

На правах рукописи

Гуреева Марина Александровна

**Объективизация определения минимальной эритемной дозы с использованием методов
неинвазивной оптической диагностики для проведения фототерапии дерматозов**

3.1.23. Дерматовенерология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре дерматовенерологии и дерматоонкологии факультета усовершенствования врачей государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Хлебникова Альбина Николаевна

Научный консультант:

доктор медицинских наук, доцент

Куликов Дмитрий Александрович

Официальные оппоненты:

Матушевская Елена Владиславовна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования;

Корсунская Ирина Марковна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией физико-химических и генетических проблем дерматологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 19 декабря 2023 г. в 15 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета ПДС 0300.019 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, дом 17.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке РУДН по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. и на сайтах <https://www.rudn.ru/science/dissovet> и <http://vak.ed.gov.ru/>

Автореферат диссертации разослан « ____ » октября 2023 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета ПДС 0300.019
кандидат медицинских наук

Острцова Мария Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время фототерапия является одним из важнейших методов лечения в дерматовенерологии и используется при многих дерматозах: псориазе, параспориозе, атопическом дерматите, локализованной склеродермии, некоторых неопластических процессах и других заболеваниях кожи (George S.A. 1992, Krutmann J., Hönigsmann H. 2009, Mehta D., Lim H.W. 2016). Наиболее часто для проведения фототерапии используются различные варианты ультрафиолетового (УФ) излучения с длинами волн 320—400 нм (УФ типа А) и 290—320 нм (УФ типа Б). При этом, для начала курса фототерапевтического лечения необходимо определить стартовую дозу УФ-излучения. На современном этапе не существует «золотого стандарта» расчета стартовой дозы. Применяют 2 метода: с определением минимальной эритемной дозы (МЭД) или в ряде случаев минимальной фототоксической дозы (МФД) и без него (по фототипу кожи) (Do Alice N. 2004). Определение оптимальной дозы является краеугольным камнем, определяющим не только эффективность, но и безопасность фототерапии (Faurischou A., Wulf H. 2009). Кроме того, неверное определение стартовой дозы не редко является причиной возникновения локальных осложнений и, как следствие, приводит к прерыванию курса фотолечения, увеличению сроков госпитализации и связанных с этим экономических затрат (Haddican M.M., Bhutani T., McClelland P.B. 2011). В отдаленном периоде превышение дозы УФ-излучения повышает риск злокачественных новообразований кожи, фотостарения (Brash D.E. 2006, George S.A. 1992). Таким образом, существует потребность в разработке объективных методов оценки эритемы и пигментации после фотовоздействия, что позволит объективизировать определение МЭД и, как следствие, улучшить результаты фототерапии широкого круга заболеваний кожи.

Степень разработанности темы

В отечественной и зарубежной литературе накоплен определенный опыт объективного определения МЭД, МФД и пигментации с использованием различных вариантов спектрофотометрии (колориметрия, хромометрия) (Heckman C.J., Chandler R., Kloss J.D., и др. 2013, Jeon S.Y., Lee C.Y., Song K.H., и др. 2014, Lahti A., Kopola H., Harila A., и др. 1993), конфокальной лазерной микроскопии (Huang M. W., Lo P. Y., Cheng K. S. 2010), лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) (Lock-Andersen J., Gniadecka M, Olivarius F. и др. 1997), лазерной доплеровской визуализации (ЛДВ) (Wilhelm K.-P., Kaspar K., Funkel O. 2001) и других более редких методик (Кузьмина Т. С., Василевская Е. А., Ткаченко С. Б. 2005, Bodekær M., Philipsen P.A., Karlsmark T., и др. 2013). Основным сдерживающим фактором, препятствующим широкому внедрению этих методик в клиническую практику, являются методологические

недостатки: недостаточное изучение выраженности влияния сопутствующих вмешивающихся факторов (которые не представляют непосредственного интереса, но потенциально могут вносить существенные погрешности), отсутствие четкой стандартизации проведения измерений, и, главным образом, клинической интерпретации полученных оценочных данных. Некоторые из перечисленных технологий трудоемки и сложны в освоении, операторозависимы. В результате, полученные оценки нередко оказываются трудновоспроизводимыми. Кроме того, для проведения этих методов используется дорогостоящая аппаратура. Вместе с тем, оптические методики определения минимальной эритемной дозы обладают рядом потенциальных преимуществ: неинвазивность, малое время измерений, возможность оценки эффекта от терапии в динамике и др., что позволит повысить эффективность и безопасность лечения на основе объективных, воспроизводимых показателей, а не субъективной клинической оценки. Это и стало поводом для проведения настоящего исследования.

Цель

Разработка подходов к объективному определению минимальной эритемной дозы при проведении УФ-облучения с использованием методов неинвазивной оптической диагностики.

Задачи

1. Изучить эндогенную флуоресценцию маркеров УФ-повреждения порфиринов и локальные характеристики кровотока при УФ-облучении кожи методами оптической тканевой оксиметрии и лазерной флуоресцентной спектроскопии в эксперименте.
2. Определить наиболее информативные неинвазивные критерии ультрафиолетового повреждения кожи с использованием методов оптической неинвазивной спектроскопии.
3. Оценить потенциальную клиническую эффективность определения МЭД с использованием методов оптической неинвазивной спектроскопии при выборе доз УФБ-облучения с длиной волны 311 нм в комплексной терапии заболеваний кожи.

Научная новизна

1. Разработана экспериментальная модель ультрафиолет-индуцированной эритемы у мышей ICR. Верификация модели проведена при помощи оптических и патоморфологических методов.
2. Впервые произведено комплексное исследование динамических изменений оптических и патоморфологических параметров ультрафиолетового повреждения *in vivo* на модели ICR.
3. Разработаны критерии, отражающие ранние УФ-индуцированные изменения кожи на основе применения комбинации оптических методов. Из наиболее часто используемых методов (оптическая когерентная томография, лазерная флуоресцентная спектроскопия, лазерная

доплеровская флоуметрия, тканевая оксиметрия, абсорбционная спектроскопия) выбраны наиболее информативные.

4. Проведена оценка корреляционной связи данных, полученных методами неинвазивной оптической диагностики (оптической когерентной томографии, лазерной флуоресцентной спектроскопии, лазерной доплеровской флоуметрии, тканевой оксиметрии, абсорбционной спектроскопии) с данными наиболее объективного на сегодняшний день диагностического метода - гистологического исследования.
5. На основании экспериментальных результатов предложен к разработке способ определения МЭД с использованием наиболее диагностически ценных методов оптической неинвазивной спектроскопии. Сформулированы требования для дальнейшего клинического внедрения данного подхода.
6. В рамках пилотного исследования на здоровых добровольцах оценена потенциальная применимость предложенного способа определения МЭД при выборе доз УФБ-облучения с длиной волны 311 нм.
7. Получены данные как фундаментального (новые сведения о патогенезе УФ-эритемы), так и клинического характера, которые могут быть применены в медицинской практике - для объективизации и персонализации режимов фототерапии и превентивных подходов к лечению широкого круга заболеваний с применением методов фототерапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Применение оптических методов поможет дополнить фундаментальные знания о патогенетических механизмах УФ-индуцированного повреждения кожи. Новые данные о патогенезе имеют практическую ценность для персонализации и объективизации определения минимальной эритемной дозы при фототерапии различных заболеваний. Более того, полученные результаты могут лечь в основу дальнейших перспективных исследований по созданию нового медицинского оборудования, что позволит увеличить эффективность и безопасность фототерапии, оптимизировать расходы на лечение пациентов и снизить нагрузку на медицинский персонал. Среди областей медицины, наиболее перспективных для внедрения ожидаемых результатов, стоит выделить дерматологию, дерматоонкологию, косметологию, физиотерапию и превентивную медицину.

