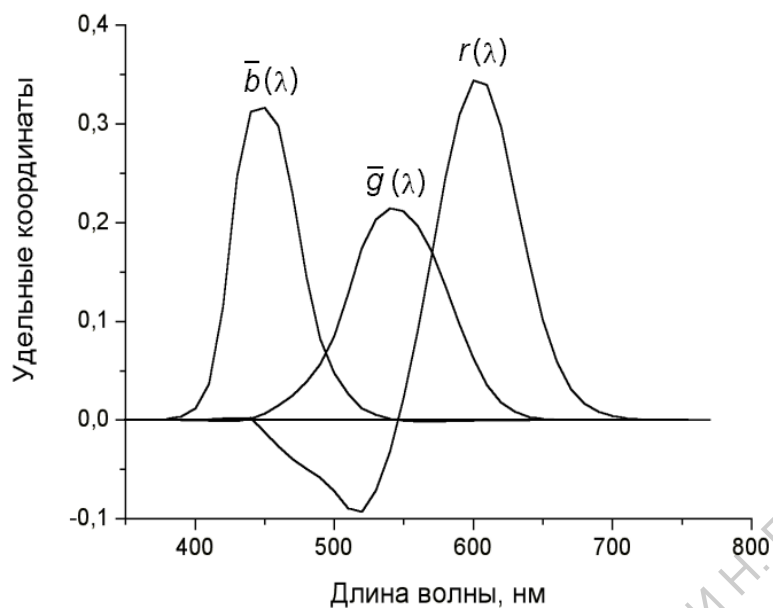


Рис. 5.8. Кривые смешения стандартной системы RGB МКО – 1931 г.

Система RGB МКО – 1931 г. имеет ряд недостатков, в частности, отрицательные значения координат цветности и удельных координат затрудняют расчеты цветов сложных излучений, а сами кривые сложения признаны недостаточно точными, особенно в области синих цветов. Поэтому в современной колориметрии данная система практически не используется.

Стандартная трихроматическая система основных цветов XYZ МКО – 1931 г.

Стандартная система XYZ МКО – 1931 г. является производной от системы RGB. Она лишена недостатков, присущих системе RGB. Это обусловлено тем, что основные цвета X , Y , Z не являются реальными цветами, а представляют собой математическую абстракцию, удобную для расчетов.

Выбор основных цветов X , Y , Z обеспечивает основные свойства системы.

1. Спектральный локус находится внутри треугольника цвета XYZ, поэтому в отличие от системы RGB любой спектральный цвет в системе XYZ может быть представлен смесью положительных количеств основных цветов (координаты цветности и удельные координаты положительны для всех спектральных цветов).

Любой цвет C может быть количественно представлен как результат смешения трех цветов X , Y и Z :

$$\mathbf{C} = m\hat{\mathbf{C}} = X\hat{\mathbf{X}} + Y\hat{\mathbf{Y}} + Z\hat{\mathbf{Z}}, \quad (5.28)$$

где $\hat{\mathbf{C}}, \hat{\mathbf{X}}, \hat{\mathbf{Y}}, \hat{\mathbf{Z}}$ – единичные количества основных цветов; X, Y, Z – координаты цвета \mathbf{C} .

Цветовой модуль m цвета \mathbf{C} определяется аналогично выражению (5.4):

$$m = X + Y + Z. \quad (5.29)$$

Единичное уравнение цветности имеет вид

$$\hat{\mathbf{C}} = x\hat{\mathbf{X}} + y\hat{\mathbf{Y}} + z\hat{\mathbf{Z}}, \quad (5.30)$$

где координаты цветности цвета \mathbf{C} в системе XYZ равны:

$$x = \frac{X}{m}, \quad y = \frac{Y}{m}, \quad z = \frac{Z}{m}, \quad (5.31)$$

причем

$$x + y + z = 1. \quad (5.32)$$

По аналогии с (5.18) координаты цвета X, Y, Z излучения с известным спектральным распределением мощности $P(\lambda)$ определяются согласно выражениям:

$$X = \int \bar{x}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad Y = \int \bar{y}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad Z = \int \bar{z}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad (5.33)$$

где $\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$ – удельные координаты цвета. Кривые сложения приведены на рис. 5.9.

2. Основные цвета \mathbf{X} и \mathbf{Z} лежат на алиане, то есть они имеют цветности, но их яркость равна нулю:

$$\hat{L}_X = \hat{L}_Z = 0. \quad (5.34)$$

Тогда уравнения (5.10) и (5.11) приобретают вид

$$L_C = Y\hat{L}_Y, \quad (5.35)$$

$$\hat{L}_C = y\hat{L}_Y, \quad (5.36)$$

где \hat{L}_Y – яркость, созданная световым потоком

$$F_Y = Y = 1 \text{ световт} = 683 \text{ лм}. \quad (5.37)$$

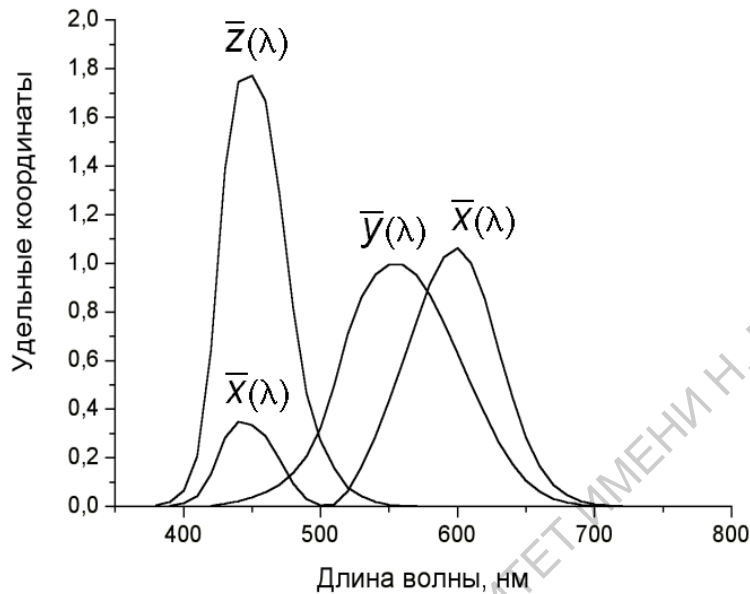


Рис. 5.9. Кривые смешения стандартной системы XYZ МКО – 1931 г.

Таким образом, яркость в системе XYZ определяется не модулем цвета, как в системе RGB, а только одной координатой Y . При согласовании с данным цветом \mathbf{C} основной цвет Y обладает всем световым потоком F , содержащимся в цвете \mathbf{C} и равным в световаттах координате Y цвета \mathbf{C} .

3. По аналогии с (5.13) имеем

$$V(\lambda) = \bar{x}(\lambda)\hat{L}_X + \bar{y}(\lambda)\hat{L}_Y + \bar{z}(\lambda)\hat{L}_Z, \quad (5.38)$$

откуда с учетом (5.34) получим:

$$V(\lambda) = \bar{y}(\lambda). \quad (5.39)$$

Таким образом, кривая спектральной зависимости удельной координаты $\bar{y}(\lambda)$ равна кривой стандартной относительной видимости $V(\lambda)$ во всем видимом спектральном диапазоне. Тогда световой поток мощностью $P(\lambda)$ имеет цвет \mathbf{C} , координата Y которого представляет собой световой поток в световаттах:

$$Y = \int V(\lambda)P(\lambda)d\lambda. \quad (5.40)$$

При определении единичного количества основного цвета Y следует выбирать величину $P(\lambda)$ в (5.39) так, чтобы выполнялось условие (5.37).

4. В качестве равностимульного цвета выбран равноэнергетический белый цвет E . Для такого цвета

$$X = Y = Z = (1/3)T, \quad (5.41)$$

$$x = y = z = 1/3 = 0,333. \quad (5.42)$$

5. Условие (5.41) с учетом (5.33) означает, что площади под кривыми сложения $\bar{x}(\lambda)$, $\bar{y}(\lambda)$, $\bar{z}(\lambda)$ равны между собой.

6. Диаграмма цветности для системы XYZ приведена на рис. 5.6.

Равноконтрастные колориметрические системы

Диаграммы цветности в рассмотренных выше колориметрических системах дают достаточно полное представление о цвете излучения: положение точки на диаграмме позволяет определить его координаты цветности, яркость единичного цвета, цветовой тон и насыщенность цвета.

Не менее важной задачей колориметрии является задача определения степени различия между цветами. В качестве меры цветовых различий вводятся понятия порогов различения цветов по яркости и цветности (насыщенности и цветовому тону). По мере увеличения числа цветовых порогов между двумя цветностями увеличивается *цветовой контраст* между этими цветностями. С другой стороны, переход от одной цветности к другой сопровождается изменением яркости. Таким образом, на поле цветовой диаграммы яркость, цветовой тон и насыщенность изменяются одновременно: яркость изменяется по вертикали, насыщенность уменьшается по мере приближения к точке белого цвета, цветовой тон изменяется по локусу. Пороги различения, определенные при изменении всех трех характеристик, называются *цветовыми порогоми* или *порогами цветоразличения*.

Очевидно, что полное число порогов между двумя цветами, являющееся количественной характеристикой различия между двумя цветами, можно определить следующим образом:

$$n = \sqrt{(\Delta C)^2 + a(\Delta L)^2}, \quad (5.43)$$

где ΔC и ΔL – различие (число порогов) по цветности и по яркости соответственно; a – коэффициент пропорциональности.

Приведенные выше колориметрические системы RGB МКО – 1931 г. и XYZ МКО – 1931 г. оказываются непригодными к количественной оценке различия между двумя цветами. Это связано с тем, что:

- 1) на диаграммах цветности данных колориметрических систем точки цветов, минимально отличимых от данного цвета, расположены по эллипсу (называемому пороговым эллипсом);
- 2) размеры эллипса зависят от положения исходной точки на графике: в нижней («сине-фиолетовой») части две близко расположенные точки выражают цвета, сравнительно сильно различающиеся зрительно, в то время как в верхней («зеленой») области даже минимально ощутимое изменение цветности выражается довольно далеко отстоящими друг от друга точками;
- 3) соотношения осей эллипсов и их направление также зависят от положения исходной точки на графике: в верхней части графика порог сильно возрастает с изменением координаты y , а в нижней части – координаты x .

В результате цветовой порог зависит как от положения опорной точки, так и от направления, по которому изменяется цветность. Это приводит к тому, что количественная оценка различия между двумя цветами путем определения числа порогов цветоразличения при движении от одного цвета к другому на диаграммах цветности рассматриваемых систем оказывается трудновыполнимой.

Для устранения указанных выше недостатков были созданы такие диаграммы цветности, в которых цветовые пороги (при неизменной яркости) во всех направлениях выражаются прямыми отрезками одинаковой длины независимо от их места на диаграмме. Такие диаграммы получили название *равноконтрастных диаграмм цветности* (в зарубежной литературе – Uniform Chromaticity Scale (UCS)).

Метод построения таких диаграмм основан на выборе такого расположения единичной плоскости в системе новых основных цветов, чтобы все эллипсы на старой диаграмме цветности спроецировались на нее в окружности одинакового диаметра (проективное преобразование). Имеющиеся в настоящее время равноконтрастные колориметрические системы различаются выбором проективного преобразования.

Равноконтрастная система UVW МКО – 1960 г.

Соотношение между координатами цвета в системе XYZ и координатами цвета в системе UVW определяется следующими выражениями:

$$U = \frac{2}{3} X;$$

$$V=Y; \quad (5.44)$$

$$W=1,5Y-0,5X+0,5Z.$$

Выражения для координат цветности системы имеют вид

$$u = \frac{4x}{-2x+12y+3};$$

$$v = \frac{6y}{-2x+12y+3}.$$
(5.45)

Расстояние между двумя точками на цветовой диаграмме uv равно

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta u)^2 + (\Delta v)^2}, \quad (5.46)$$

где $\Delta u = u_2 - u_1$, $\Delta v = v_2 - v_1$; (u_1, v_1) и (u_2, v_2) – координаты точек, соответствующих двум сравниваемым цветам. Число цветовых порогов определяют как

$$n = \frac{\Delta E}{0,00038}, \quad (5.47)$$

где ΔE измеряется в единицах, в которых даны координаты u и v .

Недостатком системы UVW является отсутствие в определении числа порогов яркости цветов, то есть данная система является двумерной. Ее можно расширить до трехмерной, взяв в качестве характеристики яркости цвета координату Y системы XYZ МКО – 1931 г.

*Равноконтрастная система $U^*V^*W^*$ МКО – 1964 г.*

Главная особенность данной системы состоит во введении равноконтрастного цветового пространства. В этом пространстве координатами цвета являются:

$$U^* = 13W^*(u - u_0);$$

$$V^* = 13W^*(v - v_0);$$

$$W^* = 25Y^{\frac{1}{3}} - 17,$$
(5.48)

где U^* , V^* – показатели хроматичности (индексы цветности); W^* – светлота (индекс яркости); Y – координата в системе XYZ ($1 \leq Y \leq 100$), являю-

щаяся характеристикой яркости; u и v – координаты цветности в системе $U^*V^*W^*$ МКО – 1964 г.; u_0 и v_0 – координаты цветности опорного белого цвета.

Входящие в выражения (5.48) координаты цветности определяются согласно выражениям:

$$u = \frac{4X}{X+15Y+3Z}; \quad v = \frac{6Y}{X+15Y+3Z}; \quad (5.49)$$

$$u_0 = \frac{4X_0}{X_0+15Y_0+3Z_0}; \quad v_0 = \frac{6Y_0}{X_0+15Y_0+3Z_0}, \quad (5.50)$$

где X_0, Y_0, Z_0 – координаты опорного белого цвета, в качестве которого берется белый цвет D_{65}^* , причем $Y_0 = 100$.

В этой системе расстояние между цветами в цветовом пространстве

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta U^*)^2 + (\Delta V^*)^2 + (\Delta W^*)^2}, \quad (5.51)$$

где $\Delta U^*, \Delta V^*$ и ΔW^* – разности соответствующих координат двух сравниваемых цветов. Число цветовых порогов находят, умножив полученную величину ΔE на 3.

*Равноконтрастная система $L^*u^*v^*$ МКО – 1973 г.*

В этой системе координаты цвета определяются следующим образом:

$$L^* = 25 \left(\frac{100}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - 16; \quad 1 \leq Y_0 \leq 100;$$

$$u^* = 13L^*(u - u_0); \quad (5.52)$$

$$v^* = 13L^*(v - v_0),$$

а координаты цветности рассчитываются согласно выражениям:

$$u = \frac{4X}{X+15Y+3Z}; \quad v = \frac{9Y}{X+15Y+3Z}; \quad (5.53)$$

* Источник D_{65} имеет цветовую температуру равную 6500 К. Координаты D_{65} (0,313; 0,329).

$$u_0 = \frac{4X_0}{X_0 + 15Y_0 + 3Z_0}; \quad v_0 = \frac{9Y_0}{X_0 + 15Y_0 + 3Z_0},$$

где X_0, Y_0, Z_0 – координаты опорного белого цвета, в качестве которого берется белый цвет D_{65} .

Цветовое различие между цветами в данном цветовом пространстве определяется следующим образом:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta u^*)^2 + (\Delta v^*)^2}, \quad (5.54)$$

где $\Delta L^*, \Delta u^*$ и Δv^* – разности соответствующих координат двух сравниваемых цветов.

*Равноконтрастная система $L^*a^*b^*$ МКО – 1976 г.*

В этой системе цвет представляется в виде вектора в пространстве, где параметры L^*, a^* и b^* образуют декартову систему координат (рис. 5.10):

$$\begin{aligned} L^* &= 116 \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - 16; \\ a^* &= 500 \left[\left(\frac{X}{X_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right]; \\ b^* &= 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right]. \end{aligned} \quad (5.55)$$

Здесь X_0, Y_0, Z_0 – координаты цвета стандартного источника S^1 (по классификации МКО). Соотношения (5.55) применимы при $X/X_0 > 0.008856, Y/Y_0 > 0.008856, Z/Z_0 > 0.008856$.

Параметр L^* определяет равноконтрастную шкалу светлоты ("психометрическую светлоту", относительную яркость, "градацию серого"). Параметры a^* и b^* являются координатами цветности (a^* меняется от зеленого цвета к красному, b^* – от синего к желтому). Они определяют основной цвет (*hue*) и его насыщенность (*chroma*):

¹ Координаты цветности источника С (0,310; 0,316).

$$\text{Hue} = \arctg \left[\frac{b^*}{a^*} \right],$$

(5.56)

$$\text{Chroma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}.$$

Цветовое различие ΔE^* в системе $L^*a^*b^*$ МКО – 1976 г. определяется как геометрическое расстояние между сравниваемыми цветами $((L, a, b)_i$ и $(L, a, b)_j$) в пространстве $(L^*a^*b^*)$:

$$\Delta E_{ij}^* = \sqrt{(\Delta L_{ij}^*)^2 + (\Delta a_{ij}^*)^2 + (\Delta b_{ij}^*)^2},$$

(5.57)

где $\Delta L_{ij}^* = L_i^* - L_j^*$, $\Delta a_{ij}^* = a_i^* - a_j^*$ и $\Delta b_{ij}^* = b_i^* - b_j^*$.

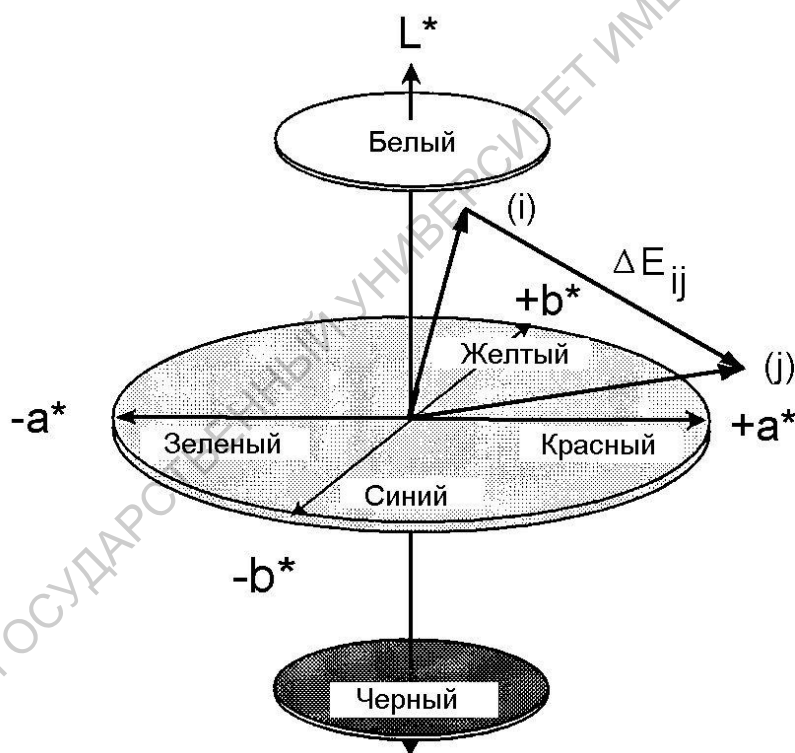


Рис. 5.10. Цветовое пространство $L^*a^*b^*$

Цвет отраженного кожей белого света

Воспринимаемый цвет кожи при освещении ее белым светом определяется спектральным составом обратно рассеянного кожей ткани излучения, который, в свою очередь, определяется концентрацией и простран-

ственным распределением содержащихся в эпидермисе и дерме рассеивателей и хромофоров [1, 2].

Отраженный на границе раздела воздух/роговой слой свет, интенсивность которого составляет около 5% интенсивности падающего на кожу излучения, имеет спектральные характеристики источника освещения, так как отражение происходит до того, как свет проникает внутрь кожи.

Роговой слой представляет собой тонкий (порядка 20 мкм) слой омертвевших кератиноцитов, содержащий меланиновую пыль (диаметром менее 0.1 мкм). Иначе говоря, он похож на прозрачную пластиковую обертку для светлой кожи и имеет слегка желтоватый оттенок для темной кожи.

Основным хромофором эпидермиса в видимом диапазоне спектра является меланин в различных стадиях своей полимеризации. Пространственное распределение меланоцитов зависит от диапазона УФ излучения, которое стимулировало их образование: УФА излучение увеличивает образование меланосом в кератиноцитах и меланоцитах в базальной мембране, тогда как УФВ излучение способствует образованию меланосом во всем объеме эпидермиса. Цвет этих пигментов в видимом диапазоне спектра несколько различен: УФВ пигмент более коричневый, а УФА - более серый.

Таким образом, цвет нормальной кожи существенно зависит от содержания эпидермального меланина. Привлекая для объяснения цвета кожи только меланиновую пигментацию, можно понять вариации цвета кожи от слабого желтого до темного черного. В эпидермисе происходит рассеяние света в видимом диапазоне, но хотя эпидермис значительно толще рогового слоя и в нем содержится больше рассеивателей, оно мало влияет на цветовое восприятие кожи.

Дерма является сильно рассеивающим компонентом кожи, содержащим несколько достаточно сильных хромофоров, существенно влияющих на цвет кожи. Рассеивающие свойства дермы в видимом диапазоне спектра определяются коллагеновыми волокнами: бескровная дерма *ex vivo* на вид белая.

Основным хромофором дермы нормальной кожи человека является гемоглобин, имеющий независимо от формы отчетливый максимум поглощения в видимой области спектра. Гемоглобин имеет неоднородное распределение по объему дермы, проявляясь в больших концентрациях только в определенных объемах дермы (кровеносных сосудах). Наблюдаемый красноватый оттенок кожи обусловлен поглощением прошедшего в дерму света гемоглобином в капиллярах верхнего поверхностного артериального и венозного сплетения.

Нормальные капиллярные сосуды обеспечивают перемещение эритроцитов в коже, и чем больше тканям требуется кислорода, тем больше сосудов вовлекаются в перенос эритроцитов, что проявляется в большем по-

краснении кожи – эритеме кожи. Эритема является результатом увеличения потока крови через каждый капилляр.

Поверхностное венозное и артериальное сплетение кровеносных сосудов обычно не проявляется в нормальной коже человека. Восприятие венозных сосудов, лежащих выше к поверхности кожи, можно обеспечить наложением стягивающего жгута. Крупные вены видны через кожу и имеют темно голубую окраску.

Цвет автофлуоресценции кожи

Цветовой анализ может быть расширен на восприятие цвета АФ кожи. Флуоресценция кожи, возбужденная УФА излучением, происходит в видимом диапазоне спектра, что дает основание проводить не только количественную оценку цвета АФ кожи разного типа, но и изменение цвета в результате изменения ее состояния как в результате внешнего воздействия (УФ-облучение, механическая компрессия), так и в результате патологий (псориаз и т.д.) [1, 2].

Методика расчета цветовых характеристик отраженного кожей белого света и АФ кожи

В современной колориметрии расчет цветовых характеристик излучения производится на основе колориметрической системы XYZ МКО – 1931 г. В этой системе цвет диффузно отраженного кожей белого света, имеющего спектральное распределение $R_d(\lambda)$, рассчитывается следующим образом.

Сначала рассчитываются три координаты цвета согласно приведенным ниже соотношениям, аналогичным уравнениям (5.19):

$$\begin{aligned}
 X &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} R_d(\lambda_i) \bar{x}(\lambda_i) I_c(\lambda_i) \Delta\lambda ; \\
 Y &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} R_d(\lambda_i) \bar{y}(\lambda_i) I_c(\lambda_i) \Delta\lambda ; \\
 Z &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} R_d(\lambda_i) \bar{z}(\lambda_i) I_c(\lambda_i) \Delta\lambda ,
 \end{aligned}
 \tag{5.58}$$

где $\bar{x}(\lambda_i)$, $\bar{y}(\lambda_i)$, $\bar{z}(\lambda_i)$ – удельные координаты цвета монохроматического излучения на длине волны λ_i , средней в интервале $\Delta\lambda$ ($\Delta\lambda = 5 \text{ нм}$); $I_c(\lambda_i)$ –

интенсивность источника белого цвета C на длине волны λ_i . Спектральная зависимость произведений $\bar{x}(\lambda_i)/I_C(\lambda_i)$, $\bar{y}(\lambda_i)/I_C(\lambda_i)$, $\bar{z}(\lambda_i)/I_C(\lambda_i)$ приведена в Прил. 5.1.

Координата цвета Y определяет яркость цвета (в процентном отношении к яркости цвета белого света, диффузно отраженного от стандартного отражающего объекта (типа $BaSO_4$), принятой за 100%).

