

ЛАЗЕРНАЯ МЕДИЦИНА**Лазерная модификация структуры и формы хряща в отоларингологии и ортопедии*****Э.Н.Соболь, О.И.Баум, А.И.Омельченко, Ю.М.Сошникова, А.В.Южаков, Е.М.Касьяненко, А.В.Токарева, А.В.Басков, В.М.Свистушкин, Л.В.Селезнева, А.Б.Шехтер**

Представлены фундаментальные основы лазерной модификации биологических тканей в отоларингологии – для коррекции формы хрящей перегородки носа и гортани, в косметологии – для коррекции формы уха и носа, в ортопедии и спинальной хирургии – для лечения заболеваний позвоночника и суставов. Рассмотрены физические процессы и механизмы лазерно-индуцированной релаксации напряжений и регенерации тканей. Приведены новые результаты исследований в этой бурно развивающейся области лазерной хирургии, в частности по лазерной коррекции формы реберных хрящей при изготовлении имплантатов для лечения стеноза гортани и по управляемой регенерации гиалинового хряща суставов.

Ключевые слова: лазер, оптоакустика, хрящ, межпозвонковый диск, артрит, лазерная регенерация, лазерная релаксация напряжений.

1. Введение

Первые и наиболее распространенные применения лазеров в хирургии связаны с лазерной абляцией и коагуляцией ткани [1]. Неразрушающая модификация структуры тканей является относительно новым направлением медицинской физики и начинает использоваться для лечения распространенных заболеваний, таких как искривление перегородки носа, повреждения межпозвонковых дисков, остеоартрит. Лазерный метод коррекции формы хрящей свободен от недостатков традиционной хирургической операции и может также применяться для лечения стенозов трахеи, гортани, изменения формы ушной раковины, крыльев носа.

Процесс лазерно-индуцированной релаксации напряжений приводит к управляемому изменению формы хряща. Для широкого применения этого метода в клинической практике, в частности для изготовления хрящевых имплантатов, необходимы исследования, направленные на определение оптимальных режимов лазерного облучения хрящей, обеспечивающих долговременную устойчивость их новой формы и не вызывающих нежелательного повреждения межклеточного матрикса, а также разра-

ботка надежных контрольно-диагностических методов и экспериментального оборудования для управления процессами лазерного изменения формы хрящей.

Заболеваниями хрящей позвоночника и суставов страдает более 70% взрослого населения планеты [2]. Традиционные способы лечебных воздействий (и хирургических, и терапевтических) направлены преимущественно на ликвидацию острых симптомов болезни или на замену разрушенного межпозвонкового диска [3]. Лазерная реконструкция межпозвонковых дисков в настоящее время успешно применяется в клинической практике [4, 5]. Актуальной задачей является распространение технологии лазерной регенерации на хрящи суставов. Несмотря на интенсивное развитие новых консервативных и хирургических методов лечения артритов и артрозов, эта социальная проблема далека от окончательного решения [6]. В частности известно, что образовавшиеся в результате травмы большие поверхностные дефекты суставного хряща никогда не заживают самостоятельно. Еще более распространенными и трудноизлечимыми являются дегенеративные поражения суставного хряща (остеоартроз). Главная сложность в решении этой проблемы связана с низким уровнем метаболизма в зрелой хрящевой ткани и с низкой пролиферативной активностью хондроцитов. Однако число эффективных методов, обеспечивающих замедление процесса дегенерации или восстановление утраченных в результате патологических процессов хрящевых структур, пока невелико. К наиболее перспективным направлениям в данной области следует отнести генную терапию, введение в поврежденную ткань факторов роста, трансплантацию аутологичных хондроцитов или мезенхимальных стволовых клеток, а также комбинацию последних с биоактивными скаффолдами [7, 8].

Одним из результатов исследований по лазерной термомпластике ушного хряща является обнаружение лазерно-стимулированных процессов регенерации ткани при умеренных лазерных нагревах [9]. Было установлено, что лазерное воздействие приводит к пролиферации хондроцитов, регенерации и росту хряща гиалинового типа. В результате междисциплинарных исследований был пред-

* Доложена на международном симпозиуме «Фундаментальные основы лазерных микро- и нанотехнологий» (FLAM-16) (Ленинградская обл., Пушкин, 27 июня – 1 июля 2016 г.)

Э.Н.Соболь, О.И.Баум, А.И.Омельченко, Ю.М.Сошникова, А.В.Южаков, Е.М.Касьяненко. Институт фотонных технологий федерального научно-исследовательского центра «Кристаллография и фотоника» РАН, Россия, 119333 Москва, Ленинский просп., 59, e-mail: baumolga@gmail.com

А.В.Токарева, А.В.Басков. Научный клинический центр ОАО РЖД, Россия, 123567 Москва, Волоколамское ш., 84

В.М.Свистушкин, Л.В.Селезнева, А.Б.Шехтер. Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения РФ, Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Поступила в редакцию 24 марта 2017 г., после доработки – 10 августа 2017 г.

ложен новый подход – управляемая модификация тонкой структуры и поля напряжений в биологических тканях путем воздействия неразрушающего лазерного излучения, позволяющая проводить коррекцию формы хрящей и индуцирующая репаративный ответ поврежденной или деградированной ткани [10].

