



UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



“FiberScope” nemlineáris mikroszkóp alkalmazása a bőrgyógyászatban

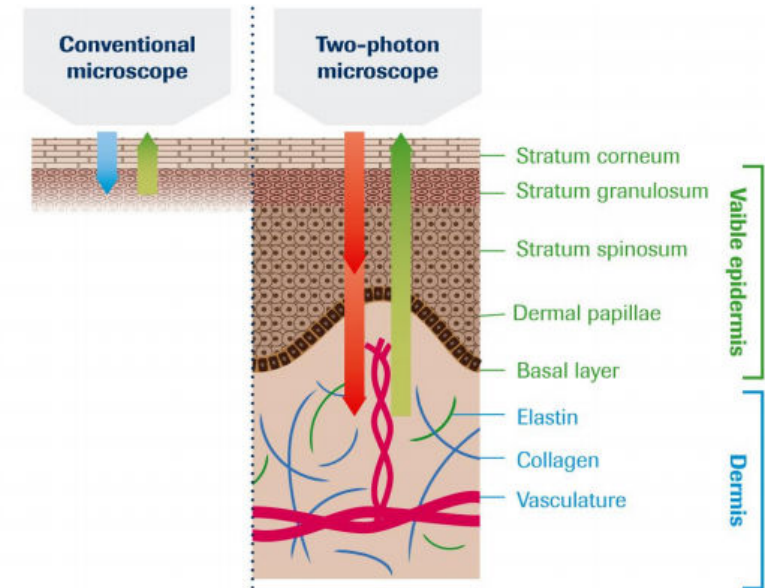
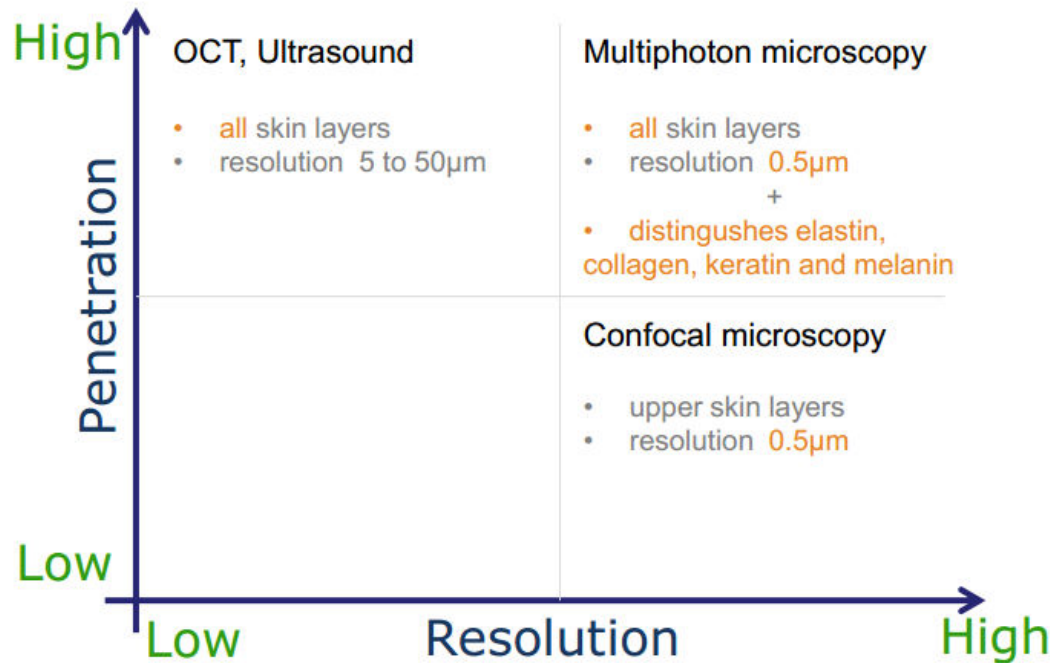
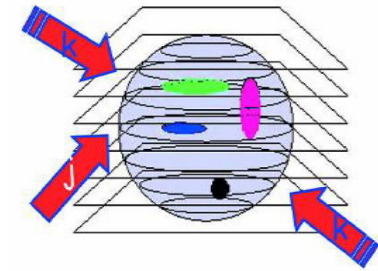
Haluszka Dóra^{1,2}, Dr. Lőrincz Kende¹, Dr. Bánvölgyi András¹, Dr. Gyöngyösi Nóra¹, Csákányi Attila²,
Dr. Kolonics Attila^{2,3}, Dr. Kárpáti Sarolta¹, Dr. Wikonkál Norbert¹, Dr. Szipőcs Róbert^{2,3}

1. Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika
2. Magyar Tudományos Akadémia Wigner Fizikai Kutatóközpont Szilárdtest-fizikai és Optikai Intézet,
3. R&D Ultrafast Laser Kft.,



Pásztázó lézeres mikroszkópia

- ▶ Konfokális - fototoxicitás
- ▶ Nemlineáris mikroszkópia – nagyobb behatolási mélység
– nagyobb felbontás



Images by:
Neurotar Ltd (c) 2011



UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



Nemlineáris mikroszkópia



Nagy intenzitású, impulzusüzemű, hangolható gerjesztő fényforrás szükséges:

- ps-os és fs-os lézerek (tip. ~ 100 fs) nagy foton sűrűséget képes a fókuszfoltban előállítani, csak ott gerjeszti a mintát

Alkalmazott nemlineáris folyamatok:

- **TPEF** – két foton abszorpciós fluoreszcencia (elasztin, keratin, NADH)
- **SHG** – másodharmonikus keltés (kollagén)
- **CARS** – koherens anti-Stokes Raman szórás (zsírok, lipidek)

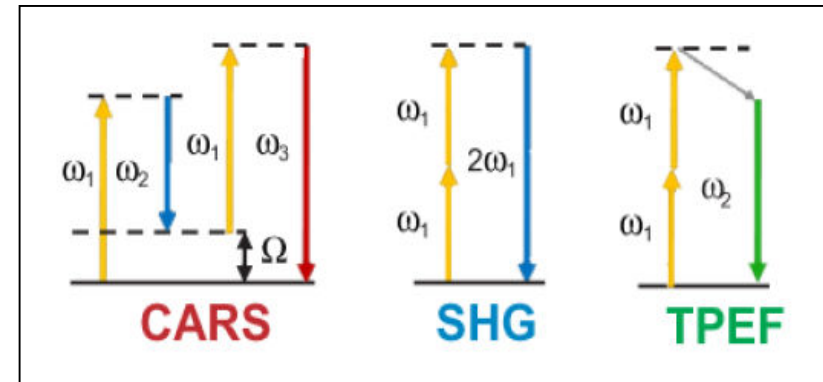


Table 1. Endogenous skin chromophores.

Chromophore	Excitation λ_{ex} (nm)	Emission λ (nm)
Fluorescence and SHG		
Retinol (20)	700–830	450
NADH (17,97–100)	340; 690–730	450–470
Vitamin D (20)	< 700	450
Flavins (17)	370, 350; 700–730	430
Melanin (101)	280–450	440, 520, 575
Elastin (101)	300–340; 700–740	420–460
Collagen		
Fluorescence	300–340; 700–740	420–460
SHG (19,101)	720–960 (tunable range of TP laser)	360–480 ($\lambda_{ex}/2$)
CARS	Excitation	Emission ω (cm^{-1})
C-H stretch	See (23,29)	2845 cm^{-1}
Sebacous glands		2845 cm^{-1}
Adipocytes		2956 cm^{-1}



UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



Célkitűzés



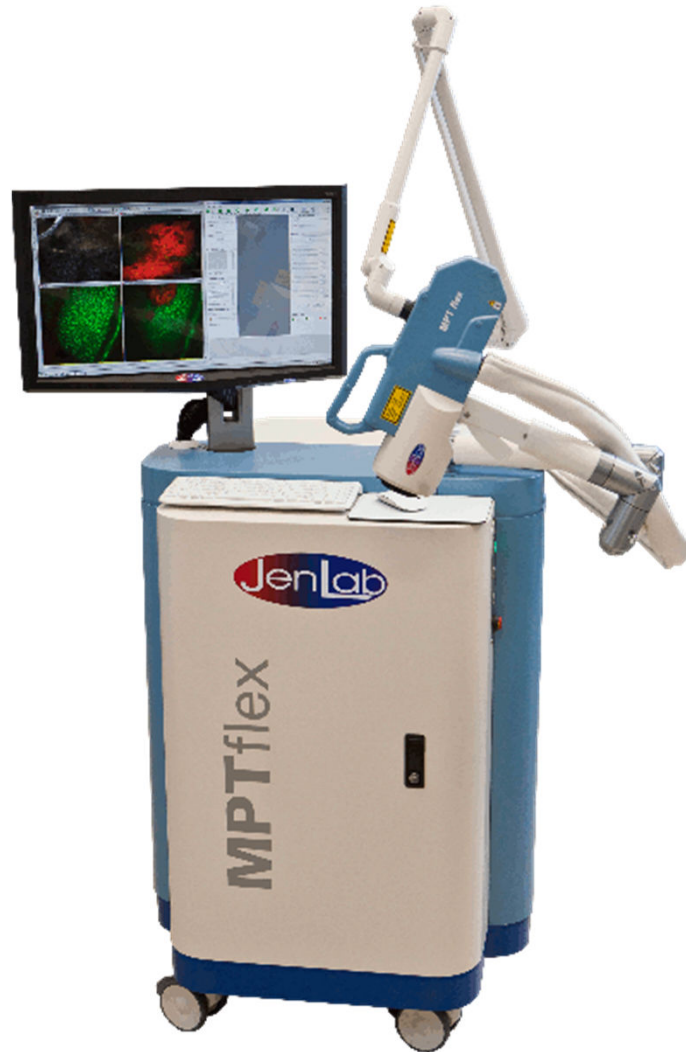
CÉL: kisméretű, kevésbé költséges, de teljes értékű lézerpasztázó mikroszkóp megtervezése, melyben impulzusüzemű fényforrásként egy Yb-szállézert (Fiber) használunk



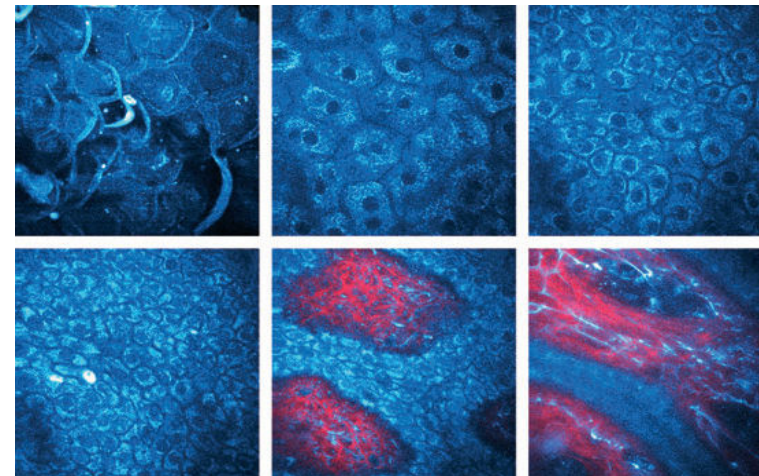
UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



Kereskedelemben kapható nemlineáris mikroszkópok



<http://www.jenlab.de/MPTflex.114.0.html>



Decenciere E. et al., *Automatic 3D segmentation of multiphoton images: a key step for the quantification of human skin*. *Skin Res Technol*, 2013. **19**(2): p. 115-24.

Fényforrás: Ti:S szilárdtest lézer (700-900 nm)

