

بررسی تأثیر استفاده از پلیمر نیمه طبیعی HPMC در شفاف سازی پوست موش

چکیده

سعید ضیائی¹

محمدعلی انصاری^{*1}

وحید قطبی ملکی²

صمد نژاد ابراهیمی²

مقدمه: امروزه شفاف سازی بر روی بافت های زیادی بخصوص پوست صورت بالینی و آزمایشگاهی می گیرد. مواد تشکیل دهنده بافت که عمدتاً پروتئین ها، لیپیدها، آب میان بافتی و عروق خونی است، باعث پراکندگی شدید نور شده و نفوذ نور به اعماق بافت را محدود می کنند. این محدودیت باعث عدم دستیابی به اطلاعات ساختاری و تشکیل دهنده بافت توسط نور و کاهش در وضوح تصویربرداری نوری می شود. در این مطالعه با استفاده از شفاف سازهای مبتنی بر پلیمر نیمه طبیعی HPMC و سوربیتول و با بکارگیری روغن نارگیل، توئین 20 (که به اختصار CSC1 و CSC2 نامیده شدند)، پارامترهای اپتیکی نمونه بافت پوست توسط روش طیف نشر بازتابی (DRS) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: برای بدست آوردن طیف های بازتابی و عبوری بافت از روش طیف سنجی نشر بازتابی (DRS) استفاده شده است. سپس با استفاده از مقادیر بدست آمده و جایگذاری در رابطه کرامرز - کرونینگ می توان ضریب شکست را قبل و بعد از اعمال شفاف ساز بدست آورد. همچنین پارامترهای اپتیکی دیگر نظیر ضریب جذب، ضریب تضعیف کل و ضریب انتشار از طیف های بازتابی و عبوری محاسبه شده است.

یافته ها: تأثیر استفاده از دو محلول پیشنهادی روی تغییرات ضریب شکست، ضریب جذب و ضریب انتشار محلول های شفاف ساز در فرایند شفاف سازی پوست موش بررسی شد.

نتیجه گیری: می توان گفت که پلیمر نیمه طبیعی HPMC در حفظ ساختار محلول شفاف ساز نقش موثری داشته است. از این رو می توان نتیجه گرفت که محلول CSC2 شفاف سازی را بهتر انجام داده و در نهایت نور بیشتر به بافت نفوذ خواهد کرد.

1. دانشجوی دکتری فوتونیک، گروه فوتونیک، آزمایشگاه تصویربرداری نوری زیستی، پژوهشگاه لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

1. دانشیار گروه فوتونیک، آزمایشگاه تصویربرداری نوری زیستی، پژوهشگاه لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

2. دانشجوی دکتری فیتوشیمی، آزمایشگاه فیتوشیمی، پژوهشگاه گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران

2. دانشیار گروه فیتوشیمی، آزمایشگاه فیتوشیمی، پژوهشگاه گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران

نویسندگان مسئول: محمدعلی انصاری

پست الکترونیکی:

m_ansari@sbu.ac.ir

تماس:

شماره
09122586437

واژه های کلیدی: شفاف ساز اپتیکی، خواص اپتیکی پوست، کرامرز - کرونینگ

مقدمه

شفاف سازی اپتیکی ابتدا سال 1914 توسط اسپاتهلتر¹ (کالبدشناس آلمانی 1861-1940) برای مشاهده ساختار عروق قلبی به صورت سه بعدی که توسط پرتو ایکس امکان پذیر نبود، معرفی شد. به همین منظور با غوطه ورسازی² بافت ماهیچه در زایلین³ موفق به شفاف سازی این بافت شد. بعد از او دانشمندان زیادی به این فرآیند روی آوردند که این امر باعث شد روش اسپاتهلتر تا امروز مورد استفاده قرار بگیرد. در سال 1955 بارر⁴ و همکارانش از جمله دانشمندانی بودند که با استفاده از روش غوطه ورسازی شفاف سازی نوری سوسپانسیون های سلولی را با استفاده از محلول پروتئینی با ضریب شکست مشابه سیتوپلاسم سلولی پیشنهاد کردند. سپس این روش توسط والری توجین⁵ و گروه علمی خود برای اولین بار در سال 1987 بر روی سایر بافت ها (صلبیه چشم) صورت گرفت. [1].

