

Фракционная лазерная микроабляция кожи с целью усиления ее проницаемости для наночастиц

Э.А.Генина, Л.Е.Долотов, А.Н.Башкатов, Г.С.Терентюк, Г.Н.Маслякова,
Е.А.Зубкина, В.В.Тучин, И.В.Ярославский, Г.Б.Альтшулер

Предложен новый метод доставки наночастиц в кожу с помощью фракционной лазерной микроабляции ее поверхности и воздействия ультразвука. В результате проведенных исследований in vitro и in vivo показано, что при использовании импульсов лазерного излучения на длине волны 2940 нм с энергией от 0.5 до 3.0 Дж глубина внедрения наночастиц диоксида титана диаметром ~100 нм с поверхности в глубь кожи варьируется от 150 до 400 мкм. Гистологические исследования участков кожи, подвергнутых обработке, показали, что частицы остаются в дерме на глубине до 400 мкм не менее трех недель.

Ключевые слова: диоксид титана, фракционная лазерная микроабляция, ультразвуковое воздействие, отражательная спектроскопия, оптическая когерентная томография.

1. Введение

В настоящее время продолжается интенсивное исследование широко используемых в медицине диагностических и терапевтических технологий с применением микро- и наночастиц. Среди многочисленных исследований, посвященных транспорту наночастиц в клетках и различных биологических тканях, важное место занимает проблема введения наночастиц в кожу. Так, например, в качестве контрастных агентов для оптической когерентной томографии (ОКТ) [1, 2] и многофотонной томографии [3, 4] кожи широко используются наночастицы диоксида титана, оксида цинка и золота. Наночастицы золота и серебра могут использоваться как контрастные агенты для визуализации клеток [5, 6]. Для защиты от УФ воздействия в поверхностные слои кожи внедряются фотозащитные препараты с добавлением наночастиц TiO_2 и ZnO [7, 8]. В работе [9] для тех же целей предложено использовать и наночастицы кремния. Помимо этого наночастицы могут служить носителями лекарственных препаратов при их чрезкожном введении [10]. Для фототермического воздействия на новообразования, скрытые в толще ткани, используются наночастицы золота [11, 12]. В работах [13, 14] продемонстрировано обусловленное наночастицами TiO_2 и Ag-SiO_2 фототоксическое

действие на патогенные микроорганизмы как самих частиц, так и комбинации их с красителями.

Основное преимущество чрезкожного введения препаратов, в состав которых входят наночастицы, состоит в том, что подобная доставка осуществляется непосредственно к патологически измененным участкам ткани [15], что важно при фототермической или фотохимической терапии приповерхностных патологий (разумеется, при условии предварительной визуализации объекта воздействия). Однако естественный защитный кожный барьер (роговой слой толщиной 5–20 мкм, состоящий из плоских плотно упакованных клеток – корнеоцитов, погруженных в липидный матрикс [16]) делает задачу внедрения агентов в глубокие слои кожи непростой. Гидрофильные поры, пронизывающие клетки эпидермиса, имеют диаметр менее 10 нм [15]. В работе [17] показано, что наночастицы на основе железа, размеры которых сравнимы с диаметром естественных пор, преодолевают роговой слой и проникают в дерму кожи через живой эпидермис. Для доставки наночастиц более крупного размера используются либо протоки кожных желез и волосяных фолликул диаметром не менее 5 мкм [15], либо искусственные каналы, созданные с помощью сонопорации [18], электропорации [19] или микропорации при механическом [2, 20] или оптотермическом воздействии [21]. При этом наночастицы внедряются различными способами, например втиранием [3, 4, 22], путем генерации фотомеханических волн [23] или ультразвукового воздействия [2], с помощью безыгольной инъекции [24, 25]. Было показано, что глубина введения наночастиц TiO_2 со средним диаметром 100 нм в кожу с помощью втирания составила ~3 мкм [22]. В данном случае наночастицы проникают в кожу только через устья волосяных фолликул и протоков потовых и сальных желез [26].

Создание искусственных каналов с помощью микропорации способствует более глубокой и направленной доставке наночастиц. В этом случае диаметр и глубина пор зависят от инструментов, воздействующих на кожу [15]. Так, если диаметр наиболее тонкой стандартной

Э.А.Генина, Л.Е.Долотов, А.Н.Башкатов, Е.А.Зубкина, В.В.Тучин. Научно-образовательный институт оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: eagenina@yandex.ru

Г.С.Терентюк. ООО «Первая ветеринарная клиника», Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 98; e-mail: vetklinika@front.ru

Г.Н.Маслякова. Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского, Россия, 410012 Саратов, ул. Большая Казачья 112, e-mail: gmaslyakova@yandex.ru

I.V.Yaroslavsky, G.B.Altshuler. Palomar Medical Technology Inc., 82 Cambridge St., Burlington 01803 MA, USA

Поступила в редакцию 4 апреля 2011 г.