Методология и методы исследования

Исследования проведены с соблюдением норм GCP, принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС), принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European

Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986), а также принципов, изложенных в Приказе Минздрава СССР №755 от 12 августа 1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

1. Экспериментальное исследование на животных (самцы мышей ICR) по инициации и оценке реакции на инициированное ультрафиолетовое облучение
2. Экспериментальное исследование на здоровых добровольцах по оценке реакции на ультрафиолетовое облучение
3. Методы оптической диагностики кожи на многофункциональном лазерном диагностическом комплексе «ЛАКК – М» (ООО НПП «Лазма», Россия)
 - Лазерная флуоресцентная спектроскопия
 - Оценка интегрального показателя микроциркуляции
4. Оценка структуры кожи при помощи метода оптической когерентной томографии (ОКТ). Исследование проводилось на оптическом когерентном томографе - ОКТ 1300U (ООО «БиоМедТех», Нижний Новгород, Россия)
5. При помощи прибора «Спектротест» (АО НПП «Циклон-Тест», Россия) оценивался относительный индекс меланиновой пигментации поверхностных слоев обследуемой биологической ткани
6. Биопсия кожи и патоморфологическое исследование (Проводка материала осуществлялась по стандартному протоколу с последующим окрашиванием срезов гематоксилин-эозином).

Методы статистического анализа данных. Статистический анализ проводили в Microsoft Excel 2016 и Statistica 12 (Statsoft inc., США)). Анализ динамики изменений оптических параметров проводился с использованием критерия Вилкоксона. Связь между полученными оптическими данными и дозой УФ-излучения оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Вероятность ошибки первого рода считалась статистически значимой менее 5% ($p < 0,05$).

Положения, выносимые на защиту

1. Флуоресценция порфиринов и показатель микроциркуляции, оцененные при помощи оптической неинвазивной спектроскопии, имеют клинически значимую связь с такими гистологическими паттернами как выраженность воспалительного инфильтрата и толщина эпидермиса при УФ-индуцированном повреждении кожи.
2. Основным критерием развития УФ-повреждения в облученной коже является увеличение η индекса тканевого содержания флуорофоров.

3. Объективное определение МЭД в клинической практике при выборе доз УФБ-облучения с длиной волны 311 нм может проводиться с использованием методов оптической неинвазивной спектроскопии.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в практическую деятельность отделения дерматовенерологии и кафедры дерматовенерологии и дерматоонкологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Личный вклад автора

Определение цели, задач исследования, разработка дизайна, интерпретация полученных результатов были проведены под руководством научного руководителя и консультанта. Автор диссертационной работы принимала непосредственное участие в экспериментальных работах на животных моделях, обследовании условно-здоровых добровольцев на базе лаборатории медико-физических исследований и отделения дерматовенерологии, обработке данных и анализе результатов.

Автор непосредственно принимала участие в создании экспериментальной модели (в том числе при заборе биологических образцов) в условиях вивария лаборатории медико-физических исследований института, проводила измерения на оптическом оборудовании лаборатории.

Печатные работы (публикации) подготовлены при ключевом участии автора. Соавторы публикаций оказывали консультативную помощь, способствовали получению и систематизации экспериментальных данных. Выносимые на защиту научные положения, выводы и практические рекомендации являются результатом изысканий автора диссертационной работы.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов данного исследования подтверждается количеством включенных в эксперимент объектов (92), использованием методов объективизации полученных результатов – оптическая когерентная томография, гистологическое исследование, методы неинвазивной оптической диагностики кожи, а также современными методами статистической обработки данных.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на: 13-й Международной конференции по биомедицинским инженерным системам и технологиям (BIODEVICES), Валлетта, Мальта, 2020 г., Международной междисциплинарной научной конференции «Перспективная элементная база микро- и наноэлектроники с использованием современных достижений теоретической физики», Москва 2020 г., Московском областном

обществе дерматовенерологов Москва, 2021 г, Научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии» Москва 2022г.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ в рецензируемых научных журналах, из них 2 – в журналах, индексируемых в базе данных Scopus; 3 – в журналах перечня РУДН, 1 в других научных журналах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.1.23. Дерматовенерология (медицинские науки) и области исследования, а именно: п. 4, 5.

Структура и объем диссертации

Работа построена по классическому плану, изложена на 101 странице печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, а также 2 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы; иллюстрирована 27 рисунками, содержит 14 таблиц; содержит 100 литературных источников, из них 5 отечественных и 95 иностранных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Протокол исследования был одобрен локальным комитетом по этике (№ 9 от 01.09.2020г) и утвержден решением Ученого совета государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (протокол № 10 от 16.11.2020г).

Схема эксперимента на животных

Настоящее исследование проводилось на самцах мышей ICR (N=39) в возрасте 1 год (N=14) и 6-8 недель (N=25) массой 29-35 грамм. Животные содержались в стандартных условиях вивария: при температуре 21 – 23 °С, влажности 50 - 65% и 14-часовом дневном освещении. Животные получали сбалансированный гранулированный корм, не содержащий флюорофоры, и имели постоянный свободный доступ к питьевой воде. Длительность периода карантина животных составила 10 дней.

Всем экспериментальным животным было инициировано острое УФБ-индуцированное повреждение кожи. Предварительно, за 48 часов до исследования, в зоне спины удалялся волосяной покров (крем для депиляции veet). Ультрафиолетовое облучение производилось при помощи терапевтического источника УФБ с длиной волны 311 нм Dr. Honle серии Dermalight

500-1 (производство «Д-р Хёнле Медичинтехник ГмбХ», Германия), оборудованного лампами Phillips UV-B Narrowband TL – рисунок 1. Расстояние от ламп до дорсальной кожи мышей составило 10 см. Интенсивность (мощность) УФ-излучения предварительно измерялась на каждом этапе эксперимента при помощи спектрорадиометра (УФ-метра) ТКА-ПКМ. Доза УФ, воздействующая на животных ($\text{мДж}/\text{см}^2$), рассчитывалась по следующей формуле: интенсивность ($\text{мВт}/\text{см}^2$) \times время облучения (секунды). Во время облучения животные были наркотизированы во избежание лишних движений.



Рисунок 1 – Процесс облучения мышей с использованием источника УФБ 311нм Dr. Honle Dermalight 500-1

В эксперименте по моделированию УФ-эритемы и МЭД (тестовая группа) животные ($N=14$) были разделены на 2 группы: 7 мышей получили дозу ($700 \text{ мДж}/\text{см}^2$) и 7 мышей – ($1500 \text{ мДж}/\text{см}^2$).

В основном эксперименте мыши ($N=25$) были поделены на 5 подгрупп по 5 животных в каждой. Подгруппа интактного контроля ($N=5$) не была подвержена воздействию УФБ-излучения. У особей остальных подгрупп (кроме 1-й), было инициировано однократное острое УФБ повреждение кожи спины в дозе 3 МЭД, рассчитанной на основании данных первой части работы (на этапе разработки модели УФ-повреждения). Расстояние до источника составило 10 см, время облучения – 16 минут.

В тестовой группе животных ($N=14$) до облучения и через 0,5, 5 и 24 часа после него проводилась оптическая диагностика пораженной и интактной кожи методами лазерной

доплеровской флоуметрии (ЛДФ), лазерной флуоресцентной спектроскопии (ЛФС) и оптической тканевой оксиметрии (ОТО) при помощи комплекса ЛАКК-М, в также оптическая когерентная томография (ОКТ). В основном эксперименте (N=25) оптическая диагностика проводилась до облучения и через 0,5, 3, 6, 24 часа в зоне облученной и интактной кожи спины методами ЛДФ, ЛФС, ОТО.