امروزه شفاف سازی بر روی بافت های زیادی به خصوص پوست صورت بالینی و آزمایشگاهی می گیرد. مواد تشکیل دهنده بافت که عمدتاً پروتئین ها، لیپیدها، آب میان بافتی و عروق خونی است، باعث پراکندگی شدید نور شده و نفوذ نور به اعماق بافت را محدود می کنند. این محدودیت باعث عدم دستیابی به اطلاعات ساختاری و تشکیل دهنده بافت توسط نور و کاهش در وضوح تصویربرداری نوری می شود [2]. در این گزارش نیز بافت پوست موش مورد مطالعه قرار گرفته است. به طور کلی پوست دارای سه لایه به نام های اپیدرم، درم و هایپودرم می باشد. اپیدرم بالاترین سطح پوست به ضخامت 100-150 میکرومتر بوده که متشکل از سلول های کراتینوسیت⁶ است و به دو بخش زنده و غیر زنده تقسیم می شود. ناحیه غیر زنده آن در معرض با عوامل خارجی قرار دارد و با چشم غیر مسلح نیز دیده می شود. بسته به تعداد ردیف و شکل سلول ها، دو بخش زنده و

غیر زنده به پنج قسمت استراتوم کورنیوم، استراتوم اسپینوسوم، استراتوم گارنولوسوم، استراتوم اسپینوسوم و استراتوم باسال که لایه بالای درم است، تقسیم می شوند. ساختار پوست موش نیز از نظر لایه و سلول شبیه به پوست انسان که در بالا توضیح داده شد می باشد و تفاوت تنها در تعداد لایه سلول ها و ضخامت مشاهده می شود. ضخامت پوست انسان بالای صد میکرومتر، سفت و به بافت های زیرین چسبیده است. در حالی که ضخامت پوست موش کمتر از 25 میکرومتر و شل می باشد. برای مثال لایه اپیدرم پوست انسان شامل 5 الی 10 لایه سلول ولی اپیدرم موش تنها دارای 2 الی 3 لایه سلول است. یا برجستگی های اپیدرم پوست انسان که پاپیلاری درم را برش می زند به طور معمول در موش وجود ندارد. همچنین پوست موش پوشیده از فولیکول های مو است در صورتی که پوست انسان توزیع کم و ناهمگونی از فولیکول دارد [3]، [4]، [2]. بدین ترتیب استفاده از پوست موش بجای پوست انسان به لحاظ شباهت زیاد جهت بررسی خواص اپتیکی این نوع بافت، مطلوب می باشد.

مطالعات زیادی برای افزایش عمق نفوذ نور در بافت پوست با استفاده از مواد مختلف صورت گرفته است. از جمله آنها می توان به بررسی بازتاب از پوست انسان با ترکیب پارافین مایع و گلیسرول بی آب توسط چن⁷ و همکارانش به عنوان یک عامل افزایش عمق نفوذ نور اشاره کرد. نتایج آنها نشان داده است که پارافین مایع می تواند نفوذ گلیسرول از راه پوست را افزایش دهد و اثر شفاف سازی نوری با گلیسرول بر روی نوارهای موج مرئی و فروسرخ نزدیک داشته باشد [5]. همچنین برای مشاهده سایر مطالعات به مرجع شماره [2] مراجعه کنید.

