



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

المعهد العالي لبحوث الليزر وتطبيقاته

قياس الأكسجة النسيجية باستخدام ليزرات تحت الأحمر القريب

رسالة مقدمة لنيل درجة الماجستير في علوم الليزر وتطبيقاته

إعداد

م. روى محمد أيمن خير

بإشراف

د. سنان الجلاي

2023

الملخص

تعد مطيافية الضوء في المجال تحت الأحمر القريب تقانة ضوئية تعطي قيماً بالزمن الحقيقي وبطرق غير جراحية لمستويات الأكسجين بالنسيج عن طريق قياس تغيرات تراكيزه في هيموغلوبين المريض.

ولقياس تركيز الأكسجين ضمن النسيج تمت دراسة بناء نموذج ضوئي فيزيائي يحاكي النسيج يعتمد على الحليب المبستر كمادة مبعثرة وتم استخدام طولين موجيين أحدهما ليزر نصف ناقل بطول موجي $830[nm]$ وآخر بطول موجي $690[nm]$ لقياس تغيرات تركيز الهيموغلوبين المؤكسج وغير المؤكسج في النسيج باستخدام طريقة ضوئية بسيطة تعتمد على قانون بير - لامبرت المعدل.

كما تمت دراسة نموذج فيزيائي حُصِرَ ليحاكي نسيج ثدي سليم يحتوي على نسيج ورمي في محاولة في توظيف هذه الطريقة للكشف عن الأورام.

الكلمات المفتاحية: الأكسجة النسيجية - الهيموغلوبين - الأشعة تحت الحمراء - مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية - معامل التخميد - الحليب المبستر - كشف الأورام.

Abstract

Near-infrared spectroscopy *NIRS* is an optical technique that has been developed to provide an absolute, continuous, noninvasive, real-time temporal and spatial measure of tissue oxygen O_2 saturation changes in a patient's hemoglobin.

Tissue-mimicking optical phantoms with pasteurized milk as a scattering component have been constructed to determine the tissue oxygenation and two wavelengths in the near-infrared range $690[nm]$ and $830[nm]$ were used to measure the changes in the concentration of oxygenated and deoxygenated hemoglobin in the tissue using a simple optical method based on the modified Beer-Lambert law.

These measurements were employed to detect tumours by using Optical phantoms made to mimic healthy breast tissue that contains tumour tissue.

فهرس المحتويات

4	فهرس المحتويات
6	جدول الأشكال
8	جدول المصطلحات
10	الإطار العام
10	1.1. المقدمة
11	2.1. الإشكالية البحثية
11	3.1. تساؤلات البحث
11	4.1. هدف البحث
12	5.1. أهمية البحث
12	6.1. حدود البحث
13	7.1. الدراسات السابقة
13	8.1. منهج البحث وأدواته
14	9.1. مكونات البحث
16	الفصل الثاني
16	تفاعل الضوء مع المادة
16	1.2. دراسة الهيموغلوبين
18	2.2. سلوك الضوء في النسيج
19	- الانعكاس والانكسار
20	- الامتصاص
21	- أهم الماصات ضمن النسيج الحي
22	- التبعثر
25	3.2. أهم المعاملات الضوئية
27	4.2. مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة <i>NIRS</i> ، وامتصاص الهيموغلوبين
31	5.2. النماذج الفيزيائية الضوئية
33	الفصل الثالث
33	طرق التوصيف الضوئية
33	1.3. مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية (COLLIMATED TRANSMISSION SPECTROSCOPY)
34	2.3. مطيافية الانعكاس الانتثاري (DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY)
36	3.3. قانون بيير-لامبرت الأساسي والمعدل
36	3.3.1. قانون بيير-لامبرت الأساسي
37	3.3.2. قانون بيير-لامبرت المعدل
39	4.3. حساب تركيز الأكسجين بصورة مطلقة
46	الفصل الرابع

46	الدراسات المرجعية
46	1.4. الدراسات المرجعية لتوصيف الحليب المبستر في المجال القريب للأشعة تحت الحمراء لتركيب نماذج بصرية
46	تحاكي الأنسجة
48	2.4. الدراسات المرجعية لقياس الأكسجة النسيجية
48	2.4.1. مقاييس الأكسجة النبضية PULSE OXIMETRY
49	2.4.2. مقاييس الأكسجة النسيجية TISSUE OXIMETER
57	الفصل الخامس
57	منهج البحث، وأدواته
57	1.5. توصيف الحليب المبستر للتحقق من ملاءمته للاستخدام كمادة مبعثرة
57	1.5.1. المواد المستخدمة في بناء النماذج الضوئية الفيزيائية
58	1.5.2. المعدات الضوئية المستخدمة
61	1.5.3. التقانات المستخدمة لإجراء القياسات
63	2.5. قياس الأكسجة النسيجية
63	2.5.1. المواد المستخدمة في بناء النماذج الضوئية الفيزيائية:
64	2.5.2. الأجهزة الضوئية المستخدمة:
65	3.5. البرمجيات المستخدمة:
66	الفصل السادس
66	النتائج، والمناقشة
66	تمهيد
67	1.6. نتائج تجربة توصيف الحليب المبستر، وتوضيح مدى ملاءمته لاستخدامه كعنصر مبعثر في بناء
85	النماذج الضوئية الفيزيائية
106	4.6. نتائج تجربة قياس الأكسجة النسيجية
	المراجع

جدول الأشكال

- الشكل 1 تركيب جزئي الهيموغلوبين [5] 17
- الشكل 2 هيكلية جزئي الهيم [6] 17
- الشكل 3 رسم تخطيطي لتبادل الغازات في الشعيرات الدموية الرئوية. 17
- الشكل 4 رسم تخطيطي لتبادل الغازات في الشعيرات الدموية للأنسجة. 17
- الشكل 5 أطراف امتصاصية أهم الماصات في النسيج بالنسبة للطول الموجي [10]. 21
- الشكل 6 (أ) وسط لانهائي، (ب) منطقة شكل الموز لتوزيع مسار الفوتون [11]. 23
- الشكل 7 التطورات على التقانات التي تستخدم الأشعة تحت الحمراء مع الزمن [18]. 28
- الشكل 8 أطراف امتصاص الهيموغلوبين المؤكسج HBO2 وغير المؤكسج HHB [21]. 30
- الشكل 9 أطراف الامتصاص للصبغ الشهيرة للهيموغلوبين [23]. 31
- الشكل 10 رسم توضيحي تخطيطي لتقنية الموجات مستمرة من أجهزة NIRS [22]. 40
- الشكل 11 رسم توضيحي تخطيطي لتقنية التحليل الطيفي المعزول زمنياً من أجهزة NIRS [22]. 42
- الشكل 12 رسم توضيحي لتقانة التحليل الطيفي المعزول طورياً (تعديل الشدة) من أجهزة NIRS [22]. 44
- الشكل 13 رسم تخطيطي (أ) للتحليل الطيفي القريب من الأشعة تحت الحمراء (SRS)، (ب) لتصميم كاشف SRS. [37] 45
- الشكل 14 مقياس أكسجة نبضي يعتمد على (أ) النفوذية، (ب) الانعكاسية [52]. 49
- الشكل 15 المكونات الرئيسة لمقياس أكسجة نسيجية. 50
- الشكل 16 نظام قياس أكسجة بتقانة التحليل الطيفي المعزول مكانياً. 50
- الشكل 17 تركيز الأكسجين كنسبة للزمن. 51
- الشكل 18 (أ) تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج والهيموغلوبين الكلي بالنسبة للزمن، (ب) تركيز الأكسجين الكلي بالنسبة للزمن [53]. 52
- الشكل 19 تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج والهيموغلوبين الكلي بالنسبة للزمن خلال نوبة فرط التنفس، (ب) تركيز الأكسجين الكلي بالنسبة للزمن خلال نوبة فرط التنفس. 53
- الشكل 20 رسم تخطيطي لتقدير عمق القياس [54]. 54
- الشكل 21 العلاقة بين سمك ألواح البولي أسيتال t، والاحتمال التراكمي لكثافة الضوء المكتشفة P (I)، كدالة للمسافة بين الإرسال والاستقبال [54]. 55
- الشكل 22 أقصى عمق للقياس D_{max} ، كدالة للمسافة [54]. 55
- الشكل 23 توضع الثنائيات الضوئية والكواشف [57]. 56
- الشكل 24 متحكم ليزري مع وحدة التحكم. 59
- الشكل 25 المطياف الضوئي. 59
- الشكل 26 المسبر البصري. 60
- الشكل 27 حامل العينة والمخمد الضوئي. 60
- الشكل 28 مادة معيارية للانعكاس. 61
- الشكل 29 حامل الألياف الضوئية لقياس الانعكاس. 61
- الشكل 30 مخطط مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية. 62
- الشكل 31 صورة فوتوغرافية لمطيافية نفوذ الحزمة المتوازية. 62
- الشكل 32 صورة فوتوغرافية لمطيافية الانعكاس الانتثاري. 63
- الشكل 33 مخطط مطيافية الانعكاس الانتثاري. 63
- الشكل 34 مقياس الأكسجين NeoFOX. 65
- الشكل 35 أطراف النفوذية لعينات الحليب المبستر كامل الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ 68
- الشكل 36 أطراف النفوذية لعينات الحليب المبستر خالي الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ 69
- الشكل 37 أطراف الانعكاسية لعينات الحليب المبستر خالي الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ 70

- الشكل 38 أطيايف الانعكاسية لعينات الحليب المبستر كامل الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) $690[nm]$ ، (ب) $830[nm]$. 71
- الشكل 39 (أ) النفوذية، (ب) الانعكاسية لعينات الحليب المبستر خالي الدسم/كامل الدسم بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. 72
- الشكل 40 معامل التخماد بدلالة تركيز الحليب لعينات الحليب المبستر خالي الدسم/كامل الدسم. 73
- الشكل 41 تغيرات معامل التخماد للحليب المبستر كامل الدسم عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. 74
- الشكل 42 تغيرات معامل التخماد للحليب المبستر خالي الدسم عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. 74
- الشكل 43 الامتصاصية بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. 76
- الشكل 44 قيم الأليبدو بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. 76
- الشكل 45 نسبة الخطأ لمعامل التبعثر للحليب (أ) كامل الدسم، (ب) خالي الدسم لأنواع مختلفة من النسج بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. 78
- الشكل 46 (أ) أطيايف الانعكاسية لعينات الإنترالييد عند $690[nm]$ ، (ب) أطيايف النفوذية لعينات الإنترالييد عند $690[nm]$. 79
- الشكل 47 (أ) أطيايف الانعكاسية لعينات الإنترالييد عند $830[nm]$ ، (ب) أطيايف النفوذية لعينات الإنترالييد عند $830[nm]$. 80
- الشكل 48 (أ) النفوذية لعينات الإنترالييد بدلالة التركيز، (ب) الانعكاسية لعينات الإنترالييد بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينة. 81
- الشكل 49 معامل التخماد بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينة. 82
- الشكل 50 تغيرات معامل التخماد للإنترالييد عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينة. 82
- الشكل 51 الامتصاصية بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينة. 83
- الشكل 52 قيم الأليبدو بدلالة التركيز لعينات الإنترالييد. 83
- الشكل 53 قيم الأليبدو بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينات للمجموعة الأولى. 84
- الشكل 54 قيم الأليبدو بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينات للمجموعة الثانية. 84
- الشكل 55 (أ) رسم تخطيطي للمنظومة الضوئية المستخدمة للقياس الأول، (ب) صورة فوتوغرافية للمنظومة الضوئية المستخدمة للقياس الأول. 86
- الشكل 56 الشدة الضوئية بالنسبة لتركيز الأكسجين عند نفس البعد بين الليزر والكاشف لتراكيز مختلفة للإنترالييد. 87
- الشكل 57 الشدة الضوئية بالنسبة لتركيز الأكسجين عند نفس التركيز للإنترالييد عند أبعاد مختلفة. 90
- الشكل 58 تغيرات الهيمو غلوبين المؤكسج وغير المؤكسج والهيمو غلوبين الكلي عند تراكيز مختلفة للإنترالييد ومسارات ضوئية مختلفة عند تركيز ثابت للأكسجين. 93
- الشكل 59 (أ) رسم تخطيطي، (ب) مخطط صندوقي للمنظومة الضوئية المستخدمة لقياس الأكسجة النسيجية. 95
- الشكل 60 قيم الشدة المقاسة بدلالة الزمن عند مسافات متغيرة من دون وجود الأنبوب (أ) عند الطول الموجي $830[nm]$ ، (ب) عند الطول الموجي $690[nm]$. 96
- الشكل 61 قيم الشدة المقاسة بدلالة الزمن عند مسافات متغيرة مع وجود الأنبوب (أ) عند الطول الموجي $830[nm]$ ، (ب) عند الطول الموجي $690[nm]$. 96
- الشكل 62 تغيرات الشدة بالنسبة للزمن بوجود الأنبوب ومن دونه (أ) عند مسافة $2[cm]$ ، (ب) عند مسافة $3[cm]$ ، (ج) عند مسافة $4[cm]$. 97
- الشكل 63 تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن، ومقارنتها مع تغيرات الأكسجين المقاسة بوساطة مقياس الأكسجين (أ) مع وجود الأنبوب عند $2[cm]$ ، (ب) دون وجود الأنبوب $2[cm]$. 99
- الشكل 64 تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن، ومقارنتها مع تغيرات الأكسجين المقاسة بوساطة مقياس الأكسجين (أ) مع وجود الأنبوب عند $3[cm]$ ، (ب) دون وجود الأنبوب $3[cm]$. 101
- الشكل 65 تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن، ومقارنتها مع تغيرات الأكسجين المقاسة بوساطة مقياس الأكسجين (أ) مع وجود الأنبوب عند $4[cm]$ ، (ب) دون وجود الأنبوب $4[cm]$. 103

جدول المصطلحات

2,3 - DPG	2,3-diphosphoglyceric acid	2,3 ثنائي الفوسفوغليسيرات
μ_a	absorption coefficient	معامل الامتصاص
a	albedo	الألبيدو - ابيضاض المادة
cm	Centimeter (unit of length)	سنتيمتر (واحدة طول)
CytOx	cytochrome oxidase	أوكسيد السيتوكروم
HHb	Deoxygenated Hemoglobin	الهيموغلوبين غير المؤكسج
DFP	Differential Pathlength factor	عامل طول المسار التفاضلي
Hb	Hemoglobin	الهيموغلوبين
IR	Infrared	تحت الأحمر
	intralipid	انتراليبيد - مستحلب دهني
Mb	Myoglobin	الميوجلوبين
nm	Nano-meter (unit of length)	نانومتر (واحدة طول)
NIR	Near-infrared	تحت الأحمر القريب
NIRS	Near-infrared spectroscopy	مطيافية تحت الأحمر القريب
O ₂	Oxygen	أكسجين
STO ₂	Oxygen saturation	تشبع الأكسجين
HbO ₂	Oxygenated hemoglobin	الهيموغلوبين المؤكسج
PO ₂	partial pressure of oxygen	الضغط الجزئي للأكسجين
PH	Potential of Hydrogen	الأس الهيدروجيني
μ_s	scattering coefficient	معامل التبعثر

H_2O	The chemical formula for water	الصيغة الكيميائية للماء
ln	Logarithm to the base e	لوغاريتم
Matlab	Matrix Laboratory (Software Application Analysis)	
TRS	Time Resolved spectroscopy	التحليل الطيفي المعزول زمنياً
PRS	Phase Resolved spectroscopy	التحليل الطيفي المعزول طورياً
$TPSF$	Temporal point spread function	
SRS	spatially resolved spectroscopy	التحليل الطيفي المعزول مكانياً
TOI	Tissue Oxygenation Index	مؤشر الأكسجة النسيجية

الإطار العام

تمهيد

نستعرض في هذا الفصل مقدمة بسيطة عن موضوع البحث، كما نستعرض الإشكالية البحثية، التساؤلات، الهدف، الأهمية، حدود البحث، الدراسات السابقة، مناهج البحث وأدواته، ومن ثم مكونات البحث.

1.1. المقدمة

منذ عام 1997 أصبح التحليل الطيفي للأنسجة ضمن المجال تحت الأحمر القريب (NIR) يحتل مكانة

بارزة في عالم الطب، لا سيما في تطبيقات دراسة توصيل الأكسجين إلى الأنسجة، واستقلاب الخلايا. [1] طُوِّرت مقاييس الأكسجة النسيجية التي تعتمد على مطيافية تحت الأحمر القريب، وانتشرت مؤخراً بصورة كبيرة لقياس تغير تركيز الأكسجين في الأنسجة، وتغيرات حجم الهيموغلوبين، وقياس أكسجة الدماغ [2] والعضلات [3]. أيضاً لكشف تليف الكبد وغيرها من التطبيقات الطبية المهمة في الزمن الحقيقي لتحديد الحالة الفيزيولوجية للأنسجة بطرق لا جراحية.

في الآونة الأخيرة كان من أهم تطبيقات مقاييس الأكسجة النسيجية كشف الأورام حيث تتغير قيم الأكسجة في الأنسجة الورمية، وغالباً ما تكون قيم الأكسجين منخفضة [4]. كما أن إجراء الدراسة تطلب استخدام نماذج فيزيائية بصرية، يتطلب بناءها معرفة دقيقة للمعاملات الضوئية للمواد المستخدمة في تحضيرها، ومعرفة الخصائص الضوئية للنسج المراد محاكاتها، وبما أن المواد منخفضة التكلفة، وسهلة التوافر تكتسب اهتماماً كبيراً لتركيبة النماذج الضوئية المستخدمة في التطبيقات الطبية الحيوية، لذلك دُرِس جدوى استخدام الحليب المبستر التجاري كعنصر مبعثر في النماذج الضوئية.

من ثم فإن هذا البحث يتناول نظرياً وعملياً دمج هذين الموضوعين:

1. توصيف الحليب المبستر في المجال القريب للأشعة تحت الحمراء لتركيبة نماذج بصرية تحاكي

الأنسجة.

تم التوصل لملاءمة استخدام الحليب المبستر كعنصر مبعثر لتركيب النماذج الضوئية التي تحاكي الأنسجة في نطاق الأشعة تحت الحمراء من الطول الموجي.

2. مقاييس الأكسجة النسيجية، وتطبيقاتها في كشف الأورام.

أما فيما يخص مقاييس الأكسجة النسيجية، فقد طُوِّرت طريقة ضوئية بسيطة لقياس مستوى الأكسجين في النسيج تعتمد على قانون بير-لامبرت المعدل لاكتشاف وجود الخلايا السرطانية في أنسجة الثدي من خلال تأثير تغيير أكسجة الأنسجة بصورة موضعية من خلال استخدام طولين موجيين شائعي الاستخدام في المجال القريب من الأشعة تحت الحمراء.

2.1. الإشكالية البحثية

تكمن مشكلة البحث في:

- الحاجة إلى تركيب نماذج بصرية فيزيائية تحاكي الأنسجة بمواد منخفضة التكلفة، وسهلة التوافر.
- تطوير طريقة بسيطة لقياس الأكسجة النسيجية، وتطويرها لكشف الأورام، ولا سيما نسيج الثدي الورمي.

3.1. تساؤلات البحث

من أهم التساؤلات التي وردت من خلال إجراء البحث:

- هل يمكن تركيب نماذج فيزيائية بصرية باستخدام مواد رخيصة الثمن.
- لماذا نستخدم الأطوال الموجية في المجال تحت الأحمر القريب.
- جدوى استخدام الحليب المبستر لتركيب النماذج الفيزيائية الضوئية.
- هل يمكن استخدام طريقة ضوئية بسيطة لقياس الأكسجة النسيجية.
- هل يمكن كشف الأورام باستخدام مقاييس الأكسجة النسيجية.

4.1. هدف البحث

يكن هدف البحث في النقاط الآتية:

- منظومة طيفية لقياس طيف نفوذية الحزمة المتوازية.
- دراسة الخواص الضوئية للحليب المبستر عند الطولين الموجيين 690-830nm .
- تركيب نماذج ضوئية فيزيائية تعتمد على الحليب المبستر لمحاكاة الأنسجة.
- تطوير طريقة ضوئية بسيطة، بالاعتماد على قانون بيير-لامبرت المعدل لقياس الأكسجة النسيجية.
- اختبار الطريقة السابقة في إمكانية كشف الأورام.

5.1. أهمية البحث

تأتي أهمية البحث في الحاجة إلى:

- تركيب نماذج فيزيائية بصرية تعتمد على مواد سهلة التوافر، ورخيصة الثمن لمحاكاة الأنسجة.
- تطوير طرق ضوئية لا جراحية وبالأزمن الحقيقي لقياس تأكسج الأنسجة.
- تطوير طرق ضوئية لا جراحية لكشف الأورام.

6.1. حدود البحث

تتدرج حدود البحث في النقاط الآتية:

- تركيب نماذج فيزيائية ضوئية تحاكي الأنسجة، حيث إن عدم توافر مادة المستحلب الدهني 20% Intralipid لاستخدامها كمادة مبعثرة في تركيب النماذج الضوئية دفعنا للاستعانة بالحليب المبستر، ودراسة خواصه الضوئية لاستخدامه بديلاً عند تركيب هذه النماذج.
- إن سبب استخدام الليزر ذات طول موجي [830nm] و [690nm] دون غيرهما نظراً لتوفرهما في المختبر، وضمن المجال تحت الأحمر القريب.

7.1. الدراسات السابقة

- هناك العديد من الدراسات التي أُجريت لتوصيف المواد في المجال القريب من الأشعة تحت الحمراء لتكوين نماذج بصرية تحاكي الأنسجة، فقد استخدم الباحثون مواد المستحلبات الدهنية على نطاق واسع، ولكنها مواد باهظة الثمن لذلك استخدم الحليب كمادة بديلة لمحاكاة خواص التبعثر في الأنسجة. تم ذلك باستخدام طرائق بصرية مختلفة حيث عام 2019 قام Aernouts باستخدام الكرة التكاملية لقياس الخصائص الضوئية للحليب أما عام 2015 قام Jain وSarma باستخدام طريقة تعتمد على التصوير الرقمي للتحليل الطيفي للحليب، ولكن لم ترد سابقاً دراسة الحليب المبستر من قبل الباحثين وتوصيفه ضوئياً.

- أما لقياس الأكسجة النسيجية فقد بدأ الباحث Milikan عام 1927 بدراسة أكسجة الدم بواسطة الضوء المرئي لكن عمق الاختراق للضوء المرئي كان قليل جداً، لذلك طور أول مقياس تأكسج نبضي في المجال تحت الأحمر القريب، وفي عام 1977 تم التوصل لمقاييس الأكسجة النسيجية. قام الباحثون بدراسة التأكسج النسيجي باستخدام تقنيات مختلفة منها التحليل الطيفي المعزول مكانياً عام 1995 على يد الباحث Matcher والتحليل الطيفي المعزول زمانياً عام 2000 على يد الباحث Oda، ومؤخراً كان الكشف عن الأورام من أهم التطبيقات التي استخدمت أجهزة قياس الأكسجة النسيجية.

8.1. منهج البحث وأدواته

- المنهج المعتمد لقياس الخواص الضوئية

اعتمد منهج البحث على استخدام ليزر نصف ناقل بطول موجي $830[nm]$ وآخر بطول موجي $690[nm]$

مع مطياف ضوئي باستخدام الطرائق الآتية:

- مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية Collimated Transmission Spectroscopy لتسجيل أطياف النفوذ

لعينات الحليب المبستر، ومنها يُحدّد معامل التخماد للعينات، وذلك بالاعتماد على قانون

بيير-لامبيرت.

- مطيافية الانعكاس الانتشاري Diffuse Reflectance Spectroscopy ، وباعتماد على أطيف الانعكاس المسجلة من عينات الحليب المبستر المدروسة بالإمكان تحديد معامل التبعثر مستخدمين معادلة الانتثار.

-المنهج المعتمد لقياس الأكسجة النسيجية

استخدم ليزر نصف ناقل بطول موجي [830nm] وآخر بطول موجي [690nm] وتمت الدراسة باستخدام عينات فيزيائية، ضُخَّ الأكسجين إليها باستمرار بوساطة أسطوانة أكسجين، والتقطت الإشارة الضوئية بوساطة مطياف ضوئي، وقيست قيمة الأكسجين بوساطة مقياس أكسجين، وأُعتُمِدَ على قانون بيير-لامبرت المعدل في حساب قيم الهيموغلوبين.

9.1. مكونات البحث

تتضمن الرسالة الفصول الآتية:

الفصل الأول:

استعرضنا ضمن الإطار العام مقدمة بسيطة عن موضوع البحث، والإشكالية البحثية، التساؤلات، الهدف، الأهمية، حدود البحث، الدراسات السابقة، مناهج البحث وأدواته، ومن ثم مكونات البحث.

الفصل الثاني:

نستعرض في هذا الفصل الخلفية الضوئية والتقنية للبحث حيث استعرضت لمحة فيزيولوجية عن الهيموغلوبين والظواهر الأساسية التي يمكن أن يتعرض لها الضوء عند عبوره لوسط مادي من الانعكاس والانكسار والامتصاص والتبعثر، فضلاً عن إيضاح المعنى الفيزيائي للمعاملات الضوئية الأساسية، وخصائص مطيافية الأشعة تحت الحمراء، وسنتكلم على النماذج الضوئية الفيزيائية، وامتصاص الهيموغلوبين.

الفصل الثالث:

نستعرض في هذا الفصل جميع النظريات المتعلقة بموضوع البحث، مع التطرق للقوانين الذي استند إليها البحث.

الفصل الرابع:

يُظهر هذا الفصل أهمية العمل وذلك عن طريق العرض المفصل لأهم الأبحاث والدراسات المرجعية السابقة المتعلقة بموضوع البحث، وأهم ما توصلت إليه من القياسات، والنتائج والأدوات المستخدمة في كل دراسة.

الفصل الخامس:

نستعرض في هذا الفصل الأدوات والمواد المستخدمة في المختبر اللازمة لإجراء التجارب العملية، مع شرح تفصيلي لجميع التجارب العملية التي قمنا بها في بحثنا.

الفصل السادس:

نستعرض في هذا الفصل مناقشة شاملة للنتائج التي تم التوصل إليها، فضلاً عن المقترحات المستقبلية لمتابعة العمل في هذا البحث لتطويره، وللاستفادة من هذه النتائج في تطوير الأجهزة الطبية.

الفصل الثاني

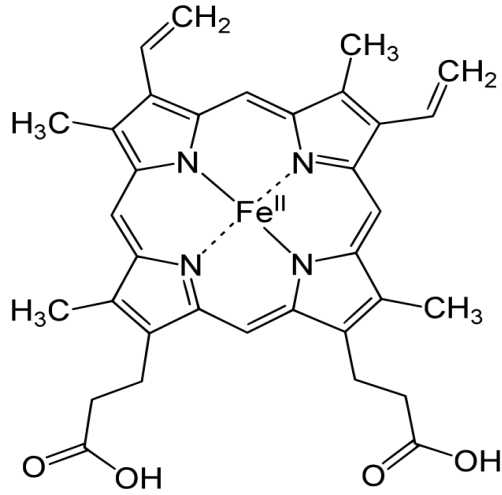
تفاعل الضوء مع المادة

تمهيد:

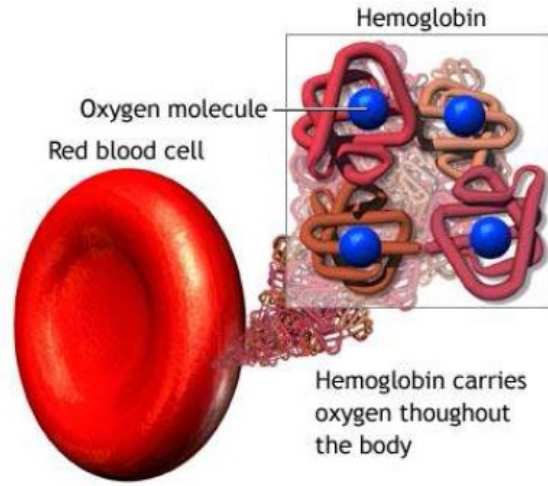
نستعرض في هذا الفصل لمحة فيزيولوجية عن الهيموغلوبين، والظواهر الأساسية التي يمكن أن يتعرض لها الضوء عند عبوره لوسط مادي من الانعكاس والانكسار والامتصاص والتبعثر، فضلاً عن إيضاح المعنى الفيزيائي للمعاملات الضوئية الأساسية، وخصائص مطيافية الأشعة تحت الحمراء، وامتصاص الهيموغلوبين، وسنتكلم على النماذج الضوئية الفيزيائية.

1.2. دراسة الهيموغلوبين

يُعد الهيموغلوبين من الماصات الحيوية المهمة ضمن الأنسجة الحية، ويتكون من بروتين تنتجه خلايا الدم الحمراء ، ويعد المسؤول عن نقل الأكسجين في الجسم، وكل جزيء هيموغلوبين يتشكل من أربع سلاسل ببتيدية polypeptide (زوج - ألفا، زوج - بيتا) كل منهما مكون من عدد من الحموض الأمينية، فضلاً عن مكون بروتيني يسمى الغلوبين globin، ومكون غير بروتيني عبارة عن أربعة جزيئات من أصبغة عضوية ذات شكل قرصي تسمى الهيم *Heme*، حيث تقوم الخلايا بتشكيل مركب الهيم وذلك بهدف تأمين احتياجاتها من الطاقة، وفي مركز كل جزيء من الهيم توضع ذرة واحدة من الحديد موضحة بالشكل 1 تستطيع ضم جزيء واحد من الأكسجين، من ثم كل جزيء من الهيموغلوبين يستطيع حمل أربعة جزيئات من الأكسجين [5] كما هو موضح بهيكلية جزيء الهيم بالشكل 2.

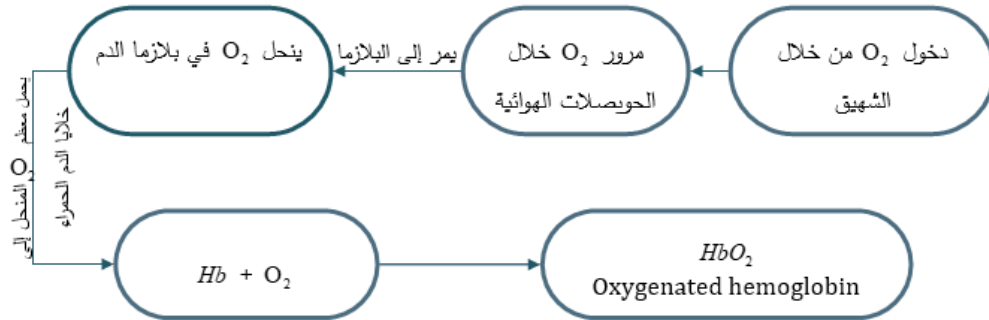


الشكل 2 هيكلية جزيء الهيم [6]



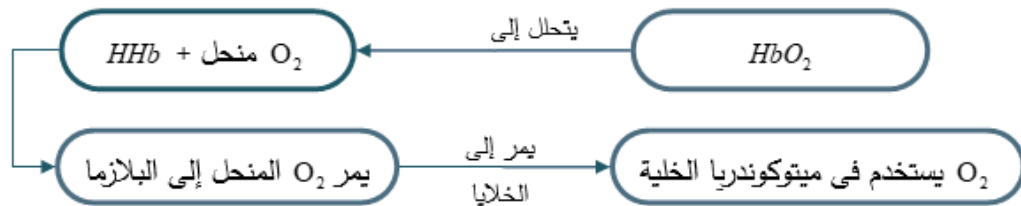
الشكل 1 تركيب جزيء الهيموغلوبين [5]

للهموغلوبين في الدم صيغتان فإما أن يكون مؤكسجاً HbO_2 أو غير مؤكسج HHb ، ويتحول الهيموغلوبين غير المؤكسج إلى هيموغلوبين مؤكسج عند ضم الأكسجين من الرئتين من خلال عملية تسمى تفاعل تحميل الأكسجين [5] موضحة بالشكل 3.



الشكل 3 رسم تخطيطي لتبادل الغازات في الشعيرات الدموية الرئوية.

ثم ينتقل الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 إلى الشعيرات الدموية، ويتخلص من الأكسجين O_2 ، ليعود إلى هيموغلوبين غير مؤكسج HHb من خلال عملية تسمى تفاعل تفريغ الأكسجين موضحة بالشكل 4.



الشكل 4 رسم تخطيطي لتبادل الغازات في الشعيرات الدموية للأنسجة.

تعتمد عملية تفاعل تفريغ الأكسجين وتحميله للهيموغلوبين على عاملين:

- العامل الأول: هو الضغط الجزئي للأكسجين PO_2 حيث في الشعيرات الدموية الرئوية تكون قيمة الضغط الجزئي للأكسجين PO_2 عالية جداً، مما يدفع جميع جزيئات الهيموغلوبين Hb إلى الارتباط مع الأكسجين O_2 والتحول إلى هيموغلوبين مؤكسج HbO_2 ، أما في الشعيرات الدموية النسيجية تكون قيمة PO_2 منخفضة، مما يساعد على تفكك الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 .
- العامل الثاني: الجاذبية ما بين الهيموغلوبين والأكسجين حيث إن روابط الأكسجين مع ذرات الحديد المتموضعة في مركز جزيء الهيم في الهيموغلوبين روابط فيزيائية قوية يعوق تفاعل تفريغ الأكسجين نتيجة تأثير بور حيث ينص على أن جاذبية الهيموغلوبين للأكسجين تتناسب عكسياً مع كل من قيمة درجة الحموضة المحتملة للهيدروجين Ph^1 وتركيز ثنائي أكسيد الكربون، ويعتمد أيضاً على عوامل عدة، كدرجة الحرارة، وعلى قيمة 2,3-DPG ثنائي الفوسفوغليسيرات حيث يؤدي دوراً مهماً في تنظيم عملية ارتباط الأكسجين بالهيموغلوبين [5].

2.2. سلوك الضوء في النسيج

ندعو الوسط الذي يبدي امتصاصاً وتبعثراً للأشعة بالوسط المضطرب Turbid Medium، وبصورة عامة تعد الأوساط الحيوية مثلاً حياً على الأوساط المضطربة وغير المتجانسة ضوئياً، وعند تعرضها للضوء حيث الضوء الخارجي الذي قد يتعرض له النسيج ليس إلا عبارة عن دفعة محددة من الفوتونات عبر الزمن، تحدث تفاعلات بينهما فإما أن تنعكس عن الخلايا الحية أو قد تعبر هذه النسيج، فتتعرض إما للامتصاص عن طريق الجزيئات الماصة (الكروموفورات) في النسيج (الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 والهيموغلوبين غير المؤكسج HHb والميوجلوبين Mb وغيرهم من الماصات) أو التبعثر داخل الأنسجة [7].

¹ قيمة Ph في الأنسجة أقل إلى حد كبير (أكثر حامضية) من قيمة Ph في الرئتين.

- الانعكاس والانكسار

عند ورود حزمة ضوئية على السطح الفاصل بين وسطين مختلفين بالكثافة فإن:

- جزءاً من الحزمة سوف يرد ليبقى ضمن وسط الورود، ويعرف بالحزمة المنعكسة، وتعرف هذه العملية بالانعكاس Reflection.

