

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

«Исследование эффективности применения рентгеноконтрастных
агентов для снижения рассеяния кожи»

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 4082 группы
направления подготовки 12.03.04 Биотехнические системы и технологии
Института физики
Степанова Максима Алексеевича

Научный руководитель (руководитель)
доцент, канд.ф.-м.н.

должность, уч. степень, уч. звание



подпись, дата

П.А. Тимошина

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой
проф. д.ф.-м.н., чл.-корр. РАН

должность, уч. степень, уч. звание



подпись, дата

В.В. Тучин

инициалы, фамилия

Саратов, 2024 год

Введение. Актуальность темы выпускной квалификационной работы обусловлена тем, что оптические методы диагностики и лечения биологических тканей становятся все более распространенными и широко используются в биологии и медицине. [1]. Кожа с оптической точки зрения относится к сильно рассеивающим (оптически мутным) биотканям. Высокая степень рассеяния света в биологических тканях из-за низкой глубины проникновения света ограничивает возможности применения оптических методов в биомедицинской оптике. Данную проблему помогает решить оптическое просветление ткани. Техника оптического просветления эффективно используется в различных областях медицины, включая эндоскопию, хирургию, онкологию, кардиологию и другие [2]. В качестве оптических просветляющих агентов (далее – ОПА) для оптического просветления биотканей эффективно применяются различные вещества, в том числе рентгеноконтрастные вещества, которые представляют собой одну из групп ОПА, применяющихся для снижения рассеяния кожи и улучшения визуализации внутренних органов и анатомических структур при лучевых методах исследования. Применение рентгеноконтрастных веществ при различных методах диагностической визуализации, таких как рентгеновские исследования, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, ультразвуковые исследования, является основным компонентом, повышающим качество получаемых изображений и расширяющим диапазон получаемой диагностической информации. [3]

Оптический когерентный томограф (далее – ОКТ) – это медицинское устройство, которое используется для создания изображений внутренних структур тканей с высокой разрешающей способностью. ОКТ работает на основе оптического принципа интерференции, который позволяет измерять различия в оптической плотности тканей [4]. ОКТ является важным инструментом для мониторинга оптического просветления и может использоваться для оценки эффективности рентгеноконтрастных агентов и контроля за процессом оптического просветления [5].

Теоретическую основу данной выпускной квалификационной работы составили труды ученых, исследователей, посвященные проблемам изучения и применения технологии оптического просветления в различных сферах науки и практической деятельности; характеристик и свойств просветляющих агентов, возможности их применения; оптической когерентной томографии как метода исследования биологических тканей и др. (научные труды Астахова Ю.С., Белехова С.Г., Башкатова А.Н., Гениной Э.А., Тучина В.В., Сдобнова А.Ю., Тимошиной П.А., Лазаревой Е.Н., Суркова Ю.И., Молдон П.А., Ермолинского П.Б., Луговцова А.Е., Гурфинкеля Ю.И., Приезжева А.В., Гришанова В.Н., , Артеминой Е.М., Утц С.Р., Вермеер К. А., Дж. Мо, Дж. Дж. А. Веда, Х. Г. Лемидж и Дж. Ф. де Бур, А. Ясин Алибхай, Крис Ор, Андре Дж. Уиткин, Висковатых А.В. , Пожара В.Э., Волынского М.А., Гурова И.П. и др.). Практическую основу составили результаты экспериментов, посвященных вопросам эффективности и сравнительной характеристики просветляющих агентов, проведенных российскими и зарубежными учеными, а также результаты эксперимента, проведенного автором выпускной квалификационной работы, под руководством научного руководителя в период обучения и прохождения преддипломной практики.

Целью данной выпускной квалификационной работы является исследование эффективности применения рентгеноконтрастных агентов для снижения рассеяния кожи. Задачи выпускной квалификационной работы

1. Анализ принципа и особенностей применения оптического просветления.
2. Анализ принципа работы оптической когерентной томографии и методов обработки данных.
3. Проведение экспериментального исследования эффективности применения рентгеноконтрастных агентов для снижения рассеяния кожи лап лабораторных мышей *in vivo* с помощью ОКТ.

4. Обработка и анализ полученных результатов с выявлением наиболее эффективного рентгеноконтрастного агента для снижения рассеяния кожи.