در این مطالعه با استفاده از شفاف سازی هایی که از پلیمر نیمه طبیعی⁸ HPMC، روغن نارگیل، توئین 20 و سوربیتول [6] (که به اختصار CSC1 و CSC2 نامیده شدند) تشکیل شده اند، پارامترهای اپتیکی نمونه بافت پوست توسط روش طیف نشر بازتابی (DRS⁹) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده در جداول 1 و 2 نشان

¹ Spalteholz

² Immersion

³ Xylene

⁴ Barer

⁵ Valery Tuchin

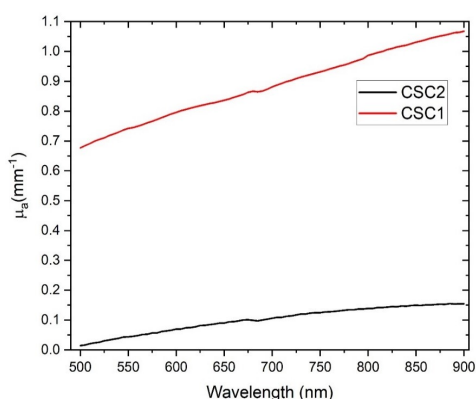
⁶ Keratinocyte

⁷ Chen

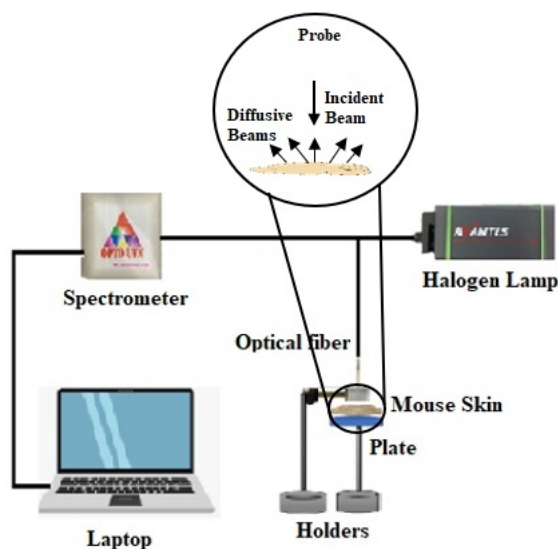
⁸ Hydroxypropyl methylcellulose

⁹ Diffuse Reflectance Spectroscopy

از طریق غوطه‌ورسازی با شفاف‌سازی از طریق تبخیر آب میان بافتی ترکیب شده است. نتایج بدست آمده در جدول 1 و 2 برای هر دو شفاف‌ساز مشاهده می‌شود. این خواص با استفاده از روابط (3)، (4) و (5) محاسبه شده‌اند. در ادامه از این محلول‌ها طیف جذبی UV با استفاده از دستگاه AvaSpec-3648 Fiber Optic Spectrometer بدست آمد.



شکل 1. ضریب جذب محلول‌های CSC1 و CSC2.



شکل 2. شماتیک چیدمان اندازه‌گیری

می‌دهد پراکندگی ناشی از اجزای تشکیل‌دهنده بافت توسط این محلول‌ها کاهش یافته است. همچنین با توجه به این جداول و همچنین شکل 5 می‌توان دریافت که شفاف‌سازی توسط CSC2 به دلیل حضور پلیمر نیمه طبیعی HPMC که باعث حفظ ساختار می‌شود، بهتر صورت گرفته است. این پلیمر به‌عنوان یک پلیمر طبیعی و خوراکی، نه تنها نفوذ را افزایش می‌دهد، بلکه شفافیت ماتریس کامپوزیت را نیز بهبود می‌بخشد. با افزایش غلظت آن، شفافیت فیلم حاصل نیز افزایش می‌یابد [7]. از نوآوری‌های این مطالعه می‌توان به معرفی محلولی بدون عوارض، سرعت بالای شفاف‌سازی، کم‌هزینه‌بودن و افزایش عمق نفوذ نور در پوست اشاره کرد که در مقایسه با شفاف‌سازهای موجود ارائه‌شده در مرجع [2] قابلیت قابل قبولی دارد. به این ترتیب می‌توان از این نوع محلول شفاف‌ساز در تصویربرداری‌های نوری جهت تشخیص، درمان و حتی دارورسانی بهره‌برد.