- والجزء الباقي من الحزمة يكمل مسيره ضمن الوسط الثاني بمسار مختلف، ويعرف بالحزمة المنكسرة، وتعرف العملية بالانكسار Refraction.

وتوصف هاتان العمليتان بقوانين سنيل Snell's Law.

إن عملية الانكسار تنتج عن الطبيعة الموجية للضوء والتي ترجع إلى انحراف في اتجاه الضوء نتيجة انتقاله من وسط إلى آخر مع اختلاف قرينتي الانكسار. كما يرجع أيضاً إلى سرعة الضوء في النسيج المصطدم بها، كما أن قرينة الانكسار للنسيج تقدر بمتوسط قيم الأوزان الحجمية للأجزاء المكون منها النسيج. فعندما يخترق الضوء وسط ما بسرعة أقل بالنسبة إلى سرعته في الوسط السابق، فإن الضوء ينحرف بطريقة أقرب إلى المحور الطبيعي، وتتراوح قرينة انكسارها ما بين 1.35- 1.45 [8] ولحساب قرينة الانكسار لوسط محدد، حسب المعادلة الآتية:

$$n = \frac{c}{v} \quad \text{Eq 1}$$

حيث:

- n قرينة الانكسار.

- v سرعة الضوء في الوسط.

- c سرعة الضوء في الهواء.

وُقِئِرَ الانكسار وفقاً لمبادئ الضوء الهندسي حيث الضوء يسعى لسلوك أقصر طريق ضمن الوسط؛ لذلك فإن

الضوء عند وروده لوسط أعلى بقرينة الانكسار، فإنه يقترب من الناظم ليقصر من المسار، وتعطى علاقة

الانكسار بالآتي:

$$n_i \cdot \sin \theta_i = n_r \cdot \sin \theta_r \quad \text{Eq 2}$$

حيث إن:

θ_i - زاوية الورود.

θ_r - زاوية الانكسار.

n_i - قرينة انكسار وسط الورود.

n_r - قرينة انكسار وسط الانكسار.

وتُحدّد نسبة الضوء المنعكس إلى الضوء الوارد بالانعكاسية، وتعطى في حالة الورود الناظمي بالعلاقة الآتية:

$$R = \frac{(n_i - n_r)^2}{(n_i + n_r)^2} \quad \text{Eq 3}$$

ومنها نحصل على النفوذية بالعلاقة:

$$T = 1 - R \quad \text{Eq 4}$$

وللانعكاس نوعان، وهما:

- الانعكاس المرآتي specular reflection: وهو الانعكاس الموصوف في قوانين الضوء الهندسي.
- الانعكاس الانتثاري diffuse reflection: وفيه يُلاحظ انعكاس الحزمة المرتدة على السطح الفاصل في زوايا انعكاس مختلفة [9].

- الامتصاص

إن ظاهرة الامتصاص تحدث عملية تحول طاقة الحزمة الضوئية إلى أشكال أخرى من الطاقة بواسطة مكونات الوسط، وهناك عدد من المحددات التي تعبر عن امتصاصية الضوء، أهمها معامل الامتصاص، ومعامل التوهين، ومعامل مولر للتخامد [7]. وقد أُدخل مفهوم المقطع العرضي للامتصاص الذي يعبر عن احتمال حصول امتصاص عند طول موجة معين، ويعطى بالعلاقة الآتية:

$$\sigma_a(\lambda) = \frac{P_{abs}}{I_0} \quad \text{Eq 5}$$

حيث إن:

- P_{abs} الاستطاعة الممتصة [W].

- I_0 شدة الإشعاع الساقط $[\frac{W}{m^2}]$.

- $\sigma_a(\lambda)$ المقطع العرضي للامتصاص $[m^2]$.

ومن أجل وسط تتوزع فيه الجزيئات توزيعاً متجانساً، فإن معامل الامتصاص μ_a يعطى بالعلاقة:

$$\mu_a = \rho \cdot \sigma_a \quad \text{Eq 6}$$

حيث إن:

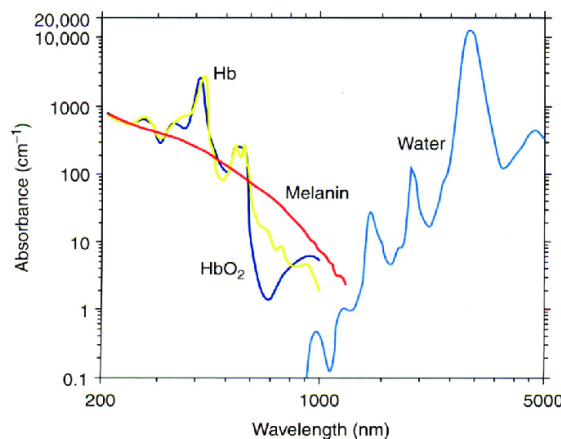
- ρ كثافة توزع الجزيئات الماصة $[m^{-3}]$.

■ أهم الماصات ضمن النسيج الحي

يمكن نظرياً التنبؤ بقيمة معامل امتصاص نسيج ما بمعرفة تركيز الماصات الحيوية الداخلة بتركيب

النسيج المعتبر كما يوضح الشكل 5، ومن أهم الماصات ضمن الأنسجة الحية [10]:

- **الماء:** يُعد الماء مكوناً أساسياً للجسم الحي، ويشكل حوالي 75% من تركيبه، وهو وسط شفاف للضوء المرئي ذو امتصاصية قليلة جداً، أما امتصاصيته في المجال تحت الأحمر فتكون عظمى.
- **الهيموغلوبين:** يُعد من الماصات الحيوية المهمة ضمن الأنسجة الحية، كما ذكرنا سابقاً.
- **الميلانين:** يعد الميلانين الصباغ الأساسي في الجلد حيث يصنف على أنه أهم حامل لون جلدي.



الشكل 5 أطياف امتصاصية أهم الماصات في النسيج بالنسبة للطول الموجي [10].

- التبعثر

التبعثر يحدث في الأوساط غير المتجانسة أي في الأوساط التي تختلف فيها قرائن الانكسار حيث عندما يرد فوتون ضوئي على جسيم، فإنه يمكن أن يغير منحى انتشاره، ويُعد الحدث المسيطر في الأنسجة الحية ضمن المجال تحت الأحمر القريب حيث يمكن للفوتونات أن تغيّر منحائها حتى في طبقة رقيقة جداً من النسيج، ويعبر المقطع العرضي للتبعثر عن احتمال حصول تبعثر ويعطى بالعلاقة الآتية:

$$\sigma_s(\lambda) = \frac{P_{scatt}}{I_0} \quad \text{Eq 7}$$

حيث إن:

- p_{scatt} الاستطاعة الضوئية المتبعثرة [W].

- I_0 الشدة الضوئية الواردة [W.m^{-2}].

- $\sigma_s(\lambda)$ المقطع العرضي للتبعثر [m^2].

ويعبر S عن جهة انتشار الموجة المستوية بالنسبة لمنحى التبعثر، ولكن يمكن إهمال ذلك بالتقريب القائم على افتراض أن المبعثرات كروية متناظرة والموجة الواردة مستوية عندها نلغي دور الاستقطابية الذي يتلاءم ونظرية النقل الإشعاعي Radiative Transport Theory .

أما بالنسبة للأوساط الحاوية على توزيع منتظم للمبعثرات بكثافة ρ ، فإن عامل التبعثر μ_s يعطى بالعلاقة الآتية:

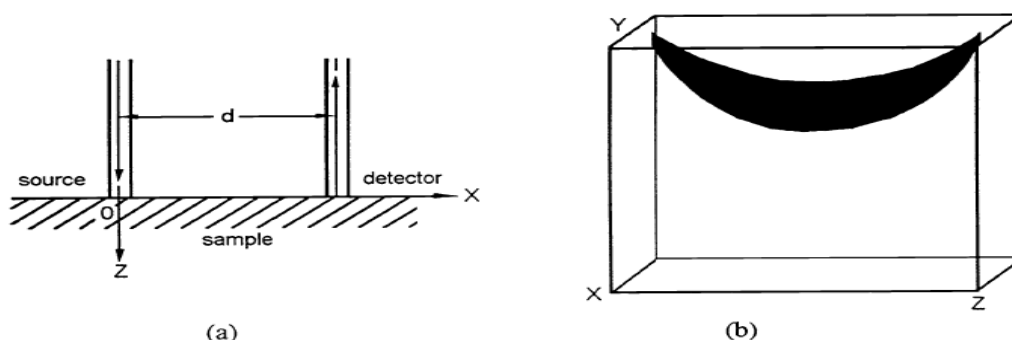
$$\mu_s = \rho \cdot \sigma_s \quad \text{Eq 8}$$

حيث:

- ρ : كثافة توزيع المبعثرات [m^{-3}].

إن عملية تحديد معامل التبعثر تتطلب تحديد منحى تبعثر الفوتون، ومن ثم يجب معرفة تابع التوزيع الطوري للتبعثر $p(\theta)$ الذي يعبر عن التوزيع الزاوي لحوادث التبعثر التي تجري عند كل مركز تبعثر. ويجب التوضيح إلى أن التأثير المعقد لتبعثر الضوء التابع للطبقات المختلفة والمتعددة للنسيج يؤدي إلى اختلاف المسار الضوئي

path length عن البعد الفيزيائي بين المنبع والكاشف، ويكون المسار الضوئي أطول بخمس مرات تقريباً، ويأخذ شكلاً يسمى شكل الموز banana-shaped كما هو موضح بالشكل 6.



الشكل 6 (أ) وسط لانهازي، (ب) منطقة شكل الموز لتوزيع مسار الفوتون [11].

ويقسم التبعثر إلى [13][12]:

■ التبعثر المرن

يتغير منحى انتشار الفوتون في هذا النوع من التبعثر مع بقاء طاقته ثابتة، ويُعدّ التبعثر المرن هو المسيطر في المجال تحت الأحمر القريب حيث إن الفوتون الوارد وفقاً للمنحى $\hat{S}$ على جسيم ما سيغير من منحى وروده نتيجة لظاهرة التبعثر، ليأخذ منحى جديد $\hat{S}'$. بالعموم يتعلق منحى التبعثر $\hat{S}'$ بأبعاد الجسيم الذي سبب التبعثر؛ فضلاً عن بنية وسط التبعثر؛ أي لترتيب الجسيمات المبعثرة في الوسط. يتميز هذا التغير في منحى الانتشار بفعل عملية التبعثر بتوزع مستقل.

ومن أنواع التبعثر المرن:

✓ تبعثر رايلي

يمكن تطبيق نظرية رايلي للتبعثر في الحالة التي يكون فيها بارامترات أبعاد الجسيم الذي سبب

التبعثر x أصغر بكثير من الواحد وترتبط شدة التبعثر مع الطول الموجي [10].

ويمتاز تبعثر رايلي بـ:

■ يُلاحظ تغير كبير في المقطع العرضي للتبعثر بدلالة الطول الموجي.

■ كفاءة التبعثر¹ صغيرة جداً.

✓ تبعثر ماي

تبين هذه النظرية أن المقطع العرضي التفاضلي للتبعثر يزداد بازدياد أبعاد الجسم الذي سبب التبعثر واقتزابه من طول موجة الضوء الوارد. وتمثل نظرية ماي حلاً تحليلياً لمعادلات ماكسويل الكهروستاتيكية حيث حُلَّت هذه النظرية بالنسبة لتبعثر الأمواج الكهروستاتيكية بفعل جسيمات كروية تماماً، وقدمت هذه النظرية حلاً لتبعثر الضوء المستقطب وغير المستقطب [14][13].

■ التبعثر اللامرن

يتغير في التبعثر اللامرن كل من:

- منحى الفوتون المتبعثر.
- طاقة الفوتون المتبعثر.

وذلك مقارنةً بطاقة الفوتون ومنحاه الوارد .

ويمكن تقريب هذه العملية وعدّها تجري على مرحلتين:

- الأولى تتمثل بامتصاص الفوتون الوارد من قبل الجسم.
- ثم تتبع بعملية إصدار للفوتون بطاقة، ومنحى مختلفين.

ومن أهم أنواع التبعثر اللامرن [10]:

✓ تبعثر بريليون

عند ورود موجة صوتية، فإن تفاعل الضوء معها يسبب تبعثر بريليون، حيث إن انتشار موجة صوتية في وسط مادي يسبب تغيراً دورياً في كثافة الوسط، أي يصبح الوسط بمنزلة شبكة انعراج تسبب تبعثراً للضوء

تعبير كفاءة التبعثر عن حاصل قسمة المقطع العرضي للتبعثر على سطح قرص له نفس قطر الجسيمة المبعثرة.¹

الوارد، ويُلاحظ أيضاً انزياحاً في تواتر الفوتونات المتبعثرة يعرف بانزياح دوبلر؛ بسبب الموجة الصوتية التي تعبر الوسط.

✓ تبعثر رامان

عند ورود حزمة ضوئية على عينة؛ فإن معظم الفوتونات الواردة تتبعثر تبعثراً مرناً حيث تثار الجزيئية إلى سوية عليا ثم:

- إما أن تعود مباشرة مصدرة الطاقة على هيئة فوتونات طاقتها تساوي طاقة الفوتونات الواردة.
- وإما يمكن أن تعود إلى سوية اهتزازية تقع فوق السوية الأرضية؛ لتصدر فوتوناً بتواتر أقل من تواتر الفوتون الوارد والخط الطيفي الموافق لهذه العملية يدعى Stokes Line.
- ويمكن للجزيئية الموجودة بتلك السوية الاهتزازية أن تنتقل لسوية افتراضية أعلى عند ورود فوتون عليها، وتعود إلى السوية الأرضية مصدرة فوتوناً بتواتر أعلى من تواتر الفوتون الوارد، وهذا يعرف

. Anti – Stokes Line

- أما عندما يكون فيها تواتر الفوتون الوارد يساوي تواتر الفوتون المتبعثر؛ أي عندما تكون السوية الافتراضية توافق السوية المثارة هذا يدعى بتبعثر رامان التجاوبي.

3.2. أهم المعاملات الضوئية

يُعد معامل الامتصاص μ_a ومعامل التبعثر μ_s ومعامل اللاتناحي g من المعاملات الضوئية الأساسية التي يمكن اشتقاق منها جميع المعاملات الضوئية الأخرى لأي وسط؛ لذلك فإن معرفتها أساسية لما لها من أهمية كبيرة في تطوير تقانات استخدام الضوء في العلاج والتشخيص [8].

ومن أهم المعاملات الضوئية:

- معامل التوهين

يعطى معامل التوهين بالعلاقة الآتية:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad \text{Eq 9}$$

ويعبر مقلوب معامل التوهين $1/\mu_t$ عن المسار الحر الوسطي للفوتون ضمن المادة.

- معامل التوهين المختزل

معامل التوهين المختزل μ_t' الذي يعطى بالعلاقة:

$$\mu_t' = \mu_a + \mu_s' \quad \text{Eq 10}$$

- معامل التوهين الفعال

معامل التوهين الفعال يعبر عن التوهين الأسّي للضوء، ويرتبط مع معاملي الامتصاص، والتبعثر

المختزل ويعطى بالعلاقة الآتية:

$$\mu_{eff} = (3 \cdot \mu_a * (\mu_a + \mu_s'))^{1/2} \quad \text{Eq 11}$$

- معامل عمق الاختراق البصري

يعطى معامل عمق الاختراق البصري بالعلاقة الآتية:

$$d = \frac{1}{3\mu_a(\mu_a + \mu_s(1-g))^{1/2}} \quad \text{Eq 12}$$

- الألبيدو

يعبر عن نسبة التبعثر إلى التوهين، ويعرف بالألبيدو a ، ويعطى بالعلاقة الآتية:

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad \text{Eq 13}$$

- الألبيدو المختزل

اما الألبيدو المختزل a' يعطى بالعلاقة الآتية:

$$a' = \frac{\mu_s'}{\mu_a + \mu_s'} \quad \text{Eq 14}$$

- معامل اللاتناحي

معامل اللاتناحي يعبر عن عدم التناحي بين منحى التبعثر، ومنحى الورود، ويرمز له g .

- فإذا كان التبعثر متماثل المناحي (رايلي)؛ أي إنه يمكن أن يحدث عند أي زاوية، فإن قيمته ($g=0$)

- أما إذا كان التبعثر أمامياً بالمطلق، فإن قيمته ($g = 1$)

- أما إذا كان عكسياً، فإن قيمته ($g = -1$)

وبالنسبة للأنسجة الحية والمستحلبات الدهنية تتراوح قيمته ضمن المجال ($0 < g < 1$) [16] [15].

- معامل التبعثر المختزل

إن تبعثر النسيج تبعثر مرن أمامي؛ أي غير متماثل المناحي ؛ لذلك فقد اقترح معامل جديد يجمع بين معاملين، وهما: معامل اللاتناحي g ومعامل التبعثر μ_s ، ويدعى هذا المعامل بمعامل التبعثر المختزل، ويعطى بالعلاقة [17] :

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad \text{Eq 15}$$

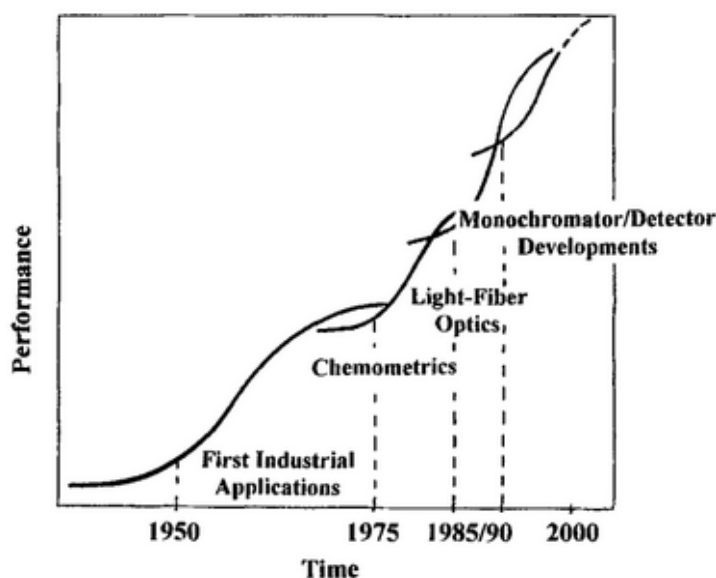
إن قيمة هذا المعامل تعبر عن مقلوب المسافة التي تفصل بين حادثتي تبعثر فعاليتين؛ أي بعدها يكون الفوتون قد غير منحى انتشاره كلياً عن منحى وروده [12][13].

- معامل التخماد

هو مقياس لمدى قوة امتصاص المادة للضوء عند طول موجي معين ويقاس عن طريق قانون بيير - لامبرت.

4.2. مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة $NIRS$ ، وامتصاص الهيموغلوبين

اكتشفت الطاقة تحت الحمراء عام 1800 م، وذلك عن طريق عالم الفلك البريطاني ويليام هيرشل، وتوالت التطورات على التقنيات التي تستخدم الأشعة تحت الحمراء في جميع المجالات [18] كما هو موضح بالشكل 7.



الشكل 7 التطورات على التقانات التي تستخدم الأشعة تحت الحمراء مع الزمن [18].

حيث تعد أشعة كهرومغناطيسية العين البشرية لا تستطيع رؤيتها ومعظم الطيف الكهرومغناطيسي عدا الضوء المرئي، ولكن يمكن للإنسان أن يشعر بحرارتها [19].

وإن تبعثر الضوء في المجال تحت الأحمر القريب يتبع لمكونات النسيج، وعدد طبقاته؛ بينما الامتصاص يتحدد بخصائص الجزيئات للمواد ضمن المسار الضوئي وبصورة رئيسية لخصائص الهيموغلوبين، ويستطيع الضوء في المجال تحت الأحمر القريب النفوذ إلى النسيج؛ لأن العامل المهيمن في نقله إلى النسيج هو التبعثر، وهو أعلى بمئة مرة تقريباً من الامتصاص.

ففي بدايات عام 1960 قام العالم Karl Norris وزملائه بالتعريف بمطيافية أشعة تحت الأحمر القريب *NIRS* ضمن مجال الأطوال الموجية [650-2500 nm]، أما في المجال الطبي، فيعود استخدامها لعام 1977، حيث اكتشف العالم الألماني Karl von Vierordt عام 1875 أن امتصاص الهيموغلوبين *Hb* للضوء يعتمد على تركيز الأكسجين الذي يعمل على تغيير لون الهيموغلوبين حيث الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 ذو لون أحمر ويتحول إلى الأحمر الداكن عند تفكك الأكسجين؛ وذلك بسبب اختلاف طيف الامتصاص للضوء المرئي، فطور تقانة لمراقبة تركيز الهيموغلوبين حيث يمتص الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb الأشعة في المجال تحت الأحمر القريب NIR عند أطوال موجية مختلفة [20] ومن ثم؛ حسب أطياف الامتصاص لكرموفورات النسيج:

■ الماء هو الكروموفور الرئيس الذي يسيطر على الامتصاص في النسيج عند أقل من $300[nm]$ وأكثر من $100[nm]$.

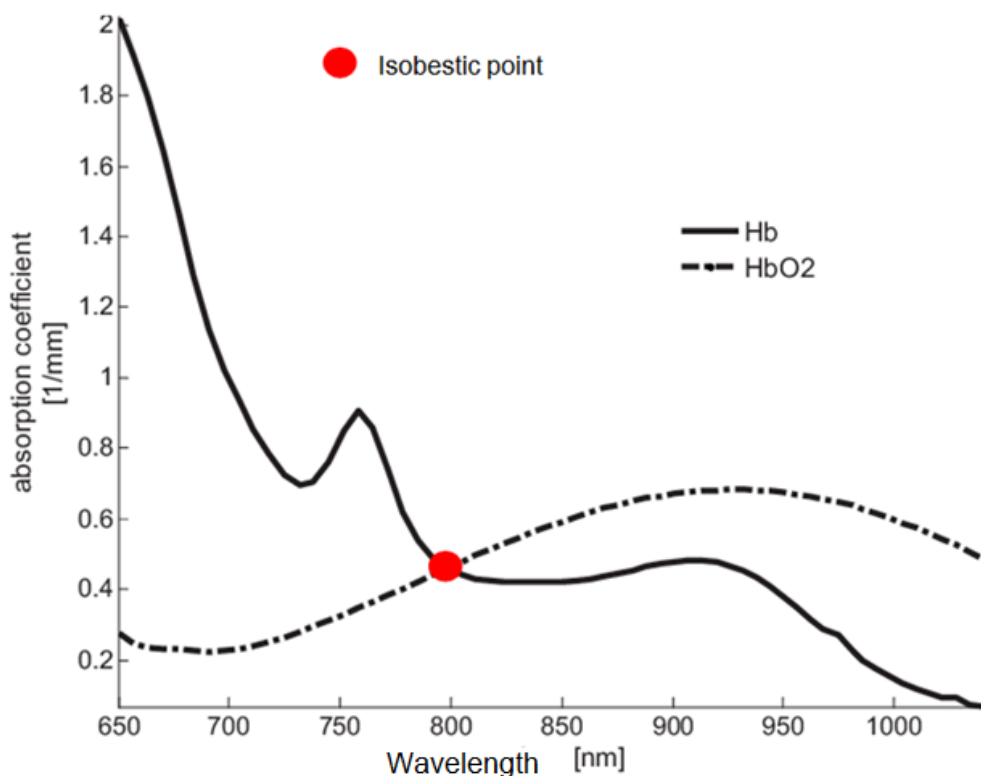
■ أما في المجال المرئي من $400[nm]$ إلى $600[nm]$ يكون الامتصاص من الهيموغلوبين والميلانين هو المسيطر.

■ في المجال تحت الأحمر القريب يكون الامتصاص أقل ما يمكن ومن ثم التبثر هو المسيطر، وذلك عبر عدة سنتيمترات من النسيج، ويبقى الامتصاص فقط للهيموغلوبين وأوكسيد السيتوكروم $CytOx$ بنسب عالية وبأقل ما يمكن لباقي كروموفورات النسيج.

وبصورة عامة تتطلب أنظمة الضوء تحت الأحمر القريب طولين موجيين لحل المعادلات الطيفية التي تحتوي على نوعين من الكروموفورات الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb وفي بعض الأبحاث يُستخدم عدد أكبر من الأطوال الموجية فقط لإثبات دقة الخوارزمية.

تُختارُ الأطوال الموجية المستخدمة بحيث تكون مناسبة لتحسس الهيموغلوبين Hb وبصورة عامة تستخدم الأطوال الموجية ما بين $650-1000[nm]$ ، ويعرف هذا المجال الطيفي بالنافذة العلاجية [12]، ويختلف طيف الامتصاص ما بين الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb ضمن هذا المجال كما هو موضح بالشكل 8، ويتحقق عنده الحد الأدنى من التداخل مع H_2O ¹.

¹ حيث يعتبر الماء هو الكروموفور المسيطر في النسيج



الشكل 8 أطياف امتصاص الهيموغلوبين المؤكسج HbO₂ وغير المؤكسج Hb [21].

وعند isobestic point تتحقق نقطة تساوي الامتصاصية ما بين الهيموغلوبين المؤكسج HbO₂ وغير المؤكسج Hb كما هو موضح بالشكل السابق وذلك عند 810 nm . وقد يستخدم هذا الطول الموجي بالأبحاث لقياس الهيموغلوبين Hb الكلي.

يتعرض الشعاع الضوئي في النسيج لضياعات مرتفعة نسبياً وتكون بسبب [22]:

■ امتصاص O₂ من الكروموفورات في النسيج ذات التراكيز المتغيرة مثل Hb

والميوغلوبين Mb (فقط في العضلات) وأوكسيد السيتوكروم CytOx¹.

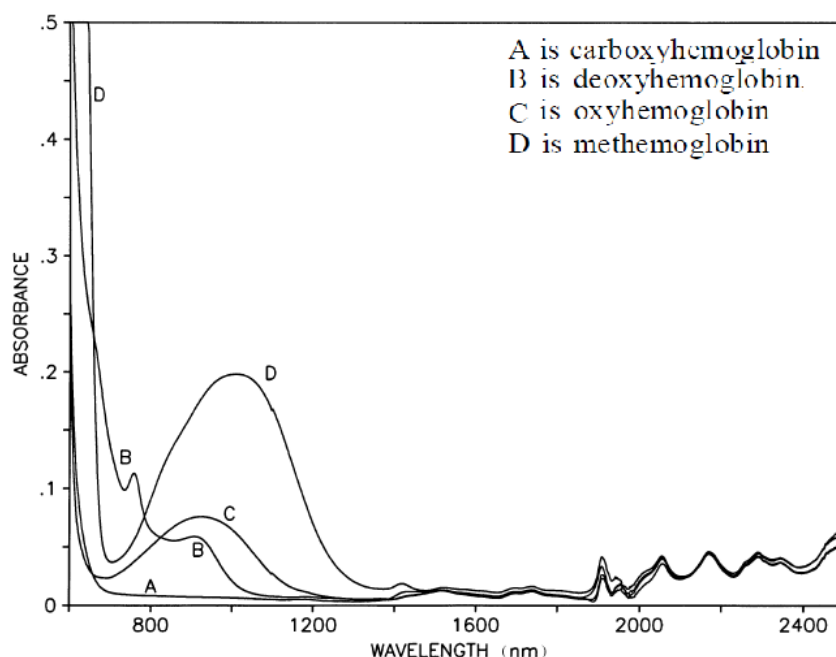
■ الامتصاص من الكروموفورات في النسيج ذات التراكيز الثابتة مثل الميلانين.

■ التبعثر الضوئي.

من ثم العلاقة بين الامتصاص والضياعات غير خطية.

¹ هو أنظم يجد في ميتوكوندريا الخلية يشارك في عملية Oxidative metabolism.

ويجب الإشارة إلى أن صيغتي الهيموغلوبين Hb ليست مكونات الدم الوحيدة حيث يوجد صيغ عدّة للهيموغلوبين غير طبيعية، مثل: الكاربوهيموغلوبين (محمل بأحادي أكسيد الكربون) والميثي مغلوبيين (صيغة الحديد Fe^{3+}) وغيرهم، يوضح منحنى عامل الامتصاص لكل مكون بالشكل 9 .



الشكل 9 أطيف الامتصاص للصيغ الشهيرة للهيموغلوبين [23].

نلاحظ أن أطيف الامتصاص قريبة جداً من بعضها، وقريبة من طيف امتصاص الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb ; لذلك يمكن حساب تراكيز الهيموغلوبين غير الطبيعية باستخدام مقاييس خاصة co-oximeter عن طريق أربعة أو أكثر من الأطوال الموجية بتقانة تسمى في المختبر 1 vitro method [24].

5.2. النماذج الفيزيائية الضوئية

تستخدم النماذج الفيزيائية الضوئية للتحقق من صحة القياسات، ومعايرة الأجهزة الضوئية الطبية الحيوية وتقويم أداء الأجهزة الضوئية الموجودة؛ وذلك لأن الخلايا الحية غير متوفرة بصورة دائمة.

¹ طرق المختبر: أي عن طريق الاختبارات التي تُجرى في المختبر؛ أي إنه تُجرى خارج الكائن الحي وعادةً ما تتضمن الاختبارات على أنسجة أو أعضاء أو خلايا معزولة.

من ثم للحصول على قياسات ثابتة وقابلة للضبط، لابد من تحديد الخصائص الضوئية للنماذج الفيزيائية الضوئية المُشكلة بصورة دقيقة ومحددة، ولعدم وجود نموذج فيزيائي معياري وأساسي؛ لذلك لابد من تشكيل النموذج الفيزيائي ضمن المختبر حيث إن وظيفة النموذج المركب يجب أن تكون محددة، كما أن تغير الخصائص مع الزمن يجب أن تؤخذ في الحسبان [25].

إن بناء النماذج الفيزيائية تتطلب مزج كمية محددة من مادة مبعثرة مع مادة ماصة بنسب معينة بحيث تكون المعاملات الضوئية للنموذج المبني تساوي تماماً معاملي الامتصاص والتبعثر للنسيج المدروس على مدى معين من الأطوال الموجية [25] وتتم هذه العملية باستخدام وسط محل مُضيف يمثل حجمه حجم النموذج المبني فضلاً عن كونه وسطاً شفافاً تقريباً قرينة انكساره تساوي قرينة انكسار النسيج المدروس.

الفصل الثالث

طرق التوصيف الضوئية

تمهيد

نستعرض في هذا الفصل جميع النظريات المتعلقة بموضوع البحث مع التطرق للقوانين التي استند إليها البحث.

1.3. مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية (Collimated Transmission Spectroscopy)

تستخدم مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية لتوصيف المواد الداخلة في تركيب النماذج الضوئية الفيزيائية حيث يقاس معامل التوهين attenuation coefficient للنماذج المدروسة لقياس الشدات الضوئية النافذة منها؛ بالاعتماد على قانون بير-لامبرت الأساسي والتي توضع ضمن حامل خاص يحوي على عدستين لتوازي الحزمة الضوئية [26][27][28]، وينص قانون بير-لامبرت على [26][29]:

$$I_z(\lambda) = I_o(\lambda) \cdot e^{-\mu_t(\lambda) \cdot z} \quad \text{Eq 16}$$

أو بالصيغة الآتية:

$$I_z(\lambda) = I_o(\lambda) \cdot e^{-ex(\lambda) \cdot z \cdot c} \quad \text{Eq 17}$$

حيث:

- $I_z(\lambda)$ هي الشدة الضوئية التي نفذت من العينة، وبلغت الكاشف $[W \cdot m^{-2}]$.
- $I_o(\lambda)$ هي الشدة المرجعية والتي نفذت من الماء المقطر المحل $[W \cdot m^{-2}]$.
- $\mu_t(\lambda)$ معامل التوهين $[mm^{-1}]$.
- z سماكة العينة $[mm]$.
- c التركيز المئوي الحجمي للمادة المدروسة $[v/v \%]$.
- $ex(\lambda)$ معامل التخماد extinction coefficient.

وقيست النفوذية حسب المعادلة الآتية:

$$T(\%) = I_z(\lambda)/I_o(\lambda) \quad \text{Eq 18}$$

أما الامتصاصية يمكن أن ترتبط بالنفوذية، ويمكن حسابها من المعادلة الآتية:

$$A = 2 - \log_{10}(T) \quad \text{Eq 19}$$

حيث:

A - الامتصاصية.

من ثم من حساب معامل التخماد، ومعامل التوهين والامتصاصية يمكن الحصول على معامل التبعثر عن طريق أطيف الانعكاس المقيسة بواسطة مطيافية الانعكاس الانتثاري.

2.3. مطيافية الانعكاس الانتثاري (Diffuse Reflectance Spectroscopy)

تعتبر الانعكاسية الانتثارية الكلية عن الجزء المرتد من الإشعاع عن سطح العينة في جميع المناحي. عند توجيه حزمة بصرية متوازية على وسط متجانس لانهاضي الأبعاد semi-infinite medium، فإنه بالإمكان عدّ الانعكاسية الانتثارية الكلية تابعاً لمعامل الامتصاص، ومعامل التبعثر، ومعامل اللاتناحي، وقرينة الانكسار؛ وذلك في حالة وجود اختلاف في قرائن الانكسار [16][10].

أي إن قيمة الانعكاسية الانتثارية الكلية تُعدّ تابعاً لمعامل الألبيدو المختزل a' وقرينة الانكسار n ، وعليه فإنه لا يمكن فصل معامل الامتصاص، والتبعثر المختزل بصورة مستقلة من خلال قياس الانعكاسية الانتثارية الكلية بمفردها [13] [2].

وقيمة معامل اللاتناحي التي اعتمدت [15][30] $g=0.95$

وبالاعتماد على نظرية الانتثار تم التوصل لعلاقة تجمع الانعكاسية الانتثارية الكلية، ومعامل الألبيدو المختزل،

وقرينة الانكسار وهي بالشكل الآتي [32][31][16]

$$R_{\infty} = \frac{a'}{1 + 2k \cdot (1 - a') + (1 + \frac{2K}{3}) \cdot \sqrt{3(1 - a')}} \quad \text{Eq 20}$$

حيث إن:

- R_{∞} : طيف الانعكاسية للعينات ذات الابعاد اللانهائية semi-infinite medium وتحسب من

العلاقة:

$$R_{\infty} = \frac{r_{\text{sample}}}{r_{\text{standard}}} \quad \text{Eq 21}$$

حيث:

- r_{sample} : انعكاسية العينة

- r_{standard} : انعكاسية مادة معايرة الانعكاس

- K : معامل يعطى بدلالة الانعكاسية الانتثارية الداخلية:

$$K = \frac{1+r}{1-r} \quad \text{Eq 22}$$

حيث:

- r : الانعكاسية الانتثارية الداخلية، وتعطى بالعلاقة الآتية:

$$r = -1.44n_{\text{rel}}^2 + 0.71n_{\text{rel}}^1 + 0.668 + 0.0636n_{\text{rel}} \quad \text{Eq 23}$$

حيث:

- n_{rel} : قرينة الانكسار النسبية، وتحسب من العلاقة:

$$n_{\text{rel}} = \frac{n_{\text{sample}}}{n_{\text{surroundingmedium}}} \quad \text{Eq 24}$$

حيث:

- $n_{\text{surroundingmedium}}$: قرينة انكسار الوسط المحل المضيف للعينة.

