

# کمی سازی مشخصه نوری ضریب جذب در طیف جذبی هموگلوبین در اثر شفاف سازی نوری مکانیکی پوست در تکنیک طیف سنجی بازتابی پخشی

## خلاصه

**مقدمه:** طیف سنجی بازتابی پخشی به عنوان یک روش غیر تهاجمی جایگاه و کاربردهای ویژه‌ای در شاخه پزشکی پیدا کرده است که در آن نور با تابشی غیر مخرب وارد بافت بیولوژیکی می شود و در زمان خروج از بافت حاوی اطلاعات ارزشمند طیفی از موضع مورد نظر خواهد بود. در این تحقیق بررسی کمی تغییرات ضریب جذب کلی کروموفور هموگلوبین به عنوان عامل اصلی اکسیژن رسانی در خون و یکی از مهم ترین فاکتورهای خونی نشان دهنده عوامل بیماری زا مورد ارزیابی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** این مقاله به شیوه مطالعه موردی به بررسی رفتار طیفی هموگلوبین و محاسبه مشخصه ضریب جذب در دو حالت غیر شفاف سازی نوری و شفاف سازی نوری بافت پوستی می پردازد. بدین منظور ۵ نمونه مرد داوطلب و با رضایت آگاهانه با شرایط آزمایشگاهی یکسان توسط تکنیک طیف سنجی بازتابی پخشی مورد ارزیابی قرار گرفته اند. آنالیز رفتار طیفی از نمونه‌ها از طریق سه طیف اخذ شده از ناحیه داخلی انگشت دست هر فرد در حالت های بدون شفاف سازی نوری مکانیکی بافت، حالت با شفاف سازی نوری مکانیکی بافت و طیف سنجی بعد از حالت با شفاف سازی انجام شده است.

**یافته‌ها و نتیجه گیری:** با ارزیابی کمی نتایج به دست آمده از تغییرات ضریب جذب و رفتار طیف های مذکور مشخص گردید که مقادیر ضرایب جذب کروموفورهای اکسی و دی اکسی هموگلوبین حاصل از روش طیف سنجی در حالت با شفاف سازی نسبت به حالت بدون شفاف سازی کاهش می یابد و مجدداً با حذف عمل شفاف سازی به حالت قبل از شفاف سازی بازمی گردند. این نتیجه با توجه به مقادیر به دست آمده از طریق محاسبه ضریب جذب کلی طیف از آنجا حائز اهمیت است که می توان روش شفاف سازی نوری مکانیکی را به عنوان روشی برگشت پذیر و امن از نظر حفظ شرایط فیزیولوژیکی بافت در طیف سنجی به منظور کاهش پراکندگی نور درون بافت و کاهش ضخامت بافت پیشنهاد داد.

**واژه های کلیدی:** طیف سنجی بازتابی پخشی، شفاف سازی نوری، کمی سازی، ضریب جذب، هموگلوبین، پوست

پریسا منشاری<sup>۱</sup>  
عزالدین مهاجرانی<sup>۱</sup>  
افشان شیر کوند<sup>۲،۱</sup>  
محمد ضرابی<sup>۳</sup>

۱. پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، ایران

۳. آزمایشگاه تشخیص طبی، سیتولوژی، پاتولوژی گلپا، تهران، ایران

نویسنده مسئول: عزالدین مهاجرانی، تلفن: ۰۲۱۲۹۹۰۲۰۴۰  
پست الکترونیک: e-mohajerani@sbu.ac.ir

