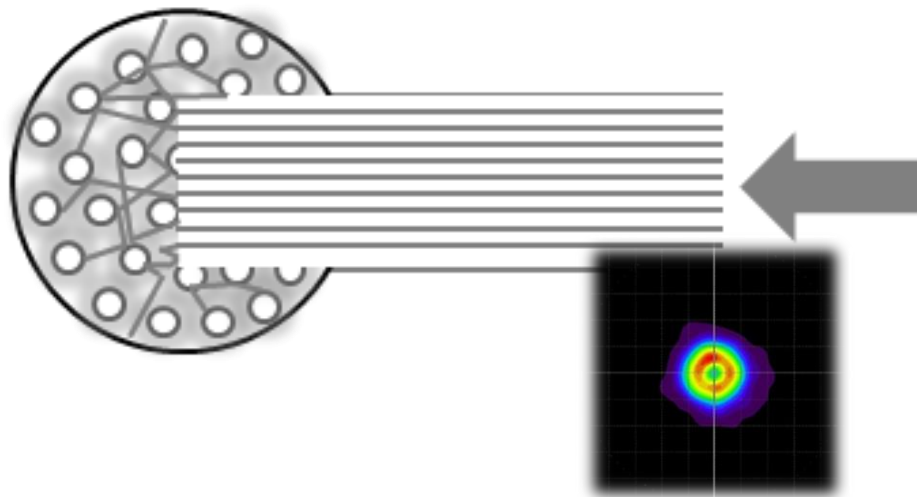


# ІТМО

А.В. Беликов, Ю.В. Федорова

## ФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФРАКЦИОННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ОБРАБОТКИ БИОТКАНЕЙ



Санкт-Петербург  
2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

**А.В. Беликов, Ю.В. Федорова**  
**ФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**  
**ФРАКЦИОННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ**  
**ОБРАБОТКИ БИОТКАНЕЙ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ  
ИТМО

по направлению подготовки 12.03.05 Лазерная техника и лазерные  
технологии в качестве учебного пособия для реализации основных  
профессиональных образовательных программ высшего образования  
бакалавриата

**ИТМО**

Санкт-Петербург  
2024

Беликов А.В., Федорова Ю.В., Физические аспекты фракционной лазерной технологии обработки биотканей – СПб: Университет ИТМО, 2024. – 70 с.

Рецензент(ы):

Храмов Валерий Юрьевич, доктор технических наук, профессор, тьютор института лазерных технологий, Университета ИТМО.

Настоящее учебное пособие содержит информацию, необходимую для успешного освоения материала лекций по дисциплинам «Биофотоника», «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях» и выполнения лабораторных работ по дисциплине «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях». Главы 1–3 учебного пособия предназначены для студентов, обучающихся в бакалавриате по дисциплинам «Биофотоника» и «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях» направления 12.03.05 «Лазерная техника и лазерные технологии». Главы 4–6 учебного пособия предназначены для студентов, обучающихся в бакалавриате по дисциплине «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях» направления 12.03.05 «Лазерная техника и лазерные технологии».

Объем учебного пособия – 70 стр. (включая титульный лист, содержание, введение, шесть глав, требования к оформлению отчета, список рекомендованной литературы). Рисунков – 20, таблиц – 4, формул – 3.

The logo of the University of ITMO, consisting of the letters 'ITMO' in a bold, black, sans-serif font.

**Университет ИТМО** – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Университет ИТМО, 2024

© Беликов А.В., Федорова Ю.В., 2024

## Содержание

Введение.....	4
Глава 1. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей в дерматологии. Общие принципы.....	5
Глава 2. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей в стоматологии. Выбор параметров лазерного излучения.....	13
Глава 3. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей в стоматологии. Примеры.....	30
Глава 4. Лабораторная работа №1. Оптическая модель слизистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения интенсивности лазерного излучения в слизистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии.....	40
Глава 5. Лабораторная работа №2. Теплофизическая модель слизистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения тепла в слизистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии.....	51
Глава 6. Лабораторная работа №3. Теплофизическая модель слизистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения интеграла повреждения в слизистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии.....	60
Требования к оформлению отчета.....	63
Список рекомендованной литературы.....	64

## Введение

Лазерные технологии широко применяются в современном мире, в том числе в медицине. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей позволяют эффективно и качественно проводить терапию широкого круга заболеваний. В последнее время область применения фракционных лазерных технологий расширяется. При разработке новых фракционных лазерных технологий обработки биотканей, для создания высокоэффективных лазерных приборов, реализующих эти технологии, необходимо знать физические аспекты фракционных лазерных технологий обработки биотканей, параметры современных лазерных систем и примеры использования фракционных лазерных технологий в медицине; глубоко разбираться в процессах, происходящих в биотканях; владеть современными методами расчета распределений света, тепла и повреждения в биотканях; уметь сделать выбор параметров лазерного излучения для оптимальной фракционной лазерной обработки биотканей.

Настоящее учебное пособие содержит информацию, необходимую для успешного освоения материала лекций по дисциплинам «Биофотоника», «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях», выполнения лабораторных работ по дисциплине «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях и может быть использовано обучающимися и преподавателями в учебном процессе, включая контактную работу (лекции, лабораторные), а также самостоятельную работу студента (СРС) по указанным дисциплинам. Лабораторные работы реализуются на основе компьютерного моделирования, что дает возможность приобрести знания, умения и навыки работы с современными компьютерными средствами моделирования оптических, теплофизических и биофизических процессов, происходящих в биотканях при фракционном лазерном воздействии, изменять в широком диапазоне условия численных экспериментов и предсказывать результаты экспериментов, но не позволяет наблюдать реальные процессы.

Главы 1–3 учебного пособия предназначены для студентов, обучающихся в бакалавриате по дисциплинам «Биофотоника» и «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях» направления 12.03.05 «Лазерная техника и лазерные технологии». Главы 4–6 учебного пособия предназначены для студентов, обучающихся в бакалавриате по дисциплине «Лазерные технологии в медико-биологических исследованиях» направления 12.03.05 «Лазерная техника и лазерные технологии».

Объем учебного пособия – 70 стр. (включая титульный лист, содержание, введение, шесть глав, требования к оформлению отчета, список рекомендованной литературы). Рисунков – 20, таблиц – 4, формул – 3.

## Глава 1. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей в дерматологии. Общие принципы

В настоящее время среди лазерных биомедицинских технологий интенсивно развивается метод фракционного лазерного фототермолиза [1]. Этот метод заключается в создании в биоткани зон термических микроповреждений, окруженных участками неповрежденной ткани [2]. Микроповреждения создаются в результате воздействия на биоткань пространственно-разнесенных лазерных микропучков, имеющих определенную длину волны, энергию, плотность энергии, длительность и фактор заполнения. Фракционное лазерное воздействие впервые было использовано в офтальмологии для коррекции зрения [3] и в настоящее время широко используется в дерматологии для фотоомоложения кожи [4-6], обработки рубцов [7-11], лечения гиперпигментации [12] и прочего [13-15].

На рисунке 1.1. представлена основная идея фракционного метода лазерной обработки кожи. Можно видеть, что после фракционного воздействия микропучков лазера в коже формируется большое количество микроколонок, регенерация которых способствует оздоровлению кожи.

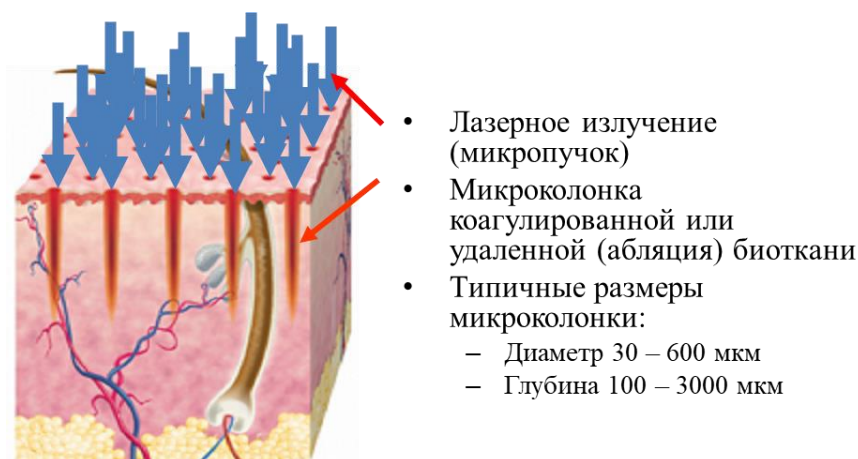


Рис. 1.1. Основная идея фракционного метода лазерной обработки кожи [16].

Оздоровление кожи происходит благодаря формированию вокруг коагуляционной микроколонок (содержащей некротизированную ткань) слоя, содержащего протеин теплового шока (семейство белков, которые вырабатываются клетками в ответ на воздействие стрессовых условий). Вокруг этого слоя в свою очередь формируется область, содержащая кластеры эпидермальных стволовых клеток и ТА (Transit Amplifying) клеток. ТА клетки могут сигнализировать гетерологичным типам клеток (клетки, которые обычно не участвуют в процессе регенерации и лишь

способствуют лимфоцитам в выполнении их функции) о необходимости создания оптимальной среды для образования тканей (см. рисунок 1.2.).

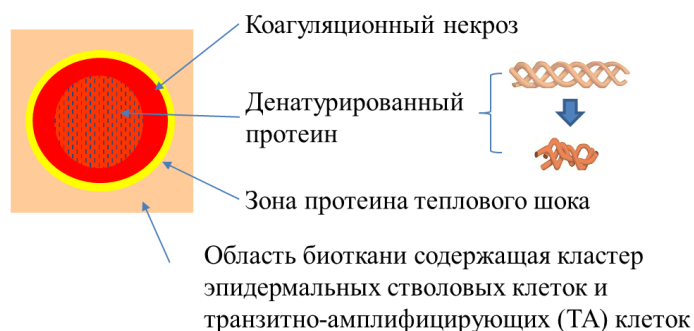


Рис. 1.2. Схема строения микроколоники, созданной в биоткани в результате фракционного лазерного воздействия [16].

Для фракционной лазерной обработки биотканей используют  $\text{CO}_2$  лазер с длиной волны 10.6 мкм, неодимовый лазер с длиной волны 1.32 мкм или 1.44 мкм, лазер на иттербий-эрбиевом стекле с длиной волны 1.54 мкм, эрбиевый лазер с длиной волны 2.94 мкм, волоконные лазеры с длиной волны 1.41-1.56 мкм, диодные лазеры с длиной волны 0.8-0.98 мкм и пр. На рисунке 1.3. представлены результаты фракционного воздействия излучением лазера на иттербий-эрбиевом стекле с длиной волны 1.54 мкм с различной энергией микропучка через 7 суток после лазерного воздействия. Следует отметить, что спустя этот промежуток времени на поверхности кожи присутствуют изолированные микроповреждения, до этого контраст между микроповреждениями и окружающей тканью не столь заметный.

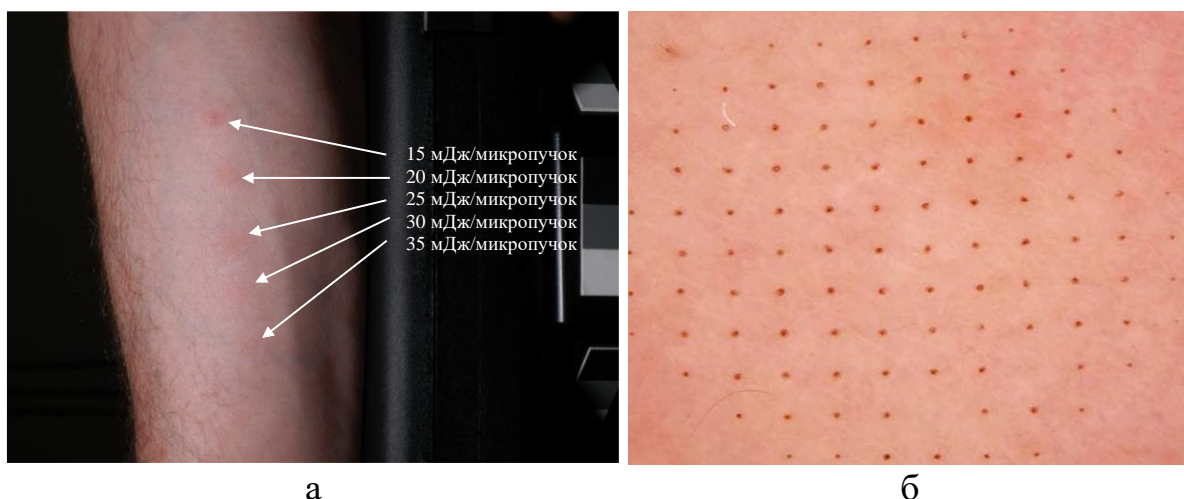


Рис. 1.3. Фотографии поверхности кожи через 7 суток после фракционного лазерного воздействия (длина волны 1.54 мкм) с различной энергией в микропучке (а) и увеличенный фрагмент поверхности кожи при 30 мДж/микропучок (б) [16].

Визуальный эффект зависит от энергии микропучка. При некоторых энергиях (например, при 15-20 мДж/микропучок) результат фракционного воздействия трудно визуально различить, а при больших энергиях результат воздействия становится более заметным.

Фракционную лазерную терапию делят на абляционную и неабляционную в зависимости от получаемого эффекта на биоткани. При абляционной лазерной фракционной терапии в результате лазерного воздействия происходит удаление биоткани [17]. К достоинствам абляционной фракционной лазерной терапии можно отнести ее высокую эффективность. К недостаткам относят длительный период восстановления и большой процент побочных эффектов [18]. Неабляционная лазерная фракционная терапия используется как альтернатива или совместно с абляционной. В процессе неабляционного воздействия биоткань термически повреждается (коагулируется), но не удаляется. Основные достоинства неабляционной лазерной фракционной терапии состоят в коротком сроке заживления и минимальном риске побочных эффектов. К недостаткам относят меньшую, чем при абляционной фракционной терапии эффективность, что требует увеличения количества сеансов. Таким образом, в результате лазерного воздействия может формироваться коагуляционная или абляционная колонка. Гистологическая картина коагуляционной колонки представлена на рисунке 1.4а, а абляционной – на рисунке 1.4б. Видно, что в абляционной колонке присутствует как область удаленной биоткани (область абляции), так и область коагулированной ткани, в коагуляционной колонке присутствует только коагулированная ткань. Также можно заметить, что коагуляционная колонка имеет отношение глубины к диаметру, равное 5...6:1, а абляционная – равное 9...10:1, при этом диаметр и глубина абляционной колонки меньше, чем коагуляционной.

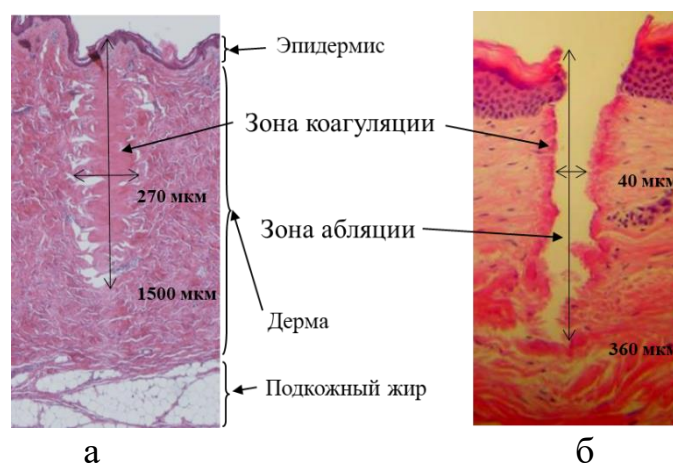


Рис. 1.4. Гистологическая картина коагуляционной (а) и абляционной (б) микроколонок в коже после фракционного лазерного воздействия. Окраска гематоксилином и эозином [16].



Микроколонка изменяется с течением времени. На рисунке 1.5. представлена гистологическая картина последовательности заживления абляционной микроколонки в коже. Видно, что эпителизация происходит на 7-е сутки после обработки, а через три месяца микроповреждение никак не обнаруживается.

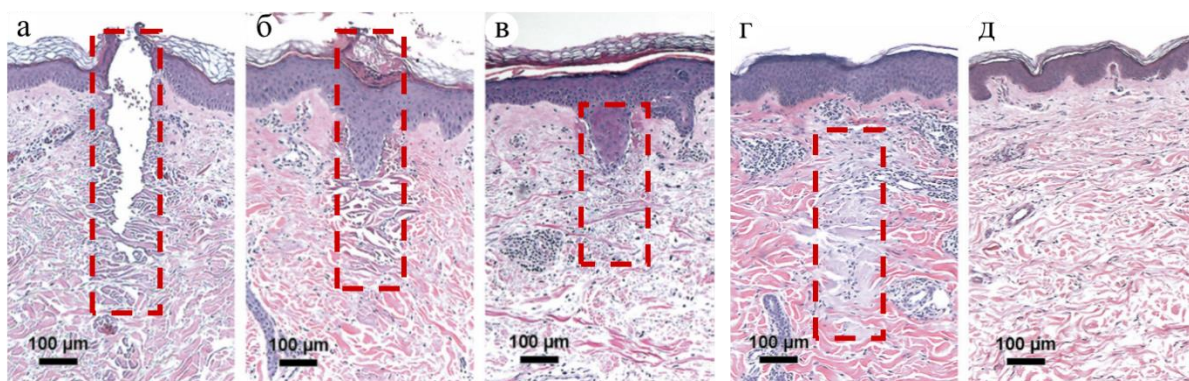


Рис. 1.5. Гистологическая картина последовательности заживления абляционной микроколонки в коже сразу после (а), спустя 2-е суток после (б), спустя 7 суток (в), спустя 1 месяц после (г) и спустя 3 месяца (д) после лазерного воздействия. Окраска гематоксилином и эозином [16].

Результат фракционного лазерного воздействия зависит от величины поглощения его излучения водой, содержащейся в биоткани. Чем выше поглощение лазерного излучения водой, содержащейся в биоткани, тем выше вероятность формирования абляционной микроколонки при воздействии на кожу излучения ИК-лазеров (условно можно сказать, что если коэффициент поглощения выше  $500 \text{ см}^{-1}$ , то произойдет абляция, если ниже, то произойдет коагуляция). Традиционно к лазерам, под воздействием излучения которых в коже формируется абляционная микроколонка (абляционные лазеры), относят  $\text{CO}_2$  лазер с длиной волны 10.6 мкм и эрбиевый лазер с длиной волны 2.94 мкм [19], а к лазерам, под воздействием излучения которых в коже формируется коагуляционная микроколонка (коагуляционные или неабляционные лазеры), относят неодимовый лазер с длиной волны 1.32 мкм или 1.44 мкм, лазер на иттербий-эрбиевом стекле с длиной волны 1.54 мкм, волоконные лазеры с длиной волны 1.41-1.56 мкм, диодные лазеры с длиной волны 0.8-0.98 мкм.

Геометрические параметры микроколонки и результаты ее регенерации зависят не только от длины волны, но и от других параметров лазерного излучения. На рисунке 1.6. представлена гистологическая картина коагуляционной колонки, сформированной при различных энергиях лазерного излучения в микропучке иттербий-эрбиевого лазера с длиной волны 1.54 мкм.

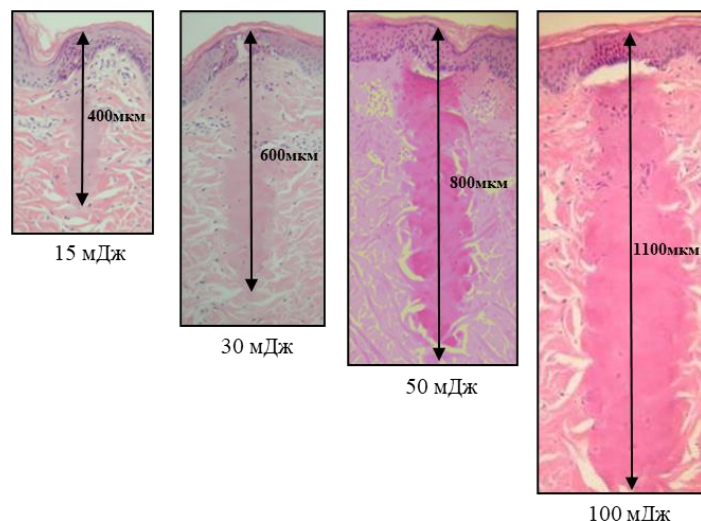


Рис. 1.6. Гистологическая картина коагуляционных микроколонок в коже после фракционного лазерного воздействия (длина волны 1.54 мкм) с различной энергией в микропучке. Окраска гематоксилином и эозином [16].

Видно, что глубина и диаметр микроколоники зависят от энергии лазерного микропучка. Рост энергии микропучка приводит к росту глубины и диаметра. Можно заметить, что увеличение энергии микропучка в два раза приводит к увеличению глубины колонки в 1.5 раза.

Диаметр микроколоники является ключевым параметром для достижения хорошего косметического эффекта после фракционного лазерного воздействия на кожу. Он должен быть меньше 600 мкм, в противном случае на коже сформируется шрам (см. рисунок 1.7.).

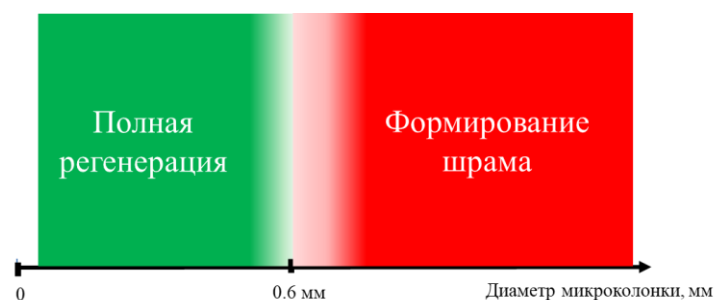


Рис. 1.7. Влияние диаметра микроколоники, сформированной после фракционного лазерного воздействия в коже, на результат регенерации [16].

Фактор заполнения (coverage rate), представляющий собой отношение площади поверхности биоткани (кожи, слизистой), занятой микроколонками (микропучками), к площади поверхности всей биоткани, тоже является важным параметром. Он влияет на эффективность и безопасность обработки. Оптимальным является фактор заполнения, лежащий в диапазоне от 25 % до 60 %. Если фактор заполнения превышает

60 %, то велик риск возникновения шрама, если он ниже 25 % то эффективность регенерации крайне мала.

Для фракционной обработки кожи разработано большое количество лазерных систем. Известен лазер ICON компании Palomar (США). Внешний вид лазера представлен на рисунке 1.8а. Лазер генерирует излучение на длине волны 1.54 мкм и представляет собой лазер на иттербий-эрбиевом стекле с ламповой накачкой. Этот лазер генерирует импульсы излучения с низкой частотой (1-2 Гц), но с большой энергией. Энергия в импульсе излучения может достигать 9 Дж. Лазерный пучок разбивается на большое количество микропучков в оптическом элементе, содержащем большое количество микролинз. Как видно, плотность заполнения микролинзами (микропучками) может быть как 100 микропучков/см<sup>2</sup>, так и 320 микропучков/см<sup>2</sup> (см. рисунок 1.8б).

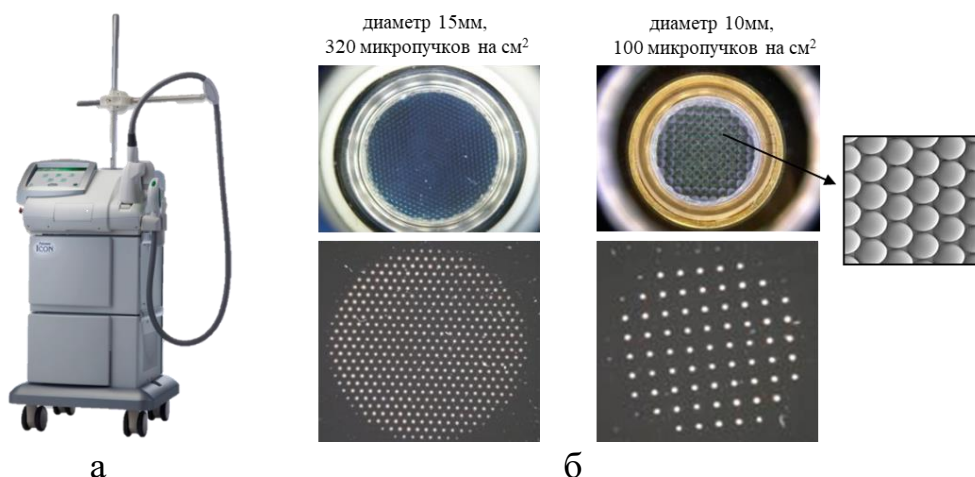


Рис. 1.8. Внешний вид (а) и фотографии насадок, содержащих микролинзы, и распределения микропучков на их выходе (б) лазера ICON компании Palomar (США) [16].

Известен также лазер Fraxel компании Solta (США). Внешний вид лазера представлен на рисунке 1.9а. Лазер генерирует на длине волны 1.56 мкм и представляет собой лазер на волокне, активированном ионами Er или Tm с диодной накачкой. В отличие от лазера ICON этот лазер, наоборот, генерирует импульсы с высокой частотой повторения (до 3 кГц), но с малой энергией. Энергия импульса Er волоконного лазера может достигать 70 мДж, а Tm – 20 мДж. В этом случае большое количество микропучков создается за счет сканирования лазерного излучения вдоль поверхности кожи. Для создания набора микропучков используется сканер (см. рисунок 1.9б), который с постоянной скоростью (скорость сканирования предустанавливается из диапазона 3-8 см/с) перемещает лазерный пучок вдоль линии вперед-назад, длина этой линии может быть либо 7 см, либо 15 см, а врач перемещает весь лазерный наконечник вдоль поверхности

кожи, но поперек направлению сканирования. В результате происходит обработка требуемой площади поверхности кожи.



Рис. 1.9. Внешний вид (а) и фотографии сканера и насадок (б) лазера Fraxel компании Solta (США) [16].

Разработаны также фракционные системы для домашнего использования, например, лазер Palovia компании Palomar (США). В этих системах обычно используются диодные лазеры или даже светодиоды, а сканирование производится автоматически в пятне с размерами  $10 \times 10$  мм или  $15 \times 15$  мм, при плотности заполнения 64 или 100 микропучков/см<sup>2</sup>.