- n_{sample} : قرينة انكسار العينة المدروسة.

يسمح هذا النموذج بحساب الأليدو المختزل a' بعد معرفة كل من قرينة الانكسار، وقياس الانعكاسية الانتشارية الكلية من ثم أمكن تحديد معامل التبعثر.

3.3. قانون بيير-لامبرت الأساسي والمعدل

3.3.1. قانون بيير-لامبرت الأساسي

يعتمد تحديد تركيز الأكسجين في هيموغلوبين الدم على قانون بيير-لامبرت المذكور في العلاقة: [27]

$$I_z(\lambda) = I_o(\lambda) \cdot e^{-\mu_t(\lambda) \cdot z} \quad \text{Eq 25}$$

لكن يتطلب قانون بيير-لامبرت الأساسي شروطاً عدة لاستخدامه:

1. مركبات الامتصاص في العينة يجب أن تكون مستقلة عن بعضها بعضاً أي لا يوجد تأثير أو تداخل بينها.

2. يفترض القانون بأن تركيز الوسط متجانس على طول المسار الضوئي بأي نقطة من العينة، ولكن هذا الشرط لا يتحقق في الأنسجة الحية.

3. يفترض قانون بيير-لامبرت أن الضوء الوارد يتألف من حزمة متوازية من الأشعة الضوئية والتي تخترق النسيج أو الوسط، وتنتشر به دون تبعثر.

4. لا يوجد آثار أو تفاعلات على مستوى الذرة، مثل الامتصاص متعدد الفوتون، وذلك بإهمال

الآثار اللاخطية¹.

كما لابد من الأخذ بالعاملين الآتيين:

1. بسبب العوامل الضوئية التي يتعرض لها الضوء من تبعثر وانعكاس، فإنه من الصعب تحديد شدة الضوء المطبق بدقة.

¹ الآثار اللاخطية: ويقصد طاقة الضوء الممتص تتناسب مع مربع شدة الضوء الوارد

2. السماكات المختلفة للنسيج تؤثر في القياس حيث الأقطار الفيزيائية للشرابين الدموية مرنة تقل أو تزيد دورياً حسب الضغط (النبض الشرياني); لذلك سيكون هناك تغيرات للمسافة التي يقطعها الضوء الذي يُنقل ويُلاحظ ذلك كتغير لطول مسار الامتصاص.

3.3.2. قانون بيير - لامبرت المعدل

لتجنب العوامل السابقة يجب علينا استخدام قانون بيير-لامبرت المعدل الذي يصف التبعثر في الأوساط المضطربة أو العكرة الذي يحدث فيها تبعثر وامتصاص معاً. إن طول مسار الامتصاص في العينات التي يحدث فيها تبعثر للضوء لا يمثل المسافة الخطية بين المنبع والكاشف، وإنما المسافة الكلية التي يقطعها الفوتون عندما يتحرك داخل العينة، ويدعى قانون بيير-لامبرت الذي يأخذ في الحسبان التبعثر أو الانتثار بقانون بيير-لامبرت المعدل¹، وهو توصيف تجريبي للتخامد الضوئي في وسط شديد التبعثر، ويعطى بالعلاقة الرياضية:

$$OD = \mu_a \cdot D \cdot DPF + G \quad \text{Eq 26}$$

حيث:

- OD : الكثافة الضوئية.
- D : المسافة الخطية بين المنبع والكاشف.
- DPF : وهو معامل طول المسار التقاضي².
- $D \cdot DPF$: طول مسار الامتصاص.
- G : المعامل الهندسي أو الشكلي وهو تغيرات شكل المسار.

¹المسار الفيزيائي = المسار الضوئي: أي لا يوجد تبعثر ← قانون بيير-لامبرت الأساسي.
المسار الفيزيائي ≠ المسار الضوئي: أي يوجد تبعثر ← قانون بيير-لامبرت المعدل.
² دائماً أكبر من الواحد لوجود التبعثر.

تصف العلاقة السابقة الامتصاص المطلق للكروموفورات في العينة إلا أن هذا التقويم للتركيز في الأنسجة صعب جداً، بسبب عدم القدرة على تحديد قيم DFP و G بدقة، فضلاً عن وجود كروموفورات أخرى تُحدث تغيرات في طيف الامتصاص نقوم بإهمالها¹، لأنها تؤثر في قياس تراكيز الكروموفورات المطلوبة، من ثم يعبر عن تغير الكثافة الضوئية بالعلاقة:

$$\Delta OD = \sum \varepsilon_i \cdot \Delta[C] \cdot D \cdot DPF \quad \text{Eq 27}$$

حيث:

- ΔOD : تغير الكثافة الضوئية.
- ε_i : الامتصاصية المولية.
- $\Delta[C]$: تغير تركيز المواد الماصة في المادة.

$$\mu_a = \varepsilon_i \cdot \Delta[C] \quad \text{Eq 28}$$

إن الانتثار العميق للفوتونات يتطلب استخدام طولين موجيين على الأقل، وعند القياس على عينة تحوي مزيجاً من تراكيز HbO_2 و HHb يكون قانون بيير-لامبرت المعدل بالصورة الآتية:

$$\Delta OD^\lambda = \left(\varepsilon_{HbO_2}^\lambda \cdot \Delta[HbO_2] + \varepsilon_{HHb}^\lambda \cdot \Delta[HHb] \right) \cdot DPF_\lambda \cdot D \quad \text{Eq 29}$$

حيث:

- ΔOD^λ : تغير الكثافة الضوئية أو الامتصاصية عند طول موجة λ .
- $\varepsilon_{HbO_2}^\lambda$: الامتصاصية المولية لـ HbO_2 عند طول موجة λ .
- $\varepsilon_{HHb}^\lambda$: الامتصاصية المولية لـ HHb عند طول موجة λ .

¹ أي اعتبارها Background absorption

تفترض هذه المعادلة أن التراكيز مستقلة عن بعضها بعضاً فمن خلال قياس ΔOD^{λ} عند طولين موجيين مختلفين، وباستخدام القيم المعروفة للامتصاصية المولية لكل من HbO_2 و HHb يمكن تحديد التغير في تراكيز هذه الكروموفورات من خلال حل جملة المعادلات الخطية المذكورة سابقاً، ومن ثم نحصل على تغير تراكيز كل من HbO_2 و HHb والتي تعطى بالعلاقتين:

$$\Delta[HHb] = \frac{\varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_2} \cdot \Delta OD^{\lambda_1} - \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_1} \cdot \Delta OD^{\lambda_2}}{D \cdot (\varepsilon_{HHb}^{\lambda_1} \cdot \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_2} - \varepsilon_{HHb}^{\lambda_2} \cdot \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_1})} \quad \text{Eq 30}$$

$$\Delta[HbO_2] = \frac{\varepsilon_{HHb}^{\lambda_2} \cdot \Delta OD^{\lambda_1} - \varepsilon_{HHb}^{\lambda_1} \cdot \Delta OD^{\lambda_2}}{D \cdot (\varepsilon_{HHb}^{\lambda_2} \cdot \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_1} - \varepsilon_{HHb}^{\lambda_1} \cdot \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_2})} \quad \text{Eq 31}$$

4.3. حساب تركيز الأكسجين بصورة مطلقة

غالباً ما تعتمد مطيافية تحت الأحمر القريب $NIRS$ على إحصاء تراكيز الكروموفورات ذات التراكيز المتغيرة والتي تتمثل على وجه الخصوص بالهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb وأوكسيد السيتوكروم $CytOx$ ، ففي حال افتراضنا أن التبعثر مساوٍ للصفر، يكون إجمالي الضوء الممتص في الوسط هو مجموع خطي بسبب كل كروموفور على حدة.

لكن في وسط مضطرب شديد التبعثر كالنسيج يصبح هذا المجموع الخطي مشوّهاً بسبب اختلاف طول المسار الضوئي، نتيجة عملية التبعثر وتابعة بصورة معقدة لعوامل الامتصاص والتبعثر للنسيج μ_a, μ_s ، ونوع النسيج، وعامل اللاتناحي، من ثم بناءً على ذلك فإن عملية إحصاء تراكيز الكروموفورات عملية معقدة حيث التقدير الكمي للتراكيز غير ممكن؛ لأنه يتطلب أن يكون المسار الضوئي محدداً، وذلك ما يتمثل به عيب قانون بيري-لامبرت المعدل، لذلك الطرائق الضوئية استطاعت أن تحدد فقط تغيير تراكيز الكروموفورات، وذلك عن طريق قياس المسار البصري في الأنسجة [22].

من ثم تكمن صعوبة تحديد القيم المطلقة لكل من الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb بـ:

■ التبعثر المتعدد للضوء في النسيج يجعل تقدير معامل الامتصاص المطلق صعباً جداً مقارنة بعملية قياس في وسط غير مبعثر، ويعد تقدير معامل الامتصاص شرطاً أساسياً لمعرفة القيم المطلقة لتراكيز

الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb .

■ حتى في حال معرفة قيم معامل الامتصاص المطلق، فإن وجود كروموفورات، فضلاً عن الهيموغلوبين

المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb تشارك في عملية الامتصاص تجعل تحديد القيم المطلقة صعباً

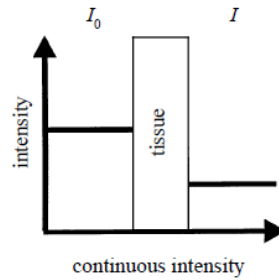
جداً ومعقداً حيث لا يمكن إهمال أي من هذه الكروموفورات [1].

إن الأجهزة الأولى التي اعتمدت قياس مطيافية تحت الأحمر القريب $NIRS$ عُرِفَت بـ

CW : continuous waves موجات مستمرة كانت غير قادرة على إعطاء معلومات عن الخواص الضوئية

لالنسيج، وطول مسار الامتصاص، إنما فقط تُحدد التغير في تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير

المؤكسج HHb [22].



الشكل 10 رسم توضيحي تخطيطي لتقنية الموجات مستمرة من أجهزة $NIRS$ [22].

لذلك مؤخراً طُوِّرت طرائق لقياس تراكيز الكروموفورات من الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb

بصورة مطلقة؛ وذلك عبر ربط تغيرات مطيافية تحت الأحمر القريب مع تشبع الهيموغلوبين الشرياني، ولكن هذه

الطرائق تتطلب تحديد الخصائص الضوئية للأنسجة التي تتطلب معلومات حول الكثافة الضوئية الملتقطة على

سطح النسيج، لكن هذه الطرائق بالرغم من ميزاتها، لكنها تحتاج إلى تحليل للمعلومات؛ وذلك يتم عن

طريق [22]:

■ تغيير شدة المنبع الضوئي مع المسافة.

■ التشتت الزمني للضوء من نبضة فائقة القصر.

▪ تغيير الطور.

▪ تغيرات عمق التعديل للضوء.

ومن أهم طرق القياس تراكيز الكروموفورات بشكل مطلق:

4.3.1. التحليل الطيفي المعزول زمانياً

TRS : Time Resolved Spectroscopy

تُحدّد المقاييس التي تعتمد التحليل الطيفي المعزول زمانياً أطوال المسارات الضوئية للامتصاص عبر تسليط نبضة ضوئية على النسيج لمدة لا تتجاوز البيكو - ثانية ثم تقاس شدتها كتابع للزمن [22].

حيث تُجمع الفوتونات التي انتقلت داخل النسيج بواسطة أنابيب Photomultiplier ويُحدد زمن وصولها بشكل تسلسلي بدقة، ويكون المقطع العرضي لتسلسل وصول الإلكترونات بشكل جرس، وتسمى بـ $TPSF$: the temporal point spread function والفترة الزمنية ما بين إرسال نبضة من الباعث الضوئي واستقبالها تُعد الوقت الذي بقي فيه الفوتون داخل النسيج، من ثمّ أمكن تحديد طول المسار الضوئي داخل النسيج من العلاقة بين المسافة والسرعة.

Eq 32

$$\text{space} = \text{velocity} * \text{time}$$

وبتحليل قيمة $TPSF$ من أجل أطوال موجية عدة، والضياعات داخل النسيج أمكن الحصول على الخصائص الضوئية من امتصاص، وتبعثر للأنسجة، أي أمكن تحديد تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج Hb بدقة.

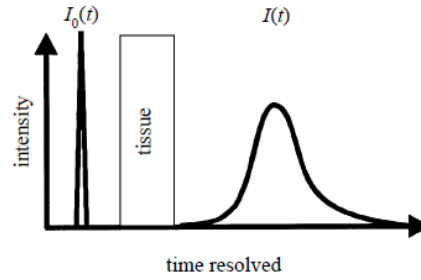
تحتاج هذه التقنية إلى ليزرات تنتج أمواجاً طولية منفصلة، ومنها ليزرات أنصاف النواقل والليزرات الصباغية والليزرات ذات الحالة الصلبة، الليزرات النبضية ذات النطاق العريض متوفرة، ولكن فقط في المخابر الكبيرة، ويصعب تطبيقها في بيئة سريرية (العيادات) وجُرب نموذجان لأنظمة القياس:

1. النموذج الأول يعتمد على كاميرا تسمح بمعرفة قيمة الشدة الضوئية في نقاط مختلفة من النسيج من

خلال استخدام ألياف بصرية منفصلة مثبتة، ومن ميزات الكاميرا المرونة، والسرعة، حيث يجب أن

يكون القياس بسرعة مناسبة، لكيلا تتغير الحالة الفيزيولوجية للنسيج في أثناء فترة القياس، ولكنها مكلفة، وحجمها كبير.

2. النموذج الثاني يعتمد على عدد الفوتونات حيث يقوم APD avalanche photodiode أو مضاعف فوتون PMT بالكشف عن عدد الفوتونات، وفرزها حسب وقت وصولها TCSPC : time - correlated single photon counting. إن هذه التقنية تتطلب مكونات أصغر، وبسعر أرخص، ولكن تتمثل عيوبها بالسرعة المنخفضة حيث يعتمد معدل كشف الفوتونات على معدل عد الكاشف ومن أجل الكشف المتعدد، يتطلب استخدام عدداً أكبر من الكواشف ومن ثم تكلفة أعلى.



الشكل 11 رسم توضيحي لتخطيطي لتقنية التحليل الطيفي المعزول زمنياً من أجهزة $NIRS$ [22].

4.3.2. التحليل الطيفي المعزول طورياً

PRS : Phase Resolved Spectroscopy

تسمح المقاييس التي تعتمد التحليل الطيفي المعزول طورياً، بتحديد طول المسار الضوئي، والخصائص الضوئية للأنسجة عن طريق إزاحة الطور (أو إزاحة التردد)، وذلك بتمرير حزمة ضوئية معدلة إلى الترددات الراديوية radio frequencies (RF) عبر النسيج، عند مرورها عبر النسيج تخضع الحزمة لتغيير في التردد يتعلق بطول المسار الضوئي الذي سلكته الحزمة في النسيج حيث تُقاس شدة الضوء، ويقاس مقدار انزياح الضوء، وعمق التعديل [22].

ومن خلال تعديل سعة حزمة الضوء يمكن معرفة خصائص النسيج الضوئية من امتصاص وتبعثر؛ أي يمكن تحديد تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb بشكل دقيق [33][34][35].

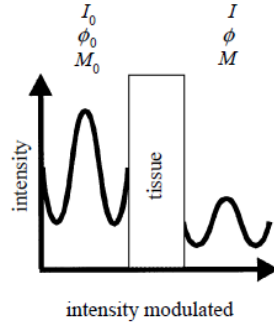
تتمثل عيوب هذه المقاييس بأن الضياعات الضوئية عالية؛ مما أدى إلى الحدّ من استخدامها عبر الأنسجة الرقيقة، وإن قياس التغيرات الصغيرة لانزياح الضوء، وعمق التعديل عملية صعبة، ومعقدة عند الترددات الراديوية (radio frequencies (RF)؛ لذلك يعدل التردد إلى تردد متوسط (intermediate frequency (IF أو تردد صوتي (audio frequency (AF).

وبالعموم جُرب نموذجان لأنظمة القياس:

1. النموذج الأول: يعتمد استخدام مضاعف فوتوني PMT، حيث عُدلت الإشارة الملتقطة من الكاشف بتردد مرجعي يقابل تردد تعديل المصدر الضوئي؛ مما يؤدي إلى استخلاص الإشارة مباشرة من الكاشف، أي تكون إشارة خرج الكاشف إشارة بتردد (audio frequency (AF تساوي تردد الفرق [22] تتطلب هذه التقنية استطاعة عالية بتردد راديوي (radio frequency (RF).

2. النموذج الثاني: يعتمد على مزج الإشارة الملتقطة من الكاشف، مع إشارة بتردد راديوي (radio frequency (RF مرجعية، ومن ثم تحويلها إلى إشارة بتردد صوتي (audio frequency (AF يعد هذا النموذج سهلاً وأُثبت ذلك [36]، فكانت العلاقة ما بين متوسط طول المسار الضوئي وإزاحة الطور خطية عند الترددات أقل من 200MHz ولا خطية فوق 200MHz حيث تتيح معرفة الطور التحويل المباشر من تغيرات في التوهين إلى تغيرات في تركيز الكروموفورات؛ مما يسمح بتحديد تراكيزها بصورة مطلقة.

إن المقاييس التي تعتمد العزل الزمني، والعزل الطوري TRS و PRS تتطلب منابع ضوئية ذات طاقات عالية وجهد عالٍ، وأيضاً أجهزة معقدة، ومكلفة وذات وزن ثقيل؛ لذلك تستخدم فقط لأغراض بحثية لصعوبة نقل التجهيزات اللازمة.



الشكل 12 رسم توضيحي لتقانة التحليل الطيفي المعزول طورياً (تعديل الشدة) من أجهزة *NIRS* [22].

عبر هاتين التقانتين وبعد تحديد تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb ، يمكن حساب

تركيز الأكسجين في الدم من النسبة بين الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb

$$TOI = \frac{[HbO_2]}{[HbO_2] + [HB]} \quad \text{Eq 33}$$

- TOI : تركيز الأكسجين

$$[HB] = [HbO_2] + [HHb] \quad \text{Eq 34}$$

سمح تطور أجهزة *CW* التي تعتمد *NIRS* بتقدير قيمة تركيز الأكسجين TOI دون تقدير تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb بالكامل أو حتى معرفة الخواص الضوئية للأنسجة، واعتمدت هذه الطريقة على التحليل الطيفي المعزول مكانياً.

4.3.3. التحليل الطيفي المعزول مكانياً

SRS : Spatially Resolved Spectroscopy

تقيس أجهزة التحليل الطيفي المعزول مكانياً SRS باستخدام معادلات التقريب الانتقاري الشدة الضوئية المنعكسة

عبر سلسلة كواشف ضوئية تتوضع بالقرب من بعضهم بعضاً بأبعاد ثابتة مدروسة كما في الشكل 10

$$R(\rho) \propto \frac{\exp[-\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}\rho]}{\rho^2} \quad \text{Eq 35}$$

حيث:

- R : الشدة الضوئية المنعكسة.

- μ'_s : عامل التبعثر المختزل.

- ρ : طول مسار الامتصاص.

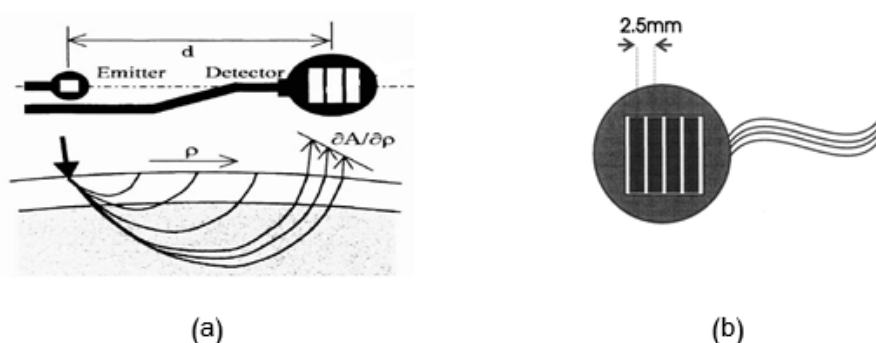
إن قياس الشدة الضوئية المنعكسة $R(\rho)$ كتابع لطول مسار الامتصاص يسمح بتقدير قيمة عامل التوهين الفعال $\sqrt{3(\mu_a + \mu'_s)}$ ويؤدي إجراء الانحدار الخطي¹ للوغاريتم هذه المعادلة بتقدير قيمة تدرج التوهين متعلق بالمسافة بين المنبع والكاشف $\partial A / \partial p$.

بإجراء لوغاريتم للمعادلة السابقة والاشتقاق بالنسبة إلى ρ وباعتبار $\mu_a + \mu'_s \approx \mu'_s$

$$\mu_a \cdot \mu'_s \approx \frac{1}{3} \left(\frac{\partial A}{\partial p} - \frac{2}{\rho} \right)^2 \quad \text{Eq 36}$$

لتقدير قيمة μ_a يجب معرفة قيمة μ'_s ، لذلك نحسب $\partial A / \partial p$ عند أطوال موجية متعددة بالنسبة لـ μ'_s ، ومنها يمكن حساب طيف μ_a من ثم قياس تركيز الهيموغلوبين.

أحدث هذا المفهوم ثورة في *NIRS* التحليل الطيفي في المجال تحت الأحمر القريب؛ لأنه سمح باستخدام الأجهزة التي تعتمد الموجات المستمرة *CW* دون الحاجة إلى أدوات معقدة، كما التحليل الطيفي المعزول مكانياً وطورياً *TRS* و *PRS* ويتم استخدام خوارزميات *SRS* مؤخراً في أجهزة التحليل الطيفي في المجال تحت الأحمر القريب *NIRS* التجارية من مختلف الشركات المصنعة الشكل 13.



الشكل 13 رسم تخطيطي (أ) للتحليل الطيفي القريب من الأشعة تحت الحمراء (SRS)، (ب) لتصميم كاشف SRS. [37]

1 الانحدار الخطي: هو نموذج إحصائي يستخدم في تفسير متغير Y عبر متغير آخر X أو مجموعة من المتغيرات $x_1, x_2, \dots, x_p$ عبر دالة خطية.

الفصل الرابع

الدراسات المرجعية

تمهيد:

يظهر هذا الفصل أهمية العمل، وذلك عن طريق العرض المفصل لأهم الأبحاث والدراسات المرجعية السابقة المتعلقة بموضوع البحث، وأهم ما توصلت إليه من القياسات والنتائج والأدوات المستخدمة في كل دراسة.

1.4. الدراسات المرجعية لتوصيف الحليب المبستر في المجال القريب للأشعة تحت الحمراء

تركيب نماذج بصرية تحاكي الأنسجة

تطلب التطور في تطبيقات الفوتونات الحيوية في الطب استخدام النماذج الضوئية للتحقق من صحة القياسات، ومعايرة الأجهزة الضوئية الطبية الحيوية، وتقويم أداء الأجهزة الضوئية الموجودة [25].

قد تكون معظم المواد المستخدمة في صنع مثل هذه النماذج الضوئية باهظة الثمن. فضلاً عن ذلك أن عملية التصنيع لبعض النماذج الضوئية صعبة، وتستغرق وقتاً طويلاً [38] من ثم كان هناك اهتمام متزايد من قبل الباحثين باستخدام النماذج الضوئية التي تحاكي الأنسجة ذات التكلفة المنخفضة والمتوفرة بسهولة وسهولة التركيب [40][39]، حيث كما ذكرنا سابقاً يتطلب تركيب النماذج الضوئية مزيجاً من مواد التبعر والامتصاص، وتُبنى النماذج الفيزيائية بخصائص بصرية تتطابق مع الخصائص الضوئية للأنسجة البيولوجية المراد دراستها على مدى معين من الأطوال الموجية واستخدم الباحثون على مر السنوات مواد مختلفة كعناصر تبعر لتركيب النماذج الفيزيائية.

حيث مؤخراً عام 2019 اقترح الباحث Tomm وزملاؤه [41] طريقة لتوصيف الخصائص الضوئية لمعجون السيليكون الملون القابل للذوبان كخطوة واحدة نحو تركيب نماذج بصرية مستقرة طويلة الأمد تحاكي الأنسجة البيولوجية بمستويات أكسجين محددة.

استخدم الباحثون مواد المستحلبات الدهنية كمواد مبعثرة، ولا سيما مادة Intralipid على نطاق واسع ; لبناء النماذج الضوئية [44][43][42]. وعلى الرغم من ذلك، إلا أن المستحلب الدهني Intralipid يمكن أن يكون باهظ الثمن خاصة في بعض الأماكن ذات الوارد المنخفض.

من ثم بدلاً عنه استُخدم الحليب كبديل حيوي لمحاكاة التبعثر في الأنسجة. وعلى الرغم من أن الحليب يمكن أن يكون مستقرًا فقط لبضع ساعات [25] إلا أنه متوفر بسهولة، ويظهر توافقاً حقيقياً مع الأنسجة البيولوجية مع قرينة الانكسار حوالي 1.45.

كما ركّز عدد من الباحثين خلال الدراسات السابقة الحديثة على التحقق من جودة محتوى الحليب النيئ من البروتين والدهون [45] ومن أجل ذلك تم استخدام طرائق بصرية مختلفة مثل مطيافية الانعكاس الانتقاري المكاني [46]، وقياس انعكاس السقوط المائل *oblique incidence reflectometry* [47]، ومطيافية زمن طيران الفوتون *Photon time –of –flight spectroscopy* [48].

قاس الباحث Aernouts وزملاؤه عام 2019 [49] الخصائص الضوئية للحليب النيئ لمراقبة جودة الحليب dairy milk. حيث استخدم الكرة التكاملية المزدوجة وقاس النفاذية قبل تعرض الحزمة الضوئية لعملية التبعثر لتحديد الخصائص الضوئية لعينات الحليب في المجال المرئي، والمجال القريب للأشعة تحت الحمراء، حيث عدت هذه التقانة الطريقة القياسية الذهبية لقياس الخصائص الضوئية لعينات من الاوساط شديدة الاضطراب (التبعثر).

فضلاً عن ذلك قدم الباحثان Jain و Sarma 2015 [50] طريقة تعتمد على التصوير الرقمي للتحليل الطيفي للحليب النيئ، حيث استخدموا مصابيح LED متعددة لأطياف انبعاث مختلفة كمصادر إضاءة وكاميرا رقمية ذات مستشعر CMOS ككاشف، بحيث يمكن معرفة خواص تخامد العينات من الصور الملتقطة، تتطلب هذه الطريقة استخدام الكاميرا، وتحليل للصور المجمعة، ومن ثم هذه الطريقة غير عملية للمناطق ذات الوارد القليل ;مما دفع إلى الحاجة إلى مواد وطرائق متاحة بسهولة.

لم ترد سابقاً دراسة الحليب المبستر من قبل الباحثين وتوصيفه ضوئياً، لمعرفة خصائصه لاستخدامه في تركيب النماذج الضوئية الفيزيائية؛ انطلاقاً من ذلك تم في هذا البحث دراسة وتوصيف الحليب المبستر بنوعيه كامل وخالي الدسم عند طولين موجيين شهيران في المجال تحت الأحمر القريب، وتم ذلك بطرق ضوئية بسيطة تعتمد على مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية ومطيافية الانعكاس الانتثاري.

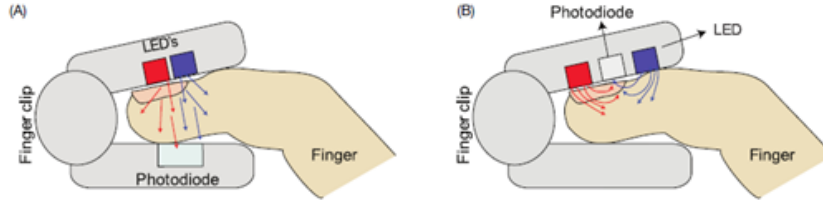
2.4. الدراسات المرجعية لقياس الأكسجة النسيجية

2.4.1. مقاييس الأكسجة النبضية Pulse Oximetry

عام 1927 بدأ الباحث Millikan وزملاؤه بدراسة أكسجة الدم بواسطة الضوء المرئي في مجال الأطوال الموجية ما بين $400-650\text{nm}$ في مختبرات جامعة Cambridge ، ولكن عمق اختراق الضوء المرئي للنسيج قليل جداً؛ مما دفعه لتطوير أول مقياس تأكسج يستخدم ضوءاً أحمر وضوءاً في المجال تحت الأحمر القريب NIR [20].

كان أول مقياس تأكسج نبضي Pulse Oximetry عام 1972 على يد الباحث Takuo Aoyagi وبصورة أساسية يعتمد مقياس الأكسجة النبضي على قياس الأكسجين الموجود في الدم الشرياني أو الوريدي عن طريق زوج من الباعث الضوئي وكاشف ضوئي مناسب، ويوضع على جزء أقرب للشفافية من جسم المريض كالأصبع أو شحمة الأذن، أحد البواعث الضوئية ضوء أحمر ذو طول موجة 660nm والآخر تحت أحمر ذو طول موجة 905nm أو 910nm أو 940nm حيث طيف الامتصاص متغير ما بين الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج HHb ويعد مقياس الأكسجة النبضي أبسط شكل لاستخدام التحليل الطيفي للنفوذية أو للانعكاسية؛ وذلك حسب توّضع الكاشف الضوئي المستخدم كما الشكل 14 وتعد هذه المقاييس من أهم التقانات المستخدمة لمراقبة أمان المريض خلال عمليات التخدير، والعناية المشددة فقد خففت حالات الوفيات الناتجة عن عمليات التخدير بنسبة 90% [20].

لكن بعض الحالات كمرضى الإنتان يصبح القياس المستمر للأكسجين في الدم عن طريق قياس التأكسج النبضي ذا نتيجة خاطئة، لذلك يعد قياس تشبع الأنسجة بالأكسجين¹ طريقة ممتازة لمراقبة الحالة السريرية للمريض؛ باستمرار وتوجيه القرارات العلاجية؛ لذلك دعت الحاجة إلى تطوير مقاييس الأكسجة النسيجية[51].



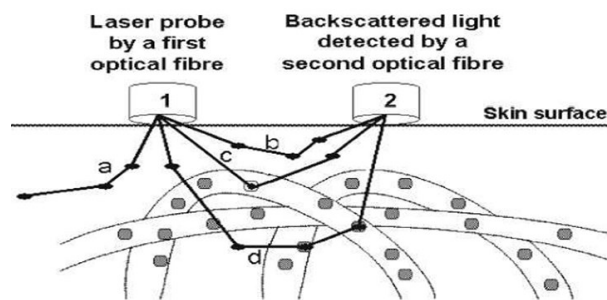
الشكل 14 مقياس أكسجة نبضي يعتمد على (أ) النفاذية، (ب) الانعكاسية [52].

2.4.2. مقاييس الأكسجة النسيجية Tissue oximeter

تطورت تقانات التحليل الطيفي في المجال تحت الأحمر القريب *NIRS* في المجالات الطبية حتى الوصول إلى مقاييس الأكسجة النسيجية Tissue oximeter عام 1977 التي تعد تقانات لا جراحية آمنة تستخدم مطيافية الانعكاس لقياس الأكسجين الموجود في الأنسجة الوعائية أو طبقة الأوعية الدموية الدقيقة عن طريق زوج من الباعث الضوئي وكاشف ضوئي مناسب، كما موضح بالشكل 15 وتعتمد على استغلال الخصائص الضوئية المتغيرة للهيموغلوبين في الدورة الدموية الصغرى المرتبطة بأنشطة الأنسجة سواء في الحالة الفيزيولوجية أو المرضية حيث استخدم العالم Frans Jöbsis المقياس لقياس أكسجة الدماغ ولاحقاً استخدم في قياس أكسجة العضلات [20].

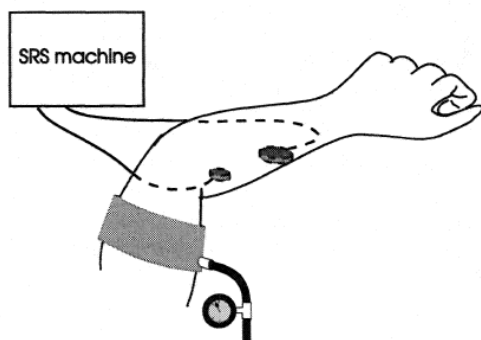
توالى التطورات حتى ظهور أجهزة القياس تجارياً أول مرة عام 1989

حيث يعبر التشبع عن نسبة الهيموغلوبين¹ المرتبط بالأكسجين إلى الهيموغلوبين غير المرتبط.



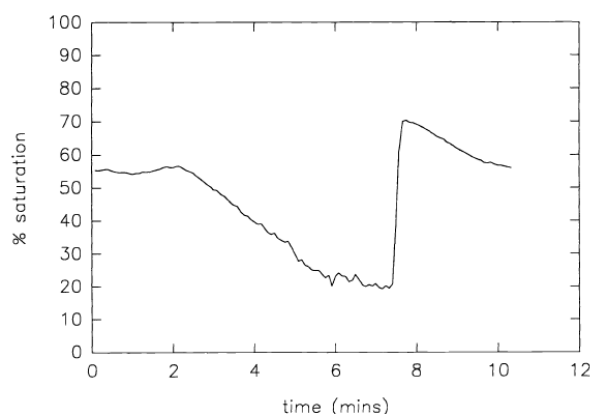
الشكل 15 المكونات الرئيسية لمقياس أكسجة نسيجية.

في عام 2011 صمم الباحث Matcher وزملاؤه [1] نظام قياس أكسجة بتقانة التحليل الطيفي المعزول مكانياً، مكون من أربعة كواشف ضوئية متوضعة بأبعاد ثابتة فيما بينها على شكل مصفوفة موصلة بمكبرات عمليات تكاملية، وبواحد ليزيرية بثلاثة أطوال موجية مختلفة $[746\text{nm}]$, $[775\text{nm}]$, $[820\text{nm}]$ ، موصولة بألياف ضوئية يقوم النظام بتشغيل الليزر بالترسلسل، والكشف عن الإشارة بواسطة الكواشف الأربعة؛ مما يعطي 28 إشارة في كل عملية قياس، وتُعالج الإشارات، لتعطي تركيز الهيموغلوبين المطلق، وتشبع الهيموغلوبين؛ بالاعتماد على نظرية التقريب الانتشاري، أُجريَ قياس على ساعد ذكر بالغ في وضعية راحة اليد وفي أثناء عملية إنقاص التروية باستخدام السوار القابل للنفخ المرافق لأجهزة قياس ضغط الدم.