Через 24 часа после облучения кожа мышей подвергалась визуальному осмотру и фотографировалась. Кроме того, лабораторные животные выводились из эксперимента (в тестовой группе – через 24 ч, в основной – до, через 0,5, 3, 6 и 24 ч) после облучения для проведения биопсии кожи спины (забор лоскута кожи 1,0 см на 1,0 см) и гистологического (с использованием красителей гематоксилин-эозин и толуидиновый синий) исследования с последующей проводкой материала по стандартному протоколу.

Схема эксперимента на здоровых добровольцах

В клиническую часть работы были включены 14 здоровых добровольцев-европейцев со II-III фототипами кожи по Фитцпатрику. Среди них было 8 мужчин и 6 женщин, средний возраст составил $26 \pm 3,2$ года. Набор добровольцев производился из числа обучающихся на факультете усовершенствования врачей (ФУВ) ГБУЗ МО МОНИКИ им М.Ф. Владимирского: все обучающиеся проходят регулярные медицинские осмотры, что обеспечило отбор здоровых обследуемых. Для исключения кожных заболеваний все добровольцы были проконсультированы врачом-дерматологом.

Критериями включения в группу исследования были: возраст от 18 лет, наличие подписанного информационного согласия на участие в исследовании. Критерии невключения: беременность, наличие соматических заболеваний, наличие острых инфекций (ОРВИ, грипп и т.д.), наличие злокачественных опухолей кожи в анамнезе, наличие кожных заболеваний в стадии обострения, наличие заболеваний крови – тромбоцитопения, анемия средней и тяжелой степени и т.д., наличие психических заболеваний, наличие лихорадки. Критерии исключения для группы пациентов: решение пациента о прекращении участия в исследовании, обнаружение одного или нескольких критериев невключения после подписания пациентом информированного согласия на участие в исследовании.

УФБ-облучение производилось при помощи терапевтического источника УФБ с длиной волны 311 нм Dr. Honle серии Dermalight 500-1 (производство «Д-р Хёнле Медиктехник ГмбХ», Германия), оборудованного лампами Phillips UV-B Narrowband TL. Выбор источника УФБ определялся применением данной длины волны в терапии псориаза (как наиболее частого показания для проведения фототерапии в дерматологии). Интенсивность УФ-излучения измерялась перед каждым сеансом облучения при помощи спектрорадиометра (УФ-метра) ТКА-

ПКМ. На кожу исследуемой области закреплялась гипоаллергенная пластинка Daavlin с шестью квадратными окошками (размер квадрата – 1 см x 1 см). Участок кожи в первом окошке облучался стартовой дозой УФ-Б. Доза УФ-излучения в каждом квадрате ступенчато увеличивалась (согласно референсным таблицам руководства по фототерапии института дерматологии St John's, St Thomas' Hospital, London) – Таблица 1. Таким образом, участки кожи в квадратных ячейках кумулятивно подвергались дозам УФ-излучения в диапазоне от 100 до 770 мДж/см².

Таблица 1 – Ступенчатое увеличение дозы УФБ311 от ячейки к ячейке в зависимости от фототипа по Фитцпатрику (адаптировано из Palmer R., Garibaldino T, et al. 2005)

Фототип кожи	Ячейка 1	Ячейка 2	Ячейка 3	Ячейка 4	Ячейка 5	Ячейка 6
I, II	100	140	200	280	390	550
III, IV	140	200	280	390	550	770
V	200	280	390	550	770	1080

Через 24 часа после УФ-Б воздействия у участников эксперимента проводилась субъективная визуальная оценка эритемы 2 наблюдателями с использованием оценочной шкалы, выбран участок, соответствующий МЭД (едва заметная эритема с четкими границами) и рассчитана доза УФБ. Кроме того, до облучения и через 0,5, 3, 6, 24 часа после него во всех участках, подверженных действию УФБ излучения, проводилась оптическая диагностика кожи оптическими методами с использованием лазерной флуоресцентной диагностики, лазерной доплеровской флоуметрии, оптической тканевой оксиметрии при помощи комплекса ЛАКК-М, оптической когерентной томографии, а также абсорбционной спектроскопии.

Методы оптической диагностики

Все измерения проводились на многофункциональном лазерном диагностическом комплексе «ЛАКК – М» (ООО НПП «Лазма», Россия).

Режим работы «Флуоресценция» на ЛАКК-М реализуется через метод лазерной флуоресцентной спектроскопии. На исследуемый образец кожи при помощи оптоволоконного зонда поступает маломощное излучение мощностью на дистальном торце примерно 2 – 10 мВт. Отраженное излучение через приёмный канал оптоволоконна поступает на спектрометр и его параметры регистрируются в режиме реального времени.

Для возбуждения флуоресценции применялись источники излучения видимого и ближнего УФ с длинами волн $\lambda_e = 365$ и 535 нм соответственно. Длины волн, на которых исследуемые флуорофоры достигали максимальной флуоресценции (λ_f), различались: коллаген – $\lambda_f = 455$ нм, порфирина – $\lambda_f = 610-630$ нм. Поскольку вклады коллагена и эластина в общий спектр трудноразделимы, при анализе считали, что флуоресценция на длине волны $\lambda_f = 455$ нм

отражает наличие обоих флюорофоров. При введении препарата «Фотосенс» отслеживали интенсивность на длине волны флюоресценции препарата $\lambda_f = 680-690$ нм и величину пика обратного рассеяния на длине волны используемого лазера $\lambda_e = 635$ нм.

Для количественной оценки флюоресценции в ряде случаев использовался индекс тканевого содержания флюорофора, который рассчитывается по формуле

$$\eta_{\text{флюорофор}} = \frac{I_f \beta}{I_f \beta + I_e}$$

где I_f – интенсивность на длине волны флюоресценции определенного флюорофора, I_e – интенсивность на длине волны лазера, используемого для возбуждения флюоресценции, β – коэффициент ослабления используемого светофильтра, $\beta \approx 1000$.

Чтобы исключить вариабельность исходной эндогенной флюоресценции кожи добровольцев, интенсивность флюоресценции нормировали на интенсивность флюоресценции необлученной (интактной) кожи $\mu(\lambda_f)$:

$$\mu(\lambda_f) = \frac{I(\lambda_f)}{I_0(\lambda_f)}$$

где $I(\lambda_f)$ – интенсивность флюоресценции в зоне УФ-облученного участка кожи, $I_0(\lambda_f)$ – интенсивность флюоресценции контрлатерального интактного участка кожи.

В режиме «Микроциркуляция» комплекс ЛАКК-М позволяет непрерывно в режиме реального времени неинвазивно оценивать интенсивность микроциркуляции (в приборе данная оценка выражена в виде интегрального показателя микроциркуляции – ПМ), степень насыщения гемоглобина кислородом в капиллярах, а также объем фракции гемоглобина V_b . Метод реализуется в виде абсорбционной спектрометрии, основанном на оценке разницы в регистрируемых сигналах в красном и зеленом спектрах.

При помощи прибора «Спектротест» (АО НПП «Циклон-Тест») оценивался относительный индекс меланиновой пигментации поверхностных слоев обследуемой биологической ткани (Me). В приборе используются аппаратные методы абсорбционной спектроскопии и спектроскопии рассеяния совместно с физико-математическим аппаратом решения обратных задач оптики светорассеивающих сред, реализованным программно. Принцип работы прибора основан на облучении исследуемой ткани низкоинтенсивным светом видимого и ближнего инфракрасного диапазона спектра и регистрации отраженного рассеянного излучения. Сигнал преобразуется, усиливается и фильтруется, а затем фиксируется в компьютере. Глубина зондирования ткани для разных типов ткани составляет порядка 3-5 мм. Прибор позволяет косвенным образом идентифицировать и количественно оценивать содержание определенных биохимических компонентов.