Успех фракционной лазерной технологии в дерматологии напрямую связан с хорошим результатами лечения кожи. Фракционные лазеры хорошо удаляют гипертрофические и келоидные рубцы. Гипертрофические рубцы – грубые, плотные образования, возвышающиеся над уровнем окружающей кожи не более чем на 4-5 мм, при этом не распространяются за пределы повреждения кожи, а по размеру и форме соответствуют первоначальной травме, могут регрессировать. Келоидные рубцы – распространяются за пределы повреждения кожи и редко регрессируют. При лечении рубцов кожи хорошо себя зарекомендовала неабляционная лазерная фракционная терапия. Образование рубцов (шрамов) после травмы кожи является довольно частым результатом процесса заживления ран. Клинически, шрамы могут варьироваться от мелких линий до келоидных рубцов. Наличие шрама может вызывать как психосоциальные, так и физиологические осложнения [20, 21]. Первым лазером, использованным для лечения гипертрофических рубцов и келоидов, был непрерывный аргоновый лазер [22]. Затем в начале 1980-х годов при лечении рубцов были применены непрерывные Nd:YAG (длина волны 1.064 мкм) и CO<sub>2</sub> (длина волны 10.6 мкм) лазеры [23]. Положительное влияние фракционного лазерного воздействия на кожу при лечении рубцов, как полагают авторы [10], обусловлено тем, что контролируемый температурный стресс эпидермиса и дермы при лазерном микроповреждении стимулирует

регенерацию и репарацию окружающей это микроповреждение кожи, активируя реэпителизацию и ремоделирование коллагена, что способствует лечению рубцов. Фракционная лазерная обработка также может быть успешна при лечении solar lentigo (солнечные пятна, солнечное лентиго). Solar lentigo обычно наблюдается на лице, шее, зоне декольте, на плечах или тыльных поверхностях кистей рук и возникает в результате воздействия на кожу солнечного ультрафиолетового излучения и возрастных изменений. По цвету солнечное лентиго может быть от светло-коричневого до темного (иногда черного) цвета. Фракционная лазерная обработка может быть также успешно применена при лечении морщин.

Вопросы для самоконтроля (глава 1).

1. В чем заключается метод фракционного лазерного фототермолиза?
2. Благодаря чему происходит оздоровление кожи после фракционного лазерного воздействия?
3. Под воздействием излучения каких лазеров формируется абляционная микроколонка? Под воздействием излучения каких лазеров формируется коагуляционная микроколонка?
4. От каких параметров лазерного излучения зависят глубина и диаметр микроколонки?
5. Какая величина фактора заполнения является оптимальной и почему?

Для углубления знаний рекомендуется самостоятельно ознакомиться с содержанием работ 1 – 23 из списка рекомендуемой литературы, приведенного в конце настоящего учебного пособия.

## Глава 2. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей в стоматологии. Выбор параметров лазерного излучения

Успех фракционной лазерной технологии в дерматологии мотивировал исследователей использовать эту технологию в стоматологии для обработки слизистой полости рта. Однако возможность широкого применения фракционных технологий в стоматологии до сих пор обсуждается. Фракционные технологии рассматриваются в качестве менее инвазивной альтернативы существующим методам профилактики и лечения заболеваний слизистой полости рта [24-26]. В настоящей главе обсуждаются результаты гистологического исследования результатов фракционного лазерного воздействия излучения с длиной волны 980 нм на слизистую полости рта животного, описана компьютерная модель слизистой полости рта человека, определены оптимальные для 980 нм фракционной лазерной терапии слизистой полости рта параметры лазерного излучения [27-29].

Для оценки изменений, происходящих в слизистой полости рта животного сразу после лазерной обработки, была проведено фракционное лазерное воздействие излучением диодного лазера с длиной волны 980 нм на слизистую оболочку щеки крысы при различных комбинациях мощности ( $P$ ) и длительности ( $t_p$ ) лазерного импульса, взяты образцы слизистой до и сразу после лазерного воздействия и выполнен их гистологический анализ. Протокол эксперимента соответствовал этическим нормам, изложенным в «Международном кодексе медицинской этики» (1994), «Правилах работ с использованием экспериментальных животных» (GLP), Хельсинской декларации (2000), Директивах Европейского сообщества 86/609 ЕЕС. Мощность лазерного излучения изменялась в диапазоне от 1 Вт до 21 Вт, а длительность лазерного импульса в диапазоне от 50 мс до 500 мс, т.е. энергия ( $E$ ) лазерного импульса изменялась в диапазоне от 0.05 Дж до 10.5 Дж. Всего было исследовано 39 комбинаций  $P$  и  $t_p$ . У животных под наркозом (Золетил в дозе 40 мг/кг массы, внутривенно) в результате воздействия лазерных микропучков в слизистой оболочке щеки крысы формировались микрораны. Лазерное излучение подавалось на слизистую через кварцевый наконечник диаметром 400 мкм. При лазерном воздействии дистальный торец кварцевого наконечника находился в контакте со слизистой. Лазерную фракционную обработку проводили с использованием лазерной установки "stLase" (Dental Photonics, США). Через 10 минут после воздействия животных выводили из эксперимента и производили взятие лоскута слизистой оболочки щеки крысы для проведения гистологического исследования. Для этого предварительно депарафинированные срезы окрашивали раствором гематоксилина Эрлиха (БиоВитрум, Россия). Анализ и фотосъемку препаратов осуществляли с помощью светового микроскопа Leica DM750, оснащенного фотокамерой

ICC50 (Leica, Германия), и программы обработки изображений LAS EZ (Leica, Германия). Использовали объектив PLAN 10×0.22 (Leica, Германия). На микрофотографиях препаратов, окрашенных гематоксилин-эозином, в программе ImageJ (National Institute of Health, США) определяли ширину и глубину микрораны.

При анализе гистологических препаратов слизистой оболочки щеки крысы, окрашенных гематоксилин-эозином, было обнаружено, что при мощности лазерного импульса из диапазона от 1 Вт до 3 Вт в комбинации с длительностью импульса из диапазоне от 50 мс до 280 мс в слизистой не возникает каких-либо изменений. Первые изменения в структуре слизистой оболочки щеки крысы под влиянием лазерного фракционного воздействия были выявлены при  $P=5$  Вт и  $t_p=100$  мс, энергия лазерного импульса в этом случае составила  $E=0.5$  Дж. При этом в слизистой формировалась абляционная микрорана, которая характеризовалась образованием микрократера в пределах эпителиального слоя и отслоением эпителия на границе с собственной пластинкой слизистой (см. рисунок 2.1а).

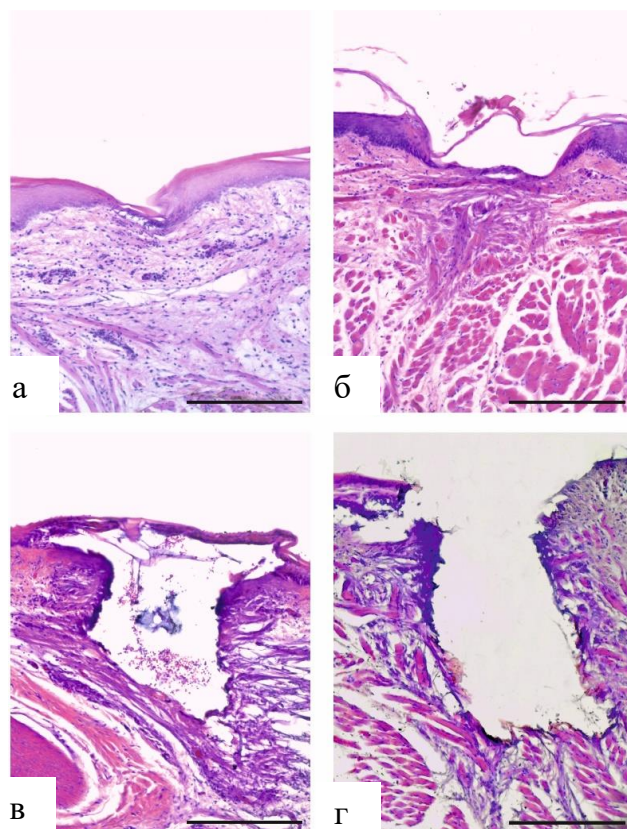


Рис. 2.1. Гистологические особенности строения препаратов слизистой оболочки щеки крысы после воздействия микропучка лазерного излучения с  $P=5$  Вт,  $t_p=100$  мс (а),  $P=7$  Вт,  $t_p=120$  мс (б),  $P=10$  Вт,  $t_p=100$  мс (в) и  $P=15$  Вт,  $t_p=200$  мс (г). Диаметр микропучка 400 мкм. Окраска гематоксилином и эозином. Масштабный отрезок равен 200 мкм.

Дальнейшее увеличение энергии лазерного импульса от 0.5 Дж до 10.5 Дж вызывает постепенное увеличение ширины и глубины микрократера в результате абляции структур слизистой оболочки щеки крысы, при этом формируется микроколонка, т.е. глубина микрораны превосходит ее ширину. При  $P=7$  Вт,  $t_p=120$  мс и  $E=0.84$  Дж дно микрократера располагается на границе собственной пластинки слизистой и подслизистой оболочки, а собственная пластинка слизистой термически изменяется, но не удаляется (рисунок 2.1б). При  $P=10$  Вт,  $t_p=100$  мс и  $E=1$  Дж абляционная микроколонка уходит глубоко в собственную пластинку слизистой (рисунок 2.1в), а при  $P=15$  Вт,  $t_p=200$  мс и  $E=3$  Дж дно микрократера располагается глубоко в мышечном слое (рисунок 2.1г). Таким образом, при  $P=7$  Вт,  $t_p=120$  мс и  $E=0.84$  Дж лазерное воздействие затрагивает все слои слизистой оболочки щеки крысы, но при этом микрорана не выходит за пределы собственной пластинки слизистой. Последующее увеличение энергии лазерного импульса приводит к удлинению абляционной колонки, следствием чего является нежелательное повреждение подлежащего мышечного слоя.

Регенерация слизистой оболочки щеки крысы изучалась после лазерного фракционного воздействия с  $P=7$  Вт,  $t_p=120$  мс и  $E=0.84$  Дж. Лазерное фракционное воздействие на слизистую оболочку щеки крысы выполнялось последовательно в четырех сегментах челюсти животного. Для морфологического исследования образцы слизистой животного получали на 5-е сутки (первый сегмент), 7-е сутки (второй сегмент), 28-е сутки после однократного (третий сегмент) и на 28-е сутки после троекратного (четвертый сегмент) лазерного воздействия. В качестве контроля исследовались образцы интактной слизистой оболочки щеки крысы. Для общего морфологического исследования слизистой животного использовали окраску гематоксилин-эозином и комбинированную окраску альциановым синим и ядерным прочным красным. Соединительную ткань выявляли с помощью трехцветной окраски по Массону. Для характеристики популяции тучных клеток применяли толуидиновый синий. Для оценки пролиферативной активности клеток ставили иммуногистохимическую реакцию на митотический маркер фосфорилированный гистон H3, были использованы кроличьи поликлональные антитела (Abscam, Великобритания). Для выявления кровеносных сосудов и миофибробластов – иммуногистохимическую реакцию на гладкомышечный альфа-актин, применяли мышинные моноклональные антитела (клон 1A4, ready-to-use, Dako, Дания).

Было установлено, что в ходе восстановления после 980 нм лазерного фракционного воздействия слизистая оболочка щеки крысы проходит три основные фазы: воспалительную, пролиферативную и регенерационную – на 5-й день после лазерного фракционного воздействия в зоне обработки наблюдается локальное разрушение эпителиального слоя, некроз,



формирование демаркационного вала, состоящего преимущественно из полиморфноядерных лейкоцитов и моноцитов; на 7-й день после лазерного воздействия целостность эпителия была полностью восстановлена во всех случаях. В собственной пластинке слизистой и подслизистой оболочке присутствовали признаки незавершенной репарации; на 28-й день после однократного лазерного воздействия морфология слизистой животного не отличалась от контроля; на 28-й день после трехкратного лазерного воздействия эпителиальный слой характеризовался типичным строением, но под эпителиальным слоем было отмечено формирование утолщения – участка разросшейся собственной пластинки слизистой и подслизистой оболочки, сформированного рядами плотно прилегающих друг к другу клеток веретеновидной формы (миофибробластами).

Оценка пролиферативной активности показала, что в условиях регенерации после лазерного воздействия на ранних стадиях происходит значительное усиление пролиферативной активности клеток слизистой оболочки полости рта животного. В интактной слизистой полости рта клетки, иммунопозитивные по фосфорилированному гистону H3 (pH3), были выявлены только в базальном слое эпителия, в этом случае среднее количество pH3–иммунопозитивных клеток составило  $16 \pm 4$  клеток/ $\text{мм}^2$ . На 5-й день после лазерного воздействия большое количество иммунопозитивных клеток было обнаружено в базальном слое эпителия, а также в собственной пластинке слизистой и в подслизистой оболочке ( $26 \pm 6$  клеток/ $\text{мм}^2$ ). На 7-й день пролиферирующие клетки в основном были сосредоточены в базальном слое эпителия, но единичные иммунопозитивные клетки встречались также в собственной пластинке слизистой и в подслизистой оболочке ( $16 \pm 3$  клеток/ $\text{мм}^2$ ). На 28-й день после однократного и после трехкратного воздействия иммунопозитивные клетки были обнаружены только в базальном слое эпителия и соответствовали контролю. Вероятно, наблюдаемое усиление пролиферативной активности клеток на 5-й день после лазерного воздействия лежит в основе механизма быстрого восстановления поврежденного участка эпителия. Появление пролиферирующих клеток также в собственной пластинке слизистой и в подслизистой оболочке, что в норме для этих областей не характерно, может быть связано с усилением пролиферативной активности фибробластов. Количественное увеличение популяции последних в ответ на повреждающие воздействия обусловлено необходимостью выработки большого объема коллагеновых волокон для заполнения дефекта.

Еще одним индикатором репаративных процессов ткани могут служить тучные клетки. Известно, что эта клеточная популяция присутствует во всех органах и тканях (кроме хрящевой и костной) и вносит значительный вклад в регенерацию [30]. В контроле среднее количество тучных клеток составило  $174 \pm 86$  клеток/ $\text{мм}^2$ , что согласуется с литературными данными [31]. Большое количество тучных клеток

обусловлено их функциями. Тучные клетки в слизистой полости рта участвуют в remodelировании межклеточного матрикса, вовлечены в регенерацию ткани и ангиогенез, являются ключевыми участниками воспалительного процесса [32, 33]. На 5-й день после лазерного воздействия количество тучных клеток в окружающих микрократер участках слизистой оболочки щеки крысы было значимо ниже по сравнению с показателем контроля ( $12 \pm 7$  клеток/ $\text{мм}^2$ ). На 7-й и 28-й день после воздействия среднее количество тучных клеток в составе слизистой оболочки щеки крысы составило  $63 \pm 21$  клеток/ $\text{мм}^2$  и  $49 \pm 16$  клеток/ $\text{мм}^2$  соответственно, что было выше показателя на 5-й день, но достоверно ниже по сравнению с контролем. На 28-й день после троекратного воздействия плотность тучных клеток в составе собственной пластинки слизистой и подслизистой оболочки не превышала  $7 \pm 5$  клеток/ $\text{мм}^2$ . Снижение количества тучных клеток в слизистой оболочке щеки крысы на всех сроках после лазерной обработки может быть результатом их дегрануляции. В ходе дегрануляции тучные клетки высвобождают гранулы из цитоплазмы во внеклеточное пространство, после чего тучные клетки не выявляются методами гистохимии, в том числе толуидиновым синим, который связывается с мукополисахаридами в составе гранул тучных клеток. По мере регенерации слизистой полости рта происходит постепенное восстановление популяции тучных клеток, на что указывает показанное нами увеличение их количества на 7-й и 28-й день после лазерного воздействия. Наличие признаков дегрануляционной активности тучных клеток на 5-й и 7-й день после лазерного воздействия может указывать на вовлеченность этих клеток в процессы регенерации слизистой полости рта на ранних этапах ее восстановления. Это косвенно подтверждается литературными данными, согласно которым тучные клетки являются активными участниками репаративного процесса [30]. Известно, что тучные клетки вовлечены в регенерацию тканей за счет синтеза и секреции ряда биологически активных веществ, накапливающихся в их гранулах, таких как гистамин, гиалуроновая кислота, гепарин, факторы роста, цитокины, протеазы и др. [34]. Тучноклеточные медиаторы участвуют в процессах remodelирования межклеточного матрикса, стимулируя пролиферацию фибробластов и синтез коллагена [34, 35]. Кроме того, ряд авторов высказывает предположение, что за счет синтеза и выделения гистамина тучные клетки вовлечены в процесс дифференцировки фибробластов в миофибробласты [32]. Это особенно важно в связи с тем, что в рамках представленного в работах [27, 28] исследования миофибробласты также были выявлены на разных стадиях восстановления слизистой полости рта животного после 980 нм лазерного фракционного воздействия. При постановке иммуногистохимической реакции на гладкомышечный альфа-актин было обнаружено присутствие иммунопозитивных клеток (одиночных или в виде скоплений), сходных по морфологии с фибробластами в участках слизистой

полости рта животного на 5-й и 7-й дни после однократного воздействия, а также на 28-й день после троекратного лазерного воздействия. Миофибробласты представляют собой особые клетки фибробластического ряда и играют ключевую роль в процессах регенерации тканей. Показано, что миофибробласты участвуют в сближении краев раны и выработке компонентов межклеточного вещества [36], что ускоряет заживление раны.

В рамках представленного в работах [27, 28] исследования была также изучена динамика плотности распределения коллагеновых волокон в слизистой оболочке щеки крысы и было показано, что под влиянием лазерного воздействия в ней происходит реорганизация коллагеновых волокон, то есть формируется новый коллаген. При анализе образцов, окрашенных анилиновым синим, было отмечено, что в собственной пластинке слизистой и подслизистой оболочки контрольных образцов коллагеновые волокна располагаются равномерно и их доля составляет  $87 \pm 7$  %. На 5-й день после лазерного воздействия доля коллагеновых волокон снижается и составляет  $25 \pm 15$  %, что, вероятно, связано с деградацией коллагеновых волокон под влиянием лазерного излучения, которая является следствием денатурации коллагена из-за нагрева ткани под влиянием лазерного воздействия и разрушения водородных связей в третичной спиральной структуре его молекулы, а также усиления коллагенолитической клеточной активности [37]. На 7-й день после лазерного воздействия доля коллагеновых волокон увеличивается до  $61 \pm 10$  %, а к 28-у дню после однократного лазерного воздействия достигает  $76 \pm 7$  %, что свидетельствует о формировании нового коллагена и практически полном восстановлении его количества в слизистой оболочке щеки крысы. Интересно, что при многократном лазерном воздействии картина изменяется и доля коллагеновых волокон в собственной пластинке слизистой и подслизистой оболочке на 28-й день после воздействия все еще снижена по сравнению с интактной слизистой полости рта животного и составляет всего  $12 \pm 4$  %. Вероятно, это свидетельствует о замедлении процесса неоколлагенеза в данном случае. Это наблюдение может быть важным на фоне имеющихся данных о том, что именно длительный коллагеногенез и эластогенез способствуют эффективному обновлению компонентов внеклеточного матрикса, которое составляет основу таких терапевтических эффектов лазерного фракционного воздействия, как увеличение плотности кожи, разглаживание морщин, удаление рубцов и прочее [38].

Еще одним механизмом, обеспечивающим положительный эффект лазерного фракционного воздействия, можно считать ангиогенез (неоваскуляризация). В рамках представленного в работах [27, 28] исследования с применением иммуногистохимической реакции на  $\alpha$ -актин было показано, что на ранних сроках после лазерного воздействия (5-й и 7-й дни) в слизистой оболочке щеки крысы наблюдается уменьшение

количества кровеносных сосудов ( $57 \pm 17$  сосудов/ $\text{мм}^2$  и  $46 \pm 17$  сосудов/ $\text{мм}^2$  соответственно) по сравнению с контролем ( $247 \pm 96$  сосудов/ $\text{мм}^2$ ), при этом площадь их просветов не изменяется. На поздних сроках после однократного воздействия (28-й день) количество кровеносных сосудов не отличалось от показателей контроля, что свидетельствует о восстановлении кровеносного русла в ходе регенерации после лазерного воздействия. Однако на 28-й день после многократного воздействия нами было отмечено значительное увеличение количества кровеносных сосудов в слизистой оболочке щеки крысы ( $460 \pm 122$  сосудов/ $\text{мм}^2$ ) при неизменной площади их просветов по сравнению с контролем (см. рисунок 2.2). Это свидетельствует о том, что регенерация слизистой полости рта после многократного лазерного воздействия сопровождается усилением неоваскуляризации.



Рис. 2.2. Кровеносные сосуды слизистой оболочки щеки крысы в контроле (а, б) и на 28-й день после троекратного лазерного воздействия (в).

Иммуногистохимическая реакция на гладкомышечный альфа-актин, подкраска ядер клеток гематоксилином Эрлиха. Звездочка – просвет артерии с эритроцитами. Масштабный отрезок 10 мкм (а) и 100 мкм (б, в).

По мнению ряда исследователей, именно процессы неокollaгеноза и неоваскуляризации лежат в основе терапевтического действия лазерного фракционного воздействия на кожу [39, 40]. В ходе описанного в работах [27, 28] исследования было показано, что неоваскуляризация и неокollaгеноз также наблюдаются в ходе восстановления слизистой оболочки щеки крысы после 980 нм лазерного фракционного воздействия с  $P=7$  Вт,  $t_p=120$  мс и  $E=0.84$  Дж. Это позволяет предположить, что лазерное фракционное воздействие может быть использовано для лечения патологических состояний слизистой полости рта, связанных с рубцеванием и нарушением ее васкуляризации.

Компьютерное моделирование существенно облегчает поиск оптимальных параметров для фракционного лазерного лечения. Оптическое моделирование позволяет получить распределение поглощенной энергии (мощности) в биоткани. Это распределение используется в качестве распределения источников тепла при последующем теплофизическом

моделировании и моделировании некроза биоткани на основе решения уравнения Аррениуса.

В рамках представленного в работах [27, 29] исследования разработана компьютерная модель альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека, которая состояла из четырех слоев: эпителия, папиллярного слоя, собственной пластинки слизистой и кости (рисунок 2.3). Толщины слоев модели определялись в результате анализа литературных данных [41-44]. Значения оптических коэффициентов слоев модели на длине волны  $\lambda=980$  нм представлены в таблице 2.1 [45-49]. Оптическая модель создавалась средствами программы TracePro®Expert 7.0.1 Release (Lambda Research Corporation, США). В этой программе при моделировании хода лучей используется метод Монте-Карло [50]. Объем биоткани, в котором исследовалось пространственное распределение лазерного излучения, составлял  $1 \times 1 \times 1.5$  мм<sup>3</sup> (длина  $\times$  ширина  $\times$  глубина).

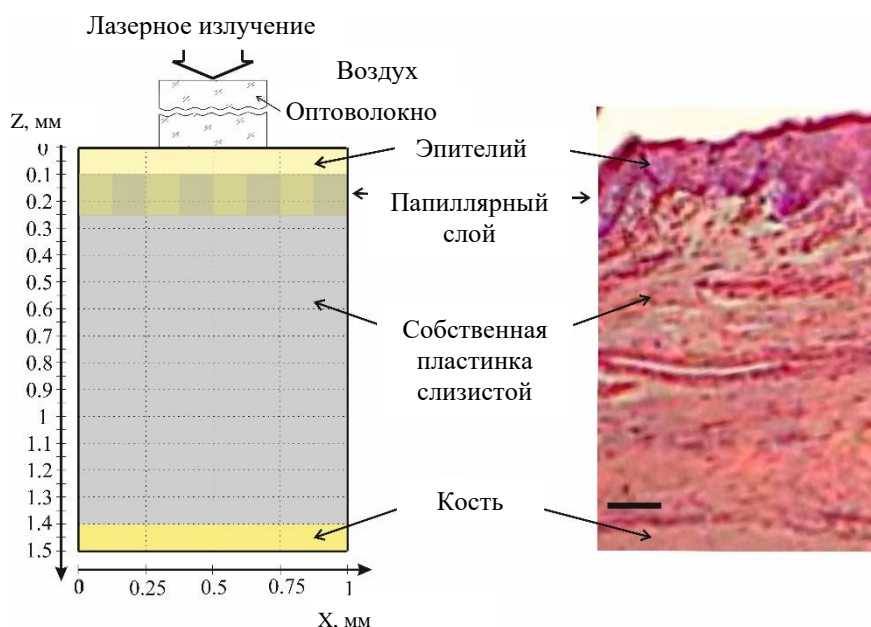


Рис 2.3. Геометрия модели и гистологическая картина [51] альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека при фракционном воздействии излучением диодного лазера. Масштабный отрезок равен 200 мкм.

При фракционном лазерном воздействии лазерное излучение доставляется к слизистой оболочке по оптоволокну. Дистальный торец оптоволокну находится в контакте со слизистой. Оптоволокну имеет цилиндрическую форму и состоит из кварцевой сердцевины и кварцевой оболочки. Размеры и оптические характеристики оптоволокну представлены в таблице 2.2 [52]. Модель источника лазерного излучения представляла собой диск с диаметром равным диаметру сердцевины оптоволокну. Источник размещался на входном торце оптоволокну. Длина волны излучения была равна 980 нм, расходимость совпадала с числовой

апертурой волокна ( $NA=0.22$ ). Количество использованных при моделировании лучей было равно 10000.

Таблица 2.1. Оптические свойства альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека (длина волны 980 нм) [45-49].

Биоткань (слой)	Толщина, мкм	Коэффициент поглощения, $см^{-1}$	Коэффициент рассеяния, $см^{-1}$	Фактор анизотропии	Показатель преломления
Эпителий	100	0.05	60	0.9	1.39
Папиллярный слой	150	0.7	90	0.9	1.41
Собственная пластинка слизистой	1150	0.4	50	0.9	1.42
Кость	100	0.22	10	0.9	1.56

Таблица 2.2. Размеры и оптические характеристики оптоволокна (длина волны 980 нм).

Структура волокна	Размер, мкм	Коэффициент поглощения, $см^{-1}$	Показатель преломления	Длина, мм
Сердцевина	Ø: 100, 200, 400, 600, 800, 1000	0.00001	1.7153	1000
Оболочка	Толщина: 5, 10, 20, 30, 40, 50	0.00001	1.756	1000

Полученное в результате моделирования распределение поглощенной плотности мощности лазерного излучения внутри (по глубине) альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека представлено на рисунке 2.4. Ось Z в данном случае совпадает с осью оптического волокна.

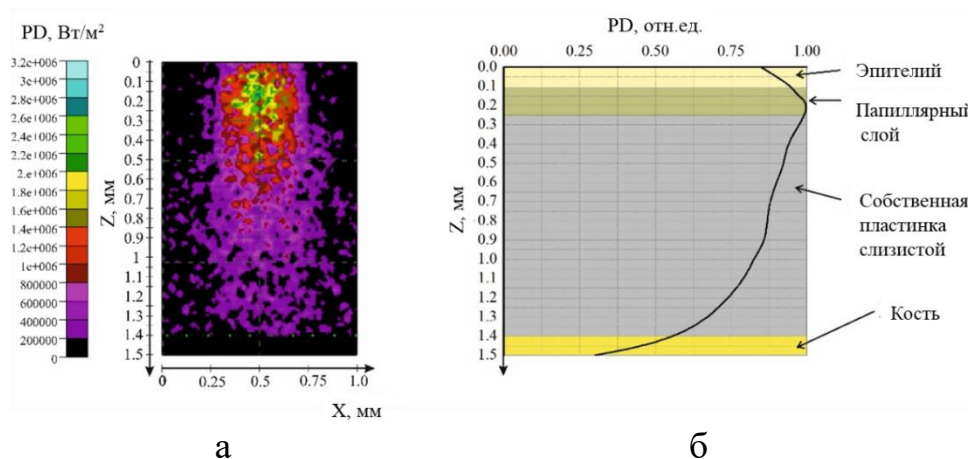


Рис. 2.4. Результаты оптического моделирования. Распределение поглощенной плотности мощности (PD) лазерного излучения (длина волны 980 нм) внутри (по глубине) альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека в квази-цветах (а) и в относительных единицах (б).