## رفتار طیفی هموگلوبین

هموگلوبین یک پروتئین با وزن مولکولی ۶۴۴۵۸ دالتون است و شکل عملکردی آن یک ساختار تترامریک دارد [۴]. این ساختار نتیجه ترکیب چهار زیرواحد به نام گلوبین می باشد و نشان دهنده تعامل دینامیکی بین آن ها است. هر زیرواحد، یک مولکول ارگانیک حلقه گونه به نام «هم» دارد که حاوی یک اتم آهن است. «هم» گروهی است که در ترکیب قابل بازگشت اکسیژن توسط هموگلوبین، میانجی گری می کند. هموگلوبین اکسیژن را از ریه دریافت می کند تا با تشکیل اُکسی هموگلوبین، آن را به بافت ها و اعضای بدن برساند. در واقع هموگلوبین در خون به دو صورت موجود است: دی اکسی هموگلوبین و اُکسی هموگلوبین. هموگلوبین فاقد اکسیژن است و رنگ قرمز تیره مربوط به دی اکسی هموگلوبین می باشد. هموگلوبین متصل به اکسیژن، اُکسی هموگلوبین نامیده می شود که به رنگ قرمز روشن است. حجم بیشتر هموگلوبین در رگ های خونی انسان اُکسی هموگلوبین می باشد. در سرخرگ انسان بالغ بر ۹۰ درصد از هموگلوبین موجود در خون، اکسیژنه می باشد [۴].

بافت پوستی انسان از لایه های مختلفی تشکیل شده است که لایه میانی آن درم نام دارد. در این لایه، رگ های خونی وجود دارند که دربرگیرنده هموگلوبین هستند. هموگلوبین به عنوان جاذب اصلی در ناحیه مرئی طیف به شمار می رود. اُکسی هموگلوبین به عنوان یکی از کروموفورهای اصلی هموگلوبین دارای پیک جذب در طول موج های ۴۲۰، ۵۴۲ و ۵۷۷ نانومتر و دی اکسی هموگلوبین به عنوان جاذب اصلی دیگر در طول موج های ۴۳۰، ۵۵۵ و ۷۶۰ نانومتر جذب کننده نور مرئی هستند [۵]. در شکل ۱ ضرایب خاموشی سایر کروموفورهای موجود در بافت پوستی به ازای طول موج های ناحیه مرئی (۴۵۰ تا ۷۰۰ نانومتر) نشان داده شده است [۶].

از میان این جاذب ها، مت هموگلوبین و سولف هموگلوبین به میزان نرمال در خون یافت می شوند [۶]. مت هموگلوبین نوعی از متالوپروتئین هموگلوبین است که آهن در گروه «هم» در حالت  $Fe^{3+}$  قرار دارد (که این متفاوت با حالت  $Fe^{2+}$  برای هموگلوبین حالت نرمال می باشد). این کروموفور توسط آنزیم معینی به هموگلوبین تبدیل می شود. معمولاً یک تا دو درصد هموگلوبین هر فرد مت هموگلوبین است درصد بالاتر از این میزان می تواند ناشی از عوامل ژنتیکی و یا نشأت گرفته از قرارگیری در معرض مواد شیمیایی مختلف باشد که بسته به سطح آن می تواند بیماری هایی معروف به مت هموگلوبینمیا را به وجود آورد. سولف هموگلوبین با ورود اتم گوگرد به مولکول هموگلوبین تشکیل می گردد. در صورت ترکیب سولفید هیدروژن یا یون های سولفید و یون های  $3$  بار مثبت با خون، اکسیژن رسانی خون دچار اختلال خواهد شد. بیماری های ناشی از افزایش میزان سولف هموگلوبین در خون، سولفاهموگلوبینمی نامیده می شوند. با عنایت به رد پای ناچیز مت هموگلوبین و سولف هموگلوبین در طیف پوستی افراد سالم، این کروموفورها در بررسی ضرایب جذب نقش غالبی ایفا خواهند کرد.

نقش نور و استفاده از ویژگی های آن در سیستم های اپتیکی به منظور تشخیص و درمان بیماری ها طی چند دهه اخیر جایگاه ویژه ای پیدا کرده است. سیستم های اندازه گیری اپتیکی بافت مانند طیفسنجی توسط نور از کاربردهای این سیستم های اپتیکی می باشد. برتری قابل توجه نور در زمینه های تشخیصی، درمانی و نیز انواع تصویربرداری ها از آن جهت که شرایط فیزیولوژیکی بافت را برهم نمی زند و اثرهای مخرب کمتری نسبت به سایر روش ها دارد، پر کاربرد می باشد [۱]. روش طیفسنجی بازتابی پخشی که اساس آن بازتاب های پیاپی درون بافت است، روشی کاملاً غیرتهاجمی و آسان در اجرا می باشد. با وجود مزیت های ذکر شده، استفاده از نور در روش های درمانی محدودیت هایی نیز دارد. این محدودیت ها ناشی از تضعیف شدت نور درون بافت می باشد. خون، آب و دیگر کروموفورها از عوامل پراکننده و جاذب نور درون بافت به شمار می آیند. شفاف سازی نوری مکانیکی بافت به عنوان تکنیکی مؤثر در راستای افزایش تأثیر نور در بافت از طریق کاهش عوامل پراکنندگی نور، افزایش جذب نور توسط ترکیبات بافت و کاهش تأثیر عوامل مداخله کننده به شمار می رود [۲].