В настоящей работе рассмотрены физико-химические процессы, лежащие в основе ряда новых применений лазеров в медицине: в отоларингологии – для коррекции формы хрящей перегородки носа и гортани [11–14], в косметологии – для коррекции формы уха и носа [13, 15, 16], в ортопедии и спинальной хирургии – для лечения заболеваний позвоночника и суставов [17–19].

2. Лазерное воздействие на механические свойства хряща

Результаты исследования механических свойств хрящевой ткани показывают следующее:

1. При лазерном нагреве хряща до 70°C происходит кратковременное уменьшение модуля упругости, что позволяет изменить форму хрящевого образца [20]. После охлаждения хряща и восстановления исходного количества воды, механические свойства хрящевой ткани возвращаются к первоначальным [21]. Таким образом, процесс лазерного изменения формы хряща не приводит к ухудшению его прочностных характеристик.

2. Температурная зависимость внутреннего трения при лазерном нагреве и колебаниях хрящевой пластины имеет максимум вблизи 70°C , причем величина и положение максимума хорошо согласуются с соответствующими параметрами фазового перехода хрящевой воды из «связанного» состояния в «свободное» [22].

Импульсный или импульсно-периодический лазерный нагрев хряща вызывает формирование акустической волны (оптико-акустический (ОА) эффект), которая распространяется по хрящевой ткани и может регистрироваться акустическими приемниками как в области лазерного воздействия, так и вне ее. Регистрируя ОА сигнал, можно получать важную информацию о состоянии и свойствах биоткани (например, о наличии определенной патологии), а также о процессах ее взаимодействия с лазерным излучением. ОА диагностика хрящевой ткани при лазерном нагреве осуществлялась с целью создания контрольной системы с обратной связью, необходимой для строгого дозирования лазерного излучения в процессе достижения условий необратимой релаксации напряжений в хряще [23]. При лазерном облучении хряща амплитуда и форма ОА сигнала изменяются с ростом температуры и одновременно увеличивается его затухание. Изменяется и характер акустического отклика, который становится экспоненциальным в конце облучения, когда происходит переход от упругого состояния ткани к пластическому. Форма сигнала отдельного ОА отклика отражает особенности термоупругой релаксации напряжений в поверхностном слое толщиной $\sim 1/\alpha$ (α – показатель оптического поглощения хрящевой ткани на длине волны лазерного излучения).

3. Оптические процессы в хряще при лазерном воздействии

Изменения внутренней структуры и механических свойств ткани сопровождаются изменениями ее оптиче-

ских свойств. Для исследования этих изменений нами проводились эксперименты, в которых хрящ носовой перегородки механически изгибался и область максимальных напряжений облучалась гольмиевым лазером с длиной волны излучения $2.09\ \mu\text{м}$ [24]. В процессе облучения регистрировались температура внутри хрящевой пластины, динамика механических свойств и коэффициент пропускания лазерного излучения. Релаксация напряжений начиналась, когда температура достигала 70°C , при этом интенсивность прошедшего излучения становилась минимальной.

Эксперименты по измерению интенсивности света, рассеянного назад от облучаемого лазером хряща, продемонстрировали прямую корреляцию процессов релаксации напряжений (или изменения формы хряща) и обратного рассеяния света. Пик интегральной интенсивности рассеянного назад зондирующего излучения совпадал по времени с началом релаксации напряжений. Данные измерений пространственного распределения интенсивности рассеянного лазерного излучения, прошедшего через образец, использовались для изучения динамики структурных изменений ткани в процессе лазерного воздействия. Этот подход позволил экспериментально установить пороги денатурации для хрящевой ткани и роговицы в зависимости от длины волны лазерного излучения. С помощью метода светорассеяния исследовались энергетические пороги структурных изменений при нагреве хряща излучением лазера на свободных электронах с длиной волны излучения, изменяемой в диапазоне $2.2\text{--}8.5\ \mu\text{м}$ [25]. В эксперименте с помощью многоканального анализатора регистрировались угловые распределения интенсивности излучения диодного лазера ($\lambda = 630\ \text{нм}$), прошедшего через образцы хряща носовой перегородки свиньи толщиной $1.3\ \text{мм}$, нагреваемые излучением лазера на свободных электронах. Методом ИК фурье-спектроскопии была детально исследована кинетика термодиффузии воды в хряще [26].

Временные зависимости светорассеяния в хряще носовой перегородки и роговице глаза определялись для оценки кинетики структурных изменений как функции длины волны и плотности энергии лазерного излучения [27]. Результаты показывают, что порог структурных изменений для роговицы несколько ниже, чем для хряща, но зависит от длины волны лазерного излучения для обеих тканей. Величина порога структурных изменений обратно пропорциональна коэффициенту поглощения для многих длин волн; однако для линий поглощения воды вблизи $\lambda = 3$ и $6\ \mu\text{м}$ (для которых коэффициент поглощения слишком высок) порог структурных изменений определяется кинетикой нагрева ткани.