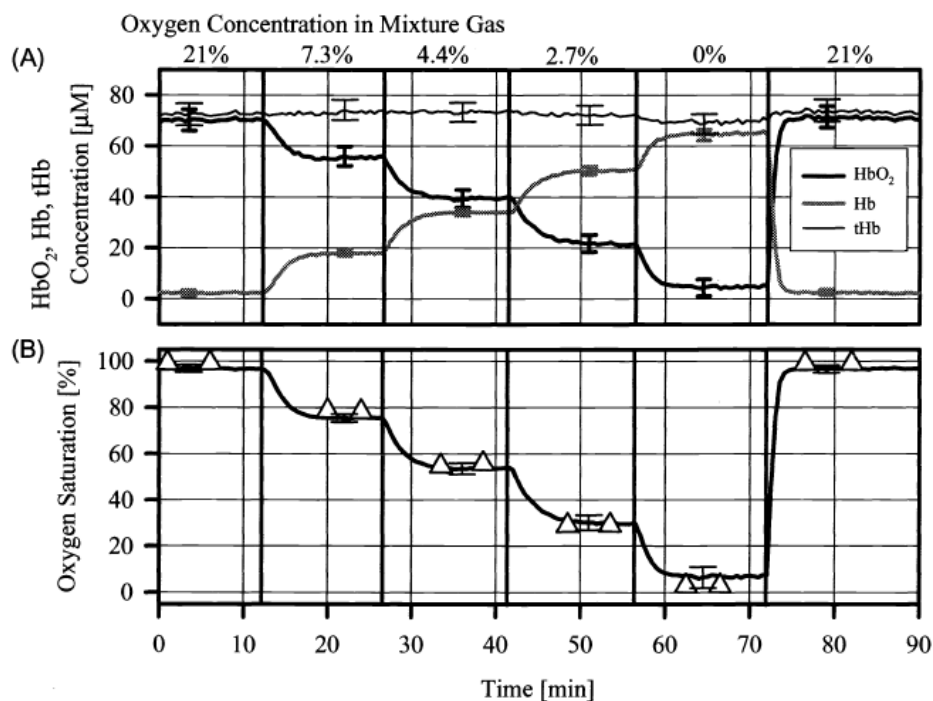
الشكل 16 نظام قياس أكسجة بتقانة التحليل الطيفي المعزول مكانياً.

حُسِبَ متوسط التشبع باستخدام الأطياف المرجعية لكل من الهيموغلوبين المؤكسج وغير المؤكسج، أظهرت القيمة الأولية أن نسبة التشبع 55% في وضع الراحة، فيما انخفضت إلى 20% بعد 5 دقائق من عملية إنقاص التروية، ويظهر تتبع التشبع استجابة واضحة لزيادة التشبع بعد تحرير الساعد من السوار الشكل 17.



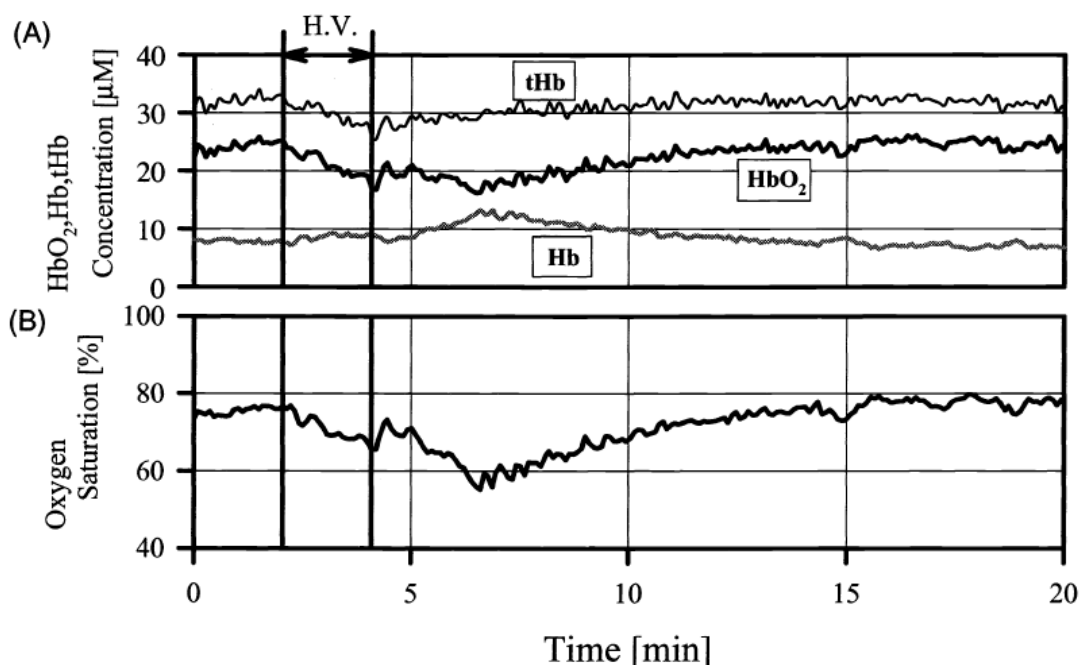
الشكل 17 تركيز الأكسجين كنابع للزمن.

في عام 2000 درس الباحث Oda وزملاؤه [53] الأكسجة النسيجية عن طريق التحليل الطيفي المعزول زمانياً، وتتطلب التقانة دقة زمنية في نطاق البيكوثانية، وحساسية عالية لتحليل الاستجابات الزمنية بدقة؛ لذلك طوّر الباحث نظاماً يعتمد على المضاعف الضوئي الفوتوني (PMTs) photomultiplier tubes ، ومنبع ضوئي نبضي بنبضات من مرتبة بيكو ثانية (PLPs) picosecond light pulsers حيث الأطوال الموجية [759,797, and 833nm] بتردد 5 [MHz] عولجت الإشارة عن طريق ثلاث دارات إلكترونية؛ بالاعتماد على قانون بيير-لامبرت، وأُجريت الدراسة على نموذج ضوئي يحتوي على 1.3% من هيماتوكريت الدم و0.86% من الانترالييد، غُيّر تدفق الأكسجين في المزيج من 0% حتى 21%، فكانت تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج كما هو موضح بالشكل 18.



الشكل 18 (أ) تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج والهيموغلوبين الكلي بالنسبة للزمن، (ب) تركيز الأكسجين الكلي بالنسبة للزمن [53].

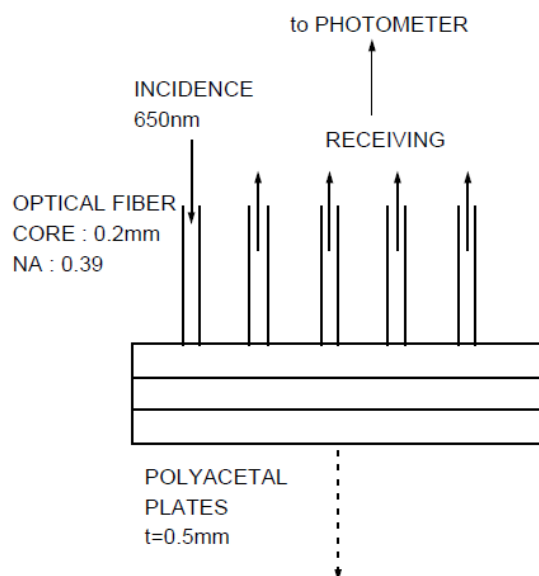
أُختبر النظام بقياس الأكسجة من منطقة الجبهة لمرضى خلال تعرضه لنوبة فرط تنفس **Hyperventilation**، فوجد أن تركيز الهيموغلوبين الكلي يقل خلال النوبة، ويعود لقيمه الطبيعية خلال دقيقتين، بينما تركيز الهيموغلوبين غير المؤكسج يزداد بعد النوبة مباشرة، ويعود لقيمه الطبيعية خلال دقيقتين ولُحِظَ انخفاض قيم تركيز الأكسجين من 75% حتى 60% كما في الشكل 19.



الشكل 19 تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج والهيموغلوبين الكلي بالنسبة للزمن خلال نوبة فرط التنفس، (ب)تركيز الأكسجين الكلي بالنسبة للزمن خلال نوبة فرط التنفس.

في عام 2003 دَرَسَ الباحث [54]Kashima القياس الطيفي لحجم الدم وأكسجته في حجم صغير من الأنسجة باستخدام ضوء الليزر أحمر، واعتمد على حساب عمق الاختراق حيث إن حساب عمق الاختراق واحد من أهم عوامل حساب تأكسج الدم، ويعتمد عمق اختراق الضوء في المجال تحت الأحمر القريب NIR للنسيج على عوامل عدة، وأهمها:

- البعد بين المنبع – الكاشف.
 - شدة الضوء المسلط.
 - الخصائص الضوئية لطبقات النسيج، والعضلات، والجمجمة (حسب مكان القياس).
 - درجة المادة البيضاء في الميلانين.
 - سماكة النسيج، أي سمك الأنسجة الدهنية السطحية والحشوية.
- يحسب(يقدر) في هذه الدراسة عمق الاختراق باستخدام طبقات رقيقة من مادة polyacetal كما في الشكل 20.



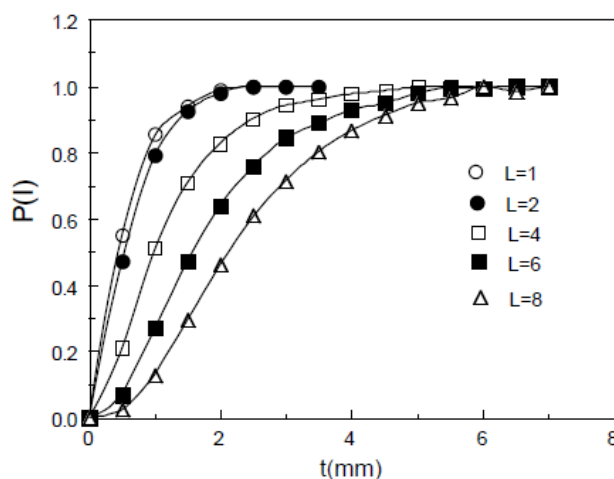
الشكل 20 رسم تخطيطي لتقدير عمق القياس [54].

بحيث سماكة الطبقة $t = 0.5[mm]$ ومعامل الامتصاص، والتبعثر لهذه الطبقات يُماثل تقريباً طبقة الأدمة في نسيج الإنسان، استُخدمت مجموعة كواشف ذات ألياف ضوئية عدة، ووضعت بصورة موازية لليف الباعث الضوئي¹، وعلى بعد $1,2,4,6,8[mm]$ منه، وثبتت على صفائح polyacetal وزيدَ عددُ الطبقات تدريجياً وقيست الشدة الضوئية عن طريق photometer بواسطة الليف الضوئي.

إن الشدة الضوئية المقاسة ازدادت بزيادة عدد طبقات المادة، واستقرت عند الوصول إلى سماكة معينة يوضح

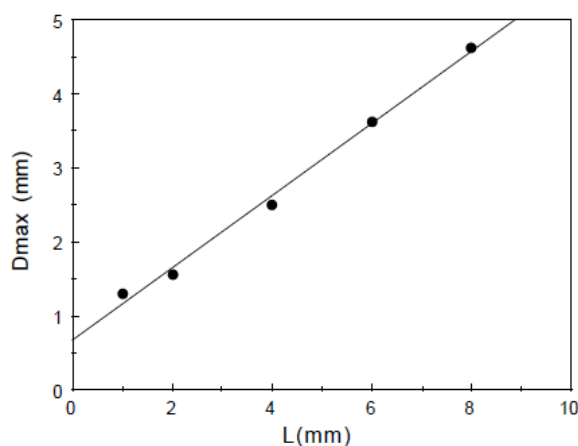
الشكل 21 الاحتمال التراكمي لكثافة الضوء المقاسة بالكاشف باستخدام ضوء الليزر $\lambda = 650[nm]$.

¹ قياسات الليف الضوئي موضحة في الشكل 20.



الشكل 21 العلاقة بين سمك ألواح البولي أسيتال t ، والاحتمال التراكمي لكثافة الضوء المكتشفة $P(I)$ ، كدالة للمسافة بين الإرسال والاستقبال [54].

إن أقصى عمق الاختراق D_{max} تم الوصول إليه موضح بالشكل 22 كتابع للمسافة بين الباعث الضوئي، والكاشف.



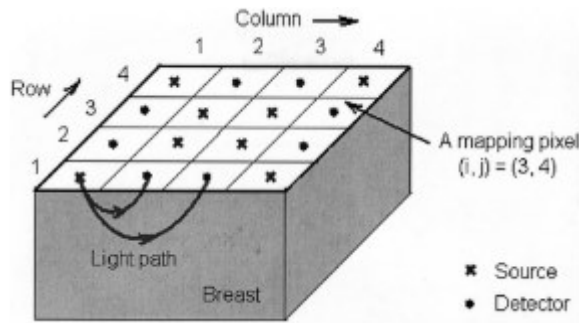
الشكل 22 أقصى عمق للقياس D_{max} ، كدالة للمسافة [54].

مؤخراً من أهم تطبيقات أجهزة قياس الأكسجة النسيجية كان كشف الأورام [55]؛ حيث إن مستويات الأكسجين في النسيج الورمي تكون منخفضة [4]. وقد عزى الباحثون قلة الأكسجين إلى قلة الأوعية الدموية في النسيج الورمية وإلى الزيادة غير الطبيعية في معدل الأيض في الخلايا حيث أن الورم هو عبارة عن مجموعة من الخلايا التي خضعت لنمو غير منظم [56]؛ وحسب تقرير منظمة الصحة العالمية لعام 2020 تسبب الأورام حوالي عشرة ملايين من الوفيات حول العالم ولنهاية عام 2020 شُخصت حوالي 7.8 مليون سيدة بإصابتها بسرطان الثدي، من ثم وانطلاقاً مما سبق بدأ الباحثون بتطوير طرائق باستخدام مطيافية تحت الأحمر القريب

لكشف الأورام، يعد التصوير الشعاعي للثدي بالأشعة السينية والتصوير بالموجات فوق الصوتية والتصوير بالرنين المغناطيسي طرائق للتشخيص، ولكن لا توفر هذه الطرائق تحليلاً للأنسجة، والدقة المنخفضة لتصوير الثدي بالأشعة السينية تتسبب بعدد كبير من الخزعات غير الضرورية [57]، فضلاً عن مضار الأشعة والتعرض لها.

في عام 1994 درس الباحث WALLON وزملاؤه [58] خمس حالات قبل أن يُنشأ التشخيص المجهرى للتحقق مما إذا كان يمكن استخدام الأشعة تحت الحمراء في المجال القريب للكشف عن الخلايا السرطانية في أنسجة الثدي عن طريق تسجيل أطياها للأنسجة كل 2nm ضمن المجال $1100\text{nm} - 2500\text{nm}$ بواسطة مطياف ضوئي، وسمحت النتائج بالتنبؤ بالتشخيص الصحيح، وتم التحقق من النتائج مقارنةً بنتائج تحليل الخزعات للنسيج نفسه.

كذلك في عام 2003 طور الباحث Cheng وزملاؤه [57] جهازاً يحتوي على ثمانية مصادر لضوء الليزر متوضعة بصورة مزدوجة وكل منها قادر على إصدار الليزر بطول موجي يبلغ $690\text{nm} - 830\text{nm}$ وثمانية كواشف ضوئية موضحة بالشكل 23 بحيث أمكن باستخدام الثنائيات الضوئية، والكواشف رسم خرائط لتركيز الهيموغلوبين الكلي، وتشبع الدم بالأكسجين في نسيج الثدي.



الشكل 23 توضع الثنائيات الضوئية والكواشف [57].

انطلاقاً مما سبق تم في هذا البحث قياس الأكسجة النسيجية باستخدام طريقة ضوئية بسيطة باستخدام طولين موجيين $690\text{nm} - 830\text{nm}$ فقط، واستقبال الإشارات الضوئية عن طريق مطياف ضوئي، ودراستها وحساب قيم الهيموغلوبين فيها وذلك بدراسة نموذج فيزيائي ضوئي رُكب ليحاكي النسيج البشري، ومن ثم بتركيب نموذج فيزيائي لمحاكاة نسيج ثدي سليم يحتوي على نسيج ورمي وُظفّت الطريقة للكشف عن وجود الورم.

الفصل الخامس

منهج البحث، وأدواته

تمهيد

نستعرض في هذا الفصل الأدوات والمواد المستخدمة في المختبر اللازمة لإجراء التجارب العملية مع

شرح تفصيلي لجميع التجارب العملية التي قمنا بها في بحثنا.

1.5. توصيف الحليب المبستر للتحقق من ملاءمته للاستخدام كمادة مبعثرة

1.5.1. المواد المستخدمة في بناء النماذج الضوئية الفيزيائية

يجب أن يكون للنماذج الفيزيائية المحاكية للأنسجة خصائص التبعثر والامتصاص التي تتميز بها الأنسجة البشرية، لذلك فإن بناءها يتطلب مزج كمية محددة من مادة مبعثرة مع مادة ماصة بنسب معينة بحيث تكون المعاملات الضوئية للعينة المبنية تساوي تماماً معاملي الامتصاص والتبعثر، ومعامل اللاتناحي g للنسيج المدروس على مدى معين من الأطوال الموجية، لذلك بُنيت نماذج فيزيائية تعتمد على الحليب المبستر كمبعثر للتحقق من صحة مدى ملاءمة استخدام الحليب المبستر كمادة مبعثرة في النماذج الضوئية.

- الحليب المبستر

استُخدم الحليب المبستر (أحد مشتقات الألبان) وحلّ بالماء المقطر بتركيز مختلفة بعدّه وسطاً مبعثراً يحاكي التبعثر بالأنسجة الحية.

استُخدم الحليب المبستر المعبأ تجارياً (هوى الشام، سورية) وتم استخدام نوعين من الحليب المبستر:

- الحليب المبستر خالي الدسم (0 جم / 100 مل).

- الحليب المبستر كامل الدسم (3 جم / 100 مل).

حُفظت جميع العينات في أوعية بلاستيكية ذات مسار ضوئي يبلغ 10 ملم، وهذه الأوعية تعدّ سمكية ومن ثم فإن إجراء القياسات الطيفية غير ممكن، وذلك لارتفاع المعاملات البصرية للعينات، بحيث تُعد العينات النقية منها

غير نافذة، لذلك خُفِّت العينات بالماء المقطر، وحُصِّرت في مجموعة من عشرة نماذج بتركيز تتراوح من 0.01% إلى 0.1% للحليب المبستر، وحُصِّرت العينات وتم إجراء القياسات الضوئية عليها في أقل من ساعة لتجنب تخرب العينات، ويجب الإشارة إلى أنه في وسط مضطرب شديد التبعر يمكن تجنب تأثير التشتت المتعدد أثناء إجراء القياسات، إما بتخفيف العينة أو بتقليل المسار الضوئي [26]، وكما ذكرت في هذه الدراسة خُفِّت عينات الحليب المبستر بالماء المقطر إلى تركيز أقل من 1% والذي يُعدّ منخفضاً بدرجة كافية؛ لتجنب تأثير التشتت المتعدد على القياس [30].

1.5.2. المعدات الضوئية المستخدمة

جميع المعدات الضوئية المستخدمة متواجدة في مخبر الفوتونيات الحيوية في المعهد العالي لبحوث الليزر وتطبيقاته، وهي:

1. ليزر بطول موجة $\lambda = 690[nm]$:

استُخدم ليزر نصف ناقل PL69E020D00C-A-0-01؛ مزود بليف ضوئي بخرج تصل استطاعته إلى $p = 20[mw]$ من إنتاج شركة PDL.

2. ليزر بطول موجة $\lambda = 830[nm]$:

استُخدم ليزر نصف ناقل PL83H010D00C-A-0-01؛ مزود بليف ضوئي بخرج تصل استطاعته إلى $p = 10[mw]$ من إنتاج شركة PDL.

3. متحكم بليزرات أنصاف النواقل:

استُخدم متحكم بليزرات أنصاف النواقل الشكل 24 Laser Diode Controller LDC210C من إنتاج شركة Thorlabs تم توصيل الليزر مع المتحكم عن طريق Pigtailed Laser Mount LDM9LP من إنتاج شركة Thorlabs.



الشكل 24 متحكم ليزري مع وحدة التحكم.

4. مقياس استطاعة:

استُخدم مقياس الاستطاعة S302C, Thorlabs, USA الذي يعمل ضمن المجال $[190-2500\text{nm}]$ ، تبلغ الاستطاعة العظمى للمقياس 2[W] والدنيا 0.1[mW] ، وأظهرت نتائج القياس عبر وحدة إظهار (كاشف) من نوع PM200, Thorlabs, USA متوافقة مع هذا المقياس.

5. المطياف الضوئي Spectrometer:

استُخدم USB4000 FL, Ocean Optics Inc., Dunedin, Florida, USA الموضح بالشكل 25 يتألف من شبكة انعراج، ومن كاشف من نوع CCD تحتوي على 3648 عنصراً من السيليكون، ومزود بعدسة لتجميع الضوء على الكاشف؛ ليعمل الكاشف ضمن المجال الطيفي $(365\text{[nm]} - 1080\text{[nm]})$ ؛ ويتردد قراءة يصل 1[MHZ] ويمكن التحكم بزمان القياس، كما أن المطياف مزود بمخرج ليتم وصله مع الليف الضوئي لاستحصال الإشارة المطلوبة، ويتصل المطياف مع الحاسب عبر منفذ USB، وذلك لإظهار النتائج، ومعالجة الأطياف المسجلة بواسطة برمجية خاصة متوافقة مع هذا المطياف SpectraSuite Software.



الشكل 25 المطياف الضوئي.

6. المسابر الضوئية Fiber–Optic Probe:

استُخدم مسبر Probe R600- 7 - VIS - 125F, Ocean Optics Inc., Dunedin, Florida, USA

الموضح بالشكل 26 بطول 2 [m] وقطر الليف الضوئي 600[μm] والفتحة العددية له هي NA=0.22 يستخدم لمجال الأطوال الموجية 2.1[μm]- 400[nm].



الشكل 26 المسبر البصري.

استُخدم ليف ضوئي آخر EOS - A1221738, Ocean Optics Inc., Dunedin, Florida, USA.

7. حامل العينة والمخمد الضوئي:

استُخدم حامل العينة الموضح بالشكل 27 CUV - ATT - DA, Avantes Inc., Netherlands يتسع

لحاوية Cuvette ذات مقطع مربع الشكل (10 [mm] * 10 [mm]) يحتوي على حامل فلتز، وعلى عدستين

لتوازي الحزمة الضوئية الواردة والصادرة، فضلاً عن مخمد يمكن التحكم به عبر مزلاج خاص، وله فتحتان، هما:

فتحة الدخول، وفتحة الخروج، يمكن وصلهما بليف بصري SMA.

استُخدم مخمد ATT - INL - EXT, Avantes Inc., Netherlands يحتوي أيضاً على عدستين لتوازي

الحزمة الضوئية الواردة والصادرة، ويتحكم به عبر مزلاج خاص.



الشكل 27 حامل العينة والمخمد الضوئي.

8. مادة معيارية للانعكاس:

استُخدمت المادة الموضحة بالشكل 28 WS - 1, Ocean Optics Inc., Dunedin, Florida, USA حيث تؤمن انعكاسية تصل إلى أعلى من 95% عند مجال الأطوال الموجية [250-2200 nm].



الشكل 28 مادة معيارية للانعكاس.

9. حامل الألياف الضوئية لقياس الانعكاس:

استخدم الحامل RPH - 1, Ocean Optics, USA الموضح بالشكل 29 حيث يؤمن توضع الألياف الضوئية بزاوية 45° وزاوية 90°.



الشكل 29 حامل الألياف الضوئية لقياس الانعكاس.

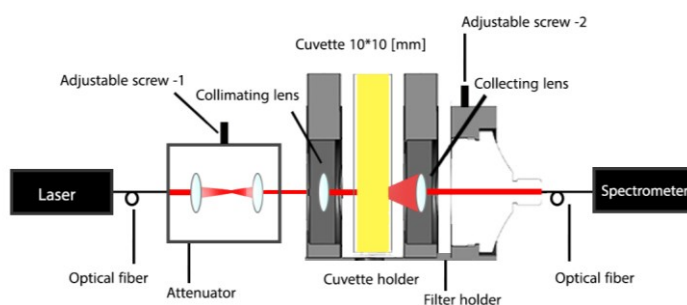
1.5.3. التقانات المستخدمة لإجراء القياسات

في هذا العمل تعتمد القياسات على مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية، ومطيافية الانعكاس الانتثاري:

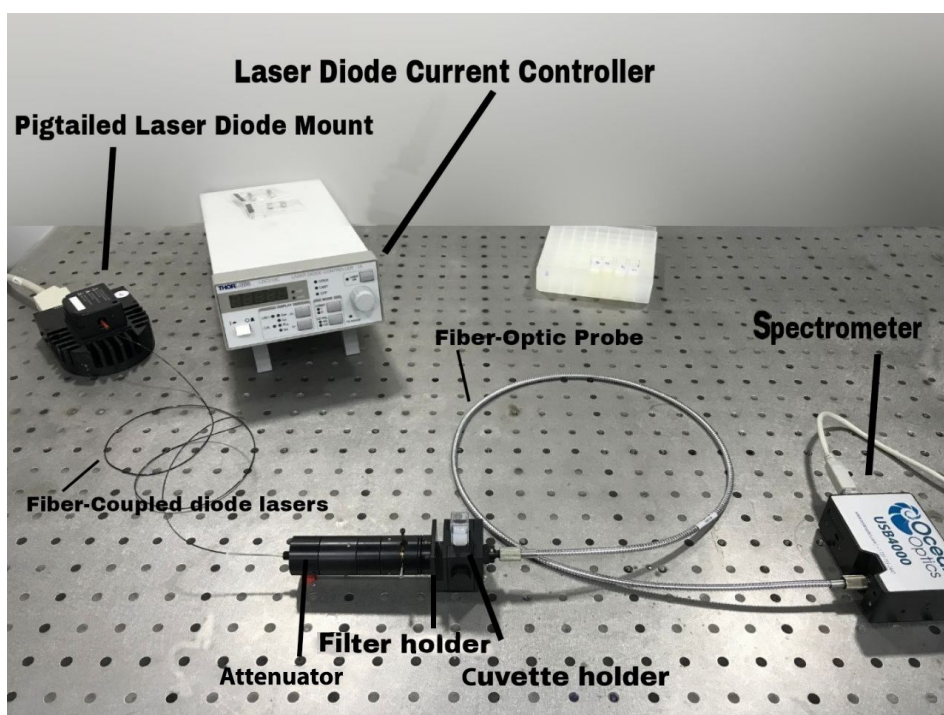
• مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية

في هذا العمل تعتمد القياسات على النفوذية، واستخدمت لتحديد معامل التوهين للحليب المبستر حيث بُنيت المنظومة الضوئية الموضحة بالشكل 30، حيث تم وضع العينات ضمن حاوية Cuvette ذات مقطع مربع الشكل ([10 mm] * [10 mm]) ووضع ضمن حامل العينة واستخدم مخمد يحتوي على عدستين لتوازي الحزمة

الضوئية الواردة والصادرة، فعند تعريض العينة لحزمة ضوئية متوازية؛ فإن الشدة المقاسة باستخدام المطياف تعطى من خلال قانون بير-لامبرت Beer _ Lambert Law.



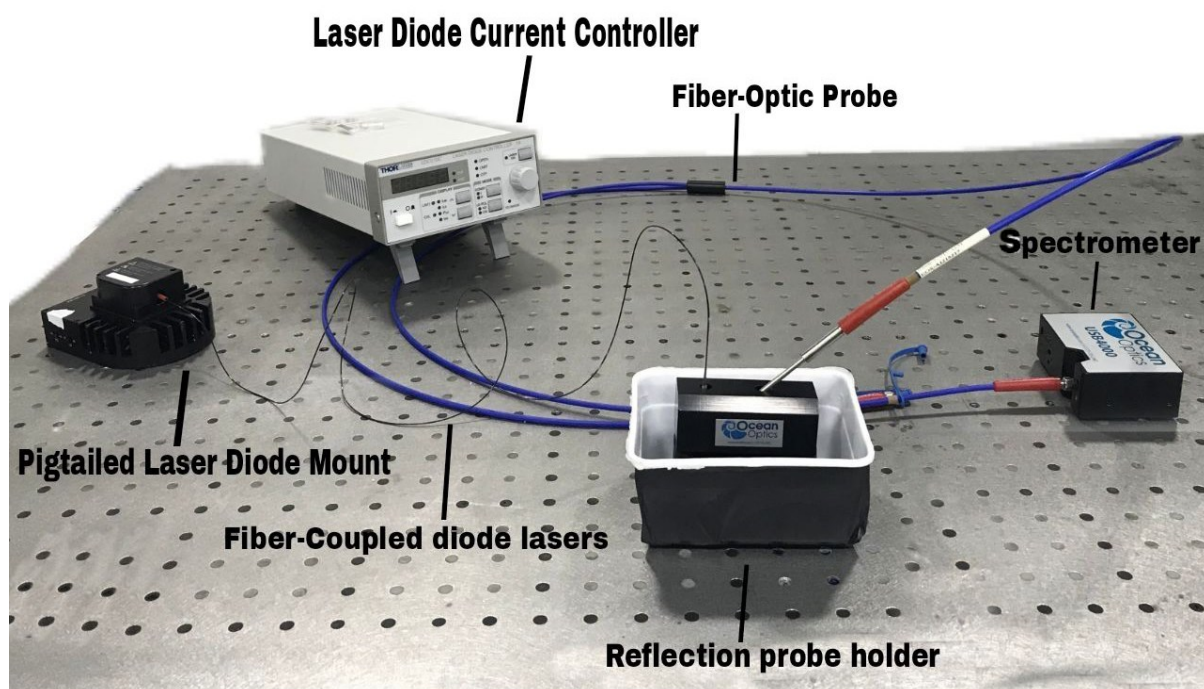
الشكل 30 مخطط مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية.



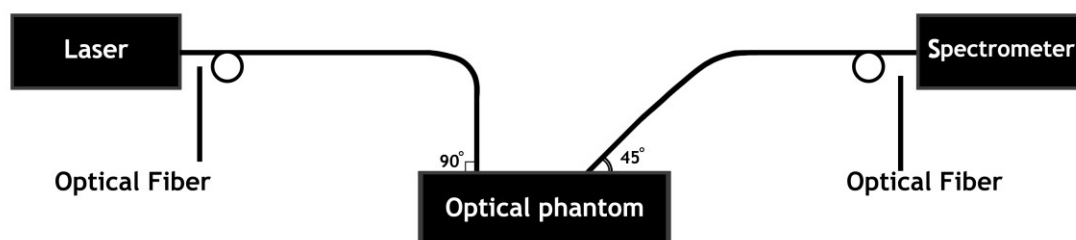
الشكل 31 صورة فوتوغرافية لمطيافية نفوذ الحزمة المتوازية.

• مطيافية الانعكاس الانتثاري (Diffuse Reflectance Spectroscopy)

يُقاس معامل التبعثر للعينات المدروسة باستخدام مطيافية الانعكاس الانتثاري حيث يُثبت الليف الضوئي لليزر على سطح العينة بوساطة حامل الألياف الضوئية لقياس الانعكاس بزاوية 90° واستخدم المطياف الضوئي لقياس الشدات الضوئية المنعكسة من على سطح العينة بترتيب المسير الضوئي بزاوية 45° لتقليل الانعكاس المرآتي في القياسات.



الشكل 32 صورة فوتوغرافية لمطابقة الانعكاس الانتثاري.



الشكل 33 مخطط مطابقة الانعكاس الانتثاري.

2.5. قياس الأكسجة النسيجية

2.5.1. المواد المستخدمة في بناء النماذج الضوئية الفيزيائية:

- المستحلب الدهني 20% Intralipid

تتألف المستحلبات الدهنية من زيت بذور الصويا والشحوم الفوسفورية والجليسيرين حيث تمزج جميعاً بالماء وتكون لكن قطرات زيت الصويا المغلفة بطبقة من الشحوم الفوسفورية هي المسؤول الأساسي عن تبعثر

الضوء، وهذا يماثل إلى حد كبير آلية تبعثر الضوء في النسيج الحية، ومن هنا أتت تسمية هذا النوع من المواد [59][43].

استُخدم Intralipid 20% (I141, Sigma - Aldrich, Germany) كوسيلة لمحاكاة خصائص التبعثر في النماذج المدروسة لمحاكاة النسيج الحية، واستُخدمت بتركيز وحجوم محددة؛ للحصول على معامل التبعثر المطلوب حسب التجربة.

- عينات من دم بشري

حُصل على عينات دم بشري من متبرع سليم، واستُخدمت لمحاكاة خصائص الامتصاص في النماذج المدروسة لمحاكاة النسيج الحية، واستُخدمت بتركيز وحجوم محددة، للحصول على معامل الامتصاص المطلوب حسب التجربة.

2.5.2. الأجهزة الضوئية المستخدمة:

1. ليزر بطول موجة $\lambda = 690[nm]$.

2. ليزر بطول موجة $\lambda = 830[nm]$.

3. متحكم بليزرات أنصاف النواقل.

4. المطياف الضوئي Spectrometer.

5. المسبار الضوئي Fiber-Optic Probe.

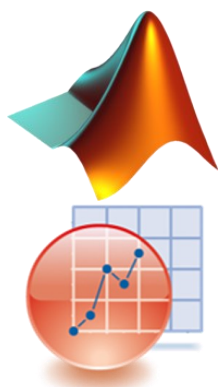
6. مقياس لغاز الأكسجين

استُخدم مقياس غاز الأكسجين OceanOptics FOXY - NeoFox® حيث يستطيع قياس الضغط الجزئي للأكسجين المذاب في جزء في المليون، كما أنه مزود بمخرج؛ ليتم وصله مع الليف الضوئي المرفق به FOXY؛ لاستحصال الإشارة المطلوبة، ويعُد من الألياف المصممة لمراقبة الضغط الجزئي للأكسجين في الغاز والمحاليل المائية. ويتصل مع الحاسب عبر منفذ USB؛ وذلك لإظهار النتائج بواسطة برمجية خاصة متوافقة معه NeoFox Viewer software.



الشكل 34 مقياس الأكسجين NeoFOX

3.5. البرمجيات المستخدمة:



1. برنامج Matlab.

2. برنامج origin pro.

3. برنامج *NeoFox Viewer software*.

4. برنامج SpectraSuite Software.

الفصل السادس

النتائج، والمناقشة

تمهيد

نستعرض في هذا الفصل مناقشة شاملة للنتائج التي تم التوصل إليها فضلاً عن المقترحات المستقبلية

لمتابعة العمل في هذا البحث لتطويره وللاستفادة من هذه النتائج في تطوير الأجهزة الطبية.

- أُجريت جميع التجارب المخبرية بنسبة 100% في مخبر الفوتونيات الطبية الحيوية في المعهد العالي لبحوث الليزر وتطبيقاته جامعة دمشق.

- إن الهدف الرئيسي من البحث دراسة الأكسجة النسيجية عن طريق بناء منظومة ضوئية بسيطة، ثم توظيف هذه الطريقة لمحاولة الكشف عن الأورام.

تم إجراء القياسات الضوئية على نماذج ضوئية فيزيائية تحاكي الأنسجة وذلك لعدم توافر الخلايا الحية، لذلك دعت الحاجة إلى بناء هذه النماذج الضوئية الفيزيائية مخبرياً.