هدف از این مطالعه، بررسی رفتار طیف جذبی کروموفور هموگلوبین موجود در بافت پوستی در تکنیک طیفسنجی بازتابی پخشی به روش شفاف سازی نوری مکانیکی می باشد. بر این اساس، تغییر رفتار و برگشت پذیری طیف جذبی هموگلوبین قبل و بعد از شفاف سازی نوری مورد بررسی قرار می گیرد.

## روش بررسی

## مکانیسم طیفسنجی بازتابی پخشی

اساس طیفسنجی بر پایه جذب نور توسط اجزای تشکیل دهنده محیط در طول موج های متفاوت می باشد. در طیفسنجی بازتابی پخشی، مطالعه فوتون های بازتابی به صورت پخشی مطرح است نه بازتاب آینه ای از سطح. در حالت آینه ای، بازتاب از یک سطح کاملاً صاف، آینه ای و بدون خلل و فرج اتفاق می افتد که در آن قوانین اسنل و معادلات فرسنتل صادق هستند [۳].

بازتاب پخشی حالتی است که نور درون محیط مورد نظر منتشر می شود و در توزیع نور زاویه بازتاب شده مستقل از زاویه نور فرودی است. در حالت بازتابی پخشی، نور در حین انتشار درون بافت به اجزای پراکننده برخورد می کند و دچار پراکندگی های متوالی می گردد و در نهایت از بافت خارج می شود. نور خارج شده از بافت حاوی اطلاعات ارزشمند طیفی می باشد که اغلب اطلاعات بیولوژیکی و بیوشیمی بافت را نیز دربردارد [۲].

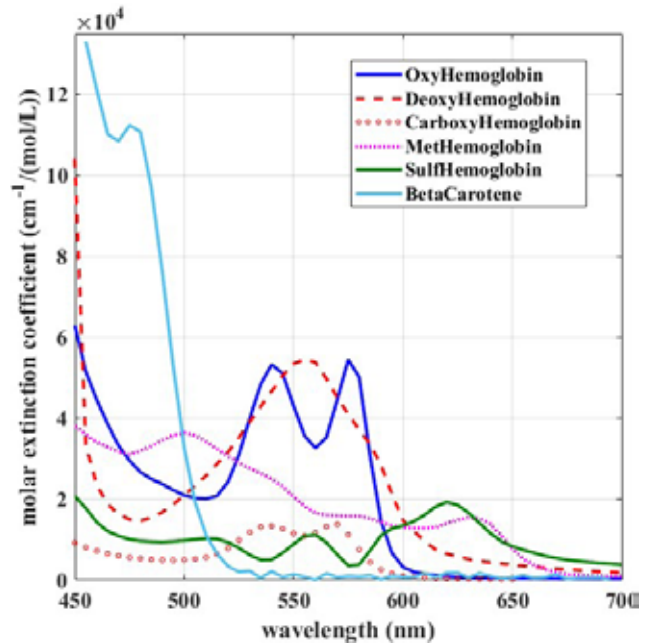
در این نوع بازتاب، میزان راهی که نور بازتابی پخشی طی می کند به اجزای سازنده بافت وابسته است. در واقع طیف حاصل از این نوع بازتاب حاوی اطلاعات اپتیکی بافت و اجزای سازنده آن می باشد.

پژوهش طیف‌سنجی نوری که تکنیکی کاملاً غیرتهاجمی و غیرمخرب بوده و در ناحیه طول موجی ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر که ناحیه‌ای امن می‌باشد شرکت کرده‌اند.