Цветовые координаты X, Y, Z определяют две координаты цветности:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z},$$

$$y = \frac{Y}{X+Y+Z}.$$
(5.59)

Координаты цветности x, y позволяют определить цветность отраженного кожей белого света в виде точки на диаграмме цветности (x, y) , приведенной на рис. 5.6, а координата цвета Y – яркость цвета отраженного кожей света.

Количественная оценка цветовых различий двух участков кожи или изменения цвета кожи в результате тех или иных воздействий возможна с привлечением равноконтрастной системы $L^*a^*b^*$ МКО – 1976 г. Выбор этой системы обусловлен широким использованием в дерматологии колориметра типа Minolta Chroma Meter, в котором используется данная система.

В системе $L^*a^*b^*$ МКО – 1976 г. цвет представляется в виде вектора в пространстве, где параметры L^* , a^* и b^* , образующие декартову систему координат, определяются согласно соотношениям (5.55):

$$L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - 16 ;$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right];$$

$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right].$$
(5.60)

Здесь X_0, Y_0, Z_0 – координаты цвета стандартного источника S^1 (по классификации МКО), определяемые следующим образом:

$$\begin{aligned} X_0 &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} \bar{x}(\lambda_i) I_c(\lambda_i) \Delta\lambda; \\ Y_0 &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} \bar{y}(\lambda_i) I_c(\lambda_i) \Delta\lambda; \\ Z_0 &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} \bar{z}(\lambda_i) I_c(\lambda_i) \Delta\lambda. \end{aligned} \quad (5.61)$$

Эти величины являются табличными и равны: $X_0 = 490,342$; $Y_0 = 500$; $Z_0 = 591,098$.

Параметр L^* определяет яркость. Параметры a^* и b^* являются координатами цветности. Они определяют основной цвет (*hue*) и его насыщенность (*chroma*):

$$\text{Hue} = \arctg \left[\frac{b^*}{a^*} \right], \quad (5.62)$$

$$\text{Chroma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}.$$

Цветовое различие ΔE^* определяется по формуле (5.57):

$$\Delta E_{ij}^* = \sqrt{(\Delta L_{ij}^*)^2 + (\Delta a_{ij}^*)^2 + (\Delta b_{ij}^*)^2}. \quad (5.63)$$

Цвет АФ кожи и цветовое различие АФ кожи, обусловленное происходящими в ней процессами, определяется по приведенной выше схеме.

Координаты цвета АФ определяются согласно соотношениям:

$$\begin{aligned} X &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} I_{FL}(\lambda_i) \bar{x}(\lambda_i) \Delta\lambda; \\ Y &= \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} I_{FL}(\lambda_i) \bar{y}(\lambda_i) \Delta\lambda; \end{aligned} \quad (5.64)$$

¹ Координаты цветности источника S (0,310; 0,316).

$$Z = \sum_{380 \text{ нм}}^{780 \text{ нм}} I_{\text{FL}}(\lambda_i) \bar{z}(\lambda_i) \Delta\lambda,$$

где $I_{\text{FL}}(\lambda)$ – спектр АФ кожи.

Соотношения (5.59) позволяют определить координаты цветности АФ на цветовой диаграмме (x, y) , а соотношения (5.60)-(5.63) – провести количественный анализ изменения цвета флуоресценции.

Ретинальная теория психологического восприятия цвета

Одна из точек зрения, объясняющая голубой цвет расположенных в глубине биотканей вен, основывается на субъективных эффектах, возникающих при восприятии цвета человеком.

Приведенные выше колориметрические системы, позволяющие проводить как качественное, так и количественное описание цвета, основаны на рассмотрении объективных характеристик цвета, непосредственно связанных со спектральным составом исследуемого излучения.

С другой стороны, восприятие цвета человеком субъективно, так как психологические характеристики цвета оцениваются по зрительному ощущению светового потока, проникающего в глаз. Цветовые ощущения зависят как от физических свойств излучения, так и от физиологических свойств зрительного аппарата, прежде всего от спектрального распределения чувствительности $k\lambda$ -рецепторов. Более того, зрительное ощущение цвета определяется электрическими сигналами, направляемыми в мозг человека после раздражения цветочувствительных рецепторов.

Психологическое ощущение цвета сильно зависит от условий наблюдений и состояния наблюдателя.

Ощущение яркости цвета L характеризуется понятием *светлоты цвета* W , которая является чисто психологическим параметром цвета и которая связана с яркостью цвета (объективной характеристикой цвета) соотношением, выражающим закон Вебера-Фехнера:

$$W = k \lg L, \quad (5.65)$$

где k – коэффициент пропорциональности.

Ощущение цветности объекта зависит от цветовых характеристик рядом расположенных объектов или от цветовых характеристик фона, на котором располагается исследуемый объект. Например, две полосы синего цвета, расположенные на красном или зеленом фоне, воспринимаются как полосы разного цвета – цвет каждой из них сдвигается в сторону цвета, дополнительного к цвету фона. Это явление называют *одновременным*

цветовым контрастом в отличие от последовательного цветового контраста – явления, при котором цвет объекта зависит от цвета другого объекта, который рассматривался прежде.

Закономерности психологического ощущения цвета, возникающие при субъективном восприятии цвета на фоне других цветов, являются основной так называемой *ретиальной теорией* [9, 10].

В основу теории положены три положения:

1. Состав света с элементарной площадки объекта не определяет цвет этой площадки.
2. Цвет элементарной площадки определяется тройкой чисел \bar{R}^Λ ($\Lambda \equiv R, G, B$), каждое из которых рассчитывается в определенной спектральной полосе и позволяет дать количественное соотношение между цветовыми характеристиками этой единичной площадки и остальными участками объекта в этой спектральной полосе.
3. Тройка чисел \bar{R}^Λ определяет точку в трехмерном ретиальном пространстве, являющуюся цветом элементарной площадки.

Иными словами, для определения цвета части объекта недостаточно информации о спектральном составе излучения от этой части, необходимо еще привлечь к рассмотрению излучение с других частей объекта.

Математически алгоритм расчета цвета, положенный в основу ретиальной теории, можно представить в следующем виде

$$R^\Lambda(i, j) = \sum_k \delta \lg \left(\frac{I_{k+1}^\Lambda}{I_k^\Lambda} \right), \quad (5.66)$$

$$\delta \lg \left(\frac{I_{k+1}^\Lambda}{I_k^\Lambda} \right) = \lg \left(\frac{I_{k+1}^\Lambda}{I_k^\Lambda} \right), \quad \left| \lg \left(\frac{I_{k+1}^\Lambda}{I_k^\Lambda} \right) \right| \geq \varepsilon, \quad (5.67)$$

$$\delta \lg \left(\frac{I_{k+1}^\Lambda}{I_k^\Lambda} \right) = 0, \quad \left| \lg \left(\frac{I_{k+1}^\Lambda}{I_k^\Lambda} \right) \right| \leq \varepsilon.$$

В уравнении (5.66) I_k^Λ обозначают интенсивности излучения с площадки k , а суммирование выполняется по различным площадкам вдоль произвольного направления от площадки j фона к рассматриваемой площадке i , чей цвет определяется (см. рис. 5.11а). Λ представляет три основные спектральные полосы – красную (R), зеленую (G) и синюю (B) – видимого диапазона спектра. Эти спектральные полосы соответствуют спектральной чувствительности *кзс*-рецепторов глаза.

В уравнении (5.67) ε является малой величиной, которая представляет порог, обеспечивающий независимость вычислений от непрерывного пространственного изменения яркости фона.

Уравнение (5.66) позволяет рассчитать величину

$$\bar{R}^{\wedge}(i) = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N R^{\wedge}(i, j), \quad (5.68)$$

где суммирование производится по большому числу N площадок фона, хаотически распределенных в поле зрения (см. рис. 5.11,б).

Величина \bar{R}^{\wedge} определяется относительными коэффициентами отражения разных площадок объекта и имеет три значения, которые определяют точку в ретинальном трехмерном пространстве, которая соответствует определенному ощущаемому цвету.

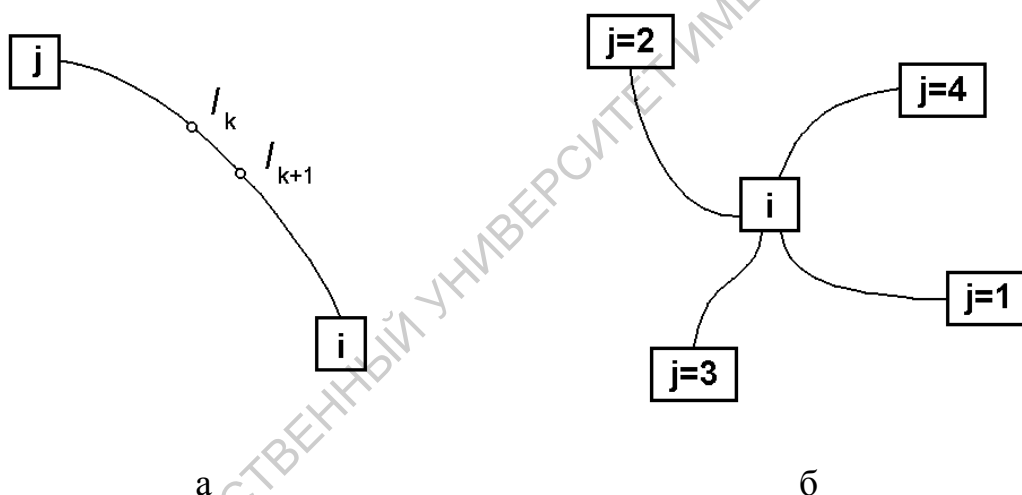


Рис. 5.11. Схематичная интерпретация процедуры суммирования в уравнениях (5.66) (а) и (5.68) (б)

Таким образом, алгоритм, лежащий в основе ретинальной теории, вовлекает в рассмотрение не спектральное распределение интенсивности света, отраженного конкретной элементарной площадкой, а использует относительные спектры отражения от разных площадок, составляющих исследуемый объект.

Ретинальная теория позволяет объяснить голубой цвет кровеносных сосудов в коже [11]. Для этого предположим, что изменения в интенсивности отраженного излучения от участков кожи, не подверженных влиянию сосудов, и от участков, где видны сосуды, случайно распределены около среднего значения с девиацией, меньшей ε . Тогда в уравнении (5.66) исчезают все члены, кроме одного:

$$R^\Lambda(i, j) = \log \left(\frac{I_v^\Lambda}{I_s^\Lambda} \right), \quad (5.69)$$

Здесь I_v^Λ – интенсивность света в спектральной полосе Λ , отраженного кожей над сосудом; I_s^Λ – усредненная интенсивность света, отраженного от кожи, не подверженной влиянию сосудов.

Те же результаты могут быть получены в предположении $\varepsilon = 0$, так как $R^\Lambda(i, j)$ должны зависеть только от интенсивностей в точках i и j . Тогда, так как все значения $R^\Lambda(i, j)$ определяются уравнением (5.66) (независимо от j), то сумма в уравнении (5.68) равна

$$\sum_{j=1}^N R^\Lambda(i, j) = N \log \left(\frac{I_v^\Lambda}{I_s^\Lambda} \right), \quad (5.70)$$

и мы получим:

$$\bar{R}^\Lambda(i) = R^\Lambda(i, j) = \log \left(\frac{I_v^\Lambda}{I_s^\Lambda} \right). \quad (5.71)$$

Три значения $R^\Lambda(i)$, определенных из уравнения (5.71) для трех спектральных диапазонов ($\Lambda = R, G, B$), могут определить цвет сосуда в трехмерном ретинальном пространстве, который является цветом, ощущаемым наблюдателем.

Из-за дополнительного поглощения среды, вызванного наличием крови, интенсивность I_v^Λ всегда меньше I_s^Λ . Тогда, в соответствии с уравнением (5.71) значения $\bar{R}^\Lambda(i)$ отрицательны, при этом абсолютные значения могут быть малыми величинами. Путем сравнения величин $\bar{R}^\Lambda(i)$ можно определить ощущаемый цвет кровеносных сосудов, воспользовавшись следующим положением.

Красные цвета находятся в тех местах ретинального пространства, где величины $\bar{R}^B(i)$ и $\bar{R}^G(i)$ для синей и зеленой областей спектра малы, а величина $\bar{R}^R(i)$ для красной области спектра велика.

Соответственно, синий цвет получается, если $\bar{R}^B(i)$ имеет большое значение, а $\bar{R}^G(i)$ и $\bar{R}^R(i)$ малые; зеленый цвет обусловлен большой величиной $\bar{R}^G(i)$ и малыми значениями $\bar{R}^B(i)$ и $\bar{R}^R(i)$.

Таким образом, если $\bar{R}^\Lambda(i)$ имеет большую величину (то есть является менее отрицательной) в красной (зеленой, синей) по сравнению с

двумя другими спектральными областями, то цвет воспринимается как красный (зеленый, синий). Когда одно из значений $\bar{R}^\wedge(i)$ не является доминирующим, то цвет является менее выраженным. В случае, когда величины $\bar{R}^\wedge(i)$ имеют одинаковую величину для всех трех спектральных полос, то этому случаю в ретинальном пространстве соответствуют бирюзово-серые цвета.

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ теории цвета; ознакомление с практическими колориметрическими системами; изучение основ формирования цвета диффузно отраженного кожей белого света и автофлуоресценции кожи; практическое ознакомление с методиками расчета цветовых характеристик кожи.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: количественная оценка цвета кожи различных типов; исследование изменений цветовых характеристик кожи, связанных с возникновением эритемы и пигментации, а также при наличии механической компрессии кожной ткани.

Практическая часть

Описание установки

Измерение спектров диффузного отражения и АФ кожи человека проводится на установке, схема которой приведена на рис. 1.6.

Объект исследований

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека.

Цвет отраженного кожей излучения белого света и ее АФ рассчитывается по измеренным спектрам $R_d(\lambda)$ и $I_{FL}(\lambda)$ разных участков кожной поверхности.

Исследование изменения цветовых характеристик кожи в результате изменения содержания крови в коже проводится путем измерения и анализа спектров отражения и флуоресценции нормальной кожи, кожи с навешенной механической эритемой и кожи в условиях внешней механической компрессии. Такие внешние воздействия обеспечивают изменение содержания крови в коже человека без изменений содержания меланина.

Искусственная эритема создается в коже предплечья в результате удаления поверхностных слоев эпидермиса с использованием технологии кожных отрывов с помощью адгезионной пленки. Послойное удаление эпидермиса в результате механического воздействия приводит к возрастанию уровня микроциркуляции и, соответственно, увеличению содержания крови в поверхностных слоях кожи.

Исследование влияние содержания меланина на цвет кожи проводится путем измерения и анализа спектров отражения и АФ кожи с нанесенной на нее кремом Foundation Cream, содержащим меланин. Происходящие в этом случае изменения в спектрах диффузного отражения и флуоресценции кожи обусловлены только изменением содержания в ней меланина.

Практические задания

Задание 1. Определение цвета диффузно отраженного кожей белого света.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения разных участков кожной поверхности предплечья. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием лабораторной работы № 1.

2. Согласно соотношениям (5.58) и (5.59) определить координаты цвета X , Y , Z^1 и координаты цветности x , y отраженного разными участками кожной поверхности белого света.

3. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и цветности (на диаграмме (x, y) , см. рис. 5.6) диффузно отраженного разными участками кожной поверхности белого света.

4. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики отраженного кожей белого света в пространстве $L^*a^*b^*$ и сравнить цвета разных участков кожной поверхности.

5. Провести анализ полученных результатов.

Задание 2. Определение цвета АФ кожи.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $I_{FL}(\lambda)$ АФ разных участков кожной поверхности внутренней стороны предплечья. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием лабораторной работы № 4.

2. Согласно соотношениям (5.64) и (5.59) определить координаты цвета X , Y , Z^2 и координаты цветности x , y АФ кожи.

3. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и цветности (на диаграмме (x, y) , см. рис. 5.6) АФ кожи.

4. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики АФ кожи в пространстве $L^*a^*b^*$ и сравнить цвета АФ разных участков кожной поверхности.

5. Провести анализ полученных результатов.

¹ Порядок расчета координат цвета по формулам (5.58) приведен в Прил. 5.2.

² Порядок расчета координат цвета по формулам (5.64) аналогичен расчету координат цвета по формулам (5.58).

Задание 3. Исследование динамики изменения цвета отраженного кожей белого света в процессе развития эритемы.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения фиксированного участка кожной поверхности предплечья в процессе последовательных удалений поверхностных слоев эпидермиса. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием лабораторной работы № 1.

2. Последовательные измерения спектров $R_d(\lambda)$ сопровождать измерением индекса эритемы с помощью прибора ЭММ (см. описание к лабораторной работе № 2).

3. Согласно соотношениям (5.58) и (5.59) определить координаты цвета X, Y, Z и координаты цветности x, y отраженного кожей белого света.

4. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и цветности (на диаграмме (x, y)) диффузно отраженного кожей белого света в процессе развития эритемы (изменения индекса эритемы).

5. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики отраженного кожей белого света в пространстве $L^*a^*b^*$.

6. Провести анализ изменения цветовых характеристик отраженного кожей белого света (L^* , hue, chroma, ΔE) в процессе развития эритемы (изменения индекса эритемы).

Задание 4. Исследование динамики изменения цвета отраженного кожей белого света в процессе внешней механической компрессии кожи.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_d(\lambda)$ диффузного отражения кожи в условиях внешней механической компрессии кожи грузами разных масс. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием лабораторной работы №1.

2. Согласно соотношениям (5.58) и (5.59) определить координаты цвета X, Y, Z и координаты цветности x, y отраженного кожей, находящейся в условиях механической компрессии разной величины, белого света.

3. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и цветности (на диаграмме (x, y)) кожи при изменении величины внешней механической компрессии кожи.

4. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики отраженного кожей, находящейся в условиях разной механической компрессии, белого света в пространстве $L^*a^*b^*$.

5. Провести анализ изменения цветовых характеристик отраженного кожей белого света (L^* , hue, chroma, ΔE) при изменении величины внешней механической компрессии кожи.

Задание 5. Исследование влияния содержания меланина в коже на цвет отраженного кожей белого света.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения выбранного участка кожной поверхности предплечья.

2. Нанести на выбранный участок легким втиранием крем типа Foundation Cream. Рекомендуемый размер участка нанесения крема – 2×2 см². Измерить спектр $R_d(\lambda)$ диффузного отражения участка кожи с нанесенным на нее кремом.

3. Измерить с помощью прибора ЭММ (см. описание к лабораторной работе № 2) индекс меланина участка кожи с нанесенным на нее кремом.

4. Согласно соотношениям (5.58) и (5.59) определить координаты цвета X , Y , Z и координаты цветности x , y отраженного кожей с нанесенным на нее препаратом белого света.

5. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики отраженного кожей белого света в пространстве $L^*a^*b^*$.

6. Повторить пункты 2-5.

7. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и его цветности (на диаграмме (x, y)) в процессе изменения содержания меланина в коже (индекса меланина).

8. Провести анализ изменения цветовых характеристик отраженного кожей белого света (L^* , hue, chroma, ΔE) в процессе изменения содержания меланина в коже (индекса меланина).

Задание 6. Исследование динамики изменения цвета АФ кожи в процессе развития эритемы.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $I_{FL}(\lambda)$ АФ фиксированного участка кожной поверхности предплечья в процессе последовательных удалений поверхностных слоев эпидермиса. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием лабораторной работы № 4.

2. Последовательные измерения спектров $I_{FL}(\lambda)$ сопровождать измерением индекса эритемы с помощью прибора ЭММ (см. описание к лабораторной работе № 2).

3. Согласно соотношениям (5.64) и (5.59) определить координаты цвета X , Y , Z и координаты цветности x , y АФ кожи.

4. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и цветности (на диаграмме (x, y)) АФ кожи в процессе развития эритемы (изменения индекса эритемы).

5. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики АФ кожи в пространстве $L^*a^*b^*$.

6. Провести анализ изменения цветовых характеристик АФ кожи (L^* , hue, chroma, ΔE) в процессе развития эритемы (изменения индекса эритемы).

Задание 7. Исследование динамики изменения цвета АФ кожи в условиях внешней механической компрессии кожи.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $I_{FL}(\lambda)$ АФ кожи в условиях внешней механической компрессии кожи грузами разных масс. Измерение спектров проводится в соответствии с описанием лабораторной работы №4.

2. Согласно соотношениям (5.64) и (5.59) определить координаты цвета X, Y, Z и координаты цветности x, y АФ кожи, находящейся в условиях механической компрессии разной величины.

3. Провести анализ изменения яркости цвета (координата Y) и цветности (на диаграмме (x, y)) АФ кожи при изменении величины внешней механической компрессии кожи.

4. Согласно соотношениям (5.60)-(5.63) определить цветовые характеристики в пространстве $L^*a^*b^*$ АФ кожи, находящейся в условиях разной механической компрессии.

5. Провести анализ изменения цветовых характеристик АФ кожи (L^* , hue, chroma, ΔE) при изменении величины внешней механической компрессии кожи.

Задание 8. Определение цвета кровеносных сосудов в трехмерном ретинальном пространстве.

Порядок выполнения работы.

1. Измерить спектр $I_V(\lambda)$ диффузно отраженного белого света участком кожной поверхности над веней.

2. Определить значения интенсивности I_V^\wedge для трех длин волн $\Lambda = 450 \text{ нм}, 550 \text{ нм}$ и 630 нм .

3. Измерить спектр $I_S(\lambda)$ диффузно отраженного белого света участком кожной поверхности без вены.

4. Определить значения интенсивности I_S^\wedge для трех длин волн $\Lambda = 450 \text{ нм}, 550 \text{ нм}$ и 630 нм .

5. Согласно соотношению (5.71) определить координаты цвета \bar{R}^\wedge кожной поверхности с веней в трехмерном ретинальном пространстве

6. Проанализировать полученные результаты.

Приложение 5.1

Расчетная таблица для источника С

$\lambda, \text{ нм}$	\bar{x}_c	\bar{y}_c	\bar{z}_c	$\lambda, \text{ нм}$	\bar{x}_c	\bar{y}_c	\bar{z}_c
380	0,0022	0,0000	0,0101	585	4,3859	3,6585	0,0063
385	0,0041	0,0002	0,0197	590	4,4920	3,3133	0,0048
390	0,0093	0,0002	0,0447	595	4,5265	2,9767	0,0043
395	0,0197	0,0005	0,0938	600	4,4745	2,6581	0,0034
400	0,0425	0,0012	0,2018	605	4,3617	2,3644	0,0025
405	0,0782	0,0020	0,3716	610	4,1622	2,0882	0,0013

410	0.1647	0.0045	0.7850	615	3.8863	1.8272	0.0008
415	0.3263	0.0092	1.5611	620	3.5349	1.5763	0.0008
420	0.6192	0.0184	2.9743	625	3.1074	1.3275	0.0004
425	1.0672	0.0363	5.1628	630	2.6548	1.0952	0.0000
430	1.4986	0.0612	7.3139	635	2.2358	0.8953	0.0000
435	1.8165	0.0929	8.9747	640	1.8468	0.7216	0.0000
440	1.9874	0.1312	9.9687	645	1.4909	0.5711	0.0000
445	2.0182	0.1728	10.3351	650	1.1743	0.4432	0.0000
450	1.9578	0.2213	10.3194	655	0.9058	0.3380	0.0000
455	1.8489	0.2786	10.1235	660	0.6807	0.2518	0.0000
460	1.6811	0.3469	9.6497	665	0.4965	0.1827	0.0000
465	1.4539	0.4279	8.8481	670	0.3542	0.1297	0.0000
470	1.1360	0.5291	7.4860	675	0.2548	0.0929	0.0000
475	0.8281	0.6562	6.0719	680	0.1846	0.0671	0.0000
480	0.5563	0.8088	4.7305	685	0.1270	0.0459	0.0000
485	0.3348	0.9773	3.5571	690	0.0855	0.0309	0.0000
490	0.1814	1.179	2.6369	695	0.0581	0.0209	0.0000
495	0.0807	1.4197	1.9396	700	0.0408	0.0147	0.0000
500	0.0258	1.7004	1.4319	705	0.0283	0.0101	0.0000
505	0.0121	2.0462	1.0665	710	0.0197	0.0071	0.0000
510	0.0447	2.4165	0.7600	715	0.0136	0.0049	0.0000
515	0.1350	2.8223	0.5183	720	0.0093	0.0032	0.0000
520	0.2881	3.2309	0.3559	725	0.0062	0.0022	0.0000
525	0.4982	3.6052	0.2604	730	0.0042	0.0015	0.0000
530	0.7617	3.9671	0.1942	735	0.0029	0.0012	0.0000
535	1.0593	4.2941	0.1399	740	0.0020	0.0009	0.0000
540	1.3924	4.5742	0.0973	745	0.0014	0.0006	0.0000
545	1.7559	4.7853	0.0654	750	0.0008	0.0003	0.0000
550	2.1412	4.9157	0.0430	755	0.0005	0.0003	0.0000
555	2.5414	4.9636	0.0283	760	0.0005	0.0003	0.0000
560	2.9399	4.9204	0.0193	765	0.0003	0.0000	0.0000
565	3.3167	4.7844	0.0132	770	0.0003	0.0000	0.0000
570	3.6613	4.5736	0.0101	775	0.0000	0.0000	0.0000
575	3.9623	4.3051	0.0085	780	0.0000	0.0000	0.0000
580	4.2084	3.9958	0.0078				

Приложение 5.2

Порядок расчета координат цвета по формулам (5.58), (5.64)

Расчет координат цвета проводится в приложении **Origin**.