иглы, доступной в настоящее время, составляет 184 мкм, диаметры микроигл, используемых при механической микропорации, могут достигать ~ 100 мкм, а диаметры микроканалов, создаваемых в результате термо- и электропорации, могут составлять 10–50 мкм [15, 19]. Средняя глубина проникновения твердых микрочастиц при безыгольной инъекции колеблется от менее 10 мкм до более 20 мкм [25]. Глубина, на которую доставляются наночастицы при использовании механической микропорации, достигает 300 мкм [2, 20].

Таким образом, искусственная микропорация является наименее инвазивным методом введения микро- и наночастиц в кожу на достаточно большую глубину. При этом происходит достаточно быстрое (в течение нескольких часов) восстановление целостности барьера после введения агентов [18]. Данные особенности позволяют также снизить опасность инфицирования кожи в результате проведенных манипуляций [15].

Лазерная микроабляция (помимо того, что она обладает всеми преимуществами, доступными другим методам микропорации) позволяет задавать не только глубину, но и форму создаваемых микроканалов с помощью различных насадок [27].

В настоящей работе предложен новый метод доставки наночастиц в кожу на глубину до 400 мкм с помощью фракционной лазерной микроабляции поверхности кожи и ультразвукового (УЗ) воздействия.

2. Методы и материалы

Для преодоления защитного барьера кожи была разработана методика фракционной лазерной микроабляции поверхностных слоев эпидермиса. Источником излучения служил эрбиевый лазер Palomar Lux2940 (Palomar Medical Products Ltd, США) со следующими параметрами излучения: длина волны 2940 нм, энергия импульсов 0.5–3.0 Дж, импульсы имеют пиковую структуру (от

одного до трех пиков в импульсе в зависимости от энергии), длительность пиков 200 мкс. При проведении экспериментов использовались два режима лазерного воздействия. В режиме I использовался одиночный импульс с энергией ~ 1 Дж, в режиме II – трехпиковый импульс с энергией ~ 3 Дж. Микроканалы создавались с помощью насадки, которая позволяла проводить микроабляцию участков кожи [27]. В коже было создано пять горизонтальных насечек на площади с размерами 5×5 мм (рис.1, *a, б*). Расстояние между насечками составляло примерно 1.2 мм, глубина насечек менялась в зависимости от режима обработки. В режиме I создавались насечки глубиной ~ 150 мкм, в режиме II – около 300 мкм (рис.1, *в, з*).

Нами использовался нанопорошок TiO_2 (634662-100G, Sigma-Aldrich Co., США), состоящий из смеси рутильной и анатазной форм диоксида титана с наночастицами размером менее 100 нм. Для улучшения их проницаемости в кожу и подавления фотокаталитического действия фотохимически активной формы анатазной формы TiO_2 применялась суспензия наночастиц в полиэтиленгликоле с молекулярным весом 300 (ПЭГ-300) (202371-250G, Sigma-Aldrich Co.). Концентрация наночастиц в суспензии составляла 0.5 г/мл.

При изготовлении суспензии использовалась УЗ ванна СТ-400А (CTBrand, Wah Luen Electronic Tools Co. Ltd, Китай) с мощностью излучения 35 Вт и частотой излучения 43–45 кГц. Кювета с суспензией помещалась в УЗ ванну на 30 мин для тщательного перемешивания содержимого как в процессе изготовления, так и непосредственно перед использованием. Для усиления проницаемости кожи также применялось УЗ воздействие. Источником ультразвука служил УЗ излучатель Dinatron 125 (Dinatronics, США) с частотой 1 МГц и плотностью мощности 1.5 Вт/см² в непрерывном режиме.

Визуализация микроканалов, заполненных суспензией наночастиц, проводилась с помощью оптического