مواد و روش آزمایش

نمونه‌های پوست موش (Balb/c, 20-25g, 6-8 weeks) از جهاد دانشگاه بهشتی تهران تهیه شد. قبل از اعمال شفاف‌ساز ابتدا نمونه بر روی لام قرار داده شده و طیف‌های بازتابی و عبوری توسط پراب بازتابی و عبوری (-ME200-2UVIR7Avantes-FCR-) در محدوده طول موجی 500 تا 700 نانومتر بدست آمد. سپس محلول‌های شفاف‌ساز با همکاری پژوهشکده گیاهان دارویی با نام‌های CSC1 و CSC2 که بدون عوارض است تهیه و از طریق غوطه‌ورسازی بافت درون آنها، فرآیند شفاف‌سازی شکل گرفت. ترکیب این محلول‌ها شامل سوربیتول 60%، 30% آب، 5% تونین 20، 5% روغن نارگیل و نسبت w/w 1:10 پلیمر نیمه‌طبیعی HPMC می‌باشد. تفاوت محلول CSC1 و CSC2 تنها در این پلیمر نیمه‌طبیعی می‌باشد که در CSC2 بکار رفته است. پس از 30 دقیقه غوطه‌ورسازی نمونه‌ها از محلول‌ها خارج و خواص اپتیکی هر 15 دقیقه اندازه‌گیری شد (در این حالت تبخیر آب میان بافتی بر شفاف‌سازی تاثیر گذاشته که خود یک فرآیند شفاف‌سازی محسوب می‌شود). به این ترتیب می‌توان گفت که در این مطالعه، شفاف‌سازی

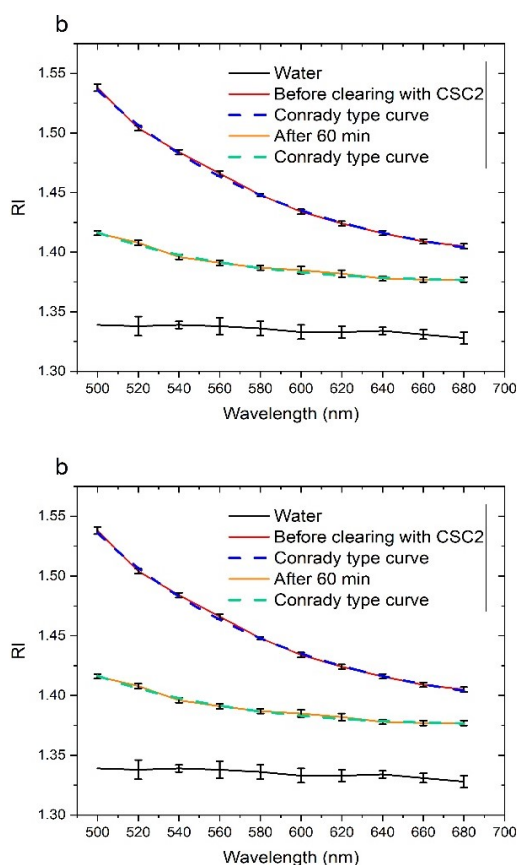
اجزای شماتیک چیدمان اندازه‌گیری عبارتند از 1. گیره نگهدارنده 2. پلیت 3. نمونه پوستی 4. پراب بازتابی 5. لامپ 6. طیف‌سنج 7. سیستم کامپیوتر جهت ثبت طیف. لازم به ذکر هست با قراردادن پراب دیگر در زیر نمونه، طیف عبوری نیز بدست می‌آید. در شکل 1. دلیل اختلاف جذب دو محلول شفاف‌ساز نیز خاصیت ذاتی HPMC می‌باشد. HPMC به‌طور طبیعی در دسترس بودن مولکول‌های آب آزاد را افزایش می‌دهد. ضمن اینکه این واقعیت کاملاً شناخته شده است که ضریب جذب با افزایش مولکول‌های آب غیرهیدراته افزایش می‌یابد [11]. هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)، با خاصیت خود یعنی امولسیون‌کننده ذاتی خود، جذب موادی را که در آب نامحلول هستند یا حلالیت کمی دارند، افزایش می‌دهد. این به‌طور بالقوه می‌تواند پایداری ذرات روغن را بهبود بخشد. بنابراین ذرات موجود در محلولی که دارای این پلیمر باشد جذب‌شده ولی در محلول دیگر همچنان به حالت اولیه خود می‌باشند [11].