Анализ полученных в результате моделирования данных позволил заключить, что доля поглощенной мощности лазерного излучения от падающей на поверхность альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека мощности лазерного излучения в эпителии составляет 7.6 %, в папиллярном слое – 13.2 % в собственной пластинке слизистой – 77.7 %, в кости – 1.5 %, а максимум поглощенной плотности мощности лазерного излучения находится под поверхностью альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека.

Полученные в результате оптического моделирования при различных значениях мощности ( $P$ ) и длительности ( $t_p$ ) лазерного импульса распределения поглощенной в альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека плотности мощности лазерного излучения ( $PD$ ) были использованы в качестве распределений источников тепла при последующем теплофизическом моделировании, в рамках которого решалось уравнение теплопроводности, имеющее следующий вид:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left( \lambda \frac{\partial T}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left( \lambda \frac{\partial T}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left( \lambda \frac{\partial T}{\partial z} \right) + Q_w(x, y, z, t, T), \quad (2.1)$$

где  $\rho$  — физическая плотность, ( $\text{кг}/\text{м}^3$ );  $c$  — удельная теплоёмкость, ( $\text{Дж}/(\text{кг}\cdot\text{К})$ );  $\lambda$  — коэффициент теплопроводности, ( $\text{Вт}/(\text{м}\cdot\text{К})$ );  $Q_w(x, y, z, t, T)$  — мощность внутренних источников теплового выделения (характеризует мощность, которую выделяет объёмный источник, находящийся в точке с координатами  $x, y, z$  в момент времени  $t$ , имеющий температуру  $T$ ), ( $\text{Вт}/\text{м}^3$ ).

Представленное выше уравнение является уравнением Фурье-Кирхгофа. Оно устанавливает связь между временным и пространственным изменением температуры  $\partial T$  в любой точке тела и для трёхмерного температурного поля при записи в декартовой системе координат. Для его решения необходимо добавить условия однозначности, которые содержат геометрические, физические, начальные и граничные условия. В программе COMSOL Multiphysics® 5.4 («COMSOL Inc.», США) решение уравнения (4.1) выполняется методом конечных разностей, при использовании которого твёрдое тело представляется в виде совокупности узлов, а именно область непрерывного изменения аргументов (например, координаты и времени) заменяется конечным (дискретным) множеством точек, называемым сеткой. Геометрия теплофизической модели соответствует представленной на рисунке 2.3. В этой модели теплообмен поверхности слизистой, контактирующей с кварц-кварцевым волокном (в области контакта эпителия с волокном) и с окружающей средой (в области контакта воздуха с эпителием) осуществляется посредством кондукции и естественной конвекции соответственно (граничное условие 3-го рода). Остальные поверхности в модели альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека были изолированы (граничное условие 2-го рода), так как считалось, что по сравнению с размером облучаемой области размер

слизистой должен быть бесконечен и по результатам оптического расчета было ясно, что размер области повреждения не выйдет за пределы  $1 \times 1 \times 1.5 \text{ мм}^3$ . Теплообмен между боковой поверхностью оптоволокну был конвективным (граничное условие 3-го рода), а входной торец оптоволокну был изолирован (граничное условие 2-го рода), т.к. его длина (см. Таблицу 2.2) существенно превышает его диаметр, а площадь входного торца существенно меньше площади боковой поверхности оптоволокну. Теплообмен между слоями альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека соответствовал теплообмену соприкасающихся твердых тел, когда температура контактирующих поверхностей одинакова. В этом случае контактное сопротивление между слоями отсутствует и имеет место идеальный тепловой контакт (граничное условие 4-го рода). Начальные температуры воздуха, волокна и альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека были выбраны наиболее близкими к естественным. В работах [27, 29] начальная температура всех слоев слизистой задавалась равной  $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ , а воздуха равной  $+20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Помимо знания геометрических условий, для однозначного решения уравнения (2.1), требуется также знание численных значений для таких теплофизических характеристик материалов объекта, как физическая плотность, удельная теплоёмкость и теплопроводность. Теплофизические свойства слоев, использованные в теплофизической модели альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека, приведены в таблице 2.3 [53-56].

Таблица 2.3. Теплофизические свойства альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека [53-56].

Биоткань	Толщина, мкм	Теплоемкость, Дж/(кг·К)	Плотность, кг/м <sup>3</sup>	Теплопроводность, Вт/(м·К)
Эпителий	100	2456.5	1246.5	0.37
Папиллярный слой	150	3381.5	1097.3	0.37
Собственная пластинка слизистой	1150	3260.7	1115.3	0.37
Кость	100	1313	1900	0.55

Для количественного описания температурных эффектов в химической кинетике используют уравнение Аррениуса. Суть уравнения состоит в том, что в реакцию вступают активные молекулы, образовавшиеся из обычных молекул при поглощении ими энергии, причем между активными и обычными молекулами существует равновесие, а образование продуктов реакции из активных молекул происходит необратимо.

В работах [27, 29] именно функция Аррениуса (интеграл повреждения) использовалась при моделировании в программе COMSOL Multiphysics® для определения области термического разрушения:



$$\Omega = \int_0^{\tau} A e^{\frac{E_a}{RT}} dt, \quad (2.2)$$

где  $\Omega$  – функция Аррениуса (интеграл повреждения),  $\tau$  – время,  $A$  – константа скорости химической реакции денатурации белка, определяемая эмпирическим путем,  $E_a$  – энергия активации, определяемая эмпирическим путем,  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – температура биоткани.

Функция  $\Omega$  характеризует степень уменьшения концентрации неповрежденного белка в биоткани в точке  $r$  и зависит не только от температуры, но и от продолжительности ее воздействия [57, 58]. В работе [59] отмечается, что, если  $\Omega < 1$ , то можно считать биоткань неповрежденной или поврежденной обратимо, а если  $\Omega \geq 1$ , то биоткань считается поврежденной необратимо. Таким образом, на границе необратимо и обратимо поврежденной биоткани  $\Omega = 1$ . В работах [27, 29] полагалось, что в объеме альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека, где  $\Omega < 1$  находится поврежденная обратимо биоткань, которая в дальнейшем может быть регенерирована до уровня натуральной, а в объеме с  $\Omega \geq 1$  биоткань повреждается необратимо и формируется кратер. При проведении вычислений в программе COMSOL Multiphysics® для всех слоев в модели альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека значения параметров, необходимых для расчета функции Аррениуса, задавались одинаковыми и постоянными. Фактор частоты был равен  $3 \times 10^{98}$ , а энергия активации –  $6 \times 10^5$  Дж/моль [59].

При оптимизации фракционного лазерного воздействия в процессе компьютерного моделирования вычислялись пространственные распределения температуры и функции Аррениуса ( $\Omega$ ) в альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека при различных комбинациях энергии, мощности и длительности лазерного импульса с длиной волны 980 нм. При этом энергия изменялась в диапазоне 0.1 Дж до 30 Дж, мощность в диапазоне от 1 Вт до 30 Вт, а длительность – в диапазоне от 100 мс до 1000 мс. В результате теплофизического моделирования было получено, что в исследованном диапазоне энергий лазерного импульса температура поверхности альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека превышает  $+40$  °С и даже может достигать  $+100$  °С и выше. Известно, что при нагреве биоткань изменяется, в частности она может быть коагулирована, испарена или карбонизирована. При коагуляции денатурирует белковая компонента биоткани, при этом наблюдается ее побеление. При карбонизации образуется мелкодисперсный углерод и биоткань обугливается (чернеет). Достаточно подробно вопросы, связанные с коагуляцией и карбонизацией биоткани, обсуждаются в работах [60-62]. Температура, при которой начинается коагуляция и другие изменения в биоткани, зависит от длительности воздействия [63]. В общем

случае коагуляция наблюдается при  $+60\div 70$  °С, денатурация при  $+65\div 90$  °С, испарение и карбонизация при температурах, превышающих  $+100$  °С [64].

Примеры полученных в результате моделирования пространственных распределений температуры и функции  $\Omega$  сразу после окончания лазерного импульса, а также функции  $\Omega$  через одну секунду после начала лазерного воздействия внутри альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека представлены на рисунке 2.5.

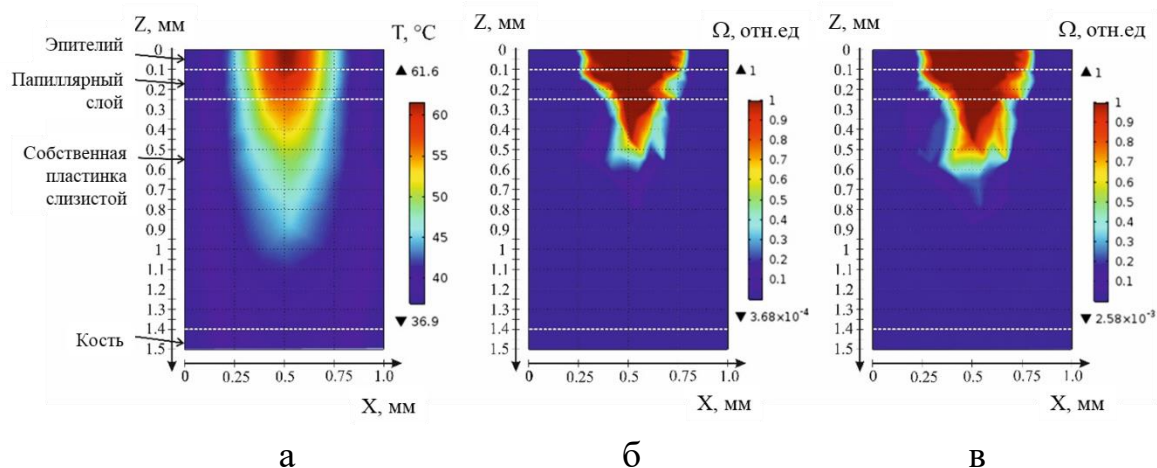


Рис 2.5. Пространственные распределения температуры (а), функции  $\Omega$  сразу после лазерного импульса (б) и функции  $\Omega$  через одну секунду после начала лазерного воздействия (в) внутри альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека при фракционном лазерном воздействии ( $\lambda=980$  нм, одиночный лазерный микропучок,  $E=1$  Дж,  $P=10$  Вт,  $t_p=100$  мс, диаметр волокна 400 мкм).

Видно, что сразу после лазерного воздействия граница необратимо и обратимо поврежденной биоткани, для которой  $\Omega = 1$ , располагается на глубине 440 мкм, а размеры области, где  $\Omega \geq 1$ , продолжают незначительно увеличиваться даже после окончания лазерного воздействия. Это, очевидно, связано с кондуктивным оттоком тепла из перегретой в процессе лазерного действия области. Максимального значения размеры области, где  $\Omega \geq 1$ , достигают через одну секунду после лазерного воздействия.

На рисунке 4.б. представлена зависимость глубины  $H$ , где  $\Omega = 1$ , от диаметра оптоволокон (рисунок 2.6а), от мощности лазерного излучения при различных длительностях лазерного импульса (рисунок 2.6б) и от длительности лазерного импульса, при постоянной мощности лазерного импульса  $P=10$  Вт (рисунок 2.6в). Видно, что с увеличением диаметра оптоволокон при постоянной энергии (мощности) лазерного импульса глубина  $H$  области в альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека, где  $\Omega = 1$ , нелинейно уменьшается. При этом в диапазоне диаметров оптоволокон 300–400 мкм темп уменьшения глубины  $H$  с ростом

диаметра оптоволоконна минимальный и равен 0.3 мкм/мкм, а для других значений диаметра оптоволоконна он выше и достигает 1.2 мкм/мкм.

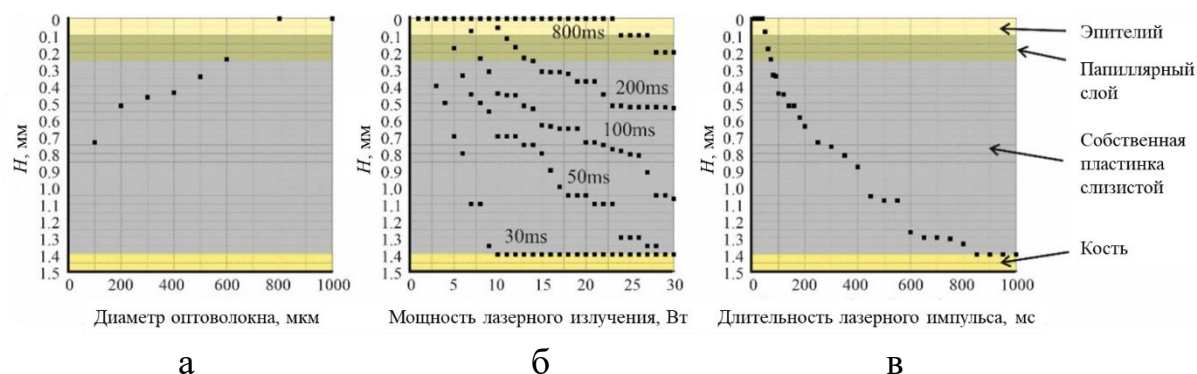


Рис. 2.6. Зависимость глубины  $H$  где  $\Omega = 1$  в альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека при фракционном лазерном воздействии ( $\lambda=980$  нм, одиночный лазерный микропучок,  $E=1$  Дж) от диаметра оптоволоконна при  $P=10$  Вт,  $t_p=100$  мс (а), от мощности лазерного излучения ( $t_p=30-800$  мс, диаметр оптоволоконна 400 мкм) при различной длительности лазерного импульса (б) и от длительности лазерного импульса, при  $P=10$  Вт (в).

Обнаруженная выше закономерность связана с особенностями освещения объектов, помещенных внутрь рассеивающей и поглощающей среды. В этом случае конкурируют два процесса: с одной стороны, при увеличении диаметра светового пятна (оптоволоконна) на поверхности рассеивающей среды увеличивается угол, под которым освещается объект (поглощающий лазерное излучение фрагмент биоткани), что приводит к увеличению площади освещаемой поверхности объекта и, следовательно, к повышению величины поглощенной энергии объектом, к росту температуры объекта и области поражения; с другой стороны, при увеличении диаметра волокна происходит увеличение расстояния между крайними точками светового пятна на поверхности рассеивающей среды и объектом, в результате чего увеличивается энергия, поглощенная в среде, окружающей объект, а энергия, достигающая объект, уменьшается, следовательно, область поражения уменьшается. Для каждого диаметра светового пятна и глубины залегания объекта реализуется своя оптимальная комбинация, при которой глубина области поражения биоткани максимальна. Представленные на рисунке 2.6б и рисунке 2.6в зависимости получены для диаметра оптоволоконна 400 мкм. Видно, что при  $t_p=30-200$  мс в альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека формируется область с  $\Omega \geq 1$ , глубина  $H$  которой не выходит за пределы собственной пластинки слизистой в том случае, если мощность лазерного излучения не превышает 30 Вт. При длительности лазерного импульса 200 мс и мощности меньше 4 Вт необратимого микроповреждения эпителия

альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека не происходит. При длительности 100 мс и мощности меньше 6 Вт необратимого микроповреждения эпителия альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека также не происходит. При длительности лазерного импульса 30 мс необратимое микроповреждение в эпителии происходит при мощности лазерного импульса, превышающей 23 Вт, а собственная пластинка слизистой необратимо повреждается при мощности более 27 Вт. Видно, что при мощности лазерного излучения 10 Вт в альвеолярной слизистой оболочке полости рта человека глубина области с  $\Omega \geq 1$  не достигает кости в том случае, если длительность импульса не превышает 800 мс. При длительности менее 50 мс необратимого повреждения слизистой полости рта вообще не происходит.

В работах [27, 29] отмечается, что при оптимизации фракционного лазерного воздействия на альвеолярную слизистую оболочку полости рта человека с целью ее коагуляции и последующей регенерации (в процессе регенерации формируется ткань с оригинальным генетическим кодом и все дефекты, изначально присутствующие в биоткани, например, такие как рубцы, микротрещины и прочее, отсутствуют в регенерированной биоткани) необходимо выполнить следующие критерии (условия для оптимальной фракционной лазерной терапии альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека):

Критерий #1 – не перегреть поверхность альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека выше 100 °С, чтобы избежать ее абляции (испарения);

Критерий #2 – воздействовать, в том числе, на собственную пластинку слизистой, так как в ней сосредоточены дефекты, требующие коррекции, то есть глубина  $H$ , где  $\Omega = 1$ , должна быть больше толщины эпителия альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека;

Критерий #3 – не повредить кость, так как ее деградация может привести к потере зуба, то есть глубина  $H$ , где  $\Omega = 1$ , должна быть меньше толщины всей альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека.

В результате компьютерного моделирования построена зависимость энергии ( $E_{opt}$ ), необходимой для выполнения каждого из сформулированных выше условий для фракционного лазерного воздействия на альвеолярную слизистую оболочку полости рта человека с целью ее коагуляции и последующей регенерации от диаметра оптоволокна. Эта зависимость представлена на рисунке 2.7.

Видно, что диапазон  $E_{opt}$ , внутри которого энергия лазерного импульса удовлетворяет всем трем условиям для оптимальной фракционной лазерной ( $\lambda=980$  нм) терапии альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека, лежит в пределах от 0.5 Дж до 8 Дж. При энергии  $E=0.5$  Дж и соответствующей ей длительности  $t_p=100$  мс ( $P=5$  Вт) глубина  $H$ , где  $\Omega = 1$ , достигает границы эпителия и собственной пластинки

слизистой (отметим, что в описанных ранее в этой главе настоящего учебного пособия гистологических экспериментах на слизистой оболочке щеки крысы при сопоставимой с альвеолярной слизистой оболочкой полости рта человека толщине эпителия именно при  $E=0.5$  Дж наблюдалась травма только эпителия).

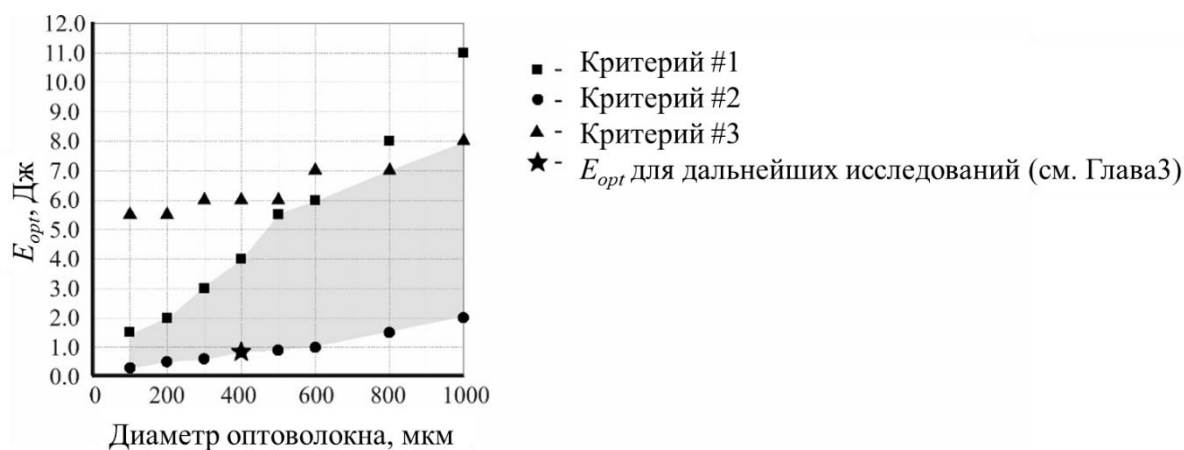


Рис. 2.7. Зависимость энергии ( $E_{opt}$ ), необходимой для выполнения хотя бы одного из условий оптимальной фракционной лазерной ( $\lambda=980$  нм) терапии альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека от диаметра оптоволокна (серым выделена область, внутри которой энергия лазерного импульса удовлетворяет всем трем условиям оптимальной фракционной лазерной терапии альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека).

При  $E>0.5$  Дж происходит повреждение собственной пластинки слизистой, что и требуется для регенерации альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека, а при  $E=8$  Дж и соответствующей ей длительности  $t_p=267$  мс ( $P=30$  Вт) глубина  $H$ , где  $\Omega = 1$ , достигает кости. Далее в главе 3 будут описаны примеры лечения заболеваний слизистой полости рта человека, для которых был выбран режим ( $P = 7$  Вт,  $t_p = 120$  мс,  $E = 0.84$  Дж), соответствующий нижней границе области, внутри которой энергия лазерного импульса удовлетворяет всем трем условиям оптимальной фракционной лазерной терапии альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека (см. рисунок 2.7).

Вопросы для самоконтроля (глава 2).

1. Для каких мощностей и длительностей лазерного излучения с длиной волны 980 нм при фракционном воздействии в слизистой оболочке щеки крысы не возникает каких-либо изменений?
2. Для каких мощности и длительности лазерного излучения с длиной волны 980 нм при фракционном воздействии в слизистой оболочке щеки крысы возникают первые изменения? Опишите эти изменения.

3. Что характеризует функция Аррениуса при моделировании фракционного лазерного воздействия на биоткань?
4. Какие условия нужно выполнить для оптимальной фракционной лазерной терапии альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека?
5. Какой режим (длина волны излучения, мощность, длительность, энергия) лазерного воздействия можно считать оптимальным для фракционного лазерного лечения заболеваний слизистой полости рта человека и почему?

Для углубления знаний рекомендуется самостоятельно ознакомиться с содержанием работ 24 – 64 из списка рекомендуемой литературы, приведенного в конце настоящего учебного пособия.

### Глава 3. Фракционные лазерные технологии обработки биотканей в стоматологии. Примеры

В рамках данной главы будут рассмотрены результаты применения излучения диодного лазера с длиной волны 980 нм для фракционного лазерного лечения заболеваний слизистой полости рта (удаление расщелины Стиллмана и рубцов) [27, 28].

Расщелина Стиллмана (Stillman's cleft) представляет собой слизисто-десневой дефект треугольной формы, преимущественно наблюдаемый на щечной поверхности зуба. Этот дефект был впервые описан как рецессия, связанная с окклюзионной травмой, маргинальным гингивитом или с периодонтитом легкой степени [65]. Расщелина имеет вид углубления или резко очерченной трещины длиной до 5–6 мм. Данный вид рецессий может быть как одиночным, так и множественным [66, 67]. На сегодняшний день этиология и патогенез расщелины Стиллмана остаются до конца неясными. Все предположения связаны с хроническими факторами, которые вызывают образование язв на эпителии. Заживление этих язв происходит через анастомоз наружного и внутреннего эпителия в десневой борозде, при этом создается дефект треугольной формы [68]. Прогноз влияния расщелины Стиллмана на слизистую неоднозначный, она может заживать без осложнений или оставаться в виде поверхностных поражений в сочетании с глубокими пародонтальными карманами. Зачастую расщелина Стиллмана сопровождается образованием уплотненного десневого валика, называемого фестон Маккола (McCall's festoon). Полагают, что это результат адаптации десны на механическое воздействие, который обычно выражен на вестибулярной поверхности в области клыка и премоляров. На сегодняшний день среди возможных причин фестона Маккола называют травматическую чистку зубов, неправильное использование межзубной нити [69, 70], воспалительные заболевания пародонта [65] и окклюзионную перегрузку [66].

Формирование рецессий десневого края может приводить к ряду осложнений, среди которых наиболее тяжелым является повреждение зубо-эпителиального прикрепления и формирование глубоких пародонтальных карманов [71]. На сегодняшний день предложены разные методики лечения рецессий. В основном различают паллиативные методики, такие как устранение ошибок чистки зубов, и хирургические методики, направленные на закрытие дефекта десневого края путем апикального смещения лоскута, такие как трансплантация свободного десневого лоскута [71]. Хирургические методики весьма эффективны, однако применение большинства из них сопряжено с обширным хирургическим вмешательством и риском развития осложнений. Все это обуславливает необходимость поиска новых, менее травматичных и более эффективных методов лечения. В качестве одного из таких методов может быть

рассмотрено фракционное лазерное лечение, результаты которого представлены в [27, 28].

Рубец представляет собой участок соединительной ткани, который возникает взамен поврежденной ткани (кожи, слизистой) в том случае, если не происходит восстановление клеток погибшей анатомической структуры. С особенностями формирования и лечения рубцовой ткани более подробно можно ознакомиться в работах [72, 73]. Регенерация рубцов может быть связана с процессом неоваскуляризации после лазерного воздействия. Известны результаты морфологического исследования влияния фракционного лазерного воздействия на постожоговый рубец [74]. Авторы продемонстрировали, что зрелые гипертрофические рубцы, обработанные CO<sub>2</sub> лазерным фракционным воздействием, уменьшаются через 2 месяца после проведенного воздействия, что коррелирует со статистически значимым увеличением плотности расположения кровеносных сосудов в дерме. Сходные данные были получены в исследовании [39], в котором для фракционной обработки кожи был использован Er:Glass-лазер. Исследованию подвергались постожоговые рубцовые изменения кожи. Часть рубцовых изменений не подвергалась лазерному лечению и служила в качестве контроля. Анализ гистологических препаратов кожи через 6 месяцев после воздействия показал повышение васкуляризации в зоне воздействия по сравнению с необработанным участком рубца.

В клиническом исследовании [27, 28] приняли участие мужчины и женщины в возрасте от 20 до 65 лет с наличием рубцовых изменений или борозды Стиллмана в полости рта. Перед проведением манипуляций у пациентов было получено информированное согласие. У пациентов отсутствовали заболевания тканей пародонта в острой фазе воспалительного процесса и соматические заболевания в острой или декомпенсированной фазе.

Лазерная фракционная обработка проводилась с использованием лазерной установки "stLase" (DentalPhotonic, USA) в режиме  $P = 7$  Вт,  $t_p = 120$  мс,  $E = 0.84$  Дж. Фактор заполнения был равен  $300 \pm 100$  микропучков/см<sup>2</sup>. Микроповреждения создавались при контакте волоконного наконечника диаметром 400 мкм с поверхностью слизистой полости рта. Воздействие проводилось под аппликационной анестезией (Disilan, Россия) с экспозицией 120 секунд и последующим смыванием струей воды.

В случаях наличия рубцовых изменений на слизистой полости рта воздействию подвергались измененные участки с захватом 1 мм неизменной слизистой полости рта. При воздействии на Stillman's cleft, and McCall's festoon, фракционная лазерная обработка проводилась на участке альвеолярной слизистой полости рта с захватом участка в 1-2 мм неприкрепленной слизистой полости рта, прилежащей к зубу.



Кратность воздействия определялась индивидуально. Интервал между воздействиями составлял от 7 до 14 суток. В период после проведения лазерной обработки пациентам было рекомендовано соблюдать прежний рацион питания и прежний режим индивидуальной гигиены. Пациентам не назначались препараты для стимуляции заживления слизистой полости рта.

