

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОАБЛЯЦИИ КОЖИ *IN VIVO* НА
ЕЁ ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРИ ИММЕРСИОННОМ
ПРОСВЕТЛЕНИИ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 434 группы направления 03.03.02 «Физика» профиль
«Физика живых систем» физического факультета
Ксенофонтовой Наталии Сергеевны

Научный руководитель
доцент, к. ф.-м.н. _____

_____ Э. А. Генина

Заведующий кафедрой
профессор, д.ф.-.м.н _____

_____ В. В. Тучин

Саратов 2016 год

Введение

В данной работе рассматривается влияние микроабляции кожи *in vivo* на её оптические свойства при иммерсионном просветлении. Сложный характер взаимодействия оптического излучения с биологическими тканями обусловлен их оптической неоднородностью, вызывающей сильное рассеяние излучения видимого и ближнего инфракрасного (ИК) спектральных диапазонов, что значительно ограничивает пространственное разрешение и глубину детектирования многих оптических методов. Управление оптическими характеристиками биотканей, наряду с развитием методов оптической томографии, является одним из перспективных путей решения данной проблемы [1].

Одна из основных проблем применения оптических методов в медицине связана со сложным характером переноса оптического излучения – его значительным перераспределением по угловым координатам и существенным ослаблением коллимированных пучков при прохождении через поверхностные слои биотканей, примером которых являются кожа [1].

Кожа имеет сложную неоднородную структуру, которая приводит к сильному светорассеянию, что ограничивает применимость оптических методов для диагностики и лечения различных заболеваний. Однако диффузия иммерсионных агентов в кожу затруднена за счет существования эпидермального барьера. Для решения этой задачи может быть использована фракционная лазерная микроабляция эпидермиса. В литературе [2, 3] представлены результаты использования данного метода с целью улучшения проницаемости кожи для различных лекарственных препаратов. Однако влияние микроабляции на эффективность оптического просветления кожи исследовано недостаточно.

Целью данной работы является исследование влияния микроабляции кожи *in vivo* на её оптические свойства при иммерсионном просветлении.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- исследовать иммерсионное просветление кожи без абляции.
- исследовать иммерсионное просветление кожи с предварительной абляцией верхнего слоя эпидермиса.
- провести сравнительный анализ двух методик просветления кожи.

Работа состоит из двух частей. В первой части рассматривается теоретический материал для данной работы. Один из разделов посвящён строению кожи, ее оптическим свойствам и оптическому просветлению. В следующем разделе рассматриваются методы увеличения проницаемости кожи для оптических и иммерсионных агентов. Во второй части описываются проведённые в рамках данной работы *in vivo* эксперименты с лазерной микроабляцией поверхностного слоя эпидермиса и оптическим иммерсионным просветлением кожи.

Выпускная квалификационная работа содержит 42 страниц машинописного текста, 5 таблиц и иллюстрирована 19 рисунками, а также списка использованной литературы из 42 наименований. Общий объем работы 47 страниц.

Основное содержание работы

В первой части выпускной квалификационной работы рассматривается теоретический материал по данной тематике.

В первом разделе рассматривается строение кожи и ее оптические свойства.

Управление оптическими характеристиками биотканей является одним из перспективных путей решения проблемы, связанной со сложным характером переноса оптического излучения и его значительным перераспределением по угловым координатам и существенным ослаблением

коллимированных пучков при прохождении через поверхностные слои биотканей [4].

Во втором разделе описываются методы увеличения проницаемости кожи для оптических и иммерсионных агентов.

Проницаемость кожи для препаратов, содержащих иммерсионные агенты, может быть повышена как химическими методами, например, добавлением в раствор иммерсионного агента усилителей диффузии (этанол, диметилсульфоксид и др.) [5] так и с помощью физических воздействий, например, УФ-излучения [6], гипертермии [7], ионофореза [8], дермапорации [9], ультрафонофореза [10] и др. При этом сочетание различных физических или физико-химических подходов способствует более эффективному проникновению иммерсионных агентов через кожный барьер [11].