به‌منظور یافتن بهترین نقطه طیف‌گیری، نواحی مختلفی از دست افراد مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت. از طریق مقایسه طیف‌های جذبی هموگلوبین در نواحی مختلف دست، ناحیه داخلی بند اول انگشت سوم به عنوان بهترین موضع برای طیف‌سنجی تعیین گردید. این موضوع به‌همراه عمق نفوذ نور مرئی در لایه‌های مختلف پوست در شکل ۲ نشان داده شده است.

بدین‌منظور از ناحیه مورد نظر دست راست هریک از افراد مورد آزمایش، در چیدمان بازتابی پخشی و در سه مرحله، فرآیند طیف‌گیری انجام شده است. ابتدا از موضع مورد نظر یک طیف در حالت نرمال (بدون شفاف‌سازی نوری مکانیکی) و یک طیف در حالت شفاف‌سازی نوری مکانیکی با نیرویی در حدود ۳۰۰ نیوتون ثبت گردیده است. سپس بعد از گذشت پنج ثانیه مجدداً از همان موضع برای بار دوم طیف‌سنجی در حالت نرمال (بدون شفاف‌سازی نوری بافت) صورت گرفته است. به‌منظور افزایش قابلیت اطمینان، هریک از طیف‌گیری‌های مذکور برای هر فرد سه مرتبه تکرار شده است و طیف میانگین حاصل در ارزیابی نهایی لحاظ شده است.

در ادامه، از طریق محاسبه ضرایب جذب کروموفورهای اکسی و دی‌اکسی‌هموگلوبین برای محاسبه ضرایب جذب کلی در هر سه حالت یادشده (نرمال بار اول، شفاف‌سازی و نرمال بار دوم) و مقایسه آن با



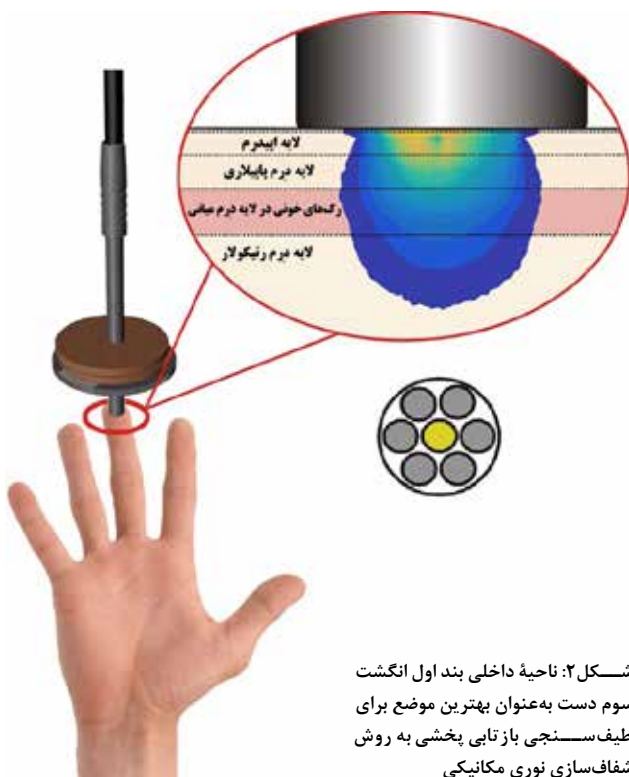
شکل ۱: ضرایب خاموشی کروموفورهای بافت پوستی انسان