یافته‌ها

با توجه به مقادیر پارامترهای گزارش‌شده در جدول 1 و 2 و همچنین تصاویر قبل و بعد از شفاف‌سازی در شکل 4 می‌توان دریافت که شفاف‌سازی توسط این محلول‌ها انجام شده است. با این وجود شفاف‌سازی محلول CSC2 قابل توجه می‌باشد. این مورد به دلیل استفاده از پلیمر نیمه‌طبیعی HPMC می‌باشد که باعث حفظ انسجام ساختار محلول در حین نفوذ و شفاف‌سازی بافت می‌باشد. بدین ترتیب به محلولی که با سرعت بالاتری شفاف‌سازی قابل قبولی را انجام می‌دهد دست یافتیم.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نمودارهای شکل 3، مشاهده می‌شود که با گذشت زمان میزان ضریب شکست بافت از مقدار 1.57 به 1.35 برای محلول CSC1 و از 1.56 به 1.33 برای محلول CSC2 کاهش پیدا کرده است که حاکی از افزایش عمق نفوذ نور در بافت ناشی از کاهش پراکندگی می‌باشد. به این صورت که باید در نظر داشت که پارامتر ضریب شکست بدست‌آمده از رابطه کرامرز - کرونیگ، با استفاده از ضریب بازتاب پخش بدست‌آمده که در مقایسه با ضریب



شکل 3. طیف‌های ضریب شکست نمونه پوست موش در محلول‌های CSC1 و CSC2 قبل از شفاف‌سازی و بعد از 60 دقیقه شفاف‌سازی. نمودارهای a طیف بازتابی مربوط به محلول CSC2 و b مربوط به محلول CSC1 است.

برای مثال طی شفاف‌سازی پوست موش با استفاده از محلول گلوکز مقدار ضریب انتشار $1.1 \times 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ و با استفاده از محلول گلیسرول $3.2 \times 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ بدست آمده است [2]. اما در جدول 2 این ضریب برای محلول CSC2 از مرتبه 10^{-5} می‌باشد. همچنین می‌توان گفت که پلیمر نیمه‌طبیعی HPMC که در حفظ ساختار محلول نقش داشته، موثر بوده است. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که هر چه ترکیب محلول مورد استفاده ساختار خود را در حین شفاف‌سازی بیشتر حفظ کند، شفاف‌سازی را بهتر انجام‌داده و در نهایت نور بیشتر به بافت نفوذ خواهد کرد. این حفظ ساختار یکی از خاصیت‌های پلیمر مورد استفاده می‌باشد [14-23]. ضمن اینکه همان‌طور که در بخش مواد و روش آزمایش بیان شد باید توجه داشت علاوه بر فرآیند شفاف‌سازی توسط محلول‌ها، فرآیند دیگر که هوا می‌باشد در شفاف‌سازی تاثیر دارد. زیرا این عامل باعث تبخیر آب میان بافتی شده و باعث انقباض بافت می‌شود [2].