Оценка структуры кожи проводилась при помощи метода оптической когерентной томографии (ОКТ). Исследование проводилось на оптическом когерентном томографе -

ОКТ 1300U (ООО «БиоМедТех», Нижний Новгород, Россия). ОКТ – метод, позволяющий проводить неинвазивную (без повреждения кожных покровов) визуализацию микроструктуры биотканей. Физический принцип работы ОКТ основан на регистрации отраженного от структур объекта света с последующим анализом интерференции регистрируемого и опорного лучей. Глубина исследуемого объема – около 700 мкм. ОКТ-изображения позволяют проводить оценку целостности структурных слоев, их взаимного расположения и толщины.

Биопсия кожи и патоморфологическое исследование

Через 0,5, 3, 6 и 24 часа после УФ-воздействия у экспериментальных животных проводилась биопсия кожи спины с последующим гистологическим анализом тканей. Кроме того, забор материала и гистологическое исследование проводилось у интактных мышей. Животных умерщвляли летальной дозой наркоза (содержащего 1% Zoletil и 0.4% Rometar), вырезали фрагмент кожи размером 1x1 см и фиксировали в растворе 10% формалина. Полученные образцы, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали материал в Histomix®, получали срез препарата толщиной 7 мкм. Проводка материала осуществлялась по стандартному протоколу с последующим окрашиванием срезов гематоксилин-эозином.

Методы статистического анализа данных

Статистический анализ проводили в Microsoft Excel 2016 и Statistica 12 (Statsoft inc., США). Анализ динамики изменений оптических параметров проводился с использованием критерия Вилкоксона. Связь между полученными оптическими данными и дозой УФ-излучения оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Вероятность ошибки первого рода считалась статистически значимой менее 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эксперименты по оценке минимальной эритемной дозы у животных

На первом этапе исследования были проведены работы по моделированию острого УФ-повреждения у экспериментальных животных. Согласно данным литературы, для моделирования острого УФ-повреждения у разных линий мышей, как правило, требовались высокие дозы УФБ с длиной волны 311 нм, при этом значения широко варьируются в литературе – от 200 до 1600 мДж/см² (Clydesdale G.J., Dandie G.W., Muller H.K. 2001, Diffey B.L., Jansén C.T., Urbach F., и др. 1997). Поэтому в серии экспериментов по созданию модели УФ-эритемы и определению МЭД мы последовательно оценивали эритемную реакцию у небольших групп животных, облучаемых УФБ в диапазоне от 210 до 700 мДж/см²: 210 мДж/см² (n=3), 280 мДж/см² (n=2), 350 мДж/см² (n=3), 420 мДж/см² (n=2), 560 мДж/см² (n=3), 630 мДж/см² (n=2),

700 мДж/ см² (n=3), 1000 мДж/ см² (n=2) и 1500 мДж/ см² (n=3). Через 24 часа после облучения производился визуальный осмотр и фотографирование облученной кожи дорсальной области на предмет УФ-индуцированных изменений: ее покраснения (эритемы), повреждения (эрозирования) и отека. Кожа облученных мышей сопоставлялась с таковой у необлученных (контрольных особей n=5).

При воздействии на мышей доз УФБ-излучения в диапазоне от 210 до 640 мДж/ см² через 24 часа не удалось зафиксировать каких-либо признаков УФ-эритемы и отека. Между тем, при дозе 700 мДж/ см² через 24 часа после облучения отмечалась эритема и незначительный отек кожи спины (по сравнению с интактными животными).

На следующем этапе оценивались оптические изменения и патоморфологическая картина, наблюдаемые при формировании УФ-эритемы и необходимые для верификации воспалительных изменений при данном уровне дозы. Так, 2 группы мышей ICR были облучены УФБ 311 нм в дозе 700 мДж/см² (n=7) и в увеличенной дозе – 1500 мДж/ см² (n=7). До облучения и через 0,5, 5, 24 часа после него проводилась оптическая диагностика пораженной и интактной кожи методами лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), лазерной флюоресцентной спектроскопии (ЛФС) и оптической тканевой оксиметрии (ОТО) при помощи комплекса ЛАКК-М (ООО НПП «Лазма», Россия)

Через 24 часа после облучения кожа мышей подвергалась визуальному осмотру и фотографировалась. Кроме того, лабораторные животные выводились из эксперимента через 24 ч после облучения для проведения биопсии кожи спины (забор лоскута кожи 1,0 см на 1,0 см) и гистологического (с использованием красителя гематоксилин-эозин) исследования с последующей проводкой материала по стандартному протоколу.

Через 24 часа после облучения кожи мышей обоими уровнями доз УФ (700 и 1500 мДж/см²) мы обнаружили визуальные признаки УФ-повреждения – эритему розоватого цвета, сопровождающуюся небольшим отеком тканей. При увеличенной дозе (1500 мДж/см²) цвет эритемы визуально не отличался, однако отек был более выраженным и отмечались единичные эрозии.

Установлено, что интенсивность флюоресценции и индекс тканевого содержания порфиринов изменялись через 24 ч после УФ-воздействия по сравнению с кожей до облучения. В ходе экспериментов мы не обнаружили каких-либо изменений аутофлюоресценции порфиринов в красном свете, поэтому на дальнейших этапах работы этот оптический параметр не включался в анализ. Учитывая тот факт, что ультрафиолетовое повреждение кожи является типовым патологическим воспалительным процессом, можно предположить, что изменения параметров флюоресценции порфиринов отражают его выраженность.

По данным патоморфологического исследования было показано, что через 24 часа в коже при обоих уровнях дозы наблюдалась картина сформированного УФ-повреждения – появление апоптотических кератиноцитов («sunburn» cells – «ожоговых» клеток), вакуолизация базального слоя эпидермиса («interface reaction» - «интерфейс-реакция»), равномерная лимфоцитарно-гистиоцитарная инфильтрация, а также утолщение эпидермиса и эрозивные дефекты (Рисунок 2).

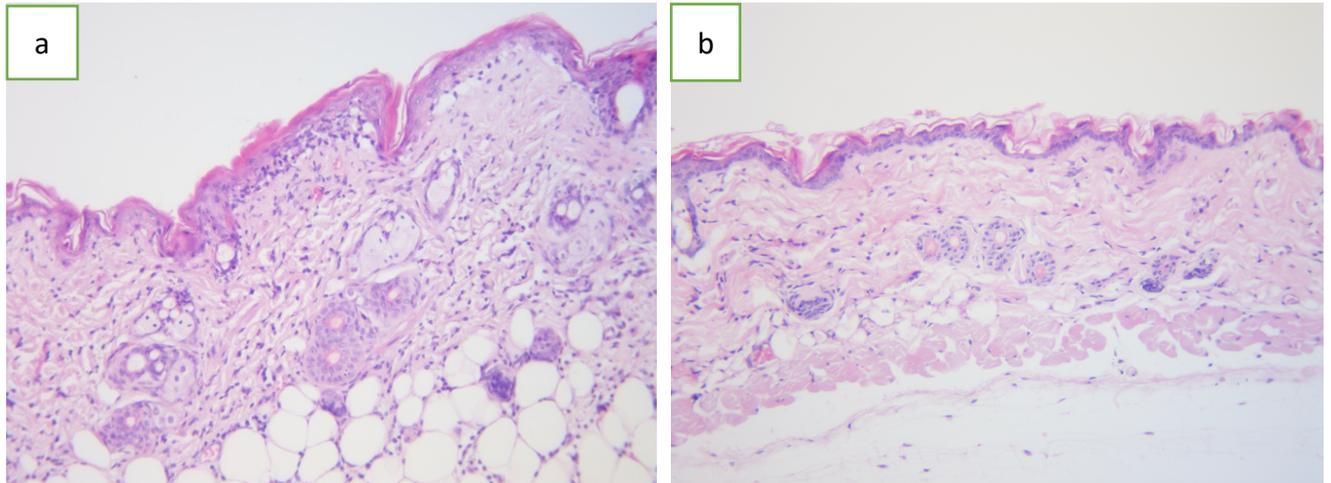


Рисунок 2 - Картина УФ-повреждения кожи через 24 часа (а - Н&Е X200) по сравнению с интактной кожей (b - Н&Е X200)

При помощи ОКТ мы смогли обнаружить признаки утолщения эпидермиса через 24 часа после облучения УФ, что соотносится с данными гистологического исследования.