Фракционный режим был разработан в качестве альтернативы к обычному абляционному лазеру, который предназначен свести к минимуму побочные эффекты с более быстрым заживлением ткани. Особенностью работы фракционного лазера является создание в коже микроканалов определённой глубины, не повреждая окружающую ткань, в отличие от абляционного режима, который удаляет весь поверхностных слой на определённом участке кожи. Основным преимуществом фракционного лазера является то, что изменяя энергию лазерного излучения и подбирая определённую насадку, можно регулировать глубину и форму каналов. Агенты, которые проникают в более глубокие слои, могут диффундировать в окружающие ткани с боковых стенок каналов. Это может приводить к более эффективной доставке лекарственных средств.

Во второй части работы представлена экспериментальная часть.

В качестве источника излучения использовался эрбиевый лазер Palomar Lux2940 со следующими параметрами: длина волны 2940 нм, одиночный импульс с энергией импульсов 1 Дж, длительность импульса 5 мс, длительность пичка 200 мкс. При проведении экспериментов использовался

режим: абляция верхнего слоя кожи с глубиной поврежденной области менее 100 мкм.

Исследования выполнялись на 15 лабораторных крысах-альбиносах *in vivo*, которые были разделены на 3 группы (по 5 животных в каждой группе). Каждая группа животных обрабатывалась по-разному (см. табл. 1). Мониторинг оптического просветления проводился с помощью оптической когерентной томографии. Для визуализации кожи использовался спектральный оптический когерентный томограф Thorlabs OCP930SR со следующими параметрами: центральная длина волны излучения 930 нм, продольное разрешение 6.2 мкм, поперечное разрешение 9.6 мкм. Томограмма обрабатываемого участка снималась до абляции и сразу после абляции и нанесения ПЭГ300 через каждые 5 минут. Продолжительность измерений составляла 1.5-2 часа.

Таблица 1 Разделение исследуемых методов по группам

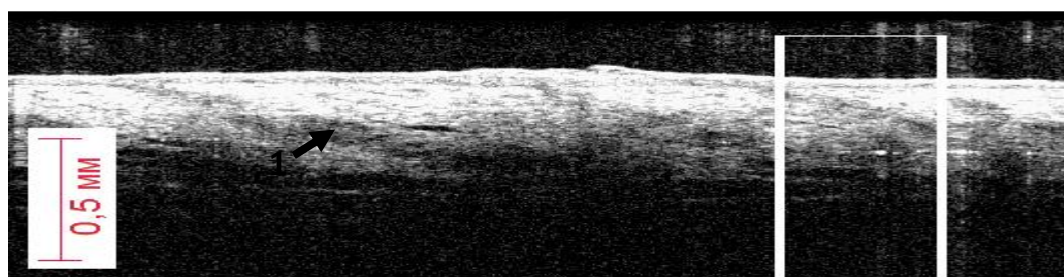
№ группы	ФЛМА	ПЭГ300
1	+	
2		+
3	+	+

На основании анализа томограмм в каждый момент времени определялась оптическая глубина детектирования на трёх участках в зоне абляции. Полученные данные усреднялись для всех животных в группе. Рассчитывалось среднеквадратичное отклонение.

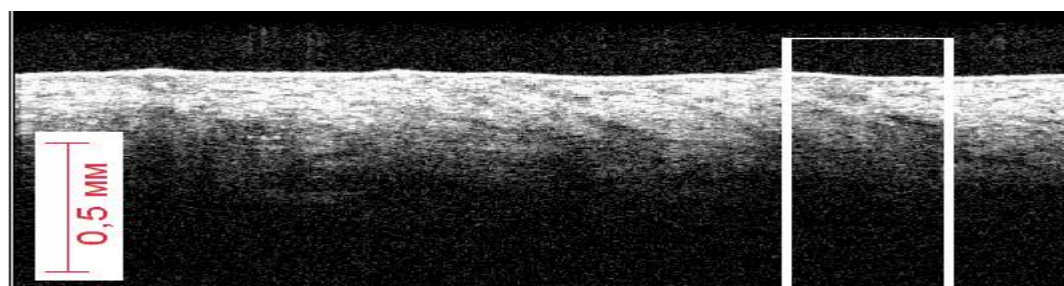
На рисунке 2 показаны томограммы кожи крысы из 1 группы до воздействия, через 1 час и 2 часа после абляции.