Для мониторинга динамики рассеяния видимого излучения в процессе лазерного нагрева ткани пульпозного ядра межпозвоночного диска (МПД) была выбрана оптическая схема с одним волокном, позволяющая осуществлять доставку в ткань через созданный канал как рабочего, так и зондирующего лазерного излучения [17]. Для проведения экспериментов был разработан и изготовлен многофункциональный оптический адаптер, с помощью которого в зону лазерного нагрева ткани вводится зондирующее излучение и осуществляется сбор диагностического излучения (ДИ) и доставка его к датчику. Лазерное облучение МПД проводилось через оптическое волокно эрбиевым волоконным лазером, работающим в импульсно-периодическом режиме. В качестве зондирующего из-

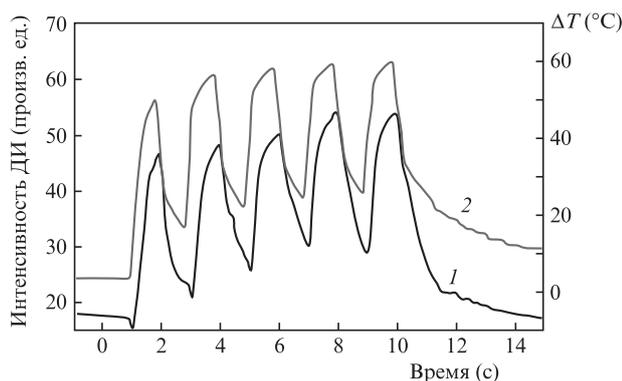


Рис.1. Временные зависимости интенсивности ДИ, отраженного от стенок газового пузыря (1), и разности ΔT максимальной и начальной температур (2). Условия облучения: длина волны излучения 1.56 мкм, мощность 1 Вт, длительность импульса 1 с, частота следования импульсов 0.5 Гц, диаметр волокна 600 мкм.

лучения использовалось излучение лазерного диода с длиной волны 532 нм.

При некоторых сочетаниях состояния ткани (в частности, при ее дегенеративных изменениях) и условий нагрева газовые микропузырьки, образующиеся в ткани в процессе лазерного нагрева, могут сливаться друг с другом в пузырь, сравнимый по размеру с диаметром оптического волокна. В случае периодического нагрева и остывания ткани пузырь плавно изменяет свой размер, что вызывает характерное изменение сигнала ДИ, практически повторяющее изменение хода температурной кривой (рис.1). Появление такого пузыря в клинических условиях может приводить к нежелательным последствиям, в частности к изменению заданного температурного режима лазерной процедуры. Исследования динамики обратного рассеяния в ткани пульпозного ядра при лазерном нагреве, выполненные с использованием оптической схемы с одним волокном, показали возможность мониторинга состояния биоткани в зоне воздействия.

4. Тепловые процессы в хряще при лазерном воздействии

Для теоретического моделирования процесса релаксации напряжений в облучаемой лазером хрящевой ткани было построено несколько теоретических моделей [9, 28, 29]: модели, описывающие температурное поле в хрящевой пластине в условиях, близких к реальной процедуре лазерной коррекции формы перегородки носа, с учетом многослойной структуры, включающей в себя хрящ, слизистую оболочку, сапфировый наконечник специального инструмента-контактора, на торце которого расположены две термопары в месте контакта с биологической тканью; модель термических напряжений в хрящевой ткани и модель, описывающая динамику релаксации напряжений как диффузионно-лимитированный процесс взаимного перемещения структурных составляющих хрящевого матрикса.

Расчеты профиля температуры позволяют сделать следующие выводы:

1. Максимум температуры T_m достигается не на облучаемой поверхности, а в глубине хряща, на некотором расстоянии h от его поверхности (рис.2). Это обусловлено потерями тепла на облучаемой поверхности, которые связаны с испарением воды (в модельных экспериментах

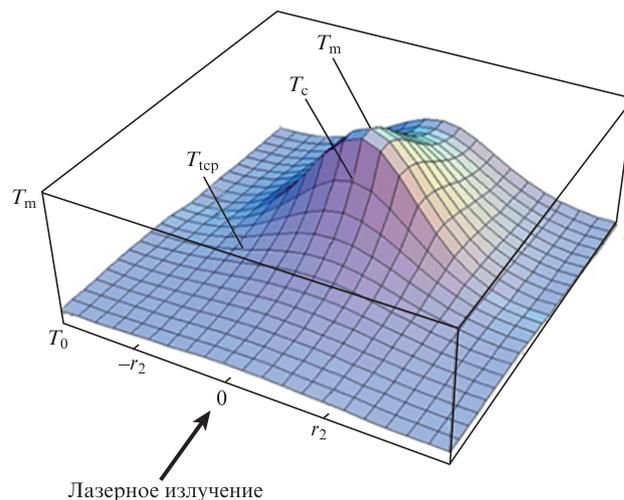


Рис.2. Характерное распределение температуры при лазерном облучении хряща; r_2 – радиус сапфирового наконечника контактора, T_0 – начальная температура.

без контактора) и с теплоотводом в сапфировый наконечник контактора в ситуации реальной операции по лазерной коррекции формы перегородки носа. Поэтому контроль процесса лазерного нагрева биоткани путем измерения только поверхностной температуры не может дать адекватной информации об уровне нагрева и о структурных изменениях в толще хряща.

