

doi:10.3788/gzxb20144309.0930001

DMSO 与噻酮对离体猪皮组织光学特性 参量改变的定量分析

蒋景英¹, 陈伟², 马聪聪¹, 徐可欣³

(1 天津大学 精密仪器与光电子工程学院 天津市生物医学检测技术与仪器重点实验室, 天津 300072)

(2 云南省医疗投资管理有限公司, 昆明 650011)

(3 天津大学 精密仪器与光电子工程学院 精密测试技术及仪器国家重点实验室, 天津 300072)

摘 要:从定量的角度评价高渗制剂与组织光学特性参量改变的关系. 利用 FT-IR 红外光谱仪与双积分球系统, 对离体猪皮组织在促渗剂二甲基亚砷与噻酮作用下的光谱进行测量, 并运用逆倍增方法计算得到组织的光学参量. 结果表明: 离体猪皮组织的光学特性参量(吸收系数和散射系数)随着高渗制剂作用时间的增加明显减小, 光在组织中的穿透深度增加. 由此可知猪皮组织的光学特性参量在两种促渗剂作用下随时间发生了动态改变, 且噻酮具有比二甲基亚砷更好的清透效果.

关键词:生物医学光子学; 组织光学清透; 逆倍增法; 光学参量; 皮肤组织; 噻酮

中图分类号: O433.4

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2014)09-0930001-4

Quantitative Investigation on the Changes of Optical Property Parameters by Using DMSO and Thiazone as Enhancers for Optical Clearing of Porcine Skin in Vitro

JIANG Jing-ying¹, CHEN Wei², MA Cong-cong¹, XU Ke-xin³

(1 Tianjin University, College of Precision Instrument & Opto-electronics Engineering, Tianjin Key Laboratory of Biomedical Detecting Techniques and Instruments, Tianjin 300072, China)

(2 Yunnan Provincial Medical Investment Management Co. Ltd, Kunming 650011, China)

(3 Tianjin University, College of Precision Instrument & Opto-electronics Engineering, State Key Laboratory of Precision Measuring Technology and Instruments, Tianjin 300072, China)

Abstract: The relationship between optical property parameters and the change of hyperosmotic agents were evaluated. Porcine skins, medicated without and with biocompatible hyperosmotic agents-dimethyl sulfoxide and thiazone, were measured by FT-IR spectrophotometer and double-integrating-spheres system. Optical property parameters of samples were calculated by inverse adding-doubling modeling method. The results demonstrated that with the course of the penetration of biocompatible hyperosmotic agents into porcine skin tissue, optical property parameters (absorption coefficient and scattering coefficient) of tissue samples have got decrease obviously along with the depth of light penetrating into tissue increased. In conclusion, the optical property parameters of bio-tissues could be changed by use of both agents, furthermore, thiazone has led to the better clearing than dimethyl sulfoxide.

Key words: Biomedical photonics; Tissue optical clearing; Inverse adding-doubling method; Optical parameters; Skin tissue; Thiazone

OCIS Codes: 300.1030 ; 300.6170; 300.6340

0 引言

光学清透方法在临床诊疗与光学成像技术领域具

有广泛的应用前景. 它通过引入生物兼容的高渗制剂, 改变生物组织的光学特性, 对生物组织进行一定程度的清透, 达到降低其散射效应, 提高生物组织的透明

基金项目: 国家高技术研究发展计划(No. 2012AA022602)和国家自然科学基金重点项目(No. 60938002)资助

第一作者: 蒋景英(1972-), 女, 副教授, 博士, 主要研究方向为生物医学光子学. Email: jingying@tju.edu.cn

收稿日期: 2013-12-16; 录用日期: 2014-04-01

<http://www.photon.ac.cn>

度,增强光在组织中穿透深度的效果^[1-2].目前,人们已经研究了甘油(Glycerol)^[3]、丙二醇(Propylene glycol)^[4]、二甲基亚砷(Dimethyl sulfoxide, DMSO)^[3-4]、油酸(Oleic acid)^[5]等高渗制剂作用于皮肤、胃肠组织、血液、巩膜甚至头骨等不同生物组织的光学清透效果.这些高渗制剂创造了一个与组织内折射率匹配的环境,不同程度地增强了组织对光的通透性,证实了在高渗制剂的作用下组织可变得更透明,最终为利用高渗制剂可增加光穿透皮肤组织的深度以及改善光学成像对比度提供了依据^[6-7].尽管如此,人们尚未完全理解光学清透的机理.