В рамках данной работы впервые были проведен ряд экспериментов по изучению эффективности оптических просветляющих агентов на лапе самца беспородной лабораторной мыши; проведен сравнительный анализ просветляющих свойств рентгеноконтрастных агентов: 1. Визипак-270®, 2. Омнипак-300®, 3. Аккупак-300®, 4. Трехкомпонентных ОПА (Омнипак + ДМСО + пропиленгликоль).

Выпускная квалификационная работа состоит из введения, четырех основных разделов, заключения и списка использованной литературы.

Основное содержание работы. В разделе «*Оптическое просветление кожи*» подробно рассматриваются оптические свойства кожи; принцип оптического просветления и особенности применения оптического просветления в практической деятельности.

Эффективность оптического просветления биологических тканей зависит от большого числа факторов, таких как показатель преломления ОПА, его концентрация (что также влияет на показатель преломления), осмолярность и т.д. Также важны и параметры биологической ткани, такие как, ее изначальная мутность, а также ее проницаемость для молекул данного ОПА. [6]. Подбор оптических просветляющих агентов с оптимальными параметрами, а также подбор оптимальных экспериментальных условий является сложной и важной задачей, решение которой позволит неинвазивно и более эффективно исследовать глубокие слои биологических тканей.

Таким образом, эффективность оптического просветления зависит от множества факторов. Важнейшими из этих факторов являются тип ОПА, его концентрация, а также время, в течение которого биологическая ткань подвергается обработке используемым просветляющим агентом. В некоторых случаях, например, просветление ткани до полной прозрачности

может занимать несколько недель [7, 8]. Барьерная функция рогового слоя кожи в значительной степени препятствует проникновению ОПА (особенно ОПА с высокими концентрациями) в глубокие слои дермы. Оптическое просветление кожи занимает гораздо большее время по сравнению с другими мягкими типами биологических тканей. Низкие концентрации ОПА, как правило, не могут обеспечить достаточно эффективного ОПА. В тоже время, длительное воздействие высококонцентрированными ОПА может вызвать негативное воздействие на кожный покров. Для решения данной проблемы, были введены методы, позволяющие ускорить процесс ОП. Например, ДМСО, линолевые и олеиновые кислоты, этанол и пропилен гликоль широко используются в качестве химических усилителей проникающей способности для ОПА.

Одной из наиболее перспективных областей медицины с точки зрения применения оптического просветления биотканей является дерматология. Визуализация кровеносных сосудов и капилляров, подкожных новообразований, увеличение глубины проникновения зондирующего излучения при проведении целого ряда диагностических и терапевтических процедур, а также снижение мощности лазерного излучения, используемого при проведении терапевтических и хирургических процедур, являются наиболее яркими примерами применения метода оптического просветления в дерматологии.

В разделе *«Оптическая когерентная томография»* рассмотрен принцип оптической когерентной томографии и особенности применения ОКТ в медицине (в т.ч. в дерматологии) и в научных исследованиях. Принцип работы ОКТ основан на использовании интерференции света для получения информации о внутренних структурах объектов с высокой пространственной разрешающей способностью, что делает эту технику мощным инструментом в медицине и других областях науки и техники. [8] ОКТ имеет ряд ограничений, но несмотря на них, является мощным инструментом в медицине и научных исследованиях, и дальнейшее

развитие технологии может привести к расширению ее возможностей и повышению ее эффективности. В настоящее время ОКТ активно применяется в медицине и в научных исследованиях. В медицине ОКТ является важным инструментом диагностики, мониторинга и определения направлений и характера лечения. Наиболее распространено применение ОКТ в офтальмологии, кардиологии, дерматологии, стоматологии, косметологии и др. сферах. В сфере научных исследований технология ОКТ позволяет изучать функции и особенности биологических тканей органов; в случае оптического просветления, ОКТ может использоваться для мониторинга доставки иммерсионного агента через кожу и его распределения внутри тканей. [8, 9] ОКТ может также использоваться для оценки эффективности иммерсионного агента и контроля за процессом оптического просветления.

В разделе «*Материалы и методы*» подробно описаны используемые в эксперименте ОПА, образцы и экспериментальная установка. Для исследования эффективности рассеяния кожи использовались 4 рентгеноконтрастных ОПА: Визипак-270® (GE Healthcare, США), Омнипак-300® (GE Healthcare, США), Акупак-300® (GE Healthcare, США), а также трехкомпонентная композиция Омнипак-300® (54%)+ПГ (36%)+ДМСО (10%). Все показатели преломления были измерены на рефрактометре ИРФ-454 Б2М один раз.