В каталоге **С:/Спецпрактикум/Лабораторная работа №5** находятся два файла - **Координаты цвета (отражение).orj** и **Координаты цвета**

(флуоресценция).orj, у которых в колонках $B(y)$, $C(y)$, $D(y)$ приведены значения произведений $\bar{x}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $\bar{y}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $\bar{z}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$ (см. Прил. 5.1) с интервалом $\Delta\lambda = 5$ нм.

Спектры отражения (АФ) измеряются на компьютеризированном спектральном комплексе на базе монохроматора МДР-23 или с использованием миниатюрного волоконно-оптического спектрометра ЛЭСА-6мед с дискретностью точек $\Delta\lambda = 0,1$ нм и $\Delta\lambda = 0,5$ нм соответственно.

Поэтому на первом этапе необходимо преобразовать экспериментально полученный массив данных для спектра отражения (АФ) таким образом, чтобы дискретность точек спектра стала равной $\Delta\lambda = 5$ нм, то есть совпала с интервалом данных в массивах значения произведений $\bar{x}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $\bar{y}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $\bar{z}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$.

Это осуществляется следующим образом.

1. В приложении **Origin** графически отображается экспериментально полученный спектр $R_d(\lambda)$ ($I_{FL}(\lambda)$).
2. Выполнить операцию **Analysis**, затем **Interpolate/Extrapolate**.
3. В появившейся на дисплее таблице установить значения x_{\min} и x_{\max} , соответствующие началу и концу спектрального диапазона измеренного спектра (для спектра отражения $x_{\min} = 380$ нм, $x_{\max} = 750$ нм; для спектра АФ $x_{\min} = 380$ нм, $x_{\max} = 600$ нм), а также число точек в спектре, определяющих дискретность $\Delta\lambda = 5$ нм (для отмеченных интервалов это число соответственно равно 74 и 44).
4. После выполнения операций п. 2, 3 в **Worksheet** сформировать таблицу данных, соответствующих спектральному распределению $R_d(\lambda)$ ($I_{FL}(\lambda)$).
5. Скопировать колонку данных спектра $R_d(\lambda)$ ($I_{FL}(\lambda)$) из **Worksheet** в колонку $E(y)$ файла **Координаты цвета (отражение).orj** (**Координаты цвета (флуоресценция).orj**).
6. В колонках $F(Y)$, $G(y)$, $H(y)$ сформировать массивы данных, соответствующих спектральным зависимостям произведений $R_d(\lambda_i)\bar{x}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $R_d(\lambda_i)\bar{y}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $R_d(\lambda_i)\bar{z}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$ (или $I_{FL}(\lambda_i)\bar{x}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $I_{FL}(\lambda_i)\bar{y}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$, $I_{FL}(\lambda_i)\bar{z}(\lambda_i)I_C(\lambda_i)$), как произведения колонок $F(Y) = B(y) \times E(y)$; $G(y) = C(y) \times E(y)$; $H(y) = D(y) \times E(y)$.
7. Графически отобразить данные, приведенные в колонке $F(Y)$.
8. Выполнить операцию **Analysis**, затем **Calculus** и **Integrate**.
9. В результате выполнения операций п. 8 в окне появится таблица, где приведено значение интеграла функции $F(Y)$, которое является согласно уравнению (5.58) (или уравнению (5.64)) значением координаты цвета X .
10. Проводя аналогичные операции со столбцами $G(y)$ и $H(y)$ найти значения координат цвета Y , Z .

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОЗАЩИТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ КОМБИНИРОВАННЫМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ И ОТРАЖАТЕЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Введение

Целым направлением в дерматологии и косметологии является разработка специальных фотозащитных композиций в виде кремов, мазей, лосьонов и др., основные свойства которых (большое поглощение УФ излучения и большое пропускание излучения видимого диапазона) позволяют использовать их для защиты кожи от разрушительного воздействия на нее УФ излучения.

Обычно для оценки эффективности фотозащитных препаратов (ФП) используется отражательная спектроскопия и основанная на ней колориметрия (оценка цвета диффузно отраженного объектом белого света). Метод отражательной спектроскопии позволяет определять не только спектры поглощения ФП, но и в реальном масштабе времени анализировать динамику диффузии препаратов внутрь кожи, а также косвенно оценивать их характеристики путем анализа происходящих в коже изменений после ее облучения светом УФ-диапазона.

Сравнительно малая величина коэффициента отражения кожи в УФ-диапазоне (8-10%), обусловленная сильным поглощением и рассеянием в ней света этого диапазона, существенно снижают точность определения оптических свойств ФП даже при условии измерения спектров отражения кожи, свободных от автофлуоресценции. Поэтому большинство исследователей используют для этих целей измерения в условиях *in vitro*. Весьма популярным является способ оценки пропускания ФП, нанесенных на тонкие пленки.

Однако на практике оптические свойства ФП, измеренные в *in vitro* и в *in vivo* условиях, сильно различаются. Поэтому другими широко распространенными методами оценки фотозащитных свойств композиций являются методы, основанные на визуальной оценке кожных эффектов, вызываемых УФ излучением до и после нанесения препарата на кожу, и измерении соответствующих доз облучения, вызывающих возникновение мгновенной или длительной эритемы, мгновенной или длительной пигментации, меланогенеза и др. Характерные значения пропускания ФП в УФ диапазоне спектра имеют величину порядка 1 %, поэтому для реализации перечисленных выше методов возникают определенные трудности, связанные с длительностью (более семи часов) облучения кожи с нанесенным на нее ФП и опасностью повреждения кожи в случае исследования ФП с плохими защитными свойствами.

Другим направлением исследований оптических свойств фотозащитных композиций является флуоресцентная спектроскопия кожи. Методы *in vivo* исследования свойств ФП с помощью флуоресцентной спектроскопии можно разделить на две группы.

Одна из них – использование экзогенных флуоресцирующих красителей (дансил хлорид, акридиновый оранжевый, флуоресцеин и др.). В данных методах введенный в кожу экзогенный флуорофор используется в качестве «источника внутрикожного излучения» с известными спектральными характеристиками (спектром возбуждения и флуоресценции). Наносимые на кожу ФП поглощают возбуждающее излучение, изменяя спектр и интенсивность флуоресценции введенных в кожу красителей. Результаты оценки солнцезащитного фактора (СЗФ) препарата с помощью таких методов оказались сравнимыми с традиционными биологическими методами. Вместе с тем введенный краситель может влиять на скорость проникновения ФП в кожу, и, в свою очередь, ФП может влиять на время нахождения флуорофора в эпидермисе и его люминесцентные свойства. Поэтому точность измерений существенно зависит от их длительности: увеличение времени исследования увеличивает погрешность измерения.

Приведенная ниже методика оценки оптических свойств ФП основана на регистрации изменений АФ кожи *in vivo*.

Флуоресцентная методика определения свойств фотозащитных препаратов

Для оценки поглощающих свойств ФП вводится величина, носящая название солнцезащитного фактора (СЗФ) или эффективности солнцезащитных препаратов. Для расчета СЗФ в УФА диапазоне длин волн (320-400 нм) принято использовать следующую формулу [1, 2]

$$\text{СЗФ(А)} = \frac{\sum_{320\text{ нм}}^{400\text{ нм}} (\text{СIE}_{\lambda} \times E_{\lambda}) \Delta\lambda}{\sum_{320\text{ нм}}^{400\text{ нм}} (T_{\lambda} \times \text{СIE}_{\lambda} \times E_{\lambda}) \Delta\lambda}, \quad (6.1)$$

где T_{λ} – коэффициент пропускания ФП на длине волны λ ; СIE_{λ}^* – спектр повреждающего действия УФ излучения (или спектр риска, приведенный на рис. 6.1); E_{λ} – спектральное распределение интенсивности солнечного излучения (или излучения, по спектру аналогичному солнечному в данном спектральном диапазоне).

* CIE – Commission Internationale de l'Éclairage – Международная комиссия по освещению (МКО)

Из соотношения (6.1) видно, что задача определения СЗФ сводится к задаче измерения спектра пропускания ФП в УФА-диапазоне. Последний определяется по изменению интенсивности АФ кожи до и после применения ФП.

На рис. 6.2 приведена простая модель кожи, позволяющая анализировать изменение интенсивности и спектрального состава флуоресценции кожи как в результате происходящих в ней морфо-функциональных изменений, так и в результате применения ФП [1] (см. также описание к лабораторной работе №4).

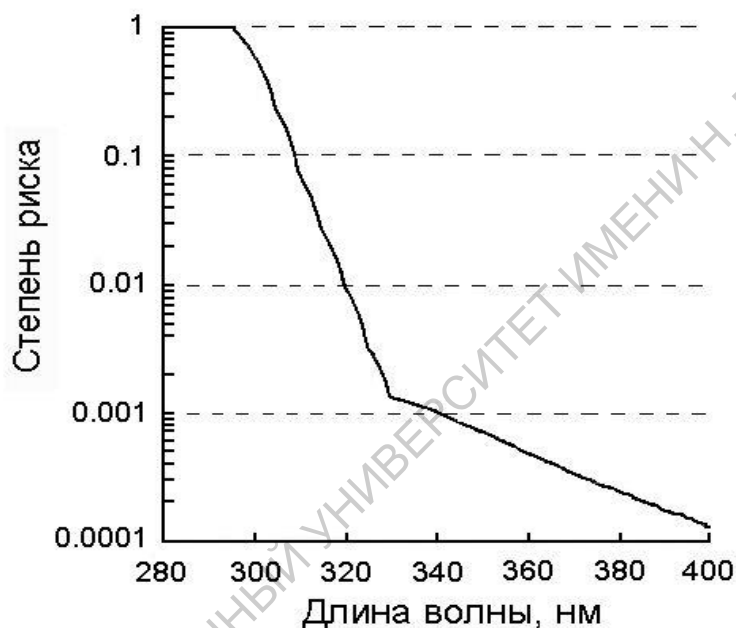


Рис. 6.1. Спектральная зависимость степени риска воздействия УФ излучения на кожу человека

Согласно этой модели УФА-возбужденная флуоресценция кожи обусловлена главным образом флуоресценцией коллагена, при этом интенсивность флуоресценции нормальной кожи и кожи с нанесенным на нее ФП может быть выражена в следующем виде

$$I_{FL}^{N,S}(\lambda_{FL}) = I_0(\lambda_{EX}) T_1^{N,S}(\lambda_{EX}) T_2^{N,S}(\lambda_{EX}) T_3^{N,S}(\lambda_{EX}) \times \eta T_3^{N,S}(\lambda_{FL}) T_2^{N,S}(\lambda_{FL}) T_1^{N,S}(\lambda_{FL}), \quad (6.2)$$

где $I_0(\lambda_{EX})$ – интенсивность УФ излучения, падающего на поверхность кожи; T_1 , T_2 и T_3 – пропускание соответствующих слоев кожи на длинах

волн возбуждения и флуоресценции; η – квантовый выход флуоресценции коллагена; индексы N и S относятся к нормальной коже и коже с ФП.

Предполагая, что диффузия ФП имеет место только в эпидермисе (слой 1), имеем $T_2^N = T_2^S$ и $T_3^N = T_3^S$. В этом случае уменьшение отношений интенсивностей АФ кожи с ФП и нормальной кожи определяется пропусканием эпидермиса в видимом диапазоне спектра:

$$\frac{I_{FL}^S}{I_{FL}^N} = \frac{T_1^S(\lambda_{EX}) \times T_1^S(\lambda_{FL})}{T_1^N(\lambda_{EX}) \times T_1^N(\lambda_{FL})}. \quad (6.3)$$

Пропускание эпидермиса $T_1^{N,S}(\lambda_{FL})$ в видимом диапазоне спектра может быть определено из *in vivo* спектров отражения кожи.

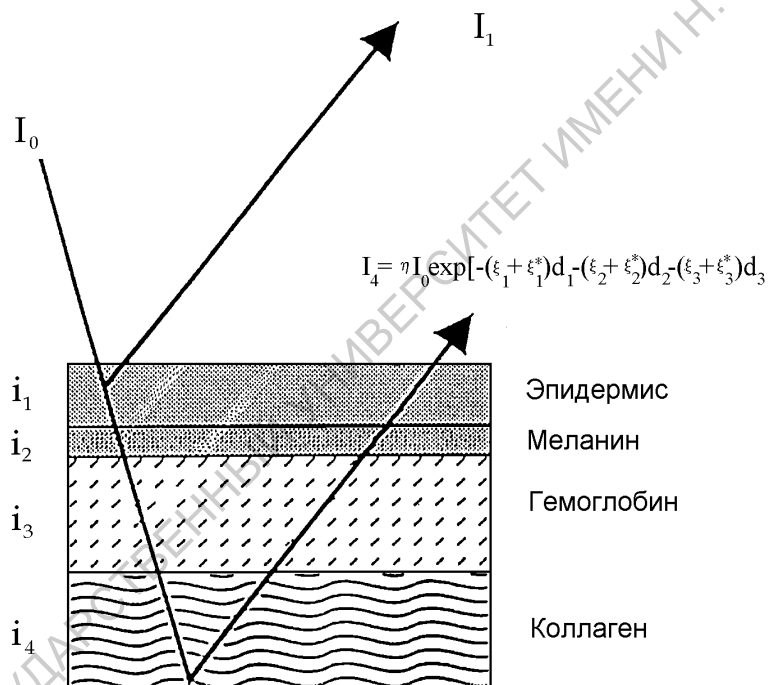


Рис. 6.2. Простая модель для анализа АФ кожи

Согласно простой модели кожи для анализа спектров отражения [1, 2] коэффициенты отражения нормальной кожи (R^N) и кожи с ФП (R^S) определяются следующим образом:

$$R^{N,S}(\lambda_{FL}) = (T_1^{N,S}(\lambda_{FL}))^2 (T_2^{N,S}(\lambda_{FL}))^2 (T_3^{N,S}(\lambda_{FL}))^2 R, \quad (6.4)$$

где R – коэффициент отражения коллагена дермы.

Предполагая, что ФП изменяет оптические свойства только первого слоя, из (6.4) получаем:

$$\frac{R^S(\lambda_{FL})}{R^N(\lambda_{FL})} = \left[\frac{T_1^S(\lambda_{FL})}{T_1^N(\lambda_{FL})} \right]^2. \quad (6.5)$$

Комбинируя (6.3) и (6.5), получим:

$$T(\lambda_{EX}) = \frac{T_1^S(\lambda_{EX})}{T_1^N(\lambda_{EX})} = \frac{I_{FL}^S(\lambda_{FL})/I_{FL}^N(\lambda_{FL})}{\sqrt{R^S(\lambda_{FL})/R^N(\lambda_{FL})}}. \quad (6.6)$$

Величина T определяет уменьшение пропускания эпидермиса при нанесении ФП, то есть является пропусканием фотозащитного препарата, а величина $1/T$ – спектральным СЗФ фотозащитного препарата на длине волны λ_{EX} .

Предложенный алгоритм, основанный на измерении интенсивности АФ кожи и ее коэффициента отражения до и после нанесения ФП, позволяет определить значения $T(\lambda_{EX})$ для разных длин волн λ_{EX} спектра возбуждения флуоресценции коллагена, которые дают возможность определения СЗФ фотозащитного препарата согласно выражению (6.1). Отметим, что спектр возбуждения флуоресценции коллагена перекрывает УФА диапазон, поэтому определяемый по предлагаемой методике СЗФ относится к данному диапазону длин волн.

Возможно некоторое расхождение между значениями СЗФ, полученными при помощи данной методики, и значениями СЗФ, приведенными фирмами-производителями, что обусловлено разными условиями определения СЗФ (*in vitro* и *in vivo*). В первую очередь это обусловлено различием в диффузии фотозащитных препаратов в образец эпидермиса *ex vivo* и в условиях *in vivo*.

Для реализации предлагаемой методики определения СЗФ фотозащитного препарата необходим источник перестраиваемого излучения в УФА диапазоне спектра. В данной работе в качестве излучения, возбуждающего флуоресценцию кожи, используется излучение азотного лазера на фиксированной длине волны ($\lambda = 337$ нм), что позволяет определить спектральный СЗФ препарата на этой длине волны:

$$\text{СЗФ}_{\text{СПЕКТР}}(\lambda_{EX}) = \frac{1}{T(\lambda_{EX})}, \quad (6.7)$$

где $T(\lambda_{EX})$ определяется по формуле (6.6).

Рассматриваемый метод позволяет исследовать временную динамику изменения СЗФ после нанесения ФП на кожу. Динамику удобно анализировалась путем сравнения пропускания $T(\lambda_{EX})$ нанесенного на кожу ФП, определенного по формуле

$$T(\lambda_{EX}) = \frac{I_{FL}^S(\lambda_{EX})}{I_{FL}^N(\lambda_{EX})}, \quad (6.8)$$

которая получена из (6.6) в предположении неизменности коэффициента отражения кожи до и после нанесения ФП.

Ц е л ь р а б о т ы: ознакомление с флуоресцентной методикой определения СЗФ фотозащитного препарата.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: исследование временной динамики изменения защитных свойств ФП после нанесения его на поверхность кожи.

Практическая часть

Описание установки

Определение СЗФ фотозащитных препаратов осуществляется по данным измерения спектров отражения и флуоресценции кожи с помощью установки, приведенной на рис. 1.6.

Измерение спектров флуоресценции кожи в условиях *in vivo* проводится с помощью волоконно-оптического датчика, который обеспечивает подвод возбуждающего излучения к исследуемому объекту и регистрацию флуоресценции. Датчик настраивается таким образом, чтобы диаметр облучаемой области составлял величину 8-10 мм. В качестве источника возбуждения флуоресценции используется импульсный азотный лазер ЛГИ-505 (длина волны излучения 337 нм, максимальная частота следования импульсов 1 кГц, максимальная средняя мощность 120 мВт). С целью предотвращения эритемных и пигментных изменений зондируемых участков кожи рекомендуется возбуждать флуоресценцию кожи излучением лазера мощностью, не превышающей 40 мВт.

Спектры отражения кожи в диапазоне 460-520 нм измеряются с помощью того же датчика, к которому вместо излучения азотного лазера подводится излучение ксеноновой лампы. Выбор диапазона 460-520 нм обусловлен минимальной величиной собственной флуоресценции ФП в этой спектральной области.

Объектами исследования являются коммерчески доступные фотозащитные композиции, представленные в таблице.

Основные характеристики изучаемых фотозащитных препаратов

Продукт	Торговое название ФП	Фирма-производитель	СЗФ фирмы-производителя
а	pH ₅ -Eucerin (лосьон)	Beiersdorf AG (ФРГ)	(15)*
б	Prido Plus (молочко)	Hermal (ФРГ)	9
в	Contralum Ultra (крем)	Hermal (ФРГ)	7
г	Anthelum "S" (крем)	La Roche-Posay (Франция)	10
д	Ecran Total (лосьон)	RoC (Франция)	15

Методика нанесения ФП на кожу

На внутренней поверхности предплечья водостойким маркером отмечаются два расположенные рядом участка кожной поверхности размером 5x5 см². На один из них наносится 50 мг ФП, который затем равномерно распределяется в пределах обозначенного участка кожи и втирается в течение 5 мин легким движением пальца в напалечнике. Второй участок служит для контроля АФ кожи без ФП.

Практические задания

Задание 1. Измерение спектрального СЗФ фотозащитного препарата.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр АФ отмеченного участка кожной поверхности. Спектр АФ кожи регистрируется с трех разных частей отмеченного участка кожи, затем результаты усредняются. Определить величину интенсивности АФ кожи $I_{FL}^N(\lambda_{EX})$ на длине волны $\lambda_{FL} = 500$ нм.

2. Измерить спектр диффузного отражения отмеченного участка кожной поверхности. Определить величину коэффициента отражения кожи $R^N(\lambda_{FL})$ на длине волны $\lambda_{FL} = 500$ нм.

* Фирмой-производителем указан только СЗФ в УФВ-диапазоне.

3. Нанести на отмеченный участок кожной поверхности фотозащитный препарат согласно приведенной выше методике.

4. Измерить спектр АФ кожи с нанесенным на нее ФП. Определить величину интенсивности АФ кожи $I_{FL}^S(\lambda_{EX})$ на длине волны $\lambda_{FL} = 500$ нм.

5. Измерить спектр диффузного отражения отмеченного участка кожной поверхности. Определить величину коэффициента отражения кожи $R^S(\lambda_{FL})$ на длине волны $\lambda_{FL} = 500$ нм.

6. По формулам (6.6) и (6.8) определить пропускание ФП на длине волны $\lambda_{EX} = 337$ нм.

7. Определить спектральный СЗФ ФП на данной длине волны согласно соотношению (6.7). Сравнить результаты, полученные при использовании формул (6.6) и (6.8).

Задание 2. Исследование временной динамики изменения спектрального СЗФ фотозащитного препарата.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры АФ двух отмеченных участков кожной поверхности. Определить величину интенсивностей АФ кожи $I_{FL}^N(\lambda_{EX})$ двух участков на длине волны $\lambda_{FL} = 500$ нм.

2. Нанести на один из отмеченных участков кожной поверхности фотозащитный препарат согласно приведенной выше методике.

3. Измерить спектры АФ участков кожной поверхности без ФП и с нанесенным на кожу ФП. Определить величину интенсивностей $I_{FL}^S(\lambda_{EX})$ и $I_{FL}^N(\lambda_{EX})$ АФ двух участков кожи на длине волны $\lambda_{FL} = 500$ нм.

4. По формуле (6.8) определить пропускание ФП на длине волны $\lambda_{EX} = 337$ нм.

5. Определить спектральный СЗФ ФП на данной длине волны согласно соотношению (6.7).

6. Повторить пункты 3-5 с интервалом 10 мин в течение 2 часов.

7. Построить временную динамику изменения СЗФ ФП в течение времени измерений.

ЦВЕТОВОЙ АНАЛИЗ ВИДЕОИЗОБРАЖЕНИЯ КОЖИ

Введение

В последние годы интенсивно развивается метод цифровой цветной визуализации кожи, который находит различные применения в дерматологии, в частности, при выявлении меланомы, при мониторинге псориаза и эритемы, мониторинге аллергических воспалительных реакций и т.д.

Метод цифровой визуализации кожи основан на компьютерной обработке изображения поверхности кожи, при этом изображение объекта формируется последовательностью цифр, каждая из которых несет информацию об энергии света, испускаемого элементарными площадками структуры, изображение которой регистрируется.

Каждый пиксель изображения несет информацию о градациях яркости черно-белого изображения или о цветовом составе цветного изображения. Обычно формат представления монохромного черно-белого изображения имеет 8 бит на пиксель, что соответствует 256 уровням градации яркости изображения. Для представления цветного изображения используется формат с 24 битами на пиксель, что означает 8 бит (или 256 уровней яркости) для каждого из трех базисных цветных компонентов (красного, зеленого и синего) используемого цифрового представления исходного цвета при компьютерной обработке изображений в цветовой системе RGB.

RGB-анализ цветного изображения кожной поверхности

Цветное изображение поверхности кожи может использоваться для компьютерного анализа "текстуры" картинку путем выбора отдельных цветовых составляющих изображения (R, G или B-компонента) или их аддитивной смеси. Выбор цветовой составляющей производится с учетом спектральных различий между нормальной кожей и кожей с патологией.

