

# 不同脉冲超声强度对在体人皮肤中甘油渗透性和光穿透深度的影响

邹悦<sup>1,2</sup>, 魏华江<sup>1,2\*</sup>, 杨洪钦<sup>3</sup>, 谢树森<sup>3</sup>, 巫国勇<sup>4</sup>

<sup>1</sup>华南师范大学生物光子学研究院教育部激光生命科学重点实验室, 广东 广州 510631;

<sup>2</sup>华南师范大学生物光子学研究院广东省激光生命科学重点实验室, 广东 广州 510631;

<sup>3</sup>福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建 福州 350007;

<sup>4</sup>中山大学附属第一医院心胸外科, 广东 广州 510080

**摘要** 研究脉冲超声强度为 0~0.8 W/cm<sup>2</sup> 时的不同强度超声对在体的人皮肤中甘油溶液的渗透性和光穿透深度的影响。实验采用光学相干断层扫描(OCT)成像技术做定量连续的测量。研究结果表明,脉冲超声强度为 0~0.8 W/cm<sup>2</sup> 时,超声具有加速甘油溶液渗透、增强光穿透皮肤的能力,且皮肤的光透明效果随超声强度的增加而增大。以仅施加甘油溶液的样品为对照组,而施加超声作用及甘油溶液的样品为实验组。实验组和对照组的比较结果表明,在分别经超声强度为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 W/cm<sup>2</sup> 的超声处理的人体皮肤中,15% 甘油的平均渗透系数与仅施加 15% 甘油处理的人体皮肤相比分别增加了 2.6%, 9.5%, 14.7%, 19.8%。脉冲超声处理的 30% 甘油在人体皮肤中的渗透系数分别高于仅施加 30% 甘油处理的对照组 3.7%, 12%, 16.7%, 22.2%。结论表明,应用强度为 0.2~0.8 W/cm<sup>2</sup> 的超声,甘油的平均渗透系数随超声强度的增加而增加。

**关键词** 生物技术; 在体皮肤; 生物组织光透明; 光相干断层成像术; 渗透系数; 1/e 光穿透深度

中图分类号 R318.51

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP202259.1017001

## Effect of Pulsed Ultrasonic Intensities on Glycerol Permeability and Light Penetration Depth in Human Skin *in vivo*

Zou Yue<sup>1,2</sup>, Wei Huajiang<sup>1,2\*</sup>, Yang Hongqin<sup>3</sup>, Xie Shusen<sup>3</sup>, Wu Guoyong<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Laser Life Science, Ministry of Education, College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong, China;

<sup>2</sup>Guangdong Provincial Key Laboratory of Laser Life Science, College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong, China;

<sup>3</sup>Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine, Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, Fujian, China;

<sup>4</sup>Department of Surgery, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

**Abstract** The effect of different ultrasound intensities from 0 to 0.8 W/cm<sup>2</sup> on the permeability and light penetration depth of glycerol solutions in human skin *in vivo* were investigated. The experiment used optical coherence tomography (OCT) imaging technology to perform quantitative continuous measurements. The results

收稿日期: 2021-04-25; 修回日期: 2021-05-07; 录用日期: 2021-05-18

基金项目: 国家自然科学基金(60778047)、广州科技计划(201607010371)

通信作者: \*weihj@scnu.edu.cn

show that ultrasound has the ability to accelerate the penetration of glycerol solution and enhance the penetration of light through the skin with the intensity of pulsed ultrasound ranging from 0 to 0.8 W/cm<sup>2</sup>, and the optical clearing effect of the skin increases with an increase in ultrasound intensity. The sample that was only applied with glycerol solution was defined as the control group, and the sample with the ultrasound effect and glycerol solution applications was defined as the experimental group. When the results of experimental and control groups were compared, it was observed that the average permeability coefficient of 15% glycerol solution in human skin treated with 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 W/cm<sup>2</sup> pulsed ultrasound was increased by 2.6%, 9.5%, 14.7%, and 19.8%, respectively, compared to the samples with only 15% glycerol solution application. The average permeability coefficient of 30% glycerol solution treated with pulsed ultrasound in human skin was increased by 3.7%, 12%, 16.7%, and 22.2% respectively, compared to the control group that only used 30% glycerol solution. The conclusions suggested that the average permeability coefficient of glycerol solution increased with increasing pulsed ultrasonic intensity in the range of 0.2–0.8 W/cm<sup>2</sup>.

**Key words** biotechnology; skin *in vivo*; biological tissue optical clearing; optical coherence tomography; permeability coefficient; 1/e light penetration depth

## 1 引言

作为人体最大的器官,皮肤为全身性药物给药提供了无痛且具有顺应性的界面<sup>[1-2]</sup>。与其他传统的递送方法相比,透皮药物递送(TDD)具有多个优势:可以控制释放速率、具有更稳定的血浆浓度、能非侵入性给药、给药频率更低、无需专业医疗帮助即可简单使用<sup>[3-4]</sup>。但是,由于皮肤的自然功能是保护人体免受环境的有害影响,因此药物经皮应用中最重要局限是皮肤屏障<sup>[5]</sup>。角质层(皮肤的最外层)是外界入侵者进入人体的屏障,因此这是皮肤渗透性差的原因<sup>[6]</sup>。角质层的厚度约为 15 μm,具有坚固的结构,其中包含嵌入到脂质双层连续基质中密集的死细胞——角质细胞。脂质薄片在细胞外空间的紧密堆积使角质层成为高度不可渗透的膜<sup>[7-8]</sup>。