افزایش ضریب تضعیف را می‌توان به اجزای تشکیل‌دهنده بافت نسبت داد. با این وجود دلیل اصلی این افزایش، محلول‌های مورد استفاده در این مطالعه می‌باشند که جذب آنها در شکل 1 قابل مشاهده است.

در ادامه مقادیر دیگر پارامترهای اپتیکی پوست موش در جدول 1 و 2 برای شفاف‌سازهای بکار رفته، گزارش شده است.

با بررسی مقادیر پارامترهای اپتیکی در جداول 1 و 2 می‌توان مشاهده کرد که ضخامت با گذشت زمان تحت شفاف‌سازی با هر دو محلول کاهش یافته است. ضخامت نمونه از 1.1 میلی‌متر به 0.4 میلی‌متر برای محلول CSC1 و در نمونه دوم از 1.08 میلی‌متر به 0.49 میلی‌متر برای محلول CSC2 تغییر داشته است. از این کاهش می‌توان نتیجه گرفت که بافت دچار انقباض شده است که به‌خاطر در معرض هوا قرار داشتن نمونه و تبخیر آب آن پس از خارج شدن از محلول‌ها می‌باشد. همین‌طور مقدار بازتاب برای هر دو محلول پس از شفاف‌سازی نیز کاهش و ضریب عبور افزایش پیدا کرده است. این بدان معنا می‌باشد که شفاف‌سازی توسط دو محلول به‌خوبی صورت گرفته و نور بیشتری از آن عبور می‌کند. ضریب انتشار نیز کاهش پیدا می‌کند. با کاهش در ضریب انتشار می‌توان به این نتیجه رسید که محلول دوم شفاف‌سازی را زودتر از محلول اول انجام می‌دهد (یعنی محلول اول هنوز در حال شفاف‌سازی می‌باشد). و این همان هدف مطالعه است یعنی دست‌یافتن به شفاف‌سازی که سرعت بالاتر و شفافیت بیشتری داشته باشد (شکل 4 را ببینید). این ادعا را می‌توان با مراجعه به مرجع [2] و بررسی جدول مربوط به سرعت انتشار محلول‌های شفاف‌ساز به‌وضوح مشاهده کرد.

جدول 1. مقادیر کمیت‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه. $[\lambda=500-700(\text{nm})]$

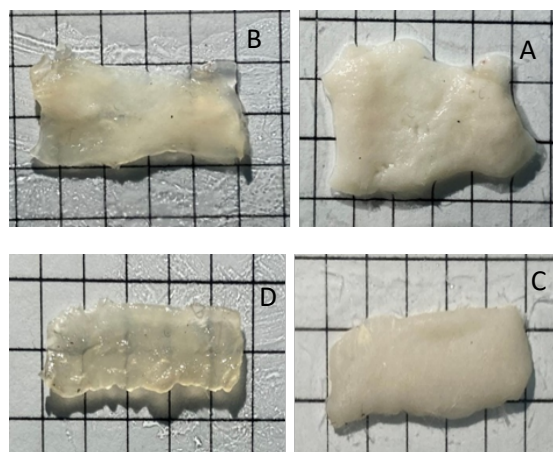
شفاف‌سازی 45 دقیقه بعد از	شفاف‌سازی 30 دقیقه بعد از	شفاف‌سازی 15 دقیقه بعد از	قبل از شفاف‌سازی	شفاف‌ساز	واحد	پارامتر	بافت
0,4	0,52	0,77	1,1	CSC1	mm	ضخامت (d)	پوست موش Balb/c/25g/6-8 weeks))
2.50-2.31	3.70-2.97	4.91-3.63	5.53-3.46	CSC1	---	بازتاب برحسب درصد (R)	
12.92-17.47	8.89-12.36	4.85-7.26	4.76-5.35	CSC1	---	عبور برحسب درصد (T)	
1.37-1.35	1.47-1.41	1.56-1.47	1.57-1.45	CSC1	---	ضریب شکست (RI)	
5.11-4.36	4.65-4.01	3.92-3.40	2.76-2.66	CSC1	mm ⁻¹	ضریب تضعیف کل (μ_g)	
$(4.98-6.92) \times 10^{-5}$	$(7.3-8.5) \times 10^{-5}$	$(1-3) \times 10^{-4}$	0	CSC1	cm ² /s	ضریب انتشار (D_s)	