В частности, для контрастного выделения области кожной поверхности с патологией выбирается цветовая координата (или их аддитивная комбинация) изображения, при которой наиболее отчетливо проявляются различия между участками нормальной кожи и кожи с патологией. Затем создается новое монохромное изображение кожи, в котором всем пикселям, соответствующим значениям цветовой координаты нормальной кожи, присваивается максимальное значение градации яркости, равное 255 (отмечаются на изображении белым цветом), а остальным – минимальное значение, равное 0 (отмечаются черным цветом).

К примеру, зеленый компонент видеоизображения удобен для выделения областей кожной поверхности, приобретающих красный оттенок в

результате эритемы, воспалительных реакций, аллергических реакций и т. д.

Контрастное выделение измененного участка кожной поверхности позволяет определить его форму, рассчитать его площадь и проследить динамику изменения его формы и размеров. Если патологическая область имеет однородный цвет (эритема, воспалительные реакции), то его площадь определяется путем простого подсчета числа пикселей, которым присвоено значение "0" (темные участки). В противном случае, когда патологическая область не является однородной по цвету (примером является очаг псориаза), изменение размеров участка патологии можно оценить по границам области или используя аддитивное смешение цветов с целью контрастного выделения патологического участка.

RGB-анализ цветного изображения тестируемого участка кожи позволяет количественно оценить изменение пространственного распределения меланина и гемоглобина в кожной ткани.

Используя средние значения яркости белого стандарта ($W_{R,G,B}$) и тестируемого участка кожи ($S_{R,G,B}$) в трех спектральных диапазонах (R , G , и B), можно определить интегральный коэффициент отражения ($R_{R,G,B}$) и оптическую плотность кожи ($OD_{R,G,B}$) в этих диапазонах (R , G , B) [2]:

$$R_{R,G,B} = \frac{S_{R,G,B}}{W_{R,G,B}}; \quad (7.1)$$

$$OD_{R,G,B} = 100 \lg \left(\frac{1}{R_{R,G,B}} \right). \quad (7.2)$$

Далее, разделяя зеленую (G) и красную (R) спектральные полосы, в соответствии с простой моделью кожной ткани [1] можно получить следующие соотношения:

$$OD_R \approx 2\varepsilon_{\text{ext},R}^{mel} d_2 c^{mel} + \lg \left(\frac{1}{R_{4,R}} \right), \quad (7.3)$$

$$OD_G - 1.44 OD_R \approx 2\varepsilon_{\text{ext},G}^{hemo} d_3 c^{hemo} + \left(\lg \left(\frac{1}{R_{4,G}} \right) - 1.44 \lg \left(\frac{1}{R_{4,R}} \right) \right). \quad (7.4)$$

Соотношение (7.3) линейно связывает концентрацию c^{mel} меланина в коже с экспериментально определяемой величиной OD_R , а соотношение (7.4) также линейным образом связывает концентрацию c^{hemo} гемоглобина в биоткани с величинами OD_G и OD_R , получаемыми из эксперимента. Слагаемое $1,44OD_R$ в уравнении (7.4) введено для учета вклада меланина в оп-

тическую плотность в зеленой области спектра. Таким образом, соотношения (7.3) и (7.4) дают возможность количественно оценивать изменение пространственного распределения меланина и гемоглобина в кожной ткани.

Метод цифровой визуализации дает возможность оценки пространственного изменения цветовых параметров кожи в системе $L^*a^*b^*$ МКО – 1976 г. Для этого необходимо интегральные коэффициенты отражения $R_{R,G,B}$ в каждой из трех спектральных полос преобразовать в значение квазипараметров L^* , a^* , b^* , используя соотношения:

$$\begin{aligned} L^* &= 116 \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - 16; \\ a^* &= 500 \left[\left(\frac{X}{X_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right]; \\ b^* &= 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right], \end{aligned} \quad (7.5)$$

где $\frac{X}{X_0} \equiv R_R$, $\frac{Y}{Y_0} \equiv R_G$, $\frac{Z}{Z_0} \equiv R_B$.

Изображение поверхности кожи в диагностических параметрах

Другой путь цветового анализа видеоизображений кожи предусматривает получение монохромных изображений поверхности кожи в узких диапазонах спектра, соответствующих поглощению тех или иных хромофоров, доминирующих в этих областях спектра, с последующей компьютерной обработкой, в результате которой получается новое изображение кожной поверхности, где параметром визуализации является диагностический параметр (индекс эритемы, индекс меланина и т.д.).

2D-распределение индекса меланина

Индекс меланиновой пигментации рассчитывается по спектру оптической плотности кожи $OD(\lambda)$ в спектральной области 620-720 нм, где доминирующим хромофором является меланин, а поглощение гемоглобина имеет минимальное влияние на формирование спектра отражения.

В этой спектральной области наклон зависимости оптической плотности кожи от длины волны прямо пропорционален количеству содержащегося в коже меланина, поэтому индекс меланиновой пигментации M (в единицах nm^{-1}) определяется углом наклона спектра $OD(\lambda)$ в спектральном диапазоне свыше 620-640 нм [1] (см. также описание к лабораторной работе №1):

$$M = k \left(\frac{OD_{650} - OD_{700}}{50} \right), \quad (7.6)$$

где индексы определяют длины волн в нм, на которых определяется оптическая плотность кожи, k – нормировочный множитель.

Получение двух монохромных изображений кожной поверхности с использованием интерференционных фильтров на длины волн 650 и 700 нм дает возможность путем их комбинирования в соответствии с выражением (7.6) получить новое изображение, где параметром визуализации является индекс меланина.

Полученное изображение позволяет количественно оценить пространственное распределение в коже пигмента меланина. При соответствующем выборе нормировочного множителя k типичные значения индексов пигментации для кожи типов I – IV лежат в пределах от нуля (тип кожи I) до 60 (тип кожи IV). При наличии участков с повышенным содержанием меланина индекс пигментации может увеличиваться до 100 и выше. То есть, 100 единиц градаций яркости черно-белого изображения поверхности из максимального числа градаций, равного 256, часто оказывается достаточным для диагностики поверхности кожи по полученному изображению. Увеличение чувствительности изображения кожной поверхности к пространственному распределению содержащегося в ней меланина возможно путем преобразования ее монохромного изображения, где параметром визуализации является индекс M , в цветное, где каждому диапазону изменения величины M соответствует свой цвет. Данная процедура легко осуществима в приложении **Adobe Photoshop**.

2D-распределение индекса эритемы

Индекс эритемы рассчитывается как комбинация значений оптической плотности, одно из которых (OD_{560}) определено в зеленой области спектра ($\lambda_1 = 560$ нм), а второе (OD_{650}) – в красной ($\lambda_2 = 650$ нм), при этом учитывается вклад меланина в оптическую плотность кожи в зеленой области спектра [1] (см. также описание к лабораторной работе № 1):

$$E = 100 \left[\text{OD}_{560} - \text{OD}_{650} - \frac{M}{k} \Delta\lambda_{12} \right], \quad (7.7)$$

где $\Delta\lambda_{12} = \lambda_2 - \lambda_1$; M – индекс меланина, определенный согласно выражению (7.6).

Получение трех монохромных изображений кожной поверхности с использованием интерференционных фильтров на длины волн 560, 650 и 700 нм дает возможность путем их комбинирования в соответствии с выражениями (7.6) и (7.7) получить новое изображение, где параметром визуализации является индекс эритемы.

Полученное изображение позволяет количественно оценить пространственное распределение крови в коже человека.

Более того, использование для получения монохромных изображений нескольких интерференционных фильтров на соответствующие длины волн дает возможность в соответствии с выражениями (3.12), (3.13), приведенными в описании к лабораторной работе №3, получить изображения кожной поверхности, где параметрами визуализации являются индекс гемоглобина (концентрация гемоглобина) и степень оксигенации гемоглобина крови.

Как и в случае индекса меланина, диагностику кожи можно проводить, анализируя монохромное изображение, где параметром визуализации является индекс эритемы E (в среднем индекс эритемы меняется в пределах от 20-40 для нормальной кожи до 150-200 в случае кожи с эритемой разной степени), либо путем анализа цветного изображения, где каждому диапазону изменения величины E соответствует свой цвет.

Цветное изображение автофлуоресценции кожи

Метод цифровой визуализации, который традиционно, как и метод колориметрии, применяется для анализа отраженного кожей белого света, может быть расширен и на случай автофлуоресценции (АФ) кожи.

Максимум флуоресценции коллагена, возбужденной УФА излучением, наблюдается вблизи 420 нм. В этой области поглощение содержащегося в коже меланина в 2 раза больше, а в УФА области – в 5 раз больше, чем в зеленой (540 нм) области спектра. Поэтому изображения кожной поверхности, где в качестве параметра визуализации взята интенсивность УФА возбужденной АФ кожи, оказываются на порядок более чувствительными к обнаружению эпидермального меланина по сравнению с изображениями кожи в видимом диапазоне спектра.

Флуоресцентная фотография оказывается полезным инструментом для оценки эффективности лечения воспаления сальных желез. Анаэробные бактерии *Propionibacterium acnes*, вызывающие угревую сыпь на коже человека, имеют характерное свечение в красной области спектра, обу-

словленное флуоресценцией порфиринов (в частности, протопорфирина IX) [1], максимум возбуждения которой приходится на фиолетовую область спектра ($\lambda \approx 405$ нм). В этом случае монохромное изображение поверхности кожи, освещаемой фиолетовым светом с $\lambda \approx 405$ нм, полученное при использовании фильтра, пропускающего излучение красной области спектра ($\lambda > 600$ нм), позволяет оценить наличие бактерий и пространственное распределение их плотности.

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ формирования цвета диффузно отраженного кожей белого света и АФ кожи; ознакомление с методами *in vivo* определения пространственного распределения индексов эритемы и пигментации кожи; практическое ознакомление с методом получения цветных изображений кожной поверхности и методами компьютерного анализа полученных изображений.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: определение площади эритематозного участка на поверхности кожи; исследование пространственного распределения индекса эритемы поверхности эритематозной кожи; исследование пространственного распределения индекса меланина кожи с нанесенным на нее кремом, содержащим меланин.

Практическая часть

Описание установки

Получение изображений кожной поверхности производится на установке, схематично приведенной на рисунке 7.1.

С целью получения равномерной освещенности изучаемого объекта и исключения влияния зеркального компонента в качестве источника освещения использовались четыре галогеновые лампы мощностью 50 Вт каждая, при этом излучение каждой из них направлялось под углом $\sim 30^\circ$ относительно нормали к объекту.

Схема предусматривает получение цветных и монохромных изображений кожной поверхности.

В первом случае регистрация обратно рассеянного кожей излучения производится под углом к нормали, близким к 0° , с помощью видеокамеры Panasonic NV-RX70EN. Захват изображений с целью их последующей компьютерной обработки осуществляется с использованием устройства ввода изображений в персональный компьютер типа Miro DC20 (производитель MiroVideo, Германия).

Регистрируемые цветные 8-разрядные bitmap-изображения объекта имеют размер 647 пикселей x 485 пикселей и 256 градаций яркости по каждой из трех цветовых координат (R, G, B) и используются для дальнейшей компьютерной обработки.

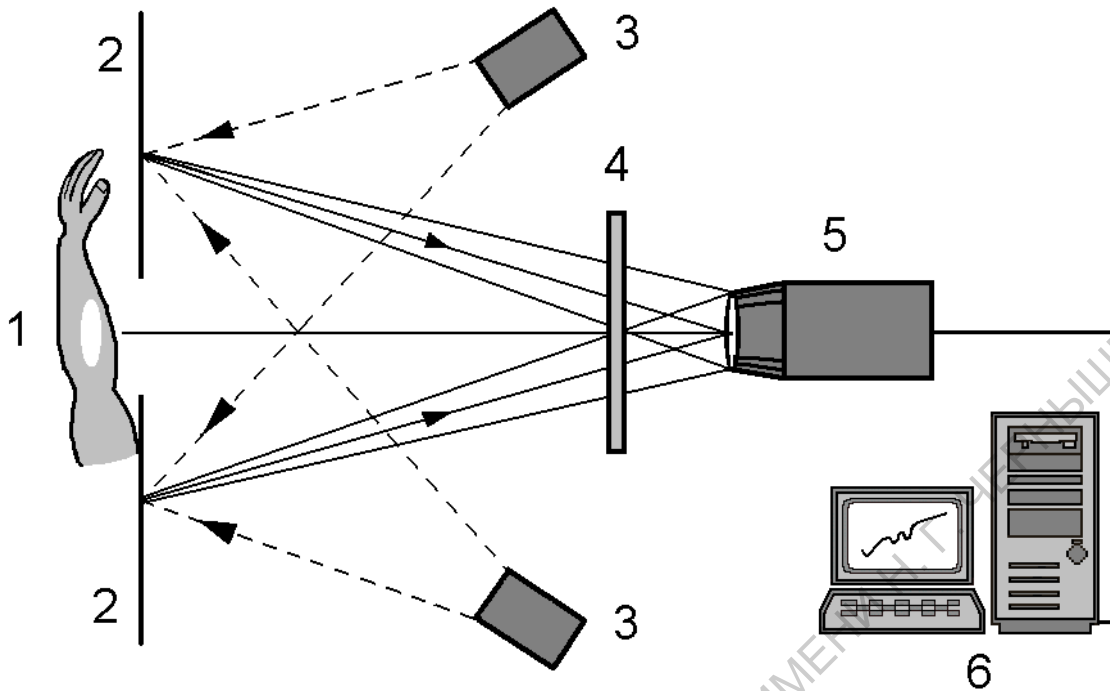


Рис. 7.1. Схема установки

1 – объект исследования; 2 – белый экран; 3 – четыре источника освещения; 4 – интерференционный фильтр; 5 – видеокамера; 6 – персональный компьютер

Использование видеокамеры Panasonic NV-RX70EN (как и бытовой видеокамеры другого типа) сопряжено с некоторыми неудобствами, связанными с наличием у нее системы автоматического регулирования уровня яркости изображения, что затрудняет проведение количественного сравнения изображений объектов, по-разному отражающих падающее на них излучение. С целью исключения влияния встроенной системы автоматической регулировки яркости изображения исследуемый объект помещался в центр листа белой бумаги, который задавал постоянный уровень яркости изображения: при условии, что исследуемый объект занимает площадь изображения менее 40%, автоматическая регулировка яркости видеокамерой не производится.

Монохромные изображения кожной поверхности регистрируются с помощью видеосистемы VS-СТТ 60-075 (СОБИ «Видеоскан», Россия), перед объективом которой устанавливаются интерференционные светофильтры необходимого спектрального диапазона.

Объект исследований

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека.

Количественная оценка пространственного распределения индекса эритемы кожи проводится путем регистрации и последующей компьютерной обработки изображений кожной поверхности, содержащей области нормальной кожи и кожи с эритемой разной степени. Эритема наводится путем облучения кожной поверхности УФ излучением с использованием биодозиметра Горбачева-Дальфельда.

Количественная оценка пространственного распределения индекса меланиновой пигментации кожи проводится путем регистрации и последующей компьютерной обработки изображений кожной поверхности, содержащей области нормальной кожи и кожи с повышенным содержанием меланина. Последнее достигается путем нанесения на кожную поверхность крема типа Foundation Cream, содержащего меланин.

Практические задания

Задание 1. Определение площади эритемного участка кожной поверхности.

Задание выполняется с помощью видеокамеры Panasonic NV-RX70EN.

Порядок выполнения задания.

1. Закрепить на предплечье биодозиметр.
2. Включить ртутную лампу и после ее прогрева в течение 15 мин облучить участок предплечья в течение 5 мин.*
3. Расположить предплечье за белым экраном так, чтобы в отверстии экрана был виден участок кожи с наведенной эритемой.
4. Включить галогеновые лампы осветительной системы.
5. Соединить кабелем видеокамеру (гнездо «**VIDEO OUT**») с соответствующим разъемом устройства ввода изображения персонального компьютера.
6. Включить видеокамеру.**
7. Перевести видеокамеру в режим ручного управления (ручной регулировки фокуса и ручной регулировки баланса белого цвета).
8. Сфокусировать камеру на поверхность исследуемого участка кожи.
9. Отрегулировать баланс белого цвета.
10. Манипуляцией клавиш «**Пуск**», «**Программы**», «**MiroVIDEO DC20 plus**» и «**VidCap**» вывести на дисплей монитора панель с окном.

* В работе исследуется кожа с 24-часовой эритемой, поэтому облучение кожи следует проводить накануне выполнения лабораторной работы.

** Все операции с видеокамерой проводятся в соответствии с инструкцией ее эксплуатации

11. Нажать правую клавишу под надписью «**Options**». В окне появиться изображение исследуемого объекта.

12. Осуществить подстройку резкости изображения объекта по экрану монитора.

13. Последовательно нажать клавиши «**Capture**», «**Single Frame**». В результате произойдет захват изображения.

14. Сохранить полученное изображение в директории **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7**. Для этого последовательно нажать клавиши «**File**», «**Save Single Frame**», найти эту директорию и сохранить полученное изображение как файл **white.dib**.

15. С помощью полученного изображения сформировать файл **green.dib**, являющийся зеленым компонентом цветного изображения кожной поверхности.

16. С помощью полученного изображения **green.dib** сформировать контрастное изображение исследуемой поверхности кожи **contrast.dib**.

17. Рассчитать относительную долю площади эритемного участка кожной поверхности на полученном изображении.

Методика выполнения пунктов 15-17 приведена в Прил. 7.1.

Задание 2. Определение пространственного распределения индекса меланина кожи.

Задание выполняется с помощью видеосистемы VS60-075.

Порядок выполнения задания.

1. Нанести на участок поверхности кожи предплечья размером $1 \times 1 \text{ см}^2$ крем типа Foundation Cream, равномерно его распределить и втереть легким движением с помощью пальца в напалечнике.

2. На рядом расположенный участок поверхности кожи такого же размера нанести и втереть удвоенное количество крема типа Foundation Cream.

3. Расположить предплечье за белым экраном так, чтобы в отверстии экрана были видны участки кожи с нанесенным кремом.

4. Включить галогеновые лампы осветительной системы.

5. Включить видеокамеру.

6. Запустить с рабочего стола персонального компьютера программу визуализации нажатием кнопки VS60-075. В результате запуска программы на экране дисплея появиться изображение объекта.

7. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 690 \text{ нм}$.

8. Установить диафрагму объектива видеокамеры таким образом, чтобы камера работала в линейном режиме без насыщения.*

* Изображение объекта, полученное при использовании интерференционного фильтра на $\lambda = 690 \text{ нм}$, имеет максимальную яркость. Поэтому обеспечение

9. Сфокусировать камеру на поверхность исследуемого участка кожи. Резкость изображения контролируется по экрану монитора.

10. Закрыть программу визуализации VS60-075.

11. Открыть директорию **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7**.

12. Запустить программу **videograb.exe**. В результате произойдет захват изображения, и в директории **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7** появится файл с записанным изображением, имеющий расширение **bmp**. Переименовать его как **690.bmp**.

13. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 630$ нм.

14. Выполнить пункт 12. Полученный файл переименовать как **630.bmp**.

15. С помощью полученных изображений **690.bmp** и **630.bmp** сформировать новое изображение, параметром визуализации в котором является индекс меланина (см. выражение (7.6)). Методика получения данного изображения приведена в Прил. 7.2.

16. Проанализировать полученное изображение.

Задание 3. Определение пространственного распределения индекса эритемы кожи.

Задание выполняется с помощью видеосистемы VS60-075.

Порядок выполнения задания.

1. Закрепить на предплечье биодозиметр.

2. Включить ртутную лампу и после ее прогрева в течение 15 мин облучить участки предплечья в течение 1 мин, 3 мин, 5 мин и 7 мин.*

3. Расположить предплечье за белым экраном так, чтобы в отверстии экрана были видны участки кожи с наведенной эритемой.

4. Включить галогеновые лампы осветительной системы.

5. Включить видеокамеру.

6. Запустить с рабочего стола персонального компьютера программу визуализации нажатием кнопки **VS60-075**. В результате запуска программы на экране дисплея появится изображение объекта.

7. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 690$ нм.

8. Установить диафрагму объектива видеокамеры таким образом, чтобы камера не работала в режиме насыщения.

работы видеокамеры без насыщения в этом диапазоне спектра обеспечивает линейный режим ее работы в других диапазонах спектра.

* В работе исследуется кожа с 24-часовой эритемой, поэтому облучение кожи следует проводить накануне выполнения лабораторной работы.

9. Сфокусировать камеру на поверхность исследуемого участка кожи. Резкость изображения контролируется по экрану монитора.
10. Заккрыть программу визуализации VS60-075.
11. Открыть директорию **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7**.
12. Запустить программу **videograb.exe**. В результате произойдет захват изображения, и в директории **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7** появится файл с записанным изображением, имеющий расширение **bmp**. Переименовать его как **690.bmp**.
13. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 630$ нм.
14. Выполнить пункт 12. Полученный файл переименовать как **630.bmp**.
15. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 550$ нм.
16. Выполнить пункт 12. Полученный файл переименовать как **550.bmp**.
17. С помощью полученных изображений **690.bmp**, **630.bmp** и **550.bmp** сформировать новое изображение, параметром визуализации в котором является индекс эритемы (см. выражение (7.7)). Методика получения данного изображения приведена в Прил. 7.3.
18. Проанализировать полученное изображение.

Приложение 7.1

Определение площади эритемного участка кожной поверхности

Обработка полученного цветного изображения кожной поверхности (файл **white.dib**) с последующим расчетом относительной площади эритемного участка кожи производится с использованием приложения **MathCad** с помощью программы **Imaging1**. Ниже приведен пример применения программы с целью обработки изображения поверхности кожи с ожогом.

Исходный файл с цветным изображением кожной поверхности должен иметь формат BMP, JPG, GIF, TGA или PCX. Поэтому экспериментально полученный файл **white.dib** необходимо преобразовать в один из этих форматов с помощью программы **IrfanView**.

*Запуск приложения **MathCad** и программы **Imaging1** приводит к появлению рабочего поля программы.*

директория := "C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7\Imaging1"
имя_файла := "имя файла"

Необходимо ввести имя файла: “white”. Запуск программы происходит при нажатии левой клавиши мыши.

filename := concat(директория, имя_файла)

В результате выполнения первой части программы формируются два массива: цветное изображение **color_image** и зеленый компонент изображения **green_image**, который используется при дальнейшей обработке.

color_image := READRGB(filename)

green_image := READ_GREEN(filename)

В результате выполнения второй части программы проводится очистка изображения от шумов с помощью медианной фильтрации.

Процедура фильтрации изображения с помощью медианного фильтра основана на том, что из матрицы исходного изображения выделяется субматрица размером $n \times n$, где n – нечетное число больше 1; значения элементов субматрицы располагаются в возрастающей последовательности, и центральному пикселю присваивается значение среднего элемента ряда. Таким образом обрабатываются все пиксели исходного изображения. Функция, выполняющая данную операцию, приведена ниже.

```

medfit(M,n) :=
   $K_c \leftarrow \text{cols}(M)$ 
   $K_r \leftarrow \text{rows}(M)$ 
   $k \leftarrow \frac{n-1}{2}$ 
   $A \leftarrow M$ 
  for  $i \in 1+k \dots K_r - k$ 
  for  $j \in 1+k \dots K_c - k$ 
   $A_{ij} \leftarrow \text{median}(\text{submatrix}(M, i-k, i+k, j-k, j+k))$ 
  return A

```

Порядок фильтра задается параметром n . Как правило, достаточно присвоить значения $n = 3, 5, 7$.

Вводим значение порядка фильтра ($n = 5$).

filter_order := 5

smooth_green_image := medfit(green_image, filter_order)

На рис. 1 приводятся два изображения: исходное (слева) и после процедуры фильтрации (справа).

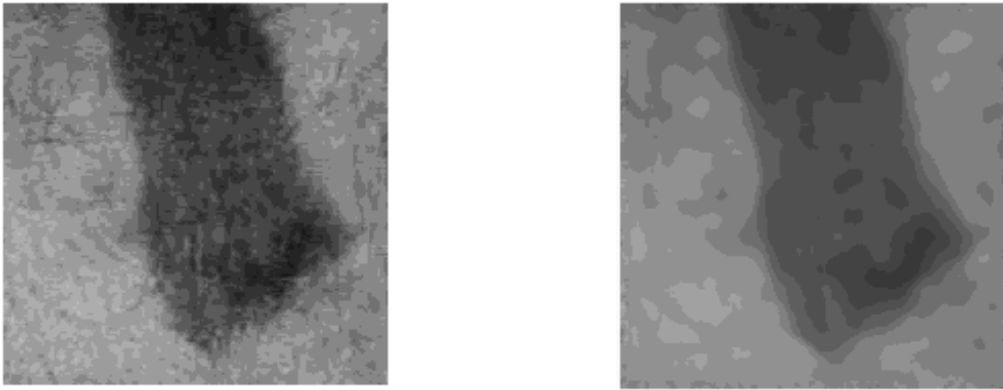


Рис. 7.1.1. Зеленый компонент изображения кожной поверхности до (слева) и после (справа) процедуры фильтрации

Если качество изображения, полученного в результате процедуры фильтрации, неудовлетворительно, то необходимо изменить порядок фильтра и повторить процедуру.