安全且可逆地克服这一障碍是当今透皮给药领域仍然存在的基本问题<sup>[9]</sup>。目前已经开发出创新型技术,以尝试增强透皮药物的输送及促进分子的提取<sup>[10-12]</sup>。这些技术包括离子电渗疗法<sup>[13-14]</sup>、电穿孔<sup>[15-18]</sup>、光机械波<sup>[19-20]</sup>和微针阵列<sup>[6,21-22]</sup>。在这些方法中,施加适当频率的超声波会显著增强药物的透皮运输,这种现象被称为超声药物透入疗法或超声促渗。超声波在皮肤上的应用会在皮肤上造成一些缺陷,这些缺陷会促进活性药物透过角质层的传递<sup>[23-24]</sup>。除了可以增加皮肤渗透性的皮肤内空化作用(通常被认为是主要的促进因素)<sup>[25]</sup>以外,热效应和对流效应也可以在增强皮肤角质层中溶质的分配及流动方面发挥作用<sup>[26]</sup>。

光学相干断层扫描(OCT)技术是一种非侵入性的高分辨率光学成像技术,已被开发用于在生物

组织中进行体内高分辨率的横截面显微结构成像<sup>[27-28]</sup>。最近,OCT已被用于监测和量化各种生物组织中不同分析物和药物的渗透系数(PC)<sup>[27,29-30]</sup>。组织光透明技术是基于组织光学参量控制的光透明技术,通过向组织中施加高渗、高折射率的光透明剂来提高组织内部的折射率匹配程度,改善生物组织中折射率的匹配,降低生物组织对光的散射作用,可以有效地提高光的穿透深度,从而实现组织的光透明。光透明技术常用于改善 OCT 系统的成像深度和分辨率<sup>[31-35]</sup>。

最近的一些研究表明,超声促渗疗法作为一种无创物理方法,在甘油局部应用时具有增强皮肤透明的效果<sup>[36-39]</sup>。Whiteside 等<sup>[40]</sup>的研究表明,采用超声调制生物组织能改变组织光学特性,提高激光穿透生物组织的光强度。此外,一些文献中也描述了应用超声来增强药物、颗粒和光透明剂的递送的内容<sup>[41-44]</sup>。然而,关于超声强度影响各种药物和光透明剂渗透特性及光学穿透深度的研究还很少。要想推广超声波在光透明研究领域的应用,尚需搞清超声波的强度、频率及使用时间等因素的影响。针对这样的研究背景和研究空白,本文采用 OCT 成像技术研究脉冲超声强度为 0~0.8 W/cm<sup>2</sup> 时的不同强度超声对在体的人皮肤中甘油溶液的渗透特性和光穿透深度的影响,为促进生物组织光透明机理在临床上的应用提供有益的参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验装置

在这项研究中,使用便携式光谱域 OCT 系统(MOPTIM 成像技术有限公司,深圳),其中心波长

为 840 nm, 带宽为 80 nm, 深度分辨率和横向分辨率分别为 7.8  $\mu\text{m}$  和 30  $\mu\text{m}$ 。横向扫描和纵向扫描分别在 3 mm 和 1.8 mm 处, 单次横向扫描可以在 1/15 s 内完成, 即每秒获得 15 张图像。OCT 系统的操作由便携式计算机(PC)自动控制, 每分钟获取一张二维 OCT 图像。每次实验共获取 240 张二维 OCT 图像, 并存储在 PC 中以进行进一步处理<sup>[45-47]</sup>。

实验中使用 BM628 超声仪(美容保健仪器有限公司, 广州), 产生频率为 1 MHz, 产生强度为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8  $\text{W}/\text{cm}^2$ 。具有这种频率的超声仪通常用于美容治疗和 TDD, 并配有直径约为 3 cm 的探头。在超声处理期间, 将超声探头以足够的接触压力浸入局部应用的甘油溶液中。为了避免任何热效应, 选择超声脉冲模式(每秒施加 500 ms 脉冲)。利用热电偶(Digithermo, VWR Scientific, 夕法尼亚)定时测量样品的温度。在超声暴露过程中, 未观察到温度显著升高(小于 2  $^{\circ}\text{C}$ )<sup>[31]</sup>。

## 2.2 实验材料和测量

甘油(纯度为 99.9%)购自中国天津大茂化学试剂厂。本研究使用的无菌甘油溶液的体积分数降至 15% 和 30%, 方法是将药剂与盐溶液混合。

对年龄在 21 岁或以上(平均年龄 23 岁)的 20 位志愿者(男性 12 位, 女性 8 位)进行测试。受试者没

有慢性病史, 并且在被试时身体健康。从相同种族中随机选择所有同意参加研究并获得知情同意的受试者。在每个单独的实验之前, 在前臂内侧皮肤一个直径为 3 cm 的圆圈范围施加试剂, 以供进一步检测。检测到的区域将被剃毛, 以消除手臂上的毛发对实验结果的影响。

在体内实验的前 10 min, 这些皮肤样品是天然的, 以建立基线; 10 min 后, 将甘油溶液施加到每个受试者的测试区域, 同时对这些样品进行 15 min 的超声检测, 在超声处理期间, 将超声探头浸入局部施加到被试区域表面的甘油溶液中; 超声处理 15 min 后, 在总共 230 min 的实验时间内, 以每 10 min 的时间间隔将少量的甘油溶液(体积约 0.1 mL)不连续地涂在皮肤表面; 在施加甘油溶液的情况下, 连续监测组织的光学特性长达 4 h。整个实验在室温(22  $^{\circ}\text{C}$ )下进行。实验中使用的甘油溶液体积分数分别为 15% 和 30%, 超声强度分别为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8  $\text{W}/\text{cm}^2$ 。将仅施加甘油溶液的样品定义为对照组。