جدول 2. مقادیر کمیت‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه. $[\lambda=500-700(\text{nm})]$

شفاف‌سازی 45 دقیقه بعد از	شفاف‌سازی 30 دقیقه بعد از	شفاف‌سازی 15 دقیقه بعد از	قبل از	شفاف‌ساز	واحد	پارامتر	بافت
0,49	0,6	0,81	1,08	CSC2	mm	ضخامت (d)	پوست موش Balb/c/25g/6-8 weeks))
1.78-2.05	1.67-1.92	4.76-4.15	5.04-3.46	CSC2	---	بازتاب برحسب درصد (R)	
11.63-14.03	6.25-8.88	3.12-3.86	0.78-0.88	CSC2	---	عبور برحسب درصد (T)	
1.34-1.37	1.33-1.36	1.55-1.51	1.56-1.45	CSC2	---	ضریب شکست (RI)	
5.37-4.90	4.61-4.03	4.27-4.01	4.49-4.37	CSC2	mm ⁻¹	ضریب تضعیف کل (μ_g)	
$(4.45-5.44) \times 10^{-5}$	$(6-7.85) \times 10^{-5}$	13×10^{-5} (17)	0	CSC2	mm ² /s	ضریب انتشار (D_s)	

تشکر و قدردانی

این اثر تحت حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته از طرح شماره (98029460) انجام شده‌است.



شکل 4. A. نمونه قبل از شفاف‌سازی جهت استفاده محلول CSC1.