Следующим этапом обработки изображения является определение порогового значения яркости пикселя, служащего для выявления области повреждения кожи: пиксели с яркостью, меньшей пороговой, отражают поврежденный участок.

С этой целью на экран выводятся два изображения (рис. 2): левое представляет собой сглаженное изображение зеленого компонента изображения, а правое – исходное цветное изображение.

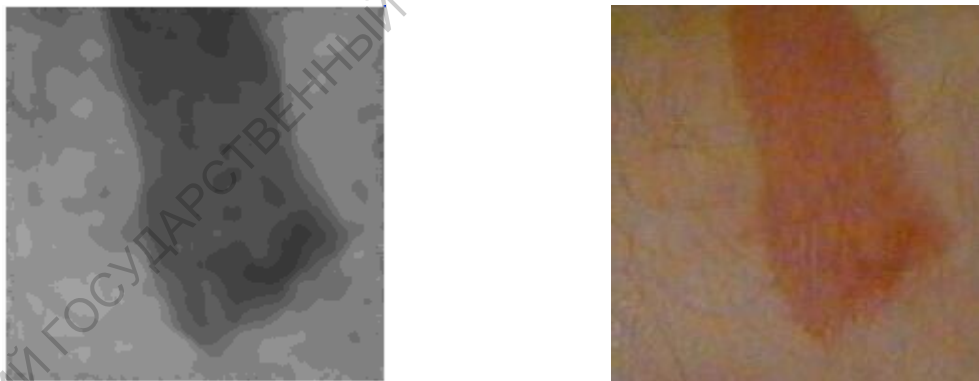


Рис. 7.1.2. Сглаженный G-компонент (слева) исходного цветного изображения (справа)

*Работа проводится с левым изображением. При нажатии левой кнопки мыши на экране появляется панель **Picture Toolbar**. При нажатии кнопки **Window/Level (Brightness/Contrast)** на экран выводится гистограмма распределения пикселей по яркости (**Contrast Window Histogram**) (рис. 3), которая представляет собой суперпозицию двух распределений: правое соответствует участку нормальной кожи, левое – поврежденной.*

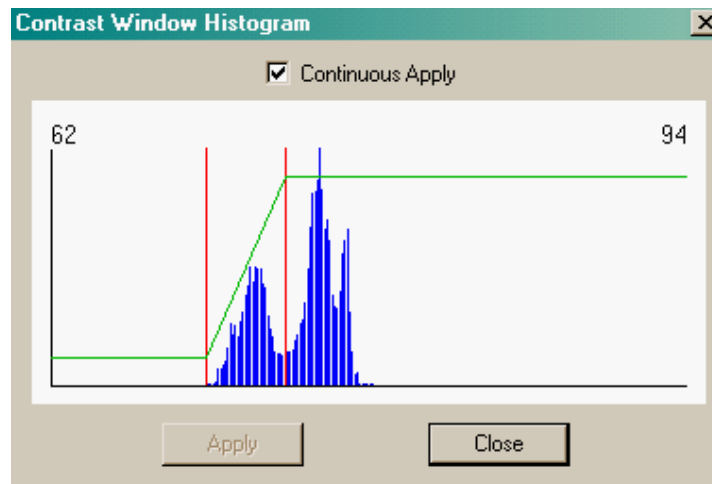


Рис. 7.1.3. Гистограмма распределения пикселей по яркости

С помощью курсора добиваемся расположения левой реперной вертикальной линии с левого края гистограммы, а правой – в минимуме между двумя распределениями. Полученное значение яркости пикселя, соответствующего положению правой реперной линии (на рисунке это значение, равное 94, приводится в правом верхнем углу), будет являться пороговым.

После расположения реперных линий указанным образом привести левое изображение к виду, изображенному на рис. 4, нажатием левой кнопки мыши.



Рис. 7.1.4. Область изображения, где яркости пикселей меньше пороговой

Пороговое значение яркости пикселя вводится для дальнейшей процедуры определения площади патологического участка.

```
normal_skin := 94
x_size := cols(smooth_green_image)
y_size := rows(smooth_green_image)
i := 1...y_size
j := 1...x_size
```

Пикселям с яркостью, меньшей пороговой, присваивается минимальное значение яркости (0), а пикселям с яркостью, большей пороговой, – максимальное значение (255).

```
N_imagei,j := if(smooth_green_imagei,j < normal_skin,0,255)
```

После применения данной процедуры изображение **smooth_green_image**, приведенное на рис. 4, преобразуется в бинарное (рис. 5, левое изображение): Здесь же для наглядности приведено исходное цветное изображение кожной поверхности (рис. 5, правое изображение).



Рис. 7.1.5. Исходное цветное изображение кожной поверхности (справа) и бинарное изображение области ожога (слева)

На заключительном этапе производится расчет относительной плотности повреждения поверхности кожи.

$$\begin{pmatrix} \mathbf{bad} \\ \mathbf{normal} \end{pmatrix} := \mathbf{hist}(2, \mathbf{N_image})$$

$$\mathbf{bad} = 1,167 \times 10^4 \dots$$

$$\mathbf{normal} = 2,33 \times 10^4$$

$$\mathbf{площадь_повреждения} := \frac{\mathbf{bad}}{\mathbf{bad} + \mathbf{normal}}$$

$$\mathbf{площадь_повреждения} = 0,334$$

Приложение 7.2

Определение пространственного распределения индекса меланина кожи

Обработка полученных монохромных изображений кожной поверхности (файлы **690.bmp** и **630.bmp**) с целью получения изображения кожной поверхности, где параметром визуализации является индекс меланина, производится с использованием приложения **MathCad** с помощью программы **Imaging2**. Ниже приведен пример применения программы с целью обработки изображения поверхности кожи с участками нанесенного на нее крема, содержащего меланин.

Исходные файлы с монохромными изображениями кожной поверхности должны иметь формат BMP, JPG, GIF, TGA или PCX, поэтому экспериментально полученные файлы необходимо преобразовать в один из этих форматов с помощью программы **IrfanView**.

Запуск приложения **MathCad** и программы **Imaging2** приводит к появлению рабочего поля программы.

директория := “C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7\Imaging2”

Необходимо ввести имена файлов. После ввода имен файлов нажатие левой клавиши мыши приводит к активизации программы.

имя файла_690 := “меланин690”

имя файла_630 := “меланин630”

filename_690 := concat(директория,имя_файла_690)

filename_630 := concat(директория,имя_файла_630)

Формируются два массива, используемые в дальнейшем.

image_690 := READBMP(filename_690)

image_630 := READBMP(filename_630)

Если обрабатываемые изображения составляют часть изображения, то размеры массивов могут несколько отличаться. Поэтому следующим шагом проводится выравнивание массивов.

x_size := min(cols(image_690),cols(image_630))

y_size := min(rows(image_690),rows(image_630))

image_690 := submatrix(image_690,1,y_size,1,x_size)

image_630 := submatrix(image_630,1,y_size,1,x_size)

i := 1.. y_size

j := 1.. x_size

Следующим шагом является очистка изображений от шумов с помощью медианного фильтра. Работа фильтра изложена в Прил. 7.1. Введем порядок фильтра ($n=9$).

filter_order := 9

smooth_image_690 := medflt(image_690,filter_order)

smooth_image_630 := medflt(image_630,filter_order)

Результат применения процедуры фильтрации приведен на рис. 1. Если качество изображений, полученных в результате процедуры фильтрации (рис. 1), неудовлетворительно, то необходимо изменить порядок фильтра и повторить процедуру.



Рис. 7.2.1. Результат применения процедуры сглаживания монохромных изображений кожной поверхности.

Слева – исходные изображения, справа – сглаженные.

Вверху – 630 нм, внизу – 690 нм

Следующим шагом является создание массивов, каждый элемент которых является коэффициентом отражения объекта.

Для этого на сглаженных изображениях выделяются области, соответствующие белой бумаге (на рис. 1 эти области в нижней части изображений). Усреднение значений яркости по элементам этих областей определит уровень белого света, то есть области с коэффициентом отражения, равным 100%.

```
white_690 := mean(white_690)
```

```
white_630 := mean(white_630)
```

Получим значения

```
white_690 = 117.573
```

```
white_630 = 59.501
```

Теперь создаются матрицы коэффициентов отражения для двух изображений.

$$\text{reflect_690}_{i,j} := \frac{\text{smooth_image_690}_{i,j}}{\text{white_690}}$$

$$\text{reflect_630}_{i,j} := \frac{\text{smooth_image_630}_{i,j}}{\text{white_630}}$$

Исключаются точки, в которых коэффициент отражения больше 100% (такие точки могут быть следствием неравномерной засветки объекта).

$$\begin{aligned} \text{reflect_690}_{i,j} &:= \text{if}(\text{reflect_690}_{i,j} > 1, 1, \text{reflect_690}_{i,j}) \\ \text{reflect_630}_{i,j} &:= \text{if}(\text{reflect_630}_{i,j} > 1, 1, \text{reflect_630}_{i,j}) \end{aligned}$$

На заключительном этапе рассчитывается матрица индексов меланина для анализируемого участка кожной поверхности.

$$\text{Mel} := \lg\left(\frac{\text{reflect_690}}{\text{reflect_630}}\right) \frac{5000}{6}$$

Результат приведен на рис. 2.



Рис. 7.2.2. Изображение кожной поверхности. Параметр визуализации – индекс меланина

Приложение 7.3

Определение пространственного распределения индекса эритемы кожи

Обработка полученных монохромных изображений кожной поверхности (файлы **690.bmp**, **630.bmp** и **550.bmp**) с целью получения изображения кожной поверхности, где параметром визуализации является индекс эритемы, производится с использованием приложения **MathCad** с помощью программы **Imaging3**. Ниже приведен пример применения программы с целью обработки изображений поверхности кожи с участками УФ наведенной эритемы.

Исходные файлы с монохромными изображениями кожной поверхности должны иметь формат BMP, JPG, GIF, TGA или PCX, поэтому экспериментально

полученные файлы необходимо преобразовать в один из этих форматов с помощью программы **IrfanView**.

*Запуск приложения **MathCad** и программы **Imaging3** приводит к появлению рабочего поля программы.*

директория := “С:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №7\Imaging3”

Необходимо ввести имена файлов. После ввода имен файлов нажатие левой клавиши мыши приводит к активизации программы.

имя файла_690 := “Эритема690”

имя файла_630 := “Эритема630”

имя файла_550 := “Эритема550”

filename_690 := concat(директория,имя_файла_690)

filename_630 := concat(директория,имя_файла_630)

filename_550 := concat(директория,имя_файла_550)

Формируются три массива, используемые в дальнейшем.

image_690 := READBMP(filename_690)

image_630 := READBMP(filename_630)

image_550 := READBMP(filename_550)

Если обрабатываемые изображения составляют часть изображения, то размеры массивов могут несколько отличаться. Поэтому следующим шагом проводится выравнивание массивов.

x_size := min(cols(image_690),cols(image_630),cols(image_550))

y_size := min(rows(image_690),rows(image_630),rows(image_550))

image_690 := submatrix(image_690,1,y_size,1,x_size)

image_630 := submatrix(image_630,1,y_size,1,x_size)

image_550 := submatrix(image_550,1,y_size,1,x_size)

i := 1.. y_size

j := 1.. x_size

Следующим шагом является очистка изображений от шумов с помощью медианного фильтра. Работа фильтра изложена в Прил. 7.1. Введем порядок фильтра (n=9).

filter_order := 9

smooth_image_690 := medflt(image_690,filter_order)

smooth_image_630 := medflt(image_630,filter_order)

smooth_image_550 := medflt(image_550,filter_order)

Результаты применения процедуры фильтрации приведены на рис. 1.

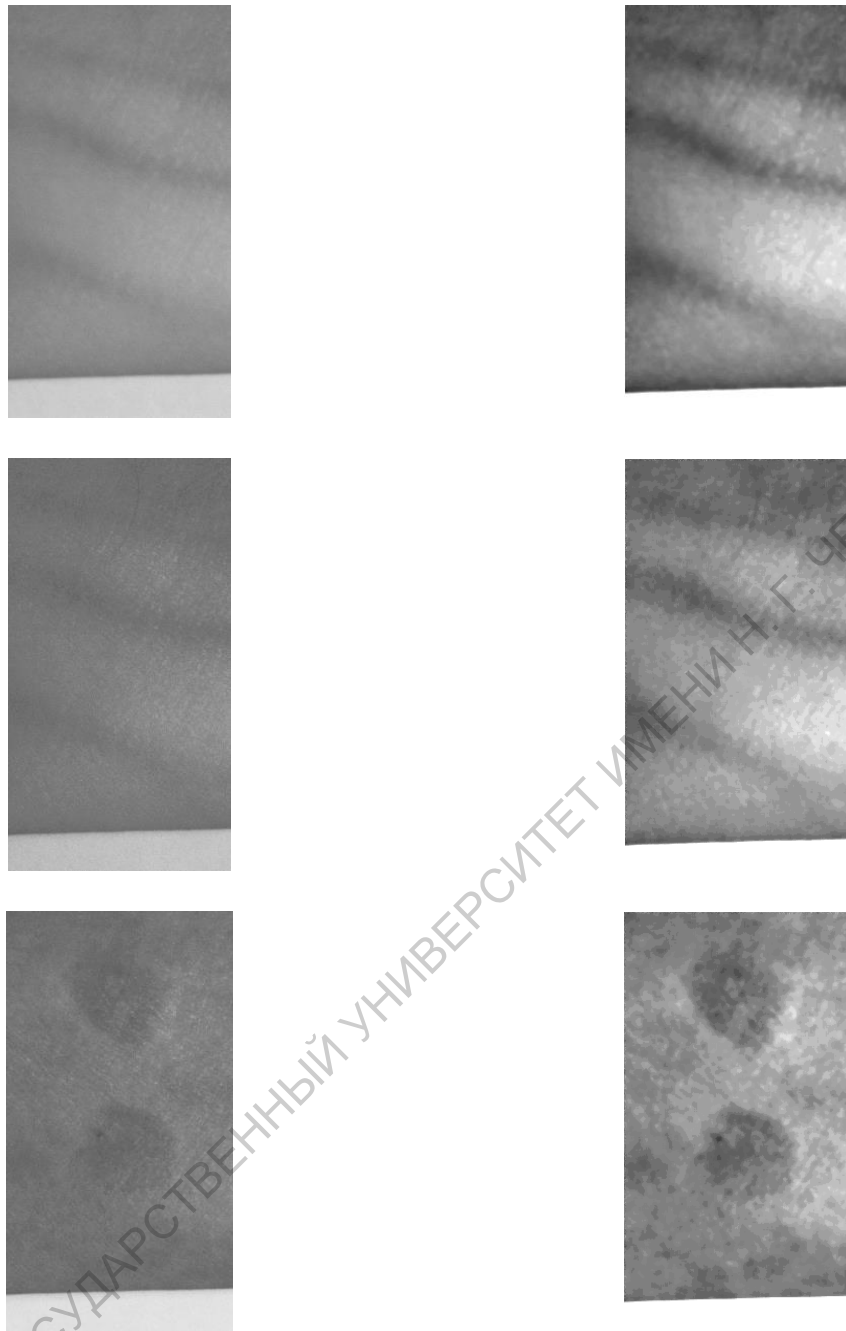


Рис. 7.3.1. Результат применения процедуры сглаживания монохромных изображений кожной поверхности.

Слева – исходные изображения, справа – сглаженные.

Сверху вниз: 690 нм, 630 нм и 550 нм

Если качество изображений, полученных в результате процедуры фильтрации (рис. 1), неудовлетворительно, то необходимо изменить порядок фильтра и повторить процедуру.

Следующим шагом является создание массивов, каждый элемент которых является коэффициентом отражения объекта.

Для этого на сглаженных изображениях выделяются области, соответствующие белой бумаге (на рис. 1 эти области в нижней части изображений). Усреднение значений яркости по элементам этих областей определит уровень белого света, то есть области с коэффициентом отражения, равным 100%.


```
white_690 := mean(white_690)
white_630 := mean(white_630)
white_550 := mean(white_550)
```

Получим значения

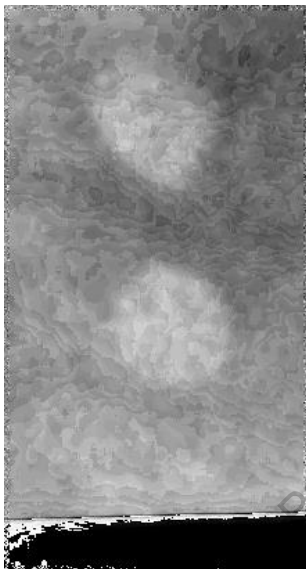
```
white_690 = 140.335
white_630 = 63.384
white_550 = 77.858
```

Теперь создаются матрицы коэффициентов отражения для трех изображений.

$$\text{reflect_690}_{i,j} := \frac{\text{smooth_image_690}_{i,j}}{\text{white_690}}$$

$$\text{reflect_630}_{i,j} := \frac{\text{smooth_image_630}_{i,j}}{\text{white_630}}$$

$$\text{reflect_550}_{i,j} := \frac{\text{smooth_image_550}_{i,j}}{\text{white_550}}$$



Исключаются точки, в которых коэффициент отражения больше 100% (такие точки могут быть следствием неравномерной засветки объекта).

```
reflect_690_{i,j} := if(reflect_690_{i,j} > 1, 1, reflect_690_{i,j})
reflect_630_{i,j} := if(reflect_630_{i,j} > 1, 1, reflect_630_{i,j})
reflect_550_{i,j} := if(reflect_550_{i,j} > 1, 1, reflect_550_{i,j})
```

На заключительном этапе рассчитывается матрица индексов меланина для анализируемого участка кожной поверхности.

$$\text{Eryt} := \left(\frac{\text{reflect_630}}{\text{reflect_550}} \right)^{1000} - \left[\lg \left(\frac{\text{reflect_690}}{\text{reflect_630}} \right) \frac{8000}{6} \right]$$

Результат приведен на рис.7.3.2.

Рис. 7.3.2. Изображение кожной поверхности. Параметр визуализации – индекс эритемы

***IN VIVO* ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ОТРАЖАТЕЛЬНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА**

Введение

Поляризационная визуализация кожной ткани является достаточно чувствительным методом выявления особенностей кожной поверхности и подповерхностных слоев кожной ткани. Поляризационная фотография нашла применение при оценке фотостарения кожи, эффективности лечения псориаза, пространственного распределения меланина и т. д. [1, 2]

Новые возможности поляризационного метода открываются, если исследуется спектральный состав поляризованных компонентов обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения. Одним из преимуществ отражательной спектроскопии кожи с использованием поляризованного излучения является возможность избирательного анализа хромофорного состава приповерхностных и глубинных слоев кожной ткани.

Излучение, отраженное от поверхности кожи и непосредственно прилегающему к ней слою, характеризующемуся малократным рассеянием, преимущественно сохраняет ориентацию поляризации падающего излучения. Спектральный состав этого излучения обусловлен объемом этого слоя, толщина которого не превышает длины деполяризации падающего на кожу линейно поляризованного излучения и для нормальной кожи не превышает толщины эпидермиса. Поэтому спектр данного компонента обусловлен в основном хромофорным составом эпидермального слоя кожи.

Излучение, обратно рассеянное глубоко залегающими слоями кожи, которые характеризуются многократным рассеянием света (диффузный компонент), является полностью деполяризованным. Так как это излучение формируется в глубине кожной ткани, то его спектральный состав сохраняет все особенности спектра отражения кожи при ее зондировании неполяризованным светом.

Это дает основание проводить исследование кожи с помощью простой техники путем отдельного измерения спектрального состава двух составляющих отраженного кожей излучения [12-14].

Методики поляризационной отражательной спектроскопии кожи

Спектральный состав степени поляризации обратно рассеянного кожей линейно поляризованного света

Степень поляризации P выходящего из кожи излучения определяется комбинацией двух компонентов обратно рассеянного кожей компонентов, поляризация которых параллельна поляризации падающего излучения (кополяризованный компонент, R_{PAR}) и перпендикулярна ей (кроссполяризованный компонент, R_{PER}):

$$P = \frac{R_{\text{PAR}} - R_{\text{PER}}}{R_{\text{PAR}} + R_{\text{PER}}}. \quad (8.1)$$

Кополяризованный компонент определяется суммарным вкладом излучения, отраженного от поверхности кожи и непосредственно прилегающему к ней слою, характеризующемуся малократным рассеянием и сохраняющим поляризацию падающего излучения, и излучения, обратно рассеянного глубоко залегающими слоями кожи, которые характеризуются многократным рассеянием света, результатом чего является его деполяризация. Кроссполяризованный компонент определяется только диффузным компонентом обратно рассеянного излучения, которое является полностью деполяризованным.

В рассеивающей среде, характеризующейся малым поглощением, вклад диффузного компонента как в R_{PAR} , так и в R_{PER} является доминирующим, поэтому степень поляризации обратно рассеянного излучения имеет малую величину. Увеличение поглощения среды приводит к тому, что длина оптического пути распространяющегося в среде света уменьшается, результатом чего является уменьшение вклада диффузного компонента в обратно рассеянное излучение. Это, в свою очередь, ведет к увеличению разности $R_{\text{PAR}} - R_{\text{PER}}$ в выражении (8.1) и соответствующему увеличению степени поляризации обратно рассеянного излучения [15, 16].

Поглощающие свойства кожи в видимом диапазоне спектра определяются двумя доминирующими хромофорами: эпидермальным меланином и гемоглобином дермальной крови. Эти хромофоры являются доминирующими в формировании особенностей спектра $R(\lambda)$ диффузного отражения кожи и спектра ее оптической плотности $OD(\lambda)$.

На рис. 8.1 приведены спектры оптической плотности кожи с эритемой разной степени (E – индекс эритемы). Вызванное эритемой увеличение поглощения в спектральной области поглощения гемоглобина приводит к увеличению степени поляризации обратно рассеянного кожей излучения, что наглядно иллюстрирует рис. 8.2. Более того, увеличение степе-

ни поляризации с уменьшением длины волны зондирующего излучения обусловлено наличием эпидермального меланина.

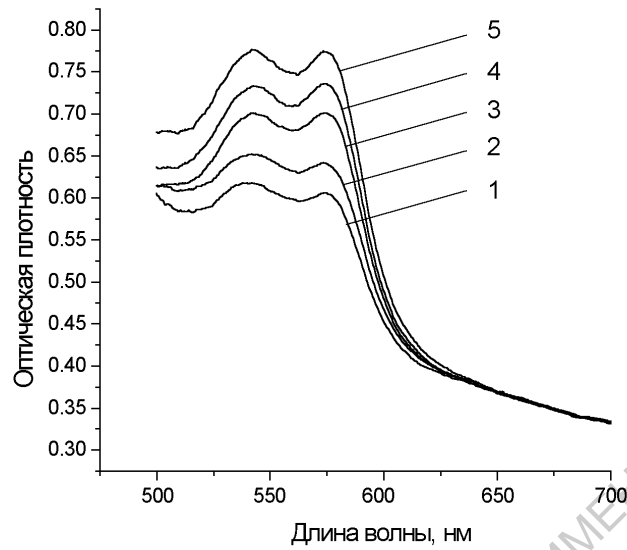


Рис. 8.1. Спектры оптической плотности кожи человека с эритемой разной степени:

1 – $E = 137$; 2 – $E = 157$; 3 – $E = 213$;
4 – $E = 249$; 5 – $E = 288$

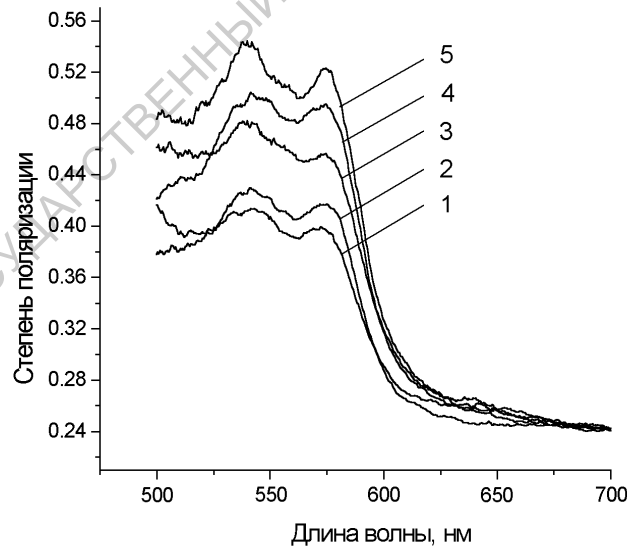


Рис. 8.2. Спектры степени поляризации излучения, отраженного кожей с эритемой разной степени:

1 – $E = 137$; 2 – $E = 157$; 3 – $E = 213$;
4 – $E = 249$; 5 – $E = 288$

Таким образом, из рисунков 8.1 и 8.2 видно, что спектральное распределение степени поляризации $P(\lambda)$ обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения аналогично спектру оптической плотности кожи и может служить характеристикой изменения хромофорного состава кожи.