لذلك تم الاجراء التجريبي للبحث على ثلاثة مراحل:

1- بناء نماذج ضوئية فيزيائية لإجراء القياسات الضوئية بحيث تكون محاكية للنسيج المدروس من حيث الخصائص الضوئية، تم الاعتماد على الحليب المبستر كعنصر مبعثر عند بناء هذه النماذج، لذلك تم توصيف الخصائص الضوئية للحليب المبستر ومقارنتها بالخصائص الضوئية لمادة الإنتراليبيد للتأكد من صحة القياسات الضوئية.

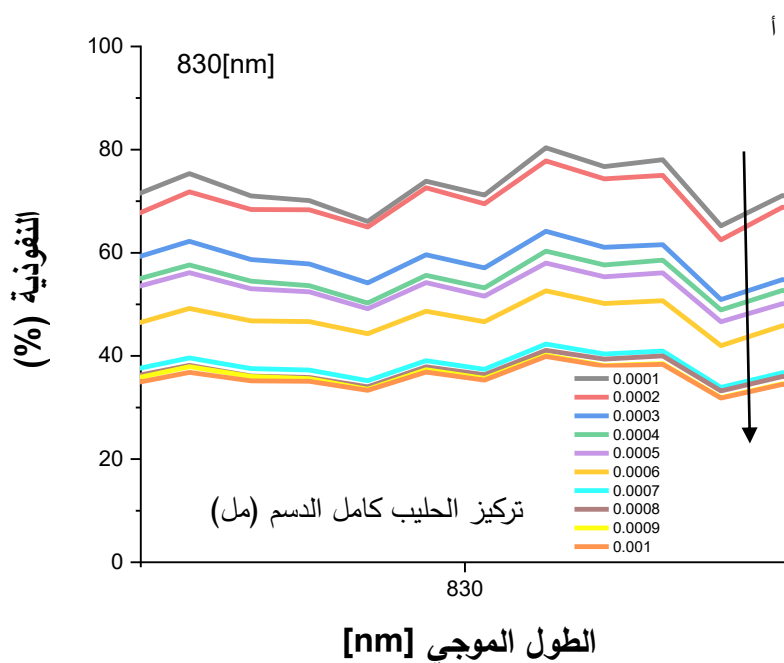
2- إجراء القياسات الضوئية للأكسجة النسيجية عن طريق تحضير منظومة ضوئية خاصة تعتمد على استخدام منبعين ليزر بطولين موجيين مختلفين وعلى استخدام المطياف الضوئي للكشف عن الإشارة النافذة من العينة وذلك خلال الضخ المستمر للأكسجين في العينات المدروسة.

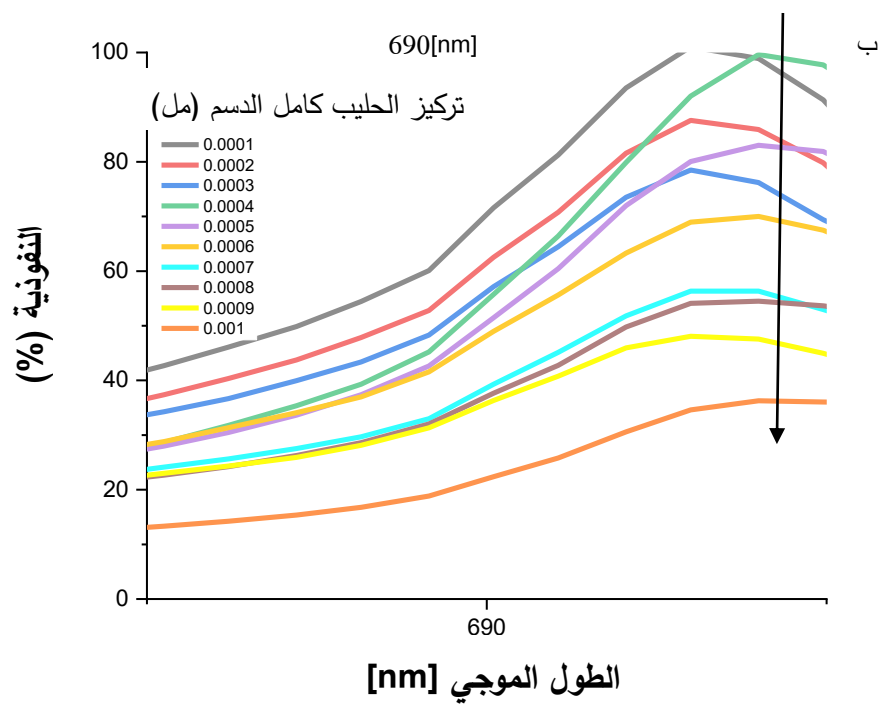
3- توظيف قياس الأكسجة النسيجية لمحاولة الكشف عن الأورام ضمن الأنسجة المدروسة وذلك من خلال التعديل على المنظومة الضوئية ومحاولة محاكاة وجود ورم ضمن العينات المدروسة.

1.6. نتائج تجربة توصيف الحليب المبستر، وتوضيح مدى ملاءمته لاستخدامه كعنصر

مبعر في بناء النماذج الضوئية الفيزيائية

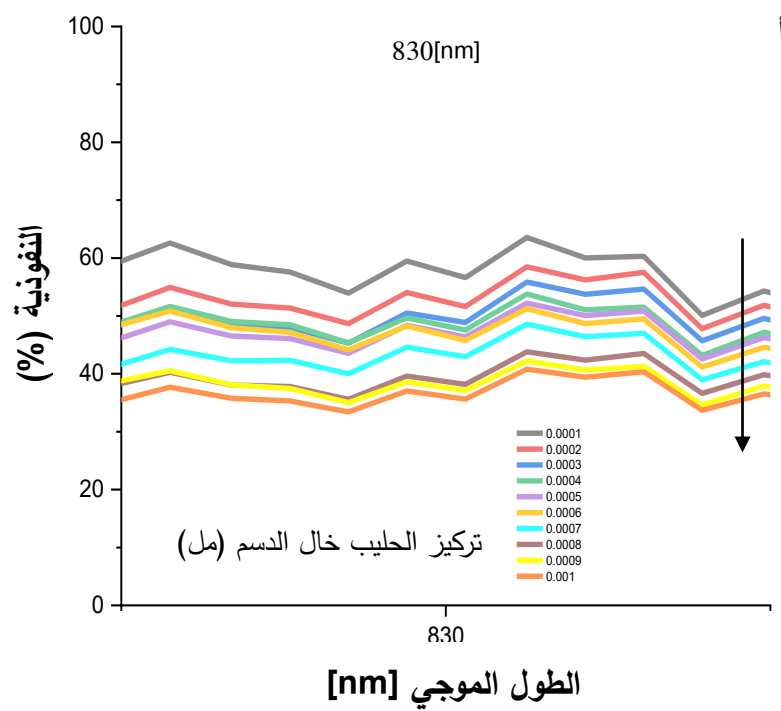
لتحديد الخصائص الضوئية للحليب المبستر استُخدمت مطيافية نفوذ الحزمة المتوازية لشعاع الليزر لقياس أطيايف النفوذية لعينات الحليب المبستر، ومطيافية الانعكاس المنتثر لقياس أطيايف الانعكاسية لعينات الحليب المبستر، بداية أُخِذَت القياسات لعينات الحليب المبستر كامل الدسم، ثم بُنِيَت المنظومة الضوئية بحيث نقارن فقط ما بين الطولين الموجيين $830[nm]$ و $690[nm]$ في مجال الأشعة تحت الحمراء. أطيايف النفوذية لعينات الحليب المبستر كامل الدسم:

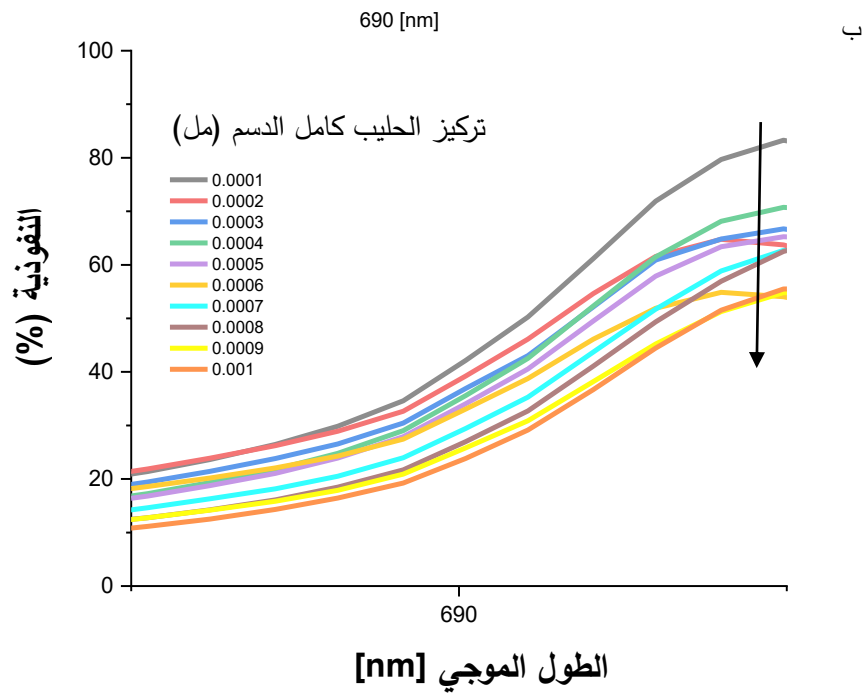




الشكل 35 أطياف النفوذية لعينات الحليب المبستر كامل الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) 830[nm] ، (ب) 690[nm] .

وبالمثل قيست أطياف النفوذية للحليب المبستر خالي الدسم.

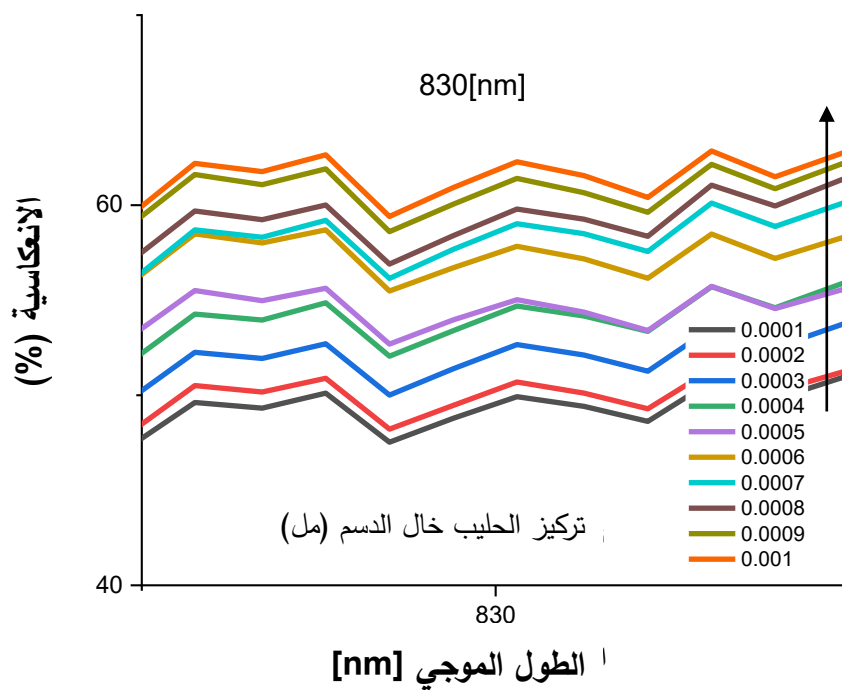




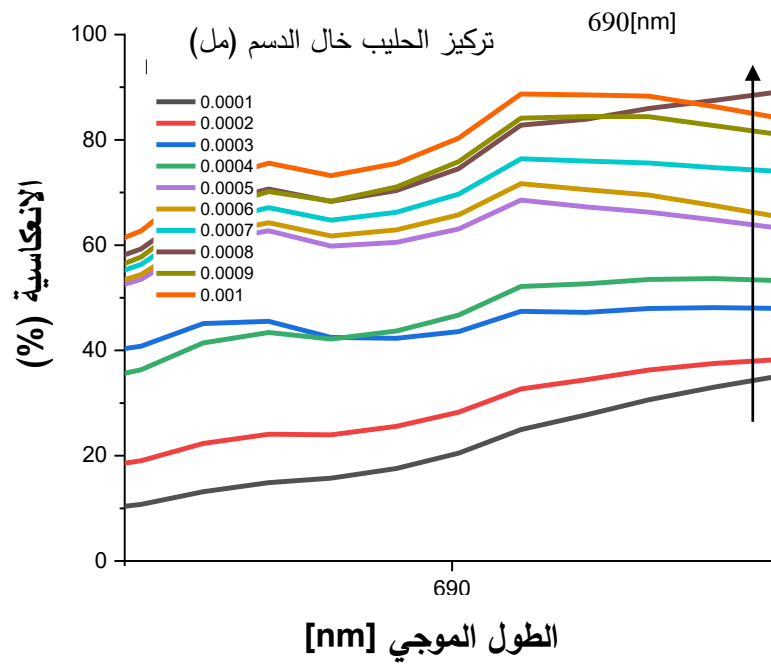
الشكل 36 أطياف النفوذية لعينات الحليب المبستر خالي الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) 830[nm] ، (ب) 690[nm] .

من ثم قيست أطياف الانعكاسية لعينات الحليب كامل الدسم.

أ

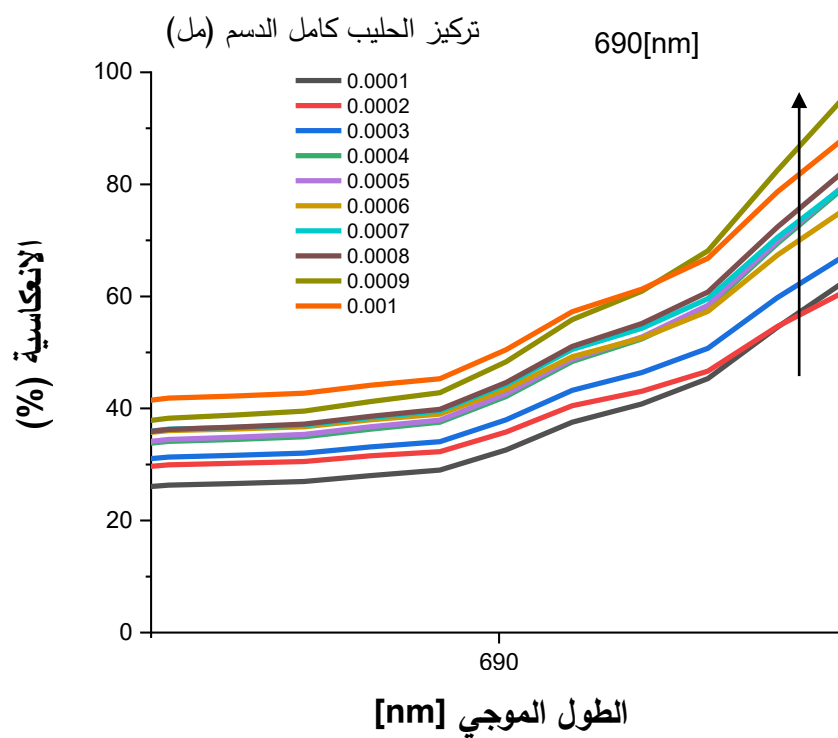


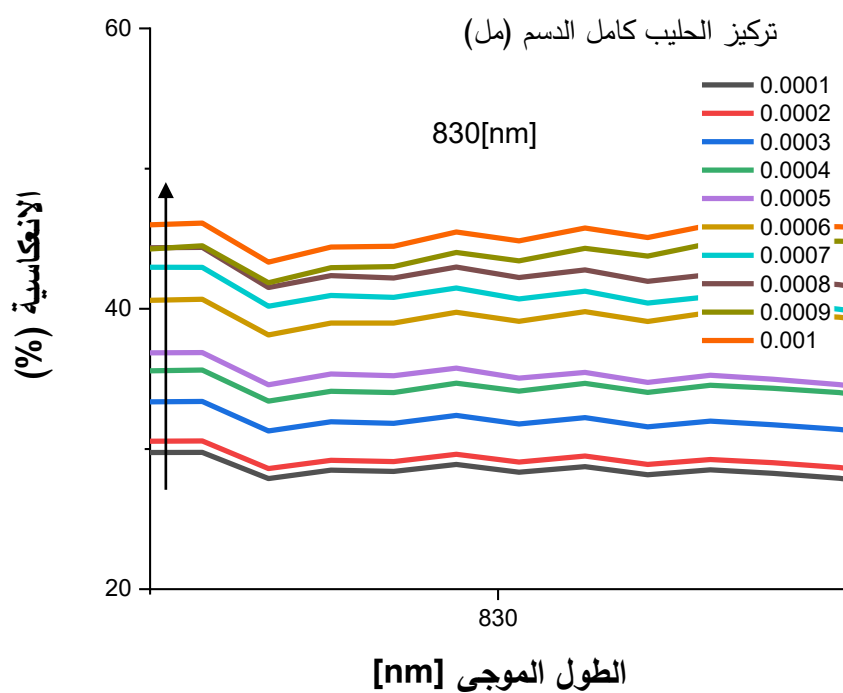
ب



الشكل 37 أطياف الانعكاسية لعينات الحليب المبستر خالي الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) 830[nm] ، (ب) 690[nm] .
وبالمثل لعينات الحليب كامل الدسم:

أ





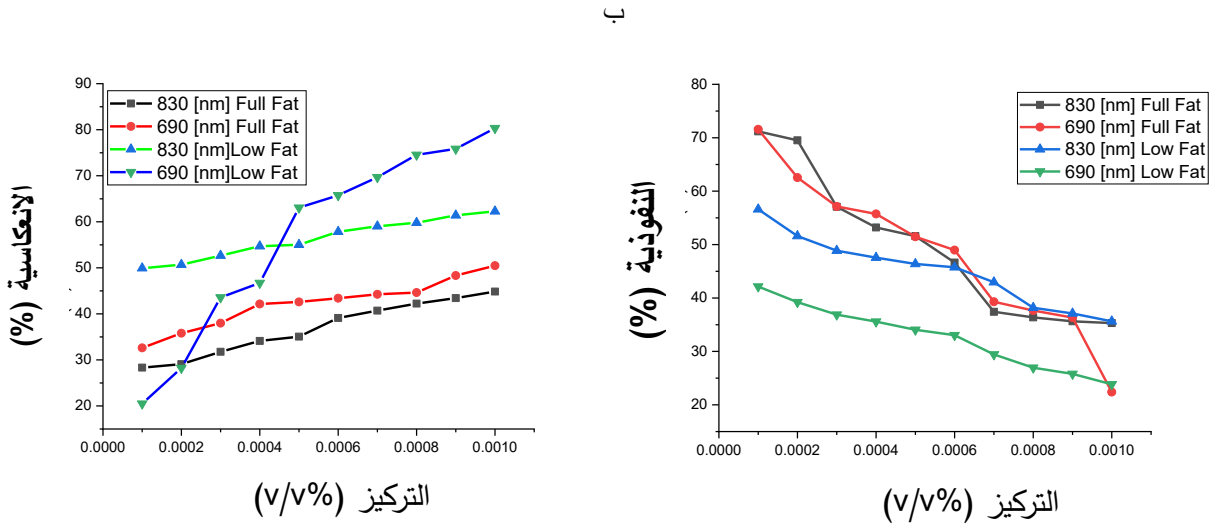
الشكل 38 أطيايف الانعكاسية لعينات الحليب المبستر كامل الدسم عند مختلف التراكيز عند الطول الموجي (أ) 690[nm] ، (ب) 830[nm] .

نلاحظ من الشكل 36 والشكل 37 عند الطول الموجي 830[nm] ، أن أطيايف النفاذية تتناقص مع زيادة تركيز الحليب خالي الدسم بينما يزداد طيف الانعكاس مع زيادة تركيز الحليب خالي الدسم، وبالمثل عند الطول الموجي 690[nm] يتناقص طيف النفاذية مع زيادة تركيز الحليب خالي الدسم بينما يزداد طيف الانعكاس مع زيادة تركيز الحليب خالي الدسم، حيث إن زيادة تركيز الحليب المبستر تعني زيادة عدد الجزيئات المبعثرة ضمن العينة بالتالي يزداد طيف الانعكاس ويقل طيف النفاذ.

ومن الشكل 35 والشكل 38 نلاحظ تماثل السلوك الطيفي بين عينات الحليب المبستر كامل الدسم، وما بين عينات الحليب المبستر خالي الدسم عند كلا الطولين الموجيين

من أجل تقييم العلاقة بين أطيايف النفاذية / الانعكاس وتركيز الحليب المبستر. مُثلت قيم النفاذية والانعكاس عند

830[nm] و 690[nm] من الأطيايف المقيسة ولجميع عينات الحليب بدلالة التركيز:



الشكل 39 (أ) النفوذية، (ب) الانعكاسية لعينات الحليب المبستر خالي الدسم/كامل الدسم بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة. نلاحظ من الشكل 39 أن انعكاسية الحليب المبستر تتزايد مع زيادة التركيز عند كل نقطة لكلا الطولين الموجيين لزيادة عدد الجزيئات المبعثرة ضمن العينة، وأن نفوذية الحليب المبستر تتناقص مع زيادة التركيز عند كل نقطة لكلا الطولين الموجيين.

نلاحظ أن تغيرات النفوذية لتركيز ما مع الطول الموجي هي تغيرات لا خطية حيث نلاحظ أن النفوذية عند تركيز محدد للحليب خالي الدسم عند طول موجة الليزر $690[nm]$ أقل من النفوذية عند $830[nm]$ حسب الشكل 36; وهذا يُفسّر فيزيائياً، وفق ظاهرة تبعثر رايلي بالعلاقة:

$$I_s \approx \frac{1}{\lambda^4} \quad \text{Eq 37}$$

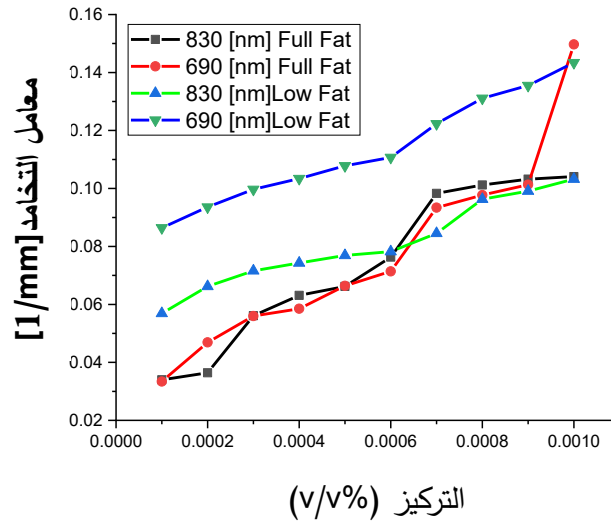
حيث إن:

- I_s شدة الضوء المبعثر.

- λ طول الموجة.

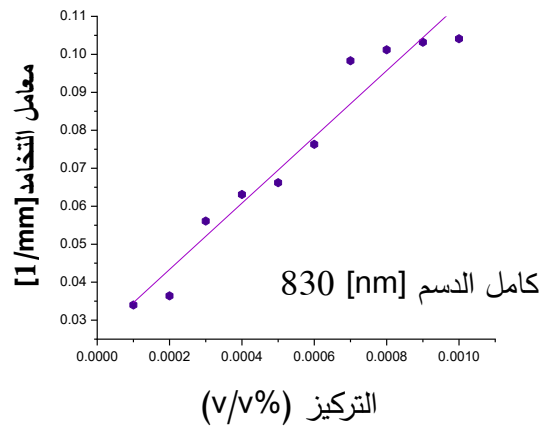
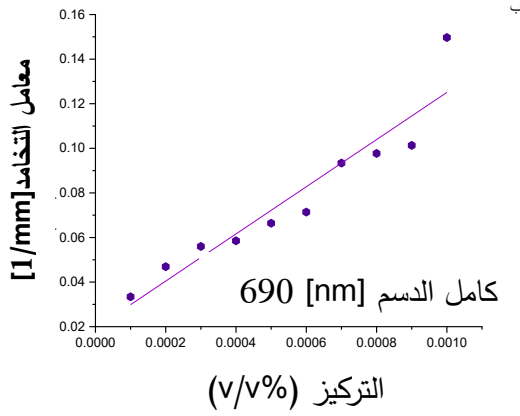
من ثم من أجل $\lambda = 690[nm]$ تكون الشدة المبعثرة أكبر منها لأجل $\lambda = 830[nm]$; أي إن شدة ما ينفذ من الضوء عند $\lambda = 690[nm]$ أقل من نفوذ الضوء عند $\lambda = 830[nm]$.

إن تبعثر رايلي يحدث في الجسيمات الصغيرة التي أبعادها من رتبة $5[\mu m]$ ؛ لذلك نتوقع أن حبيبات الحليب خالي الدسم أصغر من حبيبات الحليب كامل الدسم، وعندما تصبح الحبيبات كبيرة أكبر من $10[\mu m] \approx$ يصبح تبعثر الضوء خاضعاً لما يسمى تبعثر ماي المستقل تقريباً عن طول الموجة، لذلك تظهر النفاذية متماثلة تقريباً عند كل تركيز محدد من أجل $\lambda = 830$ و $\lambda = 690$ ، كما يُظهر الشكل (39-أ) وهذا دليل على أن حبيبات الدسم هي الأكبر في الحليب كامل الدسم وهنا يعود تخامد الضوء بمعظمه إلى الامتصاص، وليس إلى التبعثر، كما هو الحال في الحليب خالي الدسم. وينعكس هذا الأثر على معامل التخامد وبالفعل يؤكد الشكل 40 إلى أن قيم معامل التخامد للحليب كامل الدسم متقاربة لكلا الطولين الموجيين، الأمر الذي يدل على أن تخامد الضوء يعود بشكل أولي للامتصاص من حبيبات الدسم الكبيرة وبنسبة أقل يعود للتبعثر في هذه الحبيبات. حيث بالاعتماد على قانون بيير-لامبرت (Eq 17) تم تحديد معامل التخامد لكل عينة ومُثِّلَت بيانياً بدلالة التركيز للحليب المبستر كامل الدسم والحليب المبستر خالي الدسم/كامل الدسم.

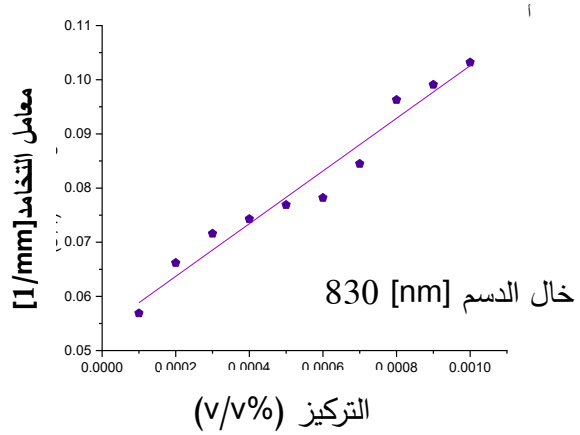
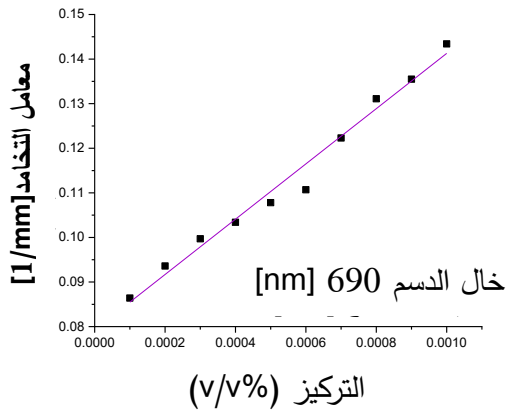


الشكل 40 معامل التخامد بدلالة تركيز الحليب لعينات الحليب المبستر خالي الدسم/كامل الدسم.

من ثم باستخدام برنامج الماتلاب حُصِل على علاقة خطية لمعامل التخامد بدلالة التركيز.



الشكل 41 تغيرات معامل التخماد للحليب المبستر كامل الدسم عند الطول الموجي (أ) 830[nm]، (ب) 690[nm] بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة.



الشكل 42 تغيرات معامل التخماد للحليب المبستر خالي الدسم عند الطول الموجي (أ) 830[nm]، (ب) 690[nm] بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة.

تم التوصل للعلاقات الخطية الآتية باستخدام نظرية الموامعة في برنامج الماتلاب مستخدمين علاقة كثير حدود من الدرجة الأولى:

• عند الطول الموجي 830[nm]:

للحليب المبستر خالي الدسم:

$$\mu_t(c) = 0.01473 * C + 0.08073$$

$$R^2 = 0.96 \quad \text{Eq 38}$$

للحليب المبستر كامل الدسم:

$$\mu_t(c) = 0.008728 * C + 0.02588$$

$$R^2 = 0.95 \quad \text{Eq 39}$$

• عند الطول الموجي 690[nm]:

للحليب المبستر خالي الدسم:

$$\mu_t(c) = 0.01877 * C + 0.1134 \quad R^2 = 0.90 \quad \text{Eq 40}$$

للحليب المبستر كامل الدسم:

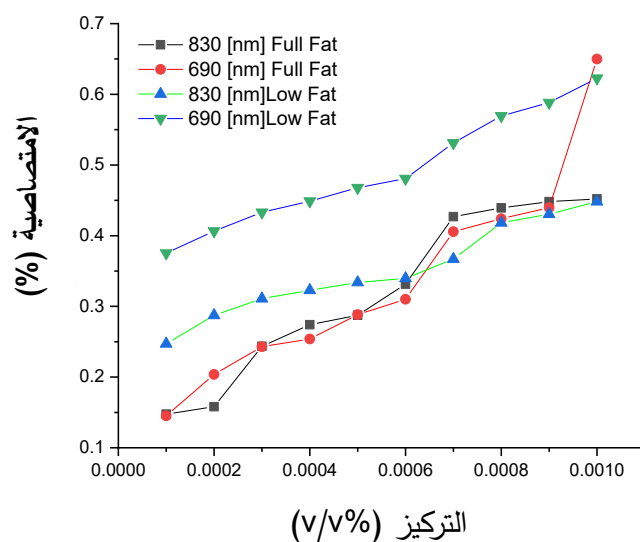
$$\mu_t(c) = 0.01057 * C + 0.01931 \quad R^2 = 0.98 \quad \text{Eq 41}$$

حيث إن :

- c التركيز المئوي الحجمي للحليب المبستر (% v/v).

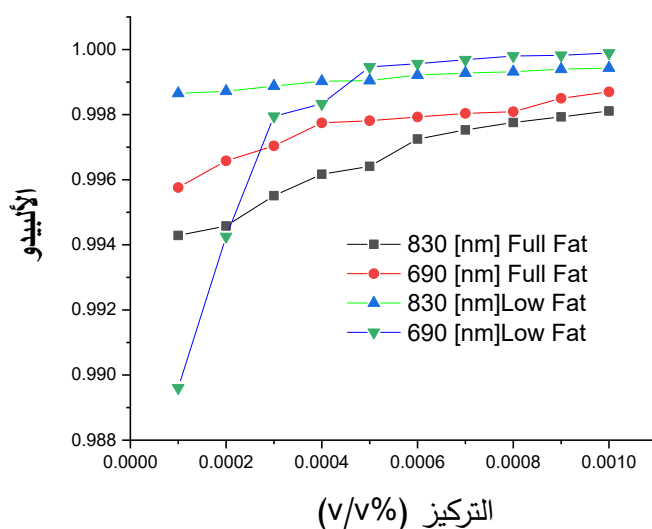
نلاحظ من العلاقات السابقة أن علاقة معامل التخماد للحليب المبستر، وتركيزه المئوي الحجمي هي علاقة خطية طردية، وندعو أمثال التركيز في العلاقات السابقة بمعامل التخماد المطلق. كما نلاحظ زيادة معامل التخماد بزيادة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة المدروسة، والسبب في ذلك أن ارتفاع تركيز الحليب المبستر ضمن العينة الذي يعد مادة مبعثرة يؤدي طبيعياً إلى زيادة أثرها؛ أي إلى زيادة تخامدها. أما بالنسبة لعينات الحليب خالي الدسم عند $690[nm]$ و $830[nm]$ نلاحظ أن لهم مواءمة أفضل؛ مقارنة بعينات الحليب المبستر كامل الدسم عند الطولين الموجيين نفسيهما، ويمكن تفسير ذلك بوجود جزيئات مبعثرة من الدهون في عينات الحليب المبستر الكامل الدسم تسبب عدم تجانس في العينات المدروسة، وهذا الاختلاف ما بين عينات الحليب المبستر كامل الدسم وخالي الدسم يتوافق مع عمل الباحث Cabassi وزملائه [60] حيث درسوا تأثير الدهون في الخصائص الضوئية للحليب.

من المهم أيضاً ملاحظة أن معامل التبعثر للحليب المبستر يساوي تقريباً معامل التخماد للحليب؛ مع الأخذ في الحسبان القيمة الضئيلة لمعامل امتصاص الحليب المبستر، ومن أجل التحقق حُسبت امتصاصية جميع عينات الحليب المبستر المستخدمة في هذه الدراسة، كما يظهر الشكل 43 بناءً على قانون بيري-لامبرت، ووجد أن قيمتها أقل من 1 [%] لجميع العينات.



الشكل 43 الامتصاصية بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة.

حُسبت وفقاً لمعاملات التبعثر والامتصاص قيم الألبيدو لجميع العينات.



الشكل 44 قيم الألبيدو بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة.

يمكن من الشكل 44 ملاحظة أن قيم الألبيدو لكل من عينات الحليب خالي الدسم وكامل الدسم يمكن أن تصل

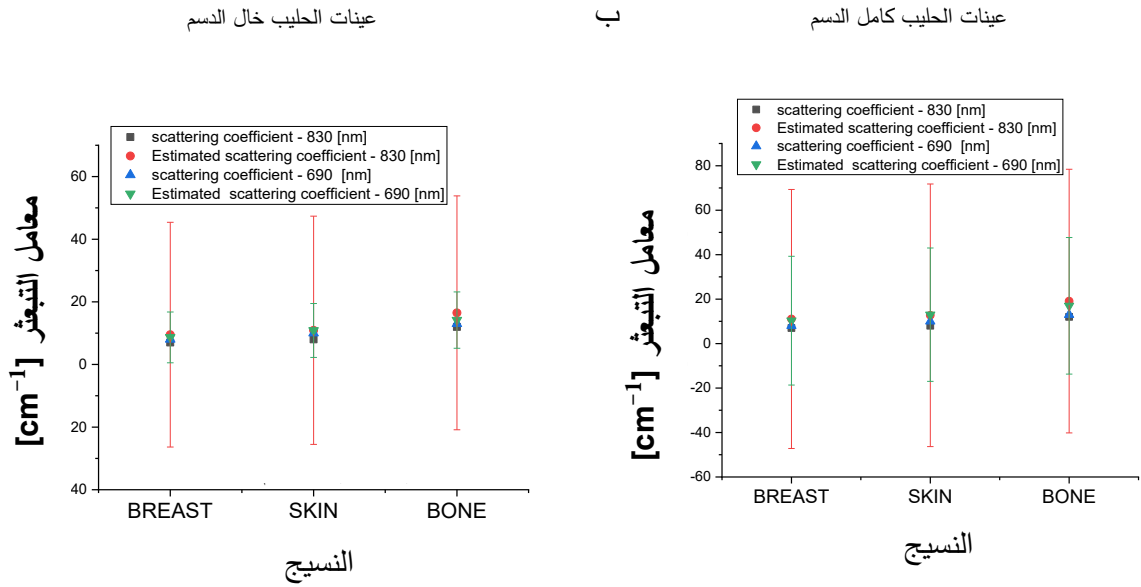
إلى 0.9 وهذا يشير إلى أنه يمكن استخدام الحليب المبستر كمادة مبعثرة لبناء النماذج الفيزيائية الضوئية التي

تحاكي الأنسجة شديدة الاضطراب والتي تصل قيم الألبيدو فيها لحوالي 0.9 بالمتوسط.