## 2.3 计算分析

使用 OCT 信号斜率(OCTSS)方法计算甘油在人体皮肤中的渗透系数, 分析甘油溶液扩散引起的 OCT 信号斜率的变化<sup>[36,48]</sup>, 结果如图 1(a)所示。

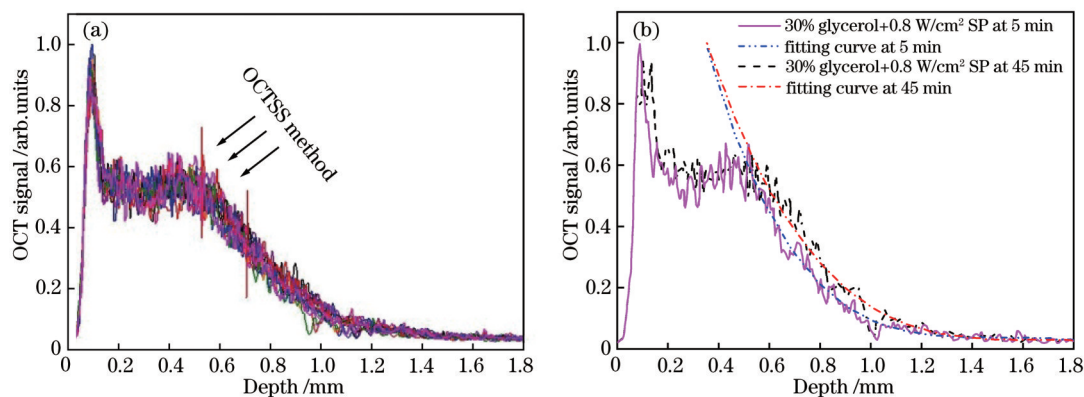


图 1 OCT 信号在人体皮肤中的变化。(a) 人体皮肤记录的指示 OCTSS 的 OCT 信号测量区域; (b) 对人体皮肤施加 30% 甘油溶液, 强度为 0.8  $\text{W}/\text{cm}^2$  的超声作用 5 min 和 45 min 后, 随深度变化的 OCT 强度曲线

Fig. 1 Changes of OCT signal in human skin. (a) OCT signal measurement area indicating OCTSS recorded on human skin; (b) corresponding OCT intensity profile as a function of depth after ultrasonic action with intensity of 0.8  $\text{W}/\text{cm}^2$  for 5 min and 45 min on human skin applying 30% glycerol solution

使用 OCTSS 方法, 通过分析甘油/SP (sonophoresis) 引起的 OCT 信号的斜率变化, 可以计算出人体皮肤特定区域的平均渗透系数。二维 OCT 对图像进行横向平均(大约超过 1 mm, 足以抑制斑点噪声), 并生成一条一维曲线, 表示样本中

OCT 信号在对数尺度上的测量。由于在测量中不可避免地会出现噪声, 因此将最佳拟合指数曲线应用于每组的平均一维 OCT 信号曲线。选择一维 OCT 信号中的区域信号为线性且变化最小的信号, 并测量其厚度  $Z_{\text{region}}$ 。对连续 OCT 信号的斜率取平



均,将其归一化并绘制为时间函数。

通过分析甘油溶液扩散过程中选定区域中 OCTSS 的变化来获得渗透系数。选择在平均 OCT 信号曲线中波动最小的线性区域,并测量其物理厚度  $Z_{\text{region}}$  (假设折射率为 1.4)。应用 Matlab 程序计算每个图像线性区域中的 OCTSS。所选区域中甘油溶液体积分数的增加导致散射减少,这可以在 OCTSS 图中清楚地反映出来。扩散时间  $t_{\text{region}}$  是从 OCTSS 开始减小的点开始测量到发生反向过程的一段时间。然后,将所选区域的厚度除以甘油扩散所需的时间,即可计算出渗透系数  $\bar{P}$ <sup>[27,30,45,49]</sup>。

$$\bar{P} = \frac{Z_{\text{region}}}{t_{\text{region}}} \quad (1)$$

通过将横向成像范围内的线性信号强度作为深度函数的平均值来获得定量数据。对平均信号强度数据和归一化信号强度数据应用最佳拟合的人体皮肤深度指数曲线,得到相应的  $1/e$  光穿透深度<sup>[38,49-50]</sup>。随着深度-体积分数的增加,光散射系数发生改变。在生物组织中,甘油扩散引起的光学特性随时间的变化表现出来。利用最小二乘法<sup>[38]</sup>对特定深度的斜率进行线性拟合。图 1(b)分别显示了在涂抹 30% 甘油溶液,经 0.8 W/cm<sup>2</sup> 超声 5 min 和 45 min 后,人体皮肤 OCT 强度随深度变化的曲线。

#### 2.4 统计分析

所有样品的所有数据均以平均值±标准差表示,并通过配对测试进行分析。所有统计分析都是采用 Windows 的统计软件 SPSS 13.0 进行的。 $P < 0.05$  代表显著性差异。