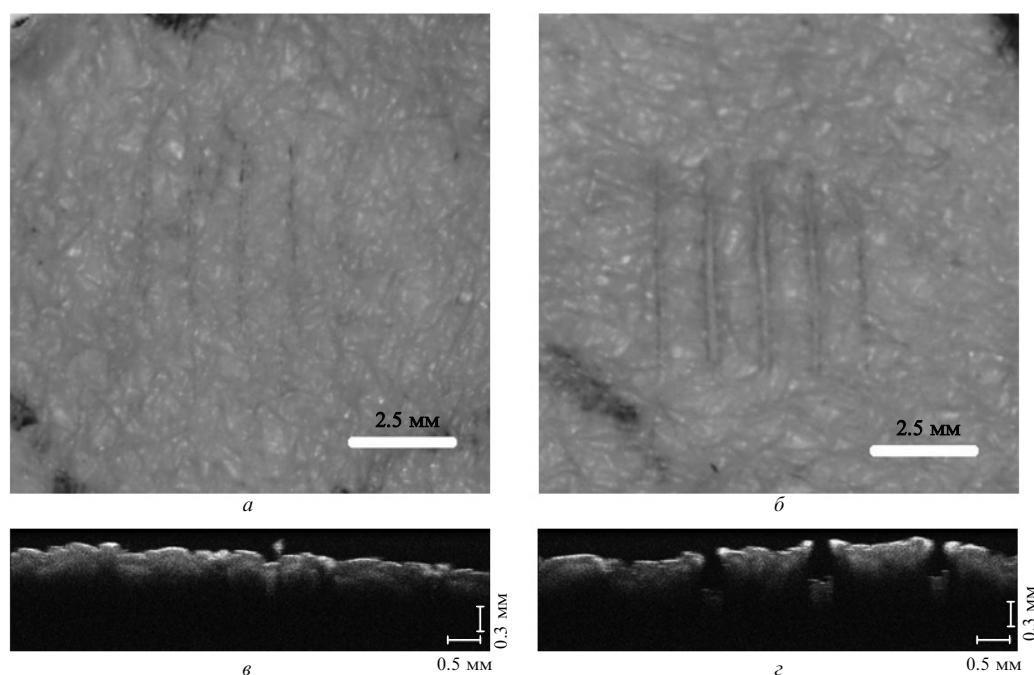


Рис.1. Результат воздействия лазерного излучения на кожу *in vitro*: поверхность кожи после лазерной фракционной микроабляции одиночным импульсом с энергией ~ 1 Дж (*a*) и трехпиковым импульсом с энергией ~ 3 Дж (*б*), а также ОКТ-изображения кожи после лазерной фракционной микроабляции одиночным (*в*) и трехпиковым (*з*) импульсами.

когерентного томографа (ОКТ) Spectral Radar OCT System OCP930SR 022 (Thorlabs Inc., США) на длине волны 930 нм.

Спектры диффузного отражения измерялись на многоканальном спектрометре USB4000 (Ocean Optics Inc., США) в спектральном диапазоне 400–900 нм. Источником излучения служила галогенная лампа HL-2000 (Ocean Optics Inc.). Для измерений использовался волоконно-оптический датчик QR400-7-VIS/NIR (Ocean Optics Inc.), состоящий из семи волокон с внутренним диаметром 400 мкм и числовой апертурой 0.2. Центральное волокно служило для сбора диффузно-отраженного излучения кожи, а расположенные по окружности шесть волокон использовались для освещения образца.

Датчик находился на расстоянии 2 мм от поверхности кожи и регистрировал усредненный по площади сбора излучения сигнал. Для нормировки спектров отражения использовался отражательный стандарт WS-1-SL (Ocean Optics Inc.).

Эксперименты *in vitro* проводились на четырех образцах кожи человека, взятых при аутопсии. Размеры образцов составляли приблизительно 1.0×1.0 см, средняя толщина – 3.5 ± 0.2 мм. После создания микроканалов на исследуемые участки кожи наносилась суспензия наночастиц. Полное время экспозиции составляло 2 ч. УЗ воздействие проводилось периодически, по 2 мин с 13-минутными паузами в течение всего времени экспозиции. Полное время воздействия составило 16 мин. В течение всей процедуры образец находился в чашке Петри в малом объеме физиологического раствора (водный раствор NaCl с концентрацией 0.9 мг/мл), чтобы избежать изменения оптических свойств образца в результате его дегидратации. Затем суспензия наночастиц удалялась с поверхности тампоном, смоченным физиологическим раствором. Следы суспензии удалялись с помощью медицинского скотча Multi-film (Tesa, Германия) двумя поверхностными отрывами. Средняя толщина одного отрыва эпидермиса составляла около 0.5 мкм [22].

Измерение диффузного отражения участков кожи и ОКТ-сканирование проводились до внедрения наночастиц и через два часа после него.

Исследование транспорта наночастиц TiO_2 в коже *in vivo* с использованием фракционной лазерной микроабляции и УЗ воздействия проводилось в ООО «Первая ветеринарная клиника» (Саратов). Объектом исследования был выбран самец мини-пига. Возраст животного составлял 2.5 месяца, вес – 15 кг. На исследуемый участок кожи месяцем ранее была нанесена татуировка для обозначения места воздействия. Животное было анестезировано 2 %-ным раствором ксилазина (2 мл).