وتبين القيم المنخفضة للأبيدو لعينات الحليب المبستر خالي الدسم خاصةً عند التراكيز المنخفضة للحليب المبستر؛ مقارنةً بالعينات الأخرى أن معامل التبعثر للحليب خالي الدسم منخفض؛ بسبب زيادة المسافة بين جزيئات التبعثر في عينات الحليب قليلة الدسم الناتجة عن انخفاض تركيز الحليب. من ثم وعلى الرغم من استخدام الحليب كعنصر مبستر سابقاً في بناء النماذج الضوئية لم يوصف الحليب المبستر وخصائصه الضوئية.

كشفت النتائج عن اختلاف في الخصائص البصرية بين الحليب المبستر خالي الدسم وكامل الدسم، وهذا يتوافق مع عمل الباحث Cabassi وزملائه [60] حيث فُحص تأثير الدهون في الخصائص الضوئية للحليب، وأيضاً درس الباحث Aernouts وزملائه [15] تأثير تجانس الحليب في الخصائص البصرية للحليب عبر الموجات فوق الصوتية في المجال المرئي وتحت الأحمر القريب، فكلما قل قطر الكريات الدهنية يقل معامل التبعثر في المجال المرئي والمجال القريب من الأشعة تحت الحمراء وعامل اللاتماثل ويجعل قيمهم مرتبطة بطول الموجة.

من ثم يمكن استخدام الحليب المبستر لبناء نموذج فيزيائي ضوئي بقيمة تبعثر معينة، ويمكن تحقيق ذلك بتطبيق معادلات الموائمة السابقة والتي تمثل العلاقة بين تركيز الحليب المبستر ومعامل التبعثر المقابل. وللتحقق من صحة استخدام هذه المعادلات رُكبت ثلاثة نماذج فيزيائية ضوئية مختلفة بثلاث قيم مختلفة لمعامل التبعثر بحيث تماثل القيم الواقعية للخصائص الضوئية لأنسجة حية مختلفة (الثدي-الجلد-العظم) حسب المرجع [61] عند $690[nm]$ و $830[nm]$ ومن ثم قيست خواصها الضوئية، ولكن تبين بالمقارنة ما بين قيم معامل التبعثر للنسيج الحي ومعامل التبعثر للنموذج المركب وجود هامش خطأ كبير يصل إلى 40%، كما يبين الشكل 45.



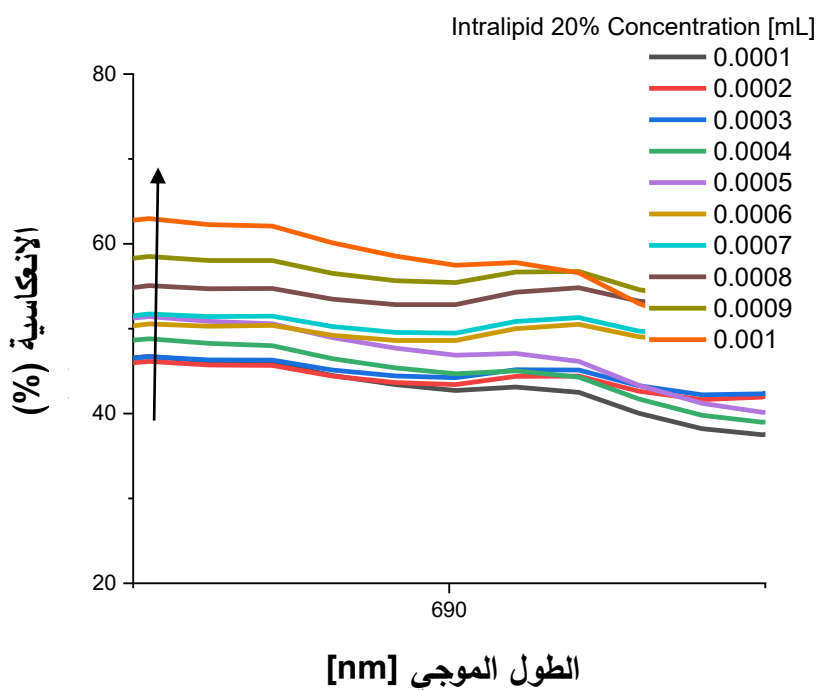
الشكل 45 نسبة الخطأ لمعامل التبعثر للحليب (أ) كامل الدسم، (ب) خالي الدسم لأنواع مختلفة من النسيج بدلالة تركيز الحليب المبستر ضمن العينة.

أظهرت عينات الحليب المبستر كامل الدسم مستويات خطأ أكبر من عينات الحليب المبستر خالي الدسم، ويمكن تفسير ذلك بعدم تجانس عينات الحليب المبستر كامل الدسم، من ثم العلاقة الضعيفة بين تركيز الدهون في عينات الحليب كامل الدسم ومعامل التخماد كما نوقش أعلاه.

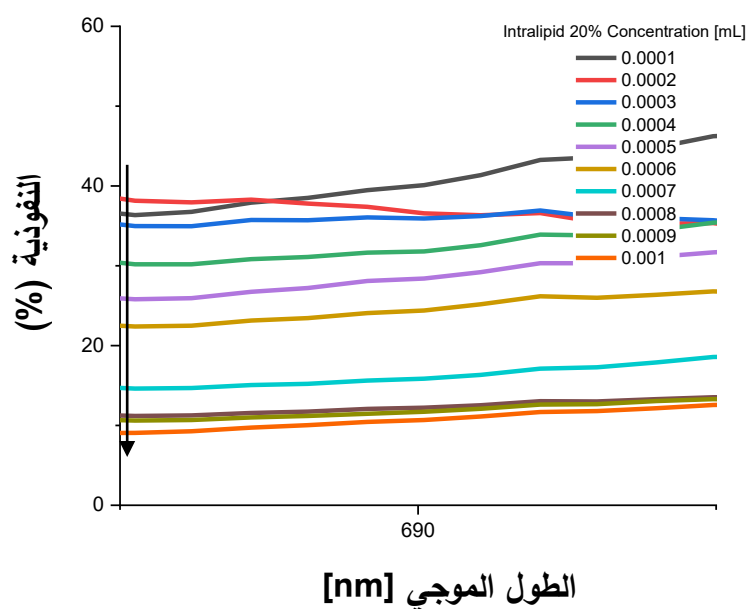
إن هامش الخطأ الكبير يشير إلى أن الاختلاف بين مصادر عينات الحليب المبستر المدروسة (عبوات) له تأثير على النموذج الضوئي المركب وأشار إلى زيادة هامش الخطأ باختلاف مصادر العينات المدروسة في المرجع [61] باستخدام مواد مختلفة تستخدم لبناء النماذج البصرية. فعلى سبيل المثال أظهر العالم Ninni وزملائه [62] وجود اختلاف في معامل التبعثر المختزل نتيجة تأثير اختلاف مصادر عينات الانتراليبيد المستخدمة في عملية القياس، وقد وصل هذا الاختلاف إلى 2%. نجد أن قيمة التباين نتيجة اختلاف المصدر (العبوة) للانتراليبيد صغير؛ وذلك لأنه غالباً ما تكون مادة intralipid ذات تجانس عالٍ، في المقابل، يفقر الحليب المبستر التجاري المستخدم في هذا العمل إلى التجانس؛ مما أدى إلى ظهور الاختلافات نتيجة تغيير المصدر في معامل تبعثر الحليب المبستر الذي قيس. نتيجة لذلك من الناحية العملية، يُنصح باستخدام مصدر (عبوة) الحليب المبستر نفسها عند إنشاء النماذج الضوئية لتقليل نسبة الخطأ الناتج عن الاختلاف من دفعة إلى أخرى. يجب الإشارة إلى أن قيمة معامل اللاتناحي التي اعتمدت $g=0.95$ [15].

أيضاً للتأكد من ملائمة استخدام الحليب المبستر كعنصر مبعثر دُرست الخواص الضوئية للإنتراليبيد، للمقارنة بينهما حيث استخدمت مطيافية نفوذية الحزمة المتوازية لقياس أطياف النفوذية لعينات الإنتراليبيد ومطيافية الانعكاس المنتشر لقياس أطياف الانعكاسية لعينات الإنتراليبيد.

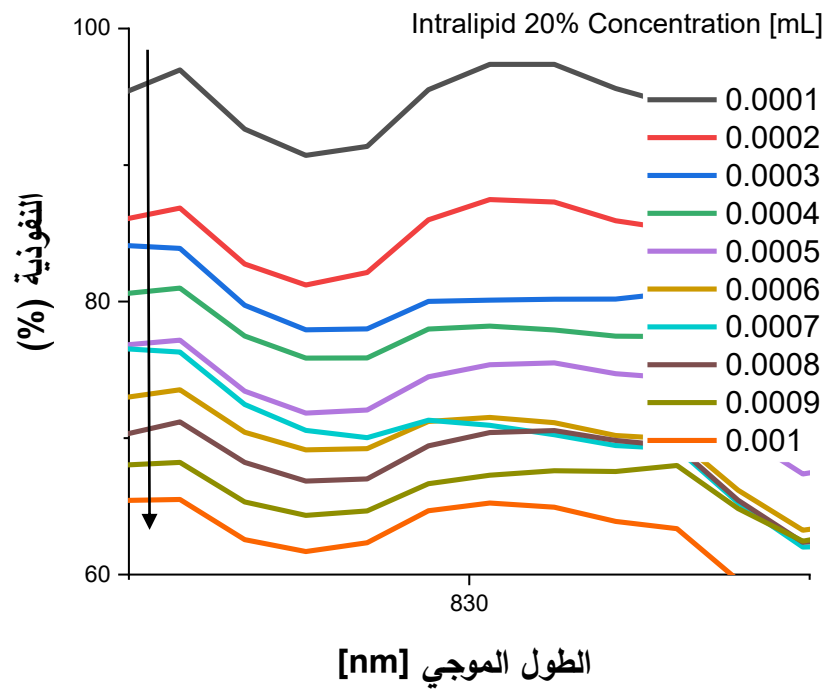
أ



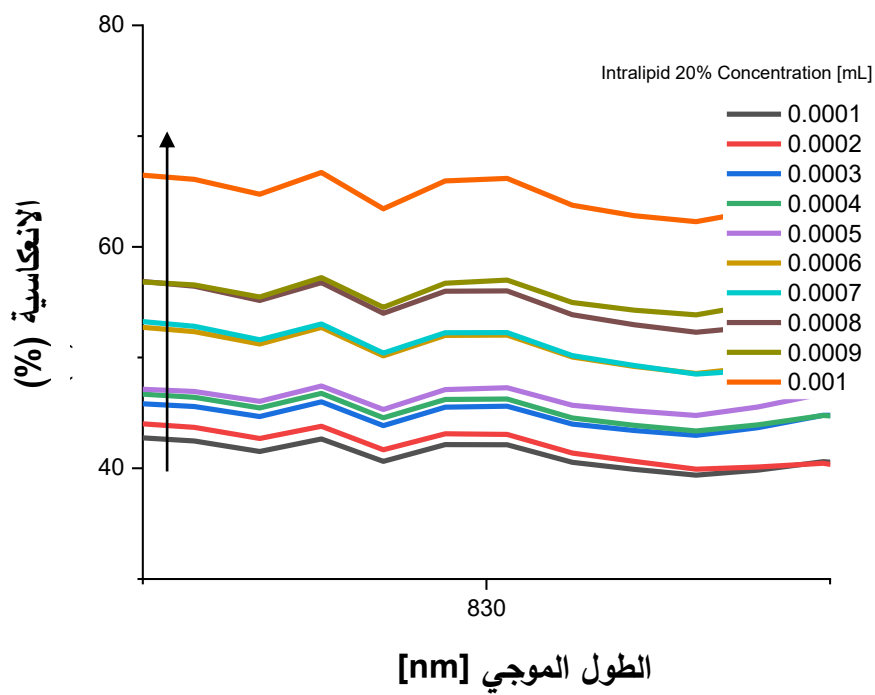
ب



الشكل 46 (أ) أطياف الانعكاسية لعينات الإنتراليبيد عند 690 nm ، (ب) أطياف النفوذية لعينات الإنتراليبيد عند 690 nm .

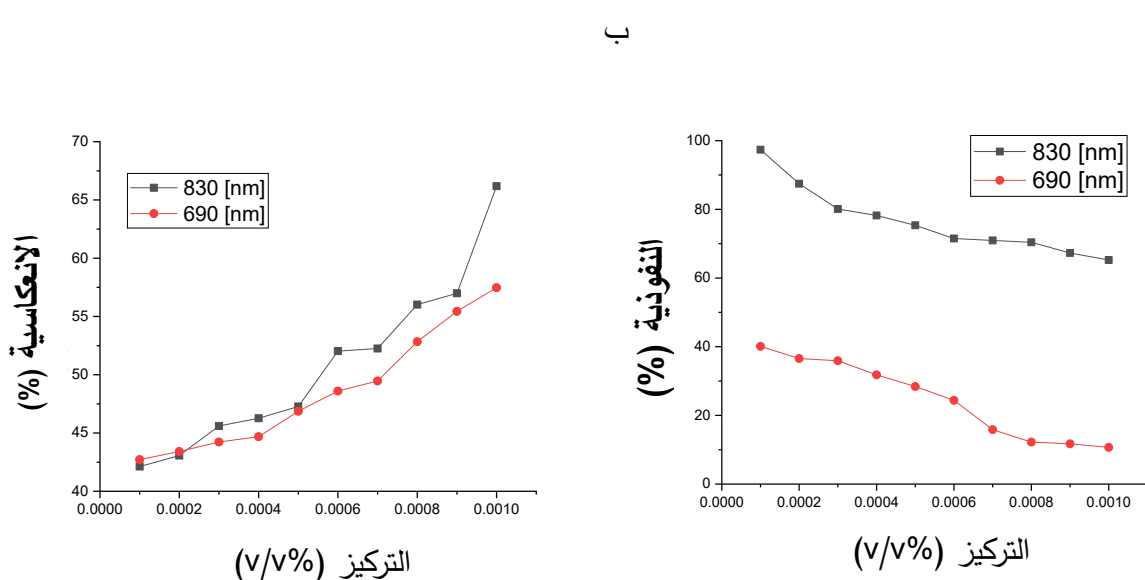


ب.



الشكل 47 (أ) أطيف الانعكاسية لعينات الإنتراليبيد عند 830[nm] ، (ب) أطيف النفوذية لعينات الإنتراليبيد عند 830[nm] .

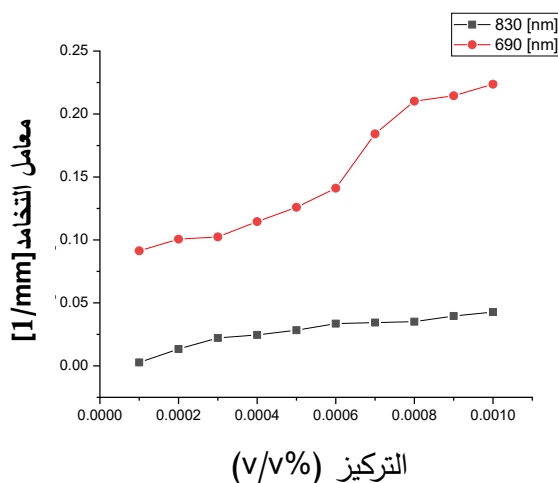
نلاحظ أن أطواف النفاذية تتناقص مع زيادة تركيز الإنترالييد، بينما يزداد طيف الانعكاس مع زيادة تركيز الإنترالييد عند كلا الطولين الموجيين، ومن أجل تقويم العلاقة بين أطواف النفاذية / الانعكاس وتركيز الإنترالييد. مُثِّلت قيم النفاذية والانعكاس عند 830[nm] و 690[nm] من الأطواف المقيسة ولجميع عينات الإنترالييد بدلالة التركيز:



الشكل 48 (أ) النفاذية لعينات الإنترالييد بدلالة التركيز، (ب) الانعكاسية لعينات الإنترالييد بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينة.

نلاحظ من الشكل 48 أن انعكاسية الإنترالييد تتزايد مع زيادة التركيز عند كل نقطة لكلا الطولين الموجيين. وأن نفوذية الإنترالييد تتناقص مع زيادة التركيز عند كل نقطة لكلا الطولين الموجيين.

بالمثل بالاعتماد على قانون بير-لامبرت (Eq 17) حُدِّد معامل التخامد لكل عينة، ومُثِّلت القيم بيانياً مع التركيز للإنترالييد.

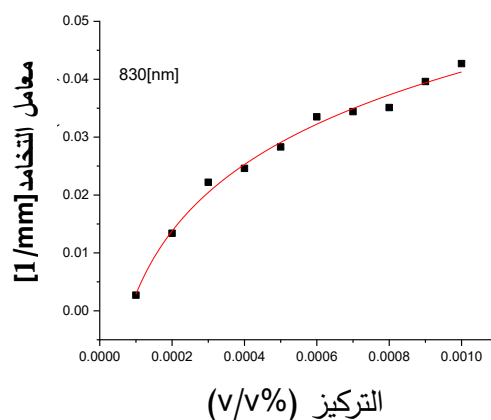
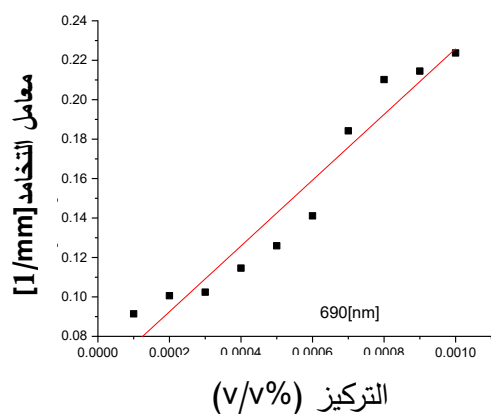


الشكل 49 معامل التخماد بدلالة تركيز الانتراليبيد ضمن العينة.

من ثم باستخدام برنامج الماتلاب حُصل على العلاقات الآتية لمعامل التخماد بدلالة التركيز.

ب

أ



الشكل 50 تغيرات معامل التخماد للانتراليبيد عند الطول الموجي (أ) $830[nm]$ ، (ب) $690[nm]$ بدلالة تركيز الانتراليبيد ضمن العينة.

تم التوصل للعلاقات الآتية باستخدام نظرية الموامة في برنامج الماتلاب:

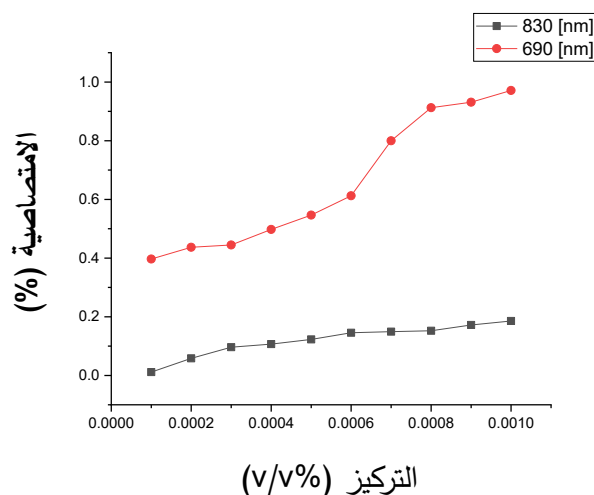
• عند الطول الموجي $830[nm]$:

$$\mu_t(c) = 0.37599 - \frac{0.5}{1 + \left(\frac{C}{0.07675}\right)^{0.16}} \quad R^2 = 0.99 \quad \text{Eq 42}$$

• عند الطول الموجي $690[nm]$:

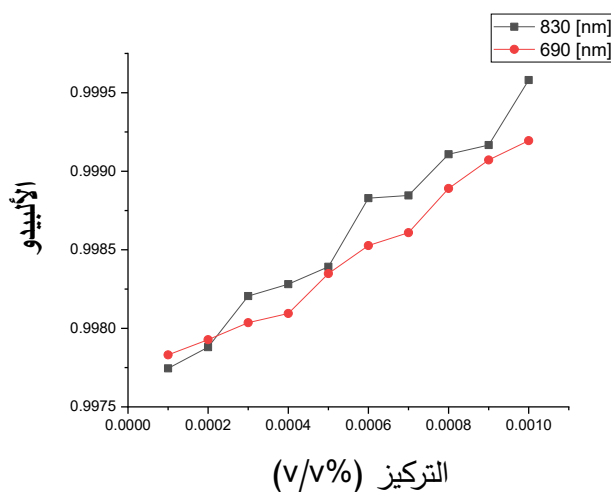
$$\mu_t(c) = 0.01667 * C + 0.05917 \quad R^2 = 0.93 \quad \text{Eq 43}$$

حُسبت امتصاصية جميع عينات الإنترالييد المستخدمة في هذه الدراسة، كما يظهر الشكل 51 بناءً على قانون بير-لامبرت ووجد أن قيمتها أقل من 1 [%] لجميع العينات.



الشكل 51 الامتصاصية بدلالة تركيز الإنترالييد ضمن العينة.

حُسب وفقاً لمعاملات التبعثر والامتصاص قيم الألبينو لجميع العينات.



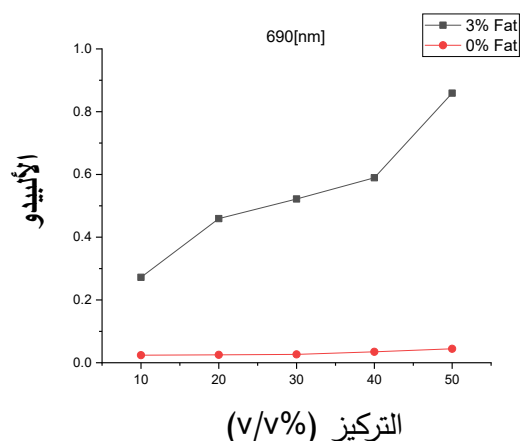
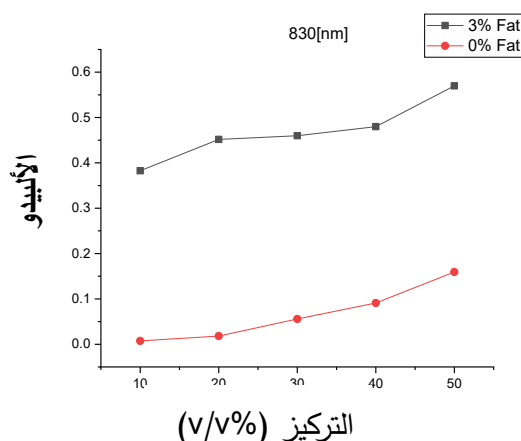
الشكل 52 قيم الألبينو بدلالة التركيز لعينات الإنترالييد.

نلاحظ أن قيم الألبينو لعينات الحليب المبستر الشكل 44 متقاربة جداً لقيم الألبينو لعينات الإنترالييد الشكل 52

لقد أُجريت هذه المقارنة؛ لأنه حُضرت ثلاث مجموعات لعينات الحليب المبستر بتركيزات مختلفة حيث:

أ- المجموعة الأولى مكونة من خمسة نماذج بتركيزات تتراوح من 10% إلى 50% وأُجريت جميع القياسات

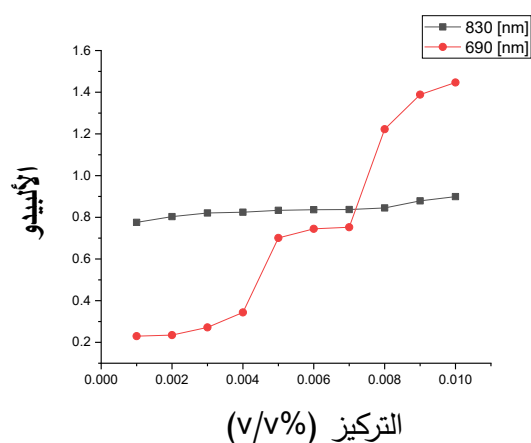
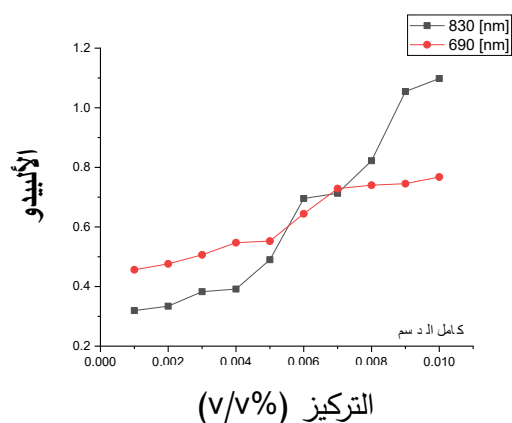
السابقة على هذه النماذج، ومُثلت قيم الألبينو بيانياً الشكل 53.



الشكل 53 قيم الأليبدو بدلالة تركيز الانتراليبيد ضمن العينات للمجموعة الأولى.

نلاحظ من الشكل 53 اختلافاً كبيراً ما بين القيم إذا ما تم مقارنتها بقيم الأليبدو للإنتراليبيد الشكل 52.

ب- المجموعة الثانية بتركيز تتراوح من 0.001% إلى 0.01%.



الشكل 54 قيم الأليبدو بدلالة تركيز الانتراليبيد ضمن العينات للمجموعة الثانية.

بالمثل نلاحظ من الشكل 54 اختلاف كبير ما بين القيم إذا ما تم مقارنتها بقيم الأليبدو للإنتراليبيد الشكل 52.

ت- المجموعة الثالثة هي النماذج التي أجريت الدراسة عليها السابقة.

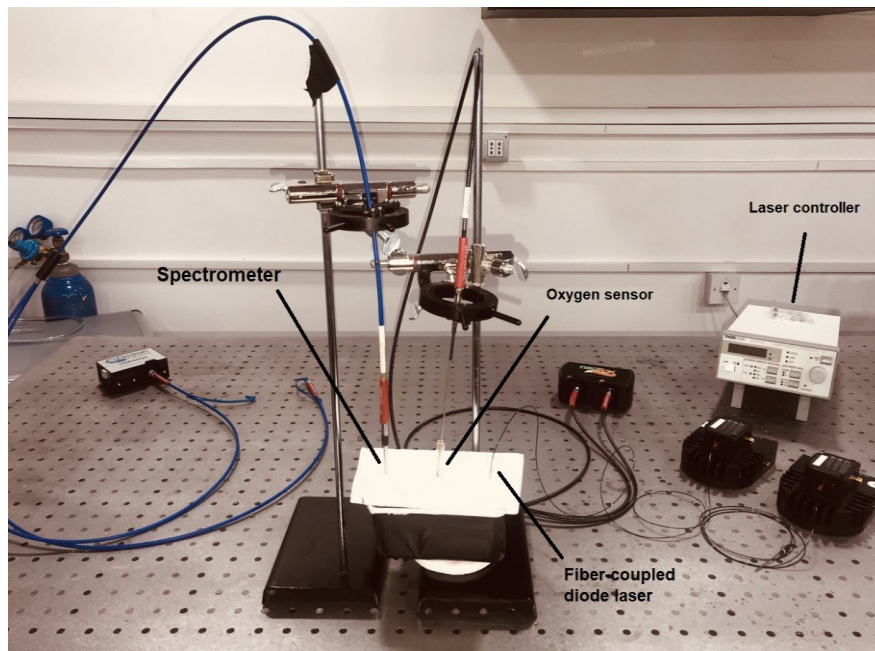
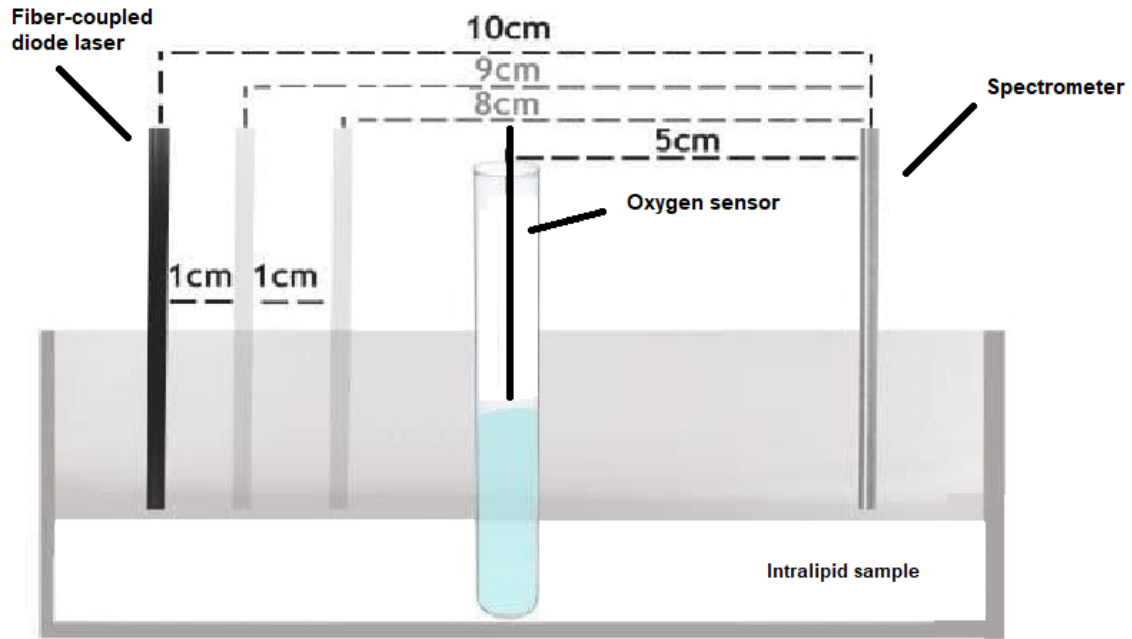
بإجراء هذه المقارنة تم التوصل للتركيز الصحيح الواجب اختياره لعينات الحليب المبستر، وإجراء الدراسة السابقة عليها.

ومن ثم بعد تحديد الخواص الضوئية للحليب المبستر تم تركيب النماذج الضوئية الفيزيائية اللازمة لقياس الأكسجة النسيجية.

4.6. نتائج تجربة قياس الأكسجة النسيجية

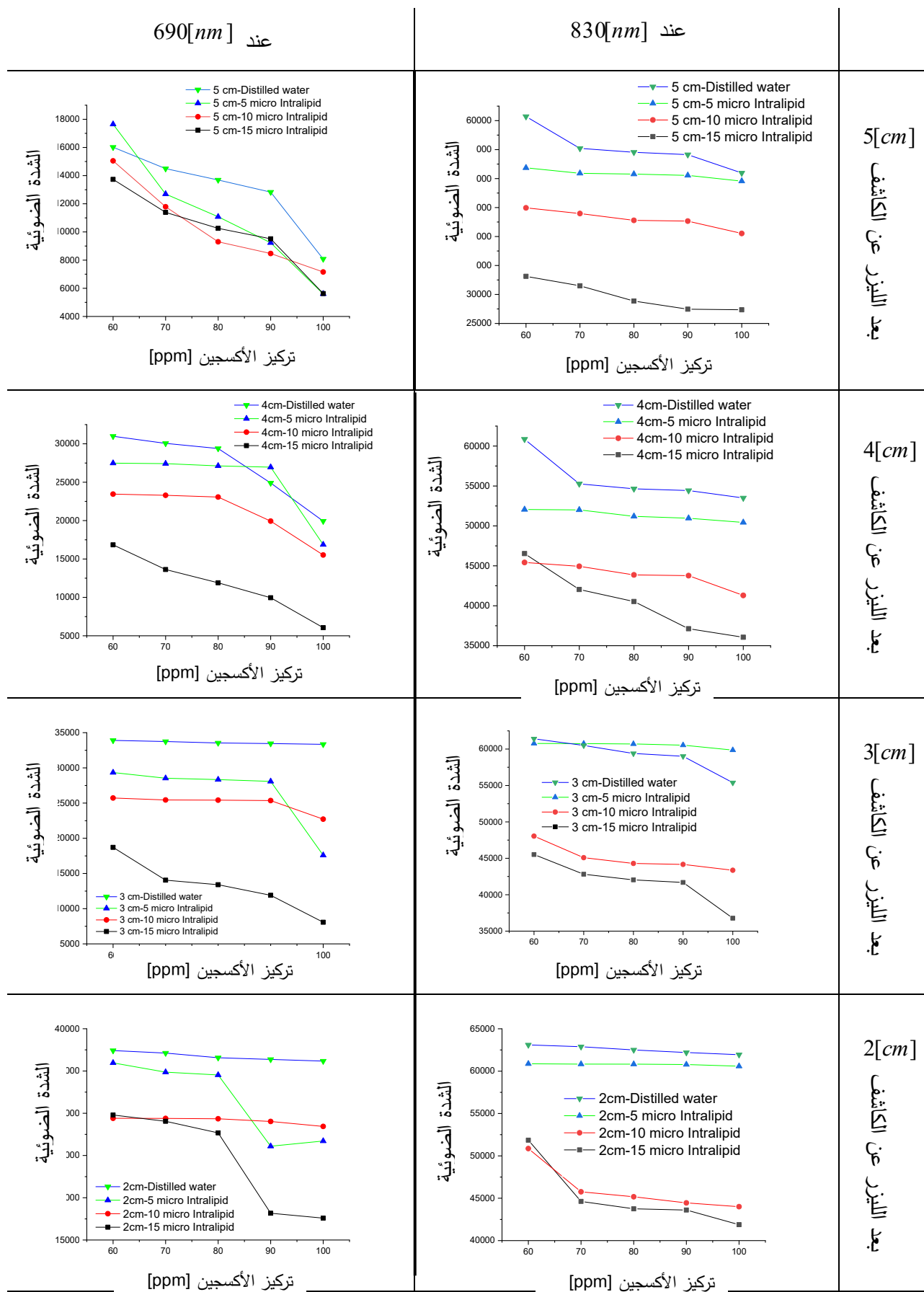
إن الهدف الرئيسي من البحث قياس الأكسجة النسيجية في المجال تحت الأحمر القريب حيث يكون الامتصاص المسيطر هو للهيموغلوبين بالتالي حُضِرَت المنظومة الضوئية الموضحة بالشكل 55 التي أُجريت القياسات الضوئية عليها للتوصل إلى تركيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج، والتي تتكون من وعاء يتوسطه أنبوب ومثبت على طرفي الوعاء الليف الضوئي لليزر المستخدم والمطياف الضوئي، بحيث يمكن تحريك الليزر أفقياً لتغيير بُعده عن الأنبوب بحركة مقدارها $1[cm]$ لكل موضع، وثُبت مقياس لغاز الأكسجين بحيث نتمكن من قياس نسبة الأكسجين في النموذج الضوئي داخل الأنبوب.