Költséges ~ 100 M Ft

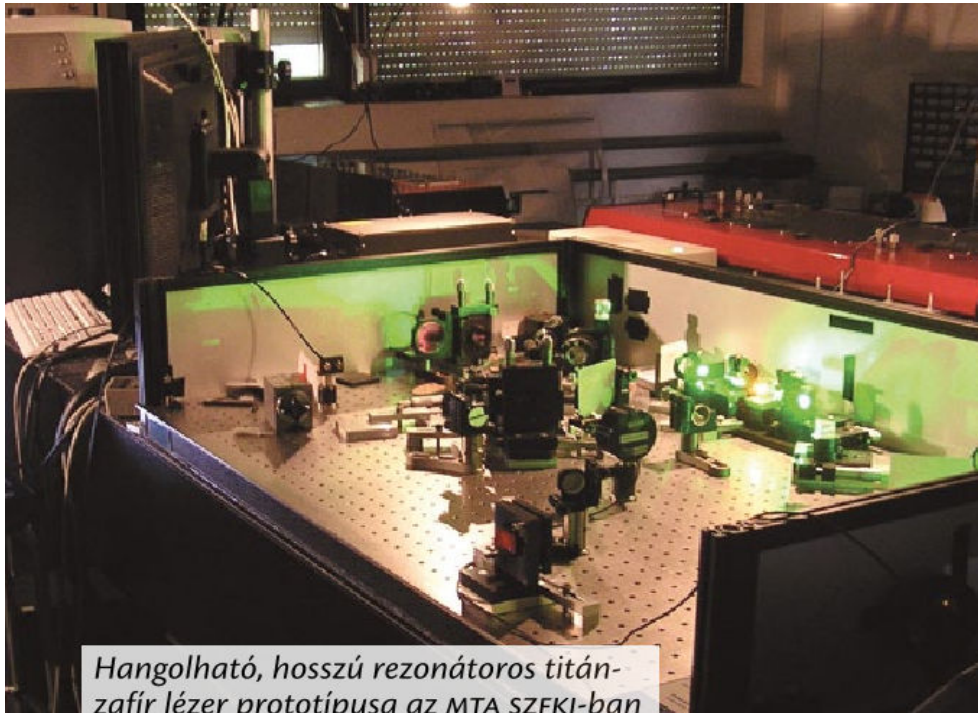
Nagy helyigény



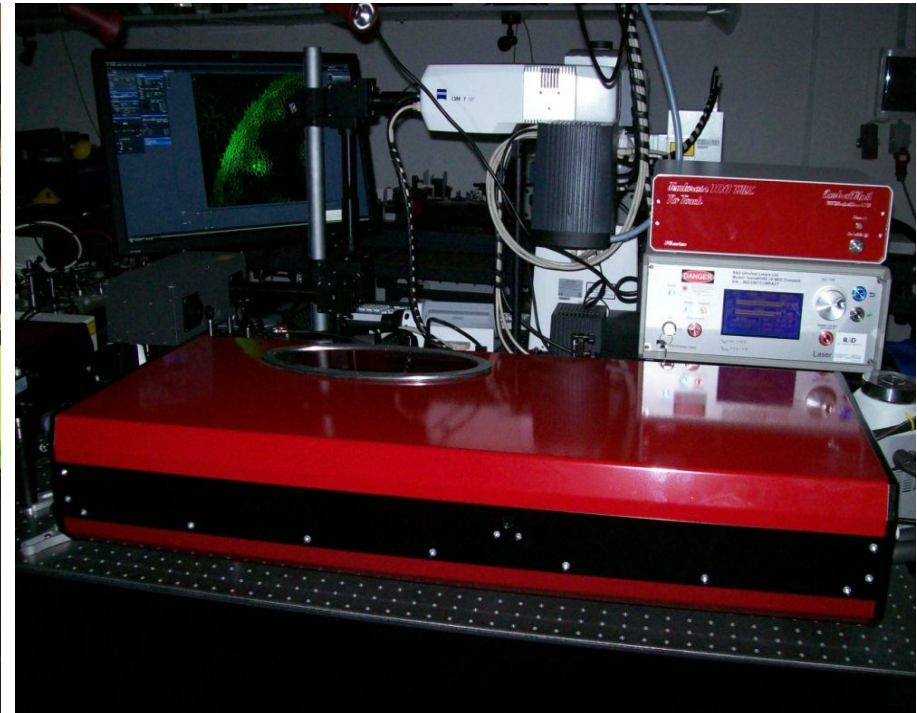
UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