В начальный момент времени глубина детектирования составляла 520 мкм, а через час 468 мкм. Глубина уменьшилась (рис.2 б) потому что, наблюдался небольшой отёк в области абляции за счет диффузии лимфы и

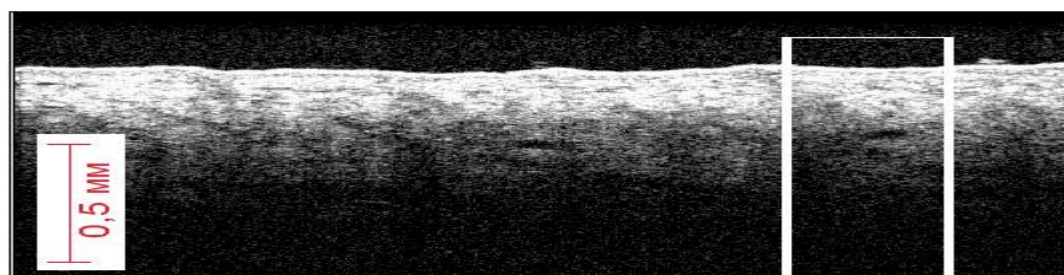
воды из окружающей внутритканевой жидкости к месту повреждения. Это естественная реакция организма на повреждение кожи. Но через 2 часа наблюдается увеличение глубины детектирования до 626 мкм за счет того, что происходит испарение воды из зоны абляции и уплотнение ткани.



a



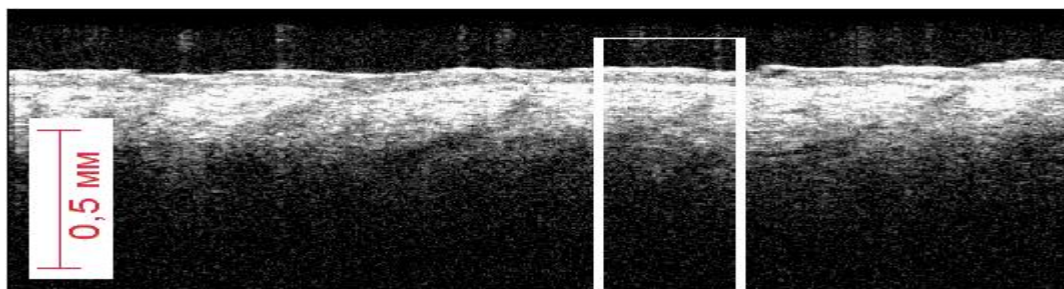
b



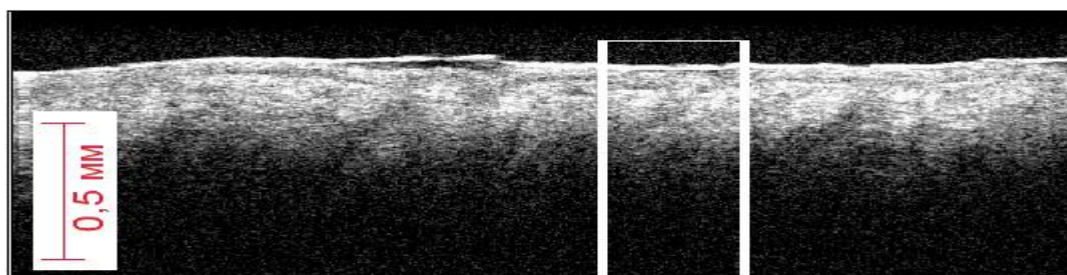
c

Рисунок 2 - Томограмма кожи крысы из 1-ой группы: а-перед началом эксперимента, б-через час после начала эксперимента, с-через 2 часа (в конце эксперимента). Стрелочкой показана граница раздела эпидермис/дерма, а 1-фолликул.

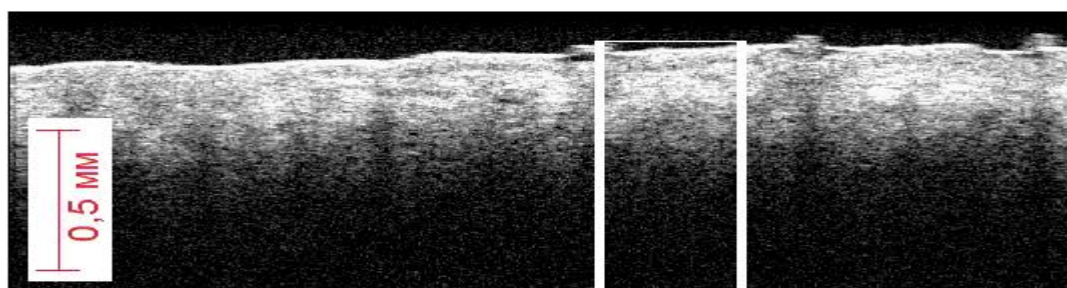
На рисунке 3 показаны томограммы кожи крысы из 2-ой группы до воздействия, через 1 час и 1.5 часа после нанесения иммерсионного агента.