تم تحضير النماذج الفيزيائية الضوئية حيث وضع في الوعاء الخارجي عينة من الانتراليبيد خُلِت بالماء المقطر بتركيزات مختلفة $0-5-10-15-20 \mu l$ بحيث يمثل الانتراليبيد وسطاً مبعثراً، ووضع في الأنبوب عينة من الدم، ثُبت المطياف الضوئي وحُرِكَ الليزر لمسافات مختلفة حسب الشكل 55 وأُجري القياس بزيادة نسبة الأكسجين في الأنبوب.



الشكل 55 (أ) رسم تخطيطي للمنظومة الضوئية المستخدمة للقياس الأول، (ب) صورة فوتوغرافية للمنظومة الضوئية المستخدمة للقياس الأول. مُثلت النتائج بيانياً حيث تم قياس الشدة النافذة من العينة بالنسبة لتركيز الأكسجين ضمن الأنبوب عند مسافات

مختلفة لبعـد الليزر عن الكاشف عند كلا الطولين الموجيين:

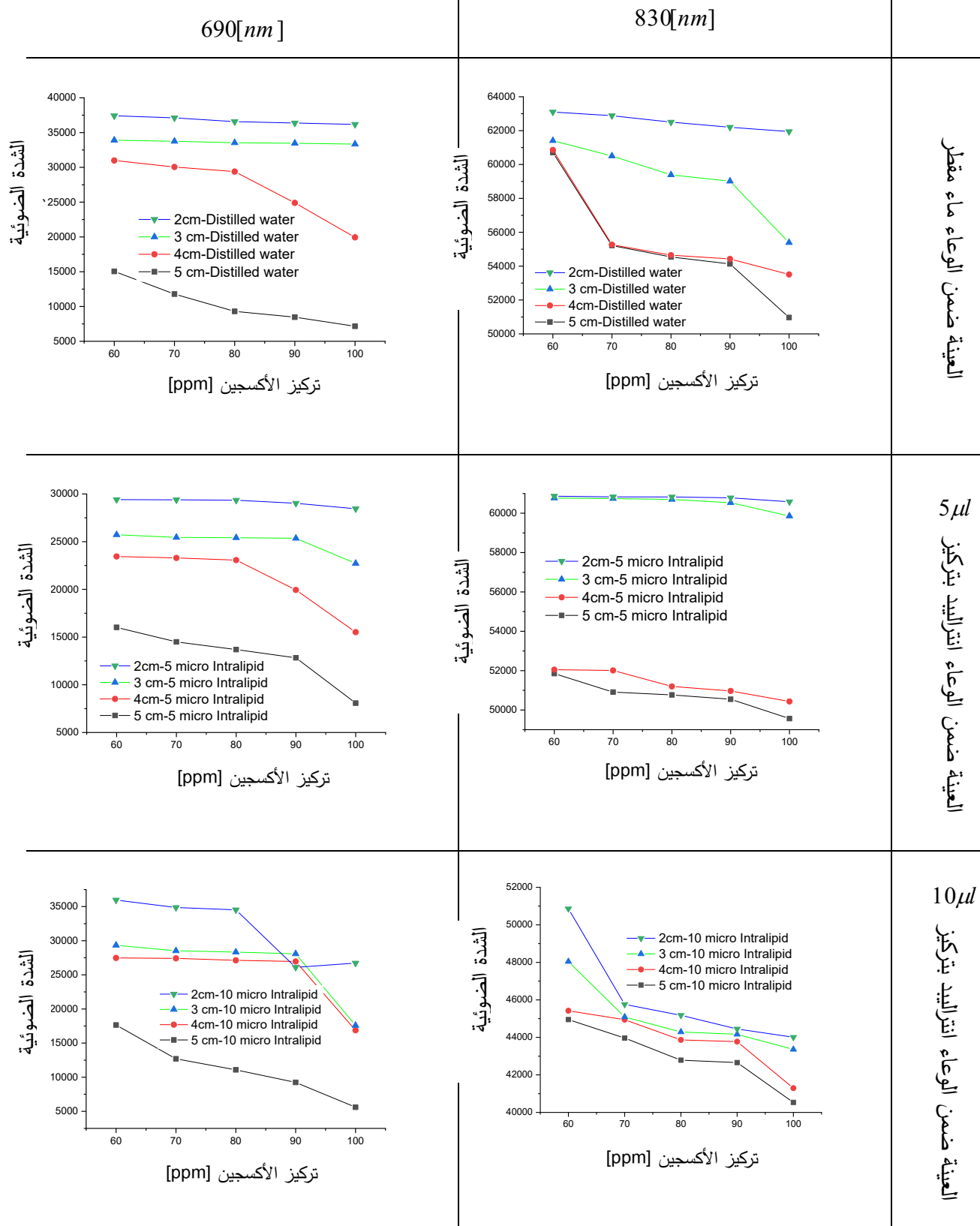


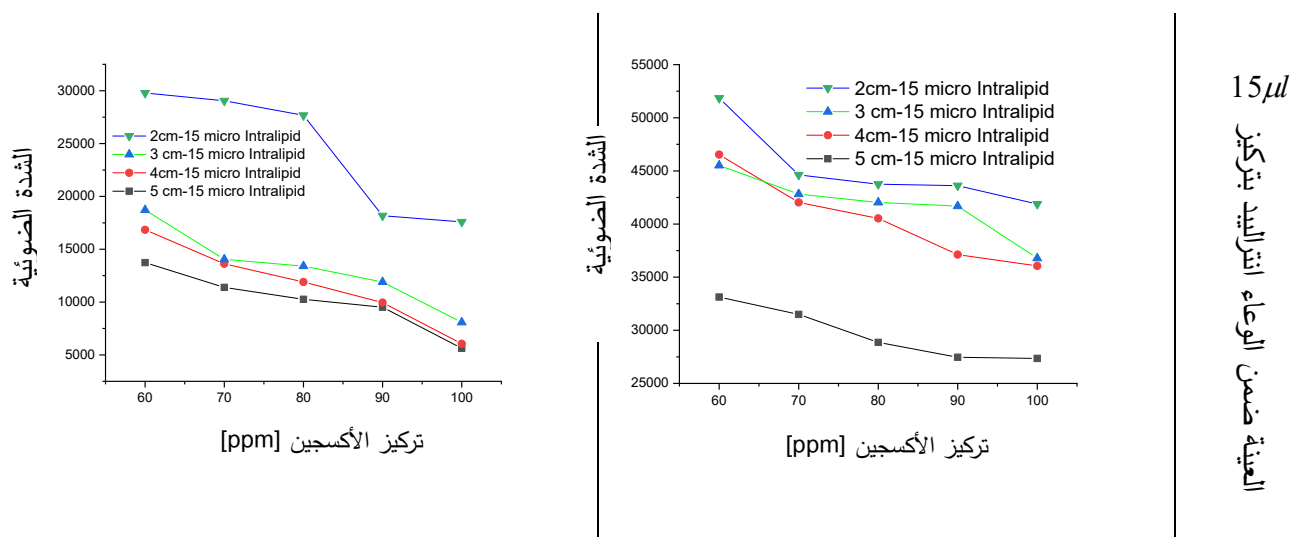
الشكل 56 الشدة الضوئية بالنسبة لتركيز الأكسجين عند نفس البعد بين الليزر والكاشف لتركيزات مختلفة لانترالبيد.

نلاحظ من الشكل 56 عند زيادة تركيز الأكسجين ضمن الأنبوب تقل الشدة الضوئية النافذة من العينة المقاسة بواسطة المطياف وذلك بزيادة تركيز الانتراليبيد للنموذج ضمن الوعاء الخارجي وتثبيت المسافة بين الليزر والكاشف عند كل قياس، حيث أن زيادة تركيز الانتراليبيد أدى إلى زيادة جزيئات المادة المبعثرة ضمن العينة أي إلى زيادة التخماد التي يتعرض له الضوء.

كما نلاحظ انخفاض الشدة الضوئية عند زيادة المسافة بين الليزر والمطياف الضوئي وذلك لزيادة المسار الضوئي.

كما مثلت بيانياً الشدة الضوئية الملتقطة من المطياف الضوئي بدلالة تركيز الأكسجين عند مسافات مختلفة لبعـد الليزر عن المطياف عند تراكيز مختلفة للانتراليبيد ضمن النموذج الضوئي في الوعاء الخارجي عند كلا الطولين الموجيين:





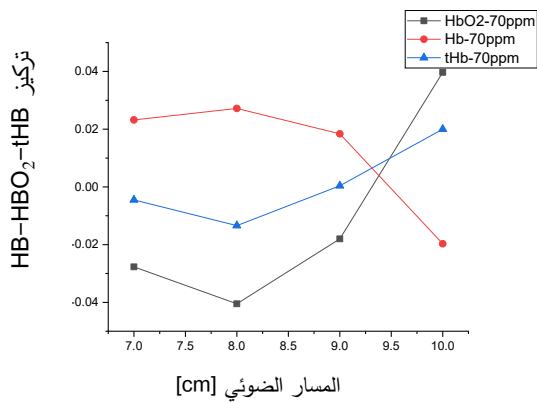
الشكل 57 الشدة الضوئية بالنسبة لتركيز الأكسجين عند نفس التركيز للانتراليبيد عند أبعاد مختلفة.

نلاحظ من الشكل 57 انخفاض الشدة الضوئية المقاسة النافذة من العينة عند زيادة المسافة بين الليزر والمطياف الضوئي وذلك بزيادة تركيز الأكسجين ضمن الأنبوب عند تثبيت تركيز الانتراليبيد في العينة ضمن الوعاء الخارجي عند كل عملية قياس.

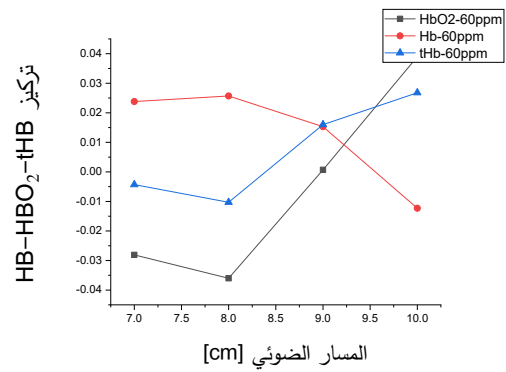
ولكن نلاحظ من الشكل 56 والشكل 57 عدم تجانس القياسات والسبب طريقة تثبيت المنظومة الضوئية المستخدمة والطريقة اليدوية لضخ الأكسجين للعينة.

كما ذكرنا تتطلب أنظمة الضوء تحت الأحمر القريب طولين موجيين لحل المعادلات الطيفية Eq 30-Eq 31 التي تحتوي على نوعين من الكروموفورات الهيموغلوبين المؤكسج HbO_2 وغير المؤكسج Hb لذلك جميع القياسات أجريت للطولين الموجيين $830[nm]$ و $690[nm]$ وتم حساب تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج (Eq 31) وغير المؤكسج (Eq 30) والكلي، ومثلت بيانياً بالنسبة لتغيرات المسار الضوئي عند قيم ثابتة للأكسجين لتراكيز مختلفة للانتراليبيد.

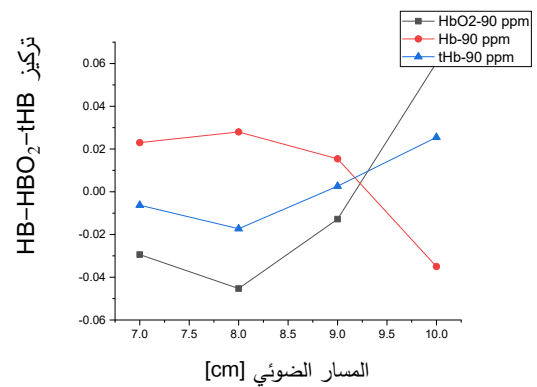
عند تركيز 5[μl] للأنترالبيد



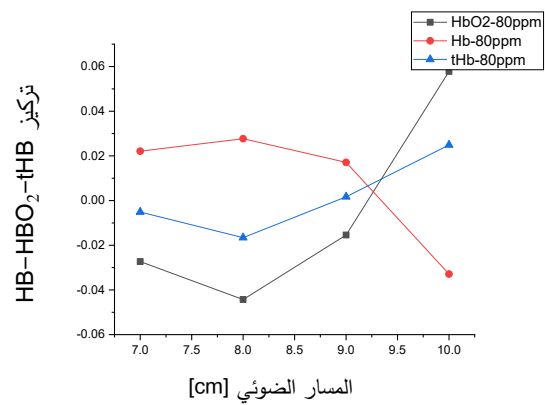
عند تركيز أنترالبيد 0.7 [μdd]



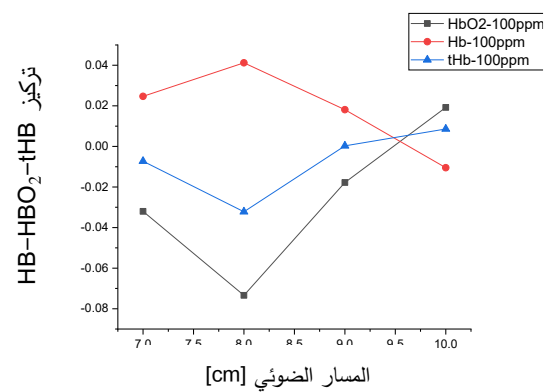
عند تركيز أنترالبيد 0.9 [μdd]



عند تركيز أنترالبيد 0.6 [μdd]

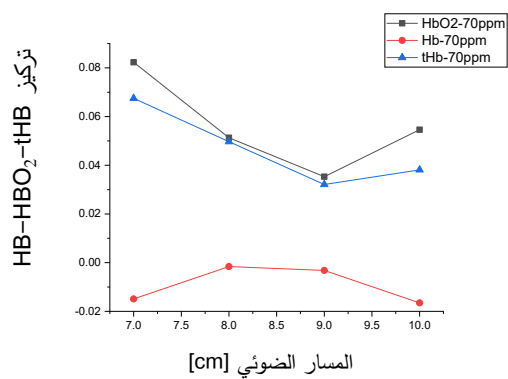


عند تركيز أنترالبيد 0.8 [μdd]

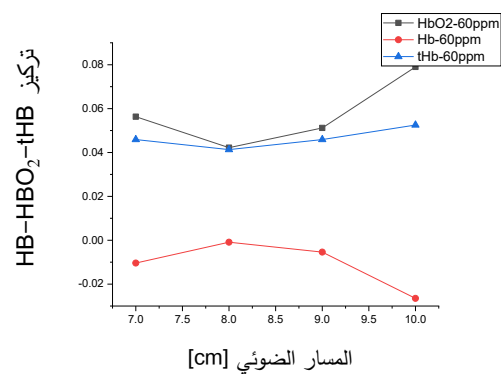


عند تركيز أنترالبيد 1.0 [μdd]

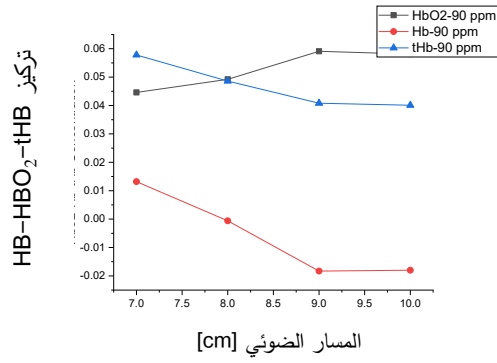
عند تركيز 10[μl] للأنترالبيد



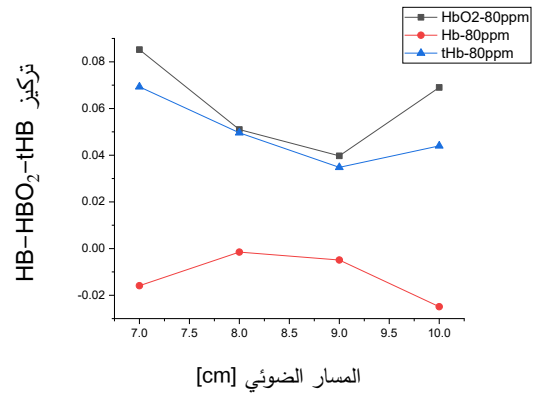
عند تركيز أنترالبيد 0.7 [μdd]



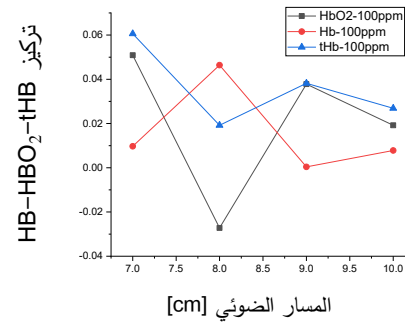
عند تركيز أنترالبيد 0.6 [μdd]



06 [uudd] عند تركيز أكسجين

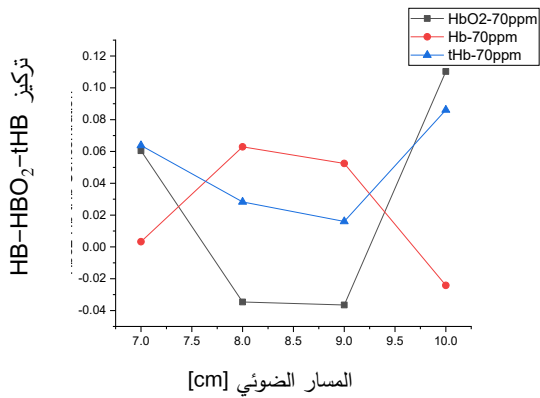


08 [uudd] عند تركيز أكسجين

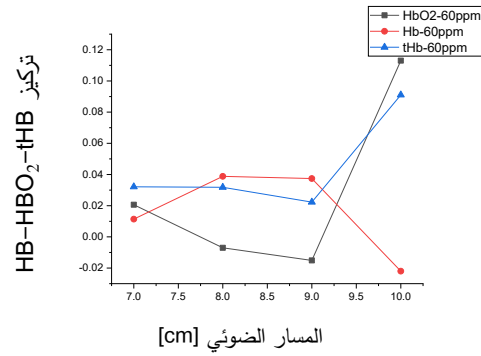


001 [uudd] عند تركيز أكسجين

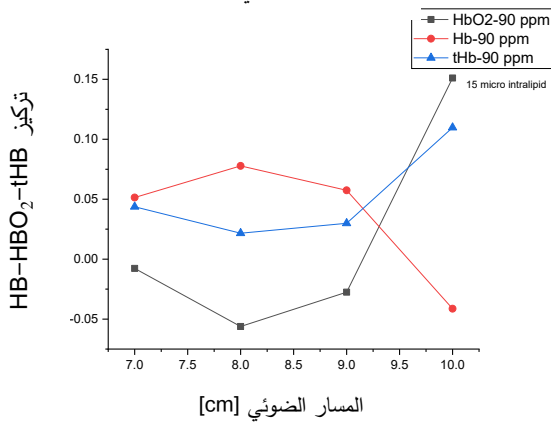
عند تركيز 15[μ] للأنتراليد



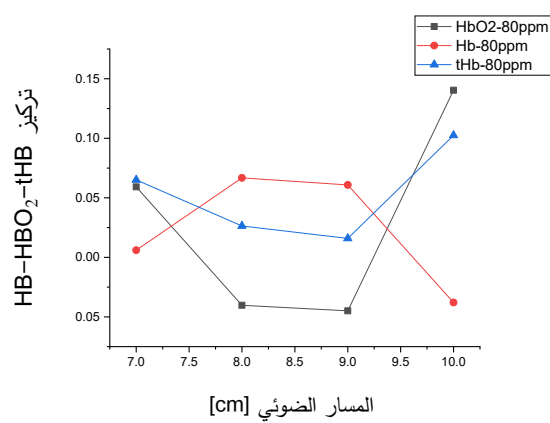
07 [uudd] عند تركيز أكسجين



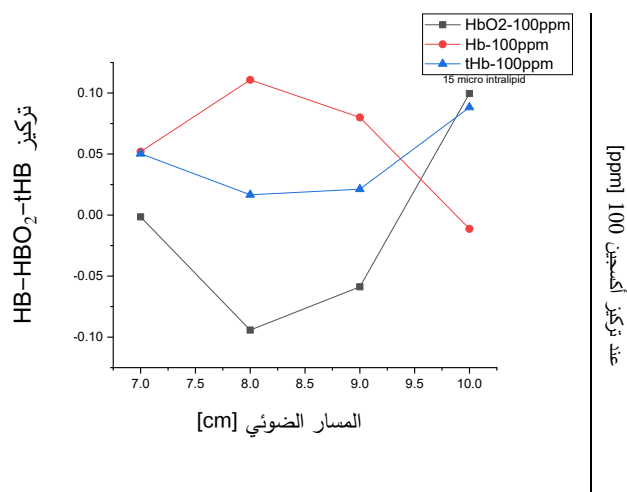
09 [uudd] عند تركيز أكسجين



06 [uudd] عند تركيز أكسجين



08 [uudd] عند تركيز أكسجين



الشكل 58 تغيرات الهيموغلوبين المؤكسج وغير المؤكسج والهيموغلوبين الكلي عند تراكيز مختلفة للإنتراليبيد ومسارات ضوئية مختلفة عند تركيز ثابت للأوكسجين.

نلاحظ من الشكل 58 ازدياد تركيز الهيموغلوبين المؤكسج عند زيادة المسار الضوئي ما بين الليزر والمطياف بالتالي انخفاض تركيز الهيموغلوبين غير المؤكسج والهيموغلوبين الكلي هو مجموع كل من الهيموغلوبين المؤكسج وغير المؤكسج.

لم نتمكن من إجراء مقارنة ما بين تغيرات تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج والكلي عند تغيير تركيز الأوكسجين خلال القياسات وذلك بسبب طريقة ضخ الاوكسجين غير المنتظمة.

- قياس الأكسجة النسيجية من أجل الكشف عن وجود الأورام

أما من أجل توظيف قياس الأكسجة النسيجية من أجل الكشف عن وجود الأورام، حُضِرَت التجربة الآتية حيث بُني نموذجان ضوئيان بحيث يحاكي النموذج الأول نسيج ثدي سليم، والنموذج الآخر ليحاكي نسيج ثدي ورمي، ويجب أن تتطابق النماذج البصرية المبنية بخصائصها البصرية للنسيج السليم والنسيج الورمي ويقتضي هذا معرفة الخصائص البصرية لمكونات النماذج بدقة.

• النموذج الضوئي الأول:

بُني النموذج الضوئي ليحاكي نسيج ثدي سليم باستخدام مادة الإنتراليبيد 20% لمحاكاة خصائص التبعثر في النسيج الحي، حيث معامل التبعثر للخلايا السليمة في نسيج الثدي $[30 \text{ mm}^{-1}] \approx [63]$ ، وأهم معامل الامتصاص ضمن النموذج الضوئي واستخدام الماء المقطر كوسط مُحلٍ.

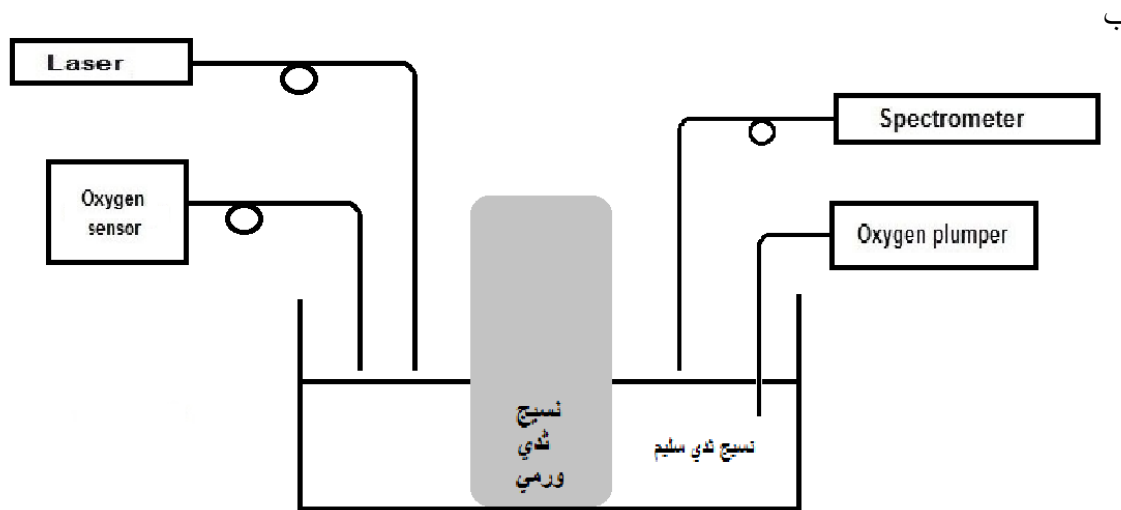
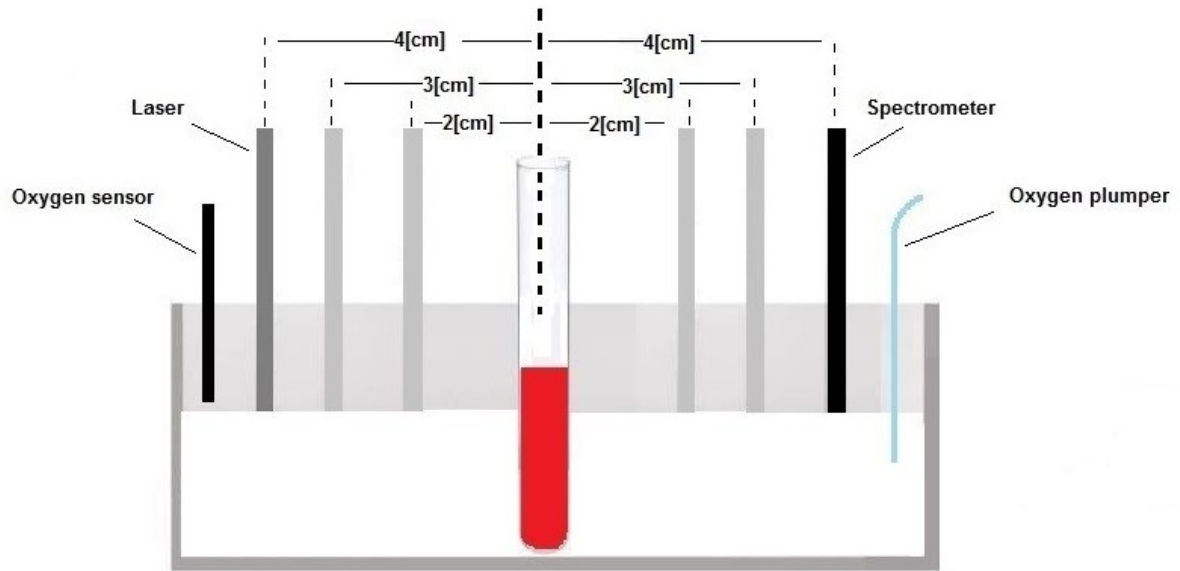
• النموذج الضوئي الثاني:

بُنِيَ النموذج الضوئي ليحاكي نسيج ثدي ورمي باستخدام عينة من الدم لمحاكاة خصائص الامتصاص في النسيج الحي، حيث تم التركيز على التباين في الخصائص الضوئية للنماذج الضوئية المُحضرة المحاكاة للنسيج السليم والنسيج الورمي.

ولم يتم استخدام الدم في تركيب النموذج الضوئي المحاكى للنسيج السليم للتركيز على امتصاص الضوء فقط ضمن النسيج الورمي.

حُضِرَت المنظومة الضوئية التي أُجريت القياسات الضوئية عليها والتي تتكون من وعاء يحوي النموذج الضوئي الذي يحاكي نسيج ثدي سليم، يتوسطه أنبوب يحوي النموذج الضوئي الذي يحاكي نسيج ورمي ومثبت على طرفي الوعاء الليف الضوئي لليزر المستخدم والمطياف الضوئي بحيث يمكن تحريكهما أفقياً؛ لتغيير بُعدهما عن الأنبوب، وثُبت مقياس لغاز الأكسجين بحيث نتمكن من قياس نسبة الأكسجين في النموذج الضوئي المحاكى للنسيج السليم.

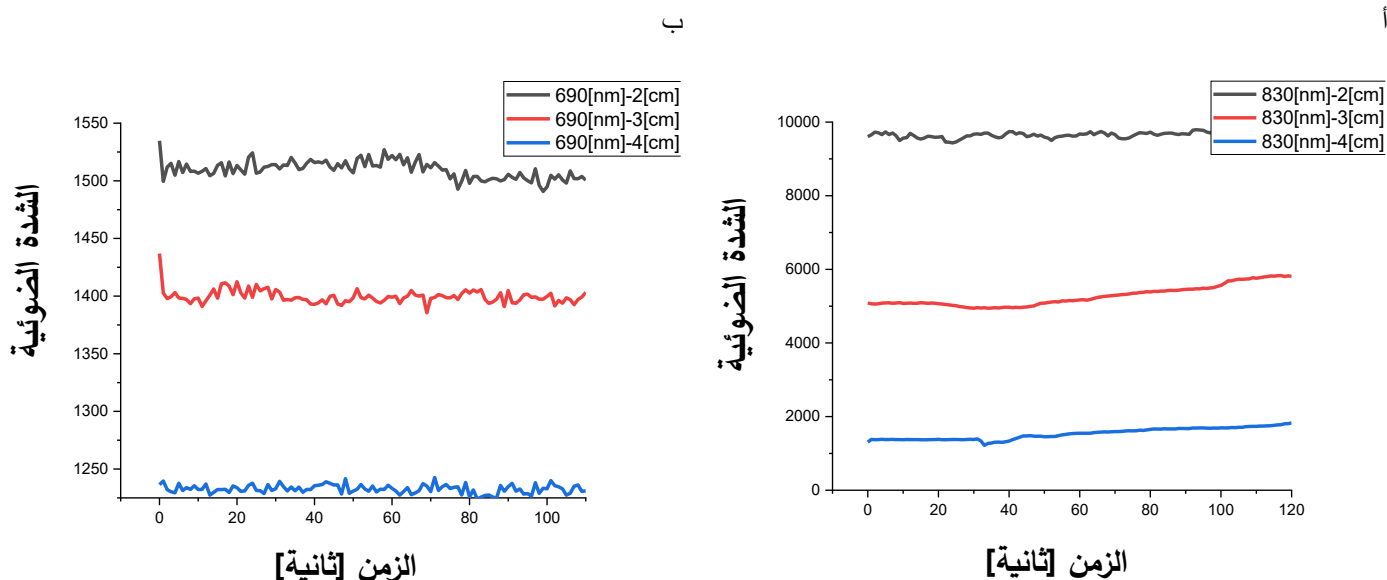
أُجريت القياسات عند ثلاثة مواضع لليزر والمطياف حيث حُرِّكوا معاً عند كل قياس لتغيير البُعد ما بين الليزر والأنبوب، وما بين المطياف والأنبوب؛ حسب الشكل 59، ليكون دائماً الأنبوب ثابتاً بالمنتصف وذلك للحفاظ على شكل المسار الضوئي خلال جميع القياسات.



الشكل 59 (أ) رسم تخطيطي ، (ب) مخطط صندوقي للمنظومة الضوئية المستخدمة لقياس الأكسجة النسيجية.

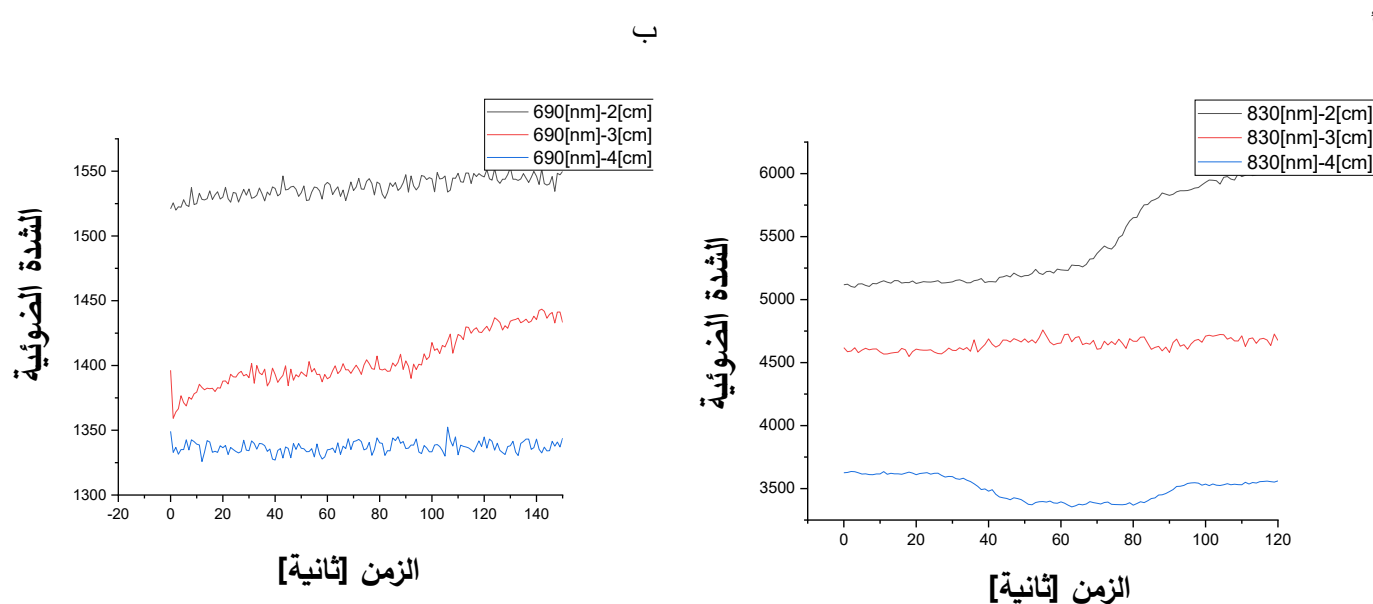
تم التحكم في ضخ الأكسجين ضمن الوعاء الخارجي لتزداد أكسجة النموذج الضوئي المحاكى للنسيج السليم ليبقى النموذج الضوئي داخل الأنبوب ذات أكسجة أقل من النموذج المحيط به; مما يؤمن تغييراً موضعياً للأكسجة، وهذا ما يحاكي وجود كتلة ورمية في نسيج ثدي سليم حيث أنه من أهم التغيرات الكيميائية والفيزيولوجية المرافقة للسرطن انخفاض عال في تركيز الهيموغلوبين [64].

نلاحظ من النتائج قيم الشدة المقاسة بالنسبة للزمن عند مسافات متغيرة من دون وجود الأنبوب:



الشكل 60 قيم الشدة المقيسة بدلالة الزمن عند مسافات متغيرة من دون وجود الأنبوب (أ) عند الطول الموجي $830[nm]$ ، (ب) عند الطول الموجي $690[nm]$.

أما مع وجود الأنبوب:



الشكل 61 قيم الشدة المقيسة بدلالة الزمن عند مسافات متغيرة مع وجود الأنبوب (أ) عند الطول الموجي $830[nm]$ ، (ب) عند الطول الموجي $690[nm]$.