Таким образом, опираясь на полученные визуальные данные (эритема и отек кожи через 24 часа), результаты оптической диагностики (увеличение флюоресценции порфиринов через 24 часа, зависящее от дозы) и данные гистологического исследования, можно сделать вывод о том, что доза УФБ 311 нм 700 мДж/см² может считаться минимальной эритемной дозой, необходимой для индукции острого УФ-повреждения у мышей ICR. Полученная модель может использоваться в дальнейших экспериментах. Кроме того, была показана ценность лазерной флюоресцентной диагностики в оценке воспалительных изменений кожи после УФ-облучения.

Оценка изменений кожи, вызванных УФ-повреждением, с использованием оптических технологий у лабораторных животных *in vivo*: основной эксперимент

Группа мышей ICR (N=25) в возрасте 6–8 недель и массой 25-30 грамм была включена в основной эксперимент, направленный на оценку оптических и патоморфологических изменений кожи, индуцированных острым УФ-воздействием.

При визуальном осмотре первые признаки УФ-эритемы были отмечены у облученных мышей через 24 часа.

При анализе характеристик местного кровотока было установлено, что показатель микроциркуляции (ПМ) и объём кровенаполнения (Vb) динамически изменялись с течением времени. ПМ достигал пика через 3 часа после облучения, а затем снижался до значений, близких к нормальным значениям, в точке 24 часа. Результаты оптических измерений представлены на Рисунке 3 и в Таблице 2.

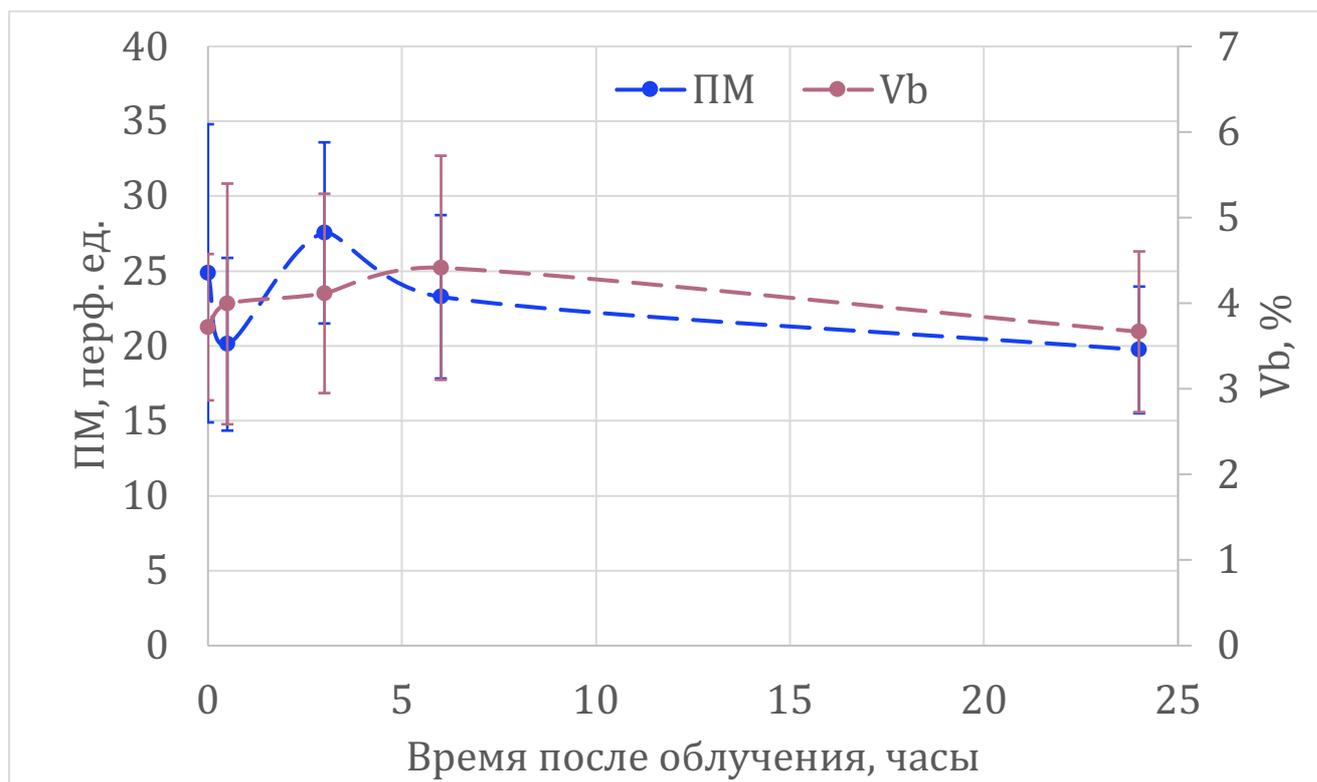


Рисунок 3 - Динамика показателей местного кровотока у мышей, подверженных УФ-излучению

Таблица 2 – Показатели местного кровотока у мышей, подверженных УФ-излучению (среднее и стандартное отклонение (СО) значений в группе животных)

Показатель	Время после облучения, часы				
	0	0,5	3	6	24
	Среднее (СО)	Среднее (СО)	Среднее (СО)	Среднее (СО)	Среднее (СО)
ПМ, перф.ед.	24,9 (10)	20,1 (5,8)	27,6 (6)	23,3 (5,5)	19,7 (4,2)
Vb, %	3,7 (0,9)	4,0 (1,4)	4,1 (1,2)	4,4 (1,3)	3,7 (0,9)

При анализе результатов ЛФС, также отмечены динамические изменения показателей флюоресценции с течением времени. Зафиксированы пики интенсивности флюоресценции порфиринов и индекса тканевого содержания порфиринов (Таблица 3), а также пиковые значения этих параметров для коллагена/эластина в точке через 3 часа после УФ-воздействия (Таблица 4).

Таблица 3 - Показатели флюоресценции при длине волны возбуждения 535 нм (среднее и стандартное отклонение (CO) значений в группе животных)

L	Время после облучения, часы				
	0	0,5	3	6	24
	Среднее (CO)	Среднее (CO)	Среднее (CO)	Среднее (CO)	Среднее (CO)
I _{bs} 535	820,37 (193,36)	861,47 (124,09)	913 (113,16)	796,19 (188,79)	767,62 (141,86)
I _f липофусцин	85,37 (36,39)	116,82 (44,87)	155,44 (35,79)	102,91 (43,53)	108,92 (33,47)
I _f порфирины	106,01 (41,16)	150,29 (51,82)	211,7 (51,85)	138,69 (52,57)	136,35 (35,23)
η липофусцин	0,113 (0,026)	0,147 (0,028)	0,189 (0,038)	0,148 (0,028)	0,126 0,017 ()
η порфирин	0,134 (0,029)	0,169 (0,031)	0,206 (0,036)	0,164 (0,032)	0,145 (0,018)

Таблица 4 - Показатели флюоресценции при длине волны возбуждения 365 нм (среднее и стандартное отклонение (CO) значений в группе животных)

L	Время после облучения, часы				
	0	0,5	3	6	24
	Среднее (CO)	Среднее (CO)	Среднее (CO)	Среднее (CO)	Среднее (CO)
I _{bs} 365	331,83 (111,03)	370,8 (180,83)	325,93 (113,32)	260,19 (95,54)	292,61 (86,71)
I _f коллаген	232,37 (78,91)	228,03 (89,92)	253,84 (88,7)	186,87 (56,15)	193,57 (53,36)
η коллаген	0,412 (0,065)	0,396 (0,034)	0,438 (0,04)	0,423 (0,048)	0,398 (0,031)

При анализе результатов патоморфологического исследования можно выделить ряд паттернов, характеризующих УФ-индуцированные изменения кожи: «ожоговые» клетки («sunburn»-cells), вакуолизация базальных кератиноцитов, воспалительный инфильтрат, тучные клетки, утолщение эпидермиса, эрозивные и язвенные дефекты эпидермиса.