### شفاف‌سازی نوری مکانیکی بافت

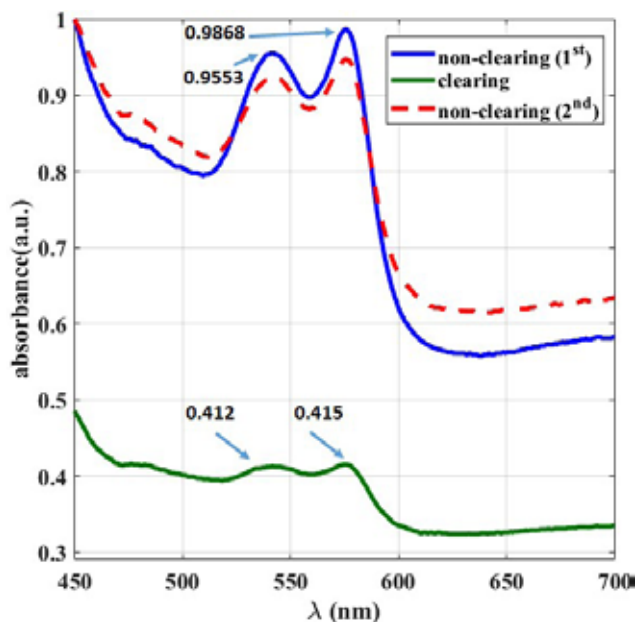
شفاف‌سازی نوری بافت روشی است که سبب کاهش پراکندگی و شفافیت بیشتر بافت می‌شود [۷]. شفاف‌سازی نوری بافت به روش شیمیایی و مکانیکی انجام می‌پذیرد. در شفاف‌سازی نوری مکانیکی، با استفاده از اعمال فشار به بافت، ویژگی‌های اپتیکی بافت دچار تغییر می‌شوند [۸]. به‌دلیل نیروی مکانیکی خارجی اعمال شده به موضع، مایعات درون بافتی دچار جابه‌جایی می‌گردند و شفاف‌سازی در محل ایجاد می‌شود. این فرآیند سبب افزایش نفوذ نور به داخل بافت، کاهش ضخامت بافت، کاهش عوامل تداخل‌کننده و در نتیجه افزایش جذب نور توسط برخی از کروموفورهای بافتی می‌گردد [۹].

تکنیک طیف‌سنجی بر پایه جذب نور توسط اجزای تشکیل‌دهنده محیط استوار است. به‌دست آوردن طیف جذبی پوست انسان کار دشوار و پیچیده‌ای است. به‌همین دلیل روش طیف‌سنجی بازتابی پخشی جایگزین مناسبی برای به‌دست آوردن اطلاعات طیفی بافت پوستی می‌باشد [۱۰]. روش طیف‌سنجی بازتابی از آن جهت مورد توجه است که روشی کاملاً غیرتهاجمی می‌باشد و در عین حال رفتار طیفی بافت را دربر دارد.

در این مقاله به‌شیوه مطالعه موردی از دستگاه اسپکترومتر مدل (Ocean Optics, Inc. USA) USB2000 و لامپ هالوژن تنگستن با ناحیه طول موجی ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر استفاده شده است. با هدف مطالعه رفتار طیفی از ۵ نمونه مرد با شرایط آزمایشگاهی یکسان استفاده شده است. افراد مورد آزمایش کاملاً نمونه خون آزمایش‌ها را داوطلبانه اهدا نمودند و با رضایت آگاهانه از روش انجام آزمایش‌ها در این



شکل ۲: ناحیه داخلی بند اول انگشت سوم دست به‌عنوان بهترین موضع برای طیف‌سنجی بازتابی پخشی به روش شفاف‌سازی نوری مکانیکی



شکل ۳: طیف جذب پوست یکی از نمونه‌ها در سه حالت: (الف) مرحله اول بدون شفاف سازی (خطوط پیوسته آبی‌رنگ)، (ب) با شفاف‌سازی نوری (خطوط پیوسته سبزرنگ)، (ج) مرحله دوم بدون شفاف‌سازی (خط چین قرمز رنگ)

در این پژوهش، با داشتن ضرایب خاموشی کروموفورهای موجود در بافت پوستی اعم از بیلیروبین، ملانین، اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین که در شکل ۱ نشان داده شده است، ضرایب جذب اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین در ۳ حالت نرمال بار اول، شفاف‌سازی نوری (غیرتهاجمی)، نرمال بار دوم، به‌کمک نرم‌افزار متلب و معادلات ذکرشده در مراجع [۲] و [۱۱] محاسبه و در جدول ۱ گزارش شده است.