На протяжении всего исследования проводилось фотографирование участка слизистой полости рта перед лазерной обработкой, сразу после обработки и через 3–6 месяцев после последнего воздействия. Количественную оценку изменений рубцовой ткани под влиянием лазерного воздействия проводили путем измерения площади рубца до и после лечения. Для объективной оценки эффективности лечения борозды Стиллмана проводили опрос среди экспертов-стоматологов, обладающих соответствующей квалификацией. В результате опроса было получено 11 экспертных оценок (по фотографиям слизистой). Эксперты не знали, какие из фотографий сделаны до, а какие после лечения. Фотографии до и после были представлены экспертам в произвольном случайном порядке. Для оценки было необходимо ответить на вопрос «Есть ли расщелина Стиллмана на фотографии? Y/N». Все эксперты были проинструктированы о характерных признаках расщелины Стиллмана.

Для статистической обработки использовали программу Statgraphics (Statgraphics Technologies, Inc., США). Оценивалось среднее количества случаев, признанных экспертами положительными (получен ответ Y) и доверительный интервал. Статистическим методом также была проверена гипотеза о том, что фестон Маккола влияет на результат фракционного лазерного лечения расщелины Стиллмана.

В процессе фракционного лазерного лечения все пациенты не предъявляли жалоб на болезненность. В ходе заживления слизистой оболочки некоторые пациенты отмечали чувствительность при чистке зубов в ранние сроки после проведения лазерного воздействия. На более поздних сроках жалоб от всех пациентов не поступало. Заживление проходило без осложнений.

Статистический анализ экспертных оценок показал, что в  $82.6 \pm 6.5$  % случаев эксперты не обнаружили расщелину Стиллмана на фотографиях, сделанных через 3–6 месяцев после финальной фракционной лазерной обработки. В случаях, когда расщелина Стиллмана сопровождалась фестонем Маккола, выздоровление наблюдалось в  $87.5 \pm 8.4$  % случаев. При отсутствии фестона Маккола выздоровление наблюдается в  $74.5 \pm 13.6$  %. Статистический анализ в рамках теста Колмогорова-Смирнова показал, что выборка экспертных оценок, относящихся к фракционному лазерному лечению десны, исходно содержащей только расщелину Стиллмана, и выборка экспертных оценок, относящаяся к лечению десны, исходно содержащей совместно расщелину Стиллмана и фестон Маккола,

статистически значимо не различаются ( $p$ -value равен 0.02). В этой связи гипотеза о том, что фестон Маккола влияет на результат фракционного лазерного лечения расщелины Стиллмана, оказалась статистически недостоверной. Далее рассмотрены два клинических случая фракционного лазерного лечения расщелины Стиллмана.

**Лечение расщелины Стиллмана. Клинический пример №1.** Мужчина, 49 лет, обратился в стоматологическую клинику с жалобами на наличие рецессии в области 4.4 и 4.5 зубов. Со слов пациента изменения десневого края у него присутствуют уже более 8-и лет. При первичном осмотре в полости рта было отмечено отсутствие зубов 1.4, 1.5 и 2.5. В области зубов 4.4 и 4.5 наблюдалось оголение шеек, при этом дефекты десны имели клинообразную форму с формированием продольной расщелины Стиллмана (рисунок 3.1а). В области свободного десневого края наблюдалось утолщение слизистой, прилежащей к шейке зуба, белесоватого цвета (фестон Маккола). Под аппликационной анестезией пациенту была проведена фракционная лазерная обработка десны в области, окружающей расщелину Стиллмана (рисунок 3.1б). Пациенту было проведено четыре последовательные лазерные обработки с интервалом в 7 суток. При проведении заключительного осмотра полости рта в области зубов 4.4 и 4.5 было установлено что расщелина Стиллмана и фестон Маккола полностью исчезли (см. рисунок 3.1в). При этом слизистая оболочка имела равномерный бледно-розовый цвет. Поверхность слизистой была гладкой, умеренно влажной, без признаков воспаления. Пациент отмечал улучшение внешнего вида слизистой полости рта.

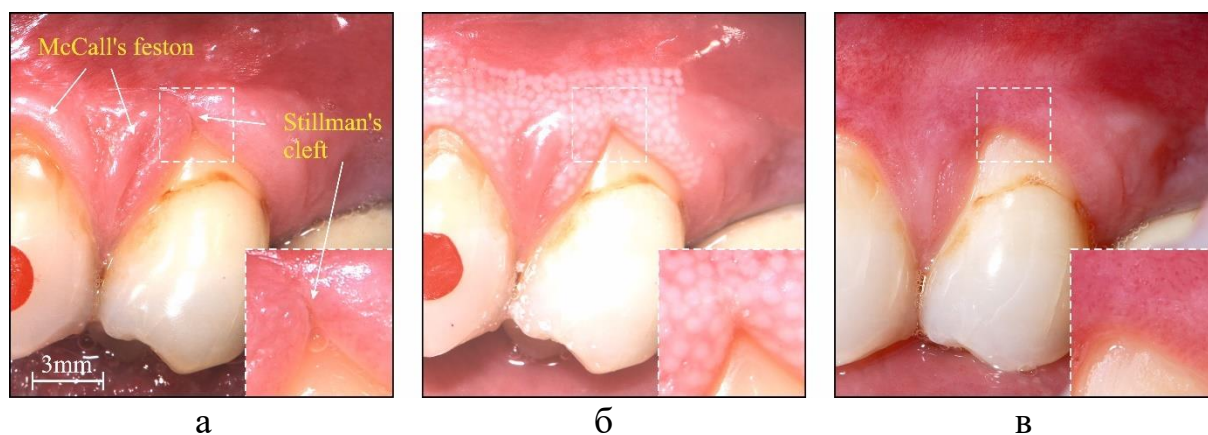


Рис. 3.1. Внешний вид слизистой оболочки полости рта пациента (Клинический пример №1): до (а), сразу после (б) проведения первой фракционной лазерной обработки и через 4 месяца после финальной лазерной обработки (в).

**Лечение расщелины Стиллмана. Клинический пример №2.** Женщина, 20 лет, обратилась в стоматологическую клинику с жалобами на наличие рецессии в области 1.4 зуба. Со слов пациента изменения десневого

края у нее присутствуют не более 1 года. При первичном осмотре в полости рта отсутствие зубов отмечено не было. В области зуба 1.4 наблюдалось оголение шейки, при этом дефект десны имел клинообразную форму с формированием продольной расщелины Стиллмана (рисунок 3.2а). Под аппликационной анестезией пациенту была проведена фракционная лазерная обработка десны в области, окружающей расщелину Стиллмана (рисунок 3.2б). Пациенту были проведены две последовательные лазерные обработки с интервалом в 7 суток. При проведении заключительного осмотра полости рта в области зуба 1.4 было установлено, что расщелина Стиллмана полностью исчезла (см. рисунок 3.2в). При этом слизистая оболочка имела равномерный бледно-розовый цвет. Поверхность слизистой была гладкой, умеренно влажной, без признаков воспаления. Пациентка отмечала улучшение внешнего вида слизистой полости рта.

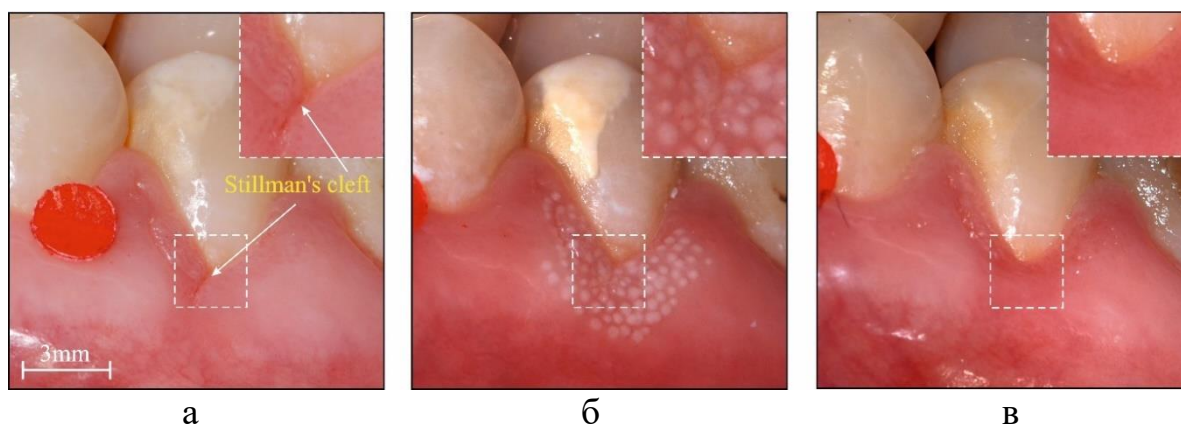


Рис. 3.2. Внешний вид слизистой оболочки полости рта пациента (Клинический пример №2): до (а), сразу после (б) проведения первой фракционной лазерной обработки и через 4 месяца после финальной лазерной обработки (в).

Лазерная фракционная обработка рубцовых изменений слизистой полости рта была проведена четырем пациентом с постоперационными рубцовыми изменениями слизистой полости рта. Еще два пациента с постоперационными рубцовыми изменениями слизистой полости рта, отказавшиеся от всех видов лечения, составили группу контроля. Лазерному воздействию подвергались измененные участки с захватом 1 мм неизменной слизистой полости рта.

В ходе проведения фракционной лазерной обработки под аппликационной анестезией два пациента из четырех предъявляли жалобы на чувство легкого покалывания в процессе проведения воздействия, остальные не предъявляли жалоб на болезненность. В ходе заживления слизистой полости рта некоторые пациенты отмечали чувствительность при приеме острой и горячей пищи в ранние сроки после проведения лазерного фракционного воздействия. На более поздних сроках жалоб от пациентов не

поступало. Заживление проходило без осложнений у всех пациентов. Результаты объективного осмотра через 3–6 месяцев после последнего воздействия показали стабильное уменьшение площади рубцовых изменений на 18-100 % от исходной площади рубца на слизистой. У пациентов группы контроля площадь рубца на слизистой в течение эксперимента не изменилась. Далее рассмотрены два клинических случая фракционного лазерного лечения рубцовых изменений слизистой полости рта.

**Лечение рубцовых изменений. Клинический пример №1.** Женщина, 28 лет, обратилась в клинику с жалобами на сильное чувство стягивания, присутствующее при приеме пищи в области нижней челюсти слева. Из анамнеза было выявлено, что в 2010 году пациентке была проведена остеотомия нижней челюсти слева по ортодонтическим показаниям. В результате хирургического вмешательства в области проведения разреза сформировался обширный рубец. При объективном осмотре в области переходной складки нижней челюсти слева от 3.4 до 3.7 зубов определялся измененный участок слизистой полости рта вытянутой формы с расширением в области 3.4, 3.5 зубов. Измененный участок слизистой бедно-розового цвета, местами белесоватый, умеренно влажный, неравномерно бугристый при пальпации, выступающий над поверхностью, без признаков воспаления. При проведении пальпации измененный участок слизистой безболезненный, ощущается как тяж наподобие жгута (более плотный по сравнению с окружающими тканями) (рисунок 3.3а). Под аппликационной анестезией пациентке была проведена фракционная лазерная обработка измененных тканей с захватом 1 мм неизменной слизистой полости рта. Пациентке было проведено трехкратное лазерное воздействие с временным промежутком в 7 суток. Пунктиром отмечена зона рубцовых изменений. Сразу после обработки на слизистой наблюдались соответствующие местам лазерного воздействия белесоватые участки, выступающие над ее поверхностью и безболезненные при пальпации, (рисунок 3.3б). На рисунке 3.3в представлен внешний вид слизистой на 7-е сутки после проведения лазерного воздействия. На поверхности слизистой в зоне воздействия присутствуют участки дезэпителизации. Пациентка отмечала чувство жжения при приеме острой пищи. Через 6 месяцев после последней обработки при объективном осмотре было отмечено, что поверхность рубца стала менее бугристой, белесоватость значительно уменьшилась (рисунок 3.3г). Визуально наблюдалось уменьшение рубца, что подтвердила количественная оценка площади рубцовых изменений (уменьшение на 48 % от исходного). При пальпации бугристость и уплотнение ткани перестали определяться. Субъективно пациентка отмечает исчезновение чувства стягивания после третьей процедуры.

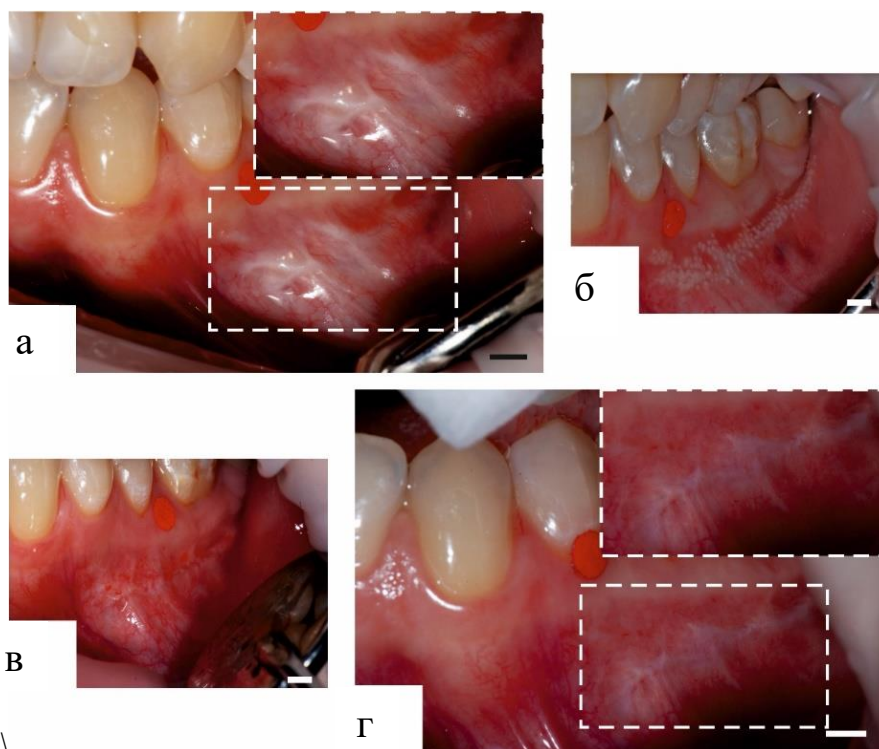


Рис. 3.3. Внешний вид слизистой полости рта пациента в области рубцовых изменений (Клинический пример №1): а - до, б - сразу после, в - через 7 суток после, г - через 6 месяцев после проведения фракционной лазерной обработки. Масштабный отрезок равен 3 мм.

**Лечение рубцовых изменений. Клинический пример №2.** Женщина, 49 лет, обратилась в клинику с эстетическими жалобами, связанными с рубцовыми изменениями в области верхней челюсти. Из анамнеза было выявлено, что два года назад пациентке была проведена операция синус лифтинга. В результате хирургического вмешательства в области переходной складки верхней челюсти сформировались рубцовые изменения слизистой полости рта. При объективном осмотре в области переходной складки верхней челюсти в проекции 1.4, 1.5 зубов определяется вертикально расплащенный измененный участок слизистой вытянутой звездчатой формы. Изменённый участок слизистой белесоватого цвета, умеренно влажный, не выступающий над поверхностью, без признаков воспаления (рисунок 3.4а). При проведении пальпации измененный участок слизистой был безболезненным и ощущался более плотным по сравнению с окружающими тканями. После аппликационной анестезии пациентке была проведена фракционная лазерная обработка рубцовых тканей с захватом 1 мм неизменной слизистой полости рта. Пациентке была трижды проведена лазерная обработка с временным промежутком в 7 суток. Пунктиром отмечена зона рубцовых изменений. Сразу после лазерного воздействия на слизистой определялся белесоватый участок, соответствующий форме рубца, выступающий над поверхностью,

безболезненный (рисунок 3.4б). На 7-е сутки после первого воздействия на слизистую еще наблюдаются рубцовые изменения с участками дезэпителизации (рисунок 3.4в).

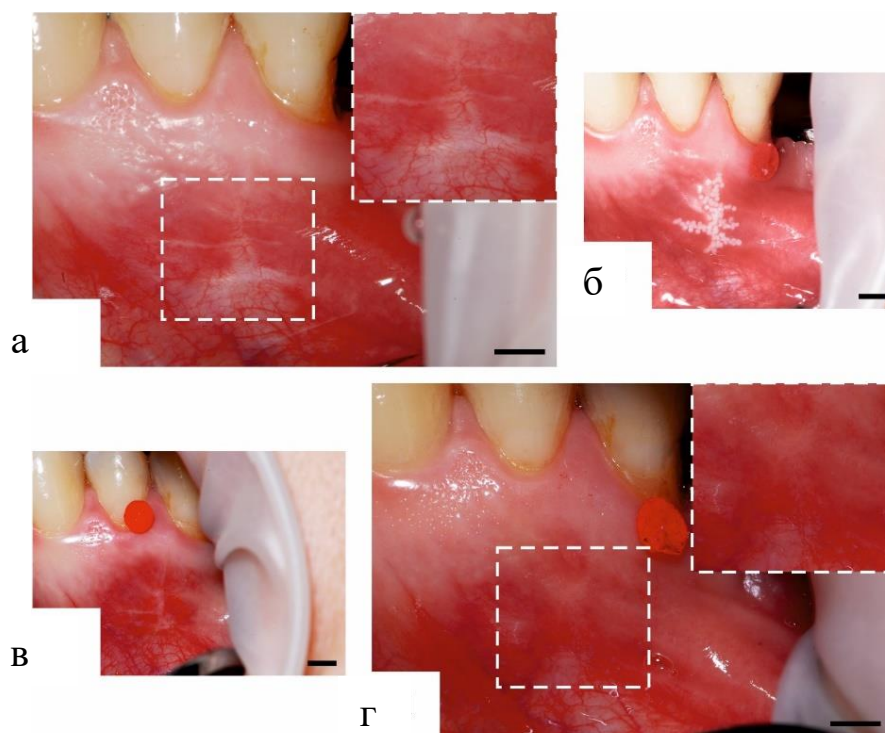


Рис. 3.4. Внешний вид слизистой полости рта пациента в области рубцовых изменений (Клинический пример №2): а - до, б - сразу после, в - через 7 суток после, г - через 5 месяцев после проведения фракционной лазерной обработки. Масштабный отрезок равен 3 мм.

Результаты проведения лазерного фракционного воздействия через 5 месяцев после последней обработки представлены на рисунке 3.4г. На момент осмотра на слизистой полости рта рубцовая ткань не визуализируется и пальпаторно не определяется. По данным количественной оценки, площадь рубца уменьшилась на 100 %. Пациентка отмечает внешние улучшения со стороны слизистой.

На сегодняшний день в литературе также существуют работы, показывающие, что фракционное лазерное воздействие может быть успешно использовано для устранения гиперпигментации и удаления рубцов слизистой полости рта [75, 76]. Известно, что фракционное лазерное лечение широко используется в дерматологии при фотоомоложении и лечении патологий кожи. Механизмы регенерации кожи после лазерного воздействия хорошо изучены. По мнению большинства исследователей, в их основе лежат процессы неоколлагенеза и неоваскуляризации [2, 39, 40, 74, 77, 78]. Было показано, что одним из эффектов после фракционной лазерной обработки кожи является денатурация коллагена [79]. В ходе нагрева коллагена элементы внутримолекулярной сшивки его молекулы

разрушаются и белок трансформируется от высокоорганизованной кристаллической структуры до случайного гелеобразного состояния (денатурирует) [80]. В процессе восстановления ткани после фракционной лазерной обработки наблюдается увеличение количества и реорганизация коллагеновых волокон [2, 77, 78]. Сходные результаты, подтверждающие неоколлагенез, были получены в исследованиях после фракционной лазерной обработки слизистой оболочки полости рта крыс [81].

Таким образом, в исследовании [27, 28] продемонстрированы положительные результаты клинического использования фракционной лазерной обработки диодным лазером с длиной волны 980 нм с оптимальными параметрами для лечения рубцов слизистой полости рта человека, борозды Стиллмана и фестон Маккола. Показано, что в условиях местной анестезии фракционное лазерное воздействие является уникальным, малоинвазивным и практически безболезненным методом лечения этих патологий слизистой полости рта.

Полученный в рамках настоящего исследования клинический результат, заключающийся в полном исчезновении расщелины Стиллмана после фракционной лазерной обработки, является положительным, так как устраняет одну из причин рецессии десны. Обнаруженное отсутствие влияния фестона Маккола на результат лазерного лечения расщелины Стиллмана может быть связано с тем, что фракционная лазерная обработка оказывает общее для всех структур слизистой терапевтическое действие, эффективность которого не зависит от первоначального состояния слизистой.

Одним из возможных механизмов терапевтического действия при фракционной лазерной обработке расщелины Стиллмана и фестона Маккола является воздействие на дезорганизованные волокна межклеточного матрикса с последующим неоколлагенезом. Подтверждением тому могут служить исследования [71], описывающие гистологическое строение расщелины Стиллмана. Авторами в этой работе было показано, что в измененных тканях (в области фестона Маккола и расщелины Стиллмана) присутствуют воспалительный инфильтрат, воспалительная фиброзная гиперплазия, признаки хронического рубцевания в собственной пластине слизистой, нарушение структуры волокон межклеточного матрикса. Возможно, фракционная лазерная обработка приводит к термическому повреждению и разрушению дезорганизованных коллагеновых волокон с последующим синтезом упорядоченных волокон в результате неоколлагенеза.

Другим возможным механизмом терапевтического действия при фракционной лазерной обработке слизистой полости рта является ее неаваскуляризация. В работе [82] были обнаружены в зоне расщелины Стиллмана хронические очаги воспаления, состоящие преимущественно из лимфоцитов и гистиоцитов, которые были расположены по всей соседней с

расщелиной Стиллмана соединительной ткани слизистой полости рта. Вызванное лазерным воздействием усиление васкуляризации слизистой и связанное с этим ускорение микроциркуляции крови может положительно влиять на купирование воспалительного процесса, наблюдаемого в изменённых тканях.

Вопросы для самоконтроля (глава 3).

1. Что представляют собой расщелина Стиллмана и фестон Маккола? К каким осложнениям может привести формирование рецессий десневого края?
2. Что может быть механизмом терапевтического действия при фракционной лазерной обработке расщелины Стиллмана и фестона Маккола?
3. Что представляет собой рубец и с каким процессом может быть связана регенерация рубцов после лазерного воздействия?
4. Влияет ли фестон Маккола на результат фракционного лазерного лечения расщелины Стиллмана?
5. Какие параметры лазерного излучения и кратность фракционного лазерного воздействия приводят к полному исчезновению расщелины Стиллмана?

Для углубления знаний рекомендуется самостоятельно ознакомиться с содержанием работ 65 – 82 из списка рекомендуемой литературы, приведенного в конце настоящего учебного пособия.



## **Глава 4. Лабораторная работа №1. Оптическая модель слизистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения интенсивности лазерного излучения в слизистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии**

Цель настоящей работы состоит в получении студентами базовых навыков расчета пространственного распределения интенсивности лазерного излучения в биоткани (слизистой оболочке полости рта) при фракционном лазерном воздействии.

### ***Задание к лабораторной работе №1***

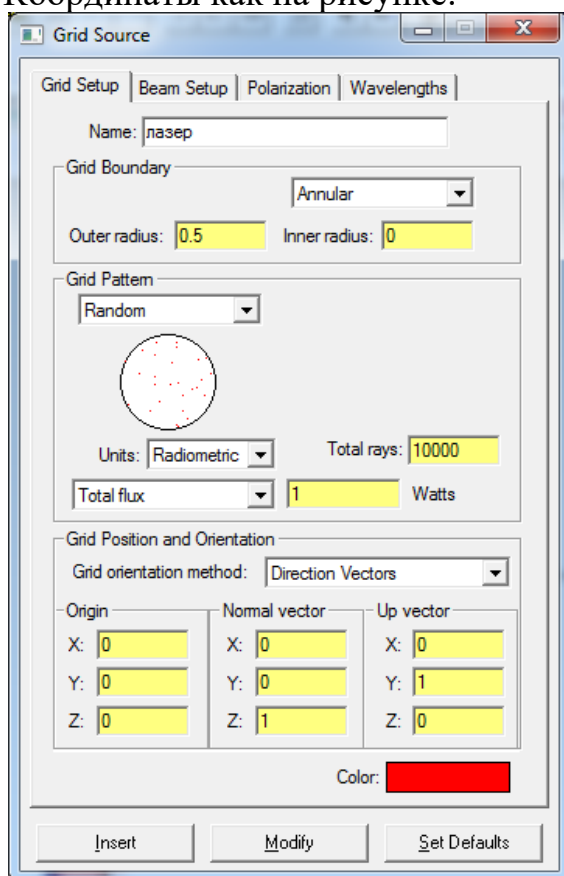
1. Ознакомиться с рекомендованной преподавателем литературой.
2. В программе TracePro®Expert 7.0.1 Release (Lambda Research Corporation, США) построить модель альвеолярной слизистой оболочки полости рта (см. главу 2 настоящего учебного пособия).
3. Задать источник фракционного лазерного излучения:
  - длина волны излучения источника  $\lambda=980$  нм;
  - диаметр пятна на выходе источника  
 $d_0=300$  мкм (варианты задания 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19);  
 $d_0=400$  мкм (варианты задания 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20);  
 $d_0=600$  мкм (варианты задания 3, 6, 9, 12, 15, 18);
  - средняя мощность излучения источника  $P=1$  Вт;
  - количество лучей  $Rays=10000$  шт.
4. Модель альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека расположить на расстоянии  $L=0$  мм от источника излучения. Ширина и длина слоев слизистой в модели равны 2 мм и 2 мм соответственно. Оптические свойства и толщины слоев слизистой приведены в таблице 2.1 (см. главу 2 настоящего учебного пособия).
5. Выполнить трассировку излучения источника в модели альвеолярной слизистой оболочки полости рта человека. Получить пространственное распределение интенсивности излучения на входной и выходной плоскости модели слизистой и на плоскостях, соответствующих границам слоев.
6. Построить зависимость максимальной интенсивности излучения от глубины в слизистой (шаг уточнить у преподавателя).
7. Получить пространственное распределение поглощенной мощности излучения источника в слизистой.
8. Оформить отчет к лабораторной работе. В отчете кратко изложить основное содержание рекомендованной преподавателем литературы; привести результат расчета угла расходимости излучения источника  $\theta = ?$  соответствующего  $NA=0.22$ ; привести пространственные распределения интенсивности излучения на входной и выходной плоскости модели слизистой и на плоскостях, соответствующих границам слоев; привести зависимость максимальной интенсивности излучения от глубины в

слизистой; привести пространственное распределение поглощенной мощности излучения источника в слизистой. Сформулировать выводы.