Установлено, что через 0,5 часа после облучения наблюдалась нейтрофильная инфильтрация, выраженное увеличение популяции тучных клеток. Через 3 и 6 часов развивалось наиболее выраженное повреждение. В точке 3 часов воспалительный ответ достигал своего пика: развивалась обильная нейтрофильная инфильтрация, утолщение эпидермиса и формирование эрозивных дефектов, выраженная интерфейс-реакция, активация и увеличение популяции тучных клеток. Через 6 часов инфильтрат становился менее выраженным и смешанным (нейтрофильно-гистиоцитарным) и отмечались единичные ожоговые клетки. В точке 24 часа развивалась стабильная картина сформированного УФ-повреждения с ожоговыми клетками,

вакуолизацией базального слоя эпидермиса, равномерной лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрацией.

По полученным в результате корреляционного анализа данным (Таблица 5) можно говорить о существовании взаимосвязи между оптическими параметрами, а именно индексом тканевого содержания порфиринов, коллагена/эластина, показателями микроциркуляции, и рядом патоморфологических паттернов: выраженностью воспалительного инфильтрата, эрозивными дефектами и толщиной эпидермиса.

Таблица 5 - Результаты корреляционного анализа между морфологическими и оптическим параметрами кожи мышей после УФ-облучения

Оптический параметр	Морфологический параметр	Коэффициент корреляции Спирмена	p-value
η порфирин	выраженность инфильтрата	0,912	0,031
	интерфейс-реакция	-0,088	0,889
	ожоговые клетки	-0,385	0,523
	гиперкератоз	0,721	0,170
ПМ	выраженность инфильтрата	0,486	0,406
	интерфейс-реакция	-0,313	0,608
	ожоговые клетки	-0,582	0,303
	гиперкератоз	0,515	0,375
η коллаген	выраженность инфильтрата	0,750	0,144
	интерфейс-реакция	-0,026	0,967
	ожоговые клетки	-0,399	0,506
	гиперкератоз	0,737	0,156

В то же время, при применении коэффициента Спирмена удалось обнаружить статистически значимую корреляцию только между степенью выраженности воспалительного инфильтрата и индексом тканевого содержания порфиринов ($r=0,912$, $p=0,031$).

Разработка подходов к определению МЭД у человека с использованием методов оптической неинвазивной спектроскопии

По итогам анализа полученных в эксперименте *in vivo* оптических и патоморфологических данных можно сделать вывод, что критерием развития УФ-повреждения является увеличение индекса тканевого содержания (η) порфиринов в коже в 1,2 раза по сравнению таковым в интактной коже (без облучения).

Мы не рассматривали в качестве критериев сдвиги в параметрах флюоресценции липофусцина и коллагена/эластина после УФ-воздействия, т.к в данной работе не удалось обнаружить патогенетической взаимосвязи между этими оптическими маркерами и гистологической картиной.

Стоит отметить, что остальные оптические параметры (ПМ, данные ОКТ) не оказались информативными. ПМ продемонстрировал лишь тенденцию к изменениям в разных точках после УФ-воздействия, но был менее чувствительным к УФ-индуцированным изменениям в коже мышей. Вероятно, у человека ПМ и другие характеристики местного кровотока могут быть более информативными из-за различий в толщине кожи.

На основании приведенных выше экспериментальных данных и данных литературы мы пришли к выводу, что ЛФС и ЛДФ/ОТО являются наиболее подходящими методами для оценки УФ-повреждений кожи и могут быть использованы для объективного определения и прогнозирования МЭД у человека.

В пилотное исследование по оценке применимости разработанной технологии объективной оценки МЭД вошло 14 молодых здоровых добровольцев. У всех участников проводилась оценка МЭД на коже верхней трети спины и живота традиционным методом, а также оптическая диагностика кожи до облучения, через 0,5, 3, 6 и 24 часа после ступенчатого УФ-воздействия (см. раздел «Материал и методы»). Исследуемые характеристики лиц, включенных в исследование приведены в Таблице 6.

Используя коэффициент ранговой корреляции Спирмена, было обнаружено, что МЭД добровольцев коррелировала с их фототипом кожи по Фицпатрику ($r = 0,56$; $p=0,036$), меланиновый индекс (MI) коррелировал с фототипом кожи ($r = 0,79$; $p=0,007$).

Таблица 6 - Исследуемые характеристики здоровых добровольцев - участников исследования

N	Фототип кожи	Меланиновый индекс (MI)	МЭД, мДж/см ²	Зона оценки МЭД
1	3	0,0524	280	живот
2	3	0,0566	400	спина
3	2	0,0445	280	спина
4	2	0,0501	200	живот
5	3	0,0548	470	живот
6	2	0,0501	280	спина
7	3	0,0560	750	спина
8	2	0,0544	560	спина
9	3	0,0574	380	спина
10	3	0,0693	750	спина
11	3	0,0693	770	спина
12	2	0,0521	280	спина
13	3	0,0558	380	спина
14	3	0,0551	380	живот

При помощи корреляционного анализа были выявлены связи между дозой УФ-излучения, воздействующей на кожу в ячейках, и удельным потреблением кислорода тканями (U), нормализованным на интактную кожу за 3 часа (коэффициент корреляции Спирмена $[r] = -0,297$;

$p = 0,01$) и через 24 часа ($r = -0,307$; $p = 0,0004$) после облучения (рисунок 4). Более того, была выявлена корреляция между степенью УФ-дозы и интенсивностью флуоресценции порфиринов $\lambda_e = 535$ нм через 6 часов после УФ-облучения, нормализованной для неповрежденной кожи ($r = -0,249$, $p = 0,01$).