B. نمونه بعد از 45 دقیقه شفاف‌سازی با CSC1

C. نمونه قبل از شفاف‌سازی جهت استفاده از محلول CSC2.

D. نمونه بعد از 45 دقیقه شفاف‌سازی با CSC2

References

1. Levy JL, Pons F, Agopian L, Besson R. Subjective Evaluation and Objective Measurement Methods in Cosmetic Dermatology. *Medical Laser Application* 2004;19(4), 223–229, <https://doi.org/10.1078/1615-1615-00146>.
2. Babadi M, Mohajerani E, Ataie-Fashtami L, Zand N, Shirkavand A. Quantitative Analysis of Skin Erythema Due to Laser Hair Removal: A Diffusion Optical Spectroscopy Analysis. *J Lasers Med Sci*. 2019 Spring;10(2):97–103. doi: 10.15171/jlms.2019.16. Epub 2019 Feb 25. PMID: 31360377; PMCID: PMC6499568.
3. Shirkavand A, Sarkar S, Ataie fashtami L, Mohammadreza H. Detection of Melanoma Skin Cancer by Elastic Scattering Spectra: A Proposed Classification Method, *Iranian Journal of Medical Physics*, 2017, 14(3), 162–166, DOI: 10.22038/ijmp.2017.21367.1203
4. Jang Ah Kim and Dominic J Wales and Guang-Zhong Yang. Optical spectroscopy for in vivo medical diagnosis—a review of the state of the art and future perspective, *Progress in Biomedical Engineering* 2020,2(4), doi:0.1088/2516–1091/abaa3.
5. Allahdadi E, Shirkavand A, Mohajerani E, Mansouri P, Almasi A, Sherfat SJ. Optimizing parameters of the Pulsed Dye Laser (PDL, 585-nm) for hemangioma treatment using diffuse reflectance spectroscopy. *J Cosmet Dermatol*. 2022 Dec;21(12):6798–6804. doi: 10.1111/jocd.15430. Epub 2022 Oct 31. PMID: 36181704.
6. Carpenter DJ, Sajisevi MB, Chapurin N, Brown CS, Cheng T, Palmer GM, Stevenson DS, Rao CL, Hall RP, Woodard CR. Noninvasive optical spectroscopy for identification of non-melanoma skin cancer: Pilot study. *Lasers Surg Med*. 2018 Mar;50(3):246–252. doi: 10.1002/lsm.22786. Epub 2018 Jan 13. PMID: 29331035; PMCID: PMC6407423.
7. Adão T, Hruška J, Pádua L, Bessa J, Peres E, Morais R, Sousa JJ. Hyperspectral Imaging: A Review on UAV-Based Sensors, Data Processing and Applications for Agriculture and Forestry. *Remote Sensing*. 2017; 9(11):1110. <https://doi.org/10.3390/rs9111110>
8. Geldof F, Dashtbozorg B, Hendriks BHW, et al. Layer thickness prediction and tissue classification in two-layered tissue structures using diffuse reflectance spectroscopy. *Sci Rep* 12, 1698 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05751-5> Analysis of optical absorption of photoaged human skin using a high-frequency illumination microscopy analysis system_2023.
9. Aggarwal P, Papay FA. Applications of multispectral and hyperspectral imaging in dermatology, *experimental dermatology*, 2022, <https://doi.org/10.1111/exd.14624>
10. Lu G, Fei B. Medical hyperspectral imaging: a review. *J Biomed Opt*. 2014 Jan;19(1):10901. doi: 10.1117/1.JBO.19.1.010901. PMID: 24441941; PMCID: PMC3895860.
11. Marghoob NG, Liopyris K, Jaimes N. Dermoscopy: A Review of the Structures That Facilitate Melanoma Detection. *J Am Osteopath Assoc*. 2019 Jun 1;119(6):380–390. doi: 10.7556/jaoa.2019.067. PMID: 31135866.
12. Boulvert F, Boulbry B, Brun G Le, Jeune B Le, Rivet S, Cariou J. A Comparison of entropy and polarization memory rate behaviors through a study of weakly-anisotropic depolarizing biotissues. *Optics Communications*, 2007, 272(2), 534–538, <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2006.11.067>

13. Yaroslavsky AN, FengX, Neel VA, Polarization Optical Imaging of Skin Pathology and Ageing Author links open overlay panel, Chapter 22, Imaging in Dermatology, 2016, Pages 291–325, Academic Press.
14. Hunt B, Ruiz A, Pogue B. Smartphone-based imaging systems for medical applications: a critical review. *J Biomed Opt.* 2021 Apr;26(4):040902. doi: 10.1117/1.JBO.26.4.040902. PMID: 33860648; PMCID: PMC8047775.
15. Rabha D, Sarmah A, Nath P. Design of a 3D printed smartphone microscopic system with enhanced imaging ability for biomedical applications. *J Microsc.* 2019 Oct;276(1):13–20. doi: 10.1111/jmi.12829. Epub 2019 Sep 22. PMID: 31498428.
16. Phillips ZF, D'Ambrosio MV, Tian L, Rulison JJ, Patel HS, Sadras N, Gande AV, Switz NA, Fletcher DA, Waller L. Multi-Contrast Imaging and Digital Refocusing on a Mobile Microscope with a Domed LED Array. *PLoS One.* 2015 May 13;10(5):e0124938. doi: 10.1371/journal.pone.0124938. PMID: 25969980; PMCID: PMC4430423.
17. Ehsan Allahdadi 1, Afshan Shirkavand 2, Ezeddin Mohajerani 1, Parvin Mansouri 2, Ali Almasi 1, Somayeh Jahani Sherafat. Optimizing parameters of the Pulsed Dye Laser (PDL, 585–nm) for hemangioma treatment using diffuse reflectance spectroscopy. 2022 Oct 31. DOI: 10.1111/jocd.15430.