a



b



c

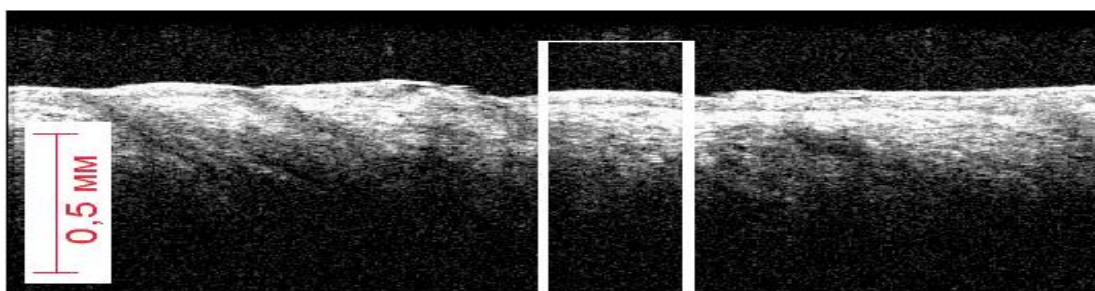
Рисунок 3 - Томограмма кожи крысы из 2-ой группы: а-перед началом эксперимента, б-через 30 минут после начала эксперимента, с-через 1,5 часа (в конце эксперимента).

В начальный момент времени глубина детектирования составляла 557 мкм, а через 30 минут 602 мкм. Глубина увеличилась (рис.3 б) за счет снижения рассеяния ткани при диффузии иммерсионного агента во внутритканевое пространство и согласование показателей преломления внутритканевой жидкости и коллагеновых и эластиновых волокон дермы. Рост глубины детектирования продолжался в течение всего эксперимента и составил 766 мкм через 1.5 часа.

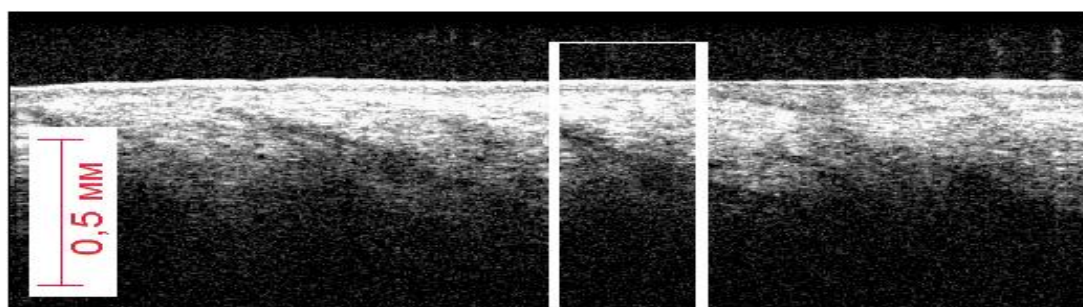
На рисунке 4 показаны томограммы кожи крысы из 3-й группы до воздействия, через 1 час и 1.5 часа после абляции и нанесения иммерсионного агента.

В начальный момент времени глубина детектирования составляла 512 мкм, а через час 635 мкм. Наблюдаются два конкурирующих процесса. С одной стороны, увеличение рассеяния за счет притока воды и лимфы из окружающей внутритканевой жидкости к месту повреждения. А с другой стороны, диффузия иммерсионного агента, который снижает рассеяние света. В итоге в конце эксперимента глубина детектирования увеличилась до 701 мкм.