### ***Инструкция к лабораторной работе №1***

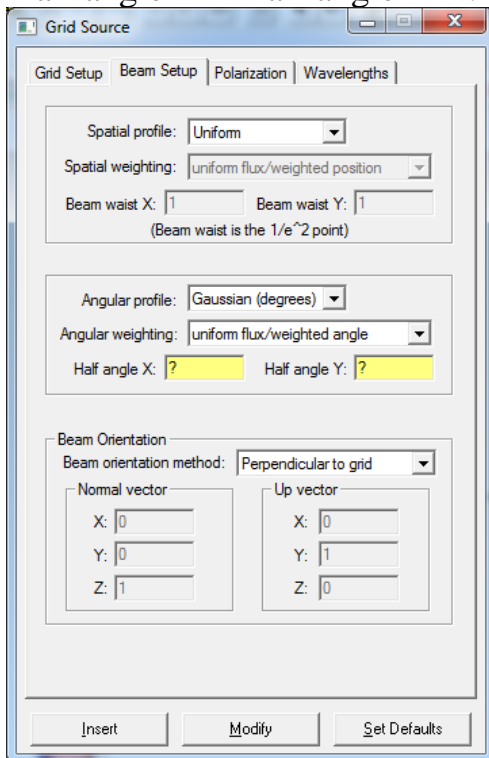
Открыть программу TracePro®Expert 7.0.1 Release (Lambda Research Corporation, США).

1. Внизу справа открыть вкладку Source (Источник).
2. Справа во вкладке Source выше выбрать Grid Source, нажать на крестик, чтобы появилась галочка (включить данный источник).
3. Нажать дважды на него, появится окно со свойствами.
4. Окно свойств Grid Setup.
  - a. Присвоить имя - название вашего лазера.
  - b. Grid Boundary – Annular.
  - c. Outer radius - 0.2 мм (диаметр 0.4 мм).
  - d. Inner radius - 0 мм.
  - e. Grid Pattern - Random (рандомизированное количество лучей).
  - f. Units -Radiometric (Радиометрические единицы измерения).
  - g. Total flux (общая мощность).
  - h. Watts - 1 Вт.
  - i. Rays/wave – 10000 (количество лучей).
  - j. Координаты как на рисунке:

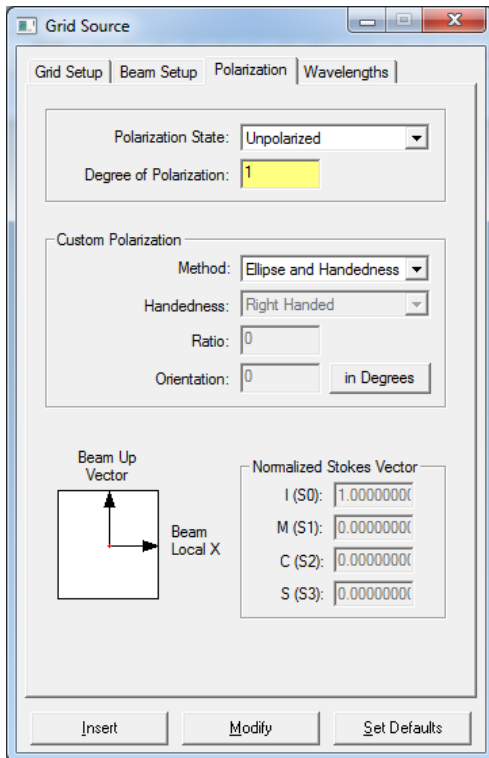


**!!! После всех изменений нажать Modify, чтобы изменения сохранились.**

5. Окно свойств Beam Setup.
  - a. Spatial Profile - Uniform (Пространственный профиль).
  - b. Angular profile - Gaussian (Radians).
  - c. Half angle X и Half angle Y - ? рассчитать.

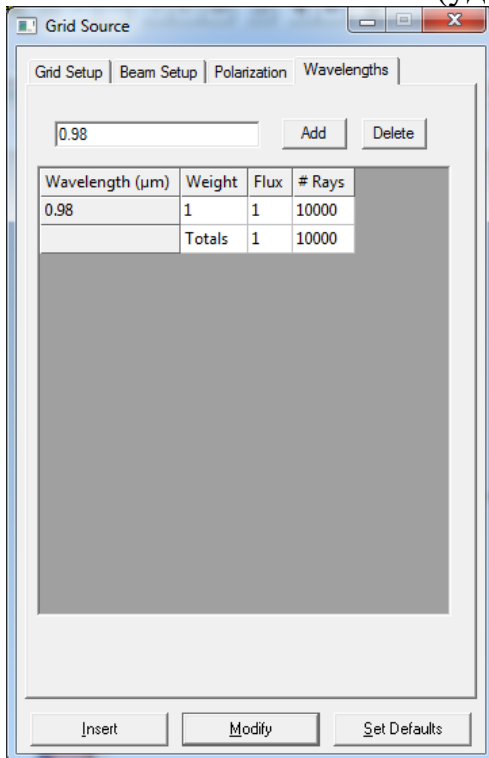


6. Окно свойств Polarization оставляем по умолчанию



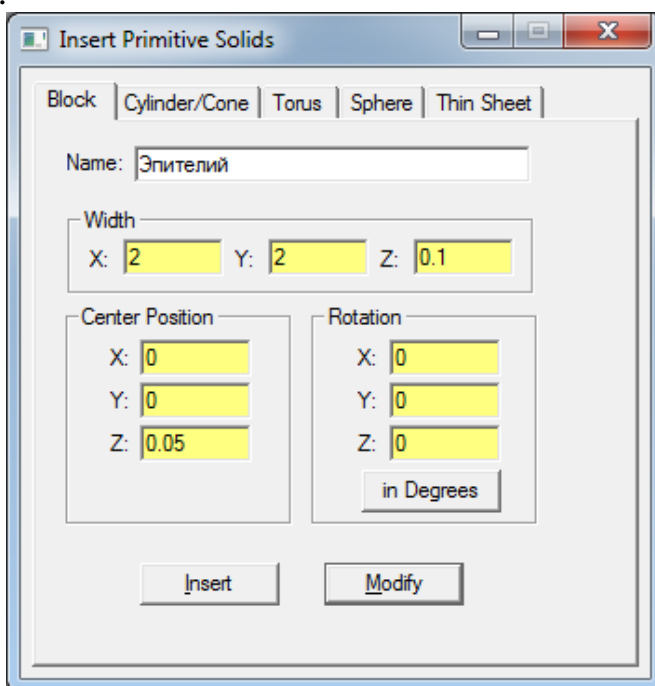
## 7. Окно свойств Wavelengths

Вводим длину волны в мкм и нажимаем Add (добавить), выбираем лишнюю длину волны и нажимаем Delete (удалить).

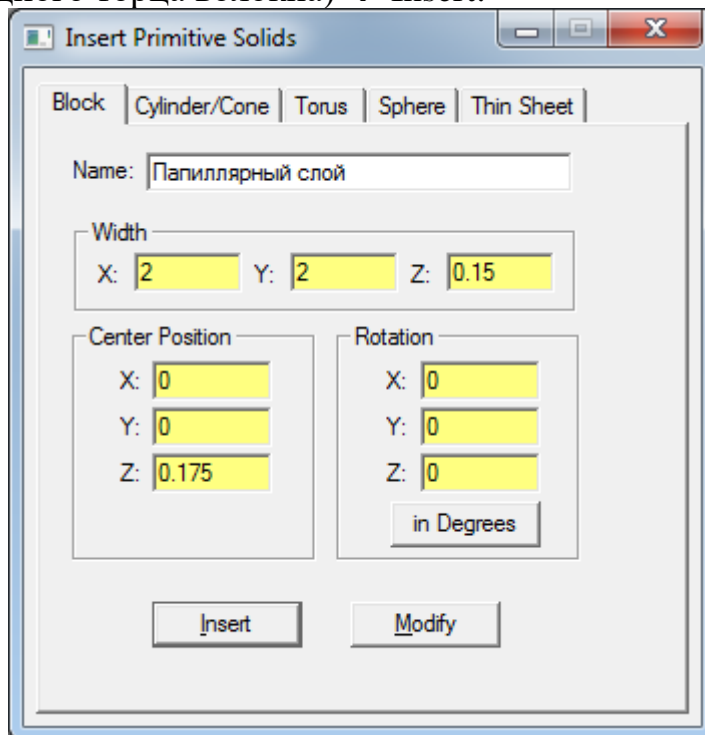


8. Создаем модель биоткани (альвеолярной слизистой оболочки полости рта).

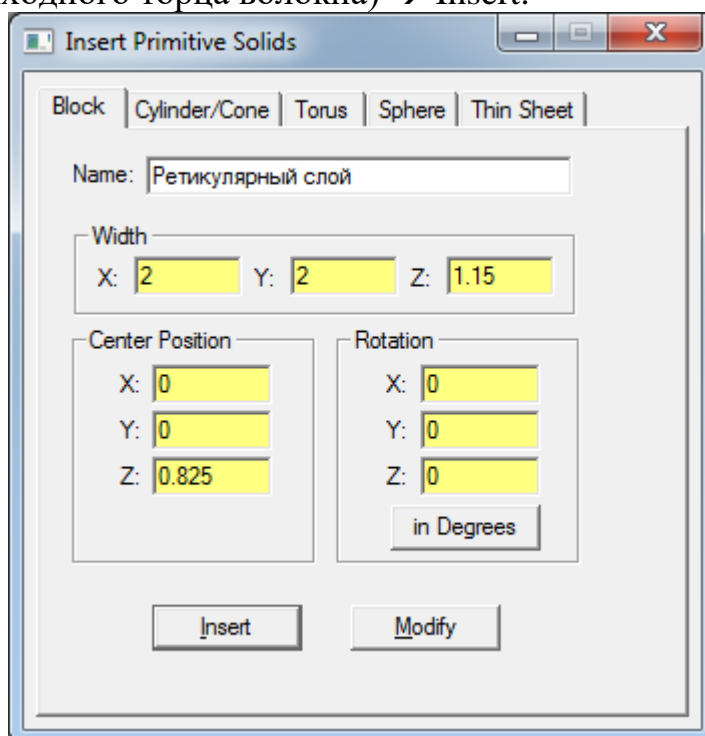
a. Insert → Primitive solids → Block → Название Эпителий → размеры  $2*2*0.1\text{мм}^3$  (X, Y, Z) → Расположение по Z=0мм (на 0 мм от источника) → Insert.



b. Insert→Primitive solids →Block→ Название Папиллярный слой → размеры  $2*2*0.15\text{мм}^3$  (X, Y, Z) →Расположение по  $Z=0.175\text{мм}$  (на 0.175 мм от выходного торца волокна) → Insert.

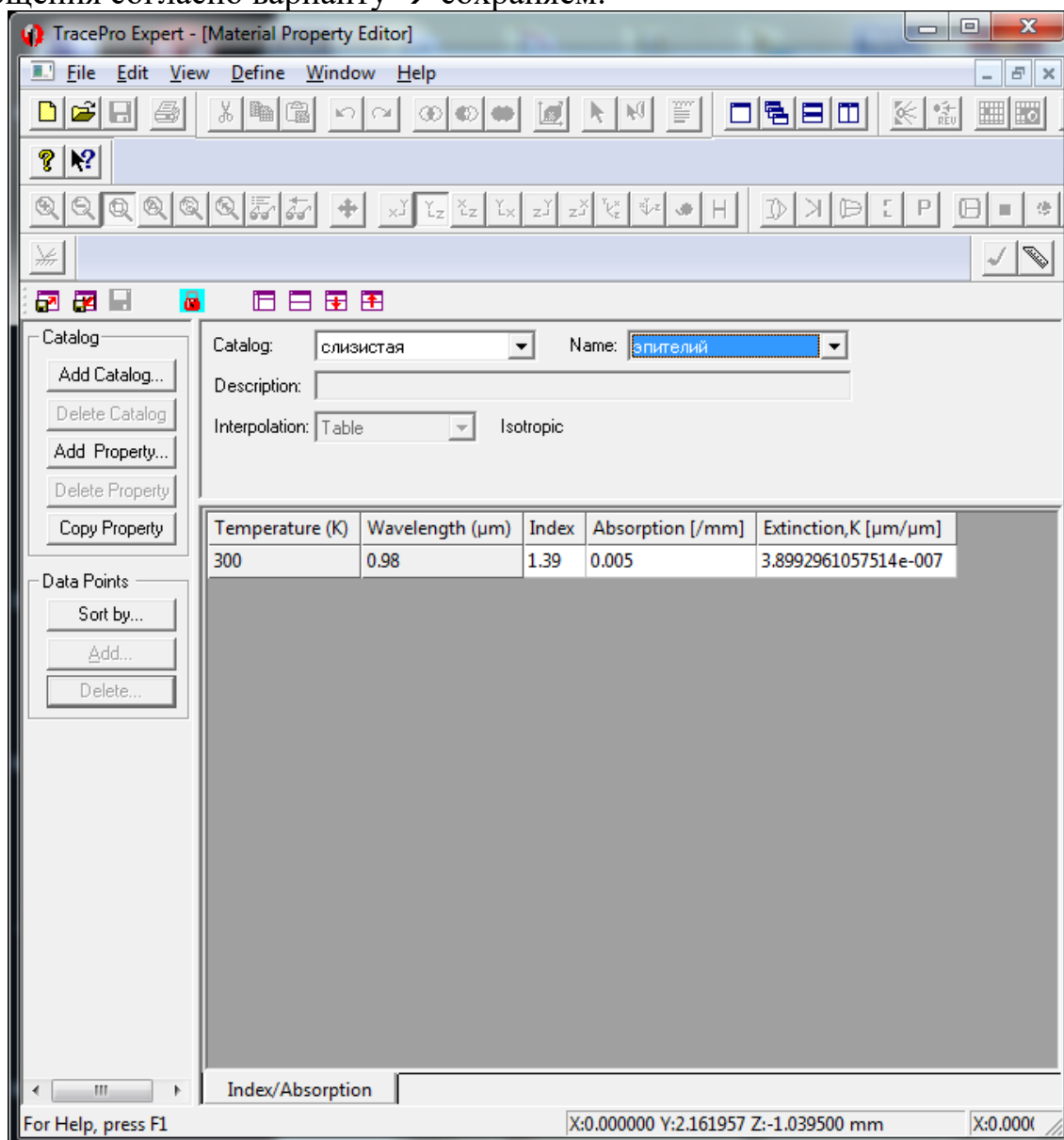


c. Insert→Primitive solids →Block→ Название Ретикулярный слой → размеры  $2*2*1.15\text{мм}^3$  (X, Y, Z) →Расположение по  $Z=0.825\text{мм}$  (на 0.825 мм от выходного торца волокна) → Insert.

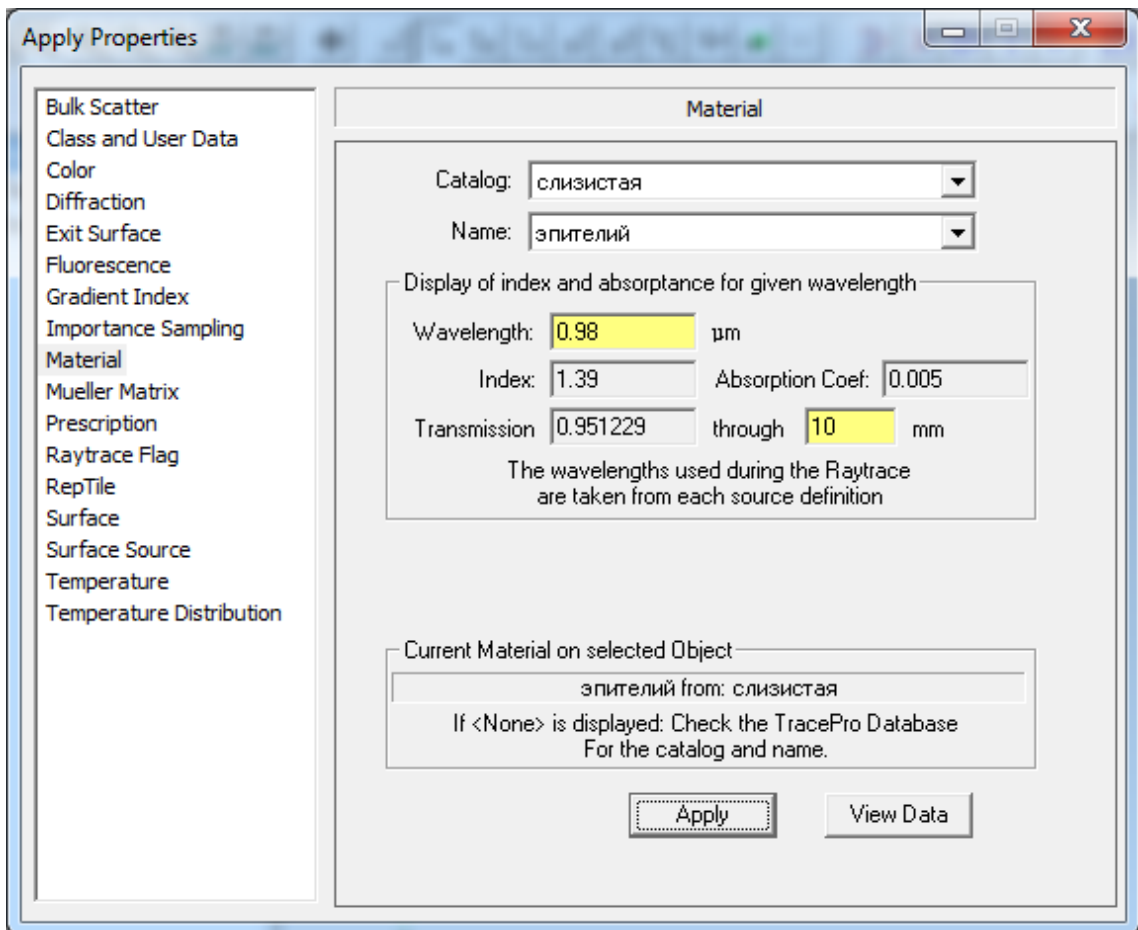


## 9. Создаем материал эпителия.

а. В окне Model навести стрелку на Эпителий и нажать правую кнопку мыши → Properties → Materials → View Data → создаем каталог ЛТВМБИ → создаем новое свойство «эпителий» → добавляем длину волны излучения из вашего варианта → заполняем показатель преломления и коэффициент поглощения согласно варианту → сохраняем.



б. Придаем значение материала блоку «эпителий». В окне Model навести стрелку на скаल्प и нажать правую кнопку мыши → properties → materials → выбираем каталог «ЛТВМБИ» и свойство «эпителий».



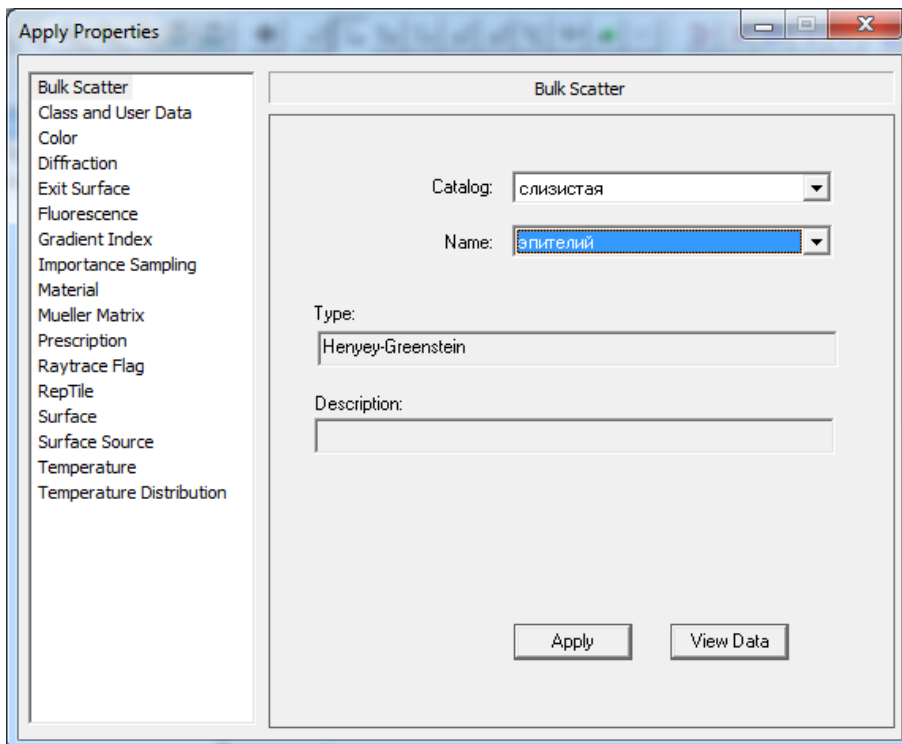
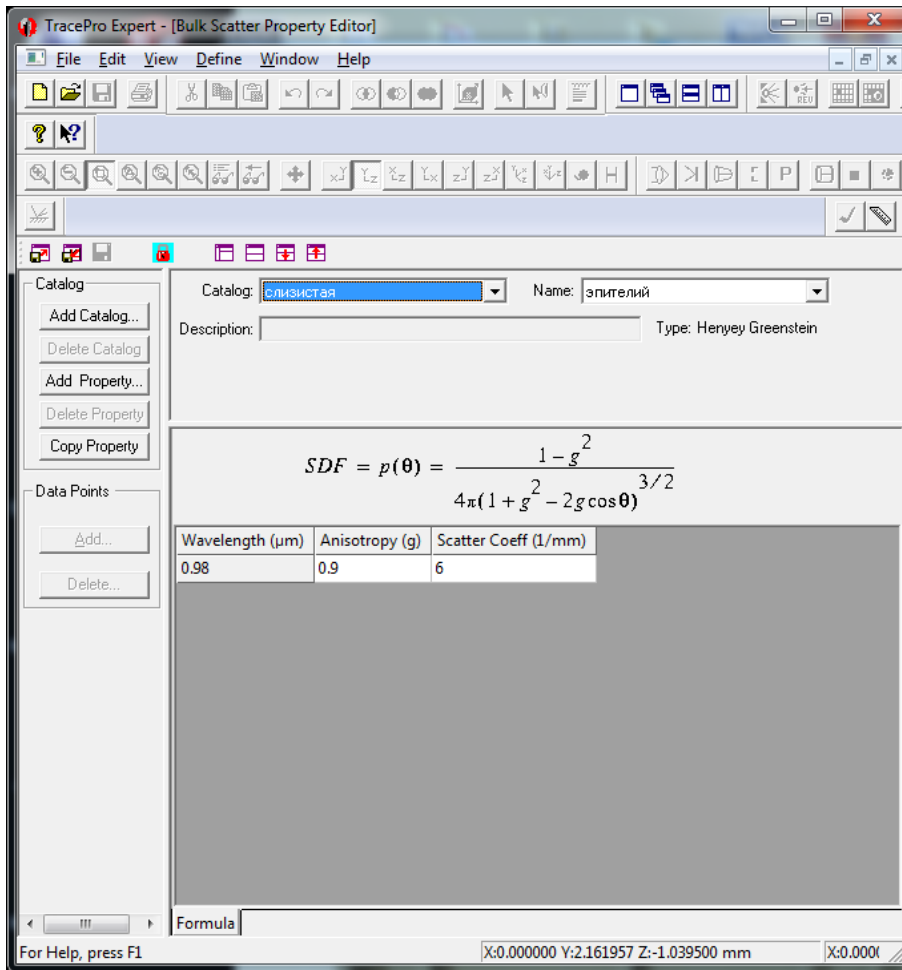
10. Создаем значение рассеяния.

a. В окне Model навести стрелку на Скальп и нажать правую кнопку мыши → Bulk Scatter → View Data → Создаем новый каталог «ЛТВМБИ-рассеяние».

b. Создаем новое свойство «эпителий» и в Initial Wavelength вводим значение длины волны из вашего варианта.

c. Вводим значение фактора анизотропии и коэффициента рассеяния в обратных мм.

d. Придаем значение рассеяния блоку «эпителий». В окне Model навести стрелку на скальп и нажать правую кнопку мыши → properties → bulk scatter → выбираем каталог «ЛТВМБИ-рассеяние» и свойство «эпителий».



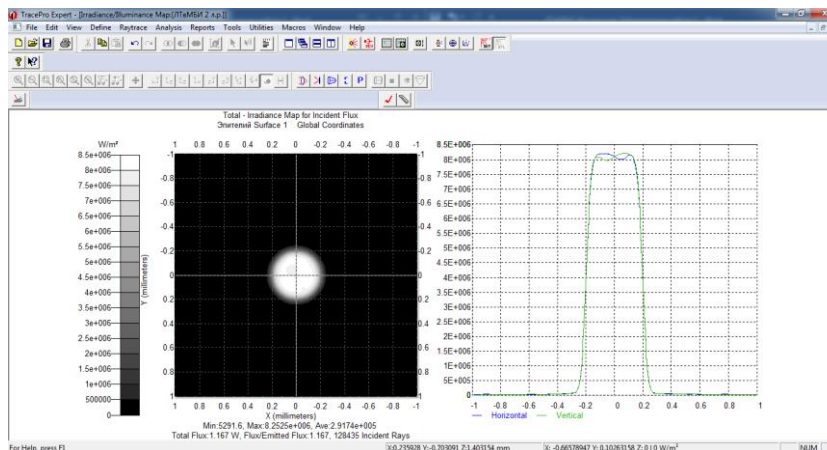
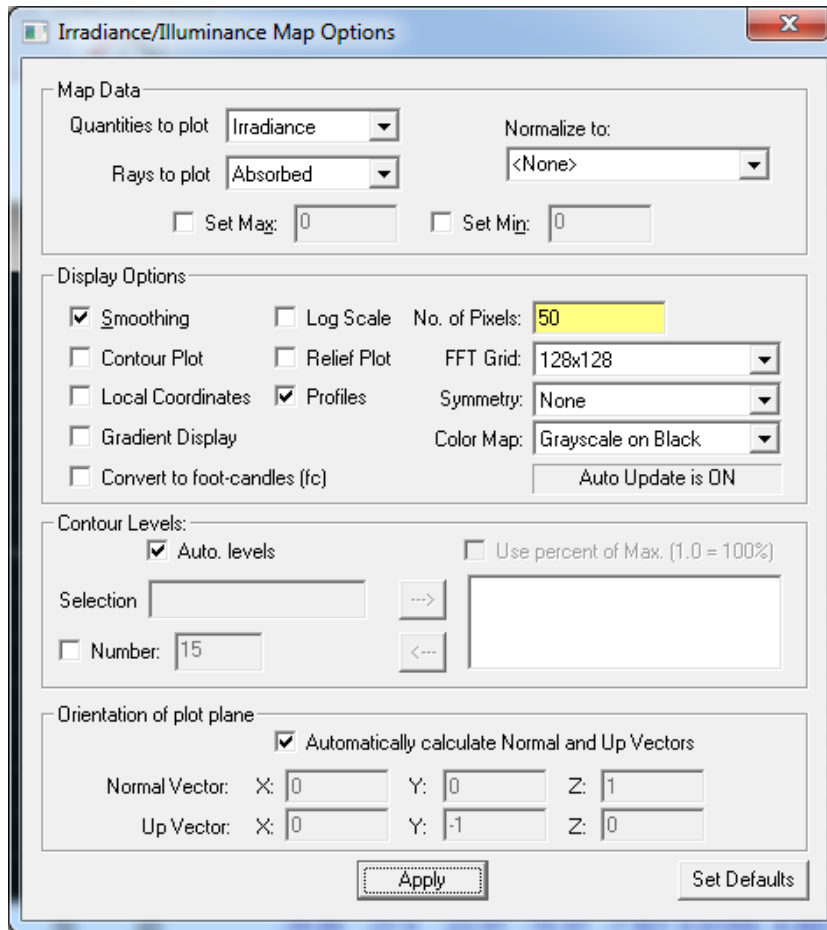


11. Для других материалов слоев модели слизистой повторить п. 9-10 с необходимыми параметрами (см. выше).