Ti:S lézer fényforrás



Hangolható, hosszú rezonátoros titán-zafír lézer prototípusa az MTA SZFKI-ban

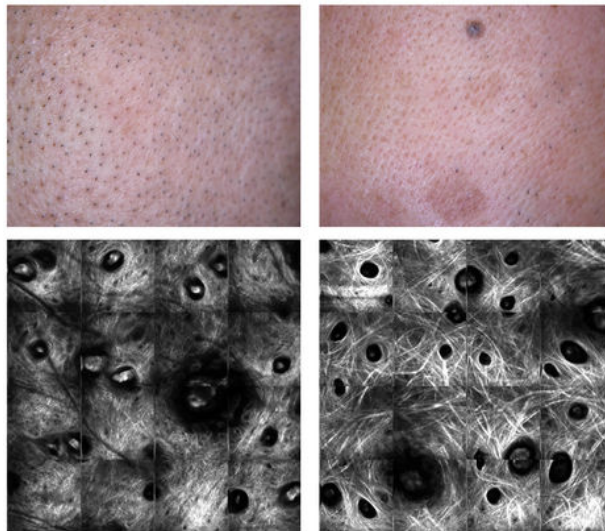
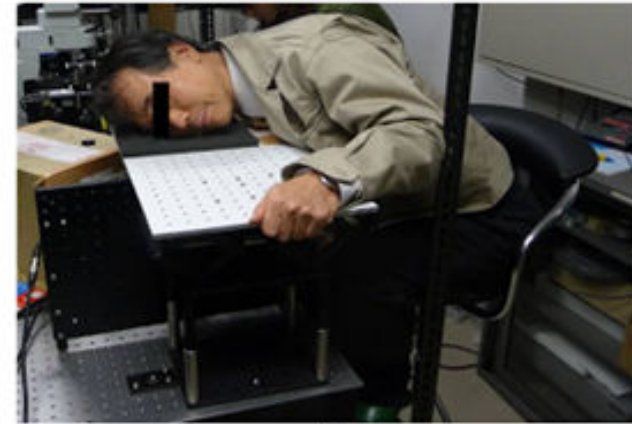
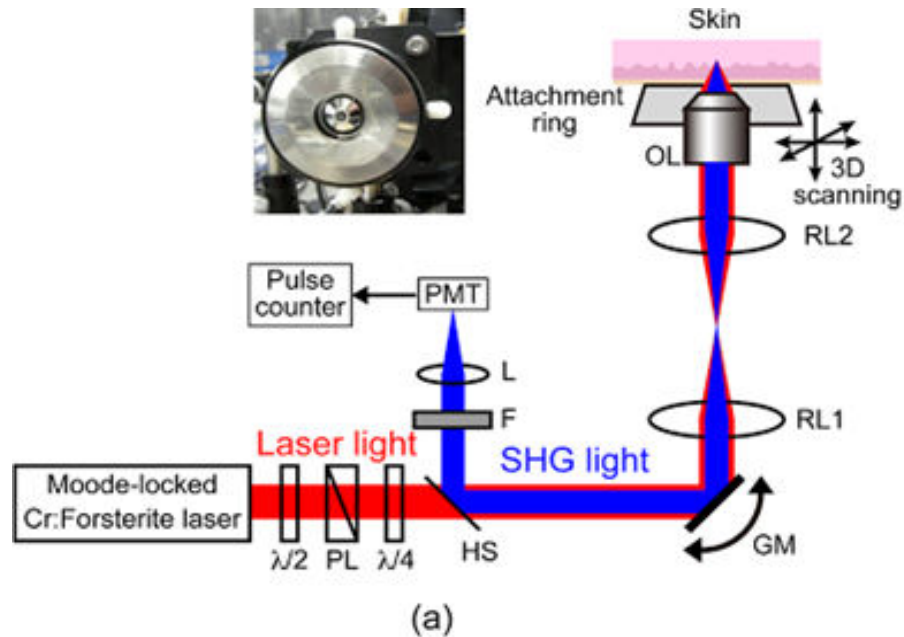


Ismétlési frekvencia: 20 MHz – szállézerhez hasonlóan

Ismétlési frekvencia: 80 MHz



Egyéb fényforrások



Yasui T. et al., *In vivo observation of age-related structural changes of dermal collagen in human facial skin using collagen-sensitive second harmonic generation microscope equipped with 1250-nm mode-locked Cr:Forsterite laser.* J Biomed Opt, 2013. **18**(3): p. 31108.