### 3 结果与讨论

甘油在人体皮肤中的深入扩散过程将动态改变散射系数,OCT 对此进行了监测。通过对比分析每个实验组的不同时刻的 OCT 一维图的曲线后,选择其在距离皮肤组织表面线性较好的深度区间 (530~710 μm) 计算 OCTSS,然后对每一个实验组进行重复实验并通过统计学处理获取计算出的实验结果。图 2 为人体皮肤经甘油溶液和不同强度的脉冲超声处理后所记录的典型 OCT 信号随时间变化的斜率图。在最初的 10 min 内,对不含甘油/超声波的皮肤进行成像以记录 OCTSS 基线。在这段时间后,将甘油/超声局部施加到测试区域,在该区域继续成像 230 min。在人体皮肤甘油扩散期间,局部深度-甘油体积分数的增加将导致散射系数的降

低。OCT 系统检测到的散射系数的降低相应地导致 OCT 信号斜率的降低,如图 2 所示。但是,OCTSS 图的下降趋势最终消除了。随着甘油体积分数的增加形成体积分数的梯度,水开始扩散到组织中,图末斜率的增加被认为是相反的过程,这意味着甘油的扩散达到了平衡状态。

图 2(a)和图 2(b)显示了体内人体皮肤处理记录的 OCT 信号斜率与时间的函数关系。将仅施加 15% 甘油和 30% 甘油溶液的样品作为对照组。施加甘油溶液后,15% 甘油和 30% 甘油分别需约 173 min 和 185 min 达到平衡状态。15% 甘油和 30% 甘油在体内的渗透系数约为  $(1.16 \pm 0.02) \times 10^{-6}$  cm/s 和  $(1.08 \pm 0.01) \times 10^{-6}$  cm/s。图 2(c)与图 2(i)的比较结果表明,在相同体积分数的甘油溶液下,应用越高强度的脉冲超声加速甘油的渗透性时,甘油扩散达到平衡状态所需的时间越短,渗透系数越高。图 2 显示了在 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 W/cm<sup>2</sup> 超声下局部皮肤中 15% 甘油溶液的扩散分别需 168, 157, 150, 144 min 才能达到平衡状态,计算出的平均渗透系数分别为  $(1.19 \pm 0.01) \times 10^{-6}$ ,  $(1.27 \pm 0.01) \times 10^{-6}$ ,  $(1.33 \pm 0.03) \times 10^{-6}$ ,  $(1.39 \pm 0.02) \times 10^{-6}$  cm/s; 人体皮肤中 30% 甘油溶液在 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 W/cm<sup>2</sup> 超声处理下分别需要 179, 165, 159, 151 min 才能完全扩散,平均渗透系数分别为  $(1.12 \pm 0.01) \times 10^{-6}$ ,  $(1.21 \pm 0.01) \times 10^{-6}$ ,  $(1.26 \pm 0.02) \times 10^{-6}$ ,  $(1.32 \pm 0.01) \times 10^{-6}$  cm/s。结果显示在图 3 中,带有各自的标准偏差。

对照实验与其他实验之间的比较表明,经 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 W/cm<sup>2</sup> 超声处理的人体皮肤中,15% 甘油的平均渗透系数与仅施加 15% 甘油处理的人体皮肤相比分别增加了约 2.6%, 9.5%, 14.7%, 19.8%。脉冲超声介导的 30% 甘油在人体皮肤中的渗透系数分别高于对照组 3.7%, 12%, 16.7%, 22.2%。得出结论,应用 0.2~0.8 W/cm<sup>2</sup> 强度的超声,甘油的平均渗透系数随超声强度的增加而增加 ( $P < 0.05$ )。

甘油作为一种常见的光透明剂,已经应用于 OCT,研究了高度散射生物组织光透明的效果<sup>[49,51]</sup>。之前的研究<sup>[36,48,52-53]</sup>表明,甘油或葡萄糖与超声相结合可以显著增强 OCT 信号,超声具有成为增加包括 OCT 在内的光学模态成像深度有用工具的潜力<sup>[48]</sup>。更重要的是,强度是超声促渗的系统研究中最重要参数之一。在本研究中,甘油溶液