Перед началом эксперимента с исследуемого участка кожи с помощью крема-депилятора Nair (Church & Dwight Co., Inc., США) удалили волосяной покров, после чего кожу продезинфицировали 90 %-ным спиртовым раствором. Для предотвращения инфицирования участков воздействия в суспензию добавлялся раствор хлоргексидина в пропорции 3 : 2. Микроабляция кожи проводилась лазерными импульсами с энергией 3.0 Дж (режим II) с целью обеспечения более глубокого внедрения наночастиц. Для усиления транспорта наночастиц обработанные участки подвергались 15-минутному УЗ воздействию (по 3 мин воздействия с трехминутными паузами). После абляции и внедрения наночастиц суспензия удалялась с исследуемых участков кожи с помощью дистилли-

рованной воды. По окончании эксперимента обработанные участки кожи покрывались бактерицидным пластырем. Наблюдения проводились в течение трех недель в следующей последовательности: через двое суток, одну, две и три недели после обработки. Каждое наблюдение сопровождалось фотографированием поверхности кожи камерой Nikon D80 (Nikon Inc., Япония) с макрообъективом Micro-Nikkor (Nikon Inc.).

С исследуемых участков кожи, расположенных между линиями татуировки, стандартным методом была взята биопсия и приготовлены гистологические срезы. После фиксации материала 10 %-ным раствором формалина производилась спиртовая проводка, после чего образцы заливались в парафин. Парафиновые срезы толщиной 6–8 мкм окрашивались гематоксилином и эозином.

Гистологическое описание препаратов производилось с помощью микроскопа MC 100 XP (Micros, Австрия) в проходящем свете при увеличении $200\times$. Для фотосъемки использовалась камера Canon PC 1107 (Canon Inc., Япония).

3. Результаты и их обсуждение

На рис.2 представлены ОКТ-изображения участков кожи *in vitro* до обработки и после фракционной лазерной микроабляции и введения наночастиц. Глубина зондирования интактной кожи составляет около 250 мкм (рис.2,а). На рис.2,б и в хорошо видны микронасечки, созданные с помощью микроабляции и заполненные суспензией наночастиц (отмечены стрелками). Глубина внедрения наночастиц совпадает с глубиной микронасечек. При этом глубина зондирования снижается до 100–150 мкм из-за экранирования света слоем наночастиц, образовавшимся на дне насечек и оставшемся на поверхности кожи.

На рис.3 представлены спектры диффузного отражения кожи до и после внедрения наночастиц TiO_2 в области насечек при двух режимах абляции. Сплошная кривая соответствует спектру отражения интактной кожи, хорошо видны полосы поглощения крови на длинах волн 416 (полоса Core), 543 и 578 нм. Штриховая кривая отображает спектр того же участка кожи после микроабляции лазерным импульсом с энергией ~ 1 Дж и внедрения суспензии наночастиц (режим I). Поскольку в данном случае глубина микроканалов не превышала 150 мкм, то при смывании суспензии и поверхностных отрывах эпидермиса большая часть частиц удалялась из каналов, однако, по-видимому, не полностью. Изменение формы спектра кожи свидетельствует о присутствии в ее верхних слоях некоторого количества суспензии наночастиц TiO_2 .

Снижение коэффициента отражения объясняется, скорее всего, влиянием базового вещества суспензии ПЭГ-300, которое иммерсирует поверхностный слой эпидермиса и, таким образом, уменьшает величину отраженного сигнала. Кроме того, если толщина необработанных участков кожи составляла 3.5 ± 0.2 мм, то толщина образцов на участках микроабляции существенно уменьшилась – до 2.8 ± 0.4 мм. Это обусловлено повышенной дегидратацией биоткани за счет, во-первых, облегченного испарения внутритканевой воды из дермы кожи через микроканалы в эпидермисе и, во-вторых, вследствие воздействия на данные участки гиперосмотического агента ПЭГ-300, который, в свою очередь, вызывает осмотичес-