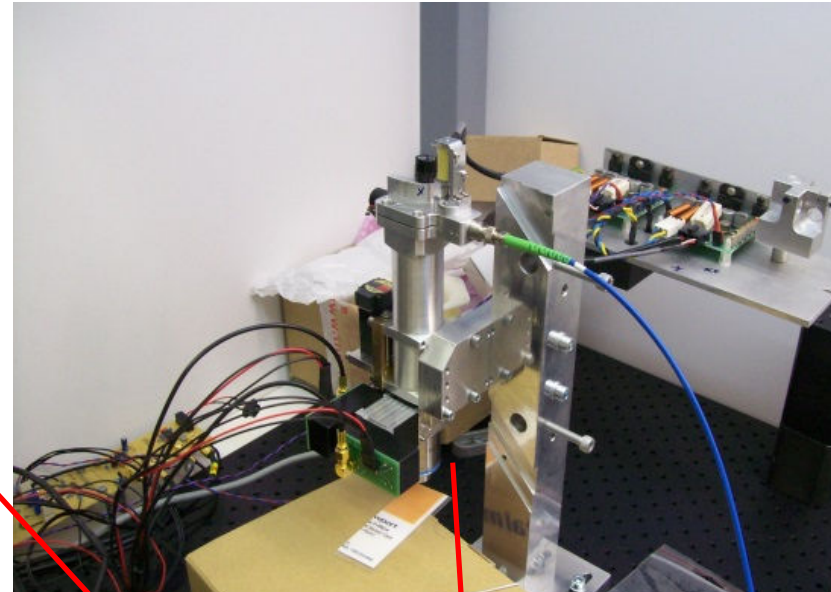
Fényforrás: Cr:Forsterite szilárdtest lézer
Hosszabb hullámhossz (1250 nm)
Olcsóbb, de kevésbé stabil, ipari szinten nem terjedt el



UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



„FiberScope”, a kézben tartott nemlineáris mikroszkóp



Fényforrás: impulzusüzemű Yb-szállézer,
erősítő rendszer

Leképező optika: kisméretű pásztázó mikroszkóp

Mind a lézer fényforrás, mind a mikroszkóp
optimalizált az adott orvosi diagnosztikai
feladathoz: alacsonyabb költségek! (~ 10 M Ft)

Biztonságtechnikai vizsgálatok





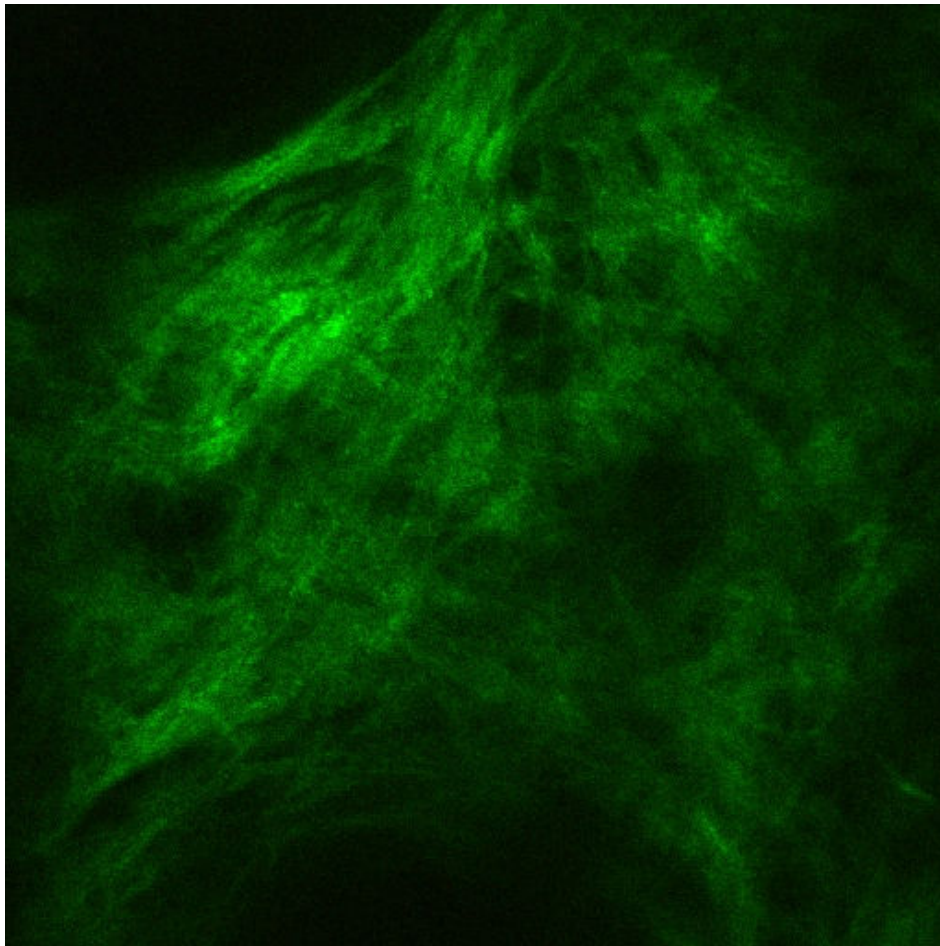
UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