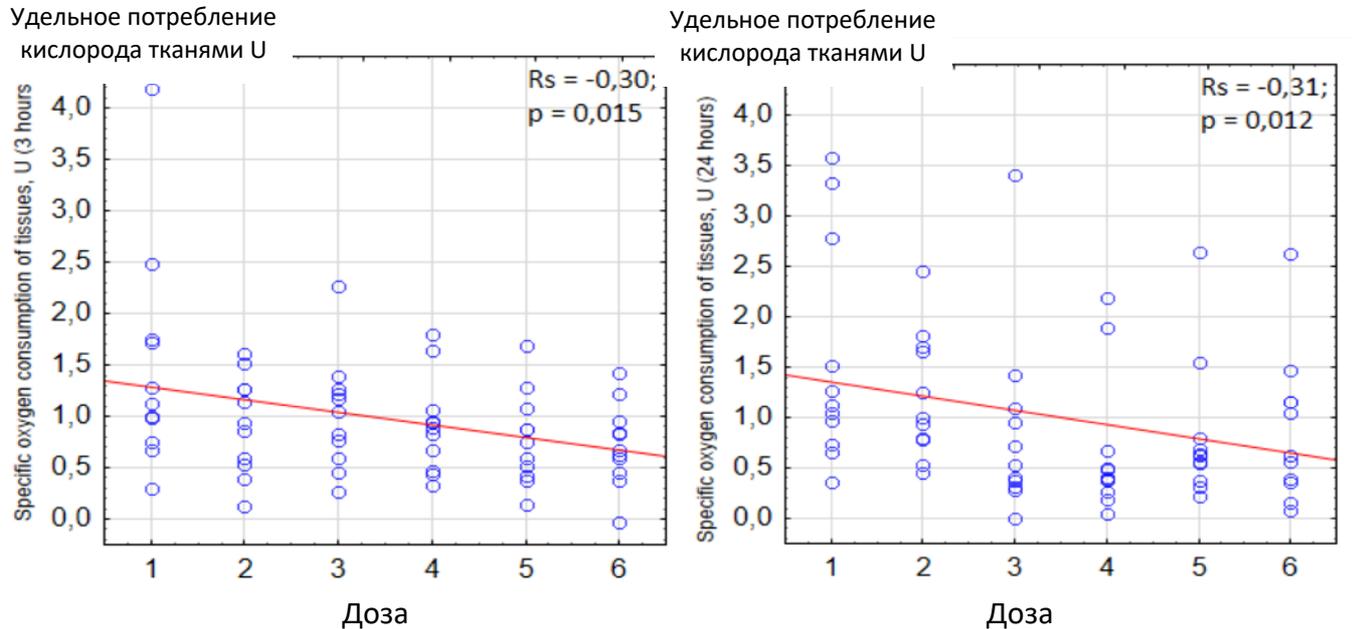


Рисунок 4 – Корреляции между удельным потреблением кислорода тканями (U) и дозой УФ в ячейках через 3 (слева) и через 24 часа (справа) после облучения (1 - самая низкая доза, 6 - самая высокая доза)

Полученные нами клинические результаты, демонстрируют динамические изменения оптических маркеров в ходе острого УФ-индуцированного повреждения кожи и согласуются с доклиническими данными. Таким образом, изменение индекса U (удельное потребление кислорода тканями) отражает изменения в метаболическом состоянии эпидермальных и дермальных клеток, индуцированные острым УФ-облучением. Также было показано, что с увеличением интенсивности и дозы УФ-излучения повреждение кожи становится более выраженным.

Кроме того, в ходе исследования было обнаружено, что нормализованная интенсивность флуоресценции и индекс тканевого содержания порфиринов на всех облученных участках кожи регулярно ступенчато изменяется с течением времени. Наиболее значимое увеличение интенсивности флуоресценции порфиринов в зеленой части спектра ($\lambda_e=535$ нм), нормализованной на интактную кожу, во всех 6 диагностических ячейках наблюдалось через 24 часа по сравнению с 0,5 часами после УФ-воздействия (Рисунок 5).

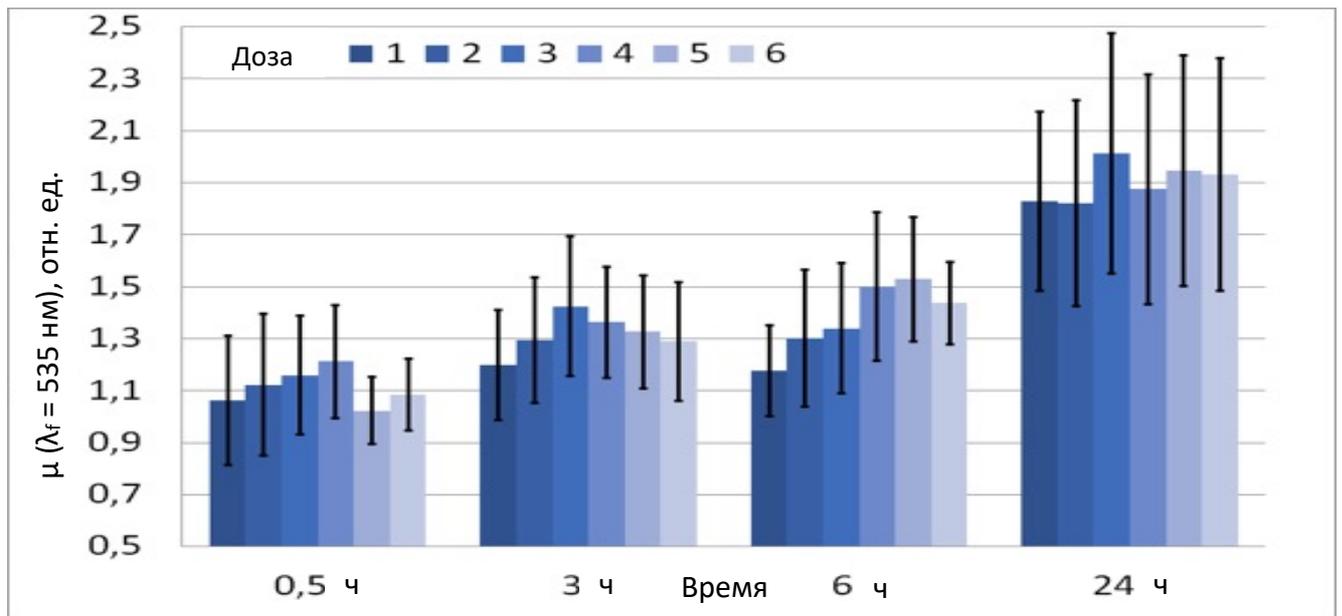


Рисунок 5 – Динамика нормализованной интенсивности флюоресценции на участках кожи, облученных ступенчато увеличивающимися дозами УФВ (6 - наименьшая доза, 1 - наибольшая доза), в 4 временных точках после УФ-воздействия; $\lambda_f = 535 \text{ нм}$

Полученные результаты позволяют предположить, что УФ-облучение влияет на метаболизм и накопление порфиринов в коже, и эти закономерности могут быть использованы в будущих исследованиях, направленных на создание нового неинвазивного количественного метода оценки МЭД. Использование объективного метода определения МЭД в планировании фототерапии различных форм псориаза и других дерматозов позволит в значительной степени оптимизировать дозу облучения и количество планируемых процедур, что в свою очередь не только повысит эффективность терапии, но и приведет к значительному уменьшению побочных эффектов фототерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог проведенных исследований, следует отметить, что в ходе выполнения работы были достигнуты значимые результаты. Прежде всего, в доклиническом эксперименте *in vivo* было показано, что ЛФС и ОТО могут применяться для проведения неинвазивной количественной оценки УФ-индуцированного воспалительного ответа в коже. Кроме того, были описаны перспективные маркеры УФ-повреждения (такие как порфирины, липофусцин, характеристики местного кровотока). В ходе клинической части исследования показана потенциальная применимость оптических методов для оценки МЭД в рутинной дерматологической и физиотерапевтической практике: выявлены взаимосвязи между дозой УФ-излучения, удельным потреблением кислорода тканями и параметрами флюоресценции порфиринов. Эти результаты демонстрируют, что комплексное применение методов ЛФС и ОТО для объективной неинвазивной оценки УФ-эритемы и МЭД является патофизиологически обоснованным и может

быть основой для разработки прибора для неинвазивной объективной оценки МЭД в клинической практике при планировании и персонализации режимов фототерапии широкого круга дерматозов.