نلاحظ من الشكل 60 والشكل 61 ارتفاع قيم الشدة المقيسة النافذة من العينة كلما قلت المسافة بين الليزر

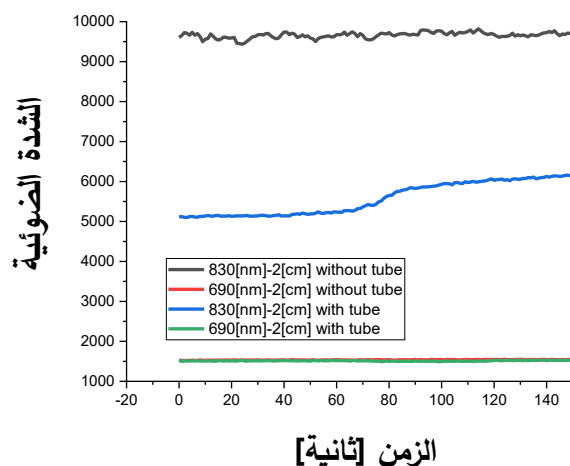
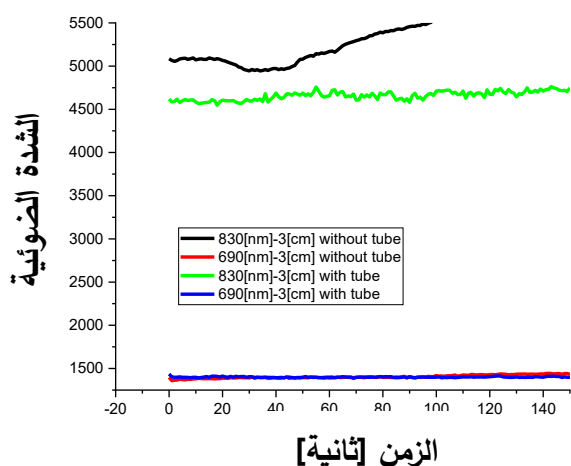
والمطياف الضوئي ونلاحظ أن وجود الأنبوب أدى إلى انخفاض الشدة الضوئية وذلك مقارنة مع القياسات التي لا

تحتوي الأنبوب؛ وذلك بسبب امتصاص الضوء الذي سببه الأنبوب الذي يحوي عينة الدم، وهذا ما نوضحه

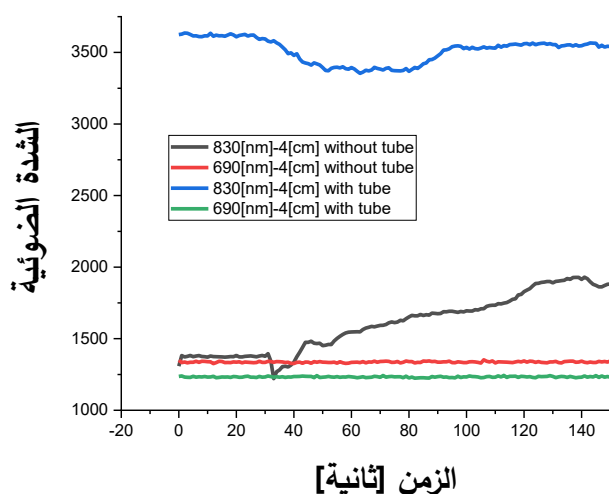
بمقارنة تغيرات الشدة بالزمن عند مسافات ثابتة للمقارنة عند وجود الأنبوب من عدم وجوده.

أما للمقارنة عند تثبيت المسافة ما بين الليزر والمطياف في كل عملية قياس:

ب



ج



الشكل 62 تغيرات الشدة بالنسبة للزمن بوجود الأنبوب ومن دونه (أ) عند مسافة 2[cm]، (ب) عند مسافة 3[cm]، (ج) عند مسافة 4[cm].

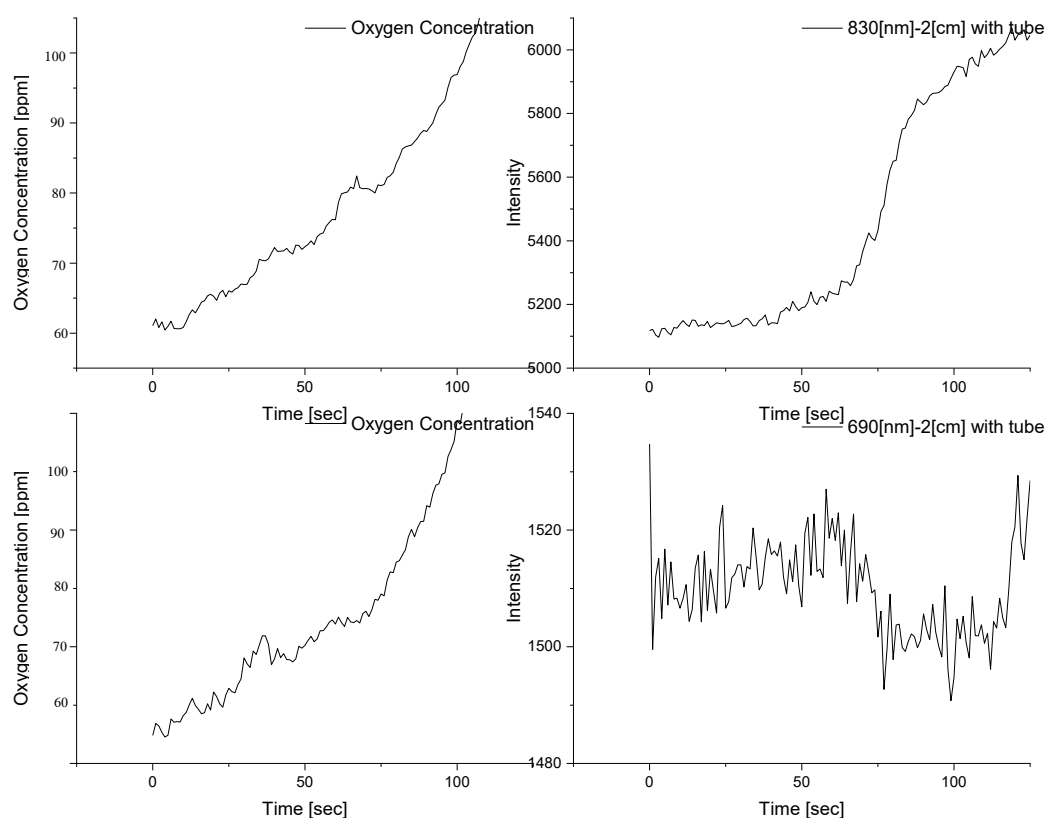
نلاحظ من الشكل 62 أن الشدة الضوئية النافذة من العينة المقاسة عند الطول الموجي 690[nm] أقل من الشدة

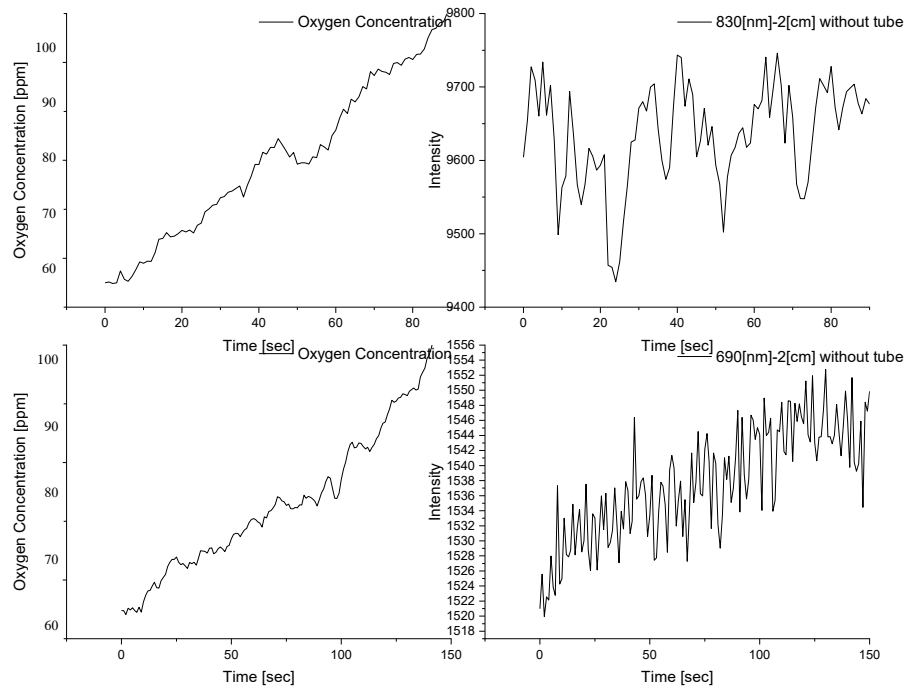
المقاسة عند الطول الموجي 830[nm] وذلك لأن أطراف الامتصاص للهيموغلوبين المؤكسج عند الطول

الموجي 690[nm] أقل منها عند الطول الموجي 830[nm] حسب الشكل 8.

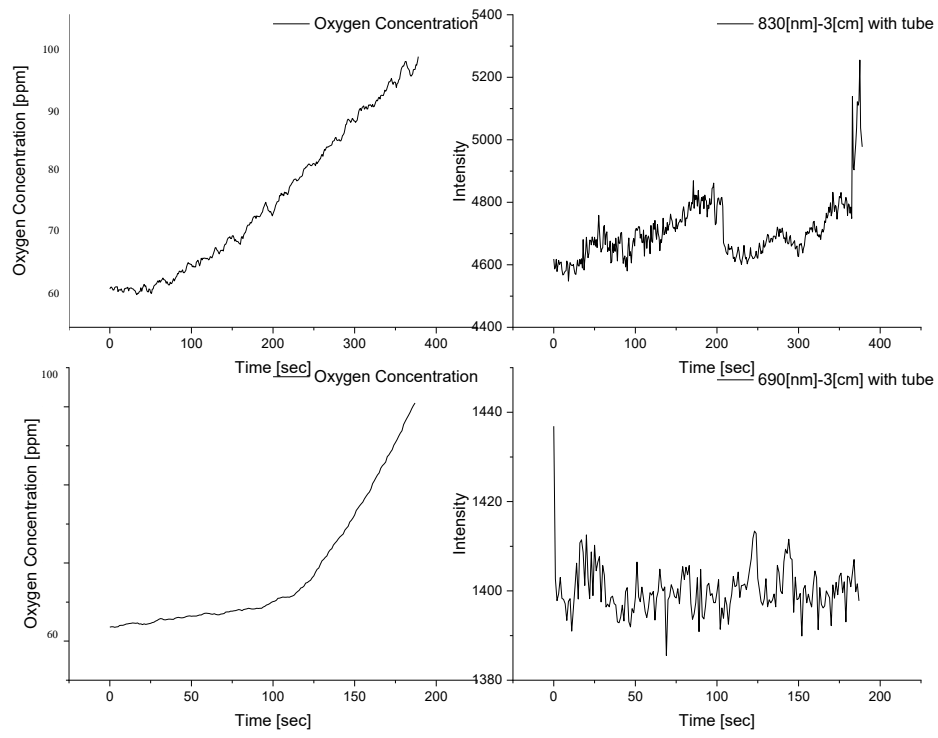
من ثم عند قياس الأكسجين داخل الأنبوب وفي الوعاء المحيط كانت قيمته $60[ppm]$ فتم التحكم بالأكسجين في الوعاء المحيط بزيادته من $60[ppm]$ إلى $100[ppm]$ لتأمين التغير الموضعي في الأكسجة، حيث كانت قيمة $100[ppm]$ هي أعلى قيمة تم التوصل من خلال ضخ الأوكسجين ضمن العينة واعتمدت على أنها القيمة الأعظمية وكذلك $60[ppm]$ كانت القيمة الدنيا، مثلت تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن بيانياً، وقُورنت بتغيرات الأكسجين المقيسة بوساطة مقياس الأكسجين عند كل مسافة.

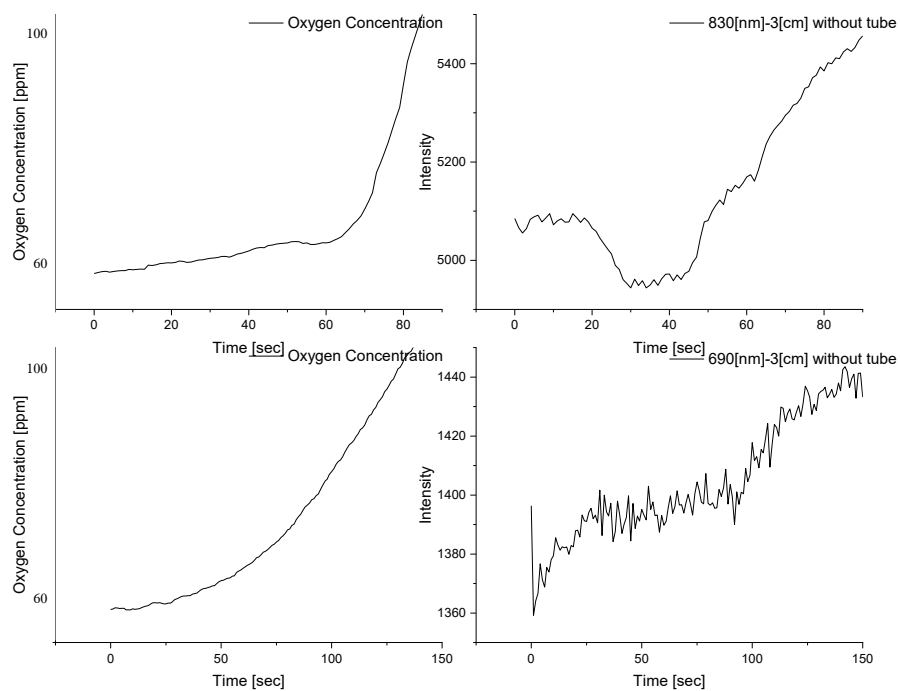
أ



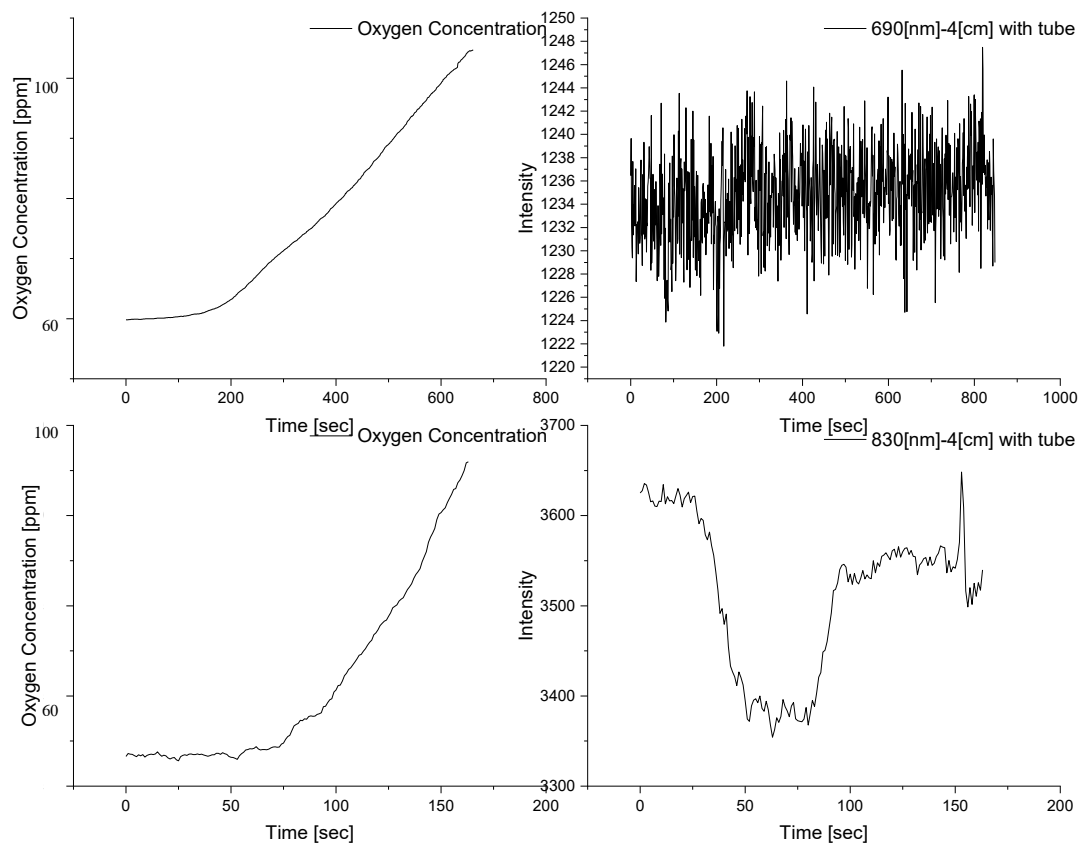


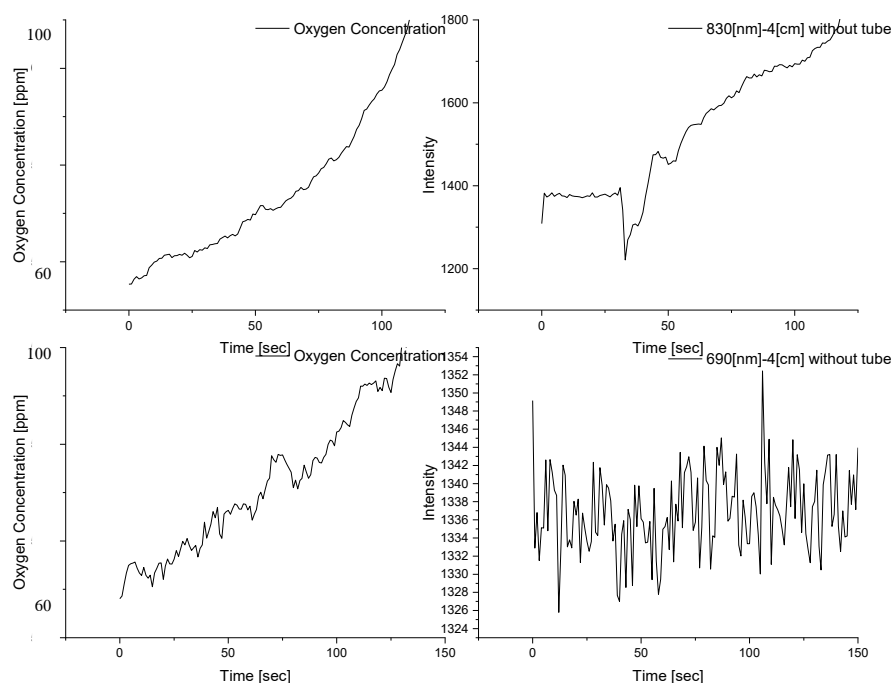
الشكل 63 تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن، ومقارنتها مع تغيرات الأكسجين المقاسة بواسطة مقياس الأكسجين (أ) مع وجود الأنبوب عند 2[cm]، (ب) دون وجود الأنبوب 2[cm].





الشكل 64 تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن، ومقارنتها مع تغيرات الأكسجين المقاسة بواسطة مقياس الأكسجين (أ) مع وجود الأنبوب عند 3[cm]، (ب) دون وجود الأنبوب 3[cm].





الشكل 65 تغيرات الشدة المقاسة مع الزمن، ومقارنتها مع تغيرات الأكسجين المقاسة بواسطة مقياس الأكسجين (أ) مع وجود الأنبوب عند 4[cm]، (ب) دون وجود الأنبوب 4[cm].

نلاحظ من الشكل 65 زيادة الشدة المقاسة مع الزمن بزيادة الأكسجين في أغلب المنحنيات.

ولكن لم نتمكن من المقارنة بين حالة تواجد الأنبوب وحالة عدم تواجده وذلك بسبب تشوه بعض القياسات بسبب:

- طريقة ضخ الأكسجين المستخدمة حيث لم تتوفر مضخة للأكسجين لضخه بشكل منتظم.
- عدم القدرة على إحكام إغلاق الوعاء لتسبب ضخ الأكسجين ببقاعات
- طريقة تثبيت الأجهزة المستخدمة حيث لم تتوفر معدات تثبيت لتثبيتها بشكل دقيق.

بالتالي لم نتمكن من الملاحظة الدقيقة لتغيرات الأوكسجين لإثبات وجود الأنبوب الذي يمثل النسيج الورمي.

الاستنتاجات

إن أهم النتائج التي تم التوصل إليها من خلال البحث:

- يمكن بناء نماذج ضوئية طبية حيوية سائلة يكون الحليب المبستر فيها بتراكيز مدروسة بحيث يحاكي خصائص التبعر للأنسجة الحية.
- يفضل استخدام الحليب المبستر خال الدسم في بناء النماذج الضوئية الطبية الحيوية مقارنة بكامل الدسم.
- أمكن من خلال بناء منظومة ضوئية بسيطة تعتمد على قانون بيير-لامبرت الحصول على تراكيز الهيموغلوبين المؤكسج والهيموغلوبين غير المؤكسج من خلال دراسة نموذج فيزيائي ضوئي يحاكي النسيج.

المقترحات والتوصيات

إن بناء النماذج الفيزيائية الضوئية يتطلب معرفة المواد الداخلة في تركيبها، وذلك لتحديد تراكيزها بحيث تحاكي خواص الأنسجة لتستخدم في العديد من المجالات ك معايرة الأجهزة لتحسين أدائها كأجهزة التصوير المقطعي وأيضاً في تقانات العلاج الديناميكي الضوئي وقياسات الجرعات الإشعاعية، لذلك توجه الباحثون إلى استخدام المواد منخفضة التكلفة، وانطلاقاً من ذلك قمنا بتوصيف الحليب المبستر في المجال القريب من الأشعة تحت الحمراء لاستخدامه كمادة مبعثرة في تركيب النماذج الضوئية الفيزيائية، ولكن لتطوير البحث يجب استخدام عينات الحليب المبستر عند تركيب النماذج الفيزيائية لمدة قصيرة من الزمن للمحافظة على استقرار النماذج المدروسة، وكذلك عدم تغيير دُفعة الحليب المبستر المستخدمة عند إجراء القياس.

كذلك قمنا بقياس الأكسجة النسيجية التي تعد تقانات لا جراحية آمنة وذلك بإعداد منظومة ضوئية بسيطة، وتوظيف الطريقة المتبعة في الكشف عن الأورام، واجهتنا العديد من المشاكل لذلك لتطوير البحث يجب تقاؤها بالتالي يجب:

1. استخدام ضخ منتظم للأكسجين أثناء عملية قياس الأكسجة.
2. استخدام عدد أكبر من الكواشف لدقة أكبر للنتائج.
3. تشغيل الليزرين بالطولين الموجيين معاً أثناء عملية القياس.
4. تثبيت العينة والمقاييس باستخدام معدات تثبيت خاصة لزيادة دقة القياس.

1. Matcher SJ, Kirkpatrick# P, Nahid K, et al (2011) Absolute quantification methods in tissue near infrared spectroscopy. *Med Phys* 2389:2011
2. Hyttel-sorensen S, Sorensen LC, Riera J, Greisen G (2011) Tissue oximetry : a comparison of mean values of regional tissue saturation , reproducibility and dynamic range of four NIRS-instruments on the human forearm. 2:1743–1753
3. Scholkmann F, Scherer-Vrana A (2020) Comparison of two NIRS tissue oximeters (moxo and nimo) for non-invasive assessment of muscle oxygenation and perfusion. *Adv Exp Med Biol* 1232:253–259. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34461-0_32
4. McKeown SR (2014) Defining normoxia, physoxia and hypoxia in tumours - Implications for treatment response. *Br J Radiol* 87:1–12. <https://doi.org/10.1259/bjr.20130676>
5. Fox SI (2011) Human physiology—Textbook
6. Poulos TL (2014) Heme enzyme structure and function. *Chem Rev* 114:3919–3962. <https://doi.org/10.1021/cr400415k>
7. Palumbo G, Pratesi R Lasers and Current Optical Techniques in Biology. *Comprehensive Series in Photochemical & Photobiological Sciences*. 57–60. <https://doi.org/10.1039/9781847551207>
8. Khan R, Gul B, Khan S, et al (2021) Refractive index of biological tissues: Review, measurement techniques, and applications. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 33:102192. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102192>
9. Steyerl A, Malik SS, Iyengar LR (1991) Specular and diffuse reflection and refraction at surfaces. *Phys B Phys Condens Matter* 173:47–64. [https://doi.org/10.1016/0921-4526\(91\)90034-C](https://doi.org/10.1016/0921-4526(91)90034-C)
10. Zee P Van Der (1992) Measurement and Modelling of the Optical Properties of Human Tissue in the near infrared. *Med Phys* 19:1–302
11. Feng S, Zeng F-A, Chance B (1995) Photon migration in the presence of a single defect: a perturbation analysis. *Appl Opt* 34:3826. <https://doi.org/10.1364/ao.34.003826>
12. Tuchin V V. (2015) *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics*, Third Edit
13. Grossweiner LI, Grossweiner JB, Gerald Rogers BH, Jones LR (2005) The science of phototherapy:AN INTRODUCTION. *Sci Phototherapy An Introd* 1–374. <https://doi.org/10.1007/1-4020-2885-7>
14. Bohren CF (1983) Absorption and scattering of light by small particles. *Absorpt Scatt Light by small Part*. <https://doi.org/10.1088/0031-9112/35/3/025>
15. Aernouts B, Van Beers R, Watté R, et al (2015) Effect of ultrasonic homogenization on the Vis/NIR bulk optical properties of milk. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 126:. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.01.004>
16. Gemert A, Van JWJC (1995) Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue. *Opt Response Laser-Irradiated Tissue*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6092-7>
17. Tuchin V V (2017) *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1117/3.2219603>
18. H. W. Siesler, Ozaki Y, Kawata S (2002) NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY. PRINCIPLES, INSTRUMENTS, APPLICATIONS. 636–638
19. Bokobza L (1998) Near infrared spectroscopy. *J Near Infrared Spectrosc* 6:3–17. <https://doi.org/10.1255/jnirs.116>
20. Ferrari M, Quaresima V (2012) Review: Near infrared brain and muscle oximetry: From the discovery to current applications. *J Near Infrared Spectrosc* 20:1–14. <https://doi.org/10.1255/jnirs.973>
21. Ehler M (2010) Principal component model of multispectral data for near real-time skin chromophore mapping. *J Biomed Opt* 15:046007. <https://doi.org/10.1117/1.3463010>
22. Delpy DT, Cope M (1997) Quantification in tissue near-infrared spectroscopy. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 352:649–659. <https://doi.org/10.1098/rstb.1997.0046>

23. Kuenstner JT, Norris KH (1994) Spectrophotometry of Human Hemoglobin in the near Infrared Region from 1000 to 2500 nm. *J Near Infrared Spectrosc* 2:59–65. <https://doi.org/10.1255/jnirs.32>
24. Ferrari M, Mottola L, Quaresima V (2004) Principles, techniques, and limitations of near infrared spectroscopy. *Can J Appl Physiol* 29:463–487. <https://doi.org/10.1139/h04-031>
25. Pogue BW, Patterson MS (2006) Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *J Biomed Opt* 11:041102. <https://doi.org/10.1117/1.2335429>
26. Michels R, Foschum F, Kienle A (2008) Optical properties of fat emulsions. *Opt Express* 16:5907. <https://doi.org/10.1364/oe.16.005907>
27. Shahin A, Bachir W (2017) Broadband spectroscopy for characterization of tissue-like phantom optical properties. *Polish J Med Phys Eng* 23:121–126. <https://doi.org/10.1515/pjmpe-2017-0020>
28. Hartleb C (2005) Creation and Evaluation of Solid Optical Tissue Phantoms for Bio-Medical Optics Applications. Thesis
29. Manahan SE (2001) FUNDAMENTALS OF ANALYTICAL CHEMISTRY
30. Gunther J, Lu H, Andersson-Engels S (2020) Combination of diffuse reflectance and transmittance spectroscopy to obtain optical properties of liquid phantoms. *Opt Eng* 59:1. <https://doi.org/10.1117/1.oe.59.2.024109>
31. Flock ST, Wilson BC, Patterson MS (1989) Monte Carlo Modeling of Light Propagation in Highly Scattering Tissues—II: Comparison with Measurements in Phantoms. *IEEE Trans Biomed Eng* 36:1169–1173. <https://doi.org/10.1109/10.42107>
32. Flock ST, Jacques SL, Wilson BC, et al (1992) Lasers in Surgery and Medicine 12516519 (1992) and Rotterdam Radio-Therapeutic Institute, 3008 AE Rotterdam. 12516519:
33. Lakowicz JR, Berndt K (1990) Frequency-domain measurements of photon migration in tissues. *Chem Phys Lett* 166:246–252. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(90\)80024-8](https://doi.org/10.1016/0009-2614(90)80024-8)
34. Duncan A, Whitlock TL, Cope M, Delpy DT (1888) A multiwavelength, wideband, intensity modulated optical specfrometer for near infrared spectroscopy and imaging. 1888:11–20
35. Fantini S (1995) Frequency-domain multichannel optical detector for noninvasive tissue spectroscopy and oximetry
36. Patterson MS, Pogue BW (1994) Mathematical model for time-resolved and frequency-domain fluorescence spectroscopy in biological tissues. *Appl Opt* 33:1963. <https://doi.org/10.1364/ao.33.001963>
37. Suzuki S, Takasaki S, Ozaki T, Kobayashi Y A Tissue Oxygenation Monitor using NIR Spatially Resolved Spectroscopy. 3597:582–592
38. Mustari A, Nishidate I, Wares MA, et al (2018) Agarose-based tissue mimicking optical phantoms for diffuse reflectance spectroscopy. *J Vis Exp* 2018:. <https://doi.org/10.3791/57578>
39. Ntombela L, Adeleye B, Chetty N (2020) Low-cost fabrication of optical tissue phantoms for use in biomedical imaging. *Heliyon* 6:. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03602>
40. Amidi E, Yang G, Uddin KMS, et al (2019) Low-cost ultrasound and optical gelatin-based phantoms
41. Tomm N, Ahnen L, Isler H, et al (2019) Characterization of the optical properties of color pastes for the design of optical phantoms mimicking biological tissue. *J Biophotonics* 12:. <https://doi.org/10.1002/jbio.201800300>
42. Lai P, Xu X, Wang L V. (2014) Dependence of optical scattering from Intralipid in gelatin-gel based tissue-mimicking phantoms on mixing temperature and time. *J Biomed Opt* 19:. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.19.3.035002>
43. Lepore M, Delfino I (2019) Intralipid-Based Phantoms for the Development of New Optical Diagnostic Techniques. *Open Biotechnol J* 13:. <https://doi.org/10.2174/187407070190130163>
44. Shahin A, El-Daher MS, Bachir W (2018) Determination of the optical properties of intralipid 20% over a broadband spectrum. *Photonics Lett Pol* 10:. <https://doi.org/10.4302/plp.v10i4.843>
45. Stocker S, Foschum F, Krauter P, et al (2017) Broadband Optical Properties of Milk. *Appl Spectrosc* 71:951–962. <https://doi.org/10.1177/0003702816666289>
46. Abildgaard OHA, Kamran F, Dahl AB, et al (2015) Non-invasive assessment of dairy products using spatially resolved diffuse reflectance spectroscopy. *Appl Spectrosc* 69:.

- <https://doi.org/10.1366/14-07529>
47. Kamran F, Andersen PE (2015) Sensitivity analysis for oblique incidence reflectometry using Monte Carlo simulations. *Appl Opt* 54:.. <https://doi.org/10.1364/ao.54.007099>
 48. Nielsen OHA, Subash AA, Nielsen FD, et al (2013) Spectral characterisation of dairy products using photon time-of-flight spectroscopy. *J Near Infrared Spectrosc* 21:.. <https://doi.org/10.1255/jnirs.1075>
 49. Aernouts B, Van Beers R, Watté R, et al (2015) Visible and near-infrared bulk optical properties of raw milk. *J Dairy Sci* 98:.. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9630>
 50. Jain P, Sarma SE (2015) Light scattering and transmission measurement using digital imaging for online analysis of constituents in milk. In: *Optical Measurement Systems for Industrial Inspection IX*
 51. Joy PS, Patrick H (2007) Nirs Tissue Oxygenation Compared To Pulse Oximetry in Critically Ill Patients. *Chest* 132:569A. https://doi.org/10.1378/chest.132.4_meetingabstracts.569
 52. Kyriacou P, Budidha K, Abay TY (2019) Optical techniques for blood and tissue oxygenation. Elsevier
 53. Oda M, Yamashita Y, Nakano T, et al Nearinfrared Time-Resolved Spectroscopy System for Tissue Oxygenation Monitor. 4160:204–210
 54. Kashima S (2003) Spectroscopic measurement of blood volume and its oxygenation in a small volume of tissue using red laser lights and differential calculation between two point detections. *Opt Laser Technol* 35:485–489. [https://doi.org/10.1016/S0030-3992\(03\)00066-5](https://doi.org/10.1016/S0030-3992(03)00066-5)
 55. Kondepati VR, Heise HM, Backhaus J (2008) Recent applications of near-infrared spectroscopy in cancer diagnosis and therapy. *Anal Bioanal Chem* 390:125–139. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1651-y>
 56. Nioka S, Chance B (2005) NIR spectroscopic detection of breast cancer. *Technol Cancer Res Treat* 4:497–512. <https://doi.org/10.1177/153303460500400504>
 57. Cheng X, Mao J, Bush R, et al (2003) Breast cancer detection by mapping hemoglobin concentration and oxygen saturation. *Appl Opt* 42:6412. <https://doi.org/10.1364/ao.42.006412>
 58. Wallon J, Yan SH, Tong J, et al (1994) Identification of breast carcinomatous tissue by near-infrared reflectance spectroscopy. *Appl Spectrosc* 48:190–193. <https://doi.org/10.1366/0003702944028542>
 59. van Staveren HJ, Moes CJM, van Marie J, et al (1991) Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm. *Appl Opt* 30:4507. <https://doi.org/10.1364/ao.30.004507>
 60. Cabassi G, Profaizer M, Marinoni L, et al (2013) Estimation of fat globule size distribution in milk using an inverse light scattering model in the near infrared region. *J Near Infrared Spectrosc* 21:.. <https://doi.org/10.1255/jnirs.1070>
 61. Jacques SL (2013) Optical properties of biological tissues: A review. *Phys. Med. Biol.*
 62. Ninni P Di, Martelli F, Zaccanti G Intralipid : towards a diffusive reference standard for optical tissue phantoms. 21:.. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/2/N01>
 63. Peters VG, Wyman DR, Patterson MS, Frank GL (1990) Optical properties of normal and diseased human breast tissues in the visible and near infrared. *Phys Med Biol* 35:1317–1334. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/35/9/010>
 64. Muz B, de la Puente P, Azab F, Azab AK (2015) The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. *Hypoxia* 83. <https://doi.org/10.2147/hp.s93413>



Syrian Arab Republic

Higher Institute for Laser Research and Applications

Department of Laser Physics and Technology

Tissue Oximetry by Near Infrared Lasers

**A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the
degree Master in Laser Sciences and Applications**

By

Eng. Rewa MHD Ayman Khir

Supervisor

Dr. Sinan Aljalali

2023