12. Запустить трассировку лучей. Получить пространственные распределения интенсивности излучения на входной и выходной плоскости модели слизистой и на плоскостях, соответствующих границам слоев слизистой.

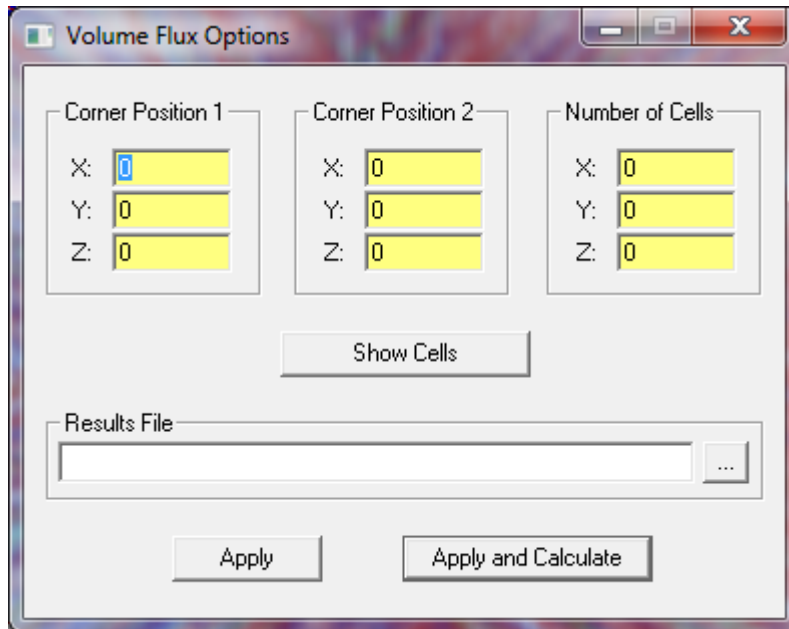
У эпителия - плоскости 0, 1

Ретикулярный слой - 0, 1

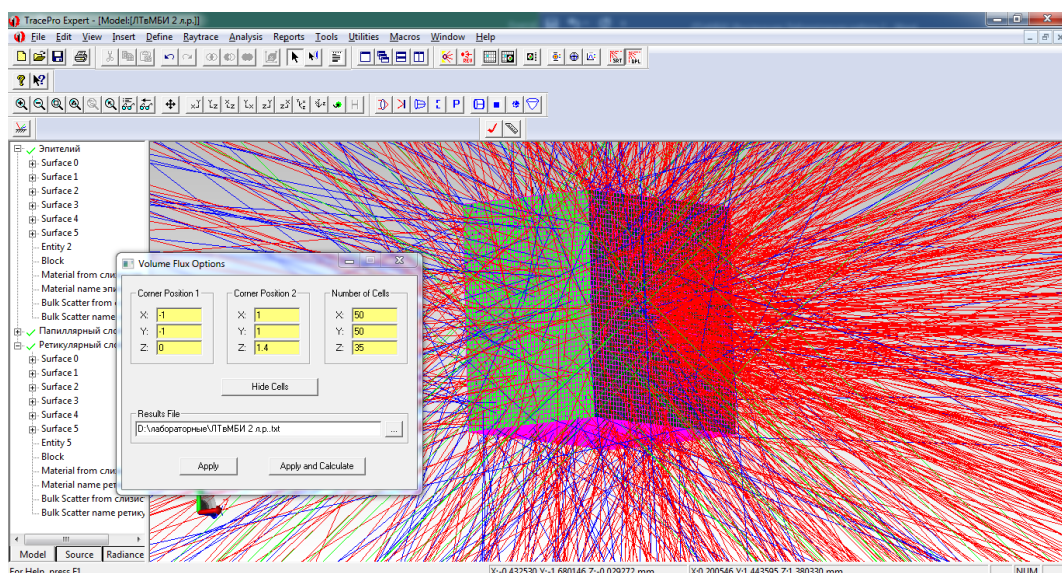


13. Построить зависимость максимальной интенсивности от глубины биоткани.

14. Выгрузить распределение поглощенной мощности излучения источника в биоткани (слизистой). Наживаем Tools → Collect volume flux. Появится окно Volume flux options.



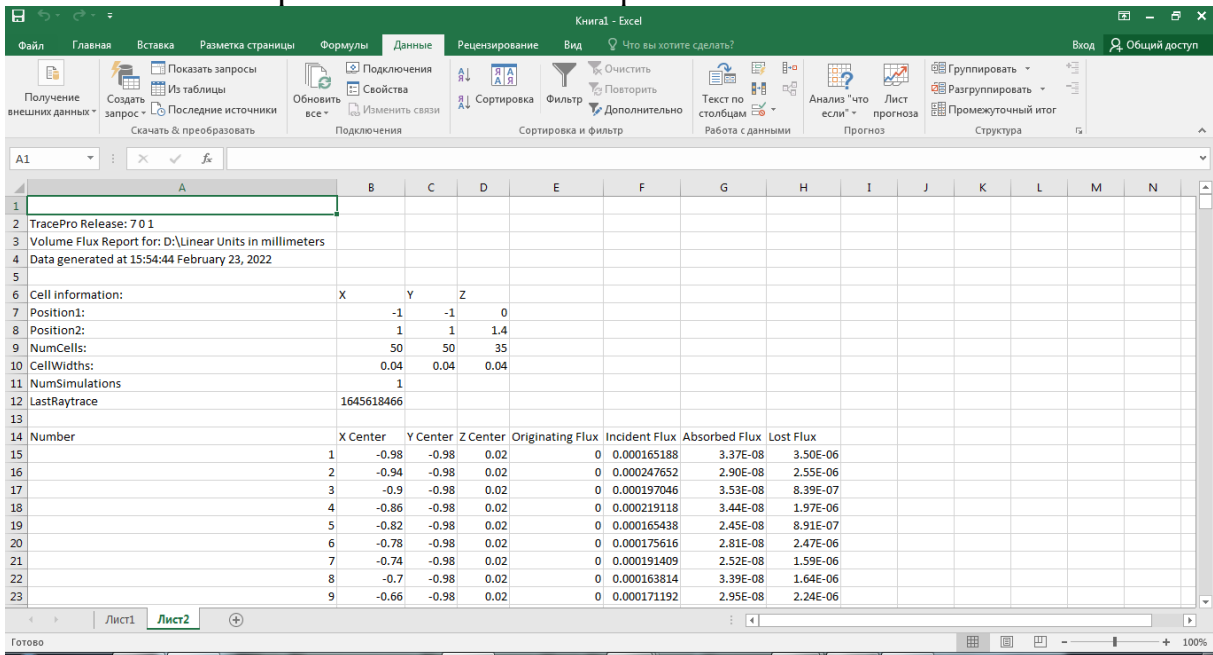
Выбираем папку для сохранения. Две крайних точки биоткани (слизистой) по диагонали. Выбираем количество ячеек, на которые программа поделит биоткань. Если далее нажать на Show Cells, то можно увидеть, правильно ли вы ввели координаты крайних точек биоткани.



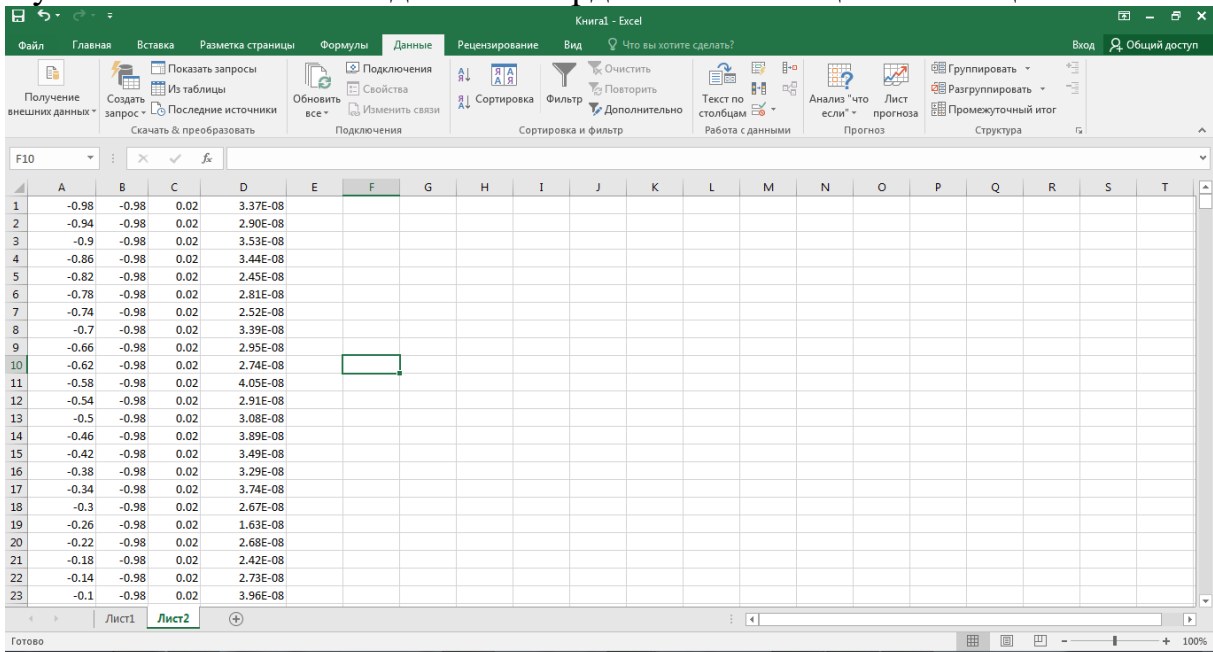
Далее нажимаем на Apply and Calculate.

После этого в нужной папке появится текстовый файл с данными.

15. Подготовить файл для загрузки в программу COMSOL Multiphysics®. Откроем Microsoft Excel. Вкладка данные → Получение внешних данных → из текста → выбираем наш текстовый файл.



Нужно оставить только данные координат и поглощенной мощности.



Сохраняем файл в текстовый с табуляцией.

## Глава 5. Лабораторная работа №2. Теплофизическая модель слизистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения тепла в слизистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии

Цель настоящей работы состоит в получении студентами базовых навыков расчета пространственного распределения тепла в биоткани (слизистой оболочке полости рта) при фракционном лазерном воздействии.

### Задание к лабораторной работе №2

1. В программе COMSOL Multiphysics® 5.4 («COMSOL Inc.», США) построить модель альвеолярной слизистой оболочки полости рта (см. главу 2 и главу 4 настоящего учебного пособия).
2. Задать тепловой источник, используя пространственное распределение поглощенной мощности излучения источника в слизистой, полученное в результате выполнения Лабораторной работы №1 (см. выше). Ширина и длина слоев слизистой в модели равны 2 мм и 2 мм соответственно. Теплофизические свойства и толщины слоев слизистой приведены в таблице 2.3 (см. главу 2 настоящего учебного пособия).
3. Получить пространственное распределение температуры в слизистой для режимов фракционного лазерного воздействия (длина волны излучения источника  $\lambda=980$  нм) в соответствии с выбранным вариантом режима фракционного лазерного воздействия (см. таблицу 5.1).

Таблица 5.1. Режимы фракционного лазерного воздействия.

Длительность воздействия, мс	Мощность теплового источника, Вт									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
50	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D
80	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B
100	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
120	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D
150	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B
180	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
200	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D
250	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B

режим А (выбирают для вариантов задания лабораторной работы №1 (см. выше)) - 1, 2, 3, режим В - 4, 5, 6, режим С - 7, 8, 9, режим D - 10, 11, 12, режим E - 13, 14, 15, режим F - 16, 17, 18, 19, 20.

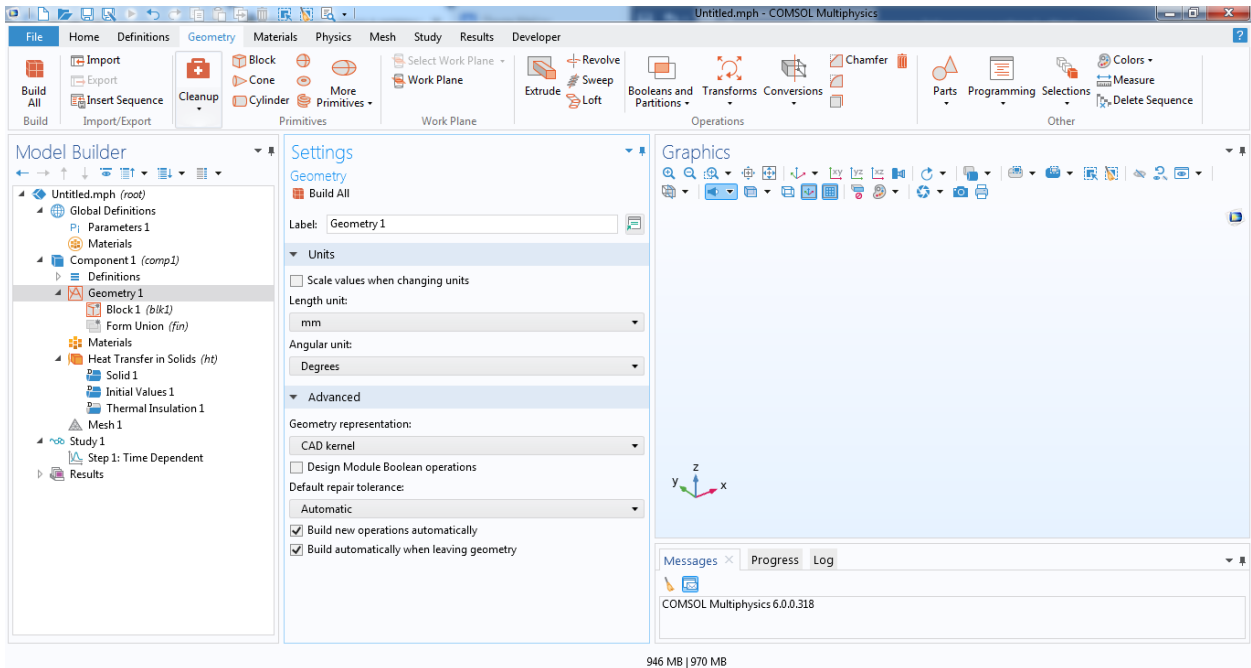
4. Оформить отчет к лабораторной работе. В отчете привести пространственное распределение температуры в слизистой для режимов фракционного лазерного воздействия (длина волны излучения источника  $\lambda=980$  нм) в соответствии с выбранным вариантом режима фракционного лазерного воздействия. Сформулировать выводы.

## Инструкция к лабораторной работе №2

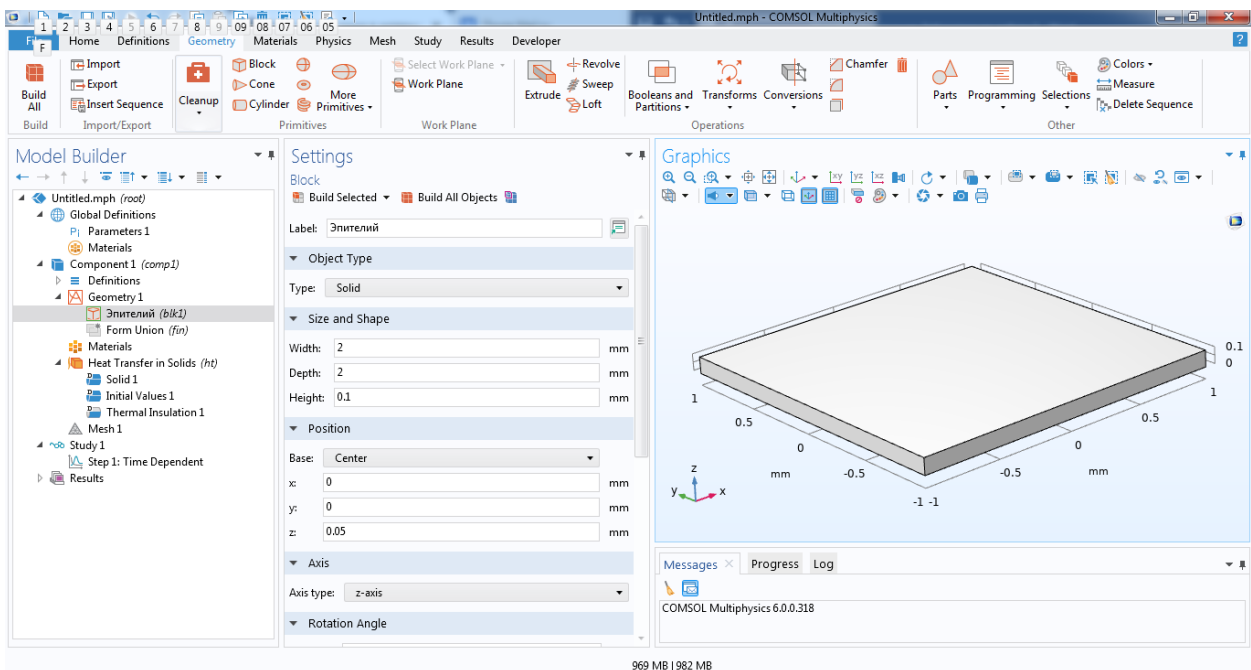
Открыть программу COMSOL Multiphysics®. Выбираем Model Wizard → 3D → Выбираем физику: Heat Transfer → Heat Transfer in solids. Нажимаем Add → Study → General Studies → Time Dependent → Done.

Создаем геометрию модели.

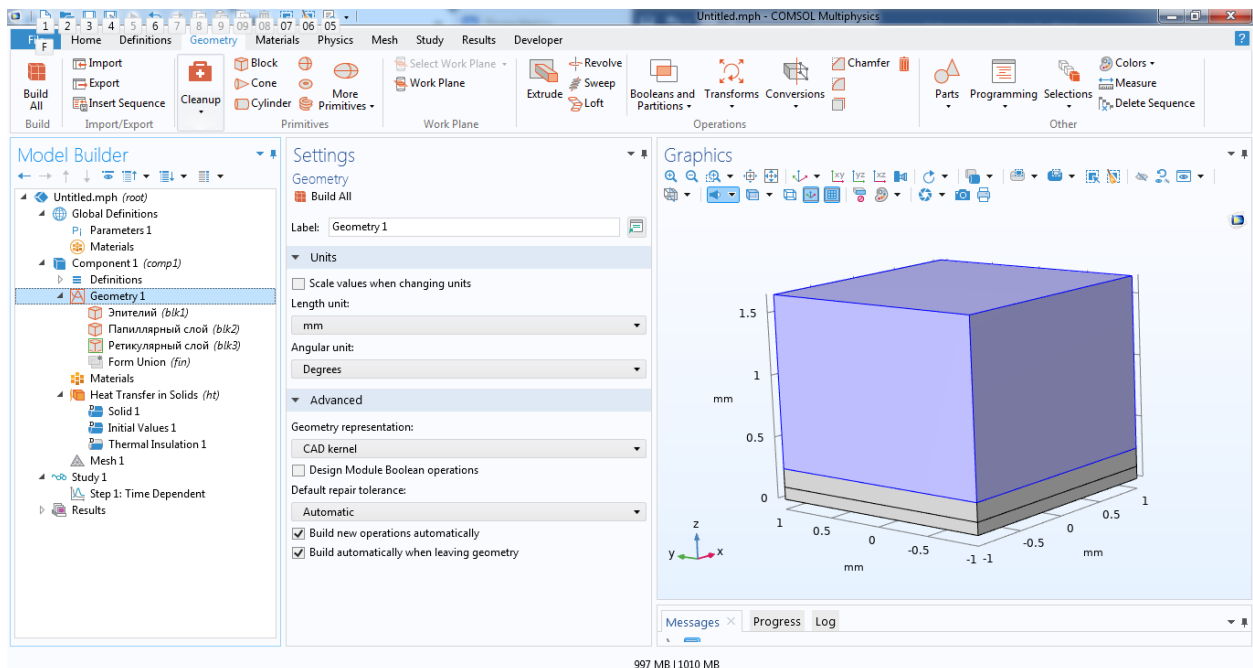
1. Выбираем единицы измерения в геометрии в строке Length unit - mm.



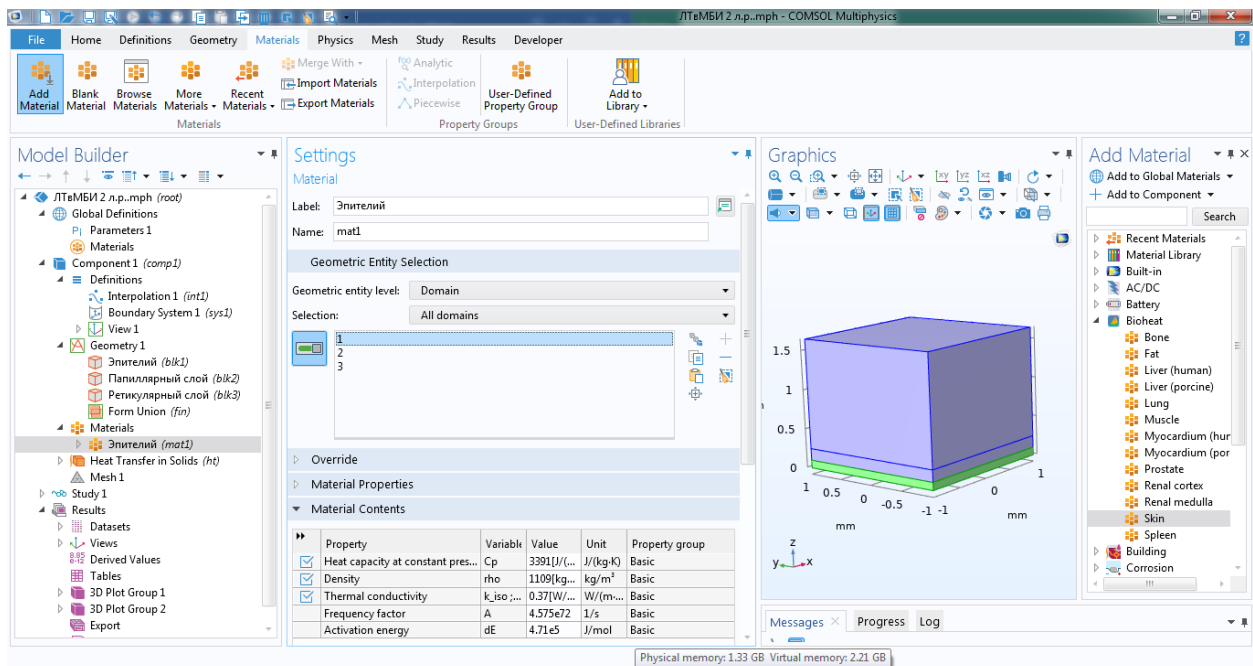
2. В геометрии добавляем Блок эпителлия. Вводим координаты центра и размер.



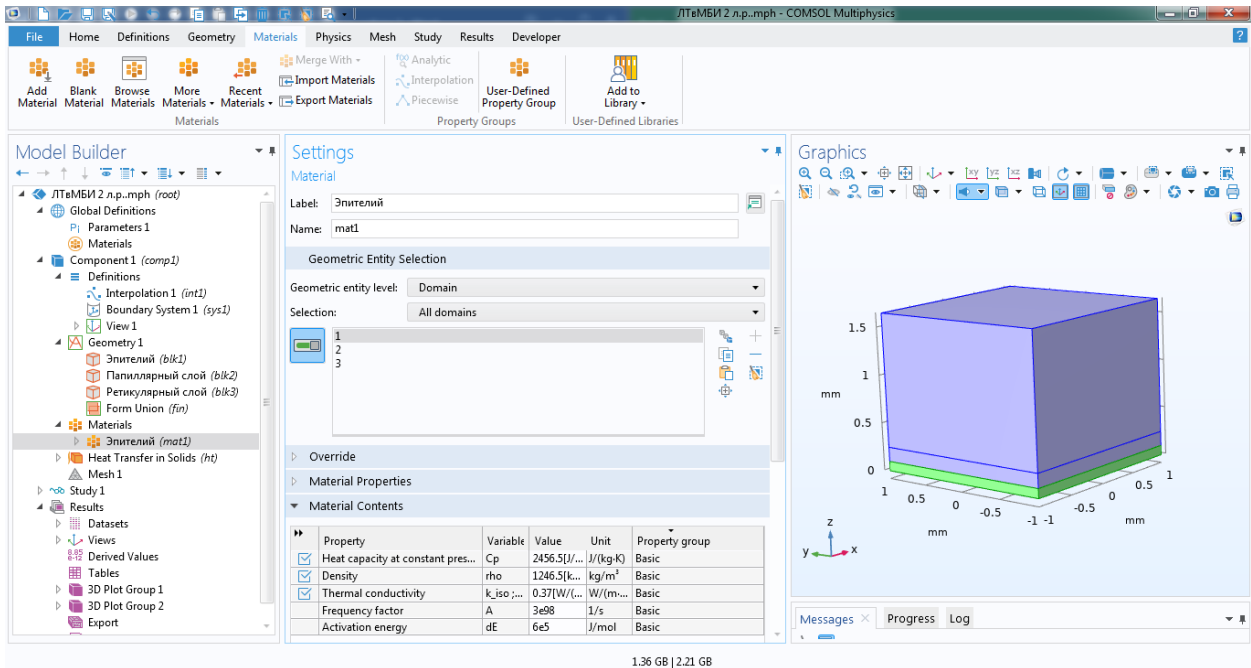
### 3. Создаем Папиллярный и Ретикулярный слой.



### 4. Добавляем материал.



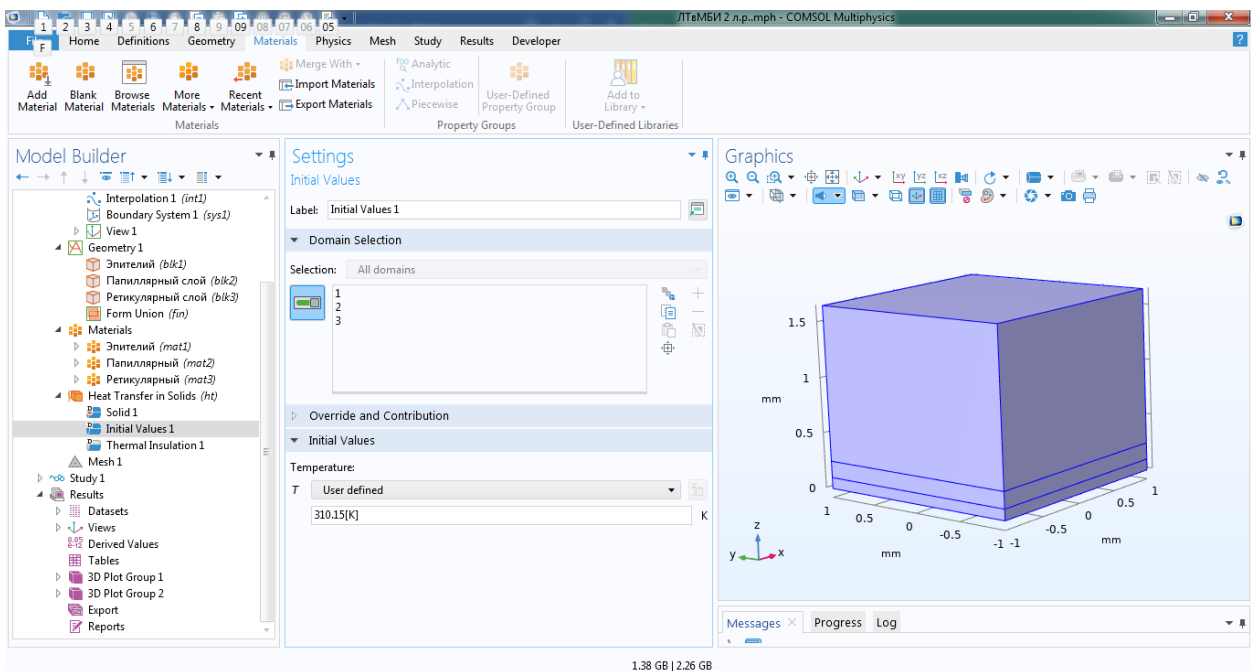
Выбираем вкладку Materials → Add Materials. Для удобства можно выбрать материал в папке Bioheat, например, Skin. Далее изменить название на Эпителий, выбрать первый блок, изменить теплофизические характеристики на данные из задания.



!!! Также добавить материалы для других двух слоев.

## 5. Добавим начальные условия.

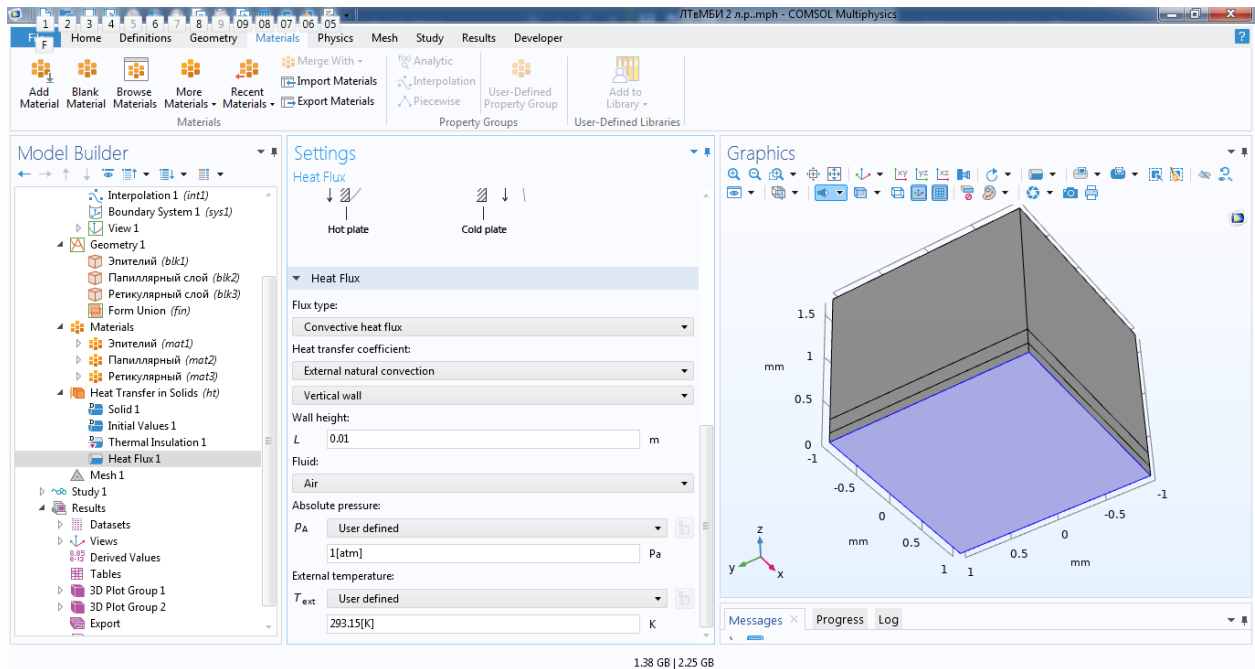
Начальная температура 37 градусов Цельсия - 310.15 градусов Кельвина.



Добавим конвекцию со стороны внешней плоскости эпителия.  
 Нажимаем правой кнопкой мыши по Heat Transfer in Solids → Heat Flux. Выбираем плоскость 3.  
 Flux type → Convective heat flux.  
 Heat transfer coefficient → External natural convection.

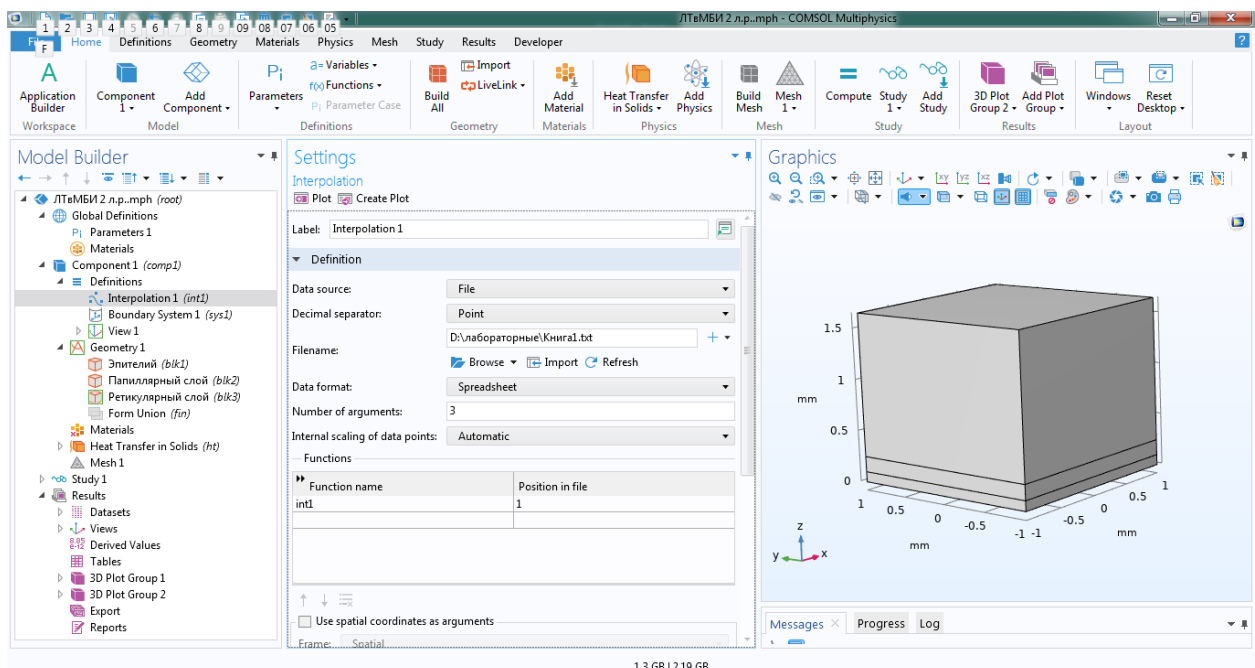
Вводим значение Wall Height  $L=0.01$  m, остальные параметры оставим по умолчанию.

Температура окружающей среды по умолчанию 25 градусов Цельсия.



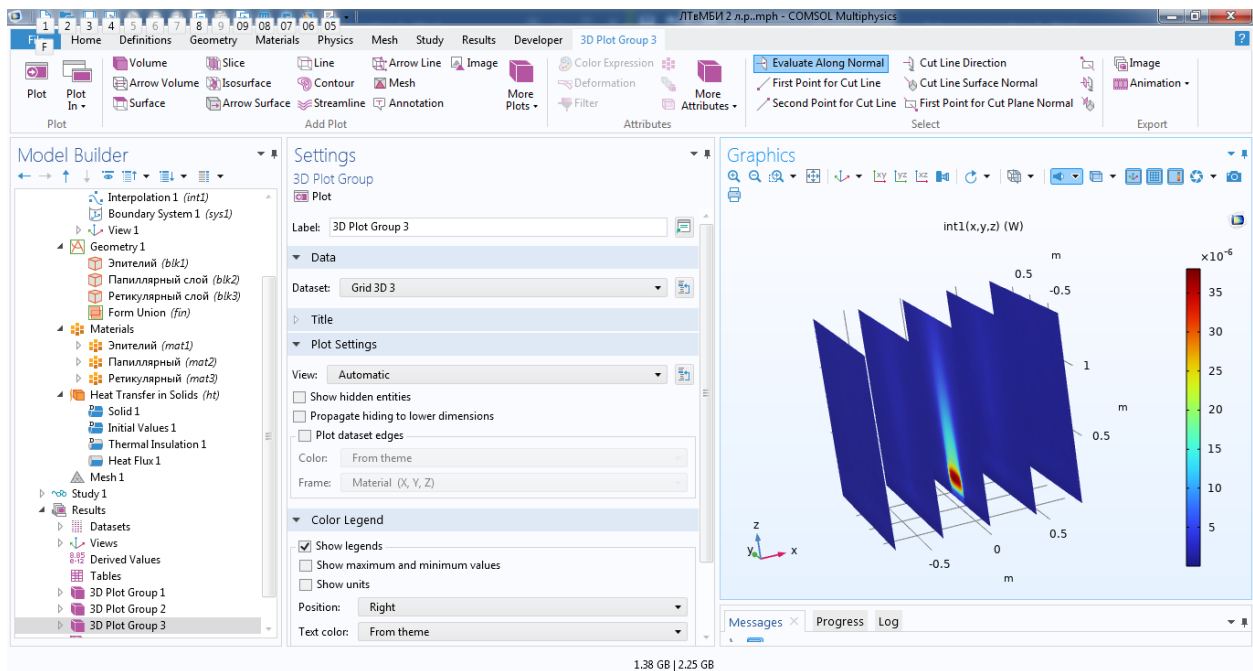
6. Добавим источник. Нажимаем на Component 1 правой кнопкой мыши → Functions → Interpolation.

В разделе Data source выбираем File и загружаем текстовый файл с пространственным распределением поглощенной мощности излучения источника в слизистой, полученный в Лабораторной работе №1 (см. Глава 4).





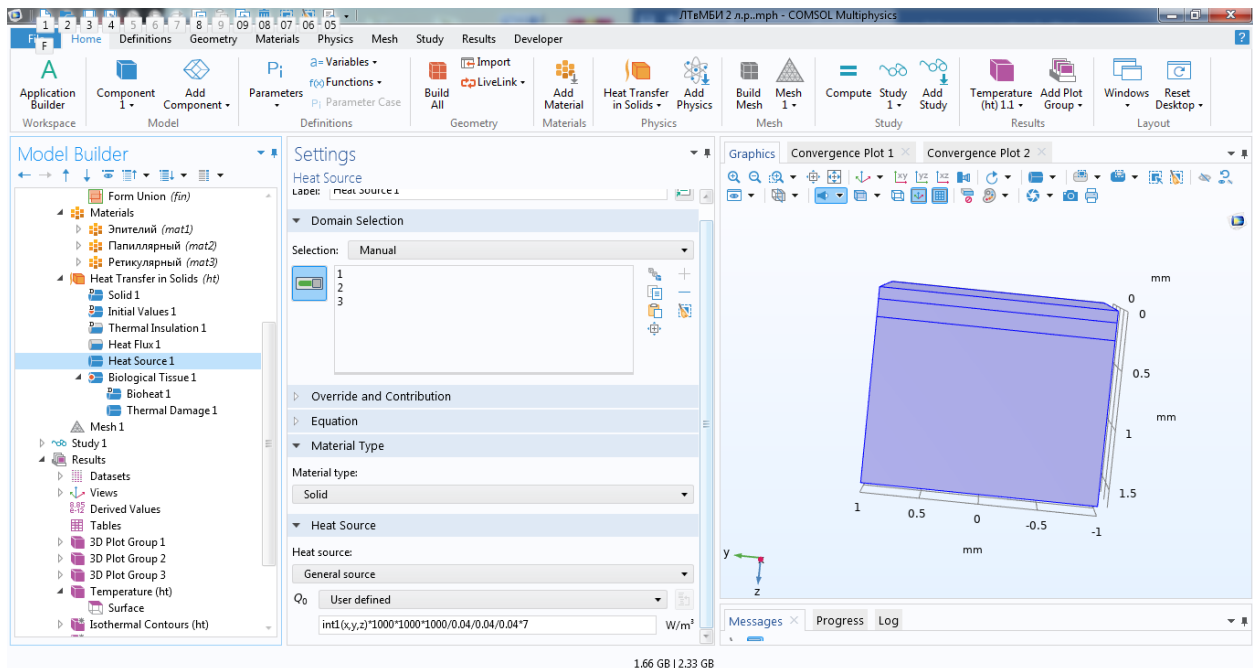
Чтобы проверить корректность загрузки и верность координат, можно нажать Create plot.



Нажимаем правой кнопкой мыши по Heat Transfer in Solids → Heat Source.  
 Выбираем все слои.  
 Вводим параметр:

$$\text{int1}(x,y,z)*1000*1000*1000/0.04/0.04/0.04 \quad (5.1.)$$

Параметр (5.1.) отражает, что для каждой ячейки мы задаем значение мощности из файла с пространственным распределением поглощенной мощности излучения источника в слизистой, полученного в Лабораторной работе №1, а потом делим на объем ячейки, потому что нужно ввести значение в  $\text{W}/\text{m}^2$ ).



1.66 GB | 2.33 GB

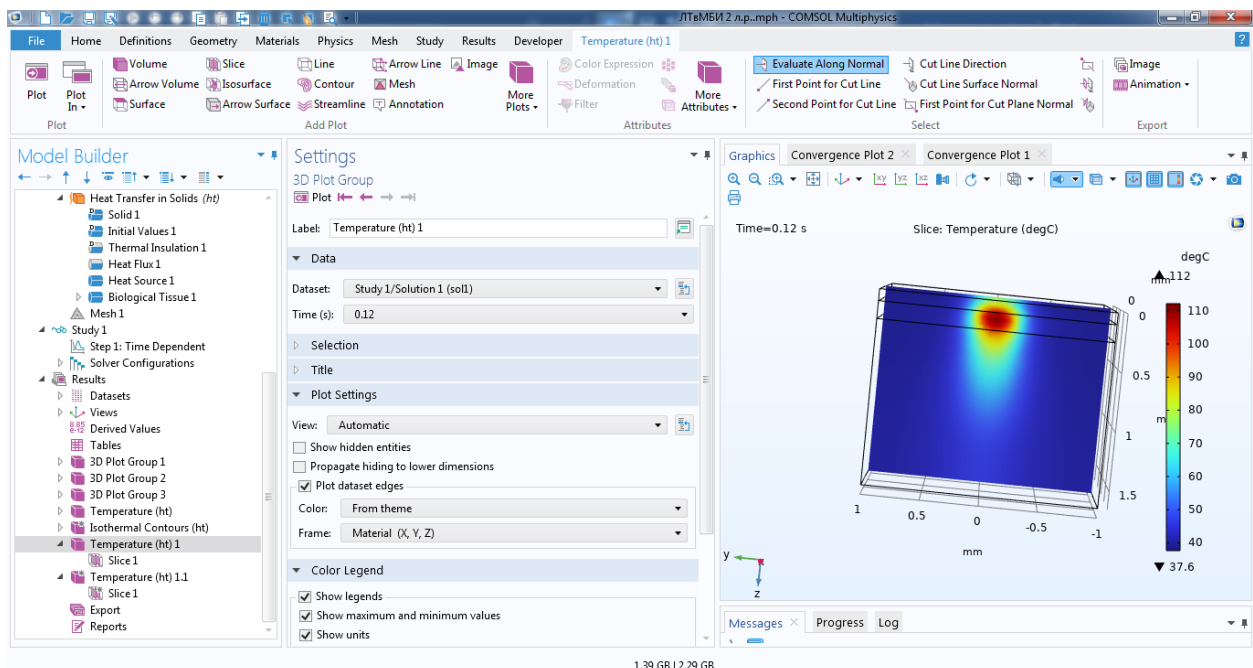
7. Mesh - Сетка для расчета. Оставим по умолчанию.

8. Запустим расчет и настроим вид получаемых результатов.

В верхней вкладке можно нажать на Study → Далее Compute.

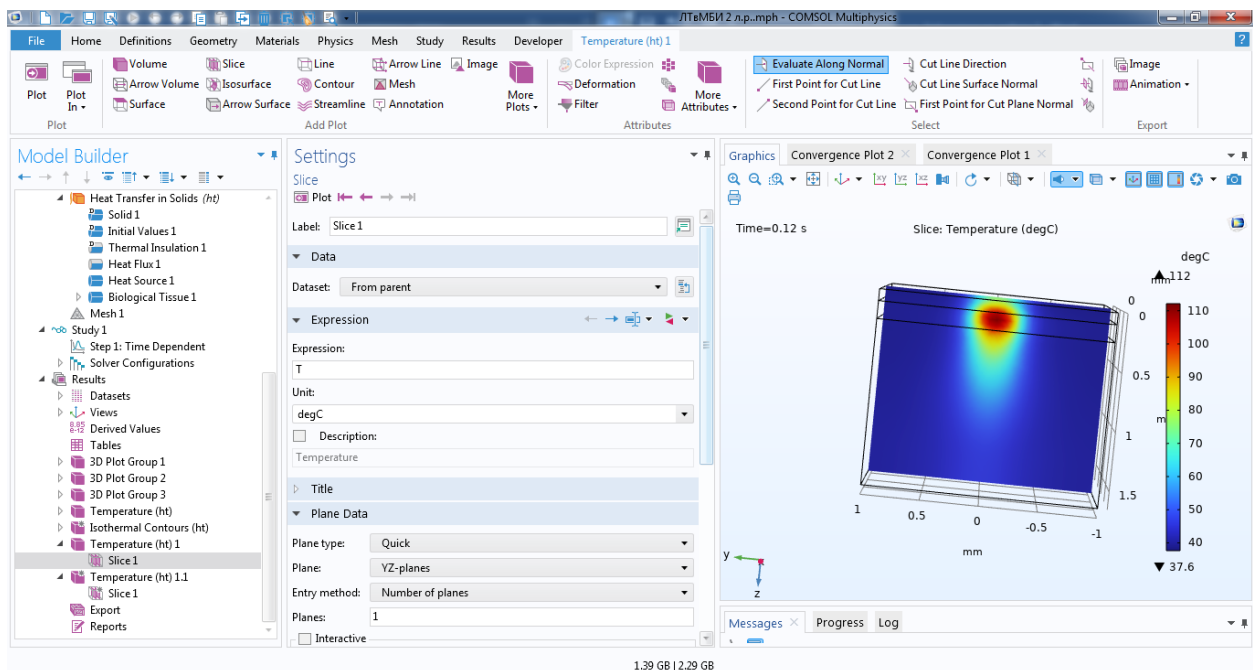
Нажимаем правой кнопкой мыши по вкладке Temperature слева в Results выбираем Slice.

В разделе Temperature настраиваем вид, ставим галочку напротив Show max and min values, Show units. Также здесь выбирается момент времени, в который хотим посмотреть результат.



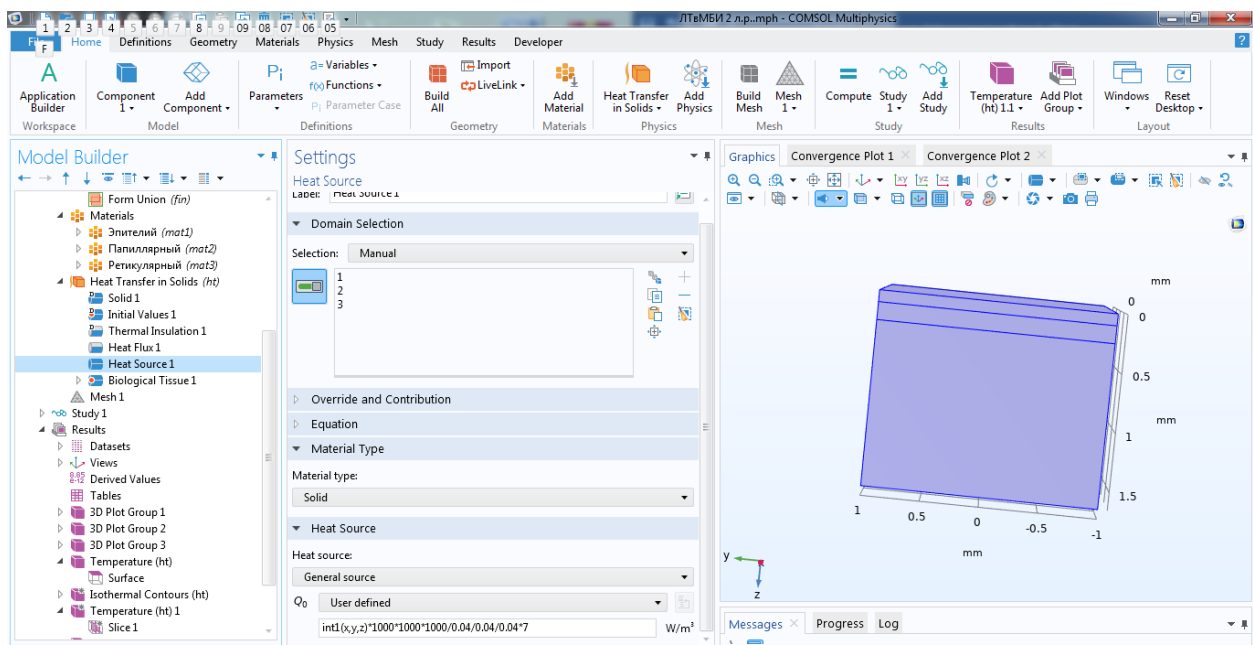
1.39 GB | 2.29 GB

Во вкладке Slice выбираем единицы измерения - градусы Цельсия.



1.39 GB | 2.29 GB

9. Задаем мощность теплового источника согласно выбранному режиму фракционного лазерного воздействия. Например, нужно исследовать режим 7 Вт, 120 мс. Для этого в Heat Source умножим параметр (5.1), в которой полагается, что мощность равна 1 Вт, на выбранную мощность 7 Вт.

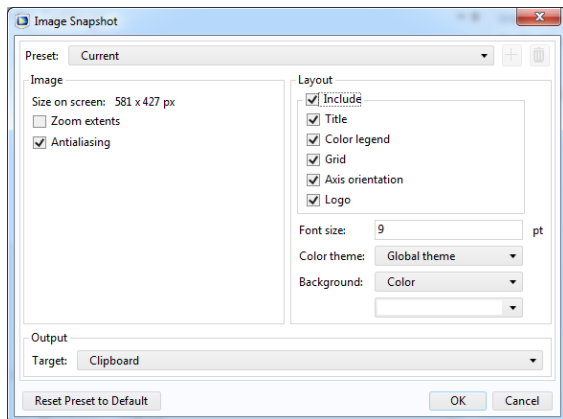


1.68 GB | 2.35 GB

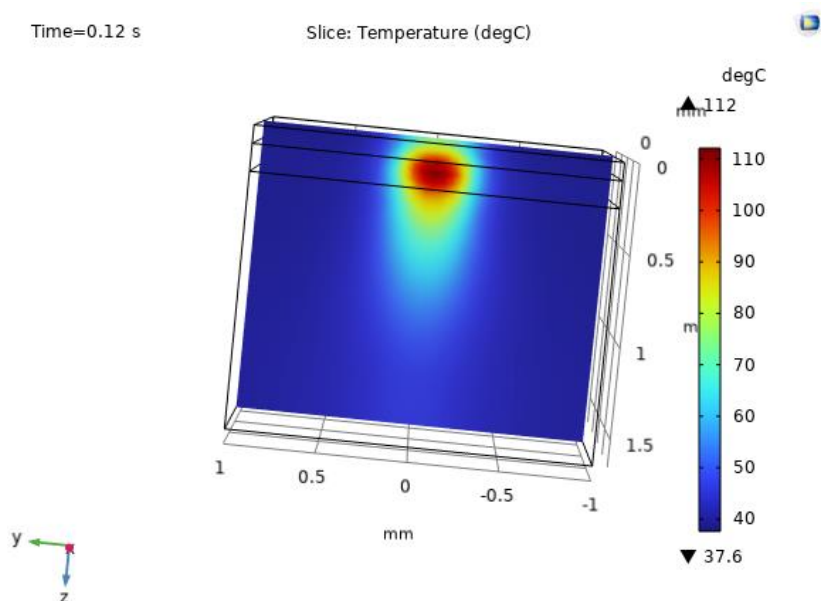
10. Задаем нужную длительность воздействия (импульса). В разделе Study 1 в исследовании Step 1: Time Dependent в разделе Output times можно задать нужный диапазон длительности. Две крайних цифры в скобках обозначают диапазон значений длительности, средняя цифра – шаг изменений длительности.

11. Запускаем расчет кнопкой Compute, получаем пространственное распределение температуры в слизистой.

12. Получить пространственное распределение температуры в слизистой в виде отдельной картинке можно, нажав кнопку Image Snapshot справа вверху со значком фотоаппарата. Возникнет окно, в layout поставьте галочку на Include как на скриншоте, представленном ниже.



Нажимаем ОК, картинка сохранилась в буфере, вставляем ее в отчет. Пример сохраненной картинки представлен на скриншоте ниже.



13. Изменяя мощность, длительность воздействия и выполняя расчет согласно представленной выше инструкции, получаем пространственное распределение температуры в слизистой для режимов фракционного лазерного воздействия (длина волны излучения источника  $\lambda=980$  нм) в соответствии с выбранным вариантом режима фракционного лазерного воздействия.

## **Глава 6. Лабораторная работа №3. Теплофизическая модель слизистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения интеграла повреждения в слизистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии**

Цель настоящей работы состоит в получении студентами базовых навыков расчета пространственного распределения интеграла повреждения в биоткани (слизистой оболочке полости рта) при фракционном лазерном воздействии.

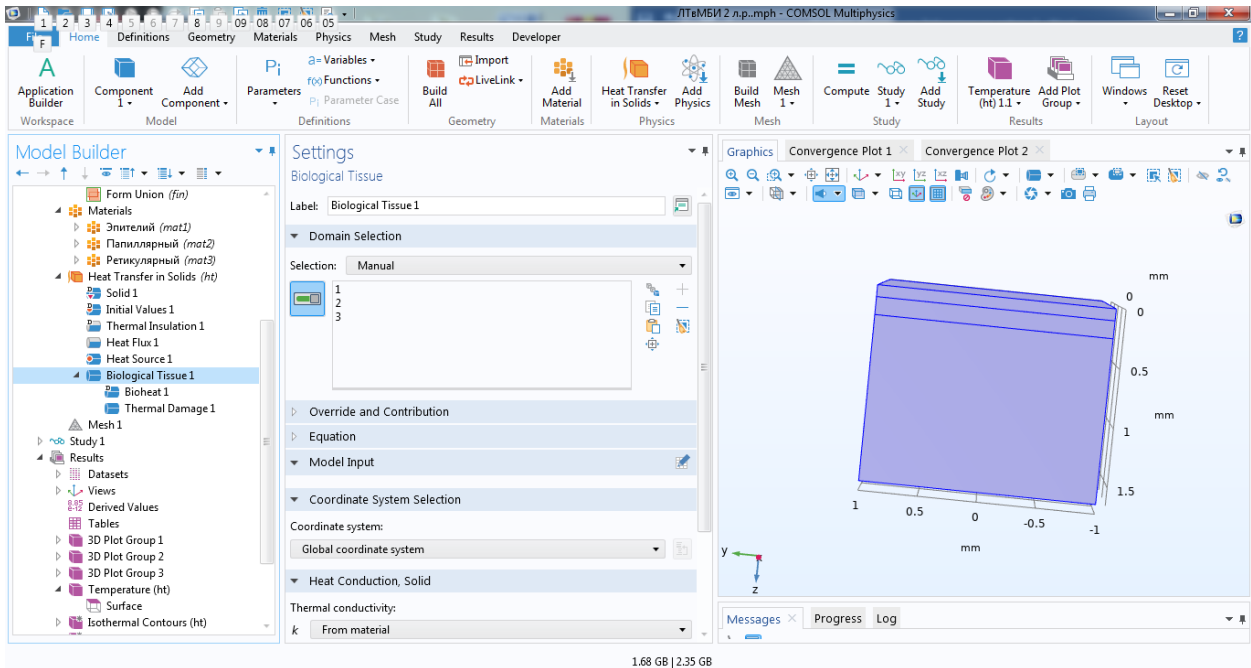
### ***Задание к лабораторной работе №3***

1. В программе COMSOL Multiphysics® 5.4 («COMSOL Inc.», США) построить модель альвеолярной слизистой оболочки полости рта (см. главу 2, главу 4 и главу 5 настоящего учебного пособия). При расчете функции Аррениуса (интеграла повреждения) для всех слоев слизистой оболочки полости рта задать: фактор частоты =  $3 \times 10^{98}$ , а энергию активации =  $6 \times 10^5$  Дж/моль (см. главу 2 настоящего учебного пособия).
2. Получить пространственное распределение функции Аррениуса для режимов лазерного воздействия в соответствии с выбранным вариантом режима фракционного лазерного воздействия (см. таблицу 5.1 главы 5 настоящего учебного пособия).
3. Оценить ширину и глубину микроповреждения альвеолярной слизистой оболочки полости рта.
4. Оформить отчет к лабораторной работе. В отчете привести пространственное распределение функции Аррениуса в слизистой для режимов фракционного лазерного воздействия (длина волны излучения источника  $\lambda=980$  нм) в соответствии с выбранным вариантом режима фракционного лазерного воздействия; привести результаты оценки ширины и глубины микроповреждения альвеолярной слизистой оболочки полости рта. Сформулировать выводы.

### ***Инструкция к лабораторной работе №3***

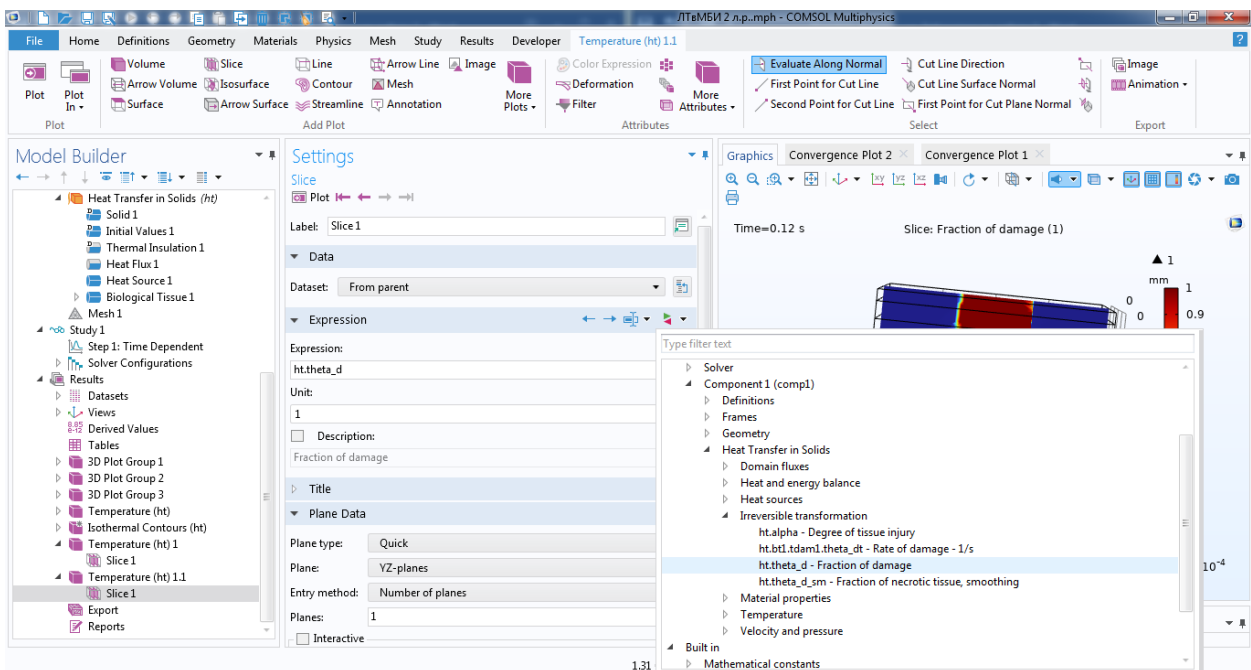
1. Добавим расчет функции Аррениуса в файле программы COMSOL Multiphysics® 5.4, полученном после выполнения лабораторной работы №2 (см. главу 5 настоящего учебного пособия).

Правой кнопкой мыши нажимаем по Heat Transfer in Solids → Specific Media → Biological tissue. Выбираем все слои.



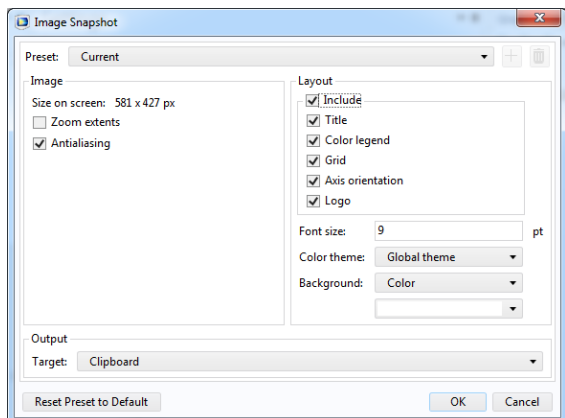
Правой кнопкой мыши нажимаем по Biological tissue → Thermal Damage Transformation model → Arrhenius kinetics

2. Дублируем Temperature и Slice. Настраиваем Slice, чтобы была возможность одновременно получить распределение температуры и функции Аррениуса. Во вкладке Expression выбираем `ht.theta_d`.



3. Получить пространственное распределение функции Аррениуса в слизистой в виде отдельной картинкой отдельной картинкой можно, нажав кнопку Image Snapshot справа сверху со значком фотоаппарата. Возникнет

окно, в layout поставьте галочку на Include как на скриншоте, представленном ниже.



Нажимаем ОК, картинка сохранилась в буфере, вставляем ее в отчет.

4. Изменяя мощность, длительность воздействия и выполняя расчет согласно представленной выше инструкции, получаем пространственное распределение функции Аррениуса (интеграла повреждения) в слизистой для режимов фракционного лазерного воздействия (длина волны излучения источника  $\lambda=980$  нм) в соответствии с выбранным вариантом режима фракционного лазерного воздействия.

## Требования к оформлению отчета

Титульный лист отчета, формат А4:

<p>Министерство науки и высшего образования Российской Федерации ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИТМО» (Университет ИТМО) Физико-технический мегафакультет Институт лазерных технологий</p> <p><b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1</b> Оптическая модель слезистой оболочки полости рта. Расчет пространственного распределения интенсивности лазерного излучения в слезистой оболочке полости рта при фракционном лазерном воздействии</p> <p>Выполнил: студент группы ХХХХ Ф.И.О.</p> <p>Проверил: Ф.И.О.</p> <p>Санкт-Петербург 2024 г.</p>
--

Содержание (разделы) отчета:

### 1. Оглавление

**2. Краткие теоретические сведения** – содержит краткий обзор литературы (1 - 2 стр.) по теме лабораторной (практической) работы.

**3. Задание** – выдается преподавателем и дублируется в отчете.

**4. Расчетная (экспериментальная) часть** – содержит формулы, схемы, графики или таблицы с результатами расчетов и/или экспериментов, предусмотренные заданием к лабораторной (практической) работе.

**5. Заключение** – содержит анализ полученных в работе результатов и выводы.

### 6. Список использованной литературы

**7. Приложение** – содержит созданные учащимся в процессе выполнения лабораторной (практической) работы тексты компьютерных программ, тексты процедур, алгоритмы и прочее.

Отчет оформляется в электронном (например, MS Word) и печатном виде в соответствии с принятыми в Университете ИТМО правилами, с учетом требований ГОСТ Р 7.0.11-2011 и ГОСТ 7.32-2017 и сдается преподавателю после финального обсуждения.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson R. R., Parrish J. A. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation // *Science*. – 1983. – Vol. 220. – №4596. – P. 524-527.
2. Manstein D., Herron G. S., Sink R. K., Tanner H., Anderson R. R. Fractional photothermolysis: a new concept for cutaneous remodeling using microscopic patterns of thermal injury. // *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*. – 2004. – Vol. 34. – №5. – P. 426-438.
3. Atejev V. V., Bukreyev V. S., Vartapetov S. K., Semenov A. D., Sugrobov V. A., Turin V. S., Fedorov S. N. Excimer laser system Profile-500. // *ALT'98 Selected Papers on Novel Laser Methods in Medicine and Biology*. – 1999. – Vol. 3829. – P. 124-127.
4. Alexiades-Armenakas M. R., Dover J. S., Arndt K. A. The spectrum of laser skin resurfacing: nonablative, fractional, and ablative laser resurfacing. // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2008. – Vol. 58. – №5. – P. 719-737.
5. Kauvar A. N. Fractional nonablative laser resurfacing: is there a skin tightening effect? // *Dermatologic surgery*. – 2014. – Vol. 40. – P. 157-163.
6. Lapidoth M., Yagima Odo M. E., Odo L. M. Novel use of erbium: YAG (2,940-nm) laser for fractional ablative photothermolysis in the treatment of photodamaged facial skin: A pilot study. // *Dermatologic surgery*. – 2008. – Vol. 34. – №8. – P. 1048-1053.
7. Banihashemi M., Nahidi Y., Maleki M., Esmaily H., Moghimi H. R. Efficacy of fractional CO<sub>2</sub> laser in treatment of atrophic scar of cutaneous leishmaniasis. // *Lasers in medical science*. – 2016. – Vol. 31. – №4. – P. 733-739.
8. Azzam O. A., Bassiouny D. A., El-Hawary M. S., El Maadawi Z. M., Sobhi R. M., El-Mesidy M. S. Treatment of hypertrophic scars and keloids by fractional carbon dioxide laser: a clinical, histological, and immunohistochemical study. // *Lasers in medical science*. – 2016. – Vol. 31. – №1. – P. 9-18.
9. Chapas A. M., Brightman L., Sukal S., Hale E., Daniel D., Bernstein L. J., Geronemus R. G. Successful treatment of acneiform scarring with CO<sub>2</sub> ablative fractional resurfacing. // *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*. – 2008. – Vol. 40. – №6. – P. 381-386.
10. Helbig, D., Paasch U. Molecular changes during skin aging and wound healing after fractional ablative photothermolysis. // *Skin Research and Technology*. – 2011. – Vol. 17. – №1. – P. 119-128.
11. Deng H., Yuan D., Yan C., Lin X., Ding X. A. A 2940 nm fractional photothermolysis laser in the treatment of acne scarring: a pilot study in China. // *Journal of drugs in dermatology: JDD*. – 2009. – Vol. 8. – №11. – P. 978-980.

12. Rokhsar C. K., Ciocon D. H. Fractional photothermolysis for the treatment of postinflammatory hyperpigmentation after carbon dioxide laser resurfacing. // *Dermatologic Surgery*. – 2009. – Vol. 35. – №3. – P. 535-537.
13. Behroozan D. S., Goldberg L. H., Glaich A. S., Dai T., Friedman P. M. Fractional photothermolysis for treatment of poikiloderma of Civatte. // *Dermatologic surgery*. – 2006. – Vol. 32. – №2. – P. 298-301.
14. Rokhsar C. K., Fitzpatrick R. E. The treatment of melasma with fractional photothermolysis: a pilot study. // *Dermatologic Surgery*. – 2005. – Vol. 31. – №12. – P. 1645-1650.
15. Glaich A. S., Goldberg L. H., Friedman R. H., Friedman P. M. Fractional photothermolysis for the treatment of postinflammatory erythema resulting from acne vulgaris. // *Dermatologic surgery*. – 2007. – Vol. 33. – №7. – P. 842-846.
16. Altshuler G.B., Belikov A.V. Fractional laser treatment: a new method of tissue Regeneration. // *Technical Program, 16th International Conference Laser Optics* – 2014. – P. 59.
17. Karabut M. M., Gladkova N. D., Feldchtein F. I. Fractional laser photothermolysis in the treatment of skin defects: possibilities and effectiveness // *Современные технологии в медицине*. – 2016. – Vol. 8. – № 2. – P. 98-107.
18. Alster T. S., Doshi S. Laser skin resurfacing // *Cosmetic Dermatology*. – Berlin, Heidelberg, 2005. – P. 111-126.
19. Roberts T. L., Pozner J. N. Lasers, facelifting, and the future. // *Clinics in plastic surgery*. – 2000. – Vol. 27. – №2. – P. 293-299.
20. Durani P. et al. Avotermin: a novel antiscarring agent // *The international journal of lower extremity wounds*. – 2008. – Vol. 7. – №3. – P. 160-168.
21. Occleston N. L. et al. New therapeutics for the prevention and reduction of scarring // *Drug discovery today*. – 2008. – Vol. 13. – №21-22. – P. 973-981.
22. Ginsbach G., Kohnel W. The treatment of hypertrophic scars and keloids by argon laser: clinical data and morphologic findings // *Plast Surg Forum*. – 1978. – Vol. 1. – P. 61-67.
23. Abergel R. P. et al. Laser treatment of keloids: a clinical trial and an in vitro study with Nd:YAG laser // *Lasers in surgery and medicine*. – 1984. – Vol. 4. – №3. – P. 291-295.
24. Gladkova N. D., Feldstein F. I., Karabut M. M., Ostrovskaya Y. V., Snopova L. B., Kiseleva E. B., Romanos, G. E. Histological response of oral mucosa on fractional laser photothermolysis in animal experiments. // *Modern Technologies in Medicine*. – 2012. – Vol. 3. – P. 7-11.
25. Romanos G. E., Gladkova N. D., Feldchtein F. I., Karabut M. M., Kiseleva E. B., Snopova L. B., Fomina, Y. V. Oral mucosa response to laser patterned microcoagulation (LPM) treatment. An animal study. // *Lasers in medical science*. – 2013. – Vol. 28. – №1. – P. 25-31.
26. Shatilova, K. V., Aloian, G. A., Karabut, M. M., Ryabova, V. M., Tarasenko, S. V., Lyspak, I. V., ... & Altshuler, G. B. Non-ablative fractional laser treatment

for soft oral tissue regeneration // 2018 International Conference Laser Optics (ICLO). – IEEE, 2018. – С. 465-465.

27. Laser Light Therapy in Dentistry: Efficacy, Uses and Limitations. Ch. 7. 980nm Diode Laser Fractional Treatment of the Oral Mucosal Diseases: Possibilities and Limitations / Andrey V. Belikov, Ludmila A. Ermolaeva, Dmitriy E. Korzhevsky, Valeriia V. Gusel'nikova, Denis Y. Fedotov, Elena S. Sergeeva, Yulia V. Semyashkina. – Nova Science Publishers, ISBN: 978-1-68507-345-9, ИЕТ - 2021, P. 175-198.

28. Сергеева Е.С. Реакция слизистой оболочки полости рта на лазерное фракционное воздействие: дис. ... канд. мед. наук. / Е.С. Сергеева – СПб, 2021. – 172 с.

29. Семяшкина Ю.В. Оптимизация пространственного распределения светового потока оптических систем для фракционной и фотодинамической терапии: дис. ... канд. техн. наук. / Ю.В. Семяшкина – СПб, 2020. – 286 с.

30. Silver R., Silverman A. J., Vitković L., Lederhendler I. I. Mast cells in the brain: evidence and functional significance. // Trends in neurosciences. – 1996. – Vol. 19. – №1. – P. 25-31.

31. Kamal R., Dahiya P., Goyal N., Kumar M., Sharma N., Saini H. R. Mast cells and oral pathologies: A Review. // Journal of natural science, biology, and medicine. – 2015. – Vol. 6. – №1. – P. 35-39.

32. Mangia A., Malfettone A., Rossi R., Paradiso A., Ranieri G., Simone G., Resta L. Tissue remodelling in breast cancer: human mast cell tryptase as an initiator of myofibroblast differentiation. // Histopathology. – 2011. – Vol. 58. – №7. – P. 1096-1106.

33. Vidal M. T. A., de Oliveira Araújo I. B., Gurgel C. A. S., Pereira F. D. A. C., Vilas-Bôas D. S., Ramos E. A. G., Dos Santos J. N. Density of mast cells and microvessels in minor salivary gland tumors. // Tumor Biology. – 2013. – Vol. 34. – №1. – P. 309-316.

34. Garbuzenko E., Nagler A., Pickholtz D., Gillery P., Reich R., Maquart F. X., Levi-Schaffer F. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. // Clinical & Experimental Allergy. – 2002. – Vol. 32. – №2. – P. 237-246.

35. Matsushima R., Takahashi A., Nakaya Y., Maezawa, H., Miki M., Nakamura Y., Yasuoka S. Human airway trypsin-like protease stimulates human bronchial fibroblast proliferation in a protease-activated receptor-2-dependent pathway. // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2006. – Vol. 290. – №2. – P. 385-395.

36. Yang X., Chen B., Liu T., Chen X. Reversal of myofibroblast differentiation: a review. // European journal of pharmacology. – 2014. – Vol. 734. – P. 83-90.

37. Jih M. H., Kimyai-Asadi A. Fractional photothermolysis: a review and update // Seminars in cutaneous medicine and surgery. – WB Saunders, 2008. – Vol. 27. – № 1. – P. 63-71.

38. Geronemus R. G. Fractional photothermolysis: current and future applications. // *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*. – 2006. – Vol. 38. – №3. – P. 169-176.
39. Taudorf E. H., Danielsen P. L., Paulsen I. F., Togsverd-Bo K., Dierickx C., Paasch U., Haedersdal M. Non-ablative fractional laser provides long-term improvement of mature burn scars—A randomized controlled trial with histological assessment. // *Lasers in surgery and medicine*. – 2015. – Vol. 47. – №2. – P. 141-147.
40. Yang J., Wang S., Dong L., An X., Li Y., Li J., Tao J. Skin healing and collagen changes of rats after fractional erbium: yttrium aluminum garnet laser: observation by reflectance confocal microscopy with confirmed histological evidence. // *Lasers in medical science*. – 2016. – Vol. 31. – №6. – P. 1251-1260.
41. Borovsky E. V. *Biology of the oral cavity/EV Borovskiy, VK Leontiev*. – Moscow: Medicine, 1991.
42. Bykov V. L. *Histology and embryology of the human oral cavity organs: tutorial*. – SPb, 1998.
43. Wolf, G. D. *Periodontics/Herbert F. Wolf, Edith M. Rateytshak Klaus Rateytshak: Trans. with him/Ed. prof. GM Barer* – M. MED press-inform, 2008.
44. Fedi P. F., Vernino A. R., Gray J. L. *Periodontal alphabet*. – M.: Azbuka, 2003.
45. Bashkatov A. N., Genina E. A., Kozintseva M. D., Kochubei V. I., Gorodkov S. Y., Tuchin V. V. Optical properties of peritoneal biological tissues in the spectral range of 350–2500 nm. // *Optics and Spectroscopy*. – 2016. – Vol. 120. – №1. – P. 1-8.
46. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of cranial bone // *Advances in Optical Technologies*. – 2008.
47. Sung, K. B., Chen H. H. Enhancing the sensitivity to scattering coefficient of the epithelium in a two-layered tissue model by oblique optical fibers: Monte Carlo study. // *Journal of biomedical optics*. – 2012. – Vol. 17. – №10. – P. 107003.
48. Antunes A., Pontes J. H., Monte A. F., Barbosa A., Ferreira N. M. Optical properties on bone analysis: an approach to biomaterials // *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*. – 2019. – Vol. 27. – № 1. – P. 36.
49. Tuchin V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics (2nd ed)* // SPIE Press, Bellingham, WA, Hardbound 2007.
50. Lambda Research Corporation: *TracePro Users Manual Release 6.0*.
51. Kuznetsov S.L., Mushkambarov, N.N., Goryachkina V.L. *Atlas of Histology, Cytology and Embryology*. – Moscow, Medical News Agency, 2013.
52. Thorlabs. 2020. «Single Mode Fiber Optic Patch Cables» URL: <https://www.thorlabs.com> (Дата обращения 28.01.2024).

53. Davidson S. R., James D. F. Measurement of thermal conductivity of bovine cortical bone. // *Medical engineering & physics*. – 2000. – Vol. 22. – №10. – P. 741-747.
54. John J. G. S., Cameron R. Roderick M. Grant *Physics of the Body..* Second Edition. – Madison, WI: Medical Physics Publishing, 1999.
55. Ho H. N. Material recognition based on thermal cues: Mechanisms and applications. // *Temperature*. – 2018. – Vol. 5. – №1. – P. 36-55.
56. Biyikli S., Modest M. F., Tarr R. Measurements of thermal properties for human femora. // *Journal of biomedical materials research*. – 1986. – Vol. 20. – №9. – P. 1335-1345.
57. Nayak R., Padhye R. (Eds.). *Manikins for textile evaluation*. – Woodhead Publishing, 2017.
58. Hamouda H. Thermal and Fire Protective Fabric Systems. In *Handbook of Environmental Degradation of Materials* – William Andrew Publishing, 2018.
59. Xu F., Lu T. J., Seffen K. A. Biothermomechanical behavior of skin tissue. // *Acta Mechanica Sinica*. – 2008. – Vol. 24. – №1. – P. 1-23.
60. Huttmann G., Birngruber R. On the possibility of high-precision photothermal microeffects and the measurement of fast thermal denaturation of proteins. // *IEEE Journal of selected topics in quantum electronics*. – 1999. – Vol. 5. – №4. – P. 954-962.
61. Niemz M.H. *Laser tissue interactions: fundamentals and applications* - Berlin, Springer, 2007.
62. Eichler J., Seiler T. *Lasertechnik in der Medizin* - Berlin, New York: Springer, 1991.
63. Ansari M. A., Erfanzadeh M., Mohajerani, E. Mechanisms of laser-tissue interaction: II. Tissue thermal properties. // *Journal of lasers in medical sciences*. – 2013. – Vol. 4. – №3. – P. 99.
64. Rahman M. S., Roos Y. H. *Glass transition and phase transitions in food and biological materials* – Wiley, New York, 2007.
65. Stillman P. R. Early clinical evidences of diseases in the gingival and pericementum. // *J Dent Res*. – 1921. – Vol. 3. – P. 25-31.
66. Box H. K. Gingival cleft and associated tracts. // *NY State Dent J*. – 1950. – Vol. 16. – №1. – P. 3-10.
67. Tishler B. Gingival clefts and their significance. // *Dent Cosm*. – 1927. – Vol. 69. – P. 1003.
68. Novaes A. B., Ruben M. P., Kon S., Goldman H. M., Novaes A. B. Jr. The development of the periodontal cleft. A clinical and histopathologic study. // *J Periodontol*. – 1975. – Vol. 46. – №12. – P. 701-709.
69. Hirschfeld I. Traumatization of soft tissues by tooth-brush. // *Dent Items Int*. – 1933. – Vol. 55. – P. 329.
70. Greggianin B. F., Oliveira S. C., Haas A. N., Oppermann R. V. The incidence of gingival fissures associated with tooth brushing: crossover 28-day randomized trial. // *J Clin Periodontol*. – 2013. – Vol. 40. – P. 319-326.

71. Cassini M. A., Cerroni L., Ferlosio A., Orlandi A., Pilloni A. The gingival Stillman's clefts: histopathology and cellular characteristics. // *Ann Stomatol (Roma)*. – 2015. – Vol. 6. – №3-4. – P. 100–103.
72. Gauglitz G., Korting H. Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies. // *Molecular Medicine*. – 2011. – Vol. 17. – №1—2. – P. 113–125.
73. Goodman G. J. Postacne scarring: A review of its pathophysiology and treatment. // *Dermatologic Surgery*. – 2000. – Vol. 26. – №9. – P. 857—871.
74. Connolly K. L., Chaffins M., Ozog D. Vascular patterns in mature hypertrophic burn scars treated with fractional CO2 laser. // *Lasers Surg Med*. – 2014. – Vol. 46. – №8. – P. 597-600.
75. Allen E. P., Gladkova N. D., Fomina Y. V., Karabut M. M., Kiseleva E. B., Feldchtein F. I., Altshuler G. B. Successful gingival depigmentation with laser-patterned microcoagulation: a case report. // *Clinical Advances in Periodontics*. – 2011. – Vol. 1. – №3. – P. 210-214.
76. Belikov A. V., Ermolaeva L. A., Korzhevsky D. E., Sergeeva E. S., Semyashkina Y. V., Gusel'nikova V. V., Antropova M. M., Fedotov D. Y. Optical and morphological investigation of oral cavity mucosa regeneration after the fractional treatment by radiation of 980 nm diode laser. // *Proc. SPIE* – 2019. – Vol. 11065. – №1106513. – P. 1-6.
77. Mordon S., Capon A., Creusy C., Fleurisse L., Buys B., Faucheux M., Servell P. In vivo experimental evaluation of skin remodeling by using an Er:Glass laser with contact cooling. // *Lasers Surg Med*. – 2000. – Vol. 27. – P. 1–9.
78. Laubach H. J., Tannous Z., Anderson R. R., Manstein D. Skin responses to fractional photothermolysis. // *Lasers Surg Med*. – 2006. – Vol. 38. – P. 142–149.
79. Shin M. K., Choi J. H., Ahn S. B., Lee M. H. Histologic comparison of microscopic treatment zones induced by fractional lasers and radiofrequency. // *J Cosmet Laser Ther*. – 2014. – Vol. 16. – №6. – P. 317-323.
80. Flory P. J., Garrett G. R. Phase transitions in collagen and gelatin systems. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1958. – Vol. 80. – №18. – P. 4836-4845.
81. Belikov A. V., Ermolaeva L. A., Korzhevsky D. E., Sergeeva E. S., Semyashkina Y. V., Antropova M. M., Fedotov D. Y., Sufieva D. A. Histological examination of the oral mucosa regeneration after fractional diode laser treatment with a wavelength of 980 nm. // *Proc. SPIE*. – 2018. – Vol. 10685. – № 1068526. – P. 1-12.
82. Hallmon W., Waldrop T., Houston G., Hawkins B. Flossing clefts. Clinical and histologic observations. // *J Periodontol*. – 1986. – Vol. 57. – P. 501-504.

Беликов Андрей Вячеславович  
Федорова Юлия Викторовна

**Физические аспекты фракционной лазерной  
технологии обработки биотканей**

**Учебное пособие**

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

**Редакционно-издательский отдел**  
**Университета ИТМО**  
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, литер А