在一定程度上,光学清透的效果已通过光谱仪^[3]、光学相干层析成像(Optical Coherence Tomography, OCT)技术^[7]、CCD照相机^[5-6]、组织质量亏损^[4]以及透皮阻抗测量技术^[5]等得到证实.但是,上述研究多是从实验角度验证各种制剂应用于生物组织后引起的清透效果,并初步推断高渗制剂的引入增强了组织对光的透明度,这种推断仅停留在对实验结果的总结和解释上.到目前为止,少有研究从组织的光学特性参量入手,解释高渗制剂对组织光学清透的影响;另一方面,现应用于组织的高渗制剂如甘油、DMSO等对人体存在一定的毒副^[9]作用,需要寻找一种新型促渗剂.

本文利用FT-IR红外光谱仪与双积分球测量系统得到猪皮组织的光谱,然后通过逆倍增法(Inverse Adding-doubling, IAD)计算组织的光学特性参量,研究聚乙二醇分别在DMSO与噻酮(Thiazone)两种促渗剂的促渗作用下,对离体猪皮组织光学特性参量的动态改变情况,验证新型促渗剂噻酮在组织光学清透技术中应用的可行性.

1 材料与方法

1.1 组织样品制备

实验所用新鲜猪耳皮肤组织样品来自合格屠宰场.实验前用解剖刀小心将皮肤组织与猪耳朵软骨分离,然后剔除猪皮皮下组织和脂肪,得到含有角质层的皮肤组织.使用0.9%生理盐水清洗猪皮组织表面的污垢,将猪皮用塑料袋密封好,以防止其自然脱水,并保存于-80℃冷冻冰箱内备用.使用时,将冰冻的猪皮组织在4℃环境中融化,并切割成25 mm×25 mm的正方形切片.在每一次测量前,需要将样品置于室温下30 min,所有皮肤样品的平均厚度为1.14±0.08 mm.

1.2 高渗制剂的准备与配制

渗透剂聚乙二醇(Polyethylene Glycol, PEG400)和促渗剂DMSO购买于天津市科密欧化学试剂有限公司,折射率均为1.47,约等于皮肤中胶原纤维的折射率.噻酮购买于南京龙潭精细化工厂,为一种无色至微黄色的晶体,熔点为39~40℃,不溶于水,易溶于乙

醇、丙酮等有机溶剂,化学性质稳定,折射率为1.46~1.47.噻酮的毒理试验^[10]结果表明,噻酮对药物具有明显的促渗效果,能明显增高血药浓度,效果优于氮酮;噻酮对皮肤无任何过敏反应和刺激作用,表征毒性大小的LD₅₀值检测不到,而氮酮的LD50值为7.3±0.8 g/kg;噻酮对动物的行为、进食、饮水、排泄等一般情况没有影响,在连续给药30天后其各项血液学指标、血液生化指标未见显著差异.因此,将噻酮用作促渗剂安全可靠,有较大的优越性.

表1 实验所需的高渗制剂溶液
Table 1 Chemical solutions used in experiment

Solution	Chemical agents	Volum percentage
A	PEG400;NaCl	50:50%
B	PEG400;thiazone	50:50%
C	PEG400:DMSO	50:50%

配制高渗制剂时,由温度控制仪对噻酮进行水浴加热将其溶解,然后与PEG400进行混合,按照表1方案对所需高渗制剂进行配制.

1.3 实验设备及算法程序

利用FT-IR红外光谱仪(Spectrum GX, PerkinElmer, USA)和双积分球(IS-060-IG, LabSphere, USA)系统对经高渗化学制剂处理前和处理后皮肤组织样品的光谱进行测量.测量中,应用FT-IR红外光谱仪内部近红外光源作为光源.双积分球系统中光电检测系统由3个InGaAs(G5851-21, Hamamatsu Photonics K. K, Japan)检测器组成,分别用于收集扩散反射光,扩散透射光以及准直射光,由光电检测器收集的信号通过一个16位的数据采集卡(PCI-MIO-16XE-50, National Instrument Inc, USA)传输到计算机内进行处理.

测量时,将皮肤组织样品置于样品池两块石英玻璃片之间,并垂直固定于两个积分球间进行测量,以同样的方法利用双积分球系统对表1中各混合溶液作用于猪皮组织样品后不同时间间隔(10 min, 20 min, 30 min, 40 min和60 min)进行测量.最终数据取四次测量的平均值.猪皮组织样品的吸收系数和散射系数等光学特性参量通过IAD程序进行计算,实验中所用IAD程序是由美国Oregon激光医学研究中心Scott A. Prahl博士公布的IAD源程序改编而成.