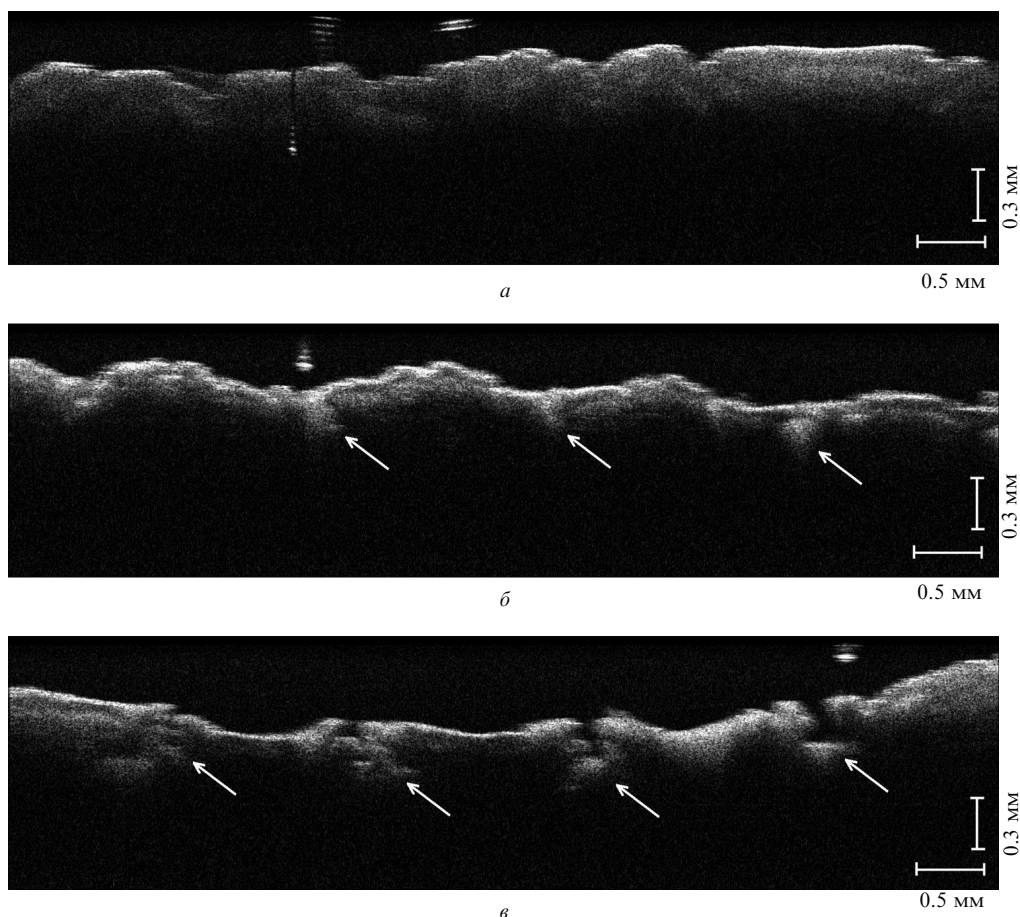


Рис.2. ОКТ-изображения кожи человека in vitro: интактная кожа (а); кожа после микроабляции импульсом с энергией ~ 1 Дж (б) и импульсом с энергией ~ 3 Дж (в) и внедрения наночастиц TiO₂. Стрелками указаны области абляции.

кую дегидратацию дермы кожи [28]. Уменьшение толщины биоткани также способствует снижению ее коэффициента отражения.

Пунктирная линия на рис.3 соответствует спектру отражения участка кожи после микроабляции лазерными импульсами с энергией 3.0 Дж и внедрения суспензии наночастиц (режим II). В данном случае глубина микроканалов превышала 300 мкм, поэтому удаления суспен-

зии из каналов не происходило. Несмотря на уменьшение толщины образца, наблюдалось повышение интенсивности отраженного от кожи излучения, особенно в диапазоне 400–500 нм, что связано с существенным ростом коэффициента рассеяния биоткани, которому способствуют наночастицы, находящиеся в микроканалах. Об этом же свидетельствует и изменение формы спектра отражения кожи.

На рис.4 представлена серия фотографий участков кожи мини-пига до и после введения суспензии наночастиц и УЗ обработки. На рис.4,б и в на перекрестиях татуировочных линий хорошо видны микронасечки, заполненные суспензией диоксида титана. Непосредственно после обработки на коже животного наблюдалась эритема (рис.4,б), которая исчезала в течение 15–20 мин. Через два дня после обработки (рис.4,в) происходило полное заживление микроканалов и начиналось отшелушивание поврежденного верхнего слоя эпидермиса. Через неделю после эксперимента отшелушивание заканчивалось и целостность эпидермиса восстанавливалась (рис.4,г). Через две-три недели насечки были практически не видны, однако в месте их нанесения наблюдалось частичное расплывание очертаний татуировок (рис. 4,д) и небольшое осветление цвета кожи (рис.4,е, осветленные участки кожи показаны стрелками).