2. Мощность, время воздействия и пространственное распределение интенсивности лазерного излучения являются основными параметрами, влияющими на соотношение измеряемых термопарой значений температуры $T_{\text{тер}}$, максимальной температуры T_m , характеризующей эффективность нагрева, и значений температуры в центре облучаемого пятна T_c , определяющей отсутствие повреждений слизистой оболочки носовой перегородки, т. е. безопасность воздействия.

Важным результатом теоретического моделирования термических напряжений, возникающих при лазерном воздействии, является возможность предсказания условий их релаксации. Впервые показано, что условия пластической деформации в хрящевых тканях соответствуют известному из материаловедения критерию Мизеса, а рассчитанные с помощью этого критерия температуры релаксации напряжений $65^\circ\text{C} - 75^\circ\text{C}$ хорошо согласуются с экспериментально найденными температурами, при которых начинается пластическая релаксация хрящевой ткани [9].

5. Механизмы управляемого изменения формы хрящевой ткани

Было установлено, что основным механизмом (или, по крайней мере, первой стадией) лазерно-индуцированной релаксации напряжений в хрящах является переход воды из связанного состояния в свободное [20, 28, 30], который сопровождаются следующие процессы:

1. Локальная минерализация биологической ткани за счет нейтрализации анионных групп протеогликанов ионами Na^+ и Ca^+ без каких-либо изменений структуры коллагена и протеогликанов [20]. При этом было показано, что повышение локальной концентрации NaCl и CaCl_2 ускоряет процесс релаксации механических напряжений в хряще [31].

II. Локальная деполимеризация протеогликановых агрегатов при кратковременном лазерном нагреве до 70°C с последующим формированием в хрящевой матрице новой протеогликановой структуры [20, 28].

III. Кратковременные разрывы связей между коллагеновой и протеогликановой подсистемами, приводящие к уменьшению напряжений в хряще и некоторым изменениям в пространственной структуре протеогликанов [32]. Полученные экспериментальные результаты могут быть объяснены существованием в хрящевой матрице относительно прочных областей (доменов), разделенных менее прочными прослойками. Разрушение (плавление) этих прослоек и придает подвижность одним доменам относительно других. Такой механизм связан с довольно небольшими энергетическими затратами и не может обеспечить долговременную стабильность формы хрящей.

IV. Образование микропор в хрящевой матрице. Образование пор и связанное с ним образование новых поверхностей раздела фаз является одним из известных механизмов релаксации напряжений в кристаллических материалах. В работах, посвященных лазерному воздействию на биологические ткани, этот механизм был впервые обнаружен при лазерном облучении хряща [9, 33]. Экспериментальные данные о формировании микропор в хрящевой матрице получены с помощью атомно-силового микроскопа, оптической когерентной томографии и микроскопии структурированного облучения [20, 28, 33, 34]. Средний размер пор, наблюдаемых в здоровом суставном хряще, составляет 12–15 нм [20], а лазерное воздействие позволяет изменять ширину распределения пор по размерам от 50 до 300 нм [33].

V. Полигонизация, т. е. изменение организации структуры хондроцитов при неразрушающем лазерном воздействии [32]. Выстраивание хондроцитов приводит к уменьшению упругой энергии системы и может осуществляться при умеренном нагреве ткани без денатурации хрящевого матрикса.

VI. Новый механизм релаксации напряжений – образование стабильных газовых пузырьков, которые препятствуют возвращению на исходные позиции удаленных при лазерном нагреве молекул поляризованной воды и стабилизируют измененную при механической деформации форму хряща [33].

6. Роль механических напряжений

Механические эффекты при лазерном воздействии на биологические ткани могут играть существенную роль в процессах как разрушения, так и регенерации. Известно, что клетки биологической ткани чувствительны к внешним механическим давлениям: механические напряжения в определенном диапазоне их амплитуд способствуют активации регенеративных процессов, а большие напряжения приводят к торможению клеточной активности и гибели клеток [35]. Что касается процесса лазерно-стимулированной регенерации биологических тканей, для которой важно обеспечить заданный режим импульсно-периодического нагрева и механических напряжений, то задача определения давления имеет первостепенное значение для мониторинга и оптимизации лазерного воздействия.

В работах [17, 23] был использован ОА метод для регистрации давления акустической волны, возникающей при взаимодействии лазерных импульсов с облучаемой

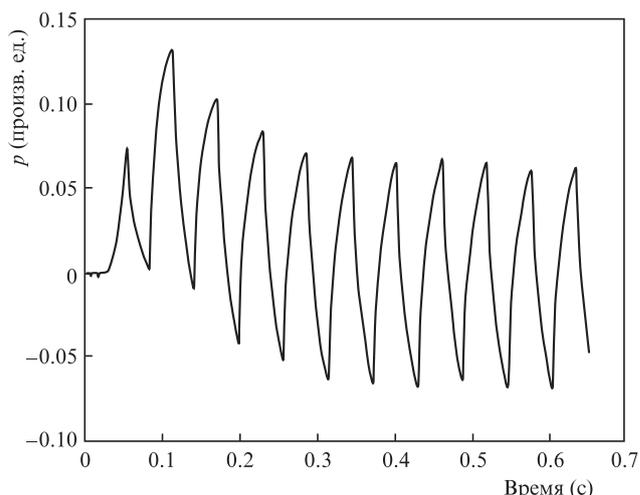


Рис.3. Временная зависимость давления p в гидрогеле в процессе импульсного лазерного нагрева.