در شکل ۴ ضرایب جذب کلی حاصل از طیف‌سنجی بازتابی پخشی در دو حالت نرمال مرحله اول (خطوط پیوسته آبی‌رنگ) و نرمال مرحله دوم (خطوط پیوسته سبزرنگ)، در مقایسه با ضرایب جذب کلی محاسبه‌شده به‌ازای ضرایب مذکور در جدول ۱ (منحنی‌های خط‌چین)

جدول ۱: ضرایب جذب کروموفورهای اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین در سه حالت: مرحله اول بدون شفاف‌سازی، با شفاف‌سازی، مرحله دوم بدون شفاف‌سازی

شماره نمونه	مرحله اول بدون شفاف‌سازی	حالت با شفاف‌سازی	مرحله دوم بدون شفاف‌سازی
۱	OHE=0.038 DHE=0.010	OHE=0.007 DHE=0.002	OHE=0.0036 DHE=0.007
۲	OHE=0.053 DHE=0.014	OHE=0.015 DHE=0.004	OHE=0.042 DHE=0.01
۳	OHE=0.075 DHE=0.048	OHE=0.033 DHE=0.028	OHE=0.059 DHE=0.039
۴	OHE=0.095 DHE=0.058	OHE=0.016 DHE=0.004	OHE=0.077 DHE=0.035
۵	OHE=0.03 DHE=0.01	OHE=0.013 DHE=0.006	OHE=0.022 DHE=0.01

ضرایب جذب کلی طیف اصلی، برگشت‌پذیر بودن طیف هموگلوبین به روش دوم مورد بررسی قرار گرفته است.

ضریب جذب کلی بافت پوستی از مجموع سهم هریک از کروموفورها و طبق رابطه (۱) محاسبه می‌شود [۱۱ و ۱۲].

$$\mu_a(\lambda)_{skin} = \sum_n f_n \mu_a(\lambda)_n \quad (1)$$

در رابطه فوق،  $\lambda$  طول موج می‌باشد که در این پژوهش با توجه به طیف گیری از بافت پوستی زنده انسان و حفظ سلامت افراد، بازه‌ای در ناحیه مرئی انتخاب شده است.  $\mu_a(\lambda)_{skin}$  ضریب جذبی کلی پوست و  $n$  تعداد کروموفورها می‌باشد که با توجه به نوع بافت و شرایط نمونه‌های مورد بررسی انتخاب می‌شوند. در این مطالعه با توجه به انتخاب افراد سالم و طیف‌سنجی از بافت پوستی، کروموفورهای نشان‌داده‌شده در شکل ۱ مورد استفاده قرار گرفته‌اند.  $f_n$  سهم هر کروموفور در ضریب جذب کلی و  $\mu_n(\lambda)$  ضرایب خاموشی هریک از کروموفورها می‌باشند.

## یافته‌ها

در شکل ۳ رفتار طیفی کروموفور هموگلوبین یکی از نمونه‌ها در حالت‌های بدون شفاف‌سازی نوری مکانیکی (مرحله اول - خطوط پیوسته آبی‌رنگ)، شفاف‌سازی نوری مکانیکی (خطوط پیوسته سبزرنگ) و حالت بدون شفاف‌سازی نوری مکانیکی بار دوم (مرحله دوم - خط چین قرمز رنگ) نشان داده شده است.

در طیف‌های جذب نشان‌داده‌شده در شکل ۳، در مرحله اول طیف‌گیری حالت نرمال (بدون شفاف‌سازی نوری مکانیکی - خطوط پیوسته آبی رنگ)، دو پیک هموگلوبین در طول موج‌های حدود ۵۴۰ و ۵۷۵ نانومتر قابل مشاهده می‌باشند. در حالت شفاف‌سازی نوری، هموگلوبین به‌همراه آب میان‌بافتی بر اثر اعمال نیرو کنار می‌رود و پیک‌های جذب در طول موج‌های مذکور محو می‌شوند. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، دامنه پیک‌های طیف جذب در حالت با شفاف‌سازی نسبت به حالت نرمال در حدود ۴۰ درصد کاهش یافته است.

طیف خط‌چین در شکل ۳ مربوط به حالت بدون شفاف‌سازی نوری مکانیکی مرحله دوم می‌باشد. این طیف با فاصله زمانی بسیار کوتاه در حدود پنج ثانیه بعد از حذف نیروی اعمالی بر روی موضع ثبت شده است. با توجه به شباهت رفتار طیفی هموگلوبین در مراحل قبل و بعد از شفاف‌سازی، برگشت‌پذیر بودن طیف هموگلوبین در طیف‌سنجی بازتابی پخشی به روش شفاف‌سازی نوری مکانیکی به وضوح استنتاج می‌شود.