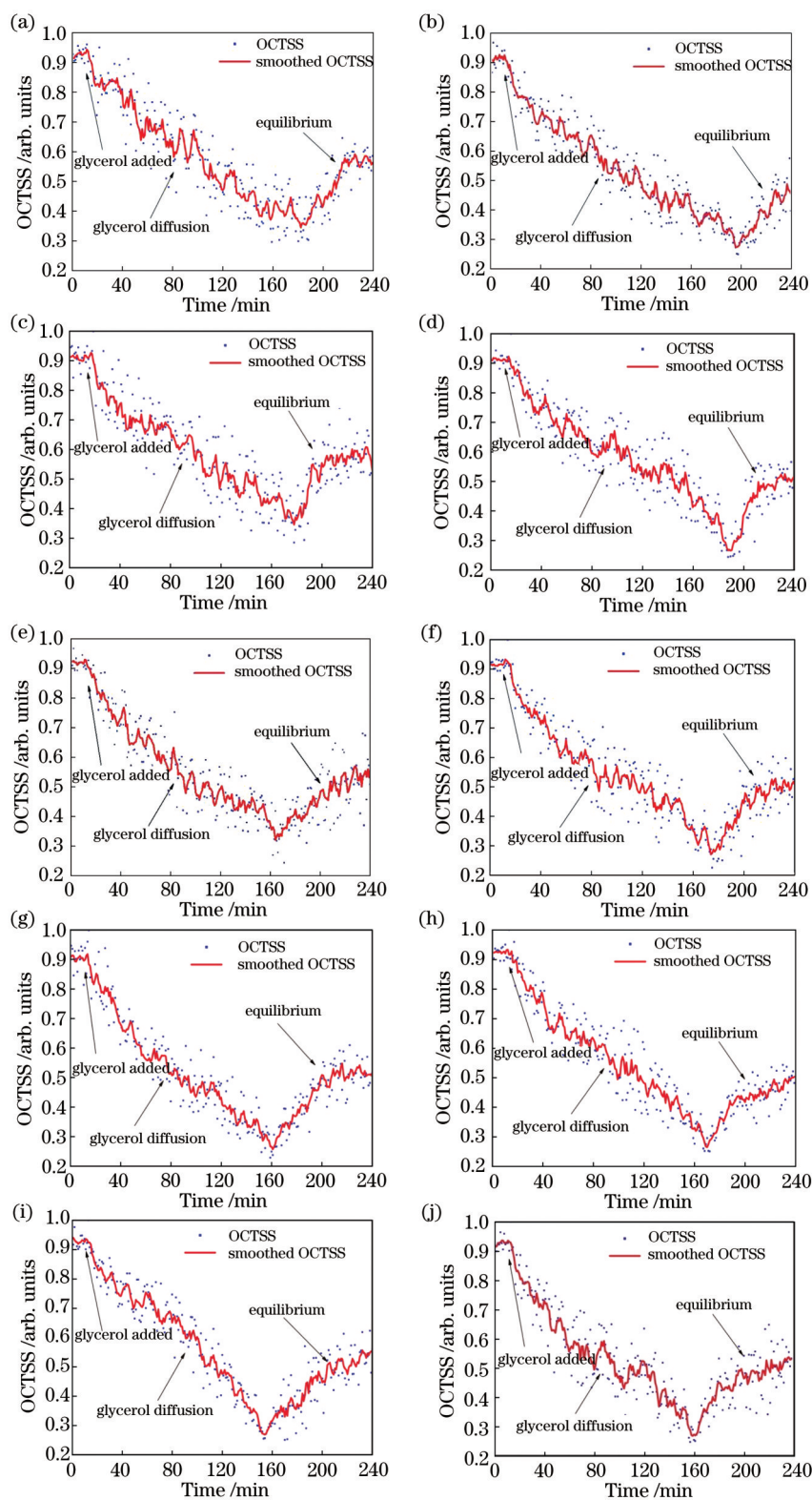


图2 OCTSS随时间变化的曲线。(a) 15% 甘油;(b) 30% 甘油;(c) 15% 甘油+0.2 W/cm<sup>2</sup>超声;(d)30% 甘油+0.2 W/cm<sup>2</sup>超声;(e) 15% 甘油+0.4 W/cm<sup>2</sup>超声;(f) 30% 甘油+0.4 W/cm<sup>2</sup>超声;(g) 15% 甘油+0.6 W/cm<sup>2</sup>超声;(h) 30% 甘油+0.6 W/cm<sup>2</sup>超声;(i) 15% 甘油+0.8 W/cm<sup>2</sup>超声;(j) 30% 甘油+0.8 W/cm<sup>2</sup>超声

Fig. 2 Curves of OCTSS with time. (a) 15% glycerol; (b) 30% glycerol; (c) 15% glycerol+0.2 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (d) 30% glycerol+0.2 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (e) 15% glycerol+0.4 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (f) 30% glycerol+0.4 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (g) 15% glycerol+0.6 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (h) 30% glycerol+0.6 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (i) 15% glycerol+0.8 W/cm<sup>2</sup> ultrasound; (j) 30% glycerol+0.8 W/cm<sup>2</sup> ultrasound

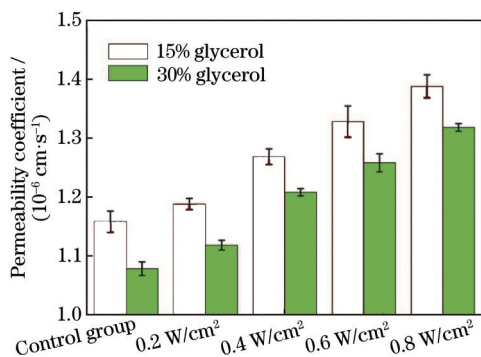


图 3 在体人体皮肤中 15% 甘油溶液/SP、30% 甘油溶液/SP 扩散的平均渗透系数的比较

Fig. 3 Comparison of mean permeability coefficients of 15% glycerol solution/SP, 30% glycerol solution/SP diffusion in human skin *in vivo*

在人体皮肤中的渗透系数随着超声强度的增加而增加,在 0.8 W/cm<sup>2</sup> 超声处理下,15% 和 30% 甘油溶液的渗透系数分别增加了 19.8% 和 22.2%。超声促渗可以暂时增加皮肤的渗透性,从而透皮递送药

物。空化被认为是超声治疗的主要机制<sup>[54]</sup>。在超声负压循环过程中,由于小的气体空泡成核而发生空化现象,随后这些气泡在随后的压力循环中生长<sup>[55]</sup>。空化气泡的塌陷释放出一种冲击波,可以引起周围组织的结构改变<sup>[6]</sup>。这种空化作用会导致脂质双分子层紊乱并在皮肤中形成药物可以通过的水通道,并且空化效应直接随超声强度的变化而改变<sup>[55]</sup>。