Эффект осветления кожи можно объяснить присутствием в ней некоторой части наночастиц, не покинувших кожу в результате их естественного движения вместе с клетками эпидермиса к поверхности в процессе деления. После восстановления целостности кожи наночастицы,

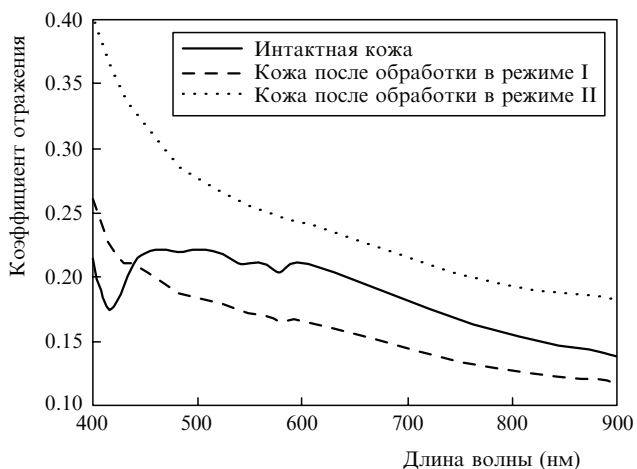


Рис.3. Спектры диффузного отражения кожи in vitro: сплошная кривая соответствует спектру интактной кожи; штриховая – спектру кожи после абляции импульсом с энергией ~ 1 Дж и внедрения наночастиц TiO₂ (режим I); пунктирная – спектру кожи после абляции импульсом с энергией ~ 3 Дж и внедрения наночастиц TiO₂ (режим II).

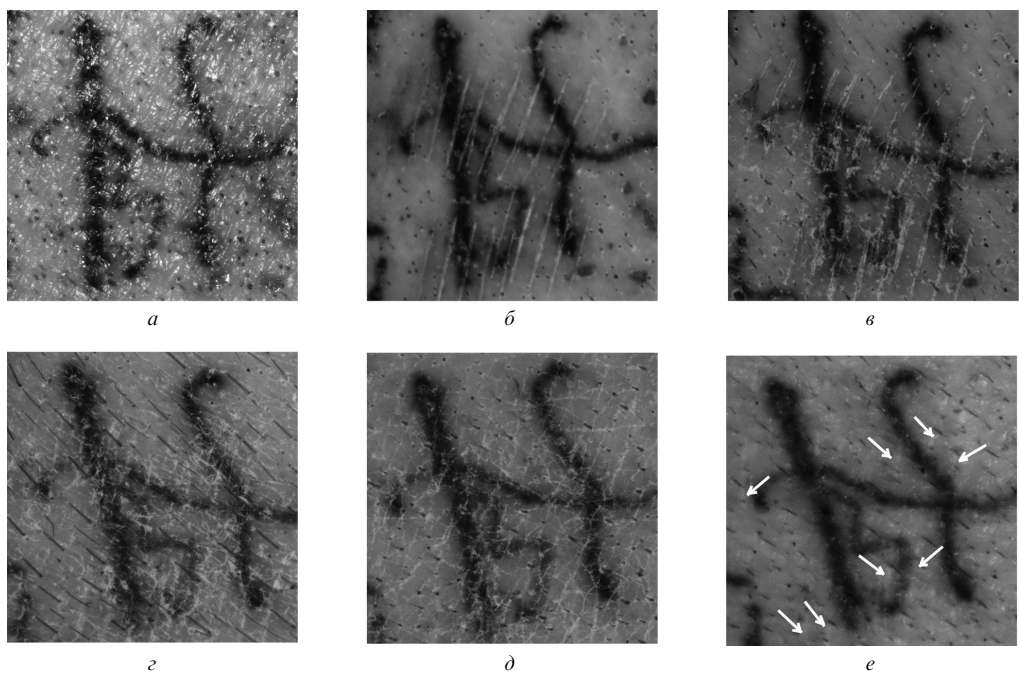


Рис.4. Серия фотографий участка кожи минипига, подвергнутого микроабляции и внедрению наночастиц TiO_2 с помощью УЗ излучения в течение 15 мин: исходное состояние (а); вид кожи непосредственно после обработки (б), через два дня (в), через неделю (г), через 2 недели (д) и через 3 недели после обработки (е). Стрелками указаны участки осветленной кожи в местах, подвергнутых обработке.

внедренные на глубину, которая превышает толщину эпидермиса (100-150 мкм), остаются в дерме, создавая подобие рассеивающего экрана, вследствие чего кожа светлеет.