2 实验结果

2.1 猪皮组织光学参量的动态改变

猪皮组织在高渗制剂A作用下,经过不同时间间隔(0 min, 10 min, 20 min, 30 min及60 min),利用双积分球系统及IAD算法得到离体猪皮组织的光学特性参量(吸收系数和散射系数)在1 000~1 700 nm范围内动态改变,经过曲线平滑后如图1.

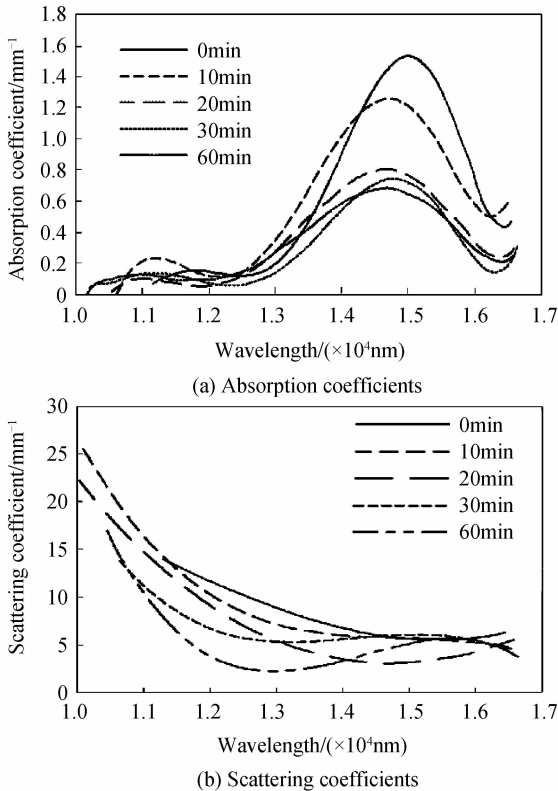


图1 不同时刻制剂A作用于猪皮组织的光学特性参量变化
Fig.1 Changes of optical property parameters of skin tissue samples after different moment treatment by Solution A

猪皮组织的光学特性参量在制剂A作用前后均有明显的变化:随着作用时间逐渐增加,吸收系数和散射系数都相对初始时刻呈现出逐渐减小的趋势。

图2为应用表1中三种高渗制剂作用于猪皮组织30 min后的光学特性参量.选择对样本经过制剂处理后30 min时光学特性参量进行比较,是因为根据光谱测量结果,皮肤组织样品在经过制剂处理后第30 min时,高渗制剂的渗透过程基本达到平衡,并且组织的光学清透效果最好,也和相关文献[11]的结果吻合。

从图2可以看出,在1000~1700 nm的波长段内,任一混合溶液使皮肤组织光学特性参量改变的程度均高于单一溶液,同时,图2(a)表明制剂B和C两

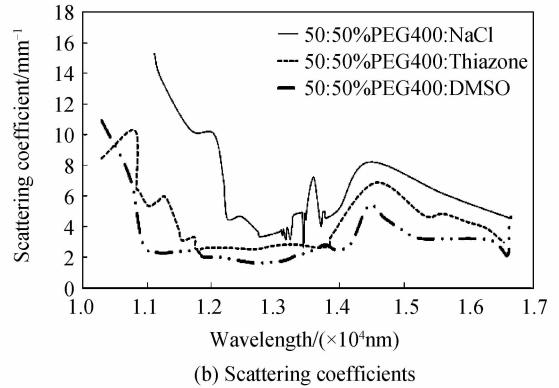
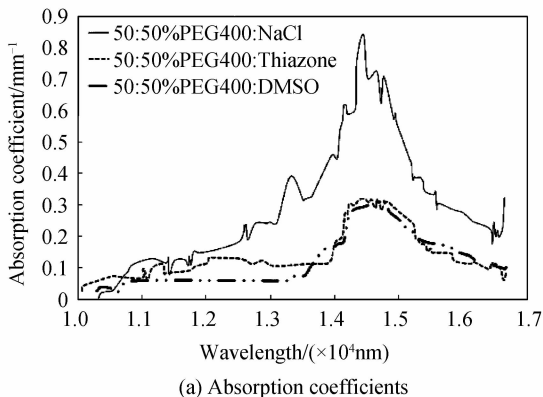