Выводы

1. Произведено исследование оптических и патоморфологических параметров ультрафиолетового повреждения *in vivo* на разработанной и верифицированной модели УФ-эритемы у мышей ICR. Параметры флюоресценции и микроциркуляции закономерно изменялись в разные периоды после УФ-воздействия: отмечен пик повышения усреднённых значений индекса тканевого содержания η порфиринов ($0,206 \pm 0,036$), коллагена/эластина ($0,438 \pm 0,04$), а также показателя микроциркуляции ($27,6 \pm 6,0$ перфузионных единиц) в точке через 3 часа после УФ-воздействия. Описаны ключевые патогенетические паттерны в коже через 0,5, 3, 6 и 24 часа после УФ-облучения. Обнаружена взаимосвязь между показателями флюоресценции порфиринов, показателем микроциркуляции и такими гистологическими паттернами как выраженность воспалительного инфильтрата, толщина эпидермиса. Выявлена положительная корреляция между выраженностью воспалительного инфильтрата и индекса тканевого содержания (η) порфиринов (критерий Спирмена – $r = 0,912$, $p = 0,031$).
2. Установлено, что критерием развития УФ-повреждения является увеличение индекса тканевого содержания (η) порфиринов в облученной коже в 1,2 раза по сравнению таковым до УФ-воздействия. Произведен выбор и обоснование наиболее диагностически ценных методов неинвазивной оптической спектроскопии для применения у человека – лазерная флуоресцентная спектроскопия и лазерная доплеровская флоуметрия/оптическая тканевая оксиметрия.
3. Выявлена потенциальная клиническая применимость определения минимальной эритемной дозы с использованием методов оптической неинвазивной спектроскопии при выборе доз УФБ-облучения с длиной волны 311 нм. Показана возможность «экспертного» определения минимальной эритемной дозы через 24 часа после УФ-воздействия (положительная корреляция флюоресценции порфиринов и времени после воздействия), а также продемонстрирован потенциал предиктивной оценки через 3 часа (корреляция между удельным потреблением кислорода (U) и дозой УФО: критерий Спирмена – $r = -0,297$; $p = 0,01$) и 6 часов (корреляция между интенсивностью флюоресценции порфиринов и дозой УФО: критерий Спирмена – $r = -0,249$, $p = 0,01$) после стартового УФ-воздействия.

Практические рекомендации

1. При разработке способа неинвазивного определения МЭД с применением методов оптической неинвазивной спектроскопии наиболее целесообразно использовать флюоресценцию порфиринов в зеленой части спектра ($\lambda_e = 535$ нм) через 6 часов после стартового УФ-воздействия.
2. Неинвазивное объективное определение МЭД может быть использовано для выбора персонализированной терапевтической стратегии при определении доз УФБ-облучения с длиной волны 311 нм в лечении широкого круга дерматозов.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования могут быть сосредоточены на создании прибора для объективной оценки МЭД с помощью методов неинвазивной оптической диагностики кожи, что может позволить в значительной степени оптимизировать дозы и продолжительность проведения фототерапии при целом ряде фоточувствительных дерматозов. Кроме того, представляется перспективной оценка эквивалента МЭД в очаге поражения перед проведением фототерапии, а также в динамике для оценки эффективности фототерапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЛДВ - лазерная доплеровская визуализация
ЛФС – лазерная флуоресцентная спектроскопия
ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия
МЭД – минимальная эритемная доза
МФД – минимальная фототоксическая доза
ОКТ - оптическая когерентная томография
ОТО – оптическая тканевая оксиметрия
ПМ – интегральный показатель микроциркуляции
УФ – ультрафиолет/ультрафиолетовый
УФА – ультрафиолетовое излучение спектра А
УФБ - ультрафиолетовое излучение спектра Б
ФУВ – факультет усовершенствования врачей
Vb – объём кровенаполнения

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

Международные базы цитирования (Scopus)

1. M.B. Makmatov-Rys, I.A. Raznitsyna, D.V. Mosalskaya, M.A. Bobrov, A.L. Ivleva, A.B. Sekirin, E.V. Kasnacheeva, **M.A. Gureeva**, A.V. Molochkov, D.A. Rogatkin Application of laser fluorescence spectroscopy in non-invasive assessment of ultraviolet-induced skin immune response in vivo // **Jornal of Phisics: Conference Series – MRSU 2020 IOP Publishing 2020 – 1560:012075.**
2. Mikhail Makmatov-Rys, Irina Raznitsyna, Dmitriy Kulikov, Alexey Glazkov, Anton Molochkov, **Marina Gureeva**, Daria Mosalskaya, Maksim Bobrov, Ekaterina Kaznacheeva, Alexey Sekirin, Dmitry Rogatkin Non-invasive Optical Methods in Quantitative Minimal Erythema Dose Assessment in Vivo: Comparison of Preclinical and Clinical Data // Biomedical Engineering Systems and Technologies. BIOSTEC 2020. **Communications in Computer and Information Science book series – vol. 1400 – p.76-89.**

Перечень РУДН/ВАК

3. Макматов-Рысь М.Б., Чурсинова Ю.В., Куликов Д.А., Разницына И.А., Андреева В.В., Гержик А.А., **Гуреева М.А.**, Бобров М.А., Хлебникова А.Н., Молочков А.В., Зулъкарнаев А.Б., Рогаткин Д.А. Куликов А.В. Пилотное исследование применения лазерной флюоресцентной спектроскопии и оптической тканевой оксиметрии в диагностике и оценке течения рубцовых поражений кожи // **Клиническая дерматология и венерология. 2020 – Т.19 - № 4 - С.506-513.**
4. **Гуреева М.А.**, Молочков А.В., Баграмова Г.Э., Сипкин М.С., Карзанов О.В. Эффективность узкополосной фототерапии в лечении различных форм псориаза с преимущественным поражением ладоней и подошв// **Альманах клинической медицины. – 2021 – Т.49 - №8– С.525-532.**
5. Макматов-Рысь М.Б., Гержик А.А., Хынку Е.Ф., Разницына И.А., Глазкова П.А., Глазков А.А., **Гуреева М.А.**, Хлебникова А.Н., Чурсинова Ю.В., Рогаткин Д.А., Куликов Д.А. Использование коллагена и липофусцина как флуоресцентных маркеров для оценки УФ-индуцированных изменений кожи in vivo // **Клиническая дерматология и венерология. - 2022 – Т.21 - № 3 с.333-341.**

Публикации в иных изданиях

6. Макматов-Рысь М.Б., Рогаткин Д.А., **Гуреева М.А.**, Шанта И., Фаркаш Б., Глазкова П.А. Куликов Д.А. Современные подходы к объективному определению минимальной эритемной дозы // **«Медицинская физика» 2021 - №3(9) – С. 82-101.**

Аннотация

Диссертация посвящена исследованию возможности неинвазивной количественной оценки УФ-индуцированного воспалительного ответа в коже. Проведены работы по моделированию острого УФ-повреждения у экспериментальных животных. В доклиническом эксперименте *in vivo* было показано, что лазерная флуоресцентная спектроскопия и оптическая тканевая оксиметрия могут применяться для неинвазивной количественной оценки УФ-индуцированного воспалительного ответа в коже. Описаны перспективные маркеры УФ-повреждения (такие как порфирины, липофусцин, характеристики местного кровотока). В ходе клинической части исследования показана патогенетическая обоснованность и потенциальная применимость оптических методов для оценки минимальной эритемной дозы в рутинной дерматологической и физиотерапевтической практике: выявлены взаимосвязи между дозой УФ-излучения, удельным потреблением кислорода тканями и параметрами флуоресценции порфиринов. Полученные в результате диссертационного исследования данные являются основой для создания диагностических систем оценки минимальной эритемной дозы.

Ключевые слова: фототерапия, минимальная эритемная доза, лазерная флуоресцентная спектроскопия, оптическая тканевая оксиметрия.

Annotation

The dissertation is devoted to the study of the possibility of noninvasive quantitative assessment of UV-induced inflammatory response in the skin. Work has been carried out on modeling acute UV damage in experimental animals. In a preclinical *in vivo* experiment, it was shown that laser fluorescence spectroscopy and optical tissue oximetry can be used for noninvasive quantitative assessment of UV-induced inflammatory response in the skin. Promising markers of UV damage (such as porphyrins, lipofuscin, characteristics of local blood flow) are described. In the course of the clinical part of the study, the pathogenetic validity and potential applicability of optical methods for assessing the minimum erythemic dose in routine dermatological and physiotherapeutic practice were shown: the relationship between the dose of UV radiation, specific oxygen consumption by tissues and porphyrin fluorescence parameters were revealed. The data obtained as a result of the dissertation research are the basis for the creation of diagnostic systems for assessing the minimum erythemic dose.

Keywords: phototherapy, minimum erythema dose, laser fluorescence spectroscopy, optical tissue oximetry.