图 4 显示了施加 15% 甘油/SP 和 30% 甘油/SP 的人体皮肤的相对时间的 1/e 光穿透深度(LPD)的变化。如图 4(a)和图 4(b)所示,应用 15% 甘油/SP 处理的人体皮肤渗透深度的变化趋势与应用 30% 甘油/SP 处理的情况相似。在前 10 min 内,包括对照实验在内的所有实验均呈现出 1/e LPD 相对恒定且略有增加的变化趋势,之后所有实验的总 1/e 光穿透深度逐渐增加。在达到最高值后,各实验的渗透深度均呈现出稳定的下降趋势。从图 2 和图 4 可以观察到一个有趣的现象,当 OCTSS 达到平衡状态时,渗透深度呈现出稳定的下降趋势。

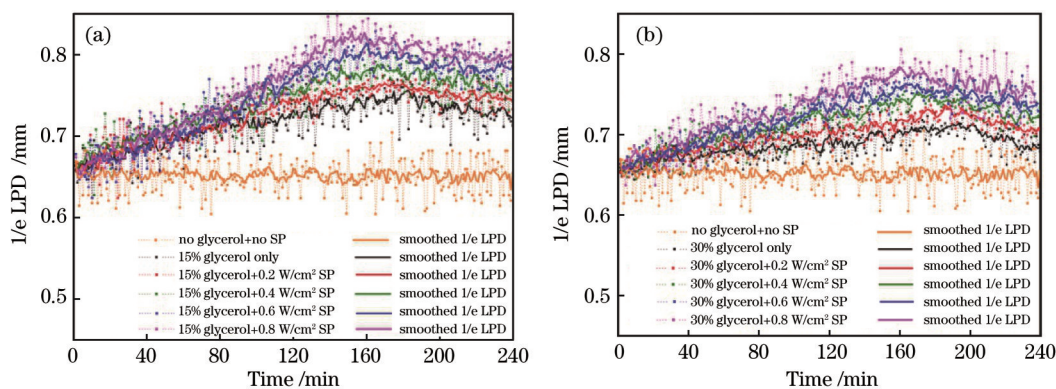


图 4 1/e 光穿透深度随时间的变化。(a)15% 甘油/SP;(b)30% 甘油/SP

Fig. 4 1/e light penetration depths change as a function of time. (a) 15% glycerol/SP; (b) 30% glycerol/SP

从图 4(a)和图 4(b)的结果可以看出,与 30% 甘油/SP 处理相比,15% 甘油/SP 处理的人体皮肤 1/e 光穿透深度的增加略快( $P < 0.05$ )。经过更高强度超声处理的皮肤的 1/e 光穿透深度更大,并且花费更少的时间即可达到最高值。甘油作为一种高渗透剂,应用于人体皮肤可以减少组织的散射并增加光学技术的成像深度。更重要的是,空化作用可能会导致角质层细胞间桥中的结构脂质暂时失调,并形成经皮分子扩散的时间通道<sup>[56]</sup>。空化作用随超声强度变化直接变化。当药剂迁移到细胞外和细胞内间隙时,化学药剂与组织内的主要散射组分相匹配,形成折射率匹配的环境,使光穿透增强,脱水效果增强<sup>[49,57]</sup>。

本研究表明,OCT 成像技术能连续动态地监测光透明剂在皮肤组织中的渗透特性以及其对皮肤组织的光穿透深度的影响,是一种有效的研究手段,可了解皮肤组织光透明特性变化的过程,通过定量的结果,将有助于多个强度超声联合渗透剂对生物组织的渗透特性及光穿透特性的影响作进一步研究。对渗透剂与生物组织作用过程的定量监测,对深化生物组织光学特性控制技术的研究,对组织光学成像具有一定的参考意义。

## 4 结 论

OCT 用于研究甘油/SP 在人体皮肤中的渗透系数和透明效果。实验结果表明,超声不仅可以加



速甘油溶液的渗透,而且可以改变人体皮肤的光学特性,增强光在皮肤中的穿透,而穿透深度的增加导致组织的衰减系数减小。随着超声强度的增加,人体皮肤中甘油溶液的平均渗透系数增加。通过  $0.8 \text{ W/cm}^2$  的超声处理,15% 和 30% 甘油溶液的渗透系数分别增加了 19.8% 和 22.2%。此外,局部应用高强度脉冲超声和甘油溶液可以更有效地减少人体皮肤的光散射,并显著增强光穿透深度 ( $P < 0.05$ )。为了最大化超声的空化效果,需要优化其他超声参数,例如频率、占空比和脉冲持续时间。未来的研究还应关注优化的超声参数与增强的透皮超声导入之间的相关性。