图2 三种制剂作用于猪皮组织后第30 min时的光学特性参量比较

Fig.2 Optical property parameters of skin tissue samples after 30-minute treatment by Solutions A, B and C 种溶液对于皮肤组织吸收系数的改变效果几乎相同。

图2(b)中,对比三条曲线可以发现,单一溶液PEG400作用于猪皮组织后第30 min,所引起皮肤散射系数降低的程度远远低于任何一种混合溶液.而在混合制剂中,制剂B使皮肤组织的散射系数减少的程度最大,表明了噻酮作为促渗剂可以提高皮肤的通透性,效果比DMSO好。

根据文献[12]及IAD程序计算得到的光学特性参量,选择在波长1250 nm处三种高渗制剂作用于猪皮组织30 min后的散射系数进行比较,如图3。

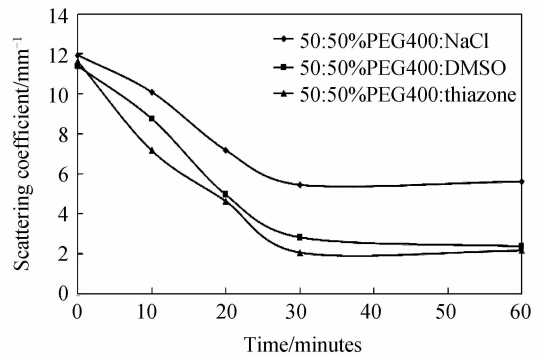


图3 1250 nm处三种制剂作用于猪皮组织不同时刻的散射系数比较

Fig.3 Scattering coefficients of skin tissue samples after different moment treatment by Solutions A, B and C at 1250 nm

从图3中可以看出,猪皮组织在三种高渗制剂的作用下,其散射系数都随着作用时间的增加而减少;在第30 min后三种制剂作用的猪皮组织散射系数均趋于平缓;同时,噻酮作用于猪皮组织后使其散射系数减小程度最大.因此,将噻酮应用于皮肤组织光学清透技术,不仅不会引发对人体的毒副作用,而且具有良好的光学清透效果,是DMSO不可比拟的优势。

2.2 离体猪皮组织的光谱测量

光谱测量的结果表明:在整个波长检测范围

(1 000~1 700 nm)内,制剂 B 和制剂 C 都能使组织样品漫透射谱的能量随着制剂处理时间的增加而逐渐增加,猪皮组织样品的清透效果越来越好。

为了定量比较制剂 B 和制剂 C 对组织样品的清透效果,将这两种制剂在波长为 1 250 nm 处对皮肤组织的光透射增强百分比进行分析,如图 4。从图中可看出,在相同处理时间内制剂 B(含噻酮)的透射率增加的幅度比制剂 C(含 DMSO)高,两者的透射率百分比在第 10 min 时分别为 54.61% 和 8.06%,第 20 min 时分别为 70.24% 和 35.82%,第 30 min 时分别为 131.66% 和 68.99%,第 60 min 时分别为 145.10% 和 70.42%。

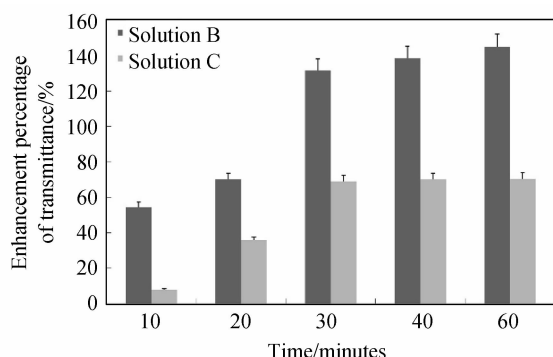


图 4 经制剂 B 和制剂 C 处理 10,20,30 60 min 后的透射增强百分比

Fig. 4 Enhancement percentage of transmittance after 10, 20, 30 and 60-minute treatment by Solutions B and C

3 讨论

生物组织的光学特性参量变化与组织中各种生理生化过程密切相关^[13],光的吸收和散射特性决定着近红外光穿透皮肤的深度^[4].猪皮组织与人体皮肤组织的结构相似^[14],这是选取离体猪皮组织为实验对象的依据.由于皮肤的多层结构(角质层、表皮层和真皮层)及其各向异性的物理特性,导致皮肤在近红外波段的光学散射效应,决定了皮肤组织存在一个很宽的折射率范围,使皮肤具有很强的随机散射特性,这正是限制近红外光穿透皮肤组织深度的主要因素.因此,为了改善近红外光穿透皮肤的深度,需要组织内折射率的变化达到最小从而减少散射作用.光学清透技术正是利用高渗制剂在组织内创造一个折射率匹配的环境,从而减少光的散射。