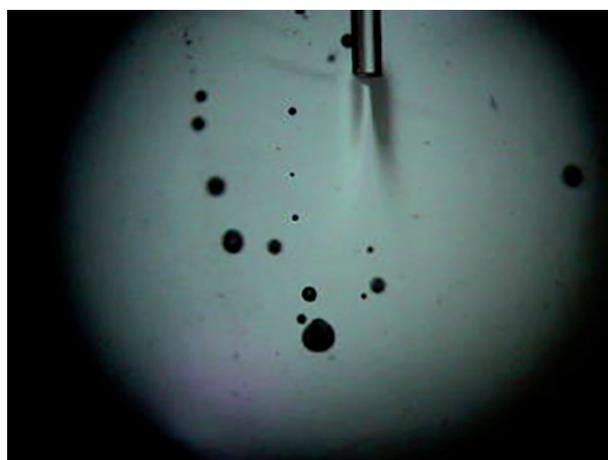


Рис.4. Тенеграмма лазерного воздействия на тканеподобный гидрогель.

средой. Исследование акустических волн проводилось в гидрогелях (близких по механическим свойствам к биотканям), которые помещались в замкнутый объем, зажатый между стеклянными пластинками. В процессе облучения регистрировались температура и акустический сигнал. На рис.3 представлены результаты измерения давления в гидрогеле, нагреваемом импульсно-периодическим излучением эрбиевого волоконного лазера. Видно, что стационарный режим установившихся колебаний давления реализуется после воздействия нескольких лазерных импульсов.

Для определения области локализации акустической волны и распределения давления проводилась визуализация уплотнения среды с помощью теневой камеры (рис.4). Тенеграммы, полученные покадровой съемкой, показали наличие газовых пузырьков, а также то, что волна давления локализована внутри области поглощения излучения и не распространяется далеко за пределы лазерного пучка.

7. Механизмы лазерной регенерации биологических тканей

Регенерация является естественным ответом биологической ткани живых организмов практически на любое внешнее повреждающее воздействие. Однако скорость

протекания репаративных процессов и тип образующейся ткани зависят от характеристик внешнего воздействия. Различают два типа регенерации: заместительную (замещение дефекта ткани или органа соединительной тканью, часто с образованием рубца) – быстрый ответ системы на достаточно сильное внешнее воздействие, и клеточную (основанную на пролиферации имеющихся клеток) – относительно медленный процесс, приводящий к росту высокоорганизованной ткани.

Известно, что хондроциты чувствительны к внешним условиям, в частности к температуре и механическим напряжениям [35]. Модулированное в пространстве и во времени лазерное излучение вызывает импульсно-периодический нагрев, приводящий к неоднородному термическому расширению и возникновению неоднородного пульсирующего поля механических напряжений, что может активно влиять на функции хондроцитов, способствуя их пролиферации и биосинтетической активности.

Впервые показано образование пор с размерами менее 1 мкм в непосредственной близости от клеток гиалинового хряща после необлационного воздействия лазерного излучения [33, 36]. При этом не наблюдалось значительных структурных изменений хрящевой ткани. Микро- и нанопоры, образующиеся в хряще, играют важную роль в улучшении его питания и стимуляции регенераторного процесса после лазерного воздействия.

8. Изготовление хрящевых имплантатов для лечения стеноза гортани

Возможности лазерного изменения формы хрящей не исчерпываются технологиями коррекции формы носовой перегородки и ушной раковины. Стеноз гортани представляет собой тяжелое заболевание, связанное с нарушением функций дыхания и питания из-за повреждения хряща трахеи и образования в этой области зоны рубцевания [37]. Как правило, развитие стеноза приводит к удалению части трахеи и закрытию образовавшегося дефекта с помощью имплантата. Установка имплантата из искусственного материала связана с большим риском рецидива заболевания в прилегающих к имплантату областях ткани. В то же время вследствие особой геометрии хряща трахеи, представляющего собой полукольцо, радиус которого зависит в каждом случае от физиологических особенностей пациента, выбор подходящего донорского имплантата затруднителен. Изготовление хрящевых имплантатов посредством простого вырезания образца нужной формы из имеющегося донорского хряща также является малоперспективным, поскольку высок риск сохранения в таком имплантате остаточных напряжений, приводящих к плохой предсказуемости его поведения после имплантации в трахею.