هر ماده یک ضریب اپتیکی به‌نام ضریب خاموشی دارد که بیانگر میزان جذب نور در نقاط جذب ماده می‌باشد. ضریب خاموشی برای هر ماده منحصر به فرد است و اصطلاحاً اثر انگشت آن ماده نامیده می‌شود [۶].

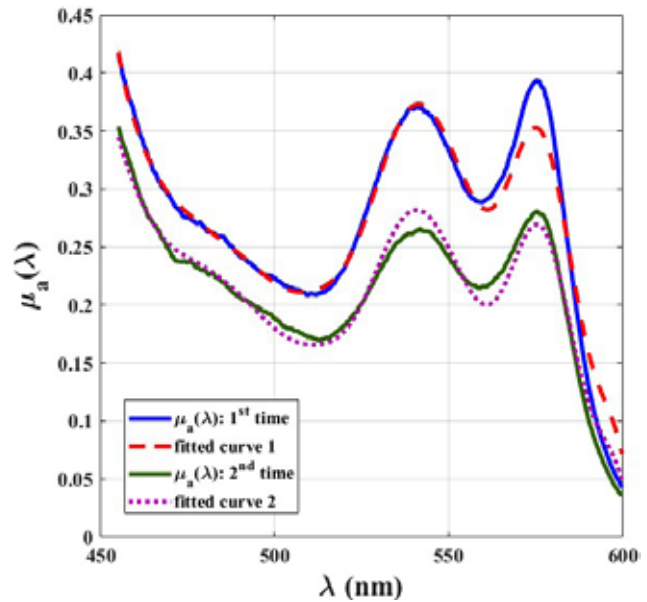
برگشت پذیری رفتار طیفی هموگلوبین از طریق محاسبه ضرایب جذب اکسی هموگلوبین و دی اکسی هموگلوبین نیز مورد بررسی و صحت سنجی کمی نیز قرار گرفت. ضرایب جذب کلی حاصل از طیف سنجی بازتابی پخششی در دو حالت نرمال قبل و بعد از شفاف سازی با استفاده از رابطه (۱) و ضرایب جذب ذکر شده در جدول ۱، محاسبه شد و از مقایسه آن با ضرایب جذب کلی طیف اصلی در شکل ۴، دقت ضرایب جذب گزارش شده در جدول ۱ مورد تأیید قرار گرفت.

از مقایسه مقادیر ضرایب جذب به دست آمده در جدول ۱ برای سه حالت طیف سنجی، این نتیجه حاصل می شود که ضرایب جذب در حالت شفاف سازی شده کمتر از حالت نرمال می باشند که این مسئله ناشی از کاهش ردپای هموگلوبین در اثر اعمال نیرو، کنار رفتن رنگدانه های محلول در آب میان بافتی و نیز کاهش ضخامت بافت می باشد. علاوه بر این از نزدیکی ضرایب جذب حالت های نرمال مرحله اول و مرحله دوم، برگشت پذیری رفتار طیفی هموگلوبین با حفظ ویژگی های بیولوژیکی بافت در روش غیر تهاجمی طیف سنجی بازتابی پخششی با شفاف سازی نوری مکانیکی استنتاج می شود.

در این پژوهش علی رغم اینکه مطالعه به صورت موردی به بررسی کمی تغییرات ضریب جذب و نیز بررسی رفتار طیف جذب ظاهری کروموفور هموگلوبین در بافت پوستی پرداخته شده است، ولیکن با استناد به نتایج محاسبات ضریب جذب قبل و بعد از فرآیند شفاف سازی نوری و نیز با افزایش جامعه آماری و همچنین استخراج میزان غلظت هموگلوبین از روی ضرایب جذب کروموفورهای پوستی، می توان طیف سنجی بازتابی پخششی را به عنوان یک تکنیک غیر تهاجمی، غیر مخرب و مکمل برای روش های ارزیابی کمی هموگلوبین خون به ویژه در نوزادان و افراد کم توان پیشنهاد داد.