PEG400、DMSO 和噻酮均具有与组织中胶原蛋白的折射率相近的数值 1.47,这些高渗制剂渗透进入皮肤组织后,组织内液的折射率增加,组织的散射效应明显降低,从而使光的穿透深度增加^[4,14-15].本文得到同样的结果,如图 1~3,高渗制剂作用于皮肤组织后其吸收系数和散射系数都随着作用时间的增加而逐渐减小.光谱测量结果进一步证实了光穿透深度随吸收系

数和散射系数的降低而增加,如图 4.可为研究者提供一种新的应用于组织光学清透技术促渗剂。

4 结论

本文利用 FT-IR 红外光谱仪与双积分球系统测量了猪皮组织在 DMSO 和噻酮作用下的光谱谱,通过 IAD 计算了组织的光学特性参量.研究表明促渗剂 DMSO 与噻酮在组织光学清透技术中可以改变生物组织的光学参量,且噻酮具有较 DMSO 强的清透能力.由此可知在医学成像和无创检测领域,将噻酮应用于组织光学清透技术中,具有显著的优越性。

参考文献

- [1] GENINA E A, BASHKATOV A N, TUCHIN V V. Tissue optical immersion clearing[J]. *Expert Review of Medical Devices*, 2010, **7**(6): 825-842.
- [2] ZHU D, LARIN V K. Recent progress in tissue optical clearing[J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2013, **7**(5): 732-757.
- [3] VARGAS G, CHAN E K, BARTON J K, et al. Use of an agent to reduce scattering in skin[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1999, **24**(2): 133-141.
- [4] JIANG J, ZHANG L, WANG R K. Synergistic effect of hyperosmotic agents under topical application on optical clearing of skin tissue in vitro[C]. SPIE, 2005, **5696**: 80-90.
- [5] WANG J, ZHANG Y, XU T H, et al. An innovative transparent cranial window based on skull optical clearing[J]. *Laser Physics Letters*, 2012, **9**(6): 469-473.
- [6] TUCHIN V V. Optical immersion as a new tool for controlling the optical proper tissues and blood[J]. *Laser Physics*, 2005, **5**(8): 1109-1136.
- [7] JIANG J, WANG R K. Comparing the synergistic effects of oleic acid and dimethyl sulfoxide as vehicles for optical clearing of skin tissue in vitro[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2004, **49**(23): 5283-5294.
- [8] SUN Hui-xia, LI Peng, HE Yong-hong, et al. A study of the optical clearing by OCT[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2007, **16**(5): 521-521.
孙惠霞,李鹏,何永红,等.采用 OCT 系统对组织光学通透性的研究[J]. *激光生物学报*, 2007, **16**(5): 521-521.
- [9] SULZBERGER M B, CORTESE T A, FISHMAN L, et al. Some effects of DMSO on human skin in vivo[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1967, **141**(1): 437-450.
- [10] 熊丽曾,孔兆祥,王学斌. N-正烷基苯并异噻唑酮作为促渗剂的应用:中国, CN00107448.2 [P]. 2001-11-28.
- [11] WANG R K, TUCHIN V V. Enhance light penetration in tissue for high resolution optical imaging techniques by the use of biocompatible chemical agents[J]. *Journal of X-Ray Science and Technology*, 2002, **10**(3-4): 167-176.
- [12] PRAHL S A, GEMERT van M J C, WELCH A J. An iterative adding-doubling algorithm for determining the optical properties of turbid media[J]. *Applied Optics*, 1993, **32**: 559-568.
- [13] ZHAO Jun, DING Hai-shu, HOU Xin-lin, et al. Non-invasive determination of the optical properties of neonatal brain[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2005, **25**(11): 1768-1771.
赵军,丁海曙,侯新琳,等.新生儿脑部光学参量的无损检测[J]. *光谱学与光谱分析*, 2005, **25**(11): 1768-1771.
- [14] JIANG J, WANG R K, XU K X. Controlling optical properties of bio-tissue by the use of biocompatible hyperosmotic agents[C]. SPIE, 2007, **6439**: 64390F1.
- [15] HE Y, WANG R K. Dynamic optical clearing effect of tissue impregnated with hyperosmotic agents and studied with optical coherence tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, **9**(1): 200-206.