Была предложена новая технология лечения стеноза гортани и трахеи, основанная на использовании в качестве имплантатов пластин реберного хряща, которым предварительно путем лазерного воздействия придается форма полукольца [14]. Показано, что форму реберного хряща можно модифицировать с помощью лазеров с длинами волн излучения 0.98, 1.56 и 1.68 мкм в зависимости от толщины используемого образца [14, 38]. Изготовление имплантатов толщиной около 3 мм для закрытия дефекта трахеи осуществлялось с помощью эрбиевого волоконного лазера ($\lambda = 1.56$ мкм), снабженного контактором с сапфировым наконечником диаметром 3 мм. Процедура

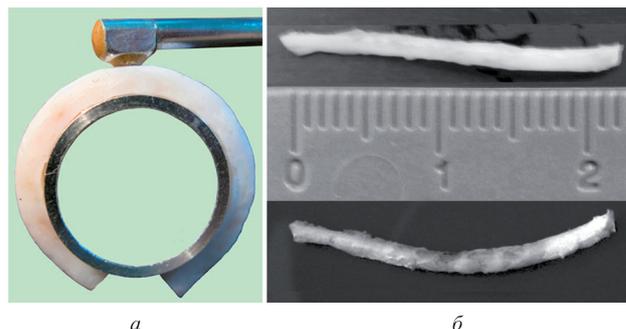


Рис.5. Кольцевой держатель реберного хряща в процессе изменения его формы при воздействии лазерного контактора (а) и реберный хрящ кролика до (вверху) и после (внизу) лазерного изменения формы (б).

включала в себя предварительную фиксацию хрящевых пластин на специальных кольцевых держателях, лазерное облучение и погружение в физиологическую среду этих пластин до достижения ими стабильной изогнутой формы (рис.5).

Были найдены оптимальные режимы лазерного воздействия, позволяющие добиться заданной кривизны реберного хряща без существенного нарушения его структуры. Контроль безопасности используемых режимов осуществлялся с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии и установления степени разрушения коллагена в хряще, которая при выбранных режимах лазерного воздействия оказалась в пределах погрешности измерения [14]. Стабильность полученных имплантированных кроликам хрящей исследовалась в течение трех месяцев. Было показано, что в условиях физиологической среды новая форма хряща является стабильной и не претерпевает изменений со временем. В настоящей работе выявлен эффект нелинейности термомеханических свойств хрящевой ткани, который заключается в различной степени изменения кривизны хрящевой пластины при ее двустороннем последовательном облучении: при облучении сначала внутренней, а затем внешней поверхности хрящевого полукольца результирующий радиус кривизны оказывался всегда меньше, чем в случае обратного порядка облучения. Это свойство хрящевой ткани должно учитываться при планировании геометрических параметров лазерно-модифицированных имплантатов. Первая операция по закрытию дефекта трахеи с использованием лазерно-модифицированного хрящевого аутоимплантата проведена в лор-клинике Первого МГМУ им. И.М.Сеченова и продемонстрировала стабильный положительный результат.

9. Лазерная регенерация в ортопедии

9.1. Измерения электропроводности хрящей

Исследования электропроводности пульпозного ядра МПД при термомеханическом воздействии импульсно-периодического излучения проводились с использованием эрбиевого волоконного лазера с длиной волны излучения 1.56 мкм [39]. Измерения кинетики проводимости ткани выполнялись на частоте переменного тока 100 Гц с помощью электродов, коаксиальных с оптическим волокном доставки лазерного излучения к облучаемой ткани. Для визуализации структурных изменений, происходящих в ткани при лазерном облучении, одновременно с

измерением электропроводности проводилась цифровая видеосъемка теневым методом. Измерения проводимости тканей МПД при импульсно-периодическом лазерном воздействии показали, что в зависимости от длительности облучения в ткани могут происходить как обратимые, так и необратимые изменения электропроводности.

Перемещение ткани относительно межэлектродного промежутка вызывает перераспределение свободных ионов внутритканевой жидкости и увеличение вклада этих ионов в проводимость ткани. Кроме того, денатурация ткани может привести к дополнительному вкладу связанных контр-ионов в ее проводимость. Все это увеличивает проводимость в области лазерного воздействия [39]. Циклические перемещения ткани модулируют величину тока проводимости в межэлектродном промежутке, что может использоваться в качестве индикатора механического состояния ткани. Динамика механических колебаний ткани определяется изменением амплитуды тока, а концентрация ионов проводимости в коагуляционном мешке – его средним значением.

Целенаправленное исследование неабляционного лазерного воздействия на МПД кроликов позволило выявить такие режимы облучения, которые индуцируют ярко выраженные процессы регенерации: пролиферацию хондроцитов фиброзного кольца и пульпозного ядра, а также метаплазию внутренних слоев этого кольца и поврежденного ядра в переходный фиброзно-гиалиновый или типичный гиалиновый хрящ. Контролируемое неабляционное лазерное воздействие позволяет вернуть хрящу его природную способность к регенерации. С помощью оптического, теплового и механического воздействий лазерного излучения активируются клетки хряща. Это позволяет выращивать гиалиновый хрящ в разрушенном МПД [40].

9.2. Моделирование заболеваний суставного хряща и последующая лазерная регенерация

При проведении экспериментов *in vivo* по стимуляции регенеративных процессов в поврежденном суставном хряще были выбраны режимы лазерного облучения, обеспечивающие термомеханическое воздействие на ткань. Для облучения использовался полупроводниковый лазер с длиной волны излучения 1.45 мкм (глубина поглощения в хрящах составляла 0.4 мм). Такая длина волны была выбрана для того, чтобы исключить заметное лазерное воздействие на расположенную под суставным хрящом костную ткань и избежать запуска репаративных процессов, связанных с активацией клеток кости и костного мозга. В процессе лазерного воздействия с помощью тепловизора контролировалось изменение температуры, которое в зоне облучения не превышало 10°C. При этом пространственная неоднородность распределения интенсивности лазерного излучения создавала градиенты температур порядка 100°C/см, а его временная модуляция – термомеханическое воздействие с частотами 0.5–1.0 Гц. Через два месяца после лазерного воздействия облученные и контрольные образцы ткани были направлены на гистологическое исследование. Результаты показали, что лазерно-индуцированная регенерация хрящевой ткани поверхностных дефектов происходит только за счет клеток самого хряща, а не клеток костной ткани, костного мозга или фибробластов, присутствующих в синовиальной жидкости. Размеры видимого дефекта уменьшаются вследст-