### 参 考 文 献

- [1] Prausnitz M R, Mitragotri S, Langer R. Current status and future potential of transdermal drug delivery [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3(2): 115-124.
- [2] Zaffaroni A. Overview and evolution of therapeutic systems[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1991, 618(1): 405-421.
- [3] Cai B, Söderkvist K, Engqvist H, et al. A new drug release method in early development of transdermal drug delivery systems[J]. *Pain Research and Treatment*, 2012, 2012: 953140.
- [4] Prausnitz M R, Langer R. Transdermal drug delivery [J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(11): 1261-1268.
- [5] Bouwstra J A, Honeywell-Nguyen P L, Gooris G S, et al. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations[J]. *Progress in Lipid Research*, 2003, 42(1): 1-36.
- [6] Lavon I, Kost J. Ultrasound and transdermal drug delivery[J]. *Drug Discovery Today*, 2004, 9(15): 670-676.
- [7] Ogura M, Paliwal S, Mitragotri S. Low-frequency sonophoresis: current status and future prospects[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2008, 60(10): 1218-1223.
- [8] Lee S, McAuliffe D J, Flotte T J, et al. Photomechanical transcutaneous delivery of macromolecules[J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 1998, 111(6): 925-929.
- [9] Karande P, Mitragotri S. Dependence of skin permeability on contact area[J]. *Pharmaceutical Research*, 2003, 20(2): 257-263.
- [10] Kost J, Mitragotri S, Gabbay R A, et al. Transdermal monitoring of glucose and other analytes using ultrasound [J]. *Nature Medicine*, 2000, 6(3): 347-350.
- [11] Mitragotri S, Coleman M, Kost J, et al. Analysis of ultrasonically extracted interstitial fluid as a predictor of blood glucose levels[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2000, 89(3): 961-966.
- [12] Mitragotri S, Coleman M, Kost J, et al. Transdermal extraction of analytes using low-frequency ultrasound[J]. *Pharmaceutical Research*, 2000, 17(4): 466-470.
- [13] Curdy C, Kalia Y N, Guy R H. Non-invasive assessment of the effects of iontophoresis on human skin *in-vivo*[J]. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2001, 53(6): 769-777.
- [14] Li G L, van der Geest R, Chanet L, et al. *In vitro* iontophoresis of R-apomorphine across human stratum corneum: structure-transport relationship of penetration enhancement[J]. *Journal of Controlled Release*, 2002, 84(1/2): 49-57.
- [15] Prausnitz M R. A practical assessment of transdermal drug delivery by skin electroporation[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1999, 35(1): 61-76.
- [16] Lombry C, Dujardin N, Pr eat V. Transdermal delivery of macromolecules using skin electroporation [J]. *Pharmaceutical Research*, 2000, 17(1): 32-37.
- [17] Mori K J, Hasegawa T, Sato S, et al. Effect of electric field on the enhanced skin permeation of drugs by electroporation[J]. *Journal of Controlled Release*, 2003, 90(2): 171-179.
- [18] Vanbever R, Pr eat V. *In vivo* efficacy and safety of skin electroporation[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1999, 35(1): 77-88.
- [19] Lee S, Kollias N, McAuliffe D J, et al. Topical drug delivery in humans with a single photomechanical wave[J]. *Pharmaceutical Research*, 1999, 16(11): 1717-1721.
- [20] Lee S, McAuliffe D J, Kollias N, et al. Permeabilization and recovery of the stratum corneum *in vivo*: the synergy of photomechanical waves and sodium lauryl sulfate[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2001, 29(2): 145-150.
- [21] McAllister D V, Allen M G, Prausnitz M R. Microfabricated microneedles for gene and drug delivery[J]. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2000, 2(1): 289-313.
- [22] Henry S, McAllister D V, Allen M G, et al. Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1998, 87(8): 922-925.