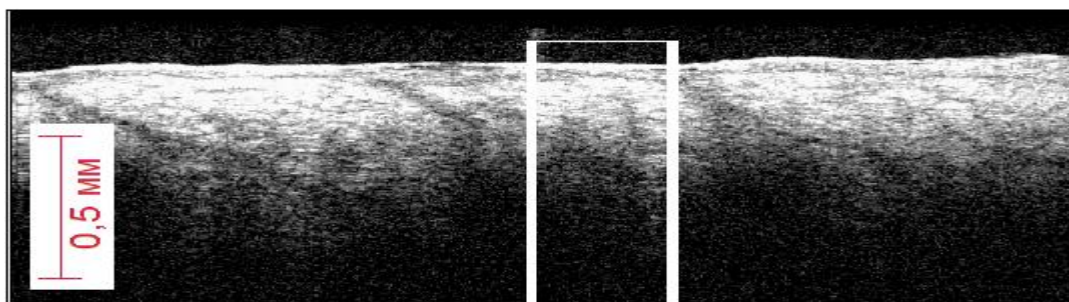
На рисунке 5 представлены значения усредненной оптической глубины детектирования для 3-х групп экспериментальных животных через определенные промежутки времени.



a



b



с

Рисунок 4 - Томограмма кожи крысы из 3-й группы: а-перед началом эксперимента, б-через час после начала эксперимента, с-через 1,5 часа (в конце эксперимента).

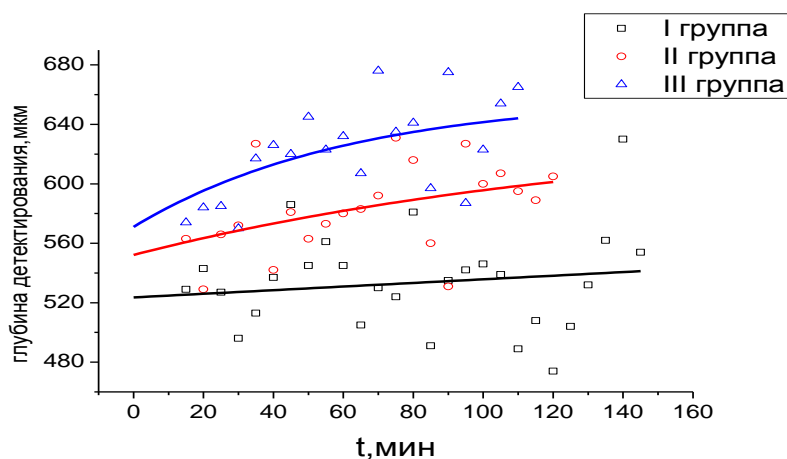


Рисунок 5 - График зависимости оптической глубины детектирования от времени. Символами представлены экспериментальные данные, кривыми – результат аппроксимации.

На рисунке 6 представлены значения эффективности оптического просветления для 3-х групп экспериментальных животных в процессе наблюдения. Эффективность рассчитывалась по формуле:

$$\text{Эффективность} = \frac{\text{Текущая} - \text{Начальная}}{\text{Начальная}} \times 100\% \quad (1)$$

где Текущая – значение оптической глубины детектирования в каждый момент времени в процессе наблюдения, Начальная – значение оптической глубины детектирования до абляции и/или нанесения иммерсионного агента.

Характеристическое время процесса оптического просветления рассчитывалось по формуле:

$$y = A \times \exp\left(\frac{-X}{\tau}\right) \times y_0, \quad (2)$$

где A -коэффициент пропорциональности, y_0 - максимальное значение, τ – характеристическое время процесса.

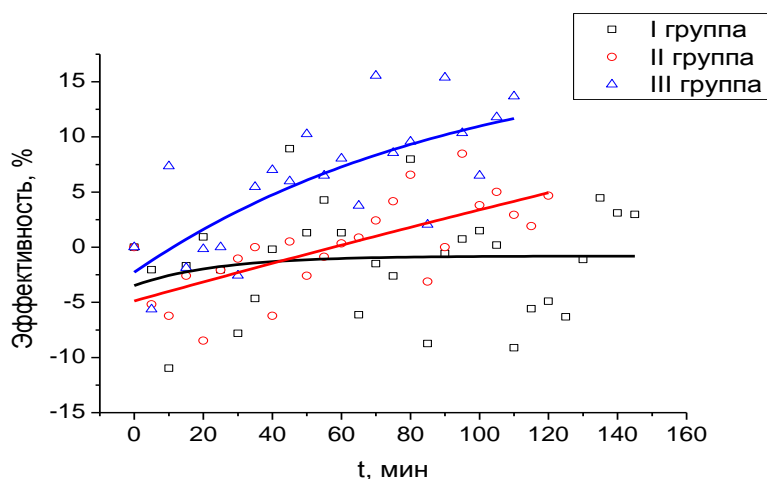


Рисунок 6- График зависимости эффективности оптического просветления от времени. Символами представлены экспериментальные данные, кривыми – результат аппроксимации .