*Поляризационный разностный спектр обратно рассеянного
кожей линейно поляризованного света*

Спектральный состав кополяризованного (R_{PAR}) и кросс-поляризованного (R_{PER}) компонентов выходящего из кожи излучения позволяет выделить информацию о хромофорном составе приповерхностного слоя кожной ткани. Эта информация содержится в поляризационном разностном спектре $\Delta R(\lambda)$, определяемом как разность спектров $R_{\text{PAR}}(\lambda)$ и $R_{\text{PER}}(\lambda)$:

$$\Delta R(\lambda) = R_{\text{PAR}}(\lambda) - R_{\text{PER}}(\lambda), \quad (8.2)$$

в формировании которого не участвует диффузный деполяризованный компонент.

Таким образом, разностная комбинация измеренных спектров двух компонентов отраженного кожей излучения позволяет судить о хромофорном составе приповерхностного слоя кожи, толщина которого определяется глубиной проникновения в кожу поляризованного света. Глубина проникновения поляризованного излучения внутрь кожи определяется ее рассеивающими и поглощающими свойствами и составляет величину порядка 150 - 200 мкм [1, 2], что сравнимо с толщиной эпидермиса.

На рис. 8.3 приведены поляризационные разностные спектры $\Delta R(\lambda)$ для участков нормальной кожи внутренней стороны предплечья и подногтевого ложа. Видно, что для кожи предплечья в разностном спектре поглощающие свойства крови не проявляются в отличие от кожной ткани ногтевого ложа, где эпидермис имеет меньшую толщину, следствием чего является проявление поглощения гемоглобина в разностном спектре.

К аналогичному эффекту приводит послойное удаление эпидермиса. На рис. 8.4 показана динамика изменения поляризационных разностных спектров кожи в процессе послойного удаления поверхностных слоев эпидермиса с использованием адгезионной пленки. Толщина оторванного слоя эпидермиса составляет величину порядка 2-3 мкм. Полосы поглощения оксигемоглобина (545 и 575 нм) проявляются в спектрах после осуществления 15-25 отрывов, что соответствует толщине удаления поверхностного слоя эпидермиса порядка 50-70 мкм.

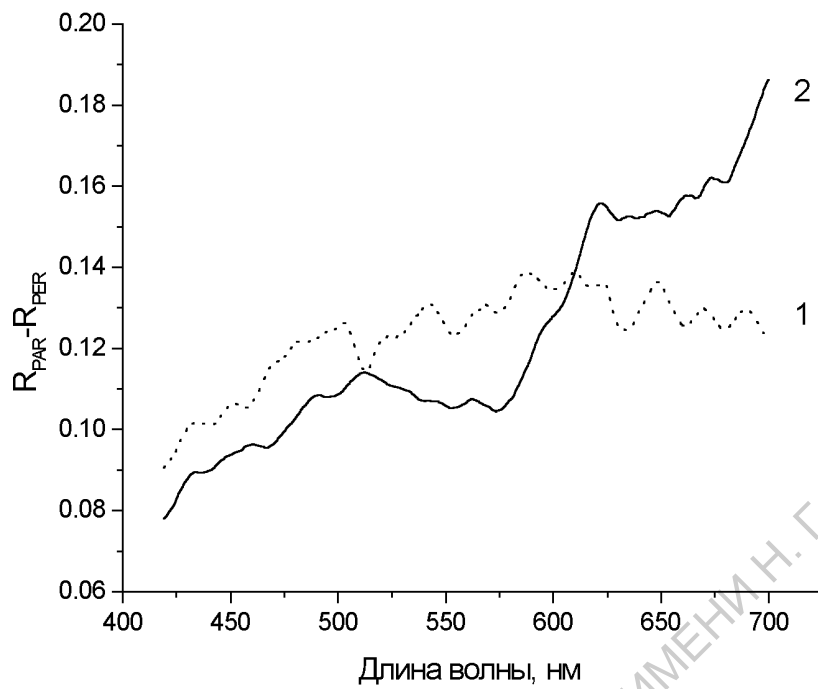


Рис. 8.3. Поляризационные разностные спектры участков кожи внутренней поверхности предплечья (1) и ногтевого ложа (2)

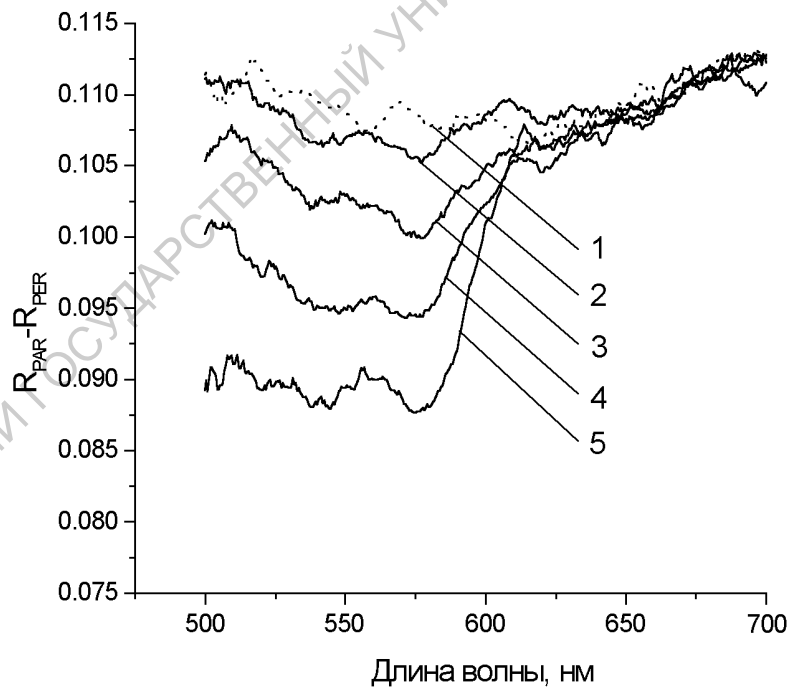


Рис. 8.4. Изменение разностных поляризационных спектров кожи по мере послойного удаления поверхностных слоев эпидермиса: 1 – нормальная кожа; 2 – 40 мкм; 3 – 50 мкм; 4 – 60 мкм; 5 – 70 мкм

По проявлению в разностном поляризационном спектре полос поглощения гемоглобина можно судить о толщине эпидермального слоя кожи, а точнее, о глубине залегания кровеносных сосудов в кожной ткани. В качестве количественной характеристики толщины эпидермиса (глубины залегания кровеносных сосудов) возможно использование параметра V , который показывает контраст проявления полос поглощения гемоглобина в разностном спектре:

$$V = \frac{\Delta R_{650} - \Delta R_{545}}{\Delta R_{650} + \Delta R_{545}} \quad (8.3a)$$

или

$$V = \frac{\Delta R_{650} - \Delta R_{575}}{\Delta R_{650} + \Delta R_{575}} \quad (8.3b)$$

В соотношениях (8.3) индексы обозначают длины волн в нм, соответствующие полосам поглощения оксигемоглобина (545 и 575 нм) и области, где поглощение гемоглобина мало (650 нм).

Представленные результаты демонстрируют перспективность использования метода поляризационной отражательной спектроскопии для диагностики состояния кожной ткани, в частности, для оценки глубины залегания и кровенаполненности дермальных кровеносных сосудов.

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ формирования поляризационного спектра диффузного отражения кожи человека; практическое ознакомление с методами исследования состояния кожной ткани в состоянии *in vivo*, основанными на принципах поляризационной отражательной спектроскопии кожи.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: исследование влияния кровенаполненности кровеносных сосудов дермы (эритематозная кожа) и толщины эпидермиса на поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного света.

Практическая часть

Описание установки

Измерение спектров отражения проводится на установке, схема которой приведена на рис. 8.5. Излучение широкополосного источника света I (галогеновая лампа мощностью 200 Вт) доставляется к исследуемому объекту с помощью нормально расположенного относительно поверхно-

сти кожи волоконно-оптического световодного жгута 2, на выходном конце которого закреплен широкополосный поляризационный фильтр 4, после прохождения которого свет становится линейно поляризованным. Диаметр освещаемого участка поверхности составляет 8 мм. Сбор отраженного кожей излучения осуществляется с помощью волоконно-оптического жгута 3, на входном конце которого располагался поляризационный фильтр 5 с возможностью изменения его ориентации (параллельной или ортогональной) относительно поляроида, расположенного на облучающем световоде.

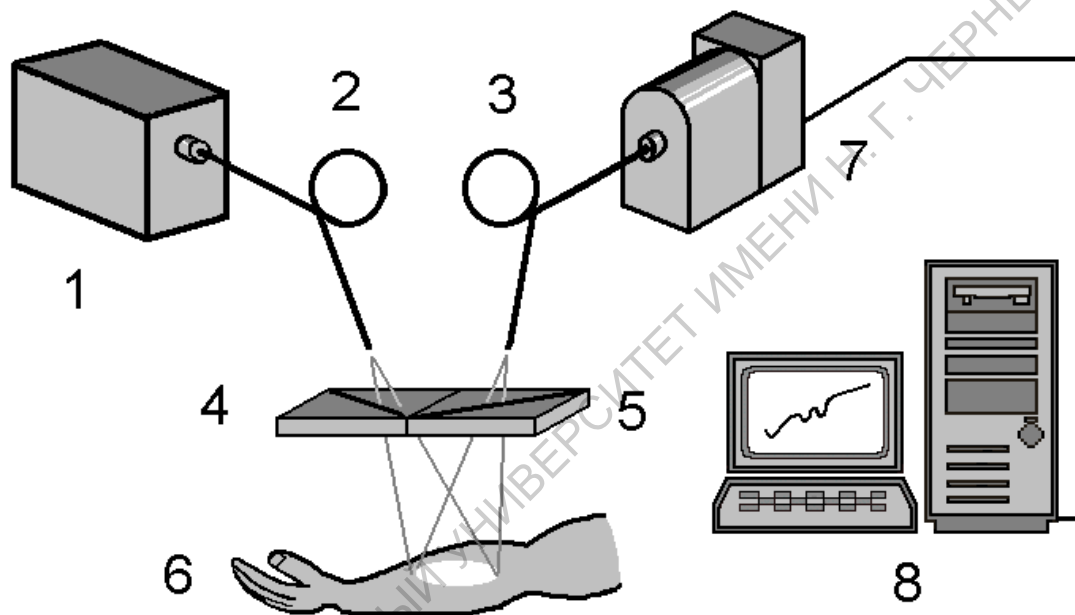


Рис. 8.5. Схема экспериментальной установки: 1 – источник белого света (галогеновая лампа); 2 – волоконно-оптический жгут; 3 – волоконно-оптический жгут; 4,5 – поляризационные фильтры; 6 – исследуемый объект; 7 – ОМА; 8 – персональный компьютер

С целью исключения попадания в приемную систему зеркально отраженного от объекта 6 света, приемный волоконно-оптический жгут располагается под углом $\sim 20^\circ$ по отношению к нормали к поверхности кожи. Дистальный конец приемного световодного жгута был сопряжен с миниатюрным волоконно-оптическим спектрометром 7 USB2000 (Ocean Optics, США), сопряженным с персональным компьютером 8.

Объект исследований

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека.

Исследование влияние содержания крови на поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения проводится путем измерения и анализа спектров кополяризованного и кроссполяризованного компонентов отраженного излучения нормальной кожей, кожей с наведенной эритемой и кожей в процессе послойного удаления поверхностных слоев эпидермиса.

Искусственная эритема разной степени создается в коже предплечья в результате ее облучения светом УФА диапазона (методика облучения кожи с использованием биодозиметра Горбачева-Дарфельда изложена в описании к лабораторной работе № 2).

Для удаления поверхностных слоев эпидермиса использована технология кожных отрывов с помощью адгезионной пленки. Толщина удаляемых слоев эпидермиса при этом составляет приблизительно 2-3 мкм.

Степень эритемы контролируется с помощью эритема-меланиметра (см. описание к лабораторной работе № 2).

Практические задания

Задание 1. Измерение поляризационных спектров отражения нормальной кожи человека.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектр диффузного отражения реперного объекта (BaSO₄). Для этого необходимо установить поляризационный фильтр в волоконно-оптическом датчике таким образом, чтобы объект освещался линейно поляризованным светом, а приемным световодным жгутом соби-
рались оба рассеянных компонента.

2. Установить датчик на кожной поверхности предплечья.

3. Измерить спектры кополяризованного ($R_{PAR}(\lambda)$) и кросс-поляризованного ($R_{PER}(\lambda)$) компонентов отраженного кожей излучения. Измерение спектров осуществляется при двух положениях поляризационного фильтра: спектр $R_{PAR}(\lambda)$ регистрируется при положении фильтра, когда освещающий кожу и отраженный от нее свет проходят через участок поляризационного фильтра с одной ориентацией поляризации, а спектр $R_{PER}(\lambda)$ – когда падающий на кожу и отраженный от нее свет проходят через участки поляризационного фильтра с взаимно ортогональными поляризациями.

4. С помощью полученных спектров сформировать суммарный $R_{\Sigma}(\lambda)$ ($R_{\Sigma}(\lambda) = R_{PAR}(\lambda) + R_{PER}(\lambda)$) спектр диффузного отражения кожи*.

5. Рассчитать спектр OD(λ) оптической плотности кожи согласно выражению $OD(\lambda) = \lg \left(\frac{1}{R_{\Sigma}(\lambda)} \right)$.

* Обработку спектров проводить в приложении **Origin**.

6. Сформировать спектр степени поляризации $P(\lambda)$ и разностный поляризационный спектр $\Delta R(\lambda)$, определенные выражениями (8.1) и (8.2).

7. Проанализировать полученные результаты.

Задание 2. Исследование влияния содержания крови в коже на поляризационные характеристики отраженного кожей линейно поляризованного излучения.

Порядок выполнения задания.

1. Закрепить на предплечье биодозиметр.
2. Включить ртутную лампу и после ее прогрева в течение 15 мин облучить участки предплечья в течение 1 мин, 3 мин, 5 мин и 7 мин^{**}. Расстояние от лампы до кожной поверхности должно составлять величину 30 см.

3. Измерить индексы эритемы кожи выбранного участка нормальной кожи и четырех участков кожи с эритемой разной степени.

4. Измерить спектры $R_{\text{PAR}}(\lambda)$ и $R_{\text{PER}}(\lambda)$ диффузного отражения кожи с участка нормальной кожи и четырех участков эритематозной кожи.

5. Сформировать суммарные $R_{\Sigma}(\lambda)$ спектры диффузного отражения кожи.

6. По полученным спектрам $R_{\Sigma}(\lambda)$ рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению $OD(\lambda) = \lg \left(\frac{1}{R_{\Sigma}(\lambda)} \right)$.

7. Сформировать разностные $\Delta R(\lambda)$ поляризационные спектры и спектры степени поляризации $P(\lambda)$ согласно соотношениям (8.1) и (8.2).

8. Построить зависимости оптической плотности кожи и степени поляризации обратно рассеянного излучения на длинах волн $\lambda = 545$ нм и $\lambda = 575$ нм от индекса эритемы.

9. Согласно соотношениям (8.3) рассчитать контраст V проявления полос поглощения гемоглобина в разностных поляризационных спектрах нормальной кожи и кожи с разной степенью эритемы.

10. Построить зависимость контраста V от степени эритемы.

11. Проанализировать полученные результаты.

Задание 3. Исследование влияния толщины эпидермиса на поляризационные характеристики отраженного кожей линейно поляризованного излучения.

Порядок выполнения задания.

1. Измерить спектры $R_{\text{PAR}}(\lambda)$ и $R_{\text{PER}}(\lambda)$ диффузного отражения кожи с выбранного участка нормальной кожи предплечья.

2. Измерить индекс эритемы кожи выбранного участка нормальной кожи.

^{**} В работе исследуется кожа с 24-часовой эритемой, поэтому облучение кожи следует проводить накануне выполнения лабораторной работы.

3. Измерить спектры $R_{\text{PAR}}(\lambda)$ и $R_{\text{PER}}(\lambda)$ кожи в процессе последовательных удалений с помощью адгезионной пленки поверхностных слоев эпидермиса с выбранного участка кожной поверхности. Рекомендуемый интервал измерений – пять отрывов.

4. Каждое измерение спектров отражения сопровождать измерением индекса эритемы кожи.

5. Сформировать суммарные $R_{\Sigma}(\lambda)$ спектры диффузного отражения кожи.

6. По полученным спектрам $R_{\Sigma}(\lambda)$ рассчитать спектры $OD(\lambda)$ оптической плотности кожи согласно выражению $OD(\lambda) = \lg \left(\frac{1}{R_{\Sigma}(\lambda)} \right)$.

7. Сформировать разностные $\Delta R(\lambda)$ поляризационные спектры и спектры степени поляризации $P(\lambda)$ согласно соотношениям (8.1) и (8.2).

8. Построить зависимости оптической плотности кожи и степени поляризации обратно рассеянного излучения на длинах волн $\lambda = 545$ нм и $\lambda = 575$ нм от числа отрывов и индекса эритемы.

9. Согласно соотношениям (8.3) рассчитать контраст V проявления полос поглощения гемоглобина в разностных поляризационных спектрах нормальной кожи и кожи с разной толщиной эпидермиса.

10. Построить зависимость контраста V от числа отрывов и степени эритемы.

11. Проанализировать полученные результаты.

САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНА НЕКТОРА ПЕРВЫШЕВСКОГО

ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Введение

При зондировании кожи линейно поляризованным излучением отраженный кожей свет является частично поляризованным, при этом поляризацию обеспечивает свет, отраженный от поверхности и приповерхностного слоя кожи. Это связано с тем, что излучение, обратно рассеянное разными слоями кожи, имеет разную степень поляризации: излучение, рассеянное приповерхностным слоем кожи, остается поляризованным, в то время как излучение, выходящее из глубоких слоев, деполаризовано.

Метод поляризационной визуализации кожи основан на анализе пространственного распределения поляризационных характеристик отраженного кожей линейно поляризованного излучения.

Реализация этого метода достаточно проста. Один поляризационный фильтр помещается непосредственно перед источником освещения, а другой – перед регистрирующим устройством (фото- или видеокамера), при этом ориентация второго поляроида либо параллельна, либо перпендикулярна ориентации первого поляроида.

В качестве параметра визуализации возможно использование интенсивности компонентов обратно рассеянного излучения, измеренных при параллельной или ортогональной ориентации поляроидов, их разности или степени поляризации отраженного света. Соответственно и практическая реализация метода имеет вариации.

Полученное при параллельно ориентированных поляроидах изображение кожи позволяет получить информацию о состоянии кожной поверхности и приповерхностном слое.

Ортогональная ориентация поляроидов устраняет на изображении кожи особенности ее поверхности (чешуйчатость, морщины, поры и т.д.), в результате чего возможна оценка пространственного распределения меланина, эритемы или области распространения воспалительного заболевания кожи.

Основным преимуществом поляризационной визуализации является то, что изображения кожи, в которых акцент сделан на выявление особенностей кожной поверхности или особенностей приповерхностных слоев кожи, могут быть получены без изменения условий эксперимента. Для достижения хорошего качества изображений нет необходимости менять источник освещения, угол освещения кожи или угол наблюдения.

Распространение линейно поляризованного излучения в рассеивающей среде

*Статистика эффективных оптических полей парциальных
составляющих рассеянного поля: феноменологический подход
к описанию рассеивающих сред*

Многократное рассеяние линейно поляризованного когерентного излучения в неупорядоченных средах приводит к формированию сложной пространственной поляризационной структуры рассеянного поля, формируемой в результате суперпозиции его парциальных составляющих с различными состояниями поляризации. Характерный пространственный масштаб (длина корреляции) флуктуаций состояния поляризации рассеянного поля при этом сопоставим с размерами области корреляции пространственных флуктуаций интенсивности рассеянного поля (или средним размером спеклов). В случае некогерентных источников излучения пространственная поляризационная структура рассеянного поля усредняется.

Статистический анализ пространственно-временных флуктуаций интенсивности рассеянного света с учетом их состояния поляризации в большинстве представляющих практический интерес случаев может быть осуществлен с использованием "квазискалярного" подхода, когда рассеянное поле интерпретируется как результат наложения статистически независимых и различным образом поляризованных составляющих (спекл-полей). При этом если рассеивающая среда возбуждается линейно поляризованным когерентным световым пучком, то в качестве составляющих рассеянного поля обычно рассматриваются линейно поляризованная составляющая, совпадающая по направлению поляризации с зондирующим пучком (ко-поляризованный компонент рассеянного поля), и линейно поляризованная составляющая с ортогональным направлением поляризации (кросс-поляризованный компонент) [12-14].

При использовании линейно поляризованного освещающего пучка «деполяризующие» свойства рассеивающей среды могут быть описаны таким параметром, как степень поляризации рассеянного излучения, вводимой в форме

$$P = \frac{\langle I_{\parallel} \rangle - \langle I_{\perp} \rangle}{\langle I_{\parallel} \rangle + \langle I_{\perp} \rangle}, \quad (9.1)$$

где $\langle I_{\parallel} \rangle$ и $\langle I_{\perp} \rangle$ – средние значения интенсивности линейно поляризованных составляющих рассеянного поля с взаимно ортогональными направлениями вектора поляризации.

Составляющая рассеянного поля с индексом « \parallel » с направлением вектора поляризации, соответствующим его направлению в освещающем

пучке, может быть условно названа «ко-поляризованной» составляющей, а ортогонально поляризованная составляющая (с индексом « \perp ») – соответственно «кросс-поляризованной» составляющей.

С позиций феноменологического описания процесса многократного рассеяния, возникновение составляющей рассеянного поля с альтернативным состоянием поляризации (кросс-поляризованной в случае линейной поляризации освещающего пучка) может быть интерпретировано как результат перераспределения потока энергии между составляющими рассеянного поля, характеризуемыми различными значениями эффективного оптического пути s в случайно-неоднородной среде. При этом скорость релаксации исходного состояния поляризации определяется характерным масштабом рассеивающей среды ("длиной деполяризации"), зависящим от оптических характеристик рассеивающих центров и их концентрации.

Максимальное различие наблюдаемых характеристик составляющих рассеянного поля с различными состояниями поляризации в случае оптически плотных сред имеет место в случае детектирования рассеянного назад излучения, что является очевидным проявлением различия эффективных оптических путей s для парциальных составляющих, соответствующих двум состояниям поляризации: кополяризованный компонент формируется в результате суперпозиции составляющих с малыми значениями s , в то время как кроссполяризованный – благодаря "диффузионному" режиму распространения излучения в среде.

При наблюдении рассеянного поля в проходящем свете существенные различия в свойствах кополяризованной и кроссполяризованной составляющих имеют место в области перехода от многократного к однократному режиму рассеяния, когда $\langle s \rangle \sim L$, где L – характерный размер рассеивающей среды.

Феноменологический подход* к статистическому описанию ансамблей парциальных составляющих оптических полей, формируемых при многократном рассеянии излучения в неупорядоченных средах, предполагает использование функции плотности вероятности эффективных оптических путей $\rho(s)$ парциальных составляющих рассеянного поля как универсальной характеристики рассеивающей среды, определяемой ее оптическими параметрами и геометрией рассеяния.