- [23] Ahad A, Aqil M, Kohli K, et al. Transdermal drug delivery: the inherent challenges and technological advancements[J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 5(6): 276-288.
- [24] Wu J R, Chappelow J, Yang J, et al. Defects generated in human stratum corneum specimens by ultrasound[J]. Ultrasound in Medicine & Biology, 1998, 24(5): 705-710.
- [25] Mitragotri S, Edwards D A, Blankschtein D, et al. A mechanistic study of ultrasonically-enhanced transdermal drug delivery[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1995, 84(6): 697-706.
- [26] Polat B E, Hart D, Langer R, et al. Ultrasound-mediated transdermal drug delivery: mechanisms, scope, and emerging trends[J]. Journal of Controlled Release, 2011, 152(3): 330-348.
- [27] Ghosn M G, Sudheendran N, Wendt M, et al. Monitoring of glucose permeability in monkey skin *in vivo* using optical coherence tomography[J]. Journal of Biophotonics, 2010, 3(1/2): 25-33.
- [28] Huang D, Swanson E A, Lin C P, et al. Optical coherence tomography[J]. Science, 1991, 254(5035): 1178-1181.
- [29] 俞婷婷, 朱丹. 整体器官的光透明成像方法综述[J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207007.  
Yu T T, Zhu D. Review of tissue optical clearing methods for imaging whole organs[J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207007.
- [30] 徐向群, 吴柳. 不同结构生物组织光透明作用比较[J]. 中国激光, 2006, 33(7): 998-1002.  
Xu X Q, Wu L. Dependence of optical clearing effect on tissue structure[J]. Chinese Journal of Lasers, 2006, 33(7): 998-1002.
- [31] 钟会清, 郭周义, 魏华江, 等. 超声波和丙三醇对皮肤光透明性的影响[J]. 中国激光, 2009, 36(10): 2503-2509.  
Zhong H Q, Guo Z Y, Wei H J, et al. Effects of ultrasound and glycerol on skin optical clearing[J]. Chinese Journal of Lasers, 2009, 36(10): 2503-2509.
- [32] Tuchin V V. Optical clearing of tissues and blood using the immersion method[J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 2005, 38(15): 2497-2518.
- [33] Jiang J Y, Boese M, Turner P H, et al. Penetration kinetics of dimethyl sulphoxide and glycerol in dynamic optical clearing of porcine skin tissue *in vitro* studied by Fourier transform infrared spectroscopic imaging[J]. Journal of Biomedical Optics, 2008, 13(2): 021105.
- [34] Kuranov R V, Sapozhnikova V V, Prough D S, et al. *In vivo* study of glucose-induced changes in skin properties assessed with optical coherence tomography [J]. Physics in Medicine and Biology, 2006, 51(16): 3885-3900.
- [35] Larina I V, Carbajal E F, Tuchin V V, et al. Enhanced OCT imaging of embryonic tissue with optical clearing[J]. Laser Physics Letters, 2008, 5(6): 476-479.
- [36] Wei H J, Wu G Y, Guo Z Y, et al. Assessment of the effects of ultrasound-mediated glucose on permeability of normal, benign, and cancerous human lung tissues with the Fourier-domain optical coherence tomography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2012, 17(11): 116006.
- [37] Xu X Q, Zhu Q H. Feasibility of sonophoretic delivery for effective skin optical clearing[J]. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 2008, 55(4): 1432-1437.
- [38] Xu X Q, Zhu Q H. Sonophoretic delivery for contrast and depth improvement in skin optical coherence tomography[J]. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 2008, 14(1): 56-61.
- [39] Khan M H, Choi B, Chess S, et al. Optical clearing of *in vivo* human skin: implications for light-based diagnostic imaging and therapeutics[J]. Lasers in Surgery and Medicine, 2004, 34(2): 83-85.
- [40] Whiteside P J D, Qian C X, Golda N, et al. Ultrasonic modulation of tissue optical properties in *ex vivo* porcine skin to improve transmitted transdermal laser intensity[J]. Lasers in Surgery and Medicine, 2017, 49(7): 666-674.
- [41] Park D, Song G, Jo Y, et al. Sonophoresis using ultrasound contrast agents: dependence on concentration [J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0157707.
- [42] Zhong H, Guo Z, Wei H, et al. Synergistic effect of ultrasound and thiazone-PEG 400 on human skin optical clearing *in vivo*[J]. Photochemistry and Photobiology, 2010, 86(3): 732-737.
- [43] Genina E A, Svenskaya Y I, Yanina I Y, et al. *In vivo* optical monitoring of transcutaneous delivery of calcium carbonate microcontainers[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(6): 2082-2087.
- [44] Xu X Q, Sun C J. Ultrasound enhanced skin optical clearing: microstructural changes[J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2010, 3(3): 189-194.
- [45] Guo X, Guo Z Y, Wei H J, et al. *In vivo* comparison of the optical clearing efficacy of optical



- clearing agents in human skin by quantifying permeability using optical coherence tomography[J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2011, 87(3): 734-740.
- [46] Zhang Y Q, Wei H J, Yang H Q, et al. Noninvasive blood glucose monitoring during oral intake of different sugars with optical coherence tomography in human subjects[J]. *Journal of Biophotonics*, 2013, 6(9): 699-707.
- [47] He R Y, Wei H J, Gu H M, et al. Effects of optical clearing agents on noninvasive blood glucose monitoring with optical coherence tomography: a pilot study[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(10): 101513.
- [48] Zhong H Q, Guo Z Y, Wei H J, et al. Enhancement of permeability of glycerol with ultrasound in human normal and cancer breast tissues *in vitro* using optical coherence tomography[J]. *Laser Physics Letters*, 2010, 7(5): 388-395.
- [49] Zhao Q L, Si J L, Guo Z Y, et al. Quantifying glucose permeability and enhanced light penetration in *ex vivo* human normal and cancerous esophagus tissues with optical coherence tomography[J]. *Laser Physics Letters*, 2011, 8(1): 71-77.
- [50] Stumpp O, Chen B, Welch A J. Using sandpaper for noninvasive transepidermal optical skin clearing agent delivery[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, 11(4): 041118.
- [51] Zhong H Q, Guo Z Y, Wei H J, et al. *In vitro* study of ultrasound and different-concentration glycerol-induced changes in human skin optical attenuation assessed with optical coherence tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, 15(3): 036012.
- [52] Zhang Y Q, Wei H J, Yang H Q, et al. *In vitro* study of the effects of ultrasound-mediated glycerol on optical attenuation of human normal and cancerous esophageal tissues with optical coherence tomography[J]. *Laser Physics*, 2013, 23(6): 065604.
- [53] Zhu Z, Wu G, Wei H, et al. Investigation of the permeability and optical clearing ability of different analytes in human normal and cancerous breast tissues by spectral domain OCT[J]. *Journal of Biophotonics*, 2012, 5(7): 536-543.
- [54] Park D, Yoon J, Park J, et al. Transdermal drug delivery aided by an ultrasound contrast agent: an *in vitro* experimental study[J]. *The Open Biomedical Engineering Journal*, 2010, 4: 56-62.
- [55] Escobar-Chávez J J, Bonilla-Martínez D, Villegas-González M A, et al. The use of sonophoresis in the administration of drugs throughout the skin[J]. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2009, 12(1): 88-115.
- [56] Yoon J, Park D, Son T, et al. A physical method to enhance transdermal delivery of a tissue optical clearing agent: combination of microneedling and sonophoresis[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2010, 42(5): 412-417.
- [57] Buranachai C, Thavarungkul P, Kanatharana P, et al. Application of wavelet analysis in optical coherence tomography for obscured pattern recognition[J]. *Laser Physics Letters*, 2009, 6(12): 892-895.