Данное наблюдение подтверждают результаты гистологического анализа. Гистологические срезы позволяют наблюдать локализацию наночастиц в глубоких слоях кожи. На рис.5 показаны гистологические препараты, изготовленные из материала, полученного при биопсии обработанного и контрольного участков кожи. На снимке гистологических срезов (рис.5,а) хорошо видны проникшие вглубь наночастицы TiO_2 (области, отмеченные стрелками). В режиме пропускания света скопления час-

тиц на фоне изображения биоткани выглядят черными. По полученному снимку можно оценить глубину проникновения наночастиц в кожу, которая варьируется от 150 до 400 мкм, что свидетельствует о нахождении частиц в дерме кожи. В области эпидермиса частиц не обнаружено. Кроме того, УЗ воздействие способствовало, по-видимому, более равномерному распределению наночастиц в дерме кожи. В контрольной области, находящейся на некотором удалении от участков микроабляции (рис.5,б), частицы не обнаруживались.

Таким образом, изменение параметров лазерного излучения позволяло варьировать глубину микроканалов и, следовательно, глубину внедрения наночастиц.

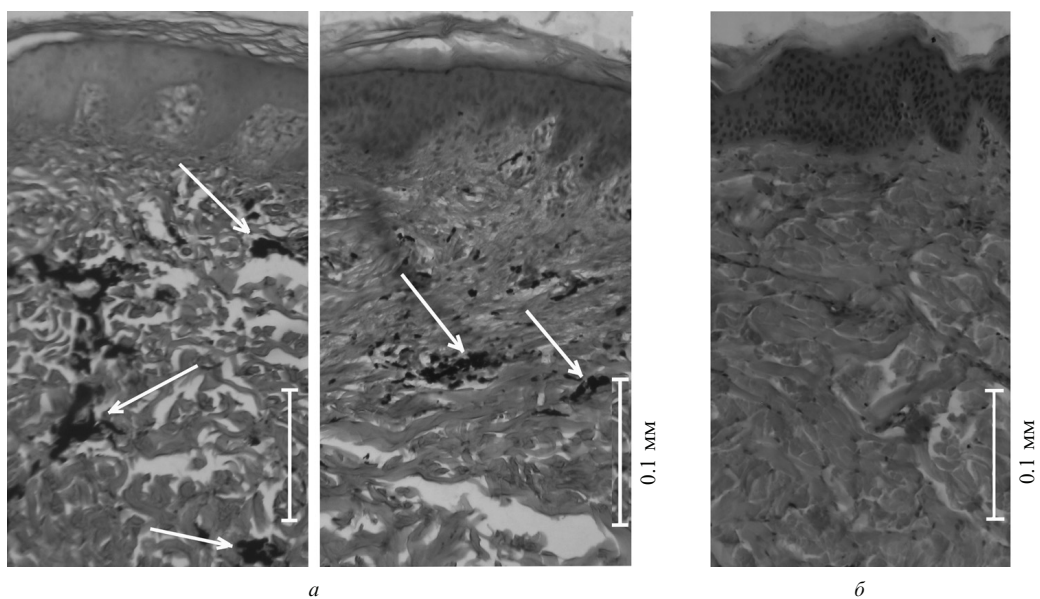


Рис.5. Фотографии гистологических препаратов биопсии кожи минипига через три недели после проведения микроабляции и внедрения наночастиц TiO_2 в кожу (а); б – контрольный участок. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином, стрелками указаны области залегания наночастиц.

Только при глубоком внедрении суспензии ПЭГ-ТiO₂ в течение всего периода наблюдения (3 недели) частицы оставались в дерме кожи. Результаты наблюдений показали, что эритема с участков лазерной микроабляции исчезала в течение 15–20 мин, а полное заживление микрочаналов происходило в течение недели, при этом внутренняя структура тканей кожи в месте воздействия не нарушалась.

4. Заключение

В результате проведенного исследования показано, что использование фракционной лазерной микроабляции позволяет эффективно внедрять наночастицы в дерму кожи. При энергии импульсов ~3 Дж абляционные микронасечки, создаваемые в ткани, позволяли внедрять наночастицы в дерму на глубину до 400 мкм. Варьируя энергию импульса, можно изменять глубину насечек и, тем самым, глубину доставки частиц в кожу. Ультразвуковое воздействие способствовало равномерному заполнению микронасечек суспензией наночастиц и распределению наночастиц в дерме.

Глубокое внедрение наночастиц позволяет им оставаться в дерме, при этом меняются оптические характеристики кожи (за счет увеличения рассеяния света частицами коэффициент отражения кожи увеличивается и кожа осветляется).

Авторы выражают благодарность Palomar Medical Products Ltd за финансовую поддержку и предоставленное оборудование, персоналу ООО «Первая ветеринарная клиника» за помощь в работе с животным. Работа была выполнена в рамках государственных контрактов № 02.740.11.0484 и 02.740.11.0879.