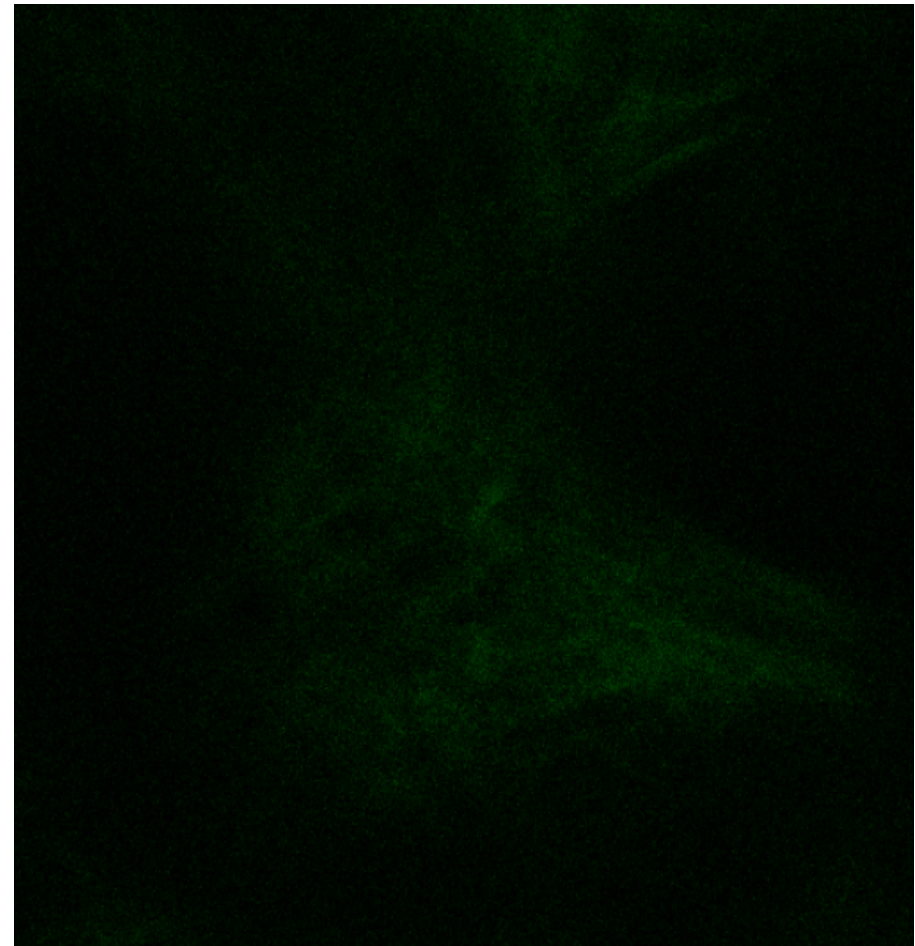
Lézer fényforrások összehasonlítása



Yb-szállézer (5 mW)



Ti:S szilárdtest lézer (5 mW)



Ex vivo egérfül, $z = 30 \mu\text{m}$



UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



Érdekesség





UNIVERSITAS
BUDAPESTINENSIS
DE SEMMELWEIS
NOMINATA



Összefoglalás



- *In vivo* célokra alkalmas, kis méretű, relatív alacsony költségű nemlineáris mikroszkóp megalkotása
- Adott diagnosztikai célokra optimalizálunk
- Biztonságtechnikai vizsgálatok
- *In vivo* tesztelés