В рамках феноменологического подхода интенсивности кополяризованной и кроссполяризованной составляющих рассеянного поля могут быть представлены в форме интегральных преобразований $\rho(s)$:

$$\langle I_{\parallel} \rangle \sim \frac{1}{2} \int_0^{\infty} \left[1 + \exp\left(-\frac{s}{\xi}\right) \right] \rho(s) ds;$$

* Более детально рассматриваемый подход изложен в работах [12-18].

$$\langle I_{\perp} \rangle \sim \frac{1}{2} \int_0^{\infty} \left[1 - \exp\left(-\frac{s}{\xi}\right) \right] \rho(s) ds, \quad (9.2)$$

где ξ – длина деполяризации. Данный параметр характеризует пространственный масштаб («длину деполяризации») многократно рассеивающей среды и определяет скорость релаксации исходного состояния поляризации зондирующего пучка при его распространении в среде.

Таким образом, в рамках рассматриваемого феноменологического подхода степень поляризации рассеянного излучения может быть представлена в форме

$$P = \frac{\int_0^{\infty} \exp(-s/\xi) \rho(s) ds}{\int_0^{\infty} \rho(s) ds}. \quad (9.3)$$

В качестве обобщенной оптической характеристики рассеивающей среды, от которой зависит функция плотности вероятности $\rho(s)$, обычно рассматривается транспортная длина l^* ($l^* = l/(1-g)$, где l – длина рассеяния, обратно пропорциональная коэффициенту рассеяния μ_s , g – параметр анизотропии рассеяния). Транспортная длина может быть определена как характерный масштаб рассеивающей среды, соответствующий стохастизации направления распространения парциальных составляющих рассеянного поля. В случае, когда характерный размер рассеивающей среды существенно превышает транспортную длину ($L \gg l^*$), анализ статистики эффективных оптических путей может быть осуществлен в рамках диффузионного приближения.

На рис. 9.1 приведены функции плотности вероятности $\rho(s)$ для случая модельной макроскопически однородной рассеивающей среды без поглощения в форме плоского слоя толщиной $L = 40$ мм. Из рис. 9.1 видно, как изменяется статистика эффективных оптических путей при увеличении рассеивающих свойств среды: увеличение рассеивающих свойств среды (уменьшение транспортной длиной рассеяния l^*) приводит к увеличению вклада в прошедшее через среду излучение парциальных составляющих с большими оптическими путями. Следствием этого является уменьшение интенсивности кополяризованной составляющей и увеличение интенсивности кроссполяризованной составляющей прошедшего через среду излучения и, как результат, уменьшение его степени поляризации.

Скорость релаксации исходного состояния поляризации зондирующего пучка при его распространении в среде определяется параметром ξ , который сложным образом зависит от транспортной длины рассеивающей среды.

В частности, для монодисперсных многократно рассеивающих систем, состоящих из сферических частиц, параметр ξ имеет максимальное значение в случае, когда дифракционный параметр рассеивающих частиц ka (k – волновое число зондирующего излучения, a – характерный размер рассеивающих центров) приблизительно находится в области первого максимума зависимости сечения рассеяния от ka для непоглощающих сферических частиц, рассчитанной по теории Ми.

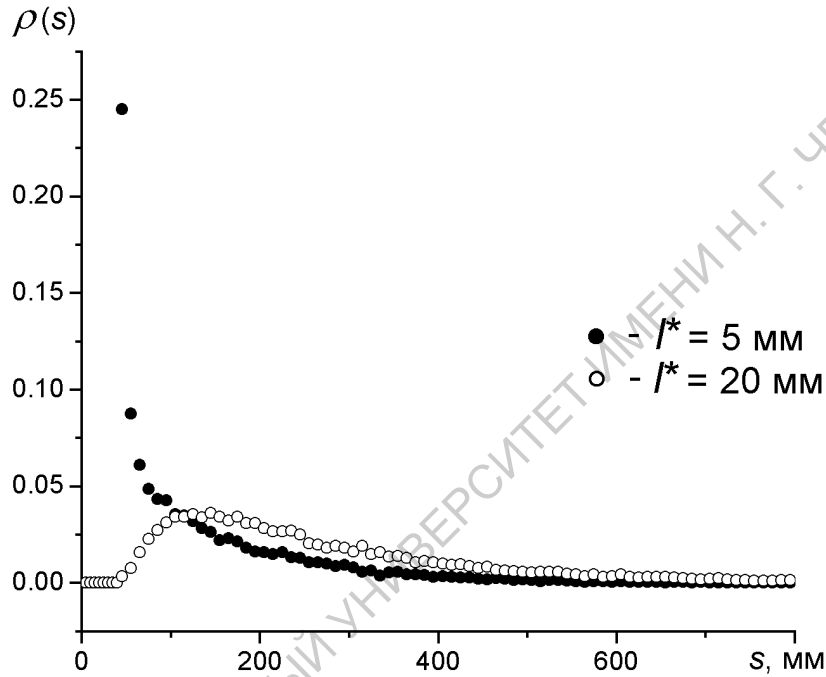


Рис. 9.1. Функции плотности вероятности эффективных оптических путей для случая модельной рассеивающей среды в форме плоского слоя толщиной $L = 40$ мм

На рис. 9.2 приведены в полулогарифмических координатах зависимости степени поляризации P от параметра L/l^* при различных значениях длины деполяризации ξ для диффузионного режима распространения излучения в модельной среде в форме слоя.

Близкая к линейной форма теоретических зависимостей $\lg P = f(L/l^*)$ для различных $K = \xi/l^*$ в области значений $P \leq 0.75 \div 0.85$ соответствует наблюдаемой в экспериментах с многократно рассеивающими модельными средами экспоненциальной релаксации степени поляризации зондирующего излучения по мере его распространения в рассеивающей среде.

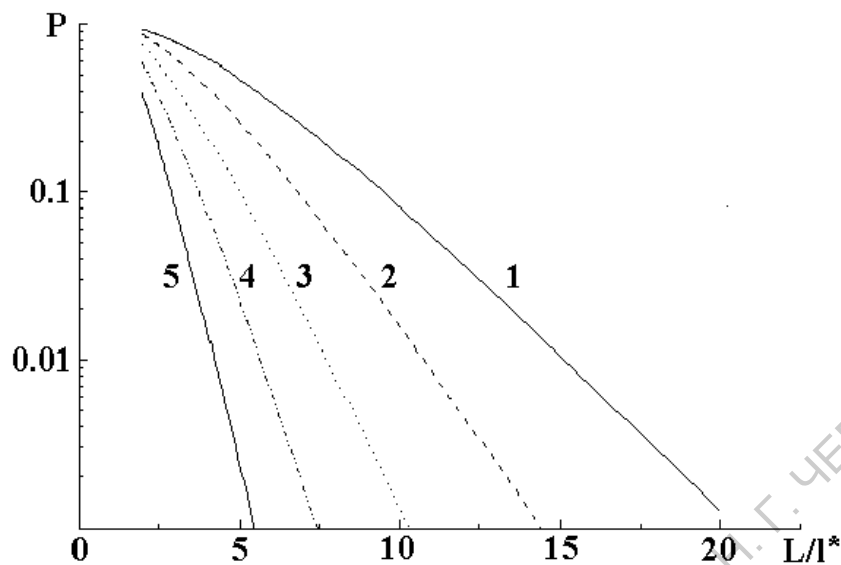


Рис. 9.2. Теоретические зависимости степени поляризации излучения, прошедшего слой многократно рассеивающей среды толщиной L , от параметра L/l^* при различных значениях длины деполаризации. 1 – $\xi = 10l^*$; 2 – $\xi = 5l^*$; 3 – $\xi = 2.5l^*$; 4 – $\xi = 1.25l^*$; 5 – $\xi = 0.63l^*$

Значение K зависит от дифракционного параметра рассеивающих центров ka .

В случае детектирования излучения, рассеянного вперед слоем многократно рассеивающей среды, ξ возрастает с ростом ka при переходе от “релеевского” рассеяния рассеивающими центрами ($ka \ll 1$) к режиму рассеяния Ми, достигая значений $\approx (8 \div 9)l$ в области первого резонанса Ми на зависимости сечения рассеяния рассеивающих центров от дифракционного параметра ka .

В случае детектирования обратно рассеянного излучения при освещении многократно рассеивающих сред линейно поляризованным светом максимальное значение ξ наблюдается для систем рассеивающих частиц с $ka \ll 1$. С ростом дифракционного параметра рассеивающих центров длина деполаризации ξ уменьшается, т.е. многократное рассеяние системами крупных частиц приводит к более эффективной деполаризации распространяющегося линейно поляризованного излучения по сравнению с “релеевскими” рассеивающими системами.

*Влияние поглощения многократно рассеивающей среды
на степень остаточной поляризации обратно рассеянного света*

Объяснение поляризационных свойств рассеянного излучения на основе статистики эффективных оптических путей позволяет установить фундаментальный факт существования остаточной поляризации при обратном рассеянии поляризованного излучения [15, 16]. Наличие остаточной поляризации обусловлено специфическими условиями формирования рассеянного оптического поля в случае обратного рассеяния, когда весьма существенен вклад малократно рассеянных парциальных составляющих с характерными расстояниями распространения в среде порядка $s \sim l^*$.

Дополнительное поглощение зондирующего излучения в рассеивающей среде будет приводить к отсечке парциальных составляющих рассеянного поля, характеризуемых значениями оптического пути $s > \mu_a^{-1}(\lambda)$, где $\mu_a(\lambda)$ – значение коэффициента поглощения рассеивающей среды на длине волны зондирующего излучения.

Таким образом, дополнительное возрастание относительных вкладов парциальных составляющих с $s < \mu_a^{-1}(\lambda)$ должно проявляться в возрастании степени остаточной поляризации обратно рассеянного излучения при увеличении μ_a . При использовании немонахроматического поляризованного излучения для зондирования сред, характеризуемых селективным поглощением, спектральная зависимость степени остаточной поляризации должна характеризоваться существованием максимумов в полосах поглощения рассеивающей среды.

Приближенное аналитическое выражение, описывающее взаимосвязь между степенью остаточной линейной поляризации P и коэффициентом поглощения μ_a рассеивающей среды может быть получено путем введения дополнительного бугеровского множителя, описывающего “отсечку” парциальных составляющих, характеризуемых большими значениями s , и соответствующей модификацией выражения (9.3):

$$P(\mu_a) \approx \frac{\int_0^{\infty} f(s, \xi) \exp(-\mu_a s) \rho(s, \mu_a) ds}{\int_0^{\infty} \exp(-\mu_a s) \rho(s, \mu_a) ds}, \quad (9.4)$$

в которой учтено изменение условия нормализации плотности вероятности оптических путей в случае существования дополнительного поглощения в рассеивающей среде.

Ядро интегрального преобразования $f(s, \xi)$ в выражении (9.4) можно взять в форме $f(s, \xi) \approx 1.5 \exp(-s/\xi)$, получаемой в результате анализа при-

ближенного решения уравнения Бете-Солпитера для случая распространения в неупорядоченной среде линейно поляризованного излучения. Тогда из (9.4) получаем:

$$P(\mu_a) \approx 1.5 \frac{\int_0^{\infty} \exp\left(-\frac{s}{\xi} - \mu_a s\right) \rho(s) ds}{\int_0^{\infty} \exp(-\mu_a s) \rho(s) ds}. \quad (9.5)$$

В случае детектирования обратно рассеянного излучения в условиях многократного рассеяния плоской электромагнитной волны неупорядоченной средой интегральное преобразование $\rho(s)$ вида $\int_0^{\infty} \exp(-s/s') \rho(s) ds$ может быть приближенно описано следующим эмпирическим соотношением:

$$\int_0^{\infty} \exp(-s/s') \rho(s) ds \approx \exp\left(-\gamma \sqrt{\frac{3l^*}{s'}}\right), \quad (9.6)$$

где γ – параметр, зависящий от так называемой длины экстраполяции для рассеивающей среды ($\gamma \approx 2$).

Проводя преобразования выражения (9.5) с учетом (9.6), получим окончательно приближенную формулу для степени остаточной поляризации обратно рассеянного излучения в условиях многократного рассеяния плоской линейно поляризованной волны неупорядоченной средой:

$$P(\mu_a) \approx 1.5 \exp\left\{-\gamma \left(\sqrt{\frac{3l^* (1 + \mu_a \xi)}{\xi}} - \sqrt{3l^* \mu_a} \right)\right\}. \quad (9.7)$$

На рис. 9.3 представлены теоретические зависимости P от безразмерного параметра $\mu_a l^*$ при обратном рассеянии плоской линейно поляризованной монохроматической волны полубесконечной неупорядоченной средой, состоящей из диэлектрических сферических частиц с существенно различающимися значениями дифракционного параметра ka и относительным показателем преломления, равным 1.2. Значения нормированной длины деполаризации ξ/l^* приняты равными: $\xi/l^* \approx 1$ для крупных рассеивающих частиц (режим рассеяния Ми, $ka \gg 1$) и $\xi/l^* \approx 4$ для “релеевских” частиц с $ka \ll 1$.

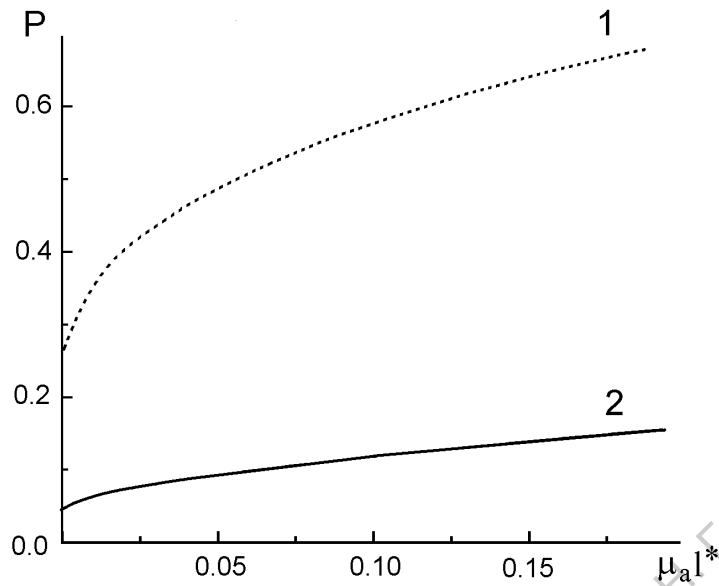


Рис. 9.3. Теоретические зависимости степени остаточной поляризации P обратно рассеянного излучения от безразмерного параметра $\mu_a l^*$ при освещении полубесконечной многократно рассеивающей среды плоской монохроматической линейно поляризованной световой волной:

- 1 – среда, состоящая из “релеевских” частиц;
- 2 – среда, состоящая из частиц с $ka \gg 1$

При зондировании неупорядоченных рассеивающих сред немонохроматическим линейно поляризованным светом спектральные зависимости степени остаточной поляризации рассеянного назад излучения контролируются, с одной стороны, влиянием длины волны на ξ и l^* и, с другой стороны, зависимостью от λ коэффициента поглощения рассеивающей среды. Селективное поглощение рассеивающей среды, обусловленное наличием определенных хромофоров, должно приводить к возрастанию степени остаточной поляризации обратно рассеянного излучения в спектральных интервалах, соответствующих полосам поглощения хромофоров.

Поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения

Применительно к коже основные выводы из рассмотренной феноменологической модели распространения поляризованного излучения можно сформулировать в следующем виде:

1. В видимом диапазоне спектра среднее значение коэффициента рассеяния составляет величину порядка $\mu_s \cong 60 \text{ мм}^{-1}$, параметр анизотропии $g \cong 0.85$. Это позволяет оценить транспортную длину l^* как величину

порядка 100 мкм. В кожной ткани доминирующим является анизотропное рассеяние света на крупных частицах (рассеяние ми), характеризующееся сильной направленностью однократно рассеянных фотонов. Принимая во внимание, что размеры рассеивателей в эпидермисе превышают длину волны излучения видимого диапазона ($ka > 1$), можно сделать вывод, что максимальное значение длины депolarизации ξ может составлять величину порядка 300 мкм и более.

2. В случае детектирования обратно рассеянного кожей излучения при освещении ее линейно поляризованным светом максимальное значение ξ уменьшается до величины порядка l^* .

3. При зондировании кожи линейно поляризованным излучением имеет место факт существования остаточной поляризации при обратном рассеянии поляризованного излучения.

4. Наличие в кожной ткани сильных хромофоров (меланина в эпидермисе и гемоглобина дермальной крови) должно приводить к возрастанию степени остаточной поляризации обратно рассеянного излучения в спектральных интервалах, соответствующих полосам поглощения хромофоров.

Методики поляризационной визуализации кожи

Использование в качестве параметров визуализации интенсивностей кополяризованного и кроссполяризованного компонентов обратно рассеянного линейно поляризованного излучения

Полученное при параллельно ориентированных поляроидах изображение кожи позволяет получить информацию об особенностях кожной поверхности: ее чешуйчатости, наличии и характере морщин, состояния пор и т. д., так как отраженный от поверхности кожи свет сохраняет состояние поляризации зондирующего излучения.

Ортогональная ориентация поляроидов дает возможность анализа пространственного распределения меланина, эритемы, области воспалительной реакции, состояния кровеносных сосудов: капиллярной сети в дерме кожи и крупных подкожных кровеносных сосудов, так как в изображении отсутствует кополяризованный компонент, сформированный отраженным от поверхности кожи излучением.

Цветные поляризационные изображения поверхности кожи могут использоваться для компьютерного анализа "текстуры" картинкой путем выбора отдельных цветовых составляющих изображения (R, G или B-компонента) или их аддитивной смеси. Выбор цветовой составляющей производится с учетом спектральных различий между различными участками кожной поверхности.

В частности, для контрастного выделения капиллярной сети дермальных сосудов, эритемных областей, областей воспалительных или аллергических реакций, характеризующихся красноватым оттенком, выбирается зеленый компонент видеоизображения. Для визуализации крупных подкожных венозных сосудов, имеющих голубоватый оттенок, выбирается красный компонент видеоизображения. При наличии патологий кожной поверхности выбирается цветовая координата (или их аддитивная комбинация) изображения, при которой наиболее отчетливо проявляются различия между участками нормальной кожи и кожи с патологией.

Контрастное выделение на видеоизображении кожной поверхности участка с патологическими изменениями, полученном при параллельно или ортогонально ориентированных поляроидах, позволяет с помощью методики, изложенной в лабораторной работе № 7, определить его форму, рассчитать его площадь и проследить динамику изменения его формы и размеров.

Для получения кополяризованных и кроссполяризованных изображений кожной поверхности возможно использование монохромных видеокамер. В этом случае установка перед объективом видеокамеры интерференционного светофильтра соответствующего спектрального диапазона обеспечивает контрастное изображение объекта исследования.

*Использование в качестве параметра визуализации
степени поляризации обратно рассеянного линейно
поляризованного излучения*

Наличие хромофоров в рассеивающей среде приводит к увеличению степени поляризации обратно рассеянного средой линейно поляризованного излучения, при этом спектральное распределение степени поляризации $P(\lambda)$ обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения аналогично спектру оптической плотности кожи и может служить характеристикой изменения хромофорного состава кожи.

В видимом диапазоне спектра характер спектральной зависимости оптической плотности кожи определяется двумя доминирующими хромофорами: эпидермальным меланином и гемоглобином дермальной крови. Выбор узкого спектрального диапазона, в котором доминирует тот или иной хромофор, позволяет исследовать пространственное распределение данного хромофора в кожной ткани.

Визуализации распределения крови (гемоглобина) возможна путем получения двух изображений кожной поверхности (при параллельно и ортогонально ориентированных поляроидах) в узкой спектральной области вблизи максимума поглощения гемоглобина ($\lambda \sim 550$ нм). Последующая компьютерная обработка изображений, в результате которой получается новое изображение кожной поверхности, где параметром визуализации

является степень остаточной поляризации обратно рассеянного кожей излучения, дает возможность оценки пространственного распределения концентрации крови в объеме кожной ткани: крови больше там, где выше степень поляризации обратно рассеянного излучения.

Подобным образом возможна оценка пространственного распределения в коже меланина. Отличие заключается в выборе спектрального диапазона, который должен характеризоваться доминирующим поглощением пигмента. Меланин поглощает практически во всем видимом диапазоне с максимумом, приходящим на коротковолновую часть спектра. Поэтому подходящими диапазонами спектра для получения монохромных изображений кожи являются синий ($\lambda \sim 460$ нм) и красный ($\lambda > 650$ нм). В настоящей лабораторной работе выбран второй диапазон, что обусловлено спектральной зависимостью чувствительности ПЗС матрицы видеокамеры.

Ц е л ь р а б о т ы: изучение основ распространения линейно поляризованного света в рассеивающей среде с поглощением (феноменологическая модель); изучение основ формирования поляризационного спектра диффузного отражения кожи человека; практическое ознакомление с методами *in vivo* поляризационной визуализации кожной ткани.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы: исследование влияния кровенаполненности кровеносных сосудов дермы и содержания меланина в эпидермисе на поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного света.

Практическая часть

Описание установки

Получение изображений поверхности кожной поверхности производится на установке, схематично приведенной на рис. 9.4. Установка аналогична используемой для цветового анализа видеоизображения кожи (см. рис. 7.1).

С целью получения равномерной освещенности изучаемого объекта и исключения влияния зеркального компонента в качестве источника освещения использовались четыре галогеновые лампы мощностью 50 Вт каждая, при этом излучение каждой из них направлялось под углом $\sim 30^\circ$ относительно нормали к объекту.

Схема предусматривает получение цветных и монохромных изображений кожной поверхности.

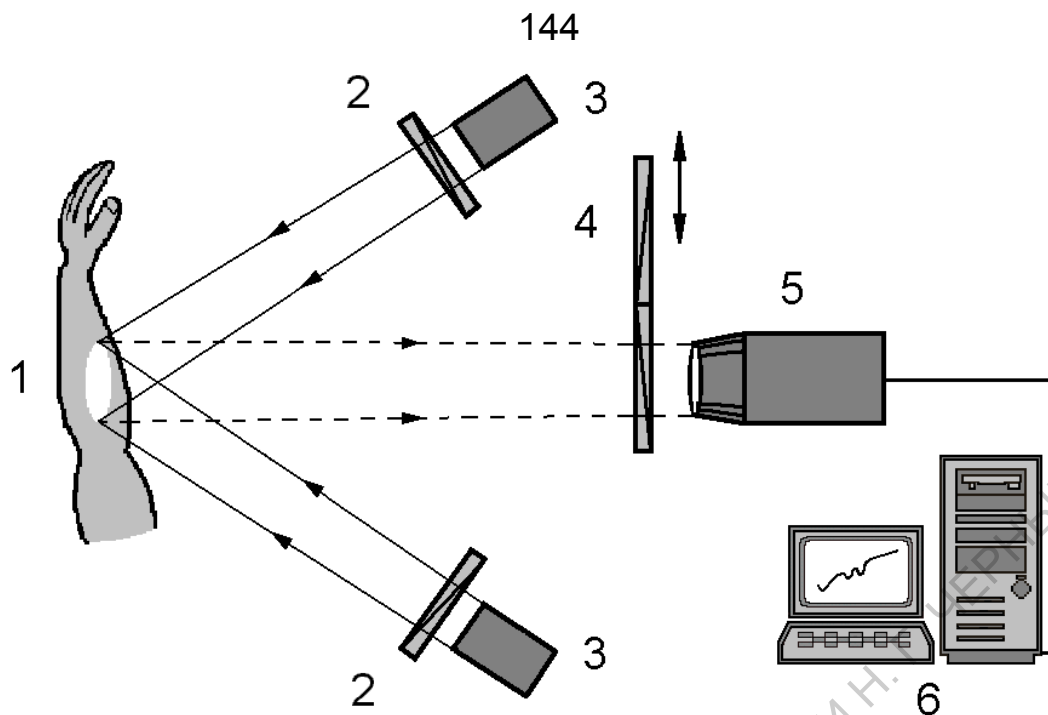


Рис. 9.4. Схема установки: 1 – объект исследования;
 2 – поляризаторы; 3 – источники освещения; 4 – анализаторы;
 5 – видеокамера; 6 – персональный компьютер

В первом случае регистрация обратно рассеянного кожей излучения производится с помощью видеокамеры Panasonic NV-RX70EN. Захват изображений с целью их последующей компьютерной обработки осуществляется с использованием устройства ввода изображений в персональный компьютер типа Miro DC20 (производитель MiroVideo, Германия).

Монохромные изображения кожной поверхности регистрируются с помощью видеосистемы VC-STT VS60-075 (СОБИ «Видеоскан», Россия). В этом случае перед объективом видеокамеры устанавливается интерференционный светофильтр необходимой спектральной полосы.

Объект исследований

Объектом исследований является кожная поверхность внутренней стороны предплечья человека.