Небольшое увеличение эффективности света в 1-ой группе связано с подсыханием и уплотнением верхнего слоя. Наиболее эффективным методом оптического просветления кожи является комбинирование абляции с иммерсией (3 группа).

Характеристическое время процесса в 1-ой группе составило 24 мин, во 2-ой группе 931 мин, а в 3-й 93 мин. Во 2-ой группе характеристическое

время процесса выше, чем в 3-й группе, что говорит о малой скорости процесса проникновения иммерсионного агента вглубь кожи при неповреждённом эпидермисе. Иммерсия затруднена благодаря барьерной функции эпидермиса. Скорость протекания процесса в 3-й группе увеличивается за счет того, что повреждается роговой слой и облегчается диффузия ПЭГ300.

Заключение

Результат исследования оптического просветления кожи крысы *in vivo* с помощью анализа временных характеристик увеличения глубины детектирования показали, что оптическое просветление кожи за счёт её дегидратации при удалении рогового слоя эпидермиса с помощью абляции малоэффективно. Наиболее быстрым и эффективным методом оптического просветления кожи является абляция с последующим нанесением иммерсионного агента. Средняя эффективность комбинированного метода просветления через 100 мин почти в 2.5 раза превышает эффективность только иммерсионного воздействия. Характеристическое время процесса в первом случае в 10 раз меньше, чем во втором.

Список использованных источников

- 1 Башкатов А. Н., Генина Э. А., Тучин В. В. Оптическое просветление биологических тканей - перспективы применения в медицинской диагностике и фототерапии // Альманах клинической медицины. - 2008. №17-1
- 2 Lin C. -H., Aljuffali I. A., et al. Lasers as an approach for promoting drug delivery via skin // Expert Opin. Drug Deliv. - 2014. - Vol. 11(4). -P. 599-614
- 3 Aljuffali I. A., Lin C. -F., Fang J. -Y. Skin ablation by physical techniques for enhancing dermal/transdermal drug delivery // J. DRUG DEL. SCI. TECH. - 2014. - Vol. 24(3). -P. 277-287

- 4 Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В./ Исследование оптических и диффузных явлений в биотканях при воздействии осмотически активных иммерсионных жидкостей / <http://optics.sgu.ru/library/education/labbio>
- 5 Genina E. A. , Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Tissue optical immersion clearing// *Exp. Rev. Med. Devices* 7(6), 825–842 (2010).
- 6 Mortensen L.J., Oberdorster G., Pentland A.P., Delouise L.A. In vivo skin penetration of quantum dot nanoparticles in the murine model: the effect of UVR // *Nano Lett.* 2008. V. 8. № 9. P. 2779.
- 7 Upadhyay P. Enhanced transdermal-immunization with diphtheriatoxid using local hyperthermia // *Vaccine.* 2006. V. 24. № 27–28. P. 5593.
- 8 Chen H. -Y., Zhao Q., Su K. -L., Lin Y. -C. Development of transdermal delivery chip system: deliver gold nanoparticles into human stratum corneum // 3rd IEEE International Conference on Nano-Micro Engineered and Molecular System. - 2008. -P. 996-999.
- 9 Krishnan G., Edwards J., Chen Y., Benson H.A. Enhanced skin permeation of naltrexone by pulsed electromagnetic fields in human skin in vitro // *J. Pharm. Sci.* 2010. V. 99. № 6. P. 2724.
- 10 Lee S.E., Choi K.J., Menon G.K., Kim H.J., Choi E.H., Ahn S.K., Lee S.H. Penetration pathways induced by low-frequency sonophoresis with physical and chemical enhancers: iron oxide nanoparticles versus Lanthanum Nitrates // *J. Invest. Dermatol.* 2010. V. 130. № 4. P. 1063.
- 11 Genina E. A., Bashkatov A. N., Kolesnikova E. A., Basko M. V. , Terentyuk G. S., Tuchin V. V. Optical coherence tomography monitoring of enhanced skin optical clearing in rats in vivo // *Journal of Biomedical Optics.* -2014. - Vol.19(2). -P. 021109