В качестве объекта исследования в проводимом эксперименте выступали участки кожи с лап самца беспородной лабораторной мыши, полученный из вивария Центра коллективного пользования СГМУ им. В.И. Разумовского. На исследуемых участках кожи шерсть удалялась с помощью крема для депиляции. Использованный объем для каждого ОПА составлял 100 мкл. Для исследований каждого рентгеноконтрастного агента использовалось по 5 беспородных лабораторной мышей.

Эксперимент проводился с помощью спектарльного оптического когерентного томографа GAN930V2-BU (Thorlabs, США), работающего на

центральной длине волны 930 нм с осевым и боковым разрешением 5,34 и 7,32 мкм (на воздухе) соответственно.

В ходе эксперимента:

1. производилось регистрация ОКТ-изображения исследуемого участка кожи лапы самца лабораторной беспородной мыши площадью около 5 мм² без применения ОПА;

2. на исследуемый участок кожи лапы самца лабораторной беспородной мыши при помощи пипетки и аппликатора наносили приблизительно 100 мкл ОПА;

3. ожидали 1 минуту;

4. убирали аппликатор, пропитанный ОПА и регистрировали ОКТ-изображение;

5. вновь накладывали аппликатор, пропитанный ОПА на исследуемый участок кожи;

6. ожидали 5 минут;

7. убирали аппликатор, пропитанный ОПА и регистрировали структурное изображение кожи при помощи ОКТ;

8. вновь накладывали аппликатор, пропитанный ОПА на исследуемый участок кожи;

9. ожидали еще 5 минут;

10. убирали аппликатор, пропитанный ОПА и регистрировали структурное изображение кожи при помощи ОКТ;

11. вновь накладывали аппликатор, пропитанный ОПА на исследуемый участок кожи;

12. ожидали еще 5 минут;

13. убирали аппликатор, пропитанный ОПА и регистрировали структурное изображение кожи при помощи ОКТ, сохраняли полученные изображения (всего получалось 15 минут).

После завершения эксперимента с каждым из четырех ОПА, данные были обработаны программой, написанной в MATLAB (The MathWorks,

США), которая реконструирует коэффициент ослабления ОКТ-сигнала с разрешением по глубине. На выходе получаются данные в формате .txt, содержащие глубинный профиль коэффициента ослабления ОКТ сигнала.

Для полного анализа все полученные результаты были перенесены в программу Origin, где построили глубинные профили коэффициента ослабления ОКТ сигнала в различные промежутки времени.

В разделе *«Результаты и обсуждения»* представлены ОКТ-изображения зафиксированные в ходе эксперимента на исследуемом участке кожи лапы самца беспородной лабораторной мыши с применением каждого используемого ОПА в разные моменты времени. Представленные ОКТ-изображения демонстрируют изменение глубины проникновения света в слои кожи. Также представлены Глубинные профили коэффициента ослабления ОКТ-сигнала в различные промежутки времени при применении каждого из четырех ОПА.

Предварительные результаты показали, что Визипак-270® показывает хорошие результаты после первых минут исследования, поскольку на рисунке прорисовывается более детальная структура эпидермиса лапы кожи мыши. Предварительные результаты по агенту Омнипак-300® показали, что исследуемый ОПА оказал среднее воздействие на эпидермис, тем самым увеличив глубину проходящего света на протяжении всего эксперимента. Предварительные результаты по агенту Аккупак-300® показали, что исследуемый ОПА оказал хорошее воздействие на эпидермис, тем самым продемонстрировал структуру исследуемого участка кожи вглубь, а также глубину прохождения света. Предварительные результаты по агенту с усилителями проницаемости биотканей Омнипак-300®+ПГ+ДМСО показали, что исследуемый просветляющий агент оказал хорошее воздействие на эпидермис, тем самым показал прохождение света сквозь исследуемый объект в начале и середине эксперимента, показал снижение коэффициента ослабления в эпидермисе и дерме практически в 20% и 15% соответственно.