Исследование влияние пространственного распределения крови в коже на поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения проводится путем регистрации и последующей компьютерной обработки кополяризованного и кроссполяризованного изображений участка кожи, содержащего области нормальной кожи и кожи с увеличенным содержанием крови (эритематозная кожа).

Искусственная эритема разной степени создается в коже предплечья в результате ее облучения светом УФА диапазона (методика облучения

кожи с использованием биодозиметра Горбачева-Дарфельда изложена в описании к лабораторной работе № 2).

Степень эритемы контролируется с помощью эритема-меланиметра.

Исследование влияния пространственного распределения меланина в коже на поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения проводится путем регистрации и последующей компьютерной обработки кополяризованного и кроссполяризованного изображений участка кожи, содержащего области нормальной кожи и кожи с увеличенным содержанием меланина.

Изменение содержания меланина в коже проводится путем нанесения на ее поверхность крема Foundation Cream, являющегося препаратом, содержащим меланин.

Практические задания

Задание 1. Исследование влияния состояния поляризации обратно рассеянного нормальной кожей линейно поляризованного излучения на изображение кожной поверхности.

Задание выполняется с помощью видеокамеры Panasonic NV-RX70EN.

Порядок выполнения задания.

1. Расположить предплечье за белым экраном так, чтобы в отверстии экрана был виден участок кожи с венами.

2. Включить галогеновые лампы осветительной системы.

3. Установить перед лампами осветительной системы поляризационные светофильтры, ориентируя их в одном направлении.

4. Соединить кабелем видеокамеру (гнездо «**VIDEO OUT**») с соответствующим разъемом устройства ввода изображения персонального компьютера.

5. Включить видеокамеру*.

6. Перевести видеокамеру в режим ручного управления (ручной регулировки фокуса и ручной регулировки баланса белого цвета).

7. Сфокусировать камеру на поверхность исследуемого участка кожи.

8. Установить перед объективом видеокамеры поляризационный светофильтр, ориентируя его параллельно поляроидам осветительной системы.

9. Отрегулировать баланс белого цвета.

* Все операции с видеокамерой проводить в соответствии с инструкцией по ее эксплуатации.

10. Манипуляцией клавиш «Пуск», «Программы», «**miroVIDEO DC20 plus**» и «**VidCap**» вывести на дисплей монитора панель с окном.

11. Нажать правую клавишу под надписью «**Options**». В окне появиться изображение исследуемого объекта.

12. Осуществить подстройку резкости изображения объекта по экрану монитора.

13. Последовательно нажать клавиши «**Capture**», «**Single Frame**». В результате произойдет захват изображения.

14. Сохранить полученное изображение в директории **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №9**. Для этого последовательно нажать клавиши «**File**», «**Save Single Frame**», найти эту директорию и сохранить полученное изображение как файл **par.dib**.

15. Изменить ориентацию поляризационного светофильтра перед объективом видеокамеры на 90^0 .

16. Нажать правую клавишу под надписью «**Options**». В окне появиться изображение исследуемого объекта.

17. Выполнить пункты 13-14, сохранив полученный файл с изображением объекта как **per.dib**.

17. Проанализировать полученные результаты.

Задание 2. Исследование влияния содержания крови в коже на пространственное распределение степени поляризации обратно рассеянного линейно поляризационного излучения.

Задание выполняется с помощью видеосистемы VS60-075.

Порядок выполнения задания.

1. Расположить предплечье за белым экраном так, чтобы в отверстии экрана были видны участки кожи с наведенной эритемой разной степени*.

3. Включить галогеновые лампы осветительной системы.

4. Установить перед лампами осветительной системы поляризационные светофильтры, ориентируя их в одном направлении.

5. Включить видеокамеру.

6. Запустить с рабочего стола персонального компьютера программу визуализации нажатием кнопки **VS60-075**. В результате запуска программы на экране дисплея появиться изображение объекта.

7. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 550$ нм.

8. Установить перед объективом видеокамеры поляризационный светофильтр, ориентируя его параллельно поляроидам осветительной системы.

* В работе исследуется кожа с 24-часовой эритемой, поэтому облучение кожи следует проводить накануне выполнения лабораторной работы. Облучение кожи проводится с помощью биодозиметра 1 мин, 3 мин, 5 мин и 7 мин.

9. Установить диафрагму объектива видеокамеры таким образом, чтобы камера работала в линейном режиме без насыщения.

10. Сфокусировать камеру на поверхность исследуемого участка кожи. Резкость изображения контролируется по экрану монитора.

11. Закрыть программу визуализации VS60-075.

12. Открыть директорию **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №9**.

13. Запустить программу **videograb.exe**. В результате произойдет захват изображения, и в директории **C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №9** появится файл с записанным изображением, имеющий расширение **bmp**. Переименовать его как **par.bmp**.

14. Изменить ориентацию поляризационного светофильтра перед объективом видеокамеры на 90^0 .

16. Выполнить пункт 13, сохранив полученный файл с изображением объекта как **per.dib**.

17. С помощью полученных изображений **par.dib** и **per.dib** сформировать новое изображение объекта, где параметром визуализации является степень поляризации обратно рассеянного излучения. Методика получения такого изображения приведена в Прил.

18. Проанализировать полученные результаты.

Задание 3. Исследование влияния содержания меланина в коже на пространственное распределение степени поляризации обратно рассеянного линейно поляризационного излучения.

Задание выполняется с помощью видеосистемы VS60-075.

Порядок выполнения задания.

1. Нанести на участок поверхности кожи предплечья размером $1 \times 1 \text{ см}^2$ крем Foundation Cream, равномерно распределить его в пределах участка и втереть легким движением с помощью пальца в напалечнике.

2. На рядом расположенный участок поверхности кожи такого же размера нанести и втереть удвоенное количество крема Foundation Cream.

3. Расположить предплечье за белым экраном так, чтобы в отверстии экрана были видны участки кожи с нанесенным кремом.

4. Включить галогеновые лампы осветительной системы.

5. Установить перед лампами осветительной системы поляризационные светофильтры, ориентируя их в одном направлении.

6. Включить видеокамеру.

7. Запустить с рабочего стола персонального компьютера программу визуализации нажатием кнопки **VS60-075**. В результате запуска программы на экране дисплея появится изображение объекта.

8. Установить перед видеокамерой интерференционный фильтр на длину волны $\lambda = 550 \text{ нм}$.

9. Установить перед объективом видеокамеры поляризационный светофильтр, ориентируя его параллельно поляроидам осветительной системы.

10. Установить диафрагму объектива видеокамеры таким образом, чтобы камера работала в линейном режиме без насыщения.

11. Сфокусировать камеру на поверхность исследуемого участка кожи. Резкость изображения контролируется по экрану монитора.

12. Закрыть программу визуализации VS60-075.

13. Открыть директорию **С:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №9**.

14. Запустить программу **videograb.exe**. В результате произойдет захват изображения, и в директории **С:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №9** появится файл с записанным изображением, имеющий расширение **bmp**. Переименовать его как **par.bmp**.

15. Изменить ориентацию поляризационного светофильтра перед объективом видеокамеры на 90^0 .

16. Выполнить пункт 14, сохранив полученный файл с изображением объекта как **per.dib**.

17. С помощью полученных изображений **par.dib** и **per.dib** сформировать новое изображение объекта, где параметром визуализации является степень поляризации обратно рассеянного излучения. Методика получения такого изображения приведена в Прил.

18. Проанализировать полученные результаты.

П р и л о ж е н и е

Методика получения изображения кожной поверхности, где параметром визуализации является степень поляризации обратно рассеянного излучения

Обработка полученных монохромных изображений кожной поверхности (файлы **par.bmp** и **per.bmp**) с целью получения изображения кожной поверхности, где параметром визуализации является степень поляризации, производится с использованием приложения **MathCad** с помощью программы **Polar**. Ниже приведен пример применения программы с целью обработки изображения поверхности кожи с ожогом.

Исходные файлы с монохромными изображениями кожной поверхности должны иметь формат BMP, JPG, GIF, TGA или PCX, поэтому экспериментально полученные файлы необходимо преобразовать в один из этих форматов с помощью программы **IrfanView**.

Запуск приложения **MathCad** и программы **Polar** приводит к появлению рабочего поля программы.

директория := “C:\Спецпрактикум\Лабораторная работа №9\Polar”

Необходимо ввести имена файлов. После ввода имен файлов нажатие левой клавиши мыши приводит к активизации программы.

имя файла_T := “per”
имя файла_H := “par”

filename_T := concat(директория,имя_файла_T)
filename_H := concat(директория,имя_файла_H)

Формируются два массива, используемые в дальнейшем.

image_T := READ_GREEN(filename_T)
image_H := READ_GREEN(filename_H)

Если обрабатываемые изображения составляют часть изображения, то размеры массивов могут несколько отличаться. Поэтому следующим шагом проводится выравнивание массивов.

x_size := min(cols(image_T),cols(image_H))
y_size := min(rows(image_T),rows(image_H))
image_T := submatrix(image_T,1,y_size,1,x_size)
x_size = 200
image_H := submatrix(image_H,1,y_size,1,x_size)
y_size = 200
i := 1.. y_size
j := 1.. x_size

Следующим шагом является очистка изображений от шумов с помощью медианного фильтра. Работа фильтра изложена в приложении 7.1. Введем порядок фильтра ($n=3$).

filter_order := 3
smooth_image_T := medflt(image_T,filter_order)
smooth_image_H := medflt(image_H,filter_order)

Результат приведен на рис. П.1.

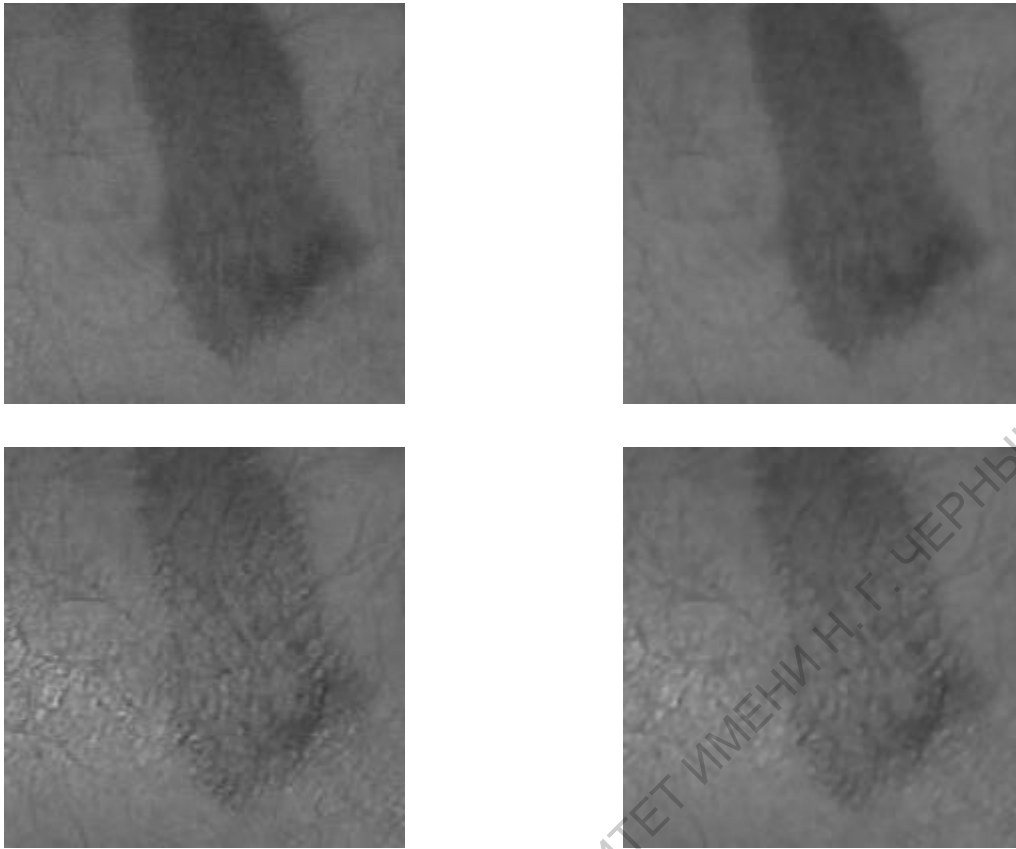


Рис. П.1. Результат применения процедуры сглаживания монохромных изображений кожной поверхности. Слева – исходные изображения; справа – сглаженные. Вверху – кроссполяризованный компонент; внизу – кополяризованный компонент

Если качество изображений, полученных в результате процедуры фильтрации, неудовлетворительно, то необходимо изменить порядок фильтра и повторить процедуру.

На заключительном этапе рассчитывается матрица степени поляризации для анализируемого участка кожной поверхности.

$$\mathbf{depol} := \begin{bmatrix} \mathbf{smooth_image_H} - \mathbf{smooth_image_T} \\ \mathbf{smooth_image_H} + \mathbf{smooth_image_T} \end{bmatrix}$$

Результат приведен на рис. П.2.

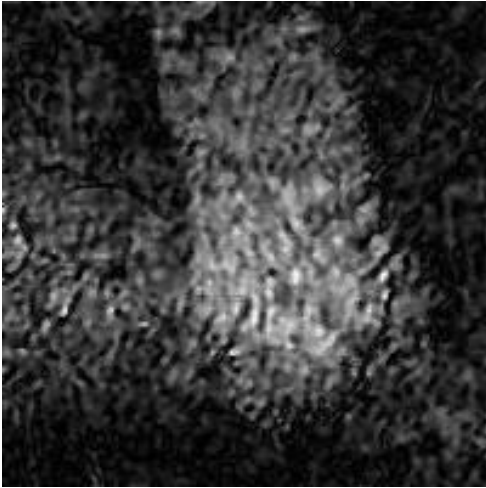


Рис. П.2. Изображение кожной поверхности, где параметром визуализации является степень поляризации обратно рассеянного излучения

Сформированное монохромное изображение кожной поверхности, где параметром визуализации является степень поляризации обратно рассеянного биотканью линейно поляризованного излучения, можно преобразовать в цветное, присвоив каждому диапазону изменения степени поляризации соответствующий цвет. Данная процедура легко осуществима с помощью приложения **Adobe Photoshop**.

САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНА ИВАНТА ИВАНОВА ЧЕРНЫШЕВСКОГО

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Синичкин Ю.П., Утц С.Р. In vivo отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2001. 92 с.
2. Оптическая биомедицинская диагностика: учеб. пособие: в 2 т./ пер. с англ. под ред. В.В. Тучина. М.: Физматлит, 2007.
3. Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. 2-е издание. – М.: Физматлит, 2010.
4. Техника и методики физиотерапевтических процедур: Справочник / Под ред. В.М. Богомолова. М.: Медицина, 1983. 352 с.
5. Гуревич М.М. Цвет и его измерение. М.: Изд-во Академии наук СССР, 1950. 268 с.
6. Шашлов Б.А. Цвет и цветовоспроизведение. М.: Книга, 1986. 280 с.
7. Новаковский С.В. Цвет в цветном телевидении. М.: Радио и связь, 1988. 288 с.
8. Мешков В.В., Матвеев А.Б. Основы светотехники: Учеб. пособие для вузов: В 2 ч. Ч. 2. Физиологическая оптика и колориметрия. М.: Энергоатомиздат, 1989. 432 с.
9. Land E. H. The retinex theory of color vision // Sci. Am. 1977. V. 237. P. 108-128.
10. Land E. H. Recent advances in retinex theory // Vision Res. 1986. V. 26. P. 7-21.
11. Why do veins appear blue? A new look at old question / Kienle A., Linge L., Vitkin I.A., M.S. Patterson et al. // Appl. Opt. 1996. V. 35. P. 1151-1160.
12. Зимняков Д.А., Синичкин Ю.П. Поляризационная визуализация рассеивающих сред с помощью непрерывного лазерного излучения // Оптика и спектр. 2000. Т. 88. №6. С. 1015-1022.
13. Zimnyakov D.A., Sinichkin Yu.P. Location of hidden inhomogeneities by measuring the polarization degree: potentialities and restrictions // J. Opt. A: Pure Appl. Opt. 2000. V. 2. P. 200-208.
14. Зимняков Д.А., Синичкин Ю.П., Тучин В.В. Поляризационная диагностика случайно-неоднородных сред: фундаментальные и прикладные аспекты // Проблемы современной физики: К 90-летию Саратовского государственного университета и 40-летию сотрудничества ОИЯИ-СГУ / Под общ. ред. А.Н. Сисакяна и Д.И. Трубецкова. Сост.: Д.А. Усанов, Ю.Н. Тюхтяев, С.И. Виницкий, В.Л. Дербов, О.Ю. Шевченко, И.П. Юдин. Дубна: ОИЯИ, 1999. С. 195-203.
15. Зимняков Д.А., Синичкин Ю.П. О предельном значении степени остаточной поляризации некогерентно обратного рассеянного излучения при многократном рассеянии линейно поляризованного света // Оптика и спектр. 2001. Т. 91. № 1. С. 113-119.
16. Zimnyakov D.A., Sinichkin Yu. P., Zakharov P.V., Agafonov D.N. Residual polarization of non-coherently backscattered linearly polarized light: the in-

fluence of the anisotropy parameter of scattering medium // *Waves in random media*. 2001. V. 11. P. 395-412.

17. *Зимняков Д. А., Синичкин Ю. П., Киселева И. В., Агафонов Д. Н.* О влиянии поглощения многократно рассеивающих сред на степень остаточной поляризации обратно рассеянного излучения // *Оптика и спектр*. 2002. Т. 92. №5. С. 848-855.
18. *Синичкин Ю. П., Зимняков Д. А., Агафонов Д. Н., Кузнецова Л. В.* Визуализация рассеивающих сред при обратном рассеянии линейно поляризованного немонахроматического света // *Оптика и спектр*. 2002. Т. 93. №1. С. 99-105.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Лабораторная работа № 1. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КРОВИ И МЕЛАНИНА В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА НА СПЕКТР ЕЕ ДИФFUЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ	7
Введение	7
Методики определения индекса меланина и концентрации меланина в коже человека	12
Методики определения индекса эритемы кожи человека	14
Трехволновая методика определения индексов эритемы и пигментации кожи человека	15
Практическая часть	16
Лабораторная работа № 2. ЭРИТЕМА-МЕЛАНИНОМЕТР – ПРИБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДЕКСОВ ЭРИТЕМЫ И МЕЛАНИНА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА	22
Введение	22
Описание прибора	22
Практическая часть	29
Приложение	31
Лабораторная работа № 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ОКСИГЕНАЦИИ ГЕМОГЛОБИНА КРОВИ ПО СПЕКТРАМ ДИФFUЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА	33
Введение	33
Методы определения количества крови и степени оксигенации гемоглобина крови по спектрам диффузного отражения кожи в видимом диапазоне	34
Практическая часть	42
Лабораторная работа № 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КРОВИ И МЕЛАНИНА В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА НА СПЕКТР ЕЕ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ	45
Введение	45
Модель для анализа спектров автофлуоресценции кожи	46
Флуоресцентная методика определения содержания крови и меланина в коже человека	50
Практическая часть	51
Лабораторная работа № 5. ЦВЕТОВОЕ ВОСПРИЯТИЕ ОТРАЖЕННОГО КОЖЕЙ БЕЛОГО СВЕТА И АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КОЖИ	55
Введение	55

Цветовые ощущения и цвет излучения	55
Законы аддитивного смешения цветов	57
Элементы теории цвета	58
Практические колориметрические системы	68
Равноконтрастные колориметрические системы	73
Цвет отраженного кожей белого света	78
Цвет автофлуоресценции кожи	80
Методика расчета цветовых характеристик отраженного кожей белого света и АФ кожи	80
Ретинальная теория психологического восприятия цвета	83
Практическая часть	87
Приложение 5.1	91
Приложение 5.2	92
Лабораторная работа № 6. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОЗАЩИТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ КОМБИНИРОВАННЫМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ И ОТРАЖАТЕЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ	94
Введение	94
Флуоресцентная методика определения свойств фотозащитных препаратов	95
Практическая часть	99
Лабораторная работа № 7. ЦВЕТОВОЙ АНАЛИЗ ВИДЕОИЗОБРАЖЕНИЯ КОЖИ	102
Введение	102
RGB-анализ цветного изображения кожной поверхности	102
Изображение поверхности кожи в диагностических параметрах	104
Цветное изображение автофлуоресценции кожи	106
Практическая часть	107
Приложение 7.1	112
Приложение 7.2	116
Приложение 7.3	119
Лабораторная работа № 8. <i>IN VIVO</i> ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ОТРАЖАТЕЛЬНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА	123
Введение	123
Методики поляризационной отражательной спектроскопии кожи	124
Практическая часть	128
Лабораторная работа № 9. ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА	133
Введение	133
Распространение линейно поляризованного излучения в рассеивающей среде	134
Поляризационные характеристики обратно рассеянного кожей линейно поляризованного излучения	141
Методики поляризационной визуализации кожи	142
Практическая часть	144
Приложение	149
Библиографический список	153

Учебное издание

Синичкин Юрий Петрович,
Долотов Леонид Евгеньевич,
Зимняков Дмитрий Александрович,
Тучин Валерий Викторович,
Утц Сергей Рудольфович

СПЕЦИАЛЬНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ОПТИЧЕСКОЙ БИОФИЗИКЕ

**IN VIVO ОТРАЖАТЕЛЬНАЯ
И ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ
КОЖИ ЧЕЛОВЕКА**

Учебное пособие для студентов вузов

Оригинал-макет подготовлен Ю. П. С и н и ч к и н ы м
Работа издана в авторской редакции

Изд. лиц. ЛР № 020305 от 10.01.18. Подписано в печать 15.01.18
Формат 60x90 ¹/₁₆. Бумага Сыктывкарская. Печать офсетная.
Гарнитура Times New Roman Усл. печ. л. 10.

Издательство Саратовского государственного университета.
410026, Саратов, Астраханская, 83



Юрий Петрович Синичкин, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры оптики Саратовского государственного университета, Соросовский доцент 1996, 1998 - 2001 гг. Член международного общества по оптической технике SPIE.

Его научные и педагогические интересы лежат в области биомедицинской оптики, лазерной медицины, нелинейной динамики лазерных и оптических систем, физики лазерных и оптических измерений. Он автор и соавтор более 150 научных статей и изобретений, 4 научных монографий, 4 учебных пособий.

Леонид Евгеньевич Долотов, заведующий учебной лабораторией биофизики кафедры оптики и биофотоники Саратовского государственного университета. Член международного общества по оптической технике SPIE.

Его научные и педагогические интересы лежат в области биомедицинской оптики и лазерной медицины. Специалист в области компьютеризации физического эксперимента. Он соавтор более 30 научных статей и изобретений, двух учебных пособий.



Зимняков Дмитрий Александрович, профессор, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой Физики Саратовского государственного технического университета, член-корреспондент РАН, Почетный работник высшего профессионального образования Российской Федерации, Соросовский доцент 1999 г, Соросовский профессор 2000-2001 гг. Член международных научных общества по оптической технике SPIE и OSA.

Его научные и педагогические интересы лежат в области компьютерной диагностики систем, статистической и корреляционной оптики, спектроскопии, лазерной физики и биомедицинской оптики. Он автор и соавтор более 180 научных статей и изобретений, 5 научных монографиях, 5 учебных пособий.

Валерий Викторович Тучин, доктор физико-математических наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой оптики и биофотоники Саратовского государственного университета, зав. лабораторией лазерной диагностики технических и живых систем Института проблем точной механики и управления РАН, член-корреспондент РАН, вице-президент Российского фотобиологического общества. член Международного общества по биомедицинской оптике ViOS.

Его научные и педагогические интересы лежат в области биомедицинской оптики, лазерной медицины, нелинейной динамики лазерных и оптических систем, физики лазерных и оптических измерений. Он автор более 250 научных статей и изобретений, 11 научных монографий



Сергей Рудольфович Утц, профессор, доктор медицинских наук, зав. кафедрой дерматовенерологии и косметологии Саратовского государственного медицинского университета, главный врач Клиники кожных и венерологических болезней СГМУ. Член международного общества по оптической технике SPIE. Член Всероссийского общества дерматовенерологов, главный внештатный специалист-дерматовенеролог и косметолог Министерства здравоохранения Саратовской области.

Его научные интересы лежат в области биомедицинской оптики, лазерной медицины, разработки и применения новых методов диагностики и терапии в дерматологии и косметологии. Он автор и соавтор более 150 научных статей и изобретений, четырех научных монографий