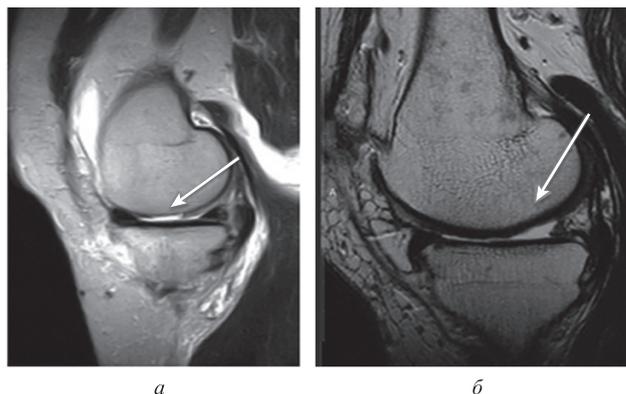


Рис.6. Дефект бедренного мыщелка третьей степени (по международной классификации) размером 11.0 – 11.5 мм (а) и тот же сустав после лазерного облучения (б). Поверхность хряща стала более ровной, наблюдается увеличение его толщины на 1–2 мм.

вие заполнения его регенерировавшей хрящевой тканью в направлении от краев дефекта к центру. Важно отметить, что регенерация поверхностного дефекта осуществляется путем роста гиалинового хряща. Результаты лазерной регенерации хрящей суставов животных показали перспективность применения неразрушающего лазерного излучения, модулированного в пространстве и во времени, для лечения травматических дефектов и дегенеративных заболеваний суставного хряща.

В дальнейшем описанная технология успешно применялась для лечения суставов человека. Облучение дегенеративных коленных суставов пациентов в возрасте от 35 до 72 лет проводилось излучением лазера с длиной волны 1.56 мкм. При этом осуществлялось МРТ-исследование суставов до и через шесть месяцев после лазерного воздействия (рис.6). Результаты для исследованной группы пациентов показали восстановление хрящевой ткани в среднем на 1–2 мм за время наблюдения. Данные для 90% пациентов продемонстрировали существенное снижение болевого синдрома и улучшение функциональности сустава.

10. Заключение

Разработано новое направление медицинской физики – лазерная модификация хрящей. Проведены экспериментальные исследования физико-химических и биологических процессов, происходящих при лазерном изменении формы хрящей и лазерной регенерации хрящей суставов. Определена область оптимальных режимов лазерного воздействия. Разработаны физические основы новой медицинской технологии коррекции формы хрящей при изготовлении имплантатов, определены показания и противопоказания для их применения в отоларингологии. Разработаны физико-химические основы лазерной регенерации хрящевых тканей, продемонстрирован и объяснен рост гиалинового хряща в результате неразрушающего воздействия лазерного излучения. Показаны перспективы применения лазерной регенерации в ортопедии.

1. Azadgoli B., Baker R.Y. *Annals of Translational Medicine*, 4 (23), 452 (2016).
2. Rubin D. *Neurol. Clin.*, 25 (2), 353 (2007).
3. Hansson T.H., Hansson E.K. *Spine*, 25, 3055 (2000).
4. Baskov A.V. *J. Spine*, 4, 210 (2015).