Заключение. После анализа полученных данных по 4 рентгеноконтрастным оптическим просветляющим агентам были подведены предварительные итоги. Наиболее эффективным агентом оказался 3-х компонентный Омнипак-300®+ПГ+ДМСО, который показал снижение коэффициента ослабления в эпидермисе и дерме практически в 20% и 15% соответственно. Можно смело предположить, что усилители проницаемости биотканей в композиции с рентгеноконтрастным ОПА способствуют усилению эффекта прохождения света в глубь исследуемого объекта, в нашем случае участка кожи с лапы лабораторного беспородного самца мыши.

Визипак-270® показал хорошие результаты на первых минутах исследований. На графиках, представленных выше видно, как в эпидермисе после 1 минуты коэффициент ослабления снизился приблизительно на 30%. Но стоит предположить, что в дальнейшем из-за быстрого высыхания агента, образовалась «пленка», которая создала отражение на сканах, из-за чего мы отчетливо видим повышение коэффициента ослабления после 15 минуты исследований. В дерме же снижение коэффициента ослабления к 10 минуте составило всего 10%.

Аккупак-300 показал себя с хорошей стороны в эпидермисе, снизив коэффициент ослабления на 20% на первых минутах исследования и на 20% в после 15 минуты. В дерме же снижение составило приблизительно 10-12%.

Омнипак-270 оказался не самым эффективным, однако предварительные итоги показали, что он является одним из самых стабильных агентов. Результат снижения коэффициента ослабления ОКТ-сигнала составил приблизительно 10% в эпидермисе и 2-5% в дерме.

Список использованной литературы

1. Tuchin V. V. Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues / V.V.Tuchin. — Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009
2. Тучин В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / Москва: ФИЗМАТЛИТ, 2012. — 812 с.
3. Артемина Е.М., Утц С.Р., Ювченко С.А, Зимняков Д.А., Алонова М.В. Сравнительная оценка просветляющих агентов с целью повышения качества дальней длинноволновой ультрафиолетовой терапии хронических дерматозов // Саратовский научно-медицинский журнал. 2016. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitel'naya-otsenka-prosvetlyayuschih-agentov-s-tselyu-povysheniya-kachestva-dalney-dlinnovolnovoy-ultrafioletovoy-terapii> (дата обращения: 13.05.2024).
4. D. Zhu, K.V. Larin, Q. Luo, and V.V. Tuchin, Recent progress in tissue optical clearing, Laser Photonics Rev. 7(5), (2013).
5. Tuchin V.V., Zhestkov D.M., Bashkatov A.N., Genina E.A. Theoretical study of immersion optical clearing of blood in vessels at local hemolysis // Optics Express. – 2004. – Vol. 12. - № 13.
6. Свирин А. В., Кийко Ю. И., Обруч Б. В., Богомолов А. В. Спектральная оптическая когерентная томография: принципы и возможности метода // РМЖ. Клиническая офтальмология. 2009. №2.
7. Геликонов В.М., Геликонов Г.В., Гладкова Н.Д., Куранов Р.В., Никулин Н.К., Петрова Г.А., Починко В.В., Правденко К.И., Сергеев А.М., Фельдштейн Ф.И., Ханин Я.И., Шабанов Д.В. Когерентная оптическая томография микронеоднородностей биотканей. // Письма в ЖЭТФ 1995. V.61, №.2.
8. P. A. Moldon, P. B. Ermolinskiy, A. E. Lugovtsov, P. A. Timoshina, E. N. Lazareva, Y. I. Surkov, Y. I. Gurfinkel, V. V. Tuchin, A. V. Priezzhev, J. Biophotonics 2024, nfluence of optical clearing agents on the scattering properties of human nail bed and blood microrheological properties: In vivo and in vitro study

9. Bashkatov A. N., Genina E. A., Kochubey V. I., Tuchin V. V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm // Journal of Physics D: Applied Physics. – 2005. – V.38, № 15.

10. Tuchin V. V. Optical clearing of tissues and blood. – CCH, 2006.

11. Zhu D., Zhang J., Cui H., Mao Z., Li P., Luo Q. Short-term and long-term effects of optical clearing agents on blood vessels in chick chorioallantoic membrane // Journal of Biomedical Optics. — 2008. — V.13, № 2.

12. Ahmed, H.; Zhang, Q.; Donnan, R.; Alomainy, A. Denoising of Optical Coherence Tomography Images in Ophthalmology Using Deep Learning: A Systematic Review. J.Imaging 2024.