### تشکر و قدردانی

از راهنمایی های جناب آقای دکتر حامد نعمتیان در راستای پیشبرد اهداف این تحقیق سپاسگزاری می گردد.



شکل ۴: ضرایب جذب کلی حاصل از طیف سنجی بازتابی پخششی در دو حالت طیف سنجی نرمال مرحله اول و طیف سنجی نرمال مرحله دوم در مقایسه با ضرایب جذب کلی محاسبه شده از طریق مقادیر گزارش شده در جدول ۱

نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، ضرایب جذب کلی محاسبه شده با دقت بسیار بالایی (در حدود ۹۵ درصد) با ضرایب جذب کلی طیف های اصلی تطابق دارند.

### نتیجه گیری

در این پژوهش با رویکرد بررسی کمی تغییرات ضریب جذب کروموفور هموگلوبین به عنوان یک کروموفور حیاتی و نیز پیشنهاد یک روش غیر تهاجمی برای ارزیابی هموگلوبین در شرایط نبض نرمال و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بدن انسان، تغییرات رفتاری طیف جذبی این کروموفور در اثر شفاف سازی نوری مکانیکی در روش طیف سنجی بازتابی پخششی، به دو شیوه مقایسه طیف های جذبی و محاسبه ضرایب جذب مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور در هر دو شیوه، تغییرات رفتاری طیف جذبی هموگلوبین به ازای ۳ حالت بدون شفاف سازی بار اول، شفاف سازی نوری مکانیکی و بدون شفاف سازی بار دوم با فاصله بسیار کوتاه در حد ۵ ثانیه از حالت شفاف سازی مورد بررسی قرار گرفت.

همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، در طیف سنجی بازتابی پخششی پیک های جذب هموگلوبین در طول موج های ۵۴۰ و ۵۷۵ نانومتر به خوبی قابل مشاهده می باشند. پیک های مذکور در اثر شفاف سازی نوری مکانیکی در حدود ۴۰ درصد کاهش یافتند که این امر به دلیل کنار رفتن هموگلوبین به واسطه اعمال نیرو رخ می دهد. همچنین در این شکل، برگشت پذیری رفتار طیفی هموگلوبین از نظر ظاهری از مقایسه حالت های نرمال قبل و بعد از شفاف سازی نوری مکانیکی به خوبی قابل مشاهده می باشد.

## References:

1. Zonios GI. Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Colon Tissue, Massachusetts Institute of Technology, University of Ioannia 1990.
2. Cheong WF, Prah SA, Welch AJ. A review of the optical properties of biological tissues, IEEE journal of quantum electronics 1990; 26(12): 2166-85.
3. Karakas BR, Sircan-Kucuksayan A, Elpek OG, Canpolat M. Investigating viability of intestine using spectroscopy: a pilot study, J. Surg. Res 2014; 191: 91–8.
4. Suresh Anand BS, Sujatha N. Quantification of tissue oxygenation levels using diffuse reflectance spectroscopy, Tenth International Conference on Fiber Optics and Photonics 2011; 8173: 817308-1.
5. Chandra J, Lekha TR, Saravana KC. NIR Spectroscopic Algorithm Development for Glucose Detection, ICII ECS 2015.
6. Original data source available from webpage: <http://www.npsg.uwaterloo.ca/data.php>
7. Rylander ChG. Mechanical tissue optical clearing devices enhancement of light penetration in Ex-Vivo porcine skin and adipose tissue, Lasers in surgery and medicine 2008; 40(10): 688-94.
8. Tuchin VV, Wang RK, Yeh AT. Optical clearing of tissues and cells, Journal of biomedical optics 2008, 13(2): 021101.
9. Zhu D. Recent progress in tissue optical clearing, Laser & photonics reviews 2013; 7(5): 732-57.
10. Sujatha N. Assessment of Microcirculatory Hemoglobin Levels in Normal and Diabetic Subjects using Diffuse Reflectance Spectroscopy in the Visible Region, Journal of applied spectroscopy 2015; 82(3): 423-8.
11. Zonios G, Dimou A. Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties, Optics express 2006; 14(19): 8661-74.