- Kirillin M., Shirmanova M., Sirotkina M., Bugrova M., Khlebtsov B., Zagaynova E. *J. Biomed. Opt.*, **14**, 021017 (2009).
- Kim C.S., Wilder-Smith P., Ahn Y.-C., Liaw L.-H., Chen Z., Kwon Y.J. *J. Biomed. Opt.*, **14**, 034008 (2009).
- Zvyagin A.V., Zhao X., Gierden A., Sanchez W., Ross J.A., Roberts M.S. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 064031 (2008).
- Roberts M.S., Roberts M.J., Robertson T.A., Sanchez W., Thorling C., Zou Y., Zhao X., Becker W., Zvyagin A.V. *J. Biophotonics*, **1**, 478 (2008).
- Schrand A.M., Braydich-Stolle L.K., Schlager J.J., Dai L., Hussain S.M. *Nanotechnology*, **19**, 235104 (2008).
- Khanadeev V.A., Khlebtsov B.N., Staroverov S.A., Vidyasheva I.V., Skaptsov A.A., Ileneva E.S., Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Khlebtsov N.G. *J. Biophotonics*, **4**, 74 (2011).
- Edlich R.F., Winter K.L., Lim H.W., Cox M.J., Becker D.G., Horovitz J.H., Nichter L.S., Britt L.D., Long W.B. *J. Long-Term Effects Med. Implants*, **14**, 317 (2004).
- Innes B., Tsuzuki T., Dawkins H., Dunlop J., Trotter G., Nearn M.R., McCormick P.G. *Cosmetics, Aerosols and Toiletries in Australia*, **15**, 21 (2002).
- Рыбалтовский А.О., Баграташвили В.Н., Белогорохов А.И., Колташев В.В., Плотниченко В.Г., Попов А.П., Приезжев А.В., Свиридова А.А., Зайцева К.В., Тугорский И.А., Ищенко А.А. *Оптика и спектроскопия*, **101**, 626 (2006).
- Kohli A.K., Alpar H.O. *Int. J. Pharm.*, **275**, 13 (2004).
- Huang X., Jain P.K., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A. *Lasers Med. Sci.*, **23**, 217 (2008).
- Terentyuk G.S., Maslyakova G.N., Suleymanova L.V., Khlebtsov N.G., Khlebtsov B.N., Akchurin G.G., Maksimova I.L., Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **14**, 021016 (2009).
- Tuchina E.S., Rudik D.V., Krylova G.V., Smirnova N.P., Eremenko A.M., Tuchin V.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6163**, 61631V (2006).
- Tuchina E.S., Tuchin V.V. *Laser Phys. Lett.*, **7**, 607 (2010).
- Cevc G., Vierl U. *J. Controlled Release*, **141**, 277 (2010).
- Schaefer H., Redelmeier T.E. *Skin Barrier* (Basel: Karger, 1996).
- Baroli B., Ennas M.G., Loffredo F., Isola M., Pinna R., Lopez-Quintela M.A. *J. Invest. Dermatol.*, **127**, 1701 (2007).
- Tezel A., Sens A., Mitragotri S. *J. Control. Release*, **83**, 183 (2002).
- Gowrishankar T.R., Pliquett U., Weaver J.C. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **888**, 183 (1999).
- Roxhed N., Samel B., Nordquist L., Griss P., Stemme G. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **55**, 1063 (2008).
- Altshuler G., Smirnov M., Yaroslavsky I. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **38**, 2732 (2005).
- Попов А.П., Приезжев А.В., Ладеман Ю., Мюллерюля Р. *Квантовая электроника*, **37**, 17 (2007).
- Lee S., McAuliffe D.J., Kollias N., Flotte, T.J., Doukas A.G. *Laser Surg. Med.*, **31**, 207 (2002).
- Menon G.K., Brandsma J.L., Schwartz P.M. *Skin Pharmacol. Physiol.*, **20**, 141 (2007).
- Kendall M., Rishworth S., Carter F., Mitchell T. *J. Invest. Dermatol.*, **122**, 739 (2004).
- Ossadnik M., Richter H., Teichmann A., Koch S., Schäfer U., Wepf R., Sterry W., Lademann J. *J. Biomed. Opt.*, **16**, 747 (2006).
- Беликов А.В., Альтшулер Г.Б., Фельдштейн Ф.И., Скрипник А.В., Шатилова К.В. http://bone-surgery.ru/view/m2_.
- Genina E.A., Bashkatov A.N., Korobko A.A., Zubkova E.A., Tuchin V.V., Yaroslavsky I.V., Altshuler G.B. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 021102 (2008).