5. Sobol E. *Proc. Light-Activated Tissue Regeneration and Therapy Conf.* (New York: Springer, 2008, pp 259–266).
6. Reginster J.Y. *Rheumatology*, **41** (1), 3 (2002).
7. Peck Y. *Sci. Rep.*, **5**, 16225 (2015).
8. Makris E.A. *Nat. Rev. Rheumatol.*, **11**, 21 (2015).
9. Sobol E.N., Milner T.E., Shekhter A.B., Baum O.I., Guller A.E., Ignatieva N.Y., Omelchenko A.I., Zakharkina O.L. *Laser Phys. Lett.*, **4** (7), 488 (2007).
10. Соболев Э.Н., Баум О.И., Омелченко А.И., Свиридов А.П., Воробьева Н.Н., Захаркина О.Л., Сошникова Ю.М., Южаков А.В., Щербаков Е.М., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Большунов А.В., Басков А.В., Свистушкин В.М. В кн.: *Современные лазерно-информационные технологии* (М.: Интерконтакт Наука, 2015, с.567 – 614).
11. Rothholtz V.S., Wong B.J.F., in *Lasers in Dermatology and Medicine* (New York: Springer, 2011, pp 495–521).
12. Bourliotis C., Hajioannou J., Sobol E., Velegarakis G., Helidonis E. *Head & Face Medicine*, **4**, 15 (2008).
13. Ovchinnikov Y., Sobol E., Svistushkin V., Shekhter A., Bagratashvili V., Sviridov A. *Arch. Facial. Plast. Surg.*, **4** (3), 180 (2002).
14. Baum O.I., Soshnikova Y.M., Sobol E.N. *Lasers Surg. Med.*, **43**, 511 (2011).
15. Омелченко А.И., Соболев Э.Н., Свиридов А.П., Хардинг С. *Квантовая электроника*, **30** (11), 1031 (2000) [*Quantum Electron.*, **30** (11), 1031 (2000)].
16. Leclère F.M., Mordon S., Trelles M.A., in *Biomedical Optics in Otorhinolaryngology* (New York: Springer, 2016, pp 203–212).
17. Sobol E., Zakharkina O., Baskov A., Shekhter A., Borschenko I., Guller A., Baskov V., Omelchenko A., Sviridov A. *Laser Phys.*, **19** (4), 825 (2009).
18. Sobol E., Baum O., Shekhter A., et al. *J. Biomed. Opt.*, **16** (8), 080902 (2011). DOI: 10.1117/1.3614565 (2011).
19. Baltzer A.W.A., Stosch D., Seidel F., Ostapczuk M.S. *Z. Rheumatol.* DOI: 10.1007/s00393-017-0309-1 (2017).
20. Sobol E., Sviridov A., Omelchenko A., Bagratashvili V. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, **17**, 553 (2000).
21. Zemek A.J., Protsenko D.E., Wong B.J.F. *Lasers Surg. Med.*, **44** (7), 572 (2012).
22. Омелченко А.И., Соболев Э.Н., Баграташвили В.Н., Свиридов А.П., Дмитриев А.К., Баграташвили Н.В. *Перспективные материалы*, **7** (3), 56 (1999).
23. Omelchenko A.I., Sobol E.N., Bagratashvili V.N., Karabutov A.A. *Laser Phys.*, **16** (12), 1681 (2006).
24. Sviridov A., Sobol E., Jones N., Lowe J. *Lasers Med. Sci.*, **13** (1), 73 (1998).
25. Sobol E.N., Sviridov A.P., Kitai M.S., Gilligan J.M., Tolk N.H., Edwards G.S. *Proc. SPIE*, **3601**, 122 (1999).
26. Bagratashvili V.N., Sobol E.N., Sviridov A.P., Popov V.K., Omel'chenko A.I., Howdle S.M. *J. Biomech.*, **30**, 813 (1997).
27. Sobol E.N., Sviridov A.P., Kitai M.S., Gilligan J.M., Tolk N.H., Edwards G.S. *J. Biomed. Opt.*, **8** (2), 216 (2003).
28. Баграташвили В.Н., Соболев Э.Н., Шехтер А.Б. *Лазерная инженерия хрящей* (М.: Физматлит, 2006).
29. Shnirel'man A.I., Sobol E.N., Bagratashvili V.N. *Laser Phys.*, **14** (3), 1 (2004).
30. Chae Y., Protsenko D., Lavernia E.J., Wong B.J.F. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **95** (3), 937 (2009).
31. June R.K., Mejia K.L., Barone J.R., Fyhrie D.P. *Osteoarthritis Cartilage*, **17** (5), 669 (2009).
32. Ignatieva N., Zakharkina O., Leroy G., Sobol E., Vorobieva N., Mordon S. *Laser Phys. Lett.*, **4** (10), 749 (2007).
33. Sobol E., Baum O., Shekhter A., Wachsmann-Hogiu S., Shnirelman A., Alexandrovskaya Yu., Sadovskyy I., Vinokur V. *J. Biomed. Opt.*, **22** (9), 091515 (2017).
34. Majda D., Bhattarai A., Riikonen J., Napruszewska B.D., Zimowska M., Michalik-Zym A., Töyräs J., Lehto V.-P. *Microporous Mesoporous Mater.*, **241**, 238 (2017).
35. Natenstedt J., Kok A.C., Dankelman J., Tuijthof G.J. *J. Exp. Orthopaed.*, **2** (1), 15 (2015). DOI: 10.1186/s40634-015-0029-x.
36. Soshnikova Yu.M., Baum O.I., Shcherbakov E.M., Omelchenko A.I., Shekhter A.B., Lunin V.V., Sobol E.N. *Lasers Surg. Med.*, **47** (3), 243 (2015).
37. Shields T.W., Lo Cicero J., Reed C.E., Feins R.H. *General Thoracic Surgery* (Lippincott: Williams & Wilkins, 2009).
38. Sviridov A.P., Zakharkina O.L., Ignatieva N.Y., Vorobieva N.N., Bagratashvili N.V., Plyakin V.A., Kulik I.O., Sarukhanyan O.O., Minaev V.P., Lunin V.V., Bagratashvili V.N. *Lasers Surg. Med.*, **46** (4), 302 (2014).
39. Омелченко А.И., Соболев Э.Н. *Квантовая электроника*, **39** (3), 279 (2009) [*Quantum Electron.*, **39** (3), 279 (2009)].
40. Sobol E., Shekhter A., Baskov A., in *Lasers for Medical Applications: Diagnostics, Therapy and Surgery* (Cambridge, UK: Woodhead Publishing, Series in Electronic and Optical Materials, 2013, Ch. 37